

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2022.13024

综述

## 玉米密植光合生理机制及应用途径研究进展

郭瑶 柴强\* 殷文 范虹

省部共建干旱生境作物学国家重点实验室 / 甘肃农业大学农学院, 甘肃兰州 730070

**摘要:** 在有限土地面积上生产足够粮食保证粮食安全, 关键在于提高单产。密植作为提高玉米单产的重要农艺措施, 适度增加种植密度, 其群体光合速率不受影响甚至有所提高, 进而可以增加单产。揭示玉米密植光合生理学机理, 是当前提高单产的重点研究方向。密植致使玉米光合特性发生改变, 调控限制光合生理因子是有效促进玉米密植增产的关键所在, 而挖掘密植增产的光合生理学潜力是玉米密植生理学基础, 在保障粮食安全中发挥着重要作用。因此, 本文基于前人研究成果, 重点综述了光合生理研究方法思路变迁, 国内外玉米适应密植的光合生理响应和相关农艺调控途径研究现状, 为光合生理研究提供理论基础与技术方法。围绕未来玉米密植生产对科技的需求, 依据现代科技的发展趋势, 我们认为, 传统研究方法必须结合分子生物学技术挖掘光合潜力或缩小实际与理论光合速率之间的差距以实现高光效是未来玉米密植研究的主要目标。探讨光合生理功能基因差异表达对栽培措施的反应作为今后研究的重点之一, 明确农艺措施与密植玉米光合相关基因表达信息的联系与互作关系, 通过农艺栽培措施与分子生物学技术融合挖掘玉米密植增产的光合生理潜力, 为玉米密植增产提供光合生理理论和实践支撑。

**关键词:** 玉米; 密植; 方法变迁; 光合生理; 调控途径

## Research progress of photosynthetic physiological mechanism and approaches to application in dense planting maize

GUO Yao, CHAI Qiang\*, YIN Wen, and FAN Hong

State Key Laboratory of Arid Land Crop Science / Faculty of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China

**Abstract:** To ensure enough crop production of limited land area is important to food security. The key to solve this issue is to increase yield per unit area. Dense planting is an effective agronomic management practice to increase yield per unit area, photosynthetic rate would not be decreased or even improved by increasing planting density moderately, and then enhancing the yield per unit area. It is a key research focus on revealing the mechanism of photosynthetic physiology for improving yield per unit area by dense planting condition of maize. Dense planting would lead to change photosynthetic characteristics, so controlling the physiological factors that restricts photosynthesis is essential for increasing yield. Tap the photosynthetic physiologic potential for maize condition is physiological basis to ensure yield, which plays an important role in addressing food security issues. Therefore, this review focuses on the changes of the research methods and ideas in photosynthetic physiology, and the research status of the photosynthetic physiological response of maize adapted to dense planting and related agronomic regulation pathways at home and abroad, based on previous research results, so as to provide the theoretical and technical methods basis for photosynthetic physiology research. Based on the development trend of modern technology, it is believed that tapping photosynthetic potential and narrowing the gap between photosynthetic potential and actual photosynthetic efficiency are still the main goals of maize dense planting research by traditional research methods combined with molecular biology techniques in the future. In further study, research emphasis should be to investigate the responses of differential expression of photosynthetic physiological function genes to

本研究由国家自然科学基金项目(32101857, U21A20218), 甘肃省科技计划项目(20JR5RA037), 甘肃农业大学伏羲青年人才培养计划项目(Gaufx-03Y10)和中央引导地方科技发展专项(ZCYD-2021-10)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (32101857, U21A20218), the Science and Technology Project of Gansu Province (20JR5RA037), the Fuxi Young Talents Fund of Gansu Agricultural University (Gaufx-03Y10), and the Central Government will Guide Local Science and Technology Development Projects (ZCYD-2021-10).

\* 通信作者(Corresponding author): 柴强, E-mail: chaiq@gsau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: guoyaogsau@126.com

Received (收稿日期): 2021-03-19; Accepted (接受日期): 2022-02-22; Published online (网络出版日期): 2022-03-09.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20220307.1930.003.html>

cultivation measures, clarifying the relationship and interaction between agronomic management practice and information expression of photosynthetic-related genes in densely planted maize, enhancing photosynthetic potential for maize via agronomic management practice and molecular biology technology, in order to provide photosynthetic physiological theory and practice to support for maize dense planting.

**Keywords:** maize; dense planting; method changes; photosynthetic physiological; regulation approach

玉米是我国乃至全球第一大作物,在保障粮食安全中占有重要地位<sup>[1]</sup>。根据国家统计局公布的数据显示,玉米播种面积逐年下降,随着人口总量和居民生活水平的同步提升,对玉米需求仍然呈增长态势,提高单产是增强区域性玉米持续生产的可行途径,而密植是提高单产的重要措施<sup>[2-4]</sup>。玉米是高光效、耐密性强、增产潜力大的C<sub>4</sub>作物,密植通过增加单位土地面积穗数提高群体干物质积累,却降低了单株玉米资源获得量<sup>[5]</sup>,加剧群体内部竞争,然而配套适宜的田间管理弱化竞争,实现高产。密度持续增大或在资源供给阈值之上时,群体内部郁闭,光合效率降低<sup>[6]</sup>。因此,获得高产必须依靠挖掘作物自身的生物学潜力(本质上就是生理潜力),在资源节约型可持续农业背景需求下,投入不增加时只有挖掘作物生理潜力才能达到增产目的。光是产量形成的第一大资源因子,也是人工较难调控的生态因子,研究光合生理是破解密植障碍的首选途径。投入不增加时如何保持密植玉米较高的光合效率,是玉米密植增产急需解决的关键技术问题。本文综述了国内外有关光合生理研究的方法与思路变迁,阐述分子生物学技术相关研究进展有望揭示光合生理机制研究的有效手段,重点解析密植玉米光合产物分配,群体、叶片与分子光合生理机制,为密植玉米光合生理研究提供理论基础与技术方法。

## 1 光合生理研究方法与思路的变迁

光合生理研究技术方法直接关系到研究成果的获得,而重大研究成果大都巧妙利用多种技术的融合或新技术所得,本文对光合作用研究中广泛使用的技术方法进行梳理,为光合生理研究技术方法的选择提供理论依据。

叶面积指数(leaf area index, LAI)和光合势(leaf area duration, LAD)是衡量群体光合潜力的重要指标<sup>[7]</sup>,作物群体光合速率(photosynthetic rate,  $P_n$ )随 LAI 与 LAD 的增大而增加。传统 LAI 测定方法以地面直接测量(如叶面积指数仪法、收获测量法和落叶收集法等)为主,则通过有效叶面积指数反应群体光合能力,即单位土地面积上受太阳直射进行

光合作用的绿色叶面积大小直接反应光合强度。对作物具有较大破坏,费时费力<sup>[8]</sup>,且无法解析作物光合作用的生理机制,而直接进行叶片光合速率的测定是探究生理调节规律和探讨生物化学机制的必要手段。

传统光合速率测定方法大体分 2 种(干物质积累和气体交换测定)。干物质积累测定方法简单,不需要特殊的仪器设备。从生产尺度来讲,利用净同化率(net assimilation rate, NAR)衡量作物光合效率,可以真实直观地反映田间自然条件下光合作用状况。而环割叶柄韧皮部以阻断叶片光合物输出,对进行一段时间光合作用的叶片称重,干重增加量可衡量作物特定部位的光合速率。反映群体光合能力,接近光下叶片  $P_n$  的近似值。不管从生产尺度还是特定部位测定光合速率的 2 种干物质积累法,对作物破坏性较强,并且不能迅速连续测定。应用气体(CO<sub>2</sub>吸收和 O<sub>2</sub>释放)交换测定  $P_n$ ,主要利用碱性物质吸收 CO<sub>2</sub>特性和 O<sub>2</sub>释放测定光合作用。Hill 首次利用氧释放测定方法研究离体叶绿体光下放氧,使光合作用研究从植物个体、器官和单个细胞深入到叶绿体水平<sup>[9]</sup>。氧释放测定小球藻的光合作用量子效率,阐明了光合作用中水分子氧化裂解反应顺序<sup>[10]</sup>。另外,利用气相氧电极可以在高 CO<sub>2</sub>浓度下消除气孔导度(stomatal conductance,  $G_s$ )和光呼吸的影响,观测叶片光合效率变化,但可能由于过高胞间二氧化碳浓度(cellular CO<sub>2</sub> concentration,  $C_i$ )引起叶肉细胞质酸化严重抑制 C<sub>4</sub>作物光合作用关键酶磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)活性,因此并不适用于玉米(C<sub>4</sub>)叶片的研究<sup>[11]</sup>。

放氧测定是揭示生物体光合生理机制不可缺少的方法,却无法同时满足光合酶和膜结构的研究。电子显微镜、X 射线衍射分析和冷冻电子显微镜被广泛用于光合过程蛋白质分子以及复合物结构解析<sup>[12-15]</sup>。采用短波长电子束作光源穿过标本,用 80~300 kV 电子束加速电压产生电磁场作透镜,通过透镜进行折射形成图像,增加显微镜分辨率,通过电子显微镜揭示了叶肉细胞和维管束鞘细胞之间的差异、提供

了蓝细菌光系统 I (photosystem I, PSI) 三聚体的第 1 个图像、首次利用该技术阐明了 PSI 复合体中单个蛋白质亚基以及铁氧还原蛋白结构<sup>[11]</sup>。利用高分辨率显微镜技术在纳米水平上展示了类囊体膜上光复合物的天然结构及相互结合方式, 并揭示了类囊体膜结构和功能的光适应调节机制<sup>[16]</sup>, 但是电子显微镜辨别能力有限, 只适用观测无机样本。X 射线衍射技术利用单纯的蛋白质结晶 X 射线衍射确定蛋白质结构, 应用该技术首次解析了蓝细菌细胞色素复合体结构<sup>[12]</sup>、蓝细菌光合放氧中心结构<sup>[17]</sup>和菠菜捕光天线复合体 LHC II<sup>[13]</sup>。然而, 对于捕光天线复合体 LHC II 如何与 PSII 核心复合物在特定位置组装以高效传递激发能, X 射线衍射分析无法揭示<sup>[15]</sup>。冷

冻电子显微镜技术核心是透射电镜成像, 根据高速运动的电子在磁场中发生偏转的原理, 电磁透镜对电子进行汇聚与电子进行聚焦成像以及放大, 在介质上形成样品放大的图像, 利用计算机这些放大的图像进行分析获得样品的精细结构。使用分辨率为 3.2 Å 单粒子冷冻电子显微镜确定菠菜 LHC II 超复合物的结构, 揭示了 1-1-MDa 同源二聚体超分子系统复杂的内部工作原理, 此系统包含了 50 个蛋白亚基, 210 个叶绿素, 56 个类胡萝卜素和多个其他辅助因子, 提出了 3 种不同 PSII-LHC II 复合物与 PSII 核心复合物之间的能量传递<sup>[14]</sup>, 对于 PSII-LHC II 超复合物如何与 PSII 核心复合物在特定位置组装达到高效传递激发能体现出了优势<sup>[15]</sup>。

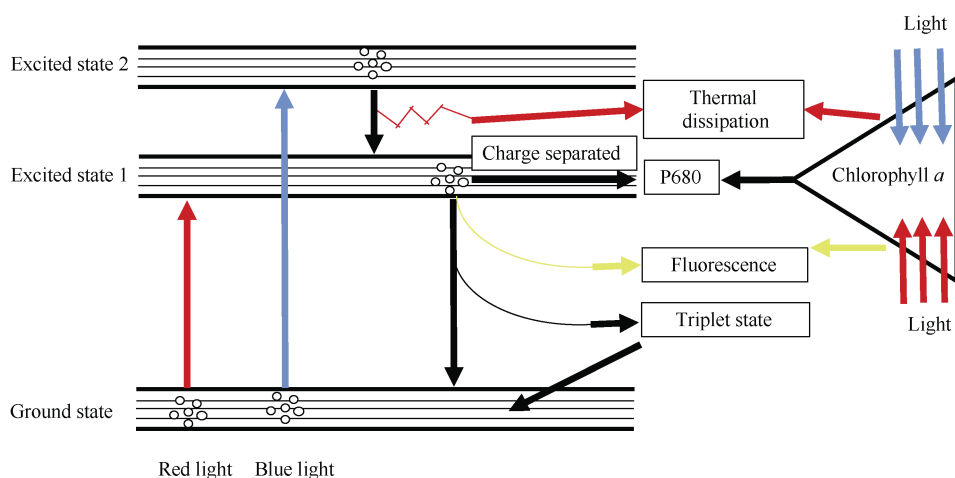


图 1 叶绿素分子的光激发结构图<sup>[11]</sup>

Fig. 1 Structural map for light excitation of chlorophyll molecules<sup>[11]</sup>

同位素标记用于揭示光合作用中碳同化途径, 利用放射性同位素不断地放出特征射线的核物理性质, 应用核探测器随时追踪它在体内或体外的位置、数量及其转变等, 提出涉及中间产物和多种酶的碳还原循环<sup>[18]</sup>, 此方法对试验设计的巧妙度要求很高, 并不适用普遍试验, 但是光谱技术研究可避免这一点。光谱技术利用物质吸收电磁辐射时, 分子从基态转变为激发态, 当激发态衰减回到较低能量态时, 能量以荧光或磷光的形式发射出来, 当电磁辐射通过物质时, 一小部分能量被散射。利用光谱学技术鉴定光合反应中心原初电子供体及功能状态光诱导(电荷分离状态)和非功能状态(三线激发态如图 1), 研究电子传递, 鉴定出 PSII 电子受体去镁叶绿素、质体醌(plastoquinone, PQ)和 PSI 的电子受体叶绿醌(antihemorrhagic vitamin, A1)<sup>[19]</sup>。利用仪器观测手续简便, 获得结果迅速, 反应灵敏, 对植

物干扰少, 破坏小; 对观测环境要求严格。随着光合作用的光抑制研究广泛而深入, 在光系统光破坏防御研究中, 利用色谱法分析叶片色素组分的变化。色谱分析在携带混合物的流动相流过静止不动的固定相时, 混合物各组分反复进行分配, 由于各组分物质结构和性质不同, 决定了他们与两相的作用力不同, 以至于他们在两相之间的分配系数不同, 随流动相向前移动的速度不同, 结果彼此分离。利用该技术揭示了油菜素内脂 24-表油菜素内脂(brassinosteroid 24-epibrassinolide, EBR)和硒可以降低叶绿体中玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEA)毒性作用, 并且提高细胞中抗氧化酶活性, 叶绿素和类胡萝卜素含量, 促进 PSII 恢复能力<sup>[20]</sup>。色谱法高效、高灵敏度、高速, 操作简单, 通常在室温下就可以进行, 样品要求较低; 适用性较窄。然而, 伴随其他新技术的出现, 色谱分析法使用越来越少。

虽然利用气体测量法、电子显微镜、X射线衍射、冷冻电子显微镜、光谱学等多种技术的实验研究使人们对关于光合作用反应过程及复合体结构与功能获得了重要认识,但是对光合作用过程中确切的调控机制缺乏统一认知。分子生物学技术方法是揭示光合作用调控机制的有效工具。主要于光合作用研究的分子生物学技术包括改变基因表达水平和引入外源基因等<sup>[11]</sup>。改变基因表达水平,通过基因突变或基因敲除、基因沉默、反义和RNA干扰等技术使有关基因不表达、少表达,探讨该基因及其所编码蛋白质和酶的功能;引入外源基因,引入其他物种编码光合作用关键酶的基因而提高光合作用潜力。光合作用重要参与色素叶绿素的发育与合成很大程度上依赖于质体基因组与核基因组之间的双向信号传导来精确协调基因表达,以CRISPR/Cas9-*ZmpTAC2*玉米转基因编辑纯合突变株系为研究材料,发现*ZmpTAC2*突变会导致叶绿体早期生物合成受阻,该基因参与叶绿体发育及叶绿素合成,且该作用是通过*ZmpTAC2*调控PEP相关基因表达而实现的<sup>[21]</sup>。通过引入其他物种编码光合作用关键酶的基因而提高光合潜力,是创造具有高光效作物新品种的有效途径。将玉米C<sub>4</sub>型*pepc*和*ppdk*基因导入水稻基因组中,研究发现转基因水稻PPDK和PEPC酶活性增加4.3倍和19.1倍,在光能利用研究方面具有明显的优势<sup>[22]</sup>。虽然分子生物学技术按照人们需求和意愿改造作物,但破坏了自然遗传进化规律。

目前,作物光合生理研究主要集中在光合参数、光合生理调控酶等生理指标,以及影响光合生理特性的形态指标(如株型和叶夹角等)与生态指标(光分布、群体湿度、CO<sub>2</sub>浓度等)。以上研究方法仅揭示了作物生长发育的光合生理表现特性,想要深入挖掘作物生理潜力实现准确调控,必须将传统群体研究方法与现代分子生物学技术科学融合。

## 2 玉米适应密植的光合生理响应

密植是进一步提高作物产量、降低生产成本的可行途径<sup>[23]</sup>,但当密度超过一定范围后,产量下降<sup>[3]</sup>。Coulter等<sup>[24]</sup>研究转基因*Bt*玉米产量表现时发现,玉米密度为9.4~9.6万株hm<sup>-2</sup>时产量可达到16,100 kg hm<sup>-2</sup>。王锴等<sup>[25]</sup>研究发现,种植密度范围在7.15~14.45万株hm<sup>-2</sup>,均能实现玉米15,000 kg hm<sup>-2</sup>的产量,但是以10.5万株hm<sup>-2</sup>时的产量最高,说明玉米栽培密度存在上限阈值,且耐密阈值具有差异

性,产量是衡量作物耐密阈值最直接最重要的指标。有关作物耐密阈值研究表明叶片光合特性<sup>[26]</sup>、水分利用效率<sup>[27]</sup>等与产量相关指标均可调控作物的耐密阈值。

### 2.1 玉米光合产物分配对密度的响应

光合产物分配和产量形成均受种植密度影响<sup>[25,28]</sup>,通过增密提高植株冠层太阳辐射捕获量,使作物群体最大限度利用光资源,单位面积籽粒产量获得最大化<sup>[29]</sup>。在耐密阈值范围内玉米干物质积累与密度呈正相关,密植促进群体干物质积累与转化,在群体尺度上,使单位面积更多营养物质用于籽粒灌浆,实现增产<sup>[29]</sup>。密度增加群体干物质积累显著提高,但降低了单株资源获得量<sup>[5]</sup>,从而降低单株生产力。在玉米生殖生长阶段,资源量(光、热、水、肥等)减少使穗部发育中结粒数降低,穗粒数下降可通过单位面积穗数增加弥补,产量与密度呈抛物线关系<sup>[30]</sup>。当密度增加无法补偿单株产量下降导致总产量损失时,玉米下部叶片郁蔽严重,光合作用受抑制程度加剧,玉米叶片分配到穗的光合产物减少,拥挤胁迫将造成单位面积产量下降<sup>[31-32]</sup>,说明协调资源合理分配,统筹产量三要素,促进干物质积累,提高耐密阈值而增产。

### 2.2 玉米群体光合源大小及功能期对密度的响应

LAI和LAD决定绿叶面积与其功能期长短,叶片衰老相对缓慢时,有利于创造较高的LAD。LAI通过影响作物群体光合作用、蒸腾作用和干物质累积与分配过程,进而影响作物产量<sup>[31]</sup>。玉米群体LAI随种植密度增加呈上升趋势,且不同密度间差异较大。不同行距和密度玉米试验表明,在11.25万株hm<sup>-2</sup>密度以内,随密度增大,LAI随之提高<sup>[33]</sup>。一旦超过密度阈值,叶片长度增加,但抽出速度明显下降<sup>[34]</sup>。密植促进玉米灌浆之前群体LAI和LAD提高,而后为中、低密度较高,并且吐丝后LAD为中或低密度处理显著高于高密度处理,即超过耐密阈值易造成冠层结构不合理,叶片提早衰老<sup>[35]</sup>。玉米在光截获上存在2个阶段的缺陷:一是低密度种植灌浆期之前叶片不能覆盖地面;二是高密度种植吐丝期之后叶面积衰减加剧,漏光严重。因此,通过调控玉米生育前期生长发育增大LAI提高耐密阈值,减少生育前期光能损失;延长高密玉米生育后期LAD,延缓叶片衰老,增加光截获,促进干物质积累与转化是提高密植玉米增产的关键。说明适宜的种植密度通过延长叶片功能期,特别是保持玉米生育后期

适宜大小LAD, 是增产的群体光合生理基础。

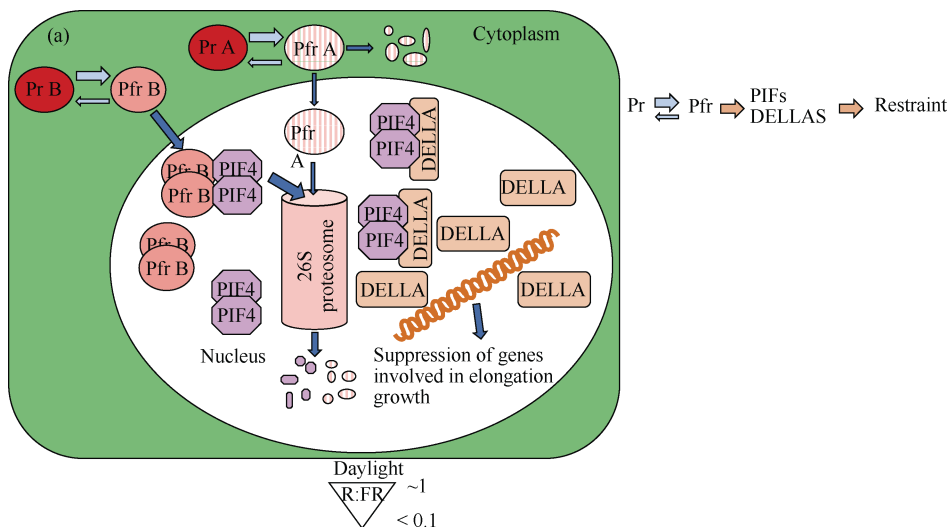
### 2.3 玉米叶片光合特性对密度的响应

要实现增密增产, 不仅要改善群体光合生理特性, 更要促进叶片光合作用提高生产力<sup>[36-37]</sup>。密度与叶片光合能力密切相关, 对不同生育时期叶片  $P_n$  影响不同, 玉米吐丝期之后, 其穗位叶叶绿素含量随种植密度增加而先增后降<sup>[35]</sup>, 但增密降低了叶绿素  $a/b$  值<sup>[38]</sup>, 尤其到生育后期密度间差异使其变化更加明显, 同时叶片对光能吸收利用率也决定了密植下能否发挥高产潜力。密度适宜有效提高玉米叶片  $P_n$ 、原初光化学效率和表观量子效率, 增加 PSII 的量子产量, 同时增大光化学猝灭系数, 能有效降低叶片呼吸速率和能量损失<sup>[35]</sup>; 超过耐密阈值, 叶片的光能转化效率显著降低, 玉米叶片  $P_n$  减小, 初始荧光值( $F_0$ )上升<sup>[31,34,39]</sup>, 电子传递占所捕获的光能比例逐渐降低, PSII 最大光能转化效率( $F_v/F_m$ )及其实际光化学效率(Y(II))下降<sup>[39]</sup>。

密度对不同位置叶片光合作用影响不同。作物气孔密度、栅栏组织发育和新生叶片光合特性取决于成熟叶片所暴露的光照条件, 而不是整个光环境<sup>[40]</sup>。密植玉米新生叶光饱和点虽然没有显著变化, 依然保持较高的  $P_n$ <sup>[37]</sup>, 但是基部叶片相互遮阴, 导致光质发生变化, 光量子通量密度与光谱组成发生显著改变, 从而激发植株一系列避荫反应(shade avoidance syndrome, SAS)。高密群体基部, 叶片叶绿素对红光(red light, R)吸收较低, 远红光(far-red light, FR)的反射较强, R:FR 下降导致叶片衰老加速、叶夹角增加、抑制下位叶片光合作用、 $P_n$  降低、固碳能力

下降等, 最终减产<sup>[41]</sup>。说明耐密性的实质是延缓密植玉米基部叶片衰老, 研究光质变化生理反应的分子机制对改善高密环境作物群体光合效率, 促进光合产物源、流、库合理高效运转, 从而获得较高的群体产量具有重要的理论指导意义。

研究表明 R、FR 的可逆转换受体蛋白光敏色素(phytochromes, Phy)可以介导光信号抑制 SAS 延缓衰老<sup>[42]</sup>, R 紧随 FR 脉冲可以延缓衰老, FR 脉冲则相反<sup>[43]</sup>, 这种现象是由 Phy 的特殊性所决定, 叶片通过吸收 R, Phy 转化为 Pfr 活性形式, 但通过吸收 FR 有效地恢复为 Pr 形式, R:FR 光调节 Pr 与 Pfr 之间的平衡, 并且大多数关于 SAS 反应研究集中在延伸生长基因方面<sup>[41]</sup> (图 2)。另有研究进一步阐述了调控株型结构对 SAS 反应变化的信号响应机制<sup>[42]</sup>。*MIR156* 及其下游靶点 *SQUA-MOSA-PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)* 家族基因是作物各种生物过程的关键调控基因。*MIR156* 调控的多个发育过程与光敏色素 SAS 反应重叠, 通过光敏色素互作因子(phytochrome-interacting factors, PIFs)信号通路和 *MIR156-SPL* 调控 SAS 关系研究发现(图 3), 一些 PIF 过表达基因(*35S::PIF1-OE*、*35S::PIF3-OE*、*35S::PIF4-OE* 和 *35S::PIF5-OE*) 在正常 R:FR 条件下表现出 SAS 响应增强, 并减弱了对遮阴的敏感性, 此外, PIFs (PIF1、PIF2、PIF3、PIF4 和 PIF5) 可以直接结合多个 *MIR156* 基因启动子 G-box 基元, 下调其表达<sup>[42]</sup>。对光敏色素 PIFs 和 *MIR156-SPL* 调控模块之间互作关系的研究, 为密植玉米栽培和品种培育奠定理论基础。



(图 2)



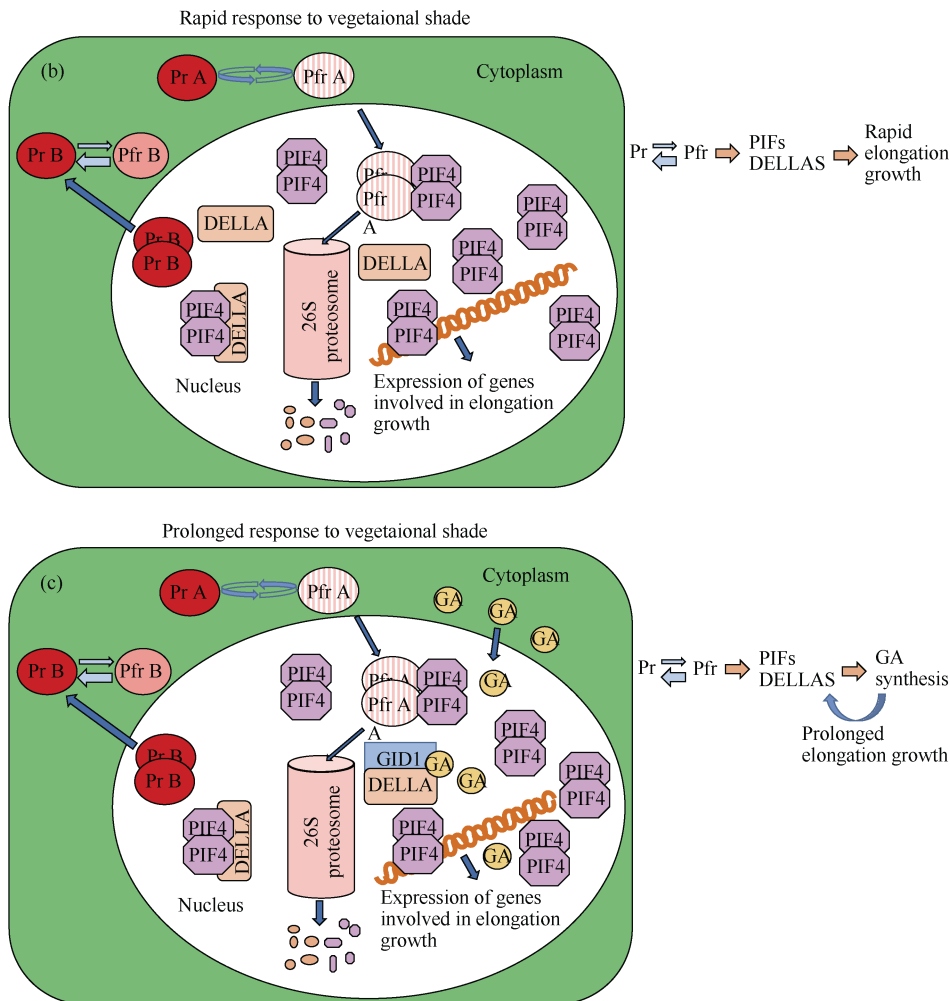


图 2 红光远红光比(R:FR)调控伸长生长的分子机制假设模型<sup>[41]</sup>

Fig. 2 Hypothetical model depicting molecular mechanisms controlling red to far red ratio (R:FR) mediated elongation growth<sup>[41]</sup>

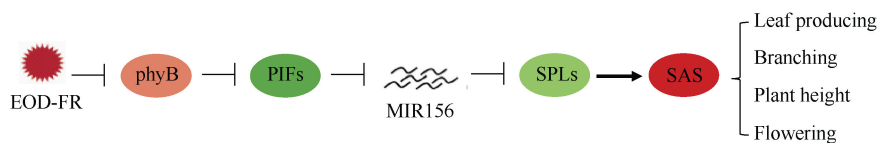


图 3 拟南芥 phyB-PIFs-miR156-SPLs 调控 SAS 的模型<sup>[42]</sup>

Fig. 3 Simplified schematic model depicting the signaling pathway of PIFs and MIR156 to modulate shade-avoidance response in adult *Arabidopsis* plants<sup>[42]</sup>

## 2.4 密植玉米光合生理分子机制

不同密度玉米下部叶片受到不同程度弱光胁迫,使参与光合作用关键酶活性发生变化<sup>[35,44]</sup>。随密度增加基层叶片受光减弱,光合相关酶发生变化,作物主要依靠调节光系统组分和光合酶活性来适应外界弱光环境(图4);穗位叶RuBP和PEPC羧化酶活性降低,碳同化能力下降,对叶绿体中三磷酸腺苷酶(adenosine triphosphatase, ATP)和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)的需求量减少<sup>[45]</sup>,降低

光合同化能力。超出耐密阈值,降低叶片 $C_i$ 与群体内部大气 $CO_2$ 浓度。RuBP羧化酶含量充足, RuBP最大羧化效率限制因素是 $C_i$ , 超出耐密阈值削弱RuBP酶与 $CO_2$ 结合,限制了卡尔文循环对 $CO_2$ 的固定<sup>[46]</sup>。玉米维管束鞘细胞叶绿体中具有更为丰富的PSI载脂蛋白(68 kD), 叶绿素a/b是叶肉细胞的2倍, 可以利用其特殊的维管束鞘花环结构富集 $CO_2$ , 通常 $C_i$ 可达到大气 $CO_2$ 浓度的3~8倍, 因此, 大气 $CO_2$ 浓度下降对玉米 $P_n$ 的影响很小甚至可以忽略不计<sup>[47]</sup>。然而, 另有研究报道<sup>[48]</sup>, 环境 $CO_2$ 浓度下降后, 叶片 $G_s$ 升

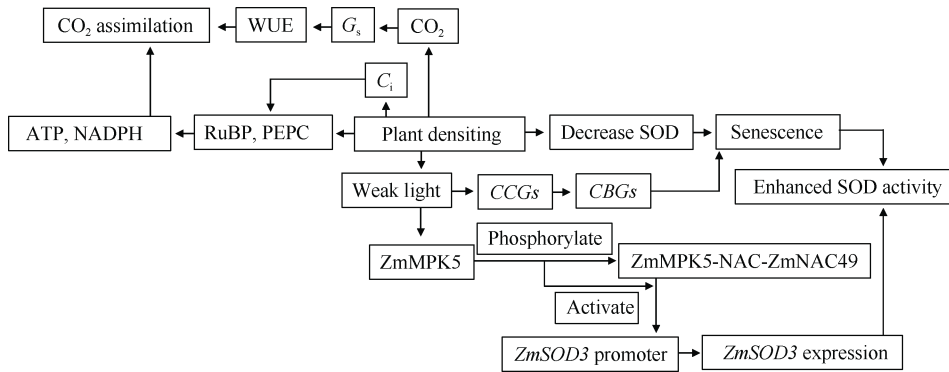


图4 密植对光合生理主要影响

Fig. 4 Main effect of dense planting on photosynthetic physiology

高,不利于提高 $C_4$ 植物水分利用效率,液态水从维管束鞘细胞运输到气孔附近,并以气态形式扩散,光合作用对 $CO_2$ 的同化过程与水分运输存在某种关联<sup>[49]</sup>。一些研究表明<sup>[50]</sup>,玉米维管束鞘细胞叶绿体的PSII光反应过程释放 $O_2$ ,与叶肉细胞叶绿体相比,PSII活性较低,释放量较少,仍具有氧化能力;但是另有研究表明,维管束鞘细胞PSII光反应过程不存在水分解,不释放 $O_2$ ,维管束鞘细胞中分离出的叶绿体不能还原 $NADP^+$ ,不具还原性<sup>[47]</sup>。目前对维管束鞘细胞叶绿体PSII光合生理过程研究存在争议,有待进一步研究。

密植引起光照质量发生变化不仅对参与光合作用关键酶和大分子蛋白有影响,而且在一定程度上决定了叶片衰老<sup>[51]</sup>。超出耐密阈值削减群体透光性,缩短叶片功能期,降低过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等保护酶活性,加速衰老进程<sup>[35]</sup>。但是也有研究发现<sup>[52]</sup>,当作物感受到外界光环境的变化时,作物自身会启动抗氧化防御系统。SAS引起氧化应激(PS受损、细胞膜过氧化、弱光胁迫等)处理可显著诱导ZmMPK5的激酶活性,并上调ZmNAC49的蛋白水平, ZmMPK5与NAC转录因子ZmNAC49互作(图4),与对照相比, ZmNAC49和ZmMPK5过表达对氧化胁迫的耐受性明显增强, ZmMPK5磷酸化ZmNAC49中的Thr-26提高了ZmSOD3启动子结合能力,增强SOD活性<sup>[52]</sup>。对于SAS引起作物氧化应激反应相关大部分基因是在离体或幼苗研究得出的结果,不能确切反应大尺度条件下密植作物分子生理机制,所以造成大田条件下密植作物相关分子生理方面研究空白,而利用分子生物学技术来解释大尺度密植作物宏观表象的分子机理可作为今后研究思路和重点方向。另外,灌浆

期(花后0~40 d)的穗位叶硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)和谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)活性,以及灌浆中后期(花后20~40 d)游离氨基酸含量和穗位叶可溶性蛋白含量均随密度增加而显著降低<sup>[53]</sup>,证实了群体密度超过耐密阈值加剧叶片衰老。衰老过程中气孔的敏感性会随之降低,伴随衰老导致 $P_n$ 下降的原因被认为是非气孔限制(包括光能的捕获、电子传递、碳同化等)因素所致,主要包括:(1) PSI和PSII相关蛋白与ATP酶表达量均呈下降趋势<sup>[44]</sup>,蛋白与ATP酶降低会影响电子传递,所以光合电子传递功能的衰退是叶片衰老过程中光合能力迅速下降的重要原因之一<sup>[54]</sup>;(2) RuBP活化酶的活性与含量下降<sup>[51,55-57]</sup>,基因表达及大小亚基含量下降均抑制其合成,因此,说明暗反应碳同化能力降低可能是导致衰老过程中光合速率下降的关键因素<sup>[31,57-59]</sup>;(3) 叶片衰老过程中作物优先上调叶绿素分解代谢基因(CCGs),抑制叶绿素合成基因(CBGs)表达<sup>[60-61]</sup>,叶绿素代谢和分解直接决定了作物能否进行正常光合作用,但是在拟南芥幼苗中叶绿素分解代谢基因(CCGs)上调,叶绿素含量却较高<sup>[62]</sup>,原因有待进一步研究。

这些研究针对作物衰老做出详细介绍,但大部分是在室内或离体状态下诱导叶片衰老。离体叶片不能与植物体进行正常物质和信息交换,因此离体叶片可能只反映叶片部分规律,却不能准确反映植物密植后活体衰老规律。在活体研究中,大部分是使用代谢旺盛的幼苗<sup>[35]</sup>,其生理代谢、酶促反应及基因表达均与成熟植株有较大差异性,所以幼苗期也未必能够准确反映田间成熟植株的生理特性。目前有少数试验揭示了成熟植株叶片的衰老规律<sup>[58]</sup>,但这些模拟研究使用均一的光环境诱导叶片衰老,

与大田情况密植诱导衰老不完全相同。一是由于风的作用,叶片经常发生高频率的摆动,导致光环境差异较大,叶片处于一种强闪光环境,强闪光不同于稳态强光与光斑。二是大田密植玉米冠层上部暴露 in 强光下,而下部处于弱光环境下,弱光加剧叶片衰老。在田间密植复杂的光环境下,玉米相关光合分子机制尚不清楚。

### 3 面向光合生理生态优化密植玉米农艺调控途径

提高种植密度可从品种遗传改良、栽培技术改进、水肥管理技术优化等农艺措施实现,通过改变限制密植生理特征,缓解高密植株之间对资源的竞争,提高玉米的耐密性。

#### 3.1 种质资源的创新(选育密植高光效品种)

密植玉米光合生理机制主要取决于玉米自身的基因型。玉米不同品种耐密性存在差异。选用耐密性强的品种是增产重要途径。研究表明,不同品种玉米在营养物质吸收与光能利用等方面存在明显的遗传多样性<sup>[31,37,59]</sup>。耐密型玉米品种由于穗上部叶片直挺,能使玉米群体光分布与  $\text{CO}_2$  分布合理,在高密条件下,有利于提高群体光合能力<sup>[31]</sup>。作物不同生育时期 LAI、群体干物质积累、各生育阶段群体生长率(crop growth rate, CGR)、NAR 和 LAD 均以耐密性强的品种最高<sup>[37]</sup>。明确植物生长期养分需求、形态结构、光能利用遗传调控机制是培育耐密品种分子理论基础,玉米作为高光效高产作物,光合能力对其群体产量起决定性作用。高密度群体增加对光能的截获,但导致单株  $P_n$  下降<sup>[4]</sup>。因此,新的育种目标应该是培育适应密植的株型紧凑、上部叶片直立、下部叶片平展、叶片光合效率高的理想型新品种。

目前有关选育新品种,提高玉米耐密性研究主要集中在叶型玉米杂交种通过缩小株距使玉米种植密度显著增大,但是单株玉米  $P_n$  没有明显提高。因此,玉米单株形态改良和高光效杂种优势结合是进一步提高密植玉米育种的研究方向。同时,也需要将玉米高产基因、营养基因、发育基因更有效地选择出来并整合到一起适应密植。

#### 3.2 通透栽培(合理布局空间结构)

虽然选育耐密品种是实现密植首要条件,但是农艺措施的改进亦是提高密度的关键所在。高密种植弊端可通过栽培技术缓解。如延缓高密栽培时玉米 LAI、穗位叶及穗下叶衰老,缓解群体对养分的竞

争<sup>[63]</sup>; 宽窄行种植较之等行种植在高密条件下有助于扩大光合面积、增加穗位叶光合有效辐射,提高  $P_n$ 、降低呼吸速率<sup>[33]</sup>。目前大多研究主要集中应用于单作种植模式,在作物整个生育时间上并未形成错位互补。而间套作时,2种作物均有独立生长,不管在时间还是空间上形成错位互补,同时为增大 LAI、提高 LAD 提供重要条件,形成了优于单作的密植基础; 间作有效缓解玉米吐丝期后叶绿素降解,促进叶绿素合成,提高延迟叶片衰老相关基因(*ZmSee2b*)表达上调,延长叶片光截获,增加间作玉米光合作用时间,为增产奠定基础<sup>[64]</sup>。间套作条件下,作物全生育期对光能有效截获和边行优势是其高产高效的重要基础<sup>[65]</sup>。通过保证关键叶层适宜的光照条件决定玉米群体生产力,这些研究体现了间套作在改善群体受光结构方面的优势,同时证实了密植的可行性。

#### 3.3 覆盖栽培(调节土壤水热状况)

种植密度与土壤水分、积温密切相关。覆盖改变土壤与大气界面层状况,在土壤表面设置一道物理隔层,阻碍土壤与大气层之间水分与热量交换<sup>[66]</sup>,具有改善土壤水热状况的作用<sup>[3,67]</sup>,在一定程度上缓解高密植株对于水、热的竞争压力,提高玉米耐密阈值。尤其是在干旱地区,宽膜覆盖显著提高了生育前、后期土壤耕层水分与积温,降低了土壤无效蒸发与温度日变化,不同颜色地膜覆盖不同玉米密度种植时,玉米出苗至拔节期土壤水分、积温表现出差异<sup>[68]</sup>,为提高 LAD、增大 LAI 提供重要条件。秸秆覆盖有效防止板结,提高土壤水分入渗和持水能力,抑制蒸发,调控土壤供水状况,使农田水分供需状况趋于协调。特别是增加玉米需水关键期耗水的同时,具有缓和土壤温度变化作用,低温时的“增温效应”与玉米喜温特性相吻合,高温时的“降温效应”防止玉米受局部高温而烧苗<sup>[69]</sup>,为密植玉米提供适宜的水热条件。同时,秸秆覆盖促进土壤肥力培育、增加有机质积累和养分协调供应<sup>[70]</sup>。通过覆盖措施缓解高密植株对资源竞争,促进玉米光合作用,增强玉米的耐密性。

#### 3.4 水氮管理

灌水与施氮是调节密植玉米光合作用的重要因子。研究表明密植条件下叶片  $P_n$  降低与根系对资源竞争有关<sup>[71-72]</sup>, 适宜的水氮供应显著调控密植作物生长期叶片荧光参数,其中  $F_v/F_m$  提高,加快电子传递促进叶片  $P_n$ <sup>[39]</sup>。氮是光合关键酶 RuBP、PEPC、



叶绿素等重要组成元素。随施氮量增加, 缓解密植作物地下部资源竞争、增大绿色叶面积、提高玉米 RuBP 羧化酶活性, 光合电子传递速率(ETR)、实际光化学效率有效电子产量( $\Phi_{PSII}$ )和光化学猝灭系数( $q_P$ )随之增加<sup>[39]</sup>, 增加叶片中抗氧化酶(SOD、CAT 和 APX 等)活性, 降低活性氧(ROS)的氧化作用<sup>[73-74]</sup>。而施氮量不足导致密植玉米群体生育后期 LAI 的下降<sup>[75]</sup>, 在缺氮环境下密植玉米群体 LAI 显著降低、叶片衰老加速、光合能力下降<sup>[72,76]</sup>; 另有研究表明, 在不增加施氮量的情况下, RuBP 酶含量增加会造成其他酶蛋白减少, 以至于 RuBP 含量增加不能提高光合能力<sup>[11]</sup>。克服这个限制的办法是提高 RuBP 酶活性, 对玉米而言, RuBP 酶活性调节还没达到最优化, 通过改善 RuBP 酶对 CO<sub>2</sub> 的专一性是提高 RuBP 酶活性的可行途径, 但是目前还并未合适地装配成有活性的 RuBP 全酶, 提高 RuBP 酶活性仍然是未来改善光合作用的一个靶标。以上研究表明, 适宜水氮管理更有利于密植条件下作物自身系统调节光合作用, 来维持光合参数以及光系统酶的调节功能, 从而增强作物群体对高密的容纳能力。

在一定程度上水氮存在互作效应, 适量增加灌水使得玉米生育前期穗位叶的  $P_n$ 、蒸腾速率(transpiration rate,  $T_r$ )显著增大, 可有效延缓穗位叶叶绿素相对含量降低的幅度; 水分供应不足时, 及时追施氮肥可显著增大叶片的叶绿素相对含量和  $G_s$ , 增强生育后期的  $P_n$ , 显著促进光合产物积累和转移<sup>[77]</sup>。水氮运筹能够增加作物绿色叶面积, 有利于作物对养分的吸收和运移, 促进植株协调生长与干物质积累速率的提升, 增强玉米耐密性。说明氮肥可替代水分, 缓解水分胁迫对玉米的影响。以上研究表明通过水氮互作调节玉米光合作用, 是提高玉米适宜种植密度的重要措施之一。

### 3.5 耕作措施

土壤结构是玉米生长的基础条件。耕层土壤结构直接影响玉米根系发育状况。根系发育不良引起高密度玉米种植倒伏和早衰加重, 影响光合作用所需物质吸收与运输。通过优化耕作措施改变耕层土壤的物理性状, 有效提升土壤基础养分含量, 同时降低土壤容重, 提高土壤孔隙度与根系活力<sup>[70]</sup>, 有效缓解密植玉米地下部拥挤效应和地上部光合作用所需资源(水、肥)竞争, 提高植株自我调节能力。试验表明, 深松耕改善玉米株高与干物质积累量, 提高玉米群体 LAI 和生育后期群体 NAR 和 LAD, 显

著缓解密植群体产量下降问题<sup>[78]</sup>。相比于常规耕作, 免耕有效提高土壤水土保持能力, 提高产量和资源利用率<sup>[79]</sup>。将免耕与覆盖集成应用发现, 秸秆覆盖免耕保持玉米全生育期良好土壤水分环境<sup>[69]</sup>。通过改善耕层土壤环境、促进根系生长、降低表层根系拥挤、调控群体资源效率是密植群体增产的主要措施之一。

## 4 玉米耐密光合生理机制未来研究展望

### 4.1 传统研究方法与分子生物学技术融合调控密植光合生理

随着中国农业科学院提出“增密增穗、培育高质量抗倒群体和增加花后群体物质生产与高效分配”的玉米高产挖潜技术途径, 在新疆奇台总场种植密度提升到 105,000 株  $hm^{-2}$ , 已连续 4 次打破全国玉米高产纪录, 说明我国玉米生产区具有一定产量差和密植潜力。密植增产主要从挖掘光合潜力和缩小理论与实际光合能力差两方面入手。对种质资源耐密光合生理生化 and 代谢产物等性状及基因的鉴定评价, 同时利用关联分析法, 发掘能够满足现代育种需求, 规模化挖掘关键基因的优异等位基因将成为未来种质资源基因发掘的重点任务。近年来, 虽然我国在玉米种质资源开展多种性状的全基因组关联分析和候选基因关联分析方向取得了重要成果<sup>[80-81]</sup>, 但在产品创新方面与发达国家种业还存在较大差距, 同质化严重、原始创新不足, 在耐密的同时选育抗病虫、抗旱、适宜全程机械化作业等新品种方面还需要大力提高。

### 4.2 栽培耕作理论与技术的创新

紧凑型密植玉米增产机制和群体光合生理研究表明融合杂种优势和群体光能利用 2 个方面决定, 与密植相配套的高产高效协同栽培、资源高效利用、田间管理等技术需求更加急迫, 应作为今后玉米栽培技术的研究重点。随着转录组学、蛋白组学、代谢组学等分子生物学技术的发展, 传统栽培研究方法已不能满足目前栽培耕作理论的研究需求, 需将各种传统方法与分子生物学技术结合, 通过农艺措施与生物技术协同作用提高密植玉米光合潜力, 实现进一步定向调控或协同调控。研发资源节约型玉米密植生产新技术, 实现密植玉米的高产高效协同与可持续增产。建立适应现代密植玉米生产规模化种植的栽培技术体系, 推动密植玉米机械化发展。促进密植玉米生产向多元化方向发展, 实现农牧的

协同发展。采用作物模型、Meta 分析和农业区域的方法进一步论证不同生态区限制密植玉米光合潜力的主要气候因子, 进行密植玉米光合生理特性与环境互作的深度分析, 提高生产区域适宜种植密度。将应当建立叶片与分子光合生理过程联系起来的动态系统模型, 揭示玉米密植群体、叶片、细胞、分子水平光合生理机制。

## References

- [1] 李少昆, 赵久然, 董树亭, 赵明, 李潮海, 崔彦宏, 刘永红, 高聚林, 薛吉全, 王立春, 王璞, 陆卫平, 王俊河, 杨祁峰, 王子明. 中国玉米栽培研究进展与展望. 中国农业科学, 2017, 50: 1941–1959.  
Li S K, Zhao J R, Dong S T, Zhao M, Li C H, Cui Y H, Liu Y H, Gao J L, Xue J Q, Wang L C, Wang P, Lu W P, Wang J H, Yang Q F, Wang Z M. Advances and prospects of maize cultivation in China. *Sci Agric Sin*, 2017, 50: 1941–1959 (in Chinese with English abstract).
- [2] Slattery R A, Ort D R. Perspectives on improving light distribution and light use efficiency in crop canopies. *Plant Physiol*, 2021, 185: 34–48.
- [3] Jia Q, Sun L, Mou H, Ali S, Liu D, Zhang Y, Zhang P, Ren X, Jia Z. Effects of planting patterns and sowing densities on grain-filling, radiation use efficiency and yield of maize (*Zea mays* L.) in semi-arid regions. *Agric Water Manage*, 2018, 201: 287–298.
- [4] Li T, Liu Y, Shi L, Jiang C D. Systemic regulation of photosynthetic function in field-grown sorghum. *Plant Physiol Biochem*, 2015, 94: 86–94.
- [5] 李广浩, 刘娟, 董树亭, 刘鹏, 张吉旺, 赵斌, 石德杨. 密植与氮肥用量对不同耐密型夏玉米品种产量及氮素利用效率的影响. 中国农业科学, 2017, 50: 2247–2258.  
Li G H, Liu J, Dong S T, Liu P, Zhang J W, Zhao B, Shi D Y. Effects of close planting and nitrogen application rates on grain yield and nitrogen utilization efficiency of different density-tolerance maize hybrids. *Sci Agric Sin*, 2017, 50: 2247–2258 (in Chinese with English abstract).
- [6] Chapepa B, Mudada N, Mapuranga R. The impact of plant density and spatial arrangement on light interception on cotton crop and seed cotton yield: an overview. *J Cotton Res*, 2020, 3: 6.
- [7] Gonçalves A O, Silva E H F M, Gasparotto L G, Rosa J M, Carmo S, Fattori-Júnior I M, Marín F R. Improving indirect measurements of the leaf area index using canopy height. *Pesq Agron Bras*, 2020, 55: 1894.
- [8] 孙华林, 耿石英, 王小燕, 熊勤学. 晚播条件下基于高光谱的小麦叶面积指数估算方法. 光谱学与光谱分析, 2019, 39: 1199–1206.  
Sun H L, Geng S Y, Wang X Y, Xiong Q X. Estimation method of wheat leaf area index based on hyperspectral under late sowing conditions. *Spect Spect Anal*, 2019, 39: 1199–1206 (in Chinese with English abstract).
- [9] Hill R. Oxygen evolved by isolated chloroplasts. *Nature*, 1937, 139: 881–882.
- [10] Grieco M, Tikkanen M, Paakkari V, Kangasjärvi S, Aro E M. Steady-state phosphorylation of light-harvesting complex II proteins preserves photosystem I under fluctuating white light. *Plant Physiol*, 2012, 160: 1896–1910.
- [11] 许大全. 光合作用效率. 上海: 上海科学技术出版社, 2002. pp 9–37.  
Xu D Q. Photosynthetic Efficiency. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2002. pp 9–37 (in Chinese).
- [12] Kurisu G, Zhang H M, Smith J L, Cramer W A. Structure of the cytochrome b6f complex of oxygenic photosynthesis: tuning the cavity. *Science*, 2003, 302: 1009–1014.
- [13] Liu Z, Yan H, Wang K, Kuang T, Zhang J, Gui L, An X, Chang W. Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72 Å resolution. *Nature*, 2004, 428: 287–292.
- [14] Wei X, Su X, Cao P, Liu X, Chang W, Li M, Zhang X, Liu Z. Structure of spinach photosystem II-LHCII supercomplex at 3.2 Å resolution. *Nature*, 2016, 534: 69–74.
- [15] Wang H W, Lei J L, Shi Y G. Biological cryo-electron microscopy in China. *Prot Sci*, 2016, 26: 16–31.
- [16] Zao L S, Huokko T, Wilson S, Simpson D M, Liu L. Structural variability, coordination and adaptation of a native photosynthetic machinery. *Nat Plants*, 2020, 6: 869–882.
- [17] Ferreira K N, Iverson T M, Maghlaoui K. Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center. *Science*, 2004, 303: 1831–1838.
- [18] 柴华, 钟尚志, 崔海莹, 李杰, 孙伟. 植物呼吸释放 CO<sub>2</sub> 碳同位素变化研究进展. 生态学报, 2018, 38: 2616–2624.  
Chai H, Zhong S Z, Cui H Y, Li J, Sun W. Variation in the carbon isotope composition of CO<sub>2</sub> derived from plant autotrophic respiration. *Acta Ecol Sin*, 2018, 38: 2616–2624 (in Chinese with English abstract).
- [19] Schlöder E. Introduction to optical methods in photosynthesis. *Photosyn Res*, 2009, 101: 93–104.
- [20] Filek M, Sieprawska A, Kościelniak J, Oklestkova J, Jurczyk B, Telk A, Biesaga-Kościelniak J, Janeczko A. The role of chloroplasts in the oxidative stress that is induced by zearalenone in wheat plants-the functions of 24-epibrassinolide and selenium in the protective mechanisms. *Plant Physiol Biochem*, 2019, 137: 84–92.
- [21] 张稳, 孟淑君, 王琪月, 万炯, 马拴红, 林源, 丁冬, 汤继华. 玉米 *pTAC2* 影响苗期叶片叶绿素合成的转录组分析. 中国农业科学, 2020, 53: 874–889.  
Zhang W, Meng S J, Wang Q Y, Wan J, Ma S H, Lin Y, Ding D, Tang J H. Transcriptome analysis of maize *pTAC2* effects on chlorophyll synthesis in seedling leaves. *Sci Agric Sin*, 2020, 53: 874–889 (in Chinese with English abstract).
- [22] Zhang Y H, Wang E M, Zhao T F, Wang Q Q, Chen L J. Characteristics of chlorophyll fluorescence and antioxidant-oxidant balance in *PEPC* and *PPDK* transgenic rice under aluminum stress. *Russ J Plant Phys*, 2018, 65: 49–56.
- [23] Zhang D S, Sun Z X, Feng L S, Bai W, Yang N, Zhang Z, Du G J, Feng C, Cai Q, Wang Q, Zhang Y, Wang R N, Arshad A, Hao X Y, Sun M, Gao Z Q, Zhang L Z. Maize plant density affects yield, growth and source-sink relationship of crops in maize/peanut intercropping. *Field Crops Res*, 2020, 257: 107926.
- [24] Coulter J A, Nafziger E D, Janssen M R, Palle P. Response of *Bt* and near-isoline corn hybrids to plant density. *Agron J*, 2010, 102: 103–111.

- [25] 王楷, 王克如, 王永宏, 赵健, 赵如浪, 王喜梅, 李健, 梁明晰, 李少昆. 密度对玉米产量( $>15,000 \text{ kg hm}^{-2}$ )及其产量构成因子的影响. 中国农业科学, 2012, 45: 3437–3445.  
Wang K, Wang K R, Wang Y H, Zhao J, Zhao R L, Wang X M, Li J, Liang M X, Li S K. Effects of density on maize yield and yield components. *Sci Agric Sin*, 2012, 45: 3437–3445 (in Chinese with English abstract).
- [26] 李荣发, 刘鹏, 杨清龙, 任昊, 董树亭, 张吉旺, 赵斌. 玉米密植群体下部叶片衰老对植株碳氮分配与产量形成的影响. 作物学报, 2018, 44: 1032–1042.  
Li R F, Liu P, Yang Q L, Ren H, Dong S T, Zhang J W, Zhao B. Effects of lower leaf senescence on carbon and nitrogen distribution and yield formation in maize (*Zea mays* L.) with high planting density. *Acta Agron Sin*, 2018, 44: 1032–1042 (in Chinese with English abstract).
- [27] 王巧梅, 樊志龙, 赵彦华, 殷文, 柴强. 绿洲灌区不同密度玉米群体的耗水特性研究. 作物学报, 2017, 43: 1347–1356.  
Wang Q M, Fan Z L, Zhao Y H, Yin W, Chai Q. Effect of planting density on water consumption characteristics of maize in oasis irrigation area. *Acta Agron Sin*, 2017, 43: 1347–1356 (in Chinese with English abstract).
- [28] Assefa Y, Prasad P V V, Carter P, Hinds M, Bhalla G, Schon R, Jeschke M, Paszkiewicz S, Ciampitti I A. Yield responses to planting density for US modern corn hybrids: a synthesis-analysis. *Crop Sci*, 2016, 56: 2802–2817.
- [29] Ren B, Liu W, Zhang J, Dong S T, Liu P, Zhao B. Effects of plant density on the photosynthetic and chloroplast characteristics of maize under high-yielding conditions. *Sci Nat*, 2017, 104: 12.
- [30] 李广浩, 李龙, 陆大雷, 陆卫平. 氨基酸复合肥对不同密度春玉米产量和养分利用的影响. 中国作物学会学术年会, 2018. p 106.  
Li G H, Li L, Lu D L, Lu W P. Effect of amino acid compound fertilizer on the yield and nutrient utilization of different density spring corn. Proceedings of Annual Academic Meeting of the Crop Science Society of China, 2018. p 106 (in Chinese with English abstract).
- [31] Jare D, Krnji S B, Vrani M. Effect of plant density on leaf area index, anthesis to silking interval, yield and yield components of maize inbreds and their sister-lines. *J Cent Eur Agric*, 2019, 20: 179–193.
- [32] Piao L, Qi H, Li C F, Zhao M. Optimized tillage practices and row spacing to improve grain yield and matter transport efficiency in intensive spring maize. *Field Crops Res*, 2016, 198: 258–268.
- [33] 杨吉顺, 高辉远, 刘鹏, 李耕, 董树亭, 张吉旺, 王敬锋. 种植密度和行距配置对超高产夏玉米群体光合特性的影响. 作物学报, 2010, 36: 1226–1233.  
Yang J S, Gao H Y, Liu P, Li G, Dong S T, Zhang W J, Wang J F. Effects of planting density and row spacing on canopy apparent photosynthesis of high-yield summer corn. *Acta Agron Sin*, 2010, 36: 1226–1233 (in Chinese with English abstract).
- [34] 侯佳敏, 罗宁, 王溯, 孟庆锋, 王璞. 增密对我国玉米产量、叶面积指数、光合速率的影响. 中国农业科学, 2021, 54: 2538–2546.  
Hou J M, Luo N, Wang S, Meng Q F, Wang P. Effects of increasing planting density on grain yield, leaf area index and photosynthetic rate of maize in China. *Sci Agric Sin*, 2021, 54: 2538–2546 (in Chinese with English abstract).
- [35] 吴含玉, 张雅君, 张旺锋, 王克如, 李少昆, 姜闯道. 田间密植诱导抽穗期玉米叶片衰老时的光合作用机制. 作物学报, 2019, 45: 248–255.  
Wu H Y, Zhang Y J, Zhang W F, Wang K R, Li S K, Jiang C D. Photosynthetic characteristics of senescent leaf induced by high planting density of maize at heading stage in the field. *Acta Agron Sin*, 2019, 45: 248–255 (in Chinese with English abstract).
- [36] Long S P, Zhu X G, Naidu S L, Ort D R. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant Cell Environ*, 2006, 29: 315–330.
- [37] 胡旦旦, 张吉旺, 刘鹏, 赵斌, 董树亭. 密植条件下玉米品种混播对夏玉米光合性能及产量的影响. 作物学报, 2018, 44: 920–930.  
Hu D D, Zhang J W, Liu P, Zhao B, Dong S T. Effects of mixed-cropping with different varieties on photosynthetic characteristics and yield of summer maize under close planting condition. *Acta Agron Sin*, 2018, 44: 920–930 (in Chinese with English abstract).
- [38] Xiao Z, Liao Y, Ren G D, Zhang Y Y, Kuai B K. Repression of *AtCLIH* expression results in a decrease in the ratio of chlorophyll *a/b* but does not affect the rate of chlorophyll degradation during leaf senescence. *J Plant Physiol Mol Biol*, 2007, 33: 596–606.
- [39] Guo Y, Yin W, Fan H, Fan Z L, Hu F L, Yu A Z, Zhao C, Chai Q, Asibi A E, Zhang X J. Photosynthetic physiological characteristics of water and nitrogen coupling for enhanced high-density tolerance and increased yield of maize in arid irrigation regions. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 726568.
- [40] Murakami K, Matsuda R, Fujiwara K. Light-induced systemic regulation of photosynthesis in primary and trifoliate leaves of *phaseolus vulgaris*: effects of photosynthetic photon flux density (PPFD) versus spectrum. *Plant Biol*, 2014, 16: 16–21.
- [41] Franklin K A. Shade avoidance. *New Phytol*, 2008, 179: 930–944.
- [42] Xie Y R, Liu Y, Wang H, Ma X J, Wang B B, Wu G X, Wang H Y. Phytochrome-interacting factors directly suppress *MIR156* expression to enhance shade-avoidance syndrome in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 2017, 8: 348.
- [43] Liebsch D, Keech O. Dark-induced leaf senescence: new insights into a complex light-dependent regulatory pathway. *New Phytol*, 2016, 212: 563–570.
- [44] 张柳, 王铮, 张亚婕, 林春, 陈严平, 李军营, 毛自朝. 烟草叶片衰老期过程中的蛋白质组学分析. 植物生理学报, 2014, 50: 488–500.  
Zhang L, Wang Z, Zhang Y J, Lin C, Chen Y P, Li J Y, Mao Z Z. Proteomic analysis of senescing leaf of tobacco. *J Plant Physiol*, 2014, 50: 488–500 (in Chinese with English abstract).
- [45] 贾士芳, 李从锋, 董树亭, 张吉旺. 弱光胁迫影响夏玉米光合效率的生理机制初探. 植物生态学报, 2010, 34: 1439–1447.  
Jia S F, Li C F, Dong S T, Zhang J W. Physiological mechanism of shading stress on photosynthetic efficiency in summer maize (*Zea mays*). *Chin J Plant Ecol*, 2010, 34: 1439–1447 (in Chinese with English abstract).
- [46] 李彦生, 金剑, 刘晓冰. 作物对大气  $\text{CO}_2$  浓度升高生理响应研究进展. 作物学报, 2020, 46: 1819–1830.

- Li Y S, Jin J, Liu X B. Physiological response of crop to elevated atmospheric carbon dioxide concentration: a review. *Acta Agron Sin*, 2020, 46: 1819–1830 (in Chinese with English abstract).
- [47] Aliyeva N K, Aliyeva D R, Suleymanov S Y, Rzaev F H, Gasimov E K, Huseynova I M. Biochemical properties and ultrastructure of mesophyll and bundle sheath thylakoids from maize (*Zea mays*) chloroplasts. *Func Plant Biol*, 2020, 47: 970–976.
- [48] Buckley T N, John G P, Scoffoni C, Sack L. The sites of evaporation within leaves. *Plant Physiol*, 2017, 173: 1763–1782.
- [49] Loucos K E, Simonin K A, Barbour M M. Leaf hydraulic conductance and mesophyll conductance are not closely related within a single species. *Plant Cell Environ*, 2017, 40: 203–215.
- [50] Drozak A, Romanowska E. Acclimation of mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize to different irradiances during growth. *BBA-Bioenergetics*, 2006, 1757: 1539–1546.
- [51] Brouwer B, Ziolkowska A, Bagard M, Keech O, Gardeström P. The impact of light intensity on shade-induced leaf senescence. *Plant Cell Environ*, 2012, 35: 1084–1098.
- [52] Xiang Y, Bian X L, Wei T H, Yan J W, Sun X J, Han T, Dong B C, Zhang G F, Li J, Zhang A Y. *ZmMPK5* phosphorylates *ZmNAC49* to enhance oxidative stress tolerance in maize. *New Phytol*, 2021, 232: 2400–2417.
- [53] 卢霖, 董志强, 董学瑞, 焦浏, 李光彦, 高娇. 乙矮合剂对不同密度夏玉米花粒期叶片氮素同化与早衰的影响. *作物学报*, 2015, 41: 1870–1879.
- Lu L, Dong Z Q, Dong X R, Jiao L, Li G Y, Gao J. Effects of ethylene-chlormequat-potassium on leaf nitrogen assimilation after anthesis and early senescence under different planting densities. *Acta Agron Sin*, 2015, 41: 1870–1879 (in Chinese with English abstract).
- [54] Zhou Y F, Wang D, Wang N, Yu J L, Wang Y T, Wu Q, Xu W J, Huang R D. Involvement of endogenous abscisic acid and cytokinin in photosynthetic performance of different stay green inbred lines of maize under drought. *Int J Agric Biol*, 2016, 18: 1067–1074.
- [55] Bi H G, Liu P P, Jiang Z S, Ai X Z. Overexpression of the Rubisco activase gene improves growth and low temperature and weak light tolerance in *Cucumis sativus* L. *Physiol Plant*, 2017, 161: 224–234.
- [56] Panda D, Sarkar R K. Natural leaf senescence: probed by chlorophyll fluorescence, CO<sub>2</sub> photosynthetic rate and antioxidant enzyme activities during grain filling in different rice cultivars. *Physiol Mol Biol Plants*, 2013, 19: 43–51.
- [57] Sun J L, Sui X L, Huang H Y, Wang S H, Wei Y X, Zhang Z X. Low light stress down-regulated Rubisco gene expression and photosynthetic capacity during cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaf development. *J Integr Agric*, 2014, 13: 997–1007.
- [58] Wang Y W, Yu J, Jiang X H, Sun L G, Li K, Wang P Y, Wu M, Chen G X, Lv C G. Analysis of thylakoid membrane protein and photosynthesis related key enzymes in super high-yield hybrid rice LYPJ grown in field condition during senescence stage. *Acta Physiol Plant*, 2015, 37: 1.
- [59] Naik A A, Reddy M S, Babu P, Kavitha P. Effect of plant density and nitrogen management on uptake of major nutrients in sweet corn (*Zea mays* var. *saccharata*). *Int J Mol Sci*, 2020, 9: 3656–3660.
- [60] Kuai B, Chen J, Hörtensteiner S. The biochemistry and molecular biology of chlorophyll breakdown. *J Exp Bot*, 2018, 69: 751–767.
- [61] Kobayashi K, Masuda T. Transcriptional regulation of tetrapyrrole biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1811.
- [62] Sussenbacher I, Menghini D, Scherzer G, Salinger K, Erhart T, Moser S, Vergeiner C, Hörtensteiner S, Kräutler B. Cryptic chlorophyll breakdown in non-senescent green *Arabidopsis thaliana* leaves. *Photosynth Res*, 2019, 142: 69–85.
- [63] Cao Y J, Wang L C, Gu W R, Wang Y J, Zhang J H. Increasing photosynthetic performance and post-silking N uptake by moderate decreasing leaf source of maize under high planting density. *J Integr Agric*, 2021, 20: 494–510.
- [64] Zhou T, Wang L, X Sun, Wang X C, Wang X C, Pu T, Yang H, Rengel Z, Liu W G, Yang W Y. Improved post-silking light interception increases yield and P-use efficiency of maize in maize/soybean relay strip intercropping. *Field Crops Res*, 2021, 262: 108054.
- [65] Wang Z K, Zhao X N, Wu P T, Gao Y, Yang Q, Shen Y Y. Border row effects on light interception in wheat/maize strip intercropping systems. *Field Crops Res*, 2017, 214: 1–13.
- [66] Huang F Y, Liu Z H, Zhang P, Jia Z K. Hydrothermal effects on maize productivity with different planting patterns in a rainfed farmland area. *Soil Tillage Res*, 2021, 205: 104794.
- [67] Gan Y T, Kadambot H M, Neil C, Li X G, Liu L P. Chapter seven-ridge-furrow mulching systems: an innovative technique for boosting crop productivity in semiarid rain-fed environments. *Adv Agron*, 2013, 118: 429–476.
- [68] 孙仕军, 朱振闯, 陈志君, 杨丹, 张旭东. 不同颜色地膜和种植密度对春玉米田间地温、耗水及产量的影响. *中国农业科学*, 2019, 52: 3323–3336.
- Sun S J, Zhu Z C, Chen Z J, Yang D, Zhang X D. Effects of different colored plastic film mulching and planting density on soil temperature, evapotranspiration and yield of spring maize. *Sci Agric Sin*, 2019, 52: 3323–3336 (in Chinese with English abstract).
- [69] 殷文, 陈桂平, 柴强, 赵财, 冯福学, 于爱忠, 胡发龙, 郭瑶. 前茬小麦秸秆处理方式对河西走廊地膜覆盖玉米农田土壤水热特性的影响. *中国农业科学*, 2016, 49: 2898–2908.
- Yin W, Chen G P, Chai Q, Zhao C, Feng F X, Yu A Z, Hu F L, Guo Y. Responses of soil water and temperature to previous wheat straw treatments in plastic film mulching maize field at Hexi Corridor. *Sci Agric Sin*, 2016, 49: 2898–2908 (in Chinese with English abstract).
- [70] Guan X K, Wei L, Turner N C, Ma S C, Yang M D, Wang T C. Improved straw management practices promote in situ straw decomposition and nutrient release, and increase crop production. *J Clean Prod*, 2020, 250: 119514.
- [71] Xu R X, Zhao H M, Liu G B, You Y L, Ma L, Liu N, Zhang Y J. Effects of nitrogen and maize plant density on forage yield and nitrogen uptake in an alfalfa-silage maize relay intercropping system in the North China Plain. *Field Crops Res*, 2021, 263: 108068.
- [72] Jensen A M, Lof M, Gardiner E S. Effects of above- and below-ground competition from shrubs on photosynthesis, transpiration and growth in *Quercus robur* L. seedlings. *Environ Exp Bot*, 2011, 71: 367–375.

- [73] Rodrigues V A, Crusciol C A C, Bossolani J W, Portugal J R, Moretti L G, Bernart L, Vilela R G, Galeriani T, Lollato R P. Foliar nitrogen as stimulant fertilization alters carbon metabolism, reactive oxygen species scavenging and enhances grain yield in a soybean/maize rotation. *Crop Sci*, 2021, 61: 3687–3701.
- [74] Wu Z Z, Bi Y F, Wang A K, Du X H, Ying Y Q, Zhang Y B. Alleviation of drought stress in *phyllostachys edulis* by N and P application. *Sci Rep*, 2018, 8: 228.
- [75] Boomsma C R, Santini J B, Tollenaar M. Maize more physiological responses to intense crowding and low nitrogen availability: an analysis and review. *Agron J*, 2009, 101: 1426–1452.
- [76] Taylor L, Nunes-Nesi A, Parsley K, Leiss A, Leach G, Coates S, Wingler A, Fernie A R, Hibberd J M. Cytosolic pyruvate, orthophosphate dikinase functions in nitrogen remobilization during leaf senescence and limits individual seed growth and nitrogen content. *Plant J*, 2010, 62: 641–652.
- [77] 魏廷邦, 柴强, 王伟民, 王军强. 水氮耦合及种植密度对绿洲灌区玉米光合作用和干物质积累特征的调控效应. *中国农业科学*, 2019, 52: 428–444.
- Wei T B, Chai Q, Wang W M, Wang J Q. Effects of coupling of irrigation and nitrogen application as well as planting density on photosynthesis and dry matter accumulation characteristics of maize in oasis irrigated areas. *Sci Agric Sin*, 2019, 52: 428–444 (in Chinese with English abstract).
- [78] Boomsma C R, Santini J B, Terry D. Maize grain yield responses to plant height variability resulting from crop rotation and tillage system in a long-term experiment. *Soil Tillage Res*, 2010, 106: 227–240.
- [79] Guo Y, Yin W, Fan Z L, Hu F L, Fan H, Zhao C, Yu A Z, Chai Q, Coulter J A. No-tillage with reduced water and nitrogen supply improves water use efficiency of wheat in arid regions. *Agron J*, 2020, 112: 578–591.
- [80] 刘坤, 张雪海, 孙高阳, 闫鹏帅, 郭海平, 陈思远, 薛亚东, 郭战勇, 谢惠玲, 汤继华, 李卫华. 玉米株型相关性状的全基因组关联分析. *中国农业科学*, 2018, 51: 821–834.
- Liu K, Zhang X H, Sun G Y, Yan P S, Guo H P, Chen S Y, Xue Y D, Guo Z Y, Xie H L, Tang J H, Li W H. Genome-wide association studies of plant type traits in maize. *Sci Agric Sin*, 2018, 51: 821–834 (in Chinese with English abstract).
- [81] Xu B, Li H, Li Y, Yu G H, Zhang J, Huang B R. Characterization and transcriptional regulation of chlorophyll b reductase gene *NON-YELLOW COLORING 1* associated with leaf senescence in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Environ Exp Bot*, 2018, 149: 43–50.