

综述 Reviews

气孔发育及其受系统性信号调控的研究进展

邢紫媛¹, 赵艺², 江昆^{1,*}¹浙江大学生命科学学院, 杭州310058²陇东学院生命科学与技术学院, 甘肃庆阳745000

*通信作者(jiangk@zju.edu.cn)

摘要: 气孔的密度及分布模式受到植物基因组编码信息、激素信号以及环境刺激的复杂调控, 调控的模式包括配体-受体识别、蛋白翻译后修饰、转录水平变化等一系列复杂的生物学过程。近期的研究表明, 成熟叶片感知的生物和非生物信号以长距离信号转导的模式调控新生叶片的气孔发育。本文在梳理与气孔发育相关的细胞内源性机制的基础上, 综述了目前已知的调控气孔发育的系统性信号, 并对这些信号进行长距离转导的可能模式进行了总结和展望。

关键词: 气孔发育; 生物胁迫; 非生物胁迫; 系统性信号; 水分利用效率

Advances in understanding the molecular mechanisms underlying stomatal development mediated by intrinsic and systemic signals

XING Ziyuan¹, ZHAO Yi², JIANG Kun^{1,*}¹College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China²College of Life Science and Technology, Longdong University, Qingyang, Gansu 745000, China

*Corresponding author (jiangk@zju.edu.cn)

Abstract: The density and distribution pattern of plant stomata are subject to complex regulation by genome-encoded information, hormonal signals and environmental stimuli. The modes of regulation include multiple complex biological processes encompassing ligand-receptor recognition, post-translational modification of proteins, and changes in transcript levels. Recent studies have also shown that both biotic and abiotic signals sensed by mature leaves can modulate stomatal development of nascent leaves in a long-distance signal transduction manner. In addition to summarization of the endogenous cellular mechanisms underlying stomatal development, this paper also reviews the identified systemic signals and discusses the possible modes of long-distance transduction of these signals.

Key words: stomatal development; biotic stress; abiotic stress; systemic signal; water use efficiency

气孔主要分布于植物叶片表面, 由成对保卫细胞环绕而成。保卫细胞通过其膨胀运动调节气孔开度进而控制植物与环境间的气体交换, 从而对植物的光合作用和蒸腾作用产生重要影响。叶面气孔分布模式受到多种内源因子与环境条件的影响, 这些因素可单独或者以协同作用的方式影

响气孔发育(陆雯芸等2016)。调控气孔发生发育的遗传网络涉及转录因子、多肽受体-配体、蛋白激酶/磷酸酶以及胞间极性分子等一系列复杂元

收稿 2021-06-21 修定 2021-09-03

资助 国家自然科学基金(31670408和32060065)和浙江省自然科学基金(LY19C030006)。

件,且这些元件的功能还受到多种外源信号的调控。双子叶植物气孔的形成需经历几轮不对称分裂和一轮对称分裂,每个分裂阶段的细胞都具有特定的形态,其转录组与蛋白组的表征也存在显著差异(Liu等2020)。气孔发育起始于未分化的原表皮细胞转变为拟分生组织母细胞(meristemoid mother cell, MMC),MMC经过不对称分裂形成两个形态体积各异的细胞:小的三角形细胞称为拟分生组织(meristemoid, M)细胞, M细胞可继续进行1~3次不对称分裂扩充细胞系,并在失去分裂能力后继续分化形成保卫细胞母细胞(guard mother cell, GMC)和终极保卫细胞(guard cell, GC)。大的姊妹细胞则称为气孔谱系基础细胞(stomatal lineage ground cell, SLGC),可直接分化为扁平细胞;亦可获得MMC命运,在遵循“单细胞间隔法则”的前提下(Han和Torii 2016),在远离气孔以及气孔前体细胞的位置进行不对称间隔分裂,形成卫星拟分生组织(satellite meristemoid, SM)细胞并最终发育成气孔。

近期的研究表明,气孔的形态及分布密度也会影响植物的抗逆性状。通过遗传操作降低大麦的气孔密度与保卫细胞体积,可在减小气孔导度的基础上提高转基因植株的水分利用率;虽然正常供水条件下转基因植株的CO₂同化率较野生型偏低,但在水分亏缺的条件下其光合能力以及终产量均显著高于野生型(Hughes和Hepworth 2017)。与此同时,在对不同遗传背景的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)抵御叶际细菌病能力的比较研究中发现,气孔密度越小的植物其叶肉细胞间隙细菌的增殖速率越低;有意思的是,给成熟叶片接种病原菌会引发新生叶生成更大的扁平细胞和保卫细胞,导致气孔密度下降,这被推测可能是宿主植物一种长周期的免疫应急机制(Dutton等2019)。由于气孔的大小和密度与植物的抗旱、抗病能力直接相关,通过深入解析气孔发生发育的分子机制,有望为改良作物的抗逆能力提供新的遗传操作靶点。

1 气孔发育的内源调控机制

1.1 细胞表面受体与配体分子

已知的调控气孔发育的受体包括质膜上富亮氨酸重复类受体蛋白TMM (too many mouth)、类

受体激酶家族成员ER (erecta)/ERL1 (erecta like 1)/ERL2 (erecta like 2),以及SERK (somatic embryogenesis receptor kinase)家族成员SERK1/2/3/4 (Lin等2017; Meng等2015)。这些受体通常以复合物的形式感知由类表皮模式因子(epidermal patterning factor-like, EPFL)家族基因编码的分泌小肽,包括EPF1、EPF2、STOMAGEN/EPFL9和CHALLAH (CHAL)/EPFL6信号,从而以胞间通讯的模式抑制或促进不同组织表面的气孔发育。*EPF1*在处于分裂后期的气孔前体中表达,编码的多肽分子能在被ERL1受体识别后抑制M细胞的分化,同时确保不均等间隔分裂的进行(Hara等2007)。*EPF1*过表达会导致气孔谱系细胞发育停滞,而其敲除突变则会造成气孔成簇表型。*EPF2*基因在MMC和早期的M细胞中表达,其编码的小肽会抑制原表皮细胞进入气孔谱系的不对称分裂(Hunt和Gray 2009)。*EPF2*的作用模式依赖于ER受体结合并激活下游丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号的活性,敲除*EPF2*会产生大量气孔谱系细胞但不形成气孔簇。与*EPF1*和*EPF2*的功能相反,STOMAGEN是气孔发育的正调控因子,它和*EPF2*竞争性结合ER但却不能激活下游MAPK信号通路,因此能够阻断*EPF2*对气孔发育的抑制作用(Sugano等2010)。另一个EPFL家族成员CHAL的敲除会抑制*tmm*突变体下胚轴和茎表皮气孔缺失的表型,其编码小肽依赖于ER家族受体负调控气孔发育(Abrash等2011)。有意思的是,STOMAGEN和CHAL并不在表皮细胞中表达,其转录本仅在叶肉细胞或下胚轴中累积,这种表达的组织特异性暗示在表皮细胞与内部细胞层之间存在重要的气孔发育相关信号转导。此外,生长素对气孔发育的调控作用也与上述受体-配体识别有关:生长素对气孔发育的负调控作用与STOMAGEN的功能有关,有证据表明该激素通过转录因子ARF5 (auxin response factor 5)直接抑制STOMAGEN基因的表达(Zhang等2014);生长素抗性突变体*axr3-1*介导的气孔发育信号则部分依赖于ER家族受体(Balcerowicz等2014)。

1.2 胞质MAPK信号级联通路与MAPK磷酸酶

EPF信号会诱导ER和SERK家族受体异聚化

以及相互反式磷酸化, 而SERK家族受体已被证明在MAPK信号上游发挥作用。MAPK信号级联通路由YDA (MAPK kinase kinase YODA)、MAPK kinase (MKK4/5/7/9)以及MAPK (MPK3/6)等保守的激酶组成。这些激酶的功能缺失会导致表皮气孔显著成簇, 而其组成型活化则会抑制表皮气孔的形成。利用气孔谱系前体细胞特异性启动子(*SPCHpro*、*MUTEpro*、*FAMApr*)驱动YDA与MKK激酶的显性负或者组成型活化突变体蛋白的表达, 发现YDA-MKK4/5/7/9-MPK3/6模块抑制MMC向M细胞, 以及M细胞向GMC的转化; 而YDA-MKK7/9-MPK3/6模块介导GMC向GC的分化(Lampard等2009)。研究还发现BR信号通路的核心调控因子BIN2 (brassinosteroid insensitive 2)会磷酸化负调控YDA激酶活性, 而BR通过抑制BIN2的活性解除其对YDA功能的抑制, 从而负调控子叶表皮气孔发育(Kim等2012)。YDA下游的MKK4/5同样也是BIN2的靶点且其活性被磷酸化后的BIN2抑制(Khan等2013)。与此同时, MAPK信号的强度还受到磷酸酶AP2C3 (*Arobidopsis* protein phosphatase 2C)的控制, 异位过表达AP2C3会因抑制MPK3/6的活性导致表皮细胞近乎全部分化为保卫细胞, 这与*mpk3/6*双突变体的表型相似(Umbrasaite等2010)。

1.3 细胞核内转录因子与细胞间极化信号

胞质MAPK级联信号末端的MPK3/6可在细胞核内磷酸化一组紧密相关的bHLH (basic helix-loop-helix) 转录因子SPCH (SPEECHLESS)、MUTE和FAMA, 在翻译后修饰水平影响它们对特异气孔谱系细胞命运转变的调控, 这三个蛋白编码基因相应的敲除突变体*spch*、*mute*、*fama*也因此呈现叶表皮无气孔、形成花环状结构, 以及蠕虫状细胞平行叠加结构的表型(MacAlister等2007; Pillitteri等2007)。后续的研究进一步表明, 这三个bHLH转录因子与另外两个在气孔谱系细胞中广谱表达的同源bHLH亮氨酸拉链(bHLH-LZ)转录因子ICE1 (inducer of CBF expression 1)和SCRM2 (SCREAM2)会形成异源二聚物(Kanaoka等2008)。有意思的是, ICE1与SCRM2对整个气孔谱系细胞命运转变的调控具有剂量效应: 单独敲除ICE1产生类似*fama*的表型, *ice1SCRM2*+/-产生类似*mute*的表型, 而*ice1-*

*scrm2*则产生类似*spch*的表型。与此同时, 在对禾本科模式植物玉米(*Zea mays*)的研究中发现, Zm-MUTE可增强*PAN1* (*pangloss1*)与*PAN2* (*pangloss2*)基因的表达, 而*PAN1/2*编码的受体样激酶会通过促进MMC的不对称分裂来诱导气孔发育(Wang等2019)。除了上述转录因子以外, 两个与FAMA功能冗余的同源MYB转录因子FLP (FOUR LIPS)和MYB88也被证明参与调控保卫细胞母细胞的均等分裂, 同时敲除*FLP*和*MYB88*会引起GMC进行多次分裂, 从而产生类似*fama*的表型(Lai等2005)。

作为介导气孔谱系起始的细胞核内因子, SPCH的功能受到多种发育与环境信号的协同调控。BIN2可通过磷酸化SPCH影响其蛋白稳定性, 当BIN2活性被抑制时, SPCH蛋白稳定性增加从而导致气孔密度升高(Gudesblat等2012)。SPCH蛋白还可被糖信号通路保守的能量感受器SnRK1 (sucrose non-fermenting-1-related kinase 1)激酶磷酸化, 该酶 α 催化亚基KIN10 (SnRK1.1)编码基因的突变导致气孔指数下降, 而其过表达则会促进气孔发育(Han等2020)。除了蛋白水平的调控, SPCH编码基因的转录也会对外源刺激进行响应。研究发现高温会诱导转录因子PIF4 (phytochrome interacting factor 4)在气孔前体细胞累积, 并通过结合到SPCH的启动子区抑制其表达, 导致气孔密度降低(Lau等2018)。

如前所述, MMC和M细胞会进行不均等分裂, 从而将细胞命运决定因子差异化分配到两个子代细胞, 该过程受到两个极性蛋白BASL (breaking of asymmetry in the stomatal lineage)以及POLAR (polar localization during asymmetric division and redistribution)的调控(Dong等2009)。BASL在细胞边缘和细胞核中具有双重定位, 其定位的动态变化与子代细胞命运紧密相关: 当BASL只定位在细胞边缘时, 细胞分化为扁平细胞; 当其只定位于细胞核时, 细胞会分化为气孔; 而当其具有双重亚细胞定位时, 细胞会进行不均等分裂。有研究表明BSL1 (bristleless1)是BASL的伴侣蛋白磷酸酶, 极化的BSL1由分化的两个子代细胞继承, 抑制子细胞分裂并促进细胞命运决定, 而*BSL1*敲除植物则呈现气孔过度增殖表型(Guo等2021)。POLAR蛋

白定位于远离细胞不均等分裂的位置, 其极性定位依赖于上游BASL蛋白(Houbaert等2018)。在MMC成熟过程中, BIN2与MAPK两类激酶以冗余的模式触发BASL的极性定位(Houbaert等2018)。BIN2与POLAR蛋白在细胞皮层BASL极性位点的累积会解除BIN2对细胞核内SPCH的抑制, 从而维持POLAR和BASL编码基因的转录, 导致细胞持续进行不对称分裂(Houbaert等2018); 与此同时, BASL也是MPK3/6激酶的底物, 磷酸化的BASL能够招募MAPK信号级联通路在细胞边缘增强, 引发SPCH降解进而使SLGC退出气孔分化命运(Zhang等2015)。

2 调控气孔发育的系统性信号

2.1 环境因子对气孔发育的影响

2.1.1 光照强度

早期的研究发现, 将光下正常生长的植物转移至暗处, 其成熟叶片的气孔指数呈下降趋势。对拟南芥突变体的进一步研究证实, 蓝光受体CRY1/2 (cryptochrome 1/2)以及红光受体PHYB (phytochrome B)与气孔发育密切相关, 而光形态建成的抑制因子COP1 (constitutive photomorphogenic 1)在CRY和PHYB的下游以及YDA信号级联通路的上游发挥作用(图1)。令人感到意外的是, 新生叶的气孔发

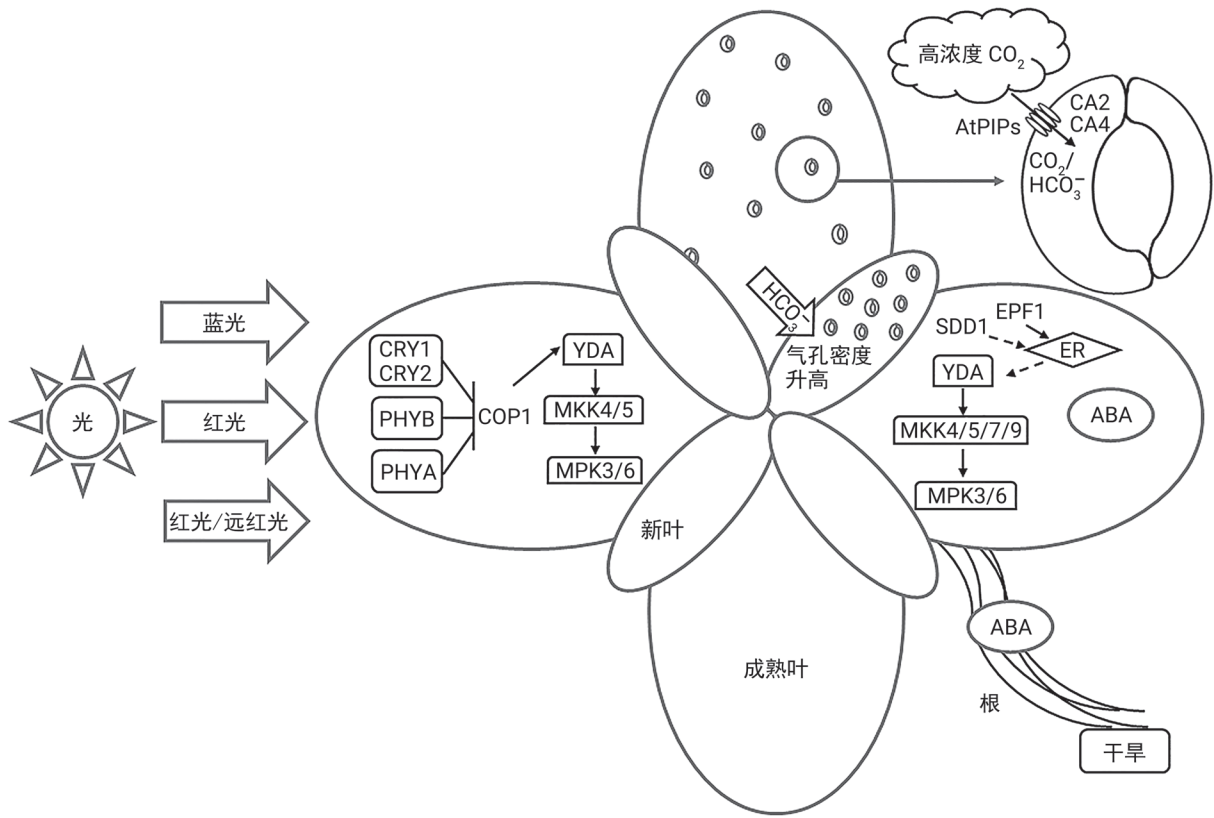


图1 环境因子以长距离信号模式调控新生叶气孔发育

Fig. 1 Regulation of stomatal development in new leaves by environmental factors via long-distance signaling

AtPIPs: 质膜内在蛋白; CA2: 碳酸酐酶2; CA4: 碳酸酐酶4; COP1: 组成型光形态建成因子1; CRY1: 隐花色素1; CRY2: 隐花色素2; EPF1: 类表皮模式因子1; PHYA: 光敏色素A; PHYB: 光敏色素B。→ (黑色实线箭头)代表已被证实的信号通路, —|代表负调控作用, --→ (黑色虚线箭头)代表推测的信号通路, 空心箭头代表信号的传递, 灰色实线箭头引出的是气孔放大图。

育也受到成熟叶片感知的光信号调控: 若将成熟烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片进行黑暗处理的同时给予新生叶片强光照射, 新叶气孔指数依然下降; 反之若对新生叶片遮光的同时给予成熟叶强光照射, 则会促进新叶气孔发育(Thomas等2003)。上述结果表明, 源于成熟叶的系统性信号会支配新叶气孔的发育。曾有研究发现成熟叶片受到黑暗处理的植物其新生叶内SDD1 (stomatal density and distribution 1)的表达增强, 这与新生叶气孔指数下降的表型一致(Coupe等2006)。由于后续的遗传学证据排除了SDD1对新生叶气孔发育的调控作用, 暗示存在尚未发现的分子机制最终对气孔发育进行调节。值得注意的是, 近期的工作表明光下COP1的失活会诱导转录因子HY5 (elongated hypocotyl 5)在叶肉细胞内的累积, HY5蛋白可直接结合并激活分泌小肽STOMAGEN, 进而通过稳定表皮细胞内SPCH蛋白的模式诱导气孔发育(Wang等2021)。

2.1.2 大气CO₂浓度

大气CO₂浓度的变化对气孔的开度及发育均产生影响。早期的调查研究表明, 在高CO₂浓度条件下生长的植物, 其气孔密度呈下降的趋势(Gray等2000)。如果把拟南芥的成熟叶片置于高CO₂浓度并同时将新生叶置于低CO₂浓度条件下, 与处于正常CO₂浓度下的对照相比, 处理组植物新叶的气孔密度和气孔指数均出现下降。进一步的研究揭示, CO₂浓度对气孔发育的影响可能发生在叶片形成初期: 由于此时新生叶被叶原基包裹无法准确感知周围CO₂浓度, 因此推测CO₂浓度变化会诱导成熟叶产生系统性信号, 该信号会传递给新生叶并对其气孔发育产生影响。最近的一项研究表明, 能够结合CO₂并催化其转变为HCO₃⁻和H⁺的β-碳酸酐酶(β-carbonic anhydrase, β-CA)参与调控气孔对CO₂浓度的短期与长期响应(Engineer等2014)。双敲除突变体βca2/4对CO₂诱导的气孔运动不敏感, 且其气孔密度显著高于野生型植物。有意思的是, 尽管βCA2和βCA4在叶肉细胞和保卫细胞中均有表达, 但在保卫细胞本地的表达就可以回补气孔发育表型, 暗示成熟叶保卫细胞内生成的碳酸氢盐很可能是产生长距离信号改变新生叶气孔发育模式的关键分子(图1)。

2.2 病原微生物对气孔发育的影响

曾有证据表明, 被甜菜黄病毒(Beet yellows virus)感染的甜菜(*Beta vulgaris*)叶片或者烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)感染的烟草叶片, 其上、下表面的气孔密度和气孔指数均呈下降趋势, 这种变化同时导致植物蒸腾失水速率的降低(Murray等2016; Hall和Loomis 1972)。近期的研究发现, 易感宿主在感染病毒后长出新叶的气孔数目降低, 说明病毒引发的宿主气孔密度下降受系统性信号调控(图2); 与此同时, 当易感宿主感染特异的病毒时才会引发新叶气孔发育异常: 受到TMV侵染的烟草植株, 其新生叶片气孔指数降低, 而以同种病毒接种抗性宿主心叶烟(*N. glutinosa*)时, 其气孔指数不发生显著变化(Murray等2016)。TMV对宿主气孔发育的影响可能与该病毒运动蛋白MP30 (TMV movement protein 30)和微管相关蛋白MPB2C (TMV-MP30 binding protein 2C)之间的互作有关, 在拟南芥中组成型表达MPB2C蛋白的编码基因会导致所有叶片有气孔成簇的表型(Ruggenthaler等2009)。除病毒外, 叶际细菌也会诱导成熟叶产生系统性信号, 通过促进新生叶扁平细胞扩张进而降低气孔密度(Dutton等2019)。有趣的是, 若以病原模式分子flg22或者植物激素水杨酸处理成熟叶片, 也会在新叶内诱导气孔密度发生相似变化, 这种变化受到植物flg22受体以及水杨酸脂质转移蛋白AZI1的介导(Dutton等2019)。

3 系统性信号在植物体内的转导模式

植物系统性信号承载分子包括可沿韧皮部快速运输的蛋白、RNA、次生代谢物以及通过韧皮部或木质部进行流动的植物激素, 除此之外, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)分子与钙离子也可在植物体内进行长距离快速转导并编码信号特异性(Choi等2017)。鉴于前文已对调控气孔发育的小分子多肽信号进行了归纳总结(参见本文第1.1节), 此处我们将着重讨论可能与气孔系统性发育调控相关的瞬时信号与激素信号。

3.1 瞬时传递信号

ROS是介导植物对外源刺激进行应答的重要信使分子, 该分子可以波的形式在胞间传递信号。

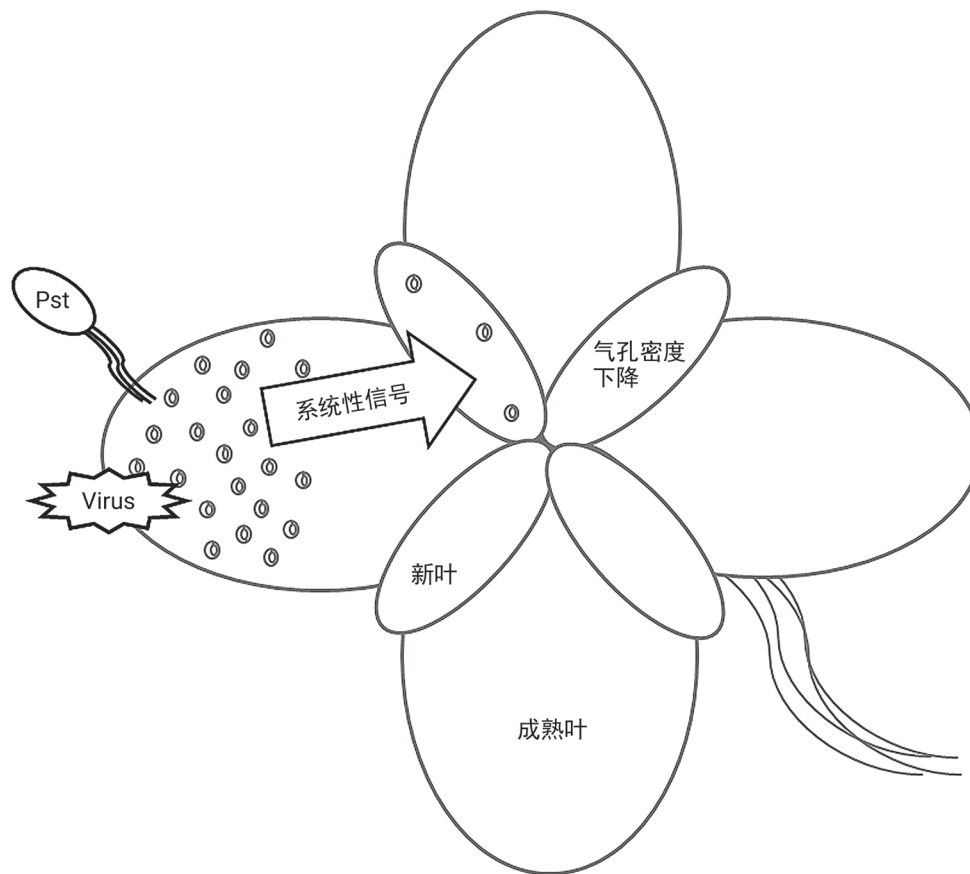


图2 病原微生物以长距离信号模式调控新生叶气孔发育

Fig. 2 Regulation of stomatal development in new leaves by pathogenic microorganisms via long-distance signaling

Pst: 丁香假单胞菌。空心箭头代表信号的传递。

外源信号会导致细胞质膜上NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)氧化酶RBOHD (respiratory burst oxidase homolog protein D)的活化,在质外体诱发ROS迸发,当邻近细胞检测到质外体ROS累积后,会触发钙离子内流并激活其自身的RBOHD (图3)。这种ROS引发的钙离子内流,及钙内流引发的RBOHD活化过程由细胞自主传递至邻近细胞,从而在整个长距离通路上产生ROS波,引发植物系统性应答反应(Devireddy等2020; Zandalinas等2020)。最近的研究发现,高CO₂浓度处理会导致野生型植物气孔密度降低,而在*rbohD/F*双突变体中气孔密度反而升高(Chater等2015),说明CO₂调控本地气孔发育受到ROS信号介导,有关CO₂以长距离信号模式调控新叶气孔发育受ROS

信号介导的假设仍需要进一步的研究回答。

钙离子(Ca²⁺)也是植物长距离信号系统的重要组件,且钙信号与ROS波信号紧密关联。Ca²⁺在植物响应局部刺激后会引发系统性响应。例如,盐胁迫会触发根局部位点细胞胞质Ca²⁺浓度升高,并进一步扩散到根皮质层与内皮层,暗示在这两类细胞中存在与Ca²⁺信号远距离转导相关的机制。另外,昆虫啃食会引发受损叶片胞质Ca²⁺浓度瞬时升高,并随后被输送到远端叶片,使用钙外流抑制剂La³⁺则会抑制远端叶片Ca²⁺浓度升高以及阻碍相关基因的表达(Toyota等2018)。由于叶际细菌侵染成熟叶片会导致新叶气孔密度降低,而丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)对植物叶片局部侵染引发远端叶片产生的系统性抗性与ROS和Ca²⁺信号

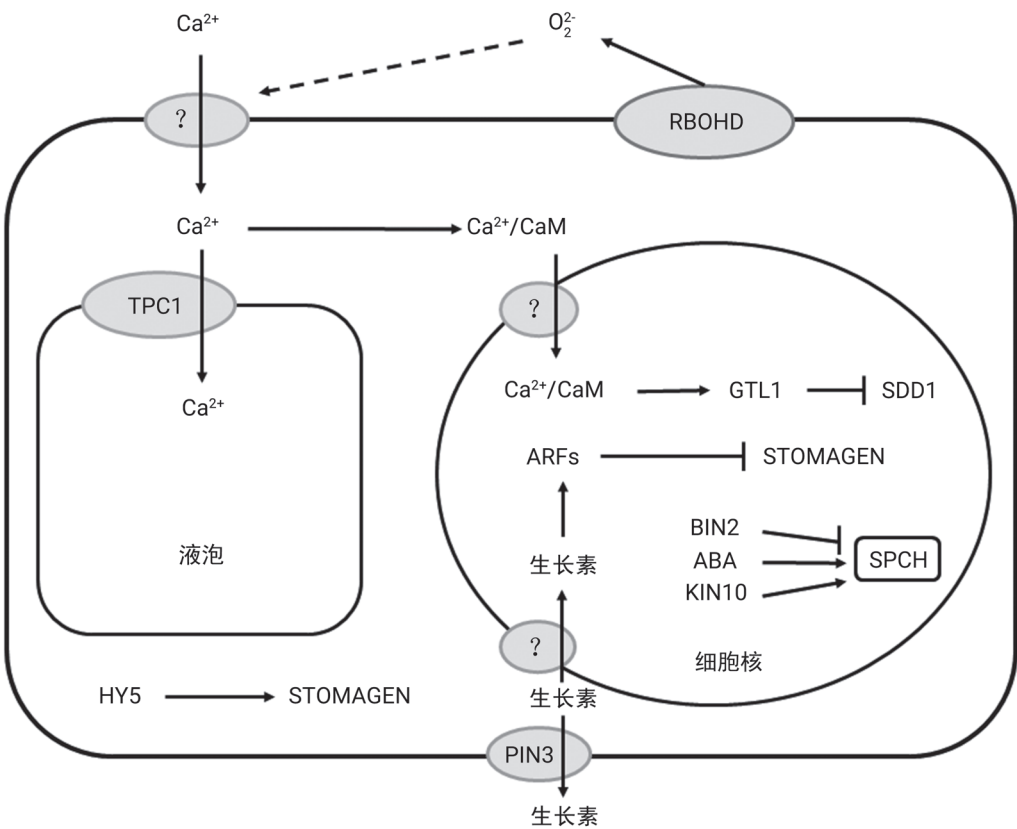


图3 系统性信号分子调控气孔发育模式

Fig. 3 Illustration of systematic signal-regulated stomatal development

CaM: 钙调蛋白; PIN3: 生长素转运蛋白3; RBOHD: 呼吸爆发氧化酶同系物蛋白D; TPC1: 双孔通道1。→ (黑色实线箭头)代表已被证实的信号通路, —|代表负调控作用, --→ (黑色虚线箭头)代表推测的信号通路。

有关(Li等2018), 据此推测病原调控新叶气孔发育的机制可能受到ROS与Ca²⁺信号的介导。此外, 钙调蛋白(calmodulin, CaM)作为Ca²⁺信号下游解码蛋白, 会结合转录因子GTL1 (GT2-like 1)并调节其功能。由于GTL1是气孔发育调控基因SDD1的反式抑制因子, 推测Ca²⁺信号还可以此种模式抑制气孔的发育(图3)。

3.2 激素信号

现有的证据表明, 气孔发育过程还受到本地以及输送自远端的植物激素的介导。在气孔发育谱系前体细胞内的生长素含量较高, 但在保卫细胞母细胞中的生长素水平很低, 这是因为在拟分生组织细胞发育晚期, 生长素转运蛋白PIN3 (pin-formed 3)大量表达并介导生长素在胞间的极性转运, 这类极性运输是母细胞由不对称分裂转为对

称分裂的前提, 因而该生长素外排过程直接影响叶面气孔的分布模式(Le等2014)。与此同时, 叶肉细胞中活化的生长素响应转录因子ARFs还会与小分子肽STOMAGEN编码基因的启动子结合并抑制其表达, 叶肉细胞内生长素含量降低则会导致该多肽分子的累积, 进而促进气孔发育(图3) (Zhang等2014)。

除生长素外, 干旱胁迫应答激素脱落酸(abscisic acid, ABA)也被发现参与调控气孔发育。拟南芥和番茄(*Solanum lycopersicum*, *sitiens*突变体)的脱落酸成缺陷突变体(*aba2*与*flacca*)叶面气孔密度升高, 而拟南芥ABA代谢突变体*cyp707a1;cyp707a3*的气孔密度呈下降趋势, 以上结果暗示ABA负向调控气孔发育过程(Tanaka等2013)。对*aba2*的深入研究表明, 该突变体的拟分生组织细胞与保卫

细胞母细胞的形成时间延长,与气孔发育有关的两个bHLH转录因子*SPCH*和*MUTE*的表达时间也更长。通过构建*aba2*与*spch*或者*mute*之间的双突变体进行遗传分析表明,ABA通过抑制*SPCH*的表达来限制气孔谱系细胞的分裂增殖(图3)(Tanaka等2013)。需要指出的是,ABA对气孔发育的调控效应还可能存在种间差异。外源喷施ABA使得小麦单叶的气孔数量减少,却会促进马铃薯水下叶片的气孔形成(Iida等2016)。

4 展望

作为植物与周围环境进行气态物质交换的门户,气孔在植物对生物与非生物逆境的应答过程中起着重要作用。气孔开度可以在短期内发生显著变化,使植物能够在不利环境条件下对光合以及蒸腾作用的强度进行适应性调整;在较长时间尺度上,环境条件的改变会诱发成熟叶片产生系统性信号,并通过改变新生叶的气孔发育来对外源刺激进行应答。目前,人们对于这类系统性信号的分子表征及其长距离转导机制仍知之甚少,相关科学假设亟待通过进一步的工作验证。例如,正常光照条件下光敏色素phyB处于活化状态,可与光敏色素互作因子PIF发生结合并导致其磷酸化后降解(Zhao 2018);在遮阴条件下,phyB转变为无活性形式并与PIF解离,处于游离态的PIF则可诱导生长素的合成(Zhao 2018)。由于叶肉细胞中生长素累积会抑制气孔发育,而成熟叶遮阴会引发新生叶气孔密度降低,据此推测遮阴叶片生长素水平的变化及其沿维管束系统的输送与光强变化诱导的气孔发育系统性应答有关。另外,成熟叶感受到CO₂浓度升高会导致新叶气孔密度下降;另一方面,高CO₂浓度调控的本地气孔发育过程受到ROS信号介导,而NADPH氧化酶活化触发的ROS累积在高浓度CO₂诱导的气孔关闭过程中起重要作用(Chater等2015),据此推测NADPH氧化酶及其下游ROS信号可能参与了CO₂长距离调控的新叶气孔发育。除此之外,有研究发现CO₂诱导的气孔关闭过程需要Ca²⁺信号参与,胞质Ca²⁺及其感受器可对CO₂浓度进行精确编码并向下游效应蛋白转导。考虑到Ca²⁺可作为一种瞬时信号参与调控植物的

系统性应答,推测Ca²⁺也有可能介导CO₂诱导的新叶气孔密度下降过程。

研究源于成熟叶的长距离信号如何影响新叶气孔分布,还有助于进一步完善气孔发育调控相关分子网络,在挖掘主效基因及功能鉴定的基础上构建气孔密度降低的转基因株系,利用现代遗传转化技术提高植物自身节水能力。此外,在农业生产实践中还可利用高浓度CO₂或低光强诱导植物气孔密度变化的系统性应答反应,在苗期对植物进行相应处理从而降低新生叶的气孔密度,为作物水分利用效率改良提供新的研究思路,对农业节水灌溉、水资源高效利用、作物增产及农业可持续发展具有重要参考价值。

参考文献(References)

- Abrash EB, Davies KA, Bergmann DC (2011). Generation of signaling specificity in *Arabidopsis* by spatially restricted buffering of ligand-receptor interactions. *Plant Cell*, 23 (8): 2864–2879
- Balcerowicz M, Ranjan A, Rupprecht L, et al (2014). Auxin represses stomatal development in dark-grown seedlings via Aux/IAA proteins. *Development*, 141 (16): 3165–3176
- Chater C, Peng K, Movahedi M, et al (2015). Elevated CO₂-induced responses in stomata require ABA and ABA signaling. *Curr Biol*, 25 (20): 2709–2716
- Choi WG, Miller G, Wallace I, et al (2017). Orchestrating rapid long-distance signaling in plants with Ca²⁺, ROS and electrical signals. *Plant J*, 90 (4): 698–707
- Coupe SA, Palmer BG, Lake JA, et al (2006). Systemic signalling of environmental cues in *Arabidopsis* leaves. *J Exp Bot*, 57 (2): 329–341
- Devireddy AR, Liscum E, Mittler R (2020). Phytochrome B is required for systemic stomatal responses and reactive oxygen species signaling during light stress. *Plant Physiol*, 184 (3): 1563–1572
- Dong J, MacAlister CA, Bergmann DC (2009). BASL controls asymmetric cell division in *Arabidopsis*. *Cell*, 137 (7): 1320–1330
- Dutton C, Horak H, Hepworth C, et al (2019). Bacterial infection systemically suppresses stomatal density. *Plant Cell Environ*, 42 (8): 2411–2421
- Engineer CB, Ghassemian M, Anderson JC, et al (2014). Carbonic anhydrases, EPF2 and a novel protease mediate CO₂ control of stomatal development. *Nature*, 513 (7517): 246–250
- Gray JE, Holroyd GH, Lee FM, et al (2000). The HIC signal-

- ling pathway links CO₂ perception to stomatal development. *Nature*, 408 (6813): 713–716
- Gudesblat GE, Schneider-Pizoń J, Betti C, et al (2012). SPEECHLESS integrates brassinosteroid and stomata signalling pathways. *Nat Cell Biol*, 14 (5): 548–554
- Guo X, Chan HP, Wang ZY, et al (2021). A spatiotemporal molecular switch governs plant asymmetric cell division. *Nat Plants*, 7 (5): 667–680
- Hall AE, Loomis RS (1972). An explanation for the difference in photosynthetic capabilities of healthy and beet yellows virus-infected sugar beets (*Beta vulgaris* L.). *Plant Physiol*, 50 (5): 576–80
- Han C, Liu Y, Shi W, et al (2020). KIN10 promotes stomatal development through stabilization of the SPEECHLESS transcription factor. *Nat Commun*, 11 (1): 4214
- Han SK, Torii KU (2016). Lineage-specific stem cells, signals and asymmetries during stomatal development. *Development*, 143 (8): 1259–1270
- Hara K, Kajita R, Torii KU, et al (2007). The secretory peptide gene EPF1 enforces the stomatal one-cell-spacing rule. *Genes Dev*, 21 (14): 1720–1725
- Houbaert A, Zhang C, Tiwari M, et al (2018). POLAR-guided signalling complex assembly and localization drive asymmetric cell division. *Nature*, 563 (7732): 574–578
- Hughes J, Hepworth C (2017). Reducing stomatal density in barley improves drought tolerance without impacting on yield. *Plant Physiol*, 174 (2): 776–787
- Hunt L, Gray JE (2009). The signaling peptide EPF2 controls asymmetric cell divisions during stomatal development. *Curr Biol*, 19 (10): 864–869
- Iida S, Ikeda M, Amano M, et al (2016). Loss of heterophylly in aquatic plants: not ABA-mediated stress but exogenous ABA treatment induces stomatal leaves in potamogeton perfoliatus. *J Plant Res*, 129 (5): 853–862
- Kanaoka MM, Pillitteri LJ, Fujii H, et al (2008). SCREAM/ICE1 and SCREAM2 specify three cell-state transitional steps leading to *Arabidopsis* stomatal differentiation. *Plant Cell*, 20 (7): 1775–1785
- Khan M, Rozhon W, Bigeard J, et al (2013). Brassinosteroid-regulated GSK3/Shaggy-like kinases phosphorylate mitogen-activated protein (MAP) kinase kinases, which control stomata development in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 288 (11): 7519–7527
- Kim TW, Michniewicz M, Bergmann DC, et al (2012). Brassinosteroid regulates stomatal development by GSK3-mediated inhibition of a MAPK pathway. *Nature*, 482 (7385): 419–422
- Lai LB, Nadeau JA, Lucas J, et al (2005). The *Arabidopsis* R2R3 MYB proteins FOUR LIPS and MYB88 restrict divisions late in the stomatal cell lineage. *Plant Cell*, 17 (10): 2754–2767
- Lampard GR, Lukowitz W, Ellis BE, et al (2009). Novel and expanded roles for MAPK signaling in *Arabidopsis* stomatal cell fate revealed by cell type-specific manipulations. *Plant Cell*, 21 (11): 3506–3517
- Lau OS, Song Z, Zhou Z, et al (2018). Direct control of SPEECHLESS by PIF4 in the high-temperature response of stomatal development. *Curr Biol*, 28 (8): 1273–1280
- Le J, Liu XG, Yang KZ, et al (2014). Auxin transport and activity regulate stomatal patterning and development. *Nat Commun*, 5: 3090
- Li Z, Bonaldi K, Uribe F, et al (2018). A localized *Pseudomonas syringae* infection triggers systemic clock responses in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 28 (4): 630–639
- Lin G, Zhang L, Han Z, et al (2017). A receptor-like protein acts as a specificity switch for the regulation of stomatal development. *Genes Dev*, 31 (9): 927–938
- Liu Z, Zhou Y, Guo J, et al (2020). Global dynamic molecular profiling of stomatal lineage cell development by single-cell RNA sequencing. *Mol Plant*, 13 (8): 1178–1193
- Lu WY, Fang K, Bian HW, et al (2016). Advances in stomatal development and its regulation factors. *Plant Physiol J*, 52 (6): 782–788 (in Chinese with English abstract) [陆雯芸, 房克, 边红武等(2016). 气孔发育及其调控因素的研究进展. *植物生理学报*, 52 (6): 782–788]
- 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
- Meng X, Chen X, Mang H, et al (2015). Differential function of *Arabidopsis* SERK family receptor-like kinases in stomatal patterning. *Curr Biol*, 25 (18): 2361–2372
- Murray RR, Emblow MS, Hetherington AM, et al (2016). Plant virus infections control stomatal development. *Sci Rep*, 6: 34507
- Pillitteri LJ, Sloan DB, Bogenschutz NL, et al (2007). Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata. *Nature*, 445 (7127): 501–505
- Ruggenthaler P, Fichtenbauer D, Krasensky J, et al (2009). Microtubule-associated protein AtMPB2C plays a role in organization of cortical microtubules, stomata patterning, and tobamovirus infectivity. *Plant Physiol*, 149 (3): 1354–1365
- Sugano SS, Shimada T, Imai Y, et al (2010). Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*. *Nature*, 463 (7278): 241–244
- Tanaka Y, Nose T, Jikumaru Y, et al (2013). ABA inhibits entry into stomatal-lineage development in *Arabidopsis* leaves. *Plant J*, 74 (3): 448–457

- Thomas PW, Woodward FI, Quick WP (2003). Systemic irradiance signaling in tobacco. *New Phytol*, 161 (1): 193–198
- Toyota M, Spencer D, Sawai-Toyota S, et al (2018). Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science*, 361 (6407): 1112–1115
- Umbrasaitė J, Schweighofer A, Kazanaviciute V, et al (2010). MAPK phosphatase AP2C3 induces ectopic proliferation of epidermal cells leading to stomata development in *Arabidopsis*. *PLOS One*, 5 (12): 15357
- Wang H, Guo S, Qiao X, et al (2019). BZU2/ZmMUTE controls symmetrical division of guard mother cell and specifies neighbor cell fate in *maize*. *PLOS Genet*, 15 (8): e1008377
- Wang S, Zhou Z, Rahiman R, et al (2021). Light regulates stomatal development by modulating paracrine signaling from inner tissues. *Nat Commun*, 12 (1): 3403
- Zandalinas SI, Fichman Y, Mittler R (2020). Vascular bundles mediate systemic reactive oxygen signaling during light stress. *Plant Cell*, 32 (11): 3425–3435
- Zhang JY, He SB, Li L, et al (2014). Auxin inhibits stomatal development through MONOPTEROS repression of a mobile peptide gene *STOMAGEN* in mesophyll. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111 (29): 3015–3023
- Zhang Y, Wang P, Shao W, et al (2015). The BASL polarity protein controls a MAPK signaling feedback loop in asymmetric cell division. *Dev Cell*, 33 (2): 136–149
- Zhao Y (2018). Essential roles of local auxin biosynthesis in plant development and in adaptation to environmental changes. *Annu Rev Plant Biol*, 69: 417–435