

気孔密度の調節機構とその環境応答*

京都大学 大学院理学研究科 植物学系
 嶋田 知生*、菅野 茂夫、西村 いくこ

1. はじめに

葉の表面には無数の気孔が存在し、植物体と大気との間のガス交換に機能している。気孔を通して植物は光合成の基質である二酸化炭素 (CO₂) を取り込むが、このとき同時に植物体からは水分が失われる。このため、気孔のガス交換効率を調節することは植物の生存にとって非常に重要である。ガス交換の調節システムとしては、気孔の開閉がよく知られている¹⁾。また、より長期的な調節システムとして、気孔の数すなわち気孔密度の調節も存在する²⁾。植物は環境に合わせて新しく展開する葉の気孔密度を変化させることができるのである。

近年、モデル植物シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的解析から、気孔形成に関与する遺伝子群とそれらの機能が明らかになってきた^{3,4)}。気孔ができるとき、

表皮組織では気孔形成のフィードバック抑制が働いており、この抑制性シグナルとして機能する分泌性ペプチドが明らかになっている⁵⁻⁷⁾。一方、最近私たちを含め3つのグループが気孔形成を促進するという逆の機能をもつ分泌性ペプチドを報告した⁸⁻¹⁰⁾。この促進性ペプチドは葉の内部組織に由来することから、光合成組織と表皮の間の組織間シグナリングの存在が浮上してきた。本稿では、私たちの研究成果を含め、気孔密度の調節機構とその環境応答について解説する。

2. シロイヌナズナにおける気孔の形成過程

図1に示すように、気孔は葉の表皮の未分化な細胞から複数のステップを経て形成される^{11,12)}。まず、原表皮細胞 (Protoderm) がメリステモイド母細胞 (MMC) に分化し、それが非対称分裂して三角形の

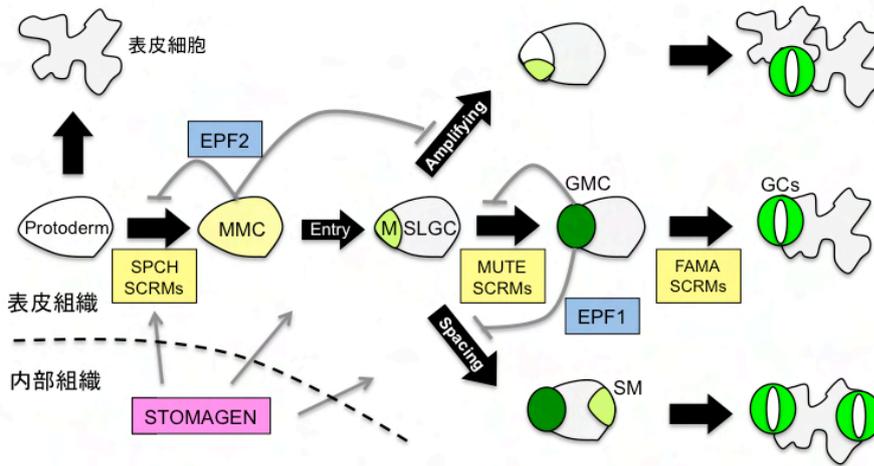


図1 シロイヌナズナ葉における気孔形成とその制御

気孔は葉の発生初期に決まった細胞系譜を経て形成される。気孔系列の細胞系譜の進行はbHLH型の転写因子によって制御されている。各ステップはEPFLファミリーの分泌ペプチドが調節している。各細胞の名称と制御因子の詳細は本文参照。

小さなメリステモイド (M) と大きな姉妹細胞 (SLGC、後述) を生み出す。この非対称分裂は気孔系列に入る最初の細胞分裂であり、Entry divisionと呼ばれる。メリステモイドは幹細胞的な性質をもち、さらに非対称分裂を1-3回繰り返して娘細胞を生み出す。この細胞分裂は細胞数を増加させるため、Amplifying divisionと呼ばれる。メリステモイドはやがて円形の孔辺母細胞

* 解説特集「新しい光合成研究と未来」

* 連絡先 E-mail: tshimada@gr.bot.kyoto-u.ac.jp

(GMC)に分化し、それが対称分裂することにより孔辺細胞 (GC) すなわち気孔が形成される。メリステモイドとともに形成される姉妹細胞は気孔系列グラウンド細胞 (SLGC) と呼ばれる。気孔系列グラウンド細胞はSpacing divisionと呼ばれる非対称分裂を行い、先にできたメリステモイドに接しないようにサテライトメリステモイド (SM) を形成する。このため、気孔は隣同士に接することはなく、one-cell spacing ルールと呼ばれている。葉の発生初期では多くの表皮細胞が孔辺細胞への分化能をもつが、発生が進むにつれてその分化能を失い、ジグソーパズル型の表皮細胞になっていく。以上のようにして、葉の表皮における気孔の密度とパターンが形成される。

遺伝子レベルで気孔形成はどのように制御されているのだろうか？気孔形成の細胞系譜の進行は2つのクラスの basic helix-loop-helix (bHLH) 型の転写因子によって制御されている (図1)¹³⁾。1つ目のクラスはSPEECHLESS (SPCH)、MUTE、およびFAMAの3つのパラログからなり、細胞系譜の別々のステップを制御している。SPCHは気孔系列の最初のステップである原表皮細胞からメリステモイド母細胞への分化に関与している¹⁴⁾。このため、*spch*変異体の表皮には気孔は形成されず、ジグソーパズル型の表皮細胞のみが存在する。*mute*変異体の表皮にも気孔は形成されないが、非対称分裂を繰り返した異常なメリステモイドが存在する。このため、MUTEはメリステモイドの非対称分裂を制御し、孔辺母細胞への分化を促進すると考えられる¹⁵⁾。*fama*変異体の表皮にも正常な気孔は形成されず、孔辺母細胞が何度も分裂し連なった未成熟な孔辺細胞が形成される。このことから、FAMAは気孔形成の最終ステップで孔辺母細胞の対称分裂を1回に制限し、孔辺細胞のアイデンティティーの確立に必要なと考えられる¹⁶⁾。2つ目のクラスはSCREAM/ICE1 (SCRM) とSCRM2の2つのbHLH型転写因子である。SCRM遺伝子の機能獲得型アリルである*scrm-D*の変異体では表皮が気孔だらけになる¹⁷⁾。SCRMとSCRM2は気孔系列細胞にずっと発現しており、SPCHやMUTEまたはFAMAとヘテロダイマーを形成し細胞系譜の進行を制御している。

気孔形成に関わる転写因子の活性調節にはMAPキナーゼカスケードが関与している (図2)。シロイヌナズナにはMAPキナーゼ (MAPK)、MAPキナーゼキナーゼ (MAP2K)、MAPキナーゼキナーゼキナーゼ

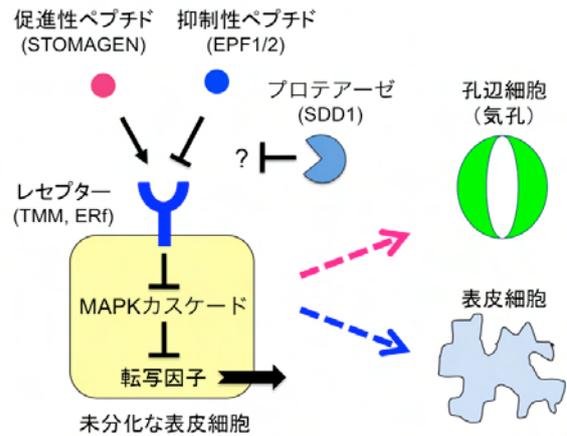


図2 気孔形成を制御する情報伝達系

気孔形成の各ステップは細胞外から細胞内に至る情報伝達系によって調節されている。制御因子の作用を示す矢印およびT字は最終的な気孔分化の促進または抑制を意味し、下流の制御因子への作用の意味ではない。

(MAP3K) をコードする遺伝子がそれぞれ20、10、80個と多数存在している^{18,19)}。このうち、YODA (MAP3K) とMKK4/5/7/9 (MAP2K) とMPK3/6 (MAPK) の組み合わせが、メリステモイド母細胞からメリステモイドへのステップとメリステモイドから孔辺母細胞へのステップで気孔形成を負に制御していることが示されている²⁰⁻²²⁾。前者は転写因子SPCHが、後者はMUTEが制御するステップである。実際に、メリステモイド母細胞におけるSPCHのリン酸化状態はMAPキナーゼカスケードによって制御されている²¹⁾。一方、孔辺母細胞から孔辺細胞への最終ステップはYODAとMKK7/9 (MAP2K) の組み合わせが正に制御していることが示唆されている²²⁾。MAPキナーゼカスケードは植物において様々な環境応答に機能することが知られている。このため、MAPキナーゼカスケードが気孔の発生プログラムと環境応答を統合している可能性も示唆されている。

3. 表皮組織におけるネガティブフィードバック制御

気孔形成を制御する細胞間シグナル因子としてEPIDERMAL PATTERNING FACTOR (EPF) ファミリーに含まれるシステイン残基に富む分泌性ペプチドが明らかとなってきた^{23,24)}。EPF1とEPF2は気孔形成の負の制御因子であり、過剰発現させると気孔数が減少する⁵⁻⁷⁾。EPF1とEPF2 (以下両者をまとめてEPF1/2と

表記) のアミノ酸配列は互いによく似ているが、EPF2は気孔形成の初期に原表皮細胞からメリステモイド母細胞へのステップで機能するのに対し、EPF1はサテライトメリステムを生み出す Spacing division の分裂面の決定など後期のステップで機能している (図1)。EPF1/2はこれらの機能を反映し、時期および空間特異的に発現している。すなわち、EPF2の発現はメリステモイド母細胞や若いメリステモイドに、EPF1の発現は孔辺母細胞や若い孔辺細胞に見られる。EPF1またはEPF2を過剰発現すると、それぞれを発現する細胞への分化が抑制される。このことから、EPF1/2はアポプラストに分泌され、近くの気孔系列細胞に作用しネガティブフィードバックで気孔形成の特定のステップを抑制していると考えられる。このフィードバック抑制は気孔密度を一定に保つために適した制御系といえる (図3)。すなわち、気孔密度が高くなる方向に傾くと、抑制シグナルが強くなりブレーキがかかる。逆に気孔密度が低くなる方向に傾くと、抑制シグナルが弱まり気孔ができやすくなる。

EPF1/2を受容するレセプターは、レセプター様膜タンパク質であるTOO MANY MOUTHS (TMM)^{25,26}とレセプター型キナーゼであるERECTAファミリータンパク質 (ERf)²⁷と考えられている (図2)。これらのタンパク質は細胞外ドメインにロイシンリッチリピートモチーフをもつ。ERfファミリーはERECTAとERL1とERL2の3つからなり、部分的にオーバーラップした機能を有している。TMMとERfファミリーは細胞膜上で複合体を形成して機能していると考えられている。TMMは細胞内のキナーゼドメインをもたないため、細胞外シグナルはERfのキナーゼを介して細胞内に伝えられると考えられる。TMMもERfも気孔形成の負の制御因子であり、それらの変異体では気孔密度が上昇する。

スブチリシン様プロテアーゼであるSTOMATAL DENSITY AND DISTRIBUTION 1 (SDD1) も気孔形成の負の制御因子として知られている (図2)。sdd1変異体では気孔密度が上昇し、気孔が隣同士にできクラスタを形成する^{28,29}。SDD1はEPF1/2などの負のシグナル因子の活性化に関与すると考えられてきた。しかし、EPF1/2をsdd1変異体で過剰発現させても気孔数を減らす効果がみられることから、これらのシグナル因子の機能はSDD1とは独立であることが示唆されている^{5,7}。別の可能性として、SDD1はTMMやERfなど

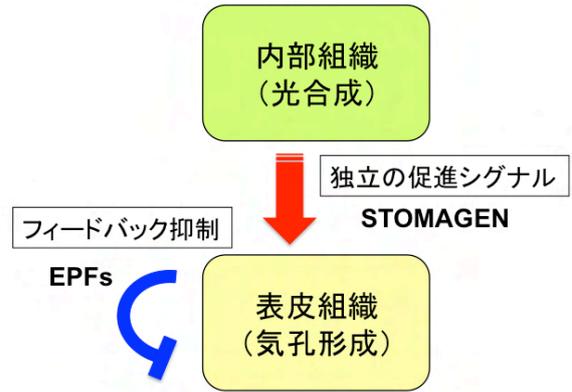


図3 組織間シグナルによる気孔密度の調節モデル

光合成を担う内部組織は促進シグナルを合成・分泌し、表皮の気孔密度を調節する。表皮組織では気孔密度を一定に保つためのフィードバック抑制が働いている。

の他の負の制御因子に作用するのかもしれない。あるいは、気孔形成を促進する因子 (後述) の分解を担っている可能性も考えられる。

4. 内部組織に由来する気孔制御因子

上記の負の制御因子とは対照的に、気孔形成を正に制御する因子としてSTOMAGEN/EPFL9の存在が明らかとなった⁸⁻¹⁰。STOMAGENを過剰発現させると気孔数が増加し、STOMAGENをノックダウンすると気孔数が減少する。気孔形成における効果は正反対であるが、STOMAGENもEPF1/2と同じペプチドファミリーに属し、システイン残基の位置は保存されている (図4)。STOMAGENの成熟型は3本のジスルフィド結合をもつ45アミノ酸からなるペプチドである。化学合成した45アミノ酸のSTOMAGENをシロイヌナズナの芽生えに与えると、気孔形成を誘導することができる。興味深いことに、気孔形成におけるSTOMAGENの正の効果に、負の制御因子であるTMMが必要であることが判明した。このことから、促進性ペプチドSTOMAGENと抑制性ペプチドEPF1/2が同じレセプターに拮抗的に作用することにより、気孔形成が制御されるというモデルが提唱されている (図2)。植物においては、同じレセプターに異なるシグナルが拮抗的に作用する例は知られておらず、新たな制御系として位置づけられる。

STOMAGEN遺伝子は、気孔が形成される表皮ではなく内部組織で発現していることが判明した^{9,10}。これは、他の気孔制御遺伝子が主に表皮組織で発現して

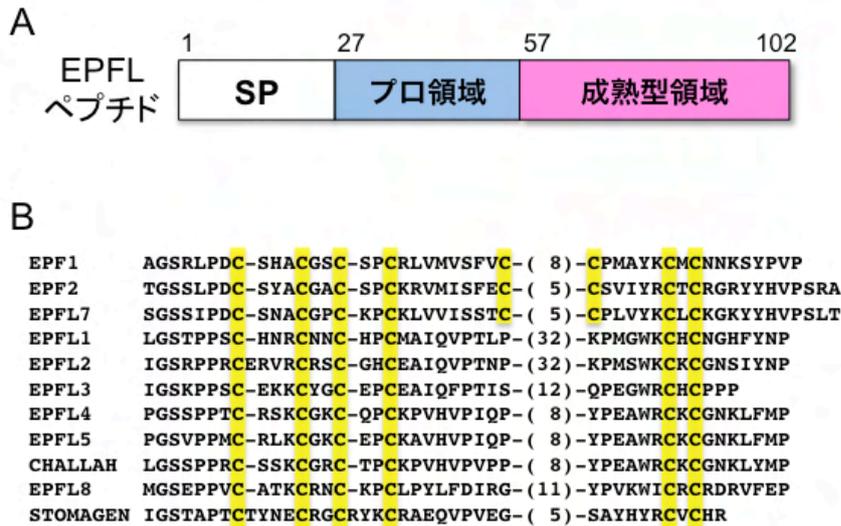


図4 EPFLファミリーペプチドの特徴

(A) EPFLファミリーペプチドの構造模式図。SPは分泌のためのシグナルペプチド。数字はSTOMAGENの場合のアミノ酸残基数。(B) シロイヌナズナの11個のEPFLファミリーペプチドの成熟型領域の配列アライメント。黄色で示すシステイン残基はよく保存されている。

いるのとは対照的である。気孔形成において、初めて組織間のシグナル伝達の存在が明らかとなった。組織間の情報伝達が存在している生理学的な意味は何であろうか？上述のように表皮組織におけるフィードバック抑制は、気孔密度を一定に保つために適した制御系といえる。一方で気孔密度は外部環境に適応して変化することが知られている。表皮組織における制御系だけでは、環境応答で気孔密度を変化させるには不向きなのかもしれない。内部組織なら表皮組織の気孔密度に関係無くシグナルを発信することができる(図3)。内部組織で発現するSTOMAGENは環境応答で気孔密度を変化させるときに有効に機能しているという可能性が考えられる。

最近、EPFファミリーに属するCHALLAH (CHAL/EPFL6)も内部組織に由来することが明らかとなった³⁰⁾。CHALを過剰発現させると気孔密度が低下するため、CHALはEPF1/2と同様に抑制性ペプチドである。CHALの機能はERfには依存するが、TMMとは独立であることが示されている。CHAL遺伝子は主に胚軸や茎で発現し、葉や子葉では発現がみられないため、器官特異的な気孔形成に関わっていると思われる。

5. 気孔形成の環境応答

植物はCO₂の取り込みと蒸散のバランスを最適化するために、環境に応じて気孔密度を調節している。植

物標本の気孔密度を調べた結果、産業革命以降の大気中CO₂濃度の上昇に伴って、様々な植物種の気孔密度が低下していることが報告された³¹⁾。実際に、CO₂濃度を上げて植物を生育させると、多くの植物種で気孔密度が減少する²⁾。モデル植物シロイヌナズナも多くのエコタイプで気孔密度が減少するが、ほとんど反応しないエコタイプや逆に気孔密度が増加するエコタイプも存在する³²⁾。気孔密度に影響を与える環境要因として、CO₂とともに光

強度も知られている。強い光照射により気孔密度は上昇する³³⁾。特に赤色光が有効であり、赤色光受容体のphytochrome Bやその下流の転写因子であるPIF4が気孔密度の光応答に関わっている⁶⁾。

気孔密度の環境応答の分子メカニズムはまだよく分かっていない。気孔密度のCO₂応答に異常を示す変異体として、シロイヌナズナ*hic*変異体が報告されている³⁴⁾。高CO₂条件で生育すると野生型シロイヌナズナC24の気孔密度は低下もしくは変化しないが、*hic*変異体では上昇する。(同じ著者らの最近の報告では野生型シロイヌナズナC24の気孔密度は高CO₂条件で上昇している³⁵⁾。) *HIC*遺伝子は3-ketoacyl-CoA synthaseをコードしており、ワックス合成における超長鎖脂肪酸の伸長反応に関与すると思われる。*HIC*遺伝子は孔辺細胞特異的に発現しており、気孔形成に関わる拡散性のシグナルの透過性が変化し、気孔密度の制御に異常が起こる可能性が示唆されている。

環境に応じて気孔密度を調節するとき、植物はどこでCO₂を感受しているのだろうか？1つの可能性として、孔辺細胞自身がCO₂の感受に関わっていることが示唆されている。CO₂に応答した気孔の開閉に異常を示す変異体として単離されたβ-carbonic anhydraseのβCA1とβCA4の二重欠損変異体が、気孔密度にも異常を示すことが報告されている³⁶⁾。気孔特異的にβ-carbonic anhydraseを発現させると表現型が回復するこ

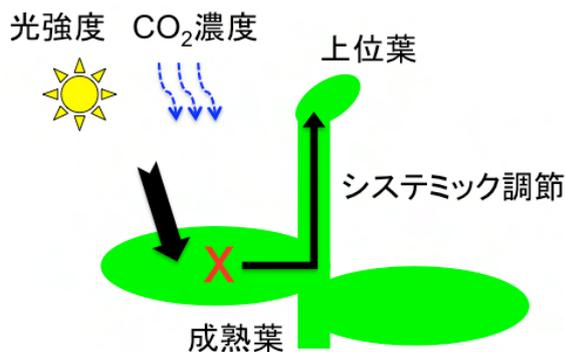


図5 気孔密度のシステミック調節モデル

植物は成熟葉で環境刺激を受容し、上位葉の気孔密度を変化させることができる。成熟葉から上位葉に未知のシステミックシグナル (X) が伝達されると考えられている。

とから、CO₂の感受場所は孔辺細胞であると考えられる。それでは、どの部位の孔辺細胞がCO₂シグナルを受容しているのだろうか？植物は成熟した下位葉でCO₂や光などのシグナルを受け、新しく展開する上位葉の気孔密度を変化させていることが報告されている³⁷⁻³⁹。いわゆるシステミック調節の存在が示唆され、何らかのシグナルが植物体内を長距離伝達されている可能性がある (図5)。しかし、そのシグナル実体については全く分かっていない。

6. おわりに

現在までに、気孔形成の各ステップを制御する遺伝子が多数明らかとなってきた。面白いことに、各ステップではよく似た制御因子 (分泌ペプチド、レセプター、転写因子など) がセットとして機能している。このことから、気孔形成の制御因子は遺伝子重複と新規機能の獲得でできてきたと思われる。例えば、気孔形成の促進性ペプチドであるSTOMAGENは抑制性ペプチドの遺伝子重複から誕生したと考えられる。レセプター結合能を保持したままシグナル伝達能を喪失すると、本来の抑制性ペプチドと競合するため促進性ペプチドとして機能しうるからである。STOMAGEN様の遺伝子は多くの被子植物とシダ植物のイヌカタヒバ (*Selaginella moellendorffii*) には存在するが、陸上植物の基部に位置するコケ植物には見つかっていない¹⁰。

植物が最初に気孔を獲得したとき、気孔形成は単一のステップからなる抑制的な制御系だったと想像される。その後、進化の過程でステップを重複させ改良す

ることにより、気孔形成は複雑化してきたと思われる。この複雑化により気孔の密度調節とパターン形成が可能になったのだろう。気孔密度の調節は、水から上がった植物が乾燥した陸上で生き残るための適応の1つと考えられる。生育環境に合わせて気孔密度をより精密に制御することにより、植物は今の繁栄を手に入れたのかもしれない。今後、さらに多くの植物のゲノム情報とその機能解析が進むと、気孔形成に関わる遺伝子がいつ獲得され、気孔形成の制御系がどのように進化してきたか、より詳細に議論できるようになるだろう。

Received March 5, 2011, Accepted March 28, 2011, Published April 30, 2011

参考文献

- Kim, T.-H., Böhrer, M., Hu, H., Nishimura, N., and Schroeder, J. I. (2010) Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling, *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 561-591.
- Hetherington, A. M., and Woodward, F. I. (2003) The role of stomata in sensing and driving environmental change, *Nature* 424, 901-908.
- Serna, L. (2009) Cell fate transitions during stomatal development, *BioEssays* 31, 865-873.
- Dong, J., and Bergmann, D. C. (2010) Stomatal patterning and development, *Curr. Top. Dev. Biol.* 91, 267-297.
- Hara, K., Kajita, R., Torii, K. U., Bergmann, D. C., and Kakimoto, T. (2007) The secretory peptide gene *EPFL* enforces the stomatal one-cell-spacing rule, *Genes Dev.* 21, 1720-1725.
- Casson, S. A., Franklin, K. A., Gray, J. E., Grierson, C. S., Whitlam, G. C., and Hetherington, A. M. (2009) phytochrome B and PIF4 regulate stomatal development in response to light quantity, *Curr. Biol.* 19, 229-234.
- Hara, K., Yokoo, T., Kajita, R., Onishi, T., Yahata, S., Peterson, K. M., Torii, K. U., and Kakimoto, T. (2009) Epidermal cell density is autoregulated via a secretory peptide, EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 2 in *Arabidopsis* leaves, *Plant Cell Physiol.* 50, 1019-1031.
- Hunt, L., Bailey, K. J., and Gray, J. E. (2010) The signalling peptide EPFL9 is a positive regulator of stomatal development, *New Phytol.* 186, 609-614.
- Kondo, T., Kajita, R., Miyazaki, A., Hokoyama, M., Nakamura-Miura, T., Mizuno, S., Masuda, Y., Irie, K., Tanaka, Y., Takada, S., Kakimoto, T., and Sakagami, Y. (2010) Stomatal density is controlled by a mesophyll-derived signaling molecule, *Plant Cell Physiol.* 51, 1-8.

10. Sugano, S. S., Shimada, T., Imai, Y., Okawa, K., Tamai, A., Mori, M., and Hara-Nishimura, I. (2010) Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*, *Nature* 463, 241-244.
11. Nadeau, J. A., and Sack, F. D. (2002) Stomatal development in *Arabidopsis*, in *The Arabidopsis Book* (Meyerowitz, E. M. and Somerville, C. R., Eds.), American Society of Plant Biologists Rockville, MD, doi/10.1199/tab.0066, <http://www.aspb.org/publications/arabidopsis>.
12. Bergmann, D. C., and Sack, F. D. (2007) Stomatal development, *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 163-181.
13. Serna, L. (2009) Emerging parallels between stomatal and muscle cell lineages, *Plant physiol.* 149, 1625-1631.
14. MacAlister, C. A., Ohashi-Ito, K., and Bergmann, D. C. (2007) Transcription factor control of asymmetric cell divisions that establish the stomatal lineage, *Nature* 445, 537-540.
15. Pillitteri, L. J., Sloan, D. B., Bogenschutz, N. L., and Torii, K. U. (2007) Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata, *Nature* 445, 501-505.
16. Ohashi-Ito, K., and Bergmann, D. C. (2006) *Arabidopsis* FAMA controls the final proliferation/differentiation switch during stomatal development, *Plant Cell* 18, 2493-2505.
17. Kanaoka, M. M., Pillitteri, L. J., Fujii, H., Yoshida, Y., Bogenschutz, N. L., Takabayashi, J., Zhu, J.-K., and Torii, K. U. (2008) *SCREAM/ICE1* and *SCREAM2* specify three cell-state transitional steps leading to *Arabidopsis* stomatal differentiation, *Plant Cell* 20, 1775-1785.
18. Colcombet, J., and Hirt, H. (2008) *Arabidopsis* MAPKs: a complex signalling network involved in multiple biological processes, *Biochem. J.* 413, 217-226.
19. Rodriguez, M. C., Petersen, M., and Mundy, J. (2010) Mitogen-activated protein kinase signaling in plants, *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 621-649.
20. Wang, H., Ngwenyama, N., Liu, Y., Walker, J. C., and Zhang, S. (2007) Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis*, *Plant Cell* 19, 63-73.
21. Lampard, G. R., MacAlister, C. A., and Bergmann, D. C. (2008) *Arabidopsis* stomatal initiation is controlled by MAPK-mediated regulation of the bHLH SPEECHLESS, *Science* 322, 1113-1116.
22. Lampard, G. R., Lukowitz, W., Ellis, B. E., and Bergmann, D. C. (2009) Novel and expanded roles for MAPK signaling in *Arabidopsis* stomatal cell fate revealed by cell type-specific manipulations, *Plant Cell* 21, 3506-3517.
23. Rowe, M. H., and Bergmann, D. C. (2010) Complex signals for simple cells: the expanding ranks of signals and receptors guiding stomatal development, *Curr. Opin. Plant Biol.* 13, 1-8.
24. Rychel, A. L., Peterson, K. M., and Torii, K. U. (2010) Plant twitter: ligands under 140 amino acids enforcing stomatal patterning, *J. Plant Res.* 123, 275-280.
25. Yang, M., and Sack, F. D. (1995) The *too many mouths* and *four lips* mutations affect stomatal production in *Arabidopsis*, *Plant Cell* 7, 2227-2239.
26. Nadeau, J. A., and Sack, F. D. (2002) Control of stomatal distribution on the *Arabidopsis* leaf surface, *Science* 296, 1697-1700.
27. Shpak, E. D., McAbee, J. M., Pillitteri, L. J., and Torii, K. U. (2005) Stomatal patterning and differentiation by synergistic interactions of receptor kinases, *Science* 309, 290-293.
28. Berger, D., and 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.
29. Von Groll, U., Berger, D., and Altmann, T. (2002) The subtilisin-like serine protease SDD1 mediates cell-to-cell signaling during *Arabidopsis* stomatal development, *Plant Cell* 14, 1527-1539.
30. Abrash, E. B., and Bergmann, D. C. (2010) Regional specification of stomatal production by the putative ligand CHALLAH, *Development* 137, 447-455.
31. Woodward, F. I. (1987) Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from pre-industrial levels, *Nature* 327, 617-618.
32. Woodward, F. I., Lake, J. A., and Quick, W. P. (2002) Stomatal development and CO₂ : ecological consequences, *New Phytol.* 153, 477-484.
33. Schoch, P., Zinsou, C., and Sibi, M. (1980) Dependence of the stomatal index on environmental factors during stomatal differentiation in leaves of *Vigna sinensis* L.: 1. Effect of light intensity, *J. Exp. Bot.* 31, 1211-1216.
34. Gray, J. E., Holroyd, G. H., van der Lee, F. M., Bahrami, A. R., Sijmons, P. C., Woodward, F. I., Schuch, W., and Hetherington, A. M. (2000) The HIC signalling pathway links CO₂ perception to stomatal development, *Nature* 408, 713-716.
35. Lake, J. A., and Woodward, F. I. (2008) Response of stomatal numbers to CO₂ and humidity: control by transpiration rate and abscisic acid, *New Phytol.* 179, 397-404.
36. Hu, H., Boisson-Dernier, A., Israelsson-Nordström, M., Böhmer, M., Xue, S., Ries, A., Godoski, J., Kuhn, J. M., and Schroeder, J. I. (2010) Carbonic anhydrases are upstream regulators of CO₂-controlled stomatal movements in guard cells, *Nat. Cell Biol.* 12, 87-93.
37. Lake, J. A., Quick, W. P., Beerling, D. J., and Woodward, F. I. (2001) Plant development. Signals from mature to new leaves, *Nature* 411, 154.
38. Thomas, P., Woodward, F., and Quick, W. (2004) Systemic irradiance signalling in tobacco, *New Phytol.* 161, 193-198.
39. Coupe, S. A., Palmer, B. G., Lake, J. A., Overy, S. A., Oxborough, K., Woodward, F. I., Gray, J. E., and Quick,

W. P. (2006) Systemic signalling of environmental cues in *Arabidopsis* leaves, *J. Exp. Bot.* 57, 329-341.

The Control of Stomatal Density and Its Environmental Response

Tomoo Shimada*, Shigeo S. Sugano, Ikuko Hara-Nishimura
Department of Botany, Graduate School of Science, Kyoto University