

文章编号:1003-8701(2013)04-0001-04

光强对玉米幼苗不同叶位叶片叶绿素 荧光参数的影响

朱延姝,郭丽丽,崔震海,胡凯,樊金娟,阮燕晔,张立军*

(沈阳农业大学生物科学技术学院,沈阳 110866)

摘要:以不同光强下的玉米幼苗刚好完全展开的1~5叶位叶片为试验材料,通过检测叶绿素荧光参数特性,研究玉米不同叶位叶片的光化学活性。结果表明:不同光强下玉米幼苗不同叶位叶片的荧光参数变化趋势不同:各个叶位叶片 F_o 在光强为 $200 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时均较高,在光强为 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时均较低; $200 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下第1叶位叶片 F_v/F_m 最高, $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时第4和5叶 F_v/F_m 均高于前3叶;2、3叶在 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时吸收和捕获的能量用于热耗散的比例增加,4、5叶则在 $1300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时热耗散比例增加。即 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下玉米幼苗4、5叶光化学活性高于前3叶。

关键词:玉米;叶位;光强;叶绿素荧光参数

中图分类号:S513

文献标识码:A

Effect of Light Intensities on Fluorescence Parameters of Leaves at Different Position in Maize Seedlings

ZHU Yan-shu, GUO Li-li, CUI Zhen-hai, HU Kai,

FAN Jin-juan, RUAN Yan-ye, ZHANG Li-jun*

(College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: TChlorophyll fluorescence parameters of 1 to 5 fully extend leaves in maize seedlings grown under different light conditions were investigated in order to study the photochemical activity of maize leaves at different positions. The results showed that the variation tendency of fluorescence parameters of leaves at different position of maize seedlings under different light intensities was different. F_o of leaves at all leaf positions were higher when light intensity was $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, but were lower when light intensity was $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. F_v/F_m of the first leaf was the highest when light intensity was $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. F_v/F_m of the fourth leaf and fifth leaf was higher than of the first, second, and third leaves when light intensity was $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ and $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. The proportion of the energy absorbed and captured by the second and the third leaf but used for heat dissipation increased when light intensity was $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, while that of the fourth and fifth leaf at leaf 2 and 3 under $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ light condition, but that of leaf 4 and 5 increased when light intensity was $1300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. It meant that the photochemical activity of fourth and fifth leaf was higher than that of the former 3 leaves when light intensity was 600 and $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Keywords: Maize; Leaf position; Light intensity; Fluorescence parameters

收稿日期:2013-04-09

基金项目:国家自然科学基金项目(31201141,31000673),教育部博士点基金项目(20102103110001,20102103120001)

作者简介:朱延姝(1972-),女,副教授,博士,主要从事植物光合生理生化研究。

通讯作者:张立军,男,教授,博士 E-mail:lijunzhang8@aliyun.com

光合作用是植物进行一切生理活动的基础,植物形态结构和生长发育的各种特点都与光合作用有直接或间接的联系。在高光强,高温,干旱环境下, C_4 植物比 C_3 植物具有更强的光合能力和产量。改造 C_3 植物,使其进行 C_4 光合途径,从而提高光合效率的关键是明确 C_4 光合途径形成的机

制。植物的光合代谢途径是由发育和环境共同调控的。许多环境因子均会影响光合碳代谢途径,而光强是其中重要因子之一。

植物叶片叶绿素荧光特性被视为植物光合作用与环境关系的内在探针,是一种快速、简便和无损伤的测定方法,能够在一定程度上反映环境因子的变化及其对植物光合生理产生的影响以及反映光合机构内一系列重要的适应调节过程^[1-4]。已被广泛应用到植物光合机理和逆境生理等研究领域^[5-15]。玉米是重要的农作物,也是典型的 C₄ 植物,其叶片具有高光合效率。因此,研究玉米叶片的光合特性对于提高农作物产量具有重要意义。但研究发现玉米幼苗不同叶位光合特性存在差异^[16-17],而光强对不同叶位叶片光合特性的影响尚未见报道。本文以玉米为材料,通过研究不同光强下玉米幼苗刚好完全展开的不同叶位叶片的叶绿素荧光参数,探讨玉米不同叶位叶片的光化学活性,为揭示玉米 C₄ 光合途径形成机制提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为玉米郑单 958 品种(购于北京德农种业有限公司)。在培养室中设置光强分别为 200, 600, 1 000, 1 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的培养空间(光源为荷兰 PHILIPS 公司生产农用高压钠灯 SONTAGRO400WGES)。挑选干净、健壮饱满的玉米种子,置于直径 15cm 双体营养钵中,栽培基质为泥炭土(购于黑龙江省五常市地宝有机肥有限公司),将营养钵放入不同光强的培养空间。所有处理的光照时间为 14 h, 温度 25 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 40%~50%。分批次播种,调整播种时间,使得第 1~5 叶位叶片都达到刚好完全展开的生长状态,从各处理中挑选长势一致的玉米幼苗作为研究对象。

1.2 叶绿素荧光参数测定

选取生长一致并完全展开的第一到第五叶期的幼苗各 5 株,用英国 Hansatech 公司生产的 Handy-PEA 分别测定 1~5 叶位叶片完全展开后叶中部叶绿素荧光参数,包括初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、可变荧光(F_v)、PS 最大光化学效率(F_v/F_m),以及单位反应中心能量的吸收和分配(ABS/RC 、 TR_0/RC 、 ET_0/RC 和 DI_0/RC)。叶片测定前先暗适应 20 min,然后暴露在饱和脉冲光 3 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ PDF 下 1 s。

文中数据均为 5 次重复测定结果的平均值。

2 结果与分析

2.1 玉米幼苗不同叶位叶片 F_0 、 F_m 、 F_v 和 F_v/F_m 的变化

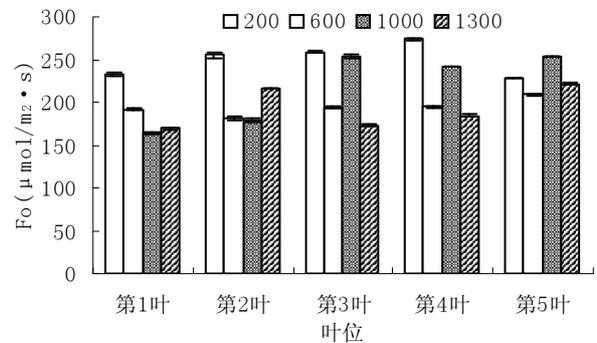


图 1 玉米幼苗不同叶位叶片 F_0 的变化

F_0 为初始荧光,代表光系统 反应中心全部开放即原初电子受体 (Q_A) 全部氧化时的荧光,是不参与 PS 光化学反应的光能辐射部分。图 1 显示,不同光强下各叶位叶片 F_0 变化趋势不同。光强为 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,随着叶位升高, F_0 逐渐平缓上升,但在第 5 位叶下降;光强为 600 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, F_0 在第 2 位叶略有下降,随后逐渐上升,但变化不大;光强为 1 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, F_0 在第 1 位叶时最低,在第 2 位叶时略有升高,但变化不大,而在第 3 位叶时则明显上升,比第 2 位叶约增加 42%,第 4 和第 5 位叶与第 3 位叶相近;光强为 1 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, F_0 在第 2 位叶和第 5 位叶有两个高度值。而各个叶位叶片 F_0 在光强为 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时均较高,在光强为 600 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时均较低。 F_0 上升说明不参与 PS 光化学反应的光能辐射逐渐增多。

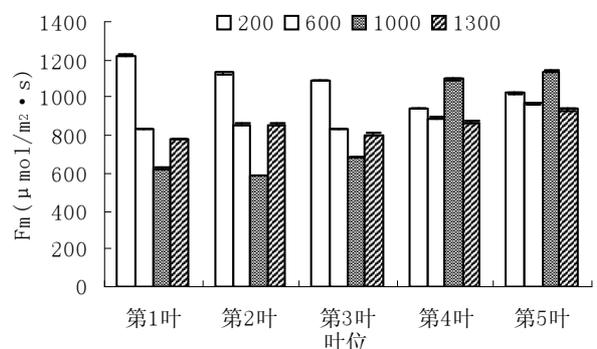


图 2 玉米幼苗不同叶位叶片 F_m 的变化

F_m 为最大荧光,代表光系统 反应中心原初电子受体全部还原时的荧光,可反映通过 PS 的电子传递情况。光强为 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,随叶

位上升, F_m 逐渐下降, 第 5 位叶略有上升; 光强为 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时第 4 和 5 叶 F_m 高于前 3 叶, 但变化量较小; 光强为 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时第 4、5 位叶 F_m 明显高于前 3 叶; 光强为 $1300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时 4、5 叶 F_m 同样高于前 3 叶, 但幅度不及 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时的大(如图 2 所示)。

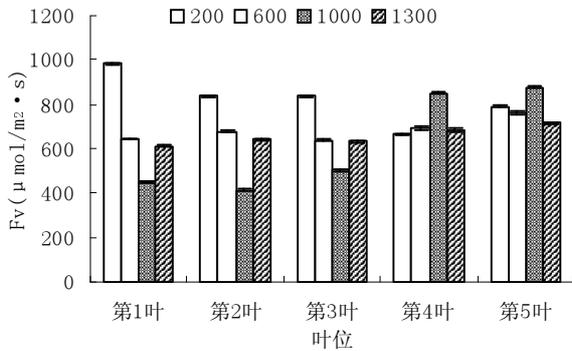


图 3 玉米幼苗不同叶位叶片 F_v 的变化

F_v 为可变荧光, 是 F_m 与 F_0 之差, 代表可参与 PS 光化学反应的光能辐射部分。本试验中, F_v 与 F_m 的变化趋势一致(图 3)。 F_v 上升代表可参与 PS 光化学反应的光能辐射增多。

F_v/F_m 反映了光系统的最大光化学效率。从图 4 可以看出, $200 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下 1 位叶片 F_v/F_m 最高, $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下各叶片变化不大, $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下第 4、5 位叶片明显高于前 3 叶; $1300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下各叶位叶片变化没有规律。

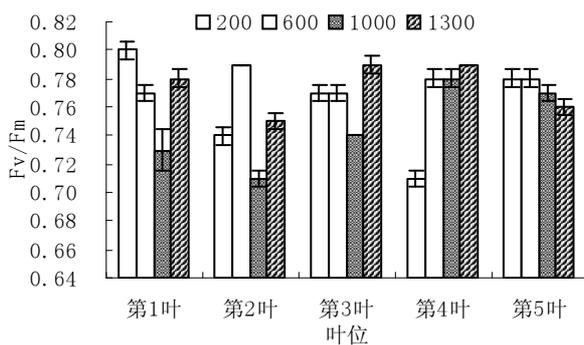


图 4 玉米幼苗不同叶位叶片 F_v/F_m 的变化

2.2 玉米幼苗不同叶位叶片反应中心能量吸收和分配的变化

ABS/RC 、 TR_0/RC 、 DI_0/RC 和 ET_0/RC 等 4 个指标可反映单位反应中心能量的吸收和分配情况。其中 ABS/RC 表示单位反应中心吸收的能量, TR_0/RC 表示单位反应中心捕获的能量, ET_0/RC 表示单位反应中心用于电子传递的能量, DI_0/RC

表示单位反应中心热耗散的能量。Strasser^[18]的能量流动模型认为, 有活性的单位反应中心(RC)吸收的能量(ABS)小部分用于热耗散(DI_0), 大部分被反应中心捕获(TR_0)激发, 并将激发能转化为还原能, 将 Q_A 还原成 Q_A^- , 后者又可以被重新氧化, 从而产生电子传递(ET_0)。

如图 5 所示, 随着叶位的上升, 不同光强下(除 $1300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 外) ABS/RC 的变化趋势相似, 即在前 3 叶中 ABS/RC 逐渐上升, 并均以第 3 叶为最高, 到第 4 叶则有不同程度下降, 第 5 叶与第 4 叶变化程度相近。在 $1300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下各叶片 ABS/RC 的变化不大。而随着光强的增加, 各叶片的 ABS/RC 则呈现先升高再降低的趋势, 即在 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时最高。 TR_0/RC 的变化特点与 ABS/RC 相同(图 6)。

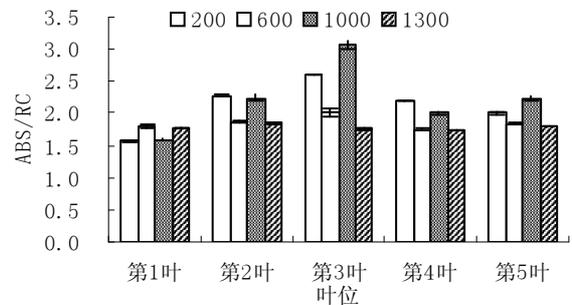


图 5 不同光强下玉米 1~5 叶 ABS/RC 变化

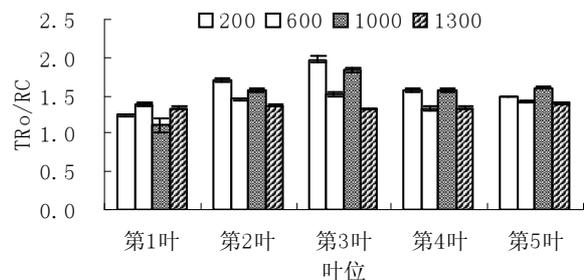


图 6 不同光强下玉米 1~5 叶 TR_0/RC 变化

从图 7 和图 8 可以看出, 各叶位叶片在不同光强下捕获的能量用于电子传递和进行热耗散的比例不同。第 1 位叶在不同光强下 DI_0/RC 和 ET_0/RC 的变化无显著特点。第 2 和 3 位叶在 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时捕获的能量用于电子传递的比例最高, 用于热耗散的比例最低; 而在 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时捕获的能量用于电子传递的比例最低, 用于热耗散的比例最高。第 4 和 5 位叶随光强的增加(除 $1300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 外) 捕获的能量用于电子传递的比例逐渐升高, 用于热耗散的比例逐渐降低; 在 $1300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时用于电子传递的比例下降, 而热耗散则相对增加。

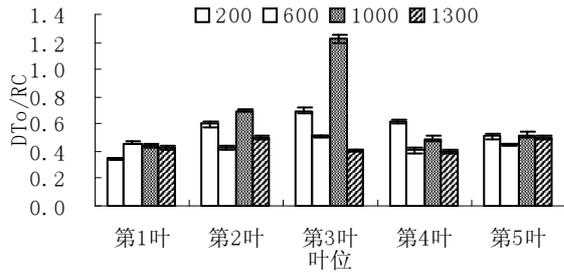


图7 不同光强下玉米1~5叶 ETo/RC 变化

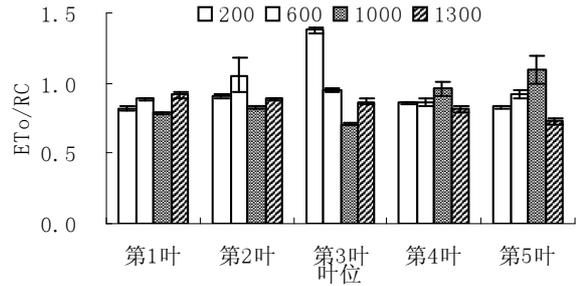


图8 不同光强下玉米1~5叶 Di0/RC 变化

3 讨论

PS 是植物光合作用过程中进行光反应的重要结构,也是光合机构中对外界因子反应最敏感的组分。叶绿素荧光是反映 PS 对环境条件反应的探针,能更具体地反映 PS 的“内在性”特点^[19],因此,可以通过分析叶绿素荧光参数了解光合机构内部的重要变化。如,PS 天线色素热耗散增加则引起 F_0 降低,而 PS 反应中心受破坏或可逆失活会引起 F_0 增加, F_v/F_m 下降是植物发生光抑制的重要特征,在胁迫环境下, F_v/F_m 明显下降^[5,9]。本试验中,光强对玉米幼苗不同叶位叶片叶绿素荧光参数的影响不同。各个叶位叶片 F_0 在光强为 $200 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时均较高,在光强为 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时均较低, $200 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下第 1 叶 F_v/F_m 最高, $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时第 4 和 5 叶 F_v/F_m 均高于前 3 叶。说明低光强下各叶位叶片不参与光反应的光能辐射均较多,但第 1 叶在低光强下 PS 的光化学活性并没有被抑制,这是由于 PS 把吸收的光能较多地分配给光合电子传递,光化学活性和原初光能转化效率提高,热耗散减少,这从其能量的吸收和分配中也可看出(图 7、图 8)。而 4 和 5 叶在低光强下($200 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$) F_v/F_m 低于第 1 叶,在 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下高于前 3 叶可能与 4、5 叶维管束鞘细胞(BSC)的发育有关。在之前的研究中发现,4、5 叶 BSC 的发育比前 3 叶更完善^[20]。因此推测,4、5 叶在低光强下 F_v/F_m 较低是 BSC 叶绿体在不断发育中降低了 PS 反应中心活性,而叶肉细胞(MC)叶绿体的 PS 反应中心活性并没有受到低光强激发的结果;4、5 叶在 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下 F_v/F_m 较高则说明 MC 叶绿体在此光强下参与 PS 光化学反应的光能辐射部分增加,并可与发育完善的 BSC 协同作用,发挥了最大的 PS 反应中心活性,因此其吸收的能量用于

光合电子传递的比例较高,而用于热耗散的较少(图 7、图 8)。同时,2、3 叶在 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时吸收和捕获的能量用于热耗散的比例增加,4、5 叶在 $1300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时吸收和捕获的能量用于热耗散的比例增加,说明它们在特定的光强下为了避免过剩激发能对光合系统的进一步破坏,通过增强能量耗散的方式提高自我保护能力,这也从另一方面说明 2、3 叶的光饱和点低于 4、5 叶。

植物的光合代谢途径是由发育和环境共同调控的。Crespo 等^[21-23]研究发现, C_4 植物叶片在发育过程中,并不总是运行 C_4 光合途径。而在本试验中, 600 和 $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下,完全展开的玉米幼苗第 4、5 位叶比前 3 位叶具有更强的光化学活性,这暗示不同叶位叶片的光合代谢途径不同,即较低叶位叶片可能并不运行 C_4 光合途径,说明了光对光合碳代谢途径也有重要影响。能否结合 C_4 植物发育过程中光合代谢途径的逐渐完善机制及各种环境因子对光合碳代谢途径的影响,来改造 C_3 植物,使其进行 C_4 光合途径从而提高光合效率进而提高其产量呢?相关问题尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Lichtenthaler H K. Application of chlorophyll fluorescence: In photosynthesis research, stress physiology, hydrobiology and remote sensing[M]. Springer-Verlag, New York, LLC, 1988: 151-155.
- [2] Geiger D R, Seravites J C. Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C_3 plants [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1994, 45(3): 235-256.
- [3] 徐德聪, 吕芳德, 刘小阳. 不同品种美国山核桃叶绿素荧光参数日变化的研究[J]. 激光生物学报, 2007, 16(3): 259-264.
- [4] 蔡永萍, 李玲, 李合生, 等. 霍山石斛叶片光合速率和叶绿素荧光参数的日变化[J]. 棉花学报, 2005, 17(3): 189-190.
- [5] 李晓征, 彭峰, 徐迎春, 等. 不同遮阴下多脉青冈和金叶含笑幼苗叶片的气体交换日变化 [J]. 浙江林学院学报, 2005, 22(4): 380-384.

(下转第 14 页)

- [6] Perales L, Arbona V, Gómez-Cadenas A, et al. A relationship between tolerance to dehydration of rice cell lines and ability for ABA synthesis under stress[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2005, 43(8): 786-792.
- [7] 胡博,肖素妮,吕滢,等.不同花生品种响应干旱胁迫后叶片内 ABA 与 AhNCED1 的分布[J]. *中国细胞生物学学报*, 2012, 34(10): 992-997.
- [9] 李长宁,Manoj Kumar SRIVASTAVA,农倩,等.水分胁迫下外源 ABA 提高甘蔗抗旱性的作用机制[J]. *作物学报*, 2010, 36(5): 863-870.
- [10] 胡秀丽,刘瑞侠,毛训甲.水分胁迫积累的 ABA 诱导抗氧化防护系统的信号级联[J]. *西北植物学报*, 2007, 27(5): 1061-1071.
- [11] 梁雪莲,王引斌.小麦生长发育进程中 ABA 等内源激素的变化与调节研究[J]. *种子*, 2004, 23(7): 49-52.
- [12] 李莉,田士林.酶联免疫(ELISA)分析晋麦叶片中脱落酸的含量[J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(23): 7098-7099.
- [13] 刘红娟,刘洋,刘琳.脱落酸对植物抗逆性影响的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2000(6): 7-9.
- [14] 王玮,杨兴洪,邹琦,等.水分胁迫下不同抗旱性小麦芽鞘膨压和 IAA 及 ABA 含量变化[J]. *植物学通讯*, 2001, 37(3): 211-214.
- [15] 高松洁,王文静,夏国军,等.小麦大粒品种内源 GA₃ 及 ABA 含量的变化规律[J]. *河南农业大学学报*, 2000(3): 213-215.
- [16] 郑国华,杉浦明,米森敬三.柿(*Diospyros kaki* L.) 果实发育及成熟过程中内源 GA₃ 活性和 ABA 含量的变化[J]. *中国农业大学学报*, 1991(1): 77-82.

(上接第 4 页)

- [6] 郝日明,李晓征,毛志滨,等.醉香含笑和金叶含笑幼苗期的动态生命表[J]. *植物资源与环境学报*, 2004, 13(2): 40-43.
- [7] 向成华,朱秀志,张华,等.濒危植物峨眉含笑的遗传多样性研究[J]. *西北林学院学报*, 2009, 24(5): 66-69.
- [8] 田如男,薛建辉,李晓储,等.深山含笑和乐昌含笑的抗寒性测定[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2004, 28(6): 55-57.
- [9] 刘兴剑,刘小巍,孙起梦.阔瓣含笑种内类型划分及苗期试验[J]. *江苏林业科技*, 2005, 32(4): 15-17.
- [10] 陈贻竹,刘鸿先,黄林可,等.不同角度水稻剑叶的叶绿素荧光 Fv/Fm 测定[J]. *植物生理学通讯*, 1991, 27(2): 114-116.
- [11] 李鹏民,高辉远,Strasser R J.快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(6): 559-566.
- [12] 温国胜,田海涛,张明如,等.叶绿素荧光分析技术在林木培育中的应用[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(10): 173-177.
- [13] 陈辰,刘桂华,赵海燕,等.华东楠叶绿素的荧光特性[J]. *东北林业大学学报*, 2011, 39(10): 50-53.
- [14] 张守仁.叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. *植物学通报*, 1999, 16(4): 444-448.
- [15] Yu F Y, Robert D G. Variable chlorophyll fluorescence in response to water plus heat stress treatments in three coniferous tree seedling [J]. *Journal of Forestry Research*, 2004 (15): 24-28.
- [16] 朱延姝,王茜,樊金娟,等.田间和温室环境中玉米幼苗叶片显微结构变化规律研究[J]. *西南农业学报*, 2012, 25(3): 813-816.
- [17] 朱延姝,张福珍,樊金娟,等.玉米幼苗不同叶位叶片叶绿素含量和荧光参数特性研究[J]. *西南农业学报*, 2012, 25(2): 412-415.
- [18] Strasser BJ, Strasser RJ. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test [M]. In: Mathis P (ed) *Photosynthesis: from Light to Biosphere*. Netherlands:Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995 (5): 977-980.
- [19] Berry J, Bjorkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants [J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1980(31): 491-543.
- [20] 张百富,张立军,樊金娟,等.玉米幼苗不同叶位花环结构及叶绿素含量研究[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(2): 33-35.
- [21] Crespo H M, Frea M, Cresswell C F, et al. The occurrence of both C₃ and C₄ photosynthetic characteristics in a single *Zea mays* plant [J]. *Planta*, 1979(147): 257-263.
- [22] Aoyagi K, Bassham JA. Appearance and accumulation of C₄ carbon pathway enzymes in developing maize leaves and differentiating maize A188 callus [J]. *Plant Physiol*, 1986(80): 322-333.
- [23] Cousins AB, Adam NR, Wall GW, et al. Development of C₄ photosynthesis in sorghum leaves grown under free-air CO₂ enrichment (FACE) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2003(54): 1969-1972.