

拟南芥气孔发育的分子遗传机制

贾瑞玲 秦倩倩 张彦萍 程曦 梁凯 侯岁稳*

(兰州大学生命科学学院, 兰州 730000)

摘要 气孔由一对高度特化的保卫细胞构成, 是植物与外界环境进行 CO₂ 和 H₂O 交换的主要通道。在拟南芥中, 气孔的发育起始于分散干细胞的不对称分裂和细胞命运的特化事件, 而且这一过程受胞间信号转导的调控, 保证新形成的气孔与已存在的气孔或其前体之间遵守“一个细胞间隔原则”。气孔前体分泌的 EPF1 可能是调节邻近细胞行为的定位信号分子; TMM-ER 家族受体和 MAPK 信号级联作为负控因子, 调控气孔发育过程中不对称分裂的定向、限制气孔的分化; bHLH 转录因子和 MYB 蛋白作为正调节子控制气孔系细胞的命运转变。

关键词 拟南芥; 气孔发育; 信号转导; 分子机制

气孔作为植物与外界环境进行气体交换的门户, 通常由一对保卫细胞包围着一个极小的孔构成。保卫细胞是其前体经过一个独特的细胞特化机制发育成的终端产物, 这一机制包括一系列不对称分裂事件和命运特化过程。而由若干基因编码产物所构成的胞间信号转导调控着拟南芥气孔的发生, 还促使气孔间形成“至少一个细胞间隔”的分布模式。因此, 拟南芥气孔发育构成了研究细胞图式发育和命运特化的简易模式系统。另外, CO₂ 浓度、光强及湿度等环境信号也能影响气孔的发生。

1 模式植物拟南芥的气孔发育图式

拟南芥气孔的形态发生涉及三种前体: 拟分生组织母细胞(meristemoid mother cell, MMC)、拟分生组织细胞(meristemoid)和保卫细胞母细胞(guard mother cell, GMC)。拟南芥中具有干细胞活性的原表皮细胞经过一系列未知变化, 发育成 MMC; MMC 进行起始分裂(entry asymmetric division), 形成两个大小不一的子细胞: 小的三角形子细胞被称为拟分生组织细胞, 另一个则被称为姊妹细胞; 这些新形成的拟分生组织细胞具有短暂的干细胞活性, 它们通过自我修复, 进行 0~3 次扩增分裂(amplifying asymmetric division)形成新的拟分生组织细胞和姊妹细胞, 也可直接经过细胞壁的增厚和内部因素的共同作用逐渐发育成 GMC; GMC 再进行一次对称分裂(symmetrical division)产生两个形状、大小一致的保卫细胞(guard cell, GC), 最终形成气孔^[1-5](图 1)^[6]。Geisler 等^[7]将这些来自于 MMC 的、命运发生一系列递进变化(从 MMC 到 GMC, 再到气孔)的细胞称之为气孔世系

(stomatal lineage)。

一般情况下, 拟南芥的气孔周围总是有三个邻近细胞(图 1), 它们由同一个拟分生组织细胞经过三次扩增分裂形成, Shpak 等^[8]称之为气孔世系基础细胞(stomatal lineage ground cell, SLGC)。SLGCs 不仅能发育成表皮细胞(pavement cell), 也能在远离已存在的气孔或其前体的方向进行间隔分裂(spacing asymmetric division), 形成卫星拟分生组织(satellite meristemoid, SM), SMs 也能逐渐发育成气孔。事实上, 拟南芥的大多数气孔都是由 SMs 发育成的, 而且叶上约有 65%~82% 的表皮细胞是气孔世系产生的^[7]。

2 调控拟南芥气孔发育的分子机制

2.1 受体-配体胞间信号转导

TOO MANY MOUTH (TMM) 是最早鉴定的拟南芥气孔发育调控基因之一, 主要抑制响应定位信号的细胞进行不对称分裂, 调控分裂方向。*tmm-1* 突变体叶气孔增多而且成簇、茎气孔缺失^[9,10]。Bhave 等^[11]发现 *tmm* 的茎也能产生拟分生组织细胞, 只是其进一步发育受到抑制, 不能转变成 GMC。*TMM* 在拟分生组织细胞、GMC 和 SLGCs 中表达, 它所编码的细胞表面受体——富亮氨酸重复区受体类蛋白(leucine-rich repeat receptor-like protein, LRR-RLP), 属于富亮氨酸重复区受体类激酶(LRR-RLKs)家族, 但

收稿日期: 2009-04-16 接受日期: 2009-09-11

国家自然科学基金(No.30670124)、甘肃省自然科学基金(No.3ZS061-A25-062)资助项目

* 通讯作者。Tel: 0931-8915399, Fax: 0931-8915399, E-mail: housw@lzu.edu.cn

TMM 没有胞质激酶区^[12]。基于对芽分生组织控制基因 *CLAVATA1* (*CLV1*)和 *CLAVATA2* (*CLV2*)的研究,发现LRR-RLP 需要结合LRR-RLK以参与胞间信号传导^[1]。根据这个假说,推测 TMM 需要与某个 LRR-RLK相结合以共同调控气孔发育,而这一角色的最佳候选者就是由ER (*ERECTA*)、ERL1 (*ERECTA-LIKE1*)和 ERL2 构成的 ER 家族^[13,14]。此外, Wang 等^[15]发现 TMM 还可能参与 ABA 信号传导。

ER 编码的富亮氨酸重复区受体类 Ser/Thr 激酶 (LRR-RLP), 及其同源物 ERL1 和 ERL2, 三者功能冗余性地协同调节细胞的不对称分裂及气生器官的发育^[16,17], ER 还是决定蒸腾效率的主要因素^[18]。这三个基因都在叶原基的原表皮层中表达, 只是 ER 很快消失, ERL1 和 ERL2 在气孔世系细胞中的表达模式与 TMM 类似^[1]。ER 主要抑制起始分裂, 并且促进拟分生组织细胞的分化; ERL1 抑制拟分生组织细胞的分化; ERL2 则调节扩增分裂^[1]。单突变体 *erl1*、*erl2* 和双突变体 *erl1 erl2* 都没有明显的异常表型, 只有 *er erl1 erl2* 三突变体矮小、不育, 而且几乎所有气生器官表皮都形成了极大的气孔簇。双突变体 *tmm er* 和 *tmm erl2* 茎上没有气孔, 表明 ER 家族和 TMM 在同一条信号途径中起作用^[10], 但是 TMM 和 ER 家族之间的作用机制还不清楚。

Hara 等^[19]在超表达分析 153 个编码小分泌性肽 (小于 150 个氨基酸)基因时, 发现 *EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 1* (*EPF1*)超表达抑制了气孔的发育, 导致气孔密度降低。而 *EPF1* 功能缺失引起气孔密度升高, 气孔成簇, 但并没有其他与气孔发育无关的表型。*EPF1* 在拟分生组织细胞和 GMC 中表达, 作为 TMM 配体的有力候选者, 其 N 端含有一段长约 20~21 个氨基酸残基的信号肽。遗传分析表明 *EPF1* 独立于 *STOMATAL DENSITY AND DISTRIBUTION 1* (*SDD1*), 并在 *YDA*、*TMM* 及 *ER* 家族上游起作用。他们同时提出了调控拟南芥气孔发育的受体-配体胞间信号传导模型: *EPF1* 是气孔前体分泌至胞外的定位信号分子, 并由邻近细胞的 TMM-ER 家族跨膜受体识别, 以调节邻近细胞的不对称分裂进而决定该细胞的命运 (图 2)。

同时, Hara 等^[19]还证明 *SDD1* 对气孔发育的负调控作用不依赖于 TMM-ER 家族受体 (图 2)。*SDD1* 功能缺失导致气孔密度升高了 2~4 倍并且成簇^[20], 而 *SDD1* 超表达却引起气孔密度降低^[21]。*SDD1* 在拟分生组织细胞和 GMC 中表达, 主要调节启动分裂和扩

增分裂的次数, 还调节间隔分裂的方向。Von Groll 等^[21]认为 *SDD1* 是由拟分生组织细胞或 GMC 产生的被转运到胞外的信号分子。

2.2 MAPK 信号级联

Bergmann 等^[22]和 Wang 等^[23]证明由 *YDA*/*MAPKKK*、*MKK4/MKK5* 和 *MPK3/MPK6* 构成的 MAPK 信号级联 (MAPK signalling cascade) 作用于 TMM-ER 家族受体的下游。MAPK 信号级联在真核生物中具有高度的保守性, 并通过激酶间连续的 Ser/Thr 磷酸化传递胞间信号^[24]。拟南芥中, 编码促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase kinase, *MAPKKK*) 的 *YODA* (*YDA*) 基因是控制气孔系细胞命运转变的分子开关。*YDA* 功能缺失引起过多的细胞发育成气孔, 导致 *yda* 矮小不育、子叶和下胚轴的表皮几乎只有气孔^[22], 这一表型与 *er erl1 erl2* 相似。*YDA* 的组成性激活 (constitutive activation), 即去除 *YDA* 的 N 端负调控区域 (ΔN -*YDA*) 引起了与 *YDA* 功能缺失完全相反的表型^[22,25], 说明只有抑制 *YDA* 的活性才能使表皮细胞进入气孔发育途径。遗传分析表明 *YDA* 作用于 TMM 的下游, 因此推测 TMM-ER 家族受体可能直接或间接地与 *YDA* 相互作用从而负调控气孔世系细胞的命运转变, 但其互作机制还有待于进一步研究 (图 2)。

促分裂原活化蛋白激酶 3 (mitogen-activated protein kinase 3, *MPK3*) 和 *MPK6* 是气孔模式发育的负控因子^[23]。由于单突变体 *mpk3^{-/-}* 和 *mpk6^{-/-}* 没有明显的发育缺陷, 而双突变体 *mpk3^{-/-} mpk6^{-/-}* 又是胚胎致死的 (embryo-lethal)。因此, Wang 等^[23]运用 RNAi 技术构建了 *MPK3* RNAi, 并转入 *mpk6^{-/-}*, 但是 *mpk6^{-/-} MPK3RNAi* 植株是幼苗致死的 (seedling-lethal), 并且其子叶表皮几乎全由气孔簇构成; 此外, Wang 等还将甾类诱导体系 (steroid-inducible system)——*GVG-MPK6*——转入 *mpk3^{-/-} mpk6^{-/-}*, 并用地塞米松 (dexamethasone) 处理转基因植株, 诱导 *GVG-MPK6* 在胚胎发生时期表达以恢复双突变体 *mpk3^{-/-} mpk6^{-/-}* 的表型。但是, 所有恢复的 *mpk3^{-/-} mpk6^{-/-}* 植株只能生长至幼苗期, 并且子叶表皮全由成簇的气孔构成。*mpk6^{-/-} MPK3RNAi* 和恢复的 *mpk3^{-/-} mpk6^{-/-}* 植株都表现出相同的气孔发育和分布模式缺陷, 表明 *MPK3* 和 *MPK6* 在负调控气孔发育方面具有功能冗余性。另外两个负控因子促分裂原活化蛋白激酶激酶 4 (mitogen-activated protein kinase kinase 4, *MKK4*) 和 *MKK5* 作用于 *MPK3* 和 *MPK6* 的上游。*MKK4*-

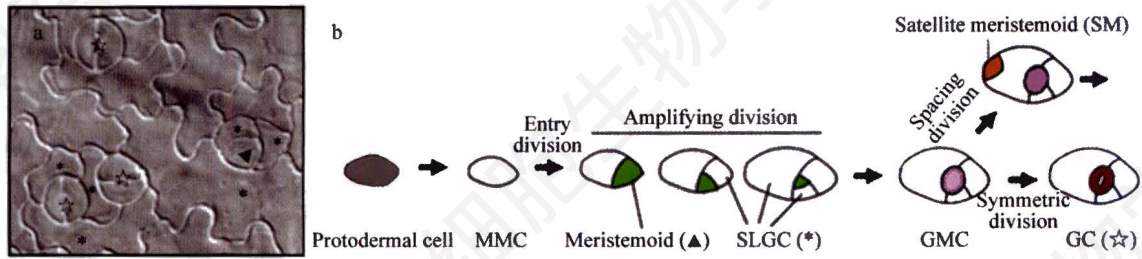


Fig.1 Schematic diagram of *Arabidopsis* stomatal development [6]

a: DIC image of the abaxial epidermis of a Columbia leaf. Cell types are labeled as b. b: stages of divisions during stomatal development. A protodermal cell is converted into a MMC through an unknown mechanism. The MMC undergoes an entry division to create a meristemoid (green). Meristemoids can reiterate one to three rounds of amplifying divisions before differentiating into a GMC (pink). The SLGCs produced from amplifying divisions can initiate spacing division and produce SMs (orange) which is always oriented away from an existing GMC or stomata. GMCs divide symmetrically to produce two GC, which eventually form the mature stomata (red).

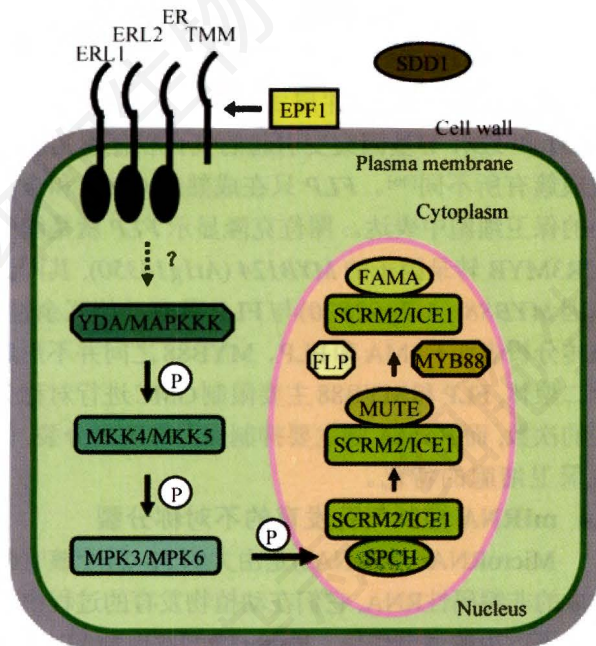


Fig.2 The proposed model for molecular regulation of stomatal development in *Arabidopsis*

TMM is likely to associate with the ER-family at the plasma membrane, which constitute a TMM-ER-family receptor complex. Cell divisions during stomatal development are regulated in response to positional information, which may be EPF1 secreted by existing stomatal lineage. EPF1, served as a ligand for TMM, activates the TMM-ER-family receptor. TMM-ER-family receptor may stimulate a MAPK signalling cascade, which start with the YDA/MAPKKK that in turn activates MKK4/MKK5 and then MPK3/MPK6. This MAPK cascade negatively regulates stomatal development, but targets SPCH through the Ser/Thr phosphorylation between MPK3/MPK6 and SPCH. The bHLH transcription factors SPCH, MUTE and FAMA, heterodimerize with SCRM2/ICE1, respectively. These heterodimers mainly regulate three key steps during stomatal differentiation: (1) the transition from MMC to meristemoid by SPCH and SCRM2/ICE1, (2) meristemoid to GMC by MUTE and SCRM2/ICE1, (3) GMC to guard cell by FAMA and SCRM2/ICE1. FLP and MYB88 also act independently to direct GMC

division and differentiation. SDD1 is a negative regulator of stomatal development but act independently of this signal pathway. Question mark indicates unknown interactions. P indicates phosphorylation.

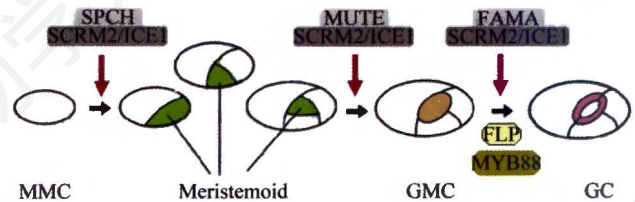


Fig.3 Models of stomatal cell-fate transition by sequential actions of bHLH transcriptional factor [6]

The bHLH transcriptional factor work in a three-step transcriptional cascade starting at the transition from MMC to meristemoid by SPCH and SCRM2/ICE1, meristemoid to GMC by MUTE and SCRM2/ICE1, and GMC to guard cell by FAMA and SCRM2/ICE1. In addition, FLP and MYB88 also affect the GMC to guard cell transition.

MKK5RNAi 植株也只能发育至幼苗期, 整个子叶几乎没有表皮细胞, 只有气孔, 表明 MKK4 和 MKK5 同样在调控气孔发育时具有功能冗余性。Wang 等还证实 MKK4/MKK5-MPK3/MPK6 作用于 YDA/MAPKKK 的下游(图2)。

2.3 bHLH 转录因子调控气孔发育的“三步转录级联”

拟南芥中, 三个结构相似的 bHLH 转录因子 SPCH、MUTE 和 FAMA, 分别调控着气孔发育的“三步转录级联(three-step transcriptional cascade)”: (1) SPCH 控制 MMC 向拟分生组织细胞的转变; (2) MUTE 控制拟分生组织细胞向 GMC 的转变; (3) FAMA 控制 GMC 向保卫细胞的转变[6]。

SPCH 是三者中最早表达的基因。spch-1 的表

皮全是锯齿状的表皮细胞,气孔完全缺失,表明 *SPCH* 是起始气孔世系的必需基因。*SPCH* 控制着 MMC 向拟分生组织细胞的转变;而且在调控气孔发育时可能具有特异性,因为其他器官如根和胚胎中的不对称分裂并不受 *SPCH* 功能缺失的影响^[26-28]。Lampard 等^[29] 研究发现 *SPCH* 是 MPK3 和 MPK6 的酶作用底物。*SPCH* 除在 bHLH 结构域及 C 端和 MUTE、FAMA 具有高度的保守性外,还有一段含 93 个氨基酸残基的 MAPK 目标域(MAPK target domain, MAPKTD)。利用质谱分析法证明 MAPKTD 是调控 *SPCH* 活性的重要功能位点,即 MAPK 信号级联被 TMM-ER 家族受体以未知机制激活后, YDA/MAPKKK、MKK4/5 和 MPK3/6 之间通过逐级地 Ser/Thr 磷酸化将定位信号介导至核内,再通过 MPK3/MPK6 与 *SPCH* 的 MAPKTD 之间的磷酸化作用,激活 bHLH 转录因子 *SPCH*, 而 *SPCH* 又是 *MUTE* 和 *FAMA* 表达所必需的(图 2)。

MUTE 促进拟分生组织细胞向 GMC 的转变^[30,31]。虽然 *mute* 也没有气孔,但与 *spch-1* 不同, *mute* 能启动气孔世系的第一次不对称分裂(entry division), 并产生拟分生组织细胞,这些拟分生组织细胞能够完成多次连续的扩增分裂,却不能发育成 GMC,从而形成了 *mute* 的“玫瑰花结图案(rosette pattern)”,即 SLGCs 向内螺旋,中间包围着一个受抑制的拟分生组织细胞^[30]。*MUTE* 超表达导致几乎所有的表皮细胞都发育成气孔,这表明 *MUTE* 对于气孔形成正确的间隔模式也具有非常重要的作用。*FAMA* 控制着 GMC 向保卫细胞的转变,还可能调控 GMC 进行对称分裂的次数。*fama-1* 的叶表皮产生了许多“毛毛虫”状的 GMC。超表达分析证明 *FAMA* 足以特化保卫细胞的命运^[32]。

综上所述, bHLH 转录因子 *SPCH*、*MUTE* 和 *FAMA* 是调控拟南芥气孔发育不可或缺的重要因子,但是它们的作用又受什么机制协调? Kanaoka 等^[33] 鉴定的两个同源蛋白——*SCREAM1* 和 *SCRM2*——通过与 *SPCH*、*MUTE* 和 *FAMA* 相互作用直接特化三者的连续作用。*scrm-D^{-/-}* 表皮几乎全由气孔构成,这种“stomatal only”表型与 *MUTE* 超表达表型完全一致。图位克隆结果表明 bHLH 亮氨酸拉链(bHLH-LZ)转录因子 *SCREAM1* (*SCRM1*) 就是调控冷诱导和抗冻性的 bHLH 转录因子 *INDUCER of CBF EXPRESSION 1* (*ICE1*)^[33-35]。*SCRM1* (*bHLH116*) 的表型是由位于 bHLH-LZ 结构域外的“KRAAM”

框中的 R 突变为 H 引起的。同源物 *SCRM2* (*bHLH33*) 与 *SCRM1* 具有相同的“KRAAM”框,而且 *SCRM2* 同一位点的突变引起了与 *SCRM1* 相同的表型。除 *SCRM2* 不在成熟的保卫细胞中表达外, *SCRM2/ICE1* 在气孔世系细胞中均有表达^[34]。用酵母双杂交和双分子荧光互补技术研究发现, *SCRM2/ICE1* 通过与三个 bHLH 转录因子形成异二聚体,分别特化气孔发育中的三步转录级联: (1) *SPCH* 和 *SCRM2/ICE1* 启动气孔世系的第一次不对称分裂; (2) *MUTE* 和 *SCRM2/ICE1* 调节拟分生组织细胞向 GMC 的转变; (3) *FAMA* 和 *SCRM2/ICE1* 控制 GMC 的分裂与分化(图 3)^[6]。

此外,两个 R2R3MYB 转录因子 *FLP* 和 *MYB88* 也相互独立地协同调控拟南芥气孔发育后期 GMC 向保卫细胞的转变(图 3)。*FOUR LIPS* (*FLP*) 基因突变同样引起拟南芥叶表皮气孔成簇,但这种气孔簇由不成对的保卫细胞肩并肩式排列组成,与 *TMM*、*SDD1* 和 *YDA* 等基因突变引起的气孔以任意角度松散成簇有所不同^[36]。*FLP* 只在成熟的 GMC 和未成熟的保卫细胞中表达。图位克隆显示 *FLP* 就是编码 R2R3MYB 转录因子的 *MYB124* (*At1g14350*), 其同源基因 *MYB88* (*At2g02820*) 与 *FLP* 具有功能冗余性。遗传分析表明 *FAMA* 和 *FLP*、*MYB88* 之间并不形成异二聚体, *FLP* 和 *MYB88* 主要限制 GMC 进行对称分裂的次数,而 *FAMA* 则主要抑制保卫细胞的分裂,促进保卫细胞的特化。

2.4 miRNA 控制气孔发育的不对称分裂

MicroRNAs (miRNAs) 是由大约 21~24 个核苷酸构成的非编码性 RNA, 它们在动植物发育的过程中具有必不可少的调节作用。Kutter 等^[37] 发现 MADS box 转录因子——*AGAMOUS-like16* (*AGL16*)——参与调控气孔发生过程中的不对称分裂。miRNA *AGL16* 是 MicroRNA824 (miR824) 唯一直接剪切的靶点。在 miR824- 抗性(非野生型 *AGL16*) 超表达植株中, 出现了许多由 SMs 发育而来的气孔, 而且这些气孔的分布严格遵循“一个细胞间隔原则”。相反, 在 *agl16-1* 突变体和 miR824 超表达植株中几乎没有出现由 SMs 形成的气孔。研究表明, *AGL16* 可能促进 SLGCs 进行间隔分裂形成 SMs; 反之, 可能抑制 SLGCs 的不对称分裂。它只在保卫细胞中表达, 而 miR824 在新形成的 SLGCs、拟分生组织细胞和 GMC 中都表达。*AGL16* 由未成熟的气孔细胞产生, 可能是通过胞间连丝转运的移动信号。但是, *AGL16* 调控不对称分裂的机制仍然未知, 而且也未将其定位在气孔发育的信

号转导途径中。

3 展望

气孔在协调陆生植物的水分散失和光合作用方面具有极其重要的作用。近年来, 对气孔图式发育的研究已经取得了重要的进展, 但是许多参与气孔特化和形态发生的必需基因还未被发现; TMM和ER家族之间的受体互作机制、TMM-ER家族受体复合体与MAPK信号级联的作用机制都需要进一步研究。

此外, 环境因子也能影响气孔的模式发育。在实验室条件下, 高光照强度引起拟南芥气孔指数升高, 而高CO₂浓度或低湿度都能导致气孔指数降低。推测这可能受远距离信号转导机制的调控, 即成熟叶片在感知到环境的变化后, 产生一种未知的远距离信号, 而幼叶的叶原基可以识别这种信号并调节自身气孔发生的频率^[1]。转基因研究表明幼叶叶原基的所有原表皮细胞都有进入气孔发育途径的潜能, 因此, CO₂浓度及光强等环境信号可能影响气孔形成的许多关键性事件。Casson等^[38]发现光强调节的气孔指数变化主要发生在红光区, 而且证明这一反应受核因子——光敏色素B (phytochrome B, phyB)和光敏色素干扰因子4 (PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 4, PIF4)——的调控。他们推测phyB可能是成熟叶片在感知环境信号时所必需的, 而转录因子PIF4可能在phyB的下游起作用。但是, 环境信号如何整合进气孔发育途径的分子机制还不得而知, 因此, 对这一问题的研究与解决是非常值得期待的。

参考文献(References)

- [1] Casson S, Gray JE. Influence of environmental factors on stomatal development, *New Phytol*, 2008, 178(1): 9-23
- [2] Nadeau JA, Sack FD. Stomatal development in *Arabidopsis*. In: Somerville C, Meyerowitz, EM eds. *The Arabidopsis Book*, American Society of Plant Biologists, 2002
- [3] Bergmann DC, Sack FD. Stomatal development, *Annu Rev Plant Biol*, 2007, 58: 163-181
- [4] Lucas JR, Nadeau JA, Sack FD. Microtubule arrays and arabidopsis stomatal development, *J Exp Bot*, 2006, 57(1): 71-79
- [5] Zhao L, Sack FD. Ultrastructure of stomatal development in *Arabidopsis* (Brassicaceae) leaves, *Am J Bot*, 1999, 86(7): 929-939
- [6] Pillitteri LJ, Torii KU. Breaking the silence: three bHLH proteins direct cell-fate decisions during stomatal development, *BioEssays*, 2007, 29(9): 861-870
- [7] Geisler M, Nadeau JA, 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(11): 2075-2086
- [8] Shpak ED, McAbee JM, Pillitteri LJ, et al. Stomatal patterning and differentiation by synergistic interactions of receptor kinases, *Science*, 2005, 309(5732): 290-293
- [9] Yang M, Sack FD. The too many mouths and four lips mutations affect stomatal production in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 1995, 7(12): 2227-2239
- [10] Geisler M, Yang M, Sack FD. Divergent regulation of stomatal initiation and patterning in organ and suborgan regions of the *Arabidopsis* mutants too many mouths and four lips, *Planta*, 1998, 205(4): 522-530
- [11] Bhave NS, Veleky KM, Nadeau JA, et al. TOO MANY MOUTHS promotes cell fate progression in stomatal development of *Arabidopsis* stems, *Planta*, 2009, 229(2): 357-367
- [12] Nadeau JA, Sack FD. Control of stomatal distribution on the *Arabidopsis* leaf surface, *Science*, 2002, 296(5573): 1697-1700
- [13] Nadeau JA. Stomatal development: new signals and fate determinants, *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12(1): 29-35
- [14] Bergmann DC. Stomatal development: from neighborly to global communication, *Curr Opin Plant Biol*, 2006, 9(5): 478-483
- [15] Wang G, Ellendorff U, Kemp B, et al. A genome-wide functional investigation into the roles of receptor-like proteins in *Arabidopsis*, *Plant Physiol*, 2008, 147(2): 503-517
- [16] Pillitteri LJ, Bemis SM, Shpak ED, et al. Haploinsufficiency after successive loss of signaling reveals a role for ERECTA-family genes in *Arabidopsis* ovule development, *Development*, 2007, 134(17): 3099-3109
- [17] Shpak ED, Berthiaume CT, Hill EJ, et al. Synergistic interaction of three ERECTA-family receptor-like kinases controls *Arabidopsis* organ growth and flower development by promoting cell proliferation, *Development*, 2004, 131(7): 1491-1501
- [18] Masle J, Gilmore SR, Farquhar GD. The ERECTA gene regulates plant transpiration efficiency in *Arabidopsis*, *Nature*, 2005, 436(7052): 866-870
- [19] Hara K, Kajita R, Torii KU, et al. The secretory peptide gene *EPF1* enforces the stomatal one-cell-spacing rule, *Genes Dev*, 2007, 21(14): 1720-1725
- [20] Berger D, Altmann T. A subtilisin-like serine protease involved in the regulation of stomatal density and distribution in *Arabidopsis thaliana*, *Genes Dev*, 2000, 14(9): 1119-1131
- [21] Von Groll U, Berger D, Altmann T. The subtilisin-like serine protease SDD1 mediates cell-to-cell signaling during *Arabidopsis* stomatal development, *Plant Cell*, 2002, 14(7): 1527-1539
- [22] Bergmann DC, Lukowitz W, Somerville CR. Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase, *Science*, 2004, 304(5676): 1493-1497
- [23] Wang H, Ngwenyama N, Liu Y, et al. Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 2007, 19(1): 63-73
- [24] Mishra NS, Tuteja R, Tuteja N. Signaling through MAP kinase networks in plants, *Arch Biochem Biophys*, 2006, 452 (1): 55-68
- [25] Gray JE, Hetherington AM. Plant development: YODA the stomatal switch, *Current Biol*, 2004, 14(12): R488-R490
- [26] Serna L. bHLH proteins know when to make a stoma, *Trends*

- Plant Sci*, 2007, 12(11): 483-485
- [27] Gray JE. Plant development: three steps for stomata, *Curr Biol*, 2007, 17(6): R213-R215
- [28] 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
- [29] Lampard GR, MacAlister CA, Bergmann DC. *Arabidopsis* stomatal initiation is controlled by MAPK-mediated regulation of the bHLH SPEECHLESS, *Science*, 2008, 322(5904): 1113-1116
- [30] Pillitteri LJ, Sloan DB, Bogenschutz NL, *et al.* Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata, *Nature*, 2007, 445(7127): 501-505
- [31] 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
- [32] Ohashi-Ito K, Bergmann DC. *Arabidopsis* FAMA controls the final proliferation/differentiation switch during stomatal development, *Plant Cell*, 2006, 18(10): 2493-2505
- [33] 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(7): 1775-1785
- [34] Hofmann NR. They all scream for ICE1/SCRM2: Core regulatory units in stomatal development, *Plant Cell*, 2008, 20(7): 1732
- [35] Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, *et al.* ICE1: A regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis*, *Genes Dev*, 2003, 17(8): 1043-1054
- [36] 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(10): 2754-2767
- [37] Kutter C, Schöb H, Stadler M, *et al.* MicroRNA-mediated regulation of stomatal development in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 2007, 19(8): 2417-2429
- [38] Casson SA, Franklin KA, Gray JE, *et al.* Phytochrome B and PIF4 regulate stomatal development in response to light quantity, *Curr Biol*, 2009, 19(3): 229-234

Molecular Genetic Mechanism of Stomatal Development of *Arabidopsis*

Rui-Ling Jia, Qian-Qian Qin, Yan-Ping Zhang, Xi Cheng, Kai Liang, Sui-Wen Hou*

(School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract Stomata are composed of two highly specialized guard cells, and serve as the major conduits for CO₂ and H₂O exchange between plants and the atmosphere. In *Arabidopsis*, stomatal development is not only initiated in some dispersed stem cells which undergo asymmetric divisions, but also a series of cell fate specialization events, and this process is regulated by cell-cell signals so that the newly formed stomata can maintain “One-cell spacing pattern” with the existing stomata or precursors. EPF1 may be a positional signal produced by stomatal precursors to regulate behavior of nearby cells. TMM-ER-family receptor complex and a MAPK signaling cascade, served as the negative regulators, orient the proper plane of asymmetric division during stomatal development and restrict stomatal differentiation. But positive regulators, bHLH transcription factor and MYB proteins, mainly control cell fate transitions in stomatal lineage.

Key words *Arabidopsis thaliana*; stomatal development; signal transduction; molecular mechanism

Received: April 16, 2009 Accepted: September 11, 2009

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30670124) and the Natural Science Foundation of Gansu Province (No.3ZS061-A25-062)

*Corresponding author. Tel: 86-931-8915399, Fax: 86-931-8915399, E-mail: housw@lzu.edu.cn