

王友强,赵哲,汪社亮,等. 硼氮互作对甘蓝型油菜生长、氮素吸收和籽粒产量的影响[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(2): 38-47.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.02.005

硼氮互作对甘蓝型油菜生长、氮素吸收 和籽粒产量的影响

王友强¹, 赵哲¹, 汪社亮¹, 叶祥盛¹, 刘青云², 徐芳森¹

1. 华中农业大学资源与环境学院/微量元素研究中心, 武汉 430070;
2. 湖北省浠水县农业技术推广中心, 黄冈 438000

摘要 为探究甘蓝型油菜硼氮交互作用的增产效应及其生理机制, 通过水培试验和大田小区试验相结合的手段, 分析了硼氮交互效应对油菜生长、氮素吸收利用、氮代谢酶活性以及籽粒产量的影响。结果表明: 在苗期, 硼缺乏显著抑制了不同氮供应水平下油菜根系生长发育; 与低氮或低硼处理相比, 硼氮平衡供给显著提高了氮素吸收及其相关基因的表达水平, 改善了氮素同化过程中硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性; 在田间试验中, 硼和氮肥施用均显著提高了油菜产量, 但硼肥施用效果与土壤氮素水平紧密相关, 在正常氮(180 kg/hm²)供应水平下硼肥施用效果要优于低氮(60 kg/hm²)条件, 而高硼(18 kg/hm²)配高氮(240 kg/hm²)限制了产量的进一步增加; 适宜的硼氮配施显著改善了氮素收获指数, 促进氮素向籽粒中的分配; 无论是水培苗期还是大田全生育期, 硼氮配施对油菜生长发育都存在显著的交互效应, 在本研究的大田条件下, 油菜适宜氮肥推荐用量为180~240 kg/hm², 同时搭配4.5~9 kg/hm²的硼砂施用量, 可以最大限度地提高油菜增产潜力。

关键词 油菜; 硼氮互作; 精准施肥; 氮代谢酶活; 养分综合管理; 平衡施肥; 绿色高效

中图分类号 S511; S565.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)02-0038-10

油菜(*Brassica napus* L.)是我国重要的油料作物之一, 主要用于人类食用油、动物饲料和绿肥等, 其中菜籽油在全国油料作物产油量的占比超过50%^[1]。近年来随着油菜产业的大力发展, 我国油菜种植面积每年约665.3万hm², 其种植产区主要分布在我国长江流域。目前我国油菜优良品种籽粒产量高达2 048 kg/hm², 通过高产高效品种选育、养分综合管理、病虫害综合防治以及农技配套措施的改良, 我国油菜单产仍有巨大的增长潜力^[2]。

氮是植物生长发育所必需的大量营养元素, 是限制作物产量的主要因素^[3]。研究表明氮肥投入显著提高了油菜籽粒产量和品质^[4], 但低氮素利用效率的问题也越来越突出。因此, 如何提高氮肥利用效率, 减少氮肥投入是我国油菜绿色高效生产的重要目标。同样, 硼是维管植物正常生长发育所必需的微量元素^[3], 在维持细胞壁结构和花器官发育过程中发挥重要作用^[5]。据报道, 全世界80多个国家地区

的农田中至少有132种作物出现缺硼现象^[6]。20世纪70年代, 我国首次报道了油菜缺硼导致“花而不实”的现象^[7]。油菜需硼量多, 对硼缺乏敏感, 施用硼肥是我国油菜主产区常用的施肥措施。然而, 硼缺乏和毒害之间的浓度范围狭窄, 导致硼供应不足或过量对油菜生产都会产生不利影响^[8]。因此, 研究油菜科学精准施用硼肥的原理技术及其与其他养分肥料的优化配合, 对提高肥料利用率, 促进油菜绿色高效生产有重要的理论和实践意义。

近年来, 营养元素间交互效应研究成为热点^[9]。了解营养元素之间的互作关系, 有利于提高养分利用效率和改善作物生产。有研究指出, 硼在固氮和硝酸盐同化过程中起重要作用^[10]。在烟草中, 叶片和根系中硝酸盐浓度的降低与低硼条件下硝酸盐吸收速率降低有关。进一步研究表明, 缺硼降低了烟草质膜H⁺-ATP酶活性, 并促进铵同化为天冬酰胺^[11]。在油菜中, 平衡硼和磷肥施用显著提高了籽

收稿日期: 2021-11-29

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0200108)

王友强, E-mail: wangyouqiang@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 徐芳森, E-mail: fangsenxu@mail.hzau.edu.cn

粒产量,并改善了根际土壤细菌群落的丰度和多样性^[12]。氮与其他元素交互效应的生理分子机制已被广泛报道,例如氮与磷^[13]、钾^[14]、锌^[15]及钼^[16]等。然而,关于油菜中硼氮协同效应的研究鲜有报道。在本研究中,我们利用水培体系探究了油菜硼氮交互效应以及潜在的生理机制,并且通过2 a的田间试验分析不同硼氮施肥对比对氮素吸收利用和籽粒产量的影响,阐明平衡硼和氮施用对油菜生产的协同效应,并量化其最佳硼氮施肥配比,旨在为实际农业生产中硼氮养分综合管理提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 油菜营养液试验

油菜硼氮互作水培试验在华中农业大学植物营养生物学课题组光照培养室中进行。光照培养室的温度设置为22℃,光照周期为16 h(光照)/8 h(黑暗),光照强度为300~320 μmol/(m²·s),湿度为60%~75%。试验以甘蓝型油菜品种Westar 10为研究材料。试验中选取大小一致的油菜种子,用1% NaClO灭菌处理15 min后再用纯水将种子表面冲洗干净,然后在4℃下用超纯水(电导>18.25 MΩ)浸泡12 h,之后将浸泡过后的种子均匀播种到育苗浮漂上催芽。7 d后将长势一致的幼苗移至盛有10 L营养液的黑色塑料盆中培养15 d。营养液试验中的大量元素营养液采用Hoagland配方,微量元素营养液采用Arnon配方。缺氮处理导致减量的钾和钙用KCl和CaCl₂来补充,每隔4 d更换1次营养液,营养液pH维持在5.8左右。

设置2个氮供应水平(0.12和6 mmol/L NO₃⁻)和2个硼供应水平(0.25和25 μmol/L H₃BO₃),进行完全交互处理,包括N_{0.12}B_{0.25}、N_{0.12}B₂₅、N₆B_{0.25}和N₆B₂₅,共计4个处理。试验中每盆营养液中移植54株油菜作为1个重复,每个处理进行4次独立重复,并采用随机完全区组排列。培养第15天时,收获油菜根系和地上部样品,然后置于烘箱中105℃杀青30 min,65℃烘干至恒质量后称质量。将烘干后的样品研磨成粉末,用于氮含量的测定。另外,将新鲜的油菜根和叶分别取样,然后快速放入液氮中,最后储存到-80℃冰箱中,用于生理和分子指标的测定。

1.2 大田小区试验

本试验起始于2017年9月至2019年5月在湖北省武穴市梅川镇郭坦村进行。种植期间的气温和降水量数据由武穴市梅川镇气象局提供,第一

(2017—2018)和第二(2018—2019)生长季平均气温分别为15.6和15.7℃,总降水量分别为859.6和335.5 mm。试验点前茬作物为水稻,0~20 cm深的土壤基本理化性质为:pH 5.18,有机质37.16 g/kg,总氮1.06 g/kg,碱解氮103.3 mg/kg,Olsen-P 21.7 mg/kg,有效硼0.12 mg/kg。

试验设4个氮肥施用水平(纯N:0、60、180、240 kg/hm²)和4个硼肥施用水平(硼砂:0、4.5、9、18 kg/hm²),进行不完全交互试验,共计11个处理,每个处理重复4次。试验小区大小为4.0 m×1.2 m,供试油菜品种为Westar 10(简称W10),进行随机区组试验。试验以尿素(46% N)、过磷酸钙(12% P₂O₅)、氯化钾(60% K₂O)和硼砂(12% B)为肥源,其中氮肥70%作基肥、30%作越冬肥,磷肥、钾肥和硼肥全部基施。田间生产管理按当地实际生产措施进行,并适时防治病虫害。在油菜苗期和抽薹期,将取回的样品清洗后于105℃杀青30 min,60℃烘干至恒质量,称取干质量,计算干物质累积量。将样品粉碎、混匀,装入自封袋待测。成熟期,选取长势一致的6株油菜,按茎秆、角果壳和籽粒进行取样,用于不同组织部位养分含量测定,最后小区剩余油菜全部收获测实产。

1.3 叶片光合指标测定

在大田油菜抽薹期,选取长势一致的油菜6株,利用便携式光合系统仪CIRAS-3(PP Systems,美国)从10:00到14:00测定完全展开叶片净光合速率。参数设置如下:叶面温度25℃;相对湿度60%~70%;CO₂含量400 μmol/mol;光强1 200 μmol/(m²·s);气体流速300 mL/min。

1.4 氮含量及氮代谢酶活性测定

1)氮含量测定。采用H₂SO₄-H₂O₂方法将待测样品消解,用连续流动分析仪(AA3,SEAL Analytical GmbH)测定消解液中的氮素浓度。

2)硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)活性测定。使用试剂盒测定(科铭,中国苏州)油菜不同组织部位中的NR和GS活性,具体步骤参照说明书进行。其中NR的单位(U/g)定义:每小时1 g鲜质量样品中催化产生1 μmol NO₂的量为1个NR活力单位;GS的单位(U/g)定义:1 g组织在反应体系中每30 min使540 nm下吸光值变化0.01定义为1个GS活力单位。

1.5 基因表达分析

使用Trizol试剂(Invitrogen)提取样品中总

RNA,详细步骤参考试剂说明书。将提取的总RNA按照TRUEscript RT kit with gDNA Eraser(Aidlab,中国北京)逆转录试剂盒的说明书进行RNA逆转录,从而获得cDNA的第1条链。通过QuantStudio 6 Flex实时PCR系统(Applied Biosystems,美国),使用Abclonal 2 × Universal SYBR Green Fast qPCR Mix Kit(Abclonal,中国武汉)进行实时荧光定量PCR(qRT-PCR)。*EF-1 α* 作为内参基因,并通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算基因相对表达水平,其中 $\Delta\Delta C_t = (C_{T_{\text{目标基因}}} - C_{T_{EF-1\alpha}})_{\text{处理组}} - (C_{T_{\text{目标基因}}} - C_{T_{EF-1\alpha}})_{\text{对照组}}$ 。分析油菜中硝酸盐转运蛋白家族1(NRT1)和家族2(NRT2)关键基因相对表达水平的变化。表1中列出了相关基因引物信息。

表1 本研究中qRT-PCR分析所用引物

Table 1 Primers used for qRT-PCR analysis in this study

基因名称 Gene name	正向引物(5'→3') Forward primers	反向引物(3'→5') Reverse primers
<i>NRT1.1s</i>	TTTGGGTCAGAC- CAATTTCG	CCGGCCAAGAAAAT- GCTTAG
<i>NRT1.5s</i>	AGTTCGATGAAGAG- CATCCT	CGGTATCTCG- GAGTTCCAAG
<i>NRT2.2s</i>	CCATCGTGCCTTTT- GTCTC	GTTAGCCCTT- GTTTCAGTTGTG
<i>NRT2.5s</i>	TTATCGCACGAGAA- CAAAG	TTCCACAAT- GGGGAGGTATG
<i>EF1-α</i>	GCCTGGTATGGTT- GTGACCT	GAAGTTAGCAG- CACCTTGG

1.6 统计分析

本试验数据均表示为“平均值±标准差”,使用SPSS 25.0和GraphPad Prism 8.0进行数据统计分析和可视化。数据的显著性分析采用单因素方差分析(LSD test)和双因素方差分析(Šidák's test)。

2 结果与分析

2.1 硼氮配施对田间油菜生长及产量的影响

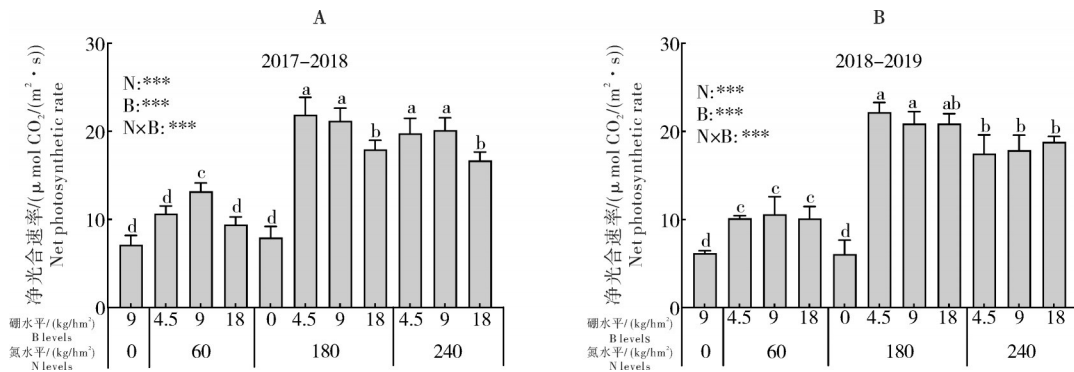
为探究硼氮配施对油菜田间生产的影响,我们在2017—2019年设置了不同硼氮施肥配比处理(表2)。研究表明,在苗期、抽薹期和成熟期,随着氮肥施用量的增加,地上部生物量显著增加;硼肥施用显著提高了地上部生物量,但与氮肥施用量密切相关。统计分析也表明硼和氮肥施用显著影响了油菜不同生育时期生物量的累积,且两者之间存在显著的交互作用($P < 0.05$)。在低氮(60 kg/hm²)条件

下,油菜全生育时期生物量的累积在不同硼肥施用量间差异不显著;在正常氮(180 kg/hm²)条件下,不施硼严重抑制了油菜不同生育时期地上部生物量的积累,且随着生育时期的延长,硼肥处理效果越来越显著;在高氮(240 kg/hm²)条件下,当硼肥施用量达到18 kg/hm²时,成熟期地上部生物量的累积有下降趋势。结果表明,相比于单一施用氮肥和硼肥,硼氮配施显著促进了不同生育时期生物量的累积。

由表2可知,随着施氮量的增加(0~240 kg/hm²),油菜籽粒产量显著增加。在低氮(60 kg/hm²)条件下,不同硼肥施用量之间未观察到显著的产量变异;在正常氮(180 kg/hm²)条件下,硼肥施用显著增加了2017—2019年的油菜产量,在硼肥施用量为4.5 kg/hm²时,籽粒产量达到最大值;在高氮(240 kg/hm²)条件下,随着硼肥施用量的增加(4.5~18 kg/hm²),油菜产量呈现下降趋势。与不施氮(0 kg/hm²)和不施硼(0 kg/hm²)处理相比,硼氮配合施用使油菜产量提高了177.8%~772.4%。双因素统计分析也说明了硼氮之间存在极显著的交互作用($P < 0.01$)。

2.2 硼氮配施对油菜抽薹期光合作用的影响

在抽薹期,测定了油菜叶片光合能力对不同硼氮配施处理的响应(图1),结果表明,缺氮导致油菜叶片净光合速率显著降低,随着氮肥施用量的增加,净光合速率呈现先上升后降低的趋势,表明氮肥缺乏和过量都不利于油菜叶片进行光合作用。在低氮(60 kg/hm²)条件下,硼肥施用对光合作用具有一定的改善作用,在施用硼肥9 kg/hm²时净光合速率最大,但在2018—2019生长季并未发现显著差异;在正常氮(180 kg/hm²)条件下,不施硼肥(0 kg/hm²)严重抑制了油菜光合作用,随着硼肥施用量的进一步增加(4.5~18.0 kg/hm²),硼肥显著提高了油菜叶片光合速率,但不同硼处理间差异不显著;在高氮(240 kg/hm²)条件下,与正常氮相比,高氮投入会降低油菜叶片的光合速率,并且配合高硼施用会进一步抑制了2017—2018年油菜叶片的光合速率。通过对两年结果数据统计分析表明硼和氮施肥处理对油菜叶片光合速率影响极显著($P < 0.001$),且硼氮之间存在极显著的交互作用($P < 0.001$)。此外,硼氮配施对油菜抽薹期光合作用和生物量的影响与成熟期产量表现相似,说明抽薹期生物量的累积对于成熟期产量至关重要。



不同小写字母表示不同处理间有显著性差异 Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($P < 0.05$), 星号表示氮、硼处理及两者交互作用的显著性差异。下同。The asterisks indicate the significant differences in N, B treatments and their interactions: ns, $P > 0.05$, *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$. The same as below.

图1 硼氮肥配施对2017—2019年两季田间试验抽薹期油菜叶片净光合速率的影响

Fig. 1 Effects of N and B fertilizers co-application on net photosynthetic rate of rapeseed leaves at bolting stage in 2017—2019 field experiments

2.3 硼氮配施对油菜成熟期氮素吸收累积以及氮素收获指数的影响

由图2可知,随着氮肥施用量的增加,茎秆、角果壳和籽粒中氮素累积量显著增加。在低氮(60 kg/hm²)条件下,施硼提高了2017—2018年各组织部位氮素累积量,但在2018—2019年差异并不显著;在正常氮(180 kg/hm²)条件下,随着硼肥施用量的增加地上部氮素总累积量先增加后下降,在施硼量为4.5~9 kg/hm²时氮素吸收积累显著升

高。值得注意的是,不施硼(0 kg/hm²)严重限制了氮素在籽粒中的累积,说明硼缺乏减少了氮素在籽粒中的分配比例,而增加了茎秆、角果壳等营养器官中的分配比例;在高氮(240 kg/hm²)条件下,随着硼肥用量的增加,各组织部位中氮素累积呈显著下降的趋势,表明高氮配高硼不利于氮素在成熟期各组织部位的积累。总之,硼氮配施交互效应显著($P < 0.01$),促进了氮素在不同组织部位的累积以及氮素向籽粒中分配。

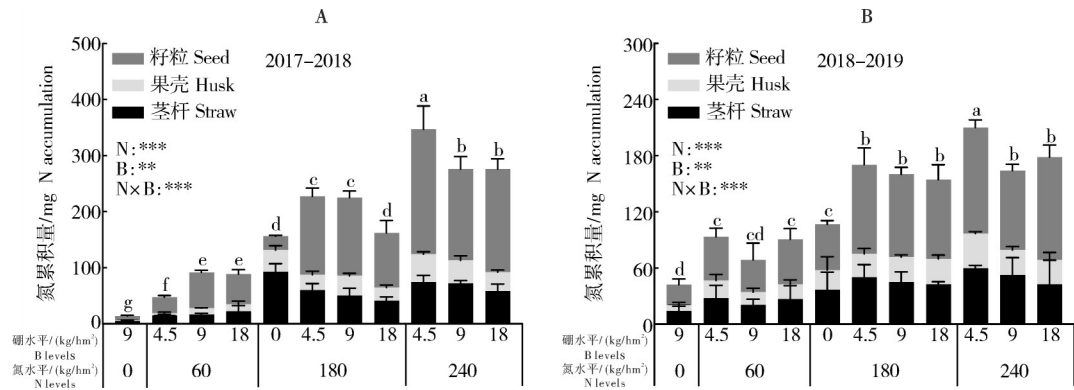


图2 硼氮肥配施对2017—2019年两季田间试验成熟期氮素在油菜不同组织中累积量的影响

Fig. 2 Effects of N and B fertilizers co-application on the N accumulation in different tissues of rapeseed at maturity in 2017—2019 field experiments

进一步分析氮素收获指数(表3),结果表明不施氮(0 kg/hm²)和低氮(60 kg/hm²)条件下,氮素收获指数显著提高,但不同硼处理间差异不显著;在正常氮(180 kg/hm²)条件下,不施硼(0 kg/hm²)和高硼(18 kg/hm²)均对氮素收获指数具有显著的抑制作用,这与氮素吸收累积结果相一致。因此,适宜的硼肥用量可显著改善氮肥利用效率,进而增加籽粒

产量。值得注意的是,硼氮配施对氮素收获指数的影响在2017—2018年生长季存在极显著的交互作用($P < 0.01$),但在2018—2019年无显著差异($P > 0.05$)。

2.4 不同硼氮供应水平对水培油菜苗期生物量及氮素累积量的影响

大田小区试验发现硼氮之间存在显著的交互效

表2 硼氮配施对2017—2019年两季田间试验油菜不同时期生物量及产量的影响

Table 2 Effects of N and B fertilizers co-application on the seed yield and biomass of rapeseed at different growth stages in 2017—2019 field experiments

氮水平/ (kg/hm ²) N levels	硼水平/ (kg/hm ²) Boron levels	单株地上部干物质/g Shoot dry weight per plant						籽粒产量/(kg/hm ²) Seed yield	
		苗期 Seedling stage		抽薹期 Bolting stage		成熟期 Mature stage		2017—2018	2018—2019
		2017—2018	2018—2019	2017—2018	2018—2019	2017—2018	2018—2019		
0	9	0.98 ± 0.28e	1.11 ± 0.15d	1.77 ± 0.25e	2.38 ± 0.49d	13.34 ± 4.10f	6.97 ± 0.88e	49.7 ± 9.4f	121.0 ± 5.8f
	4.5	4.42 ± 0.59d	2.35 ± 0.25c	6.54 ± 1.19d	3.38 ± 0.40c	28.94 ± 4.94e	14.68 ± 1.02d	233.5 ± 33.4d	367.5 ± 34.8d
60	9	4.43 ± 0.46d	2.61 ± 0.57c	7.32 ± 1.44d	4.73 ± 0.23c	28.23 ± 5.97e	11.94 ± 2.35d	259.1 ± 68.3d	357.2 ± 36.7d
	18	4.73 ± 1.05d	2.97 ± 0.59c	6.08 ± 1.23d	4.07 ± 0.58c	28.14 ± 4.07e	12.89 ± 1.05d	245.4 ± 23.2d	403.0 ± 36.5d
	0	10.32 ± 0.65c	3.71 ± .52bc	13.07 ± 1.48c	8.05 ± 0.68ab	60.41 ± 4.04d	25.67 ± 2.36c	129.6 ± 35.6e	229.2 ± 20.3e
180	4.5	11.23 ± .81bc	4.74 ± 0.41ab	15.55 ± 1.73b	8.60 ± 0.41a	66.44 ± 4.94c	32.67 ± 2.25b	446.2 ± 48.5c	590.8 ± 59.3bc
	9	13.07 ± 2.82b	4.99 ± 0.68ab	18.06 ± 3.20ab	9.61 ± 0.92a	74.05 ± .37ab	31.86 ± 3.54b	444.0 ± 57.3c	575.1 ± 29.3c
	18	11.63 ± .23bc	4.44 ± 0.79b	16.17 ± 1.60b	6.98 ± 0.33b	63.06 ± .79cd	32.15 ± 3.22b	416.3 ± 56.0c	565.2 ± 69.4c
	4.5	14.61 ± .11ab	4.86 ± 0.34ab	17.12 ± 1.72b	7.88 ± 0.67ab	77.42 ± 5.56a	40.67 ± 1.99a	687.3 ± 42.2a	805.3 ± 42.2a
240	9	16.07 ± 2.30a	5.32 ± 0.44a	20.81 ± 1.48a	7.36 ± 0.28ab	72.64 ± .73ab	32.97 ± 1.24b	695.1 ± 84.5a	668.0 ± 41.2b
	18	16.29 ± 1.12a	4.23 ± 0.65b	22.92 ± 4.90a	7.55 ± 0.64ab	71.49 ± 6.12b	35.82 ± 1.57b	630.6 ± 27.3b	639.2 ± 42.7bc
ANOVA	N	***	***	***	***	***	***	***	***
P(>F)	B	**	**	**	**	***	***	***	***
	N×B	*	ns	*	*	**	*	**	**

表3 硼氮配施对2017—2019年两季田间试验油菜成熟期氮素收获指数的影响

Table 3 Effects of N and B fertilizers co-application on the N harvest index of rapeseed at maturity in 2017—2019 field experiments

氮水平/ (kg/hm ²) N levels	硼水平/ (kg/hm ²) Boron levels	氮素收获指数/% N harvest index	
		2017—2018	2018—2019
0	9	60.3 ± 7.4a	52.8 ± 7.9a
	4.5	66.2 ± 6.8a	56.3 ± 4.1a
60	9	76.6 ± 5.2a	60.9 ± 4.1a
	18	79.3 ± 7.5a	59.2 ± 5.6a
	0	14.2 ± 5.4d	36.8 ± 3.9b
180	4.5	55.1 ± 4.4b	56.1 ± 1.7a
	9	56.3 ± 4.0b	55.5 ± 4.2a
	18	37.8 ± 6.5c	47.5 ± 3.7a
	4.5	62.3 ± 2.7b	53.3 ± 1.9a
240	9	56.7 ± 6.3b	51.1 ± 3.2a
	18	57.3 ± 7.0b	53.9 ± 2.2a
ANOVA	N	***	*
P(>F)	B	***	**
	N×B	**	ns

应,为了进一步分析其潜在的生理机制,我们利用营养液体系设置了2个氮水平和2个硼水平的交互处理。如图3所示,在不同供氮(0.12和6 mmol/L)水平下,根系生物量随着硼水平的增加分别提高了2.8倍和1.1倍。增加硼供应显著提高了正常氮条件下油菜地上部的生物量,而在低氮条件下差异不显著(图3 A和B)。此外,在缺氮条件下,增加硼供应造成油菜根冠比显著增加了2.1倍(图3 C)。结果表明在长期硼缺乏条件下,根系生长受到严重抑制,与氮素供应水平无关。对于氮素吸收累,研究发现在不同氮水平(0.12和6 mmol/L)下,正常供硼显著增加了根系中的氮素积累(图3 D)。然而,在低氮(0.12 mmol/L)条件下,地上部的氮素积累没有显著变化(图3 E)。与低氮低硼处理(0.12 mmol/L N+0.25 μmol/L B)相比,在氮硼供应充足(6 mmol/L N+25 μmol/L B)的情况下,根和地上部的氮素积累量显著增加了5.0和10.7倍。值得注意的是,减少硼供应改善了低氮(0.12 mmol/L)条件下油菜根系氮素吸收能力,但抑制了正常氮(6 mmol/L)水平根系氮素吸收能力(图3 F),这些结果说明不合理的硼氮配比不利于油菜生长以及氮的吸收累积。另外,双因

素统计分析也表明硼和氮处理间差异显著,且具有极显著的交互作用($P < 0.01$)。

2.5 不同硼氮供应水平对水培油菜苗期氮代谢相关酶活性的影响

为探究硼氮交互处理是否会影响氮同化代谢过程,我们测定了不同氮硼交互处理下硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)的活性(图4)。与低硼(0.25 $\mu\text{mol/L}$)处理相比,增加硼供应显著提高了不同氮水平下油菜根系NR和GS活性,这表明充足的硼供应对于维持油菜苗期根系氮素代谢的重要性。与低氮低硼(0.12 mmol/L N+0.25 $\mu\text{mol/L}$ B)处理相比,在氮和硼供应充足(6 mmol/L N+25

$\mu\text{mol/L}$ B)的情况下,根系NR和GS活性分别提高了2.0和6.2倍(图4 A、C)。在正常氮条件下(6 mmol/L),叶片NR和GS活性随硼供应水平的增加而显著增加。然而,在低氮条件下(0.12 mmol/L),不同硼处理间叶片NR和GS活性差异不显著。同样,与低氮低硼(0.12 mmol/L N + 0.25 $\mu\text{mol/L}$ B)处理相比,在氮和硼充足(6 mmol/L N + 25 $\mu\text{mol/L}$ B)的情况下,叶片NR和GS活性分别增加了62.2%和75.4%(图4 B、D)。通过双因素方差分析进一步表明不同硼氮处理对氮代谢酶活性具有显著的交互作用($P < 0.05$)。以上结果表明,与缺氮或缺硼相比,平衡硼和氮素供给显著改善了油菜苗期氮素同化代谢过程。

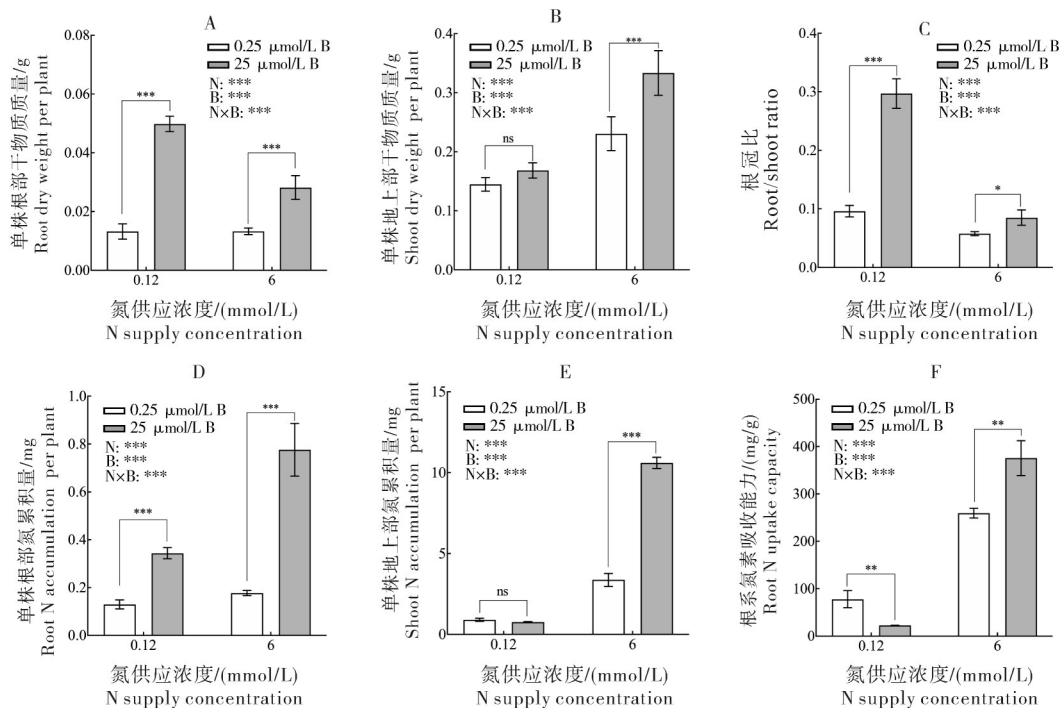


图3 硼氮交互处理对水培油菜苗期干物质质量(A,B)、根冠比(C)、氮素积累量(D,E)和根系氮素吸收能力(F)的影响

Fig. 3 Effects of B and N interaction treatment on dry matter weight(A,B), root/shoot ratio(C), the N accumulation (D,E) and root N uptake capacity(F) of rapeseed seedlings in the hydroponic experiment

2.6 不同硼氮供应水平对水培油菜苗期氮吸收转运相关基因的影响

鉴于硼氮交互处理对油菜氮素吸收和转运有显著的影响,我们分析了氮素吸收转运相关基因表达水平的变化。如图5所示,基因 *NRT1.1s*、*NRT1.5s*、*NRT2.2s* 和 *NRT2.5s* 主要在油菜根中表达且在不同硼处理间差异显著。在低氮(0.12 mmol/L)条件下,减少硼供应显著提高了基因 *NRT1.5s*、*NRT2.2s* 和 *NRT2.5s* 的表达水平,这表明低氮低硼处理有利于提高氮吸收转运相关基因的表达,提高了根系氮素吸

收能力。在这些基因中,*NRT2.5s* 受缺氮诱导表达尤为显著,在低氮胁迫下促进油菜氮素吸收过程中发挥主要功能。在正常氮(6 mmol/L)条件下,硼缺乏显著抑制了基因 *NRT1.1s*、*NRT1.5s* 和 *NRT2.2s* 的表达水平,造成根和地上部氮素积累量显著减少。统计分析也进一步明确硼氮处理对氮素吸收转运相关基因表达具有显著的影响,且交互作用极显著($P < 0.001$)。总之,平衡硼和氮供给显著改善了氮吸收转运相关基因的表达,从而促进了氮素的吸收和转运。

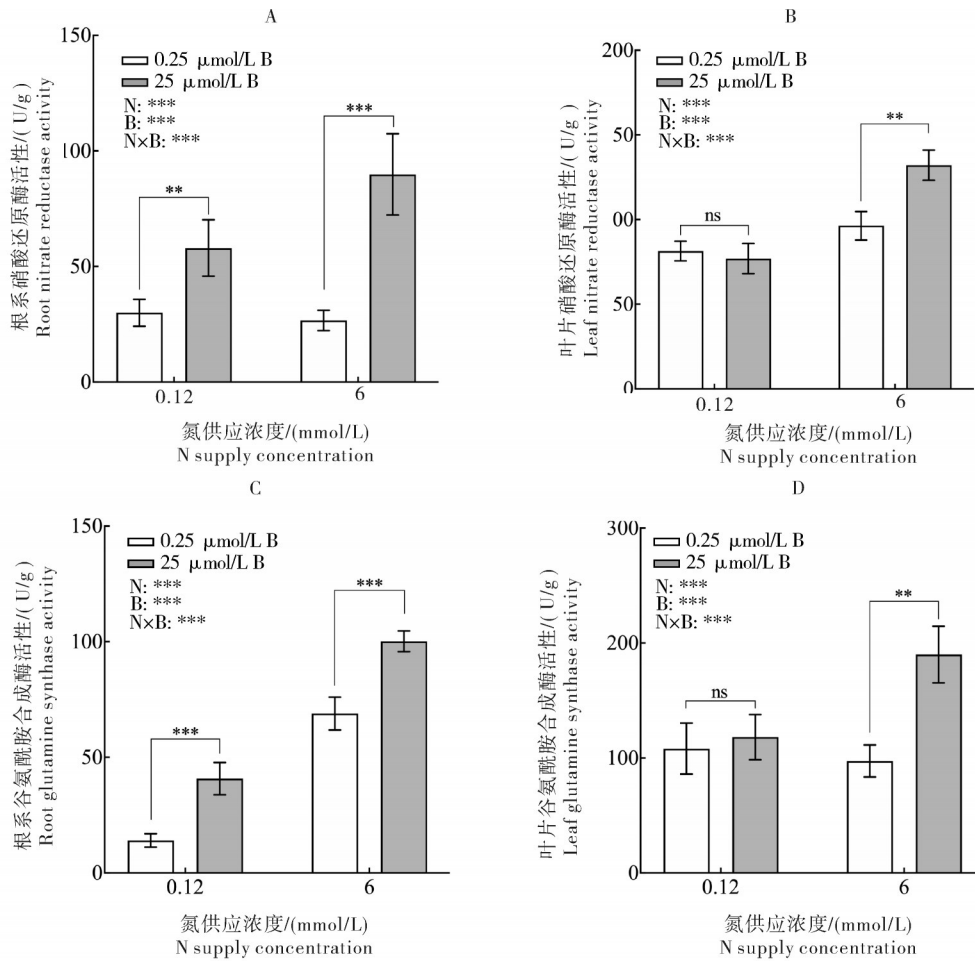


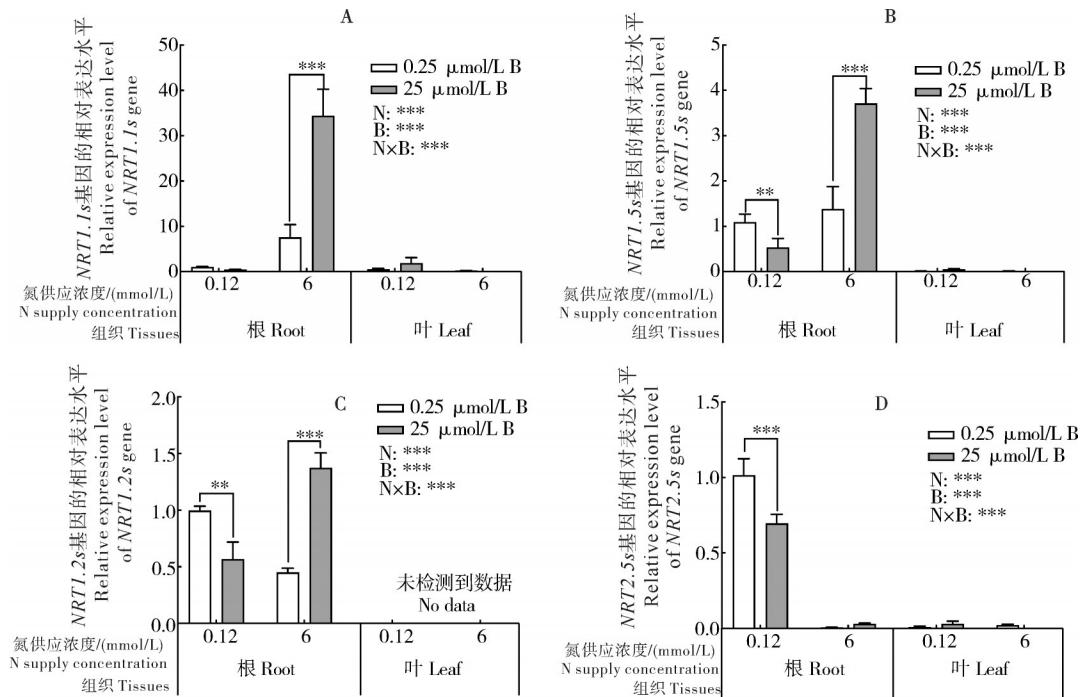
图4 硼氮交互处理对水培油菜苗期根部和叶片中硝酸还原酶(A,B)和谷氨酰胺合成酶(C,D)的影响
Fig. 4 Effects of B and N interaction treatment on nitrate reductase(A,B) and glutamine synthase(C,D) in root and leaf of rapeseed seedlings in the hydroponic experiment

3 讨论

近年来,甘蓝型油菜硼和氮营养的生理和分子机制得到广泛研究^[17-18],但硼与氮之间的互作关系以及背后的生理机制鲜有研究报道。

根系是植物从土壤获取氮素营养的主要器官,发达的根系有利于养分物质的吸收利用^[19]。油菜通过促进主根伸长和增加侧根密度来响应低氮胁迫^[20]。不同的是,缺硼更容易造成根系生长发育受阻,根尖生长点坏死^[21]。本研究发现,在低氮或高氮条件下,油菜苗期根系生长发育均受到缺硼抑制。然而,缺硼对地上部的影响主要发生在正常供氮条件下。这些结果表明油菜根系对硼缺乏的响应要优先于缺氮,同时增加氮供应水平会加剧地上部缺硼反应。本研究表明,硼氮交互处理对油菜氮素吸收累积存在显著的影响。与单一硼或氮养分供给相比,硼氮配合供给显著提高了油菜根系氮素吸收能

力和累积量,这可能与硝酸盐吸收转运相关基因表达水平的增强以及氮同化代谢的改善显著相关。此外,增加硼供应浓度显著提高了不同氮水平下根系中氮素吸收,这表明硼在维持根系生长、促进氮素吸收过程中发挥重要作用。有研究表明硼缺乏降低了烟草中根系硝酸盐的吸收速率^[11]。但是,我们研究发现减少硼应对低氮胁迫下根系氮素吸收能力有一定的改善作用,低氮低硼处理下硝酸盐转运蛋白家族基因 *NT2.2s* 和 *NRT2.5s* 的表达水平的增强进一步确认了这一结果。*NRT2* 家族基因已经被证明在根系响应低氮胁迫促进硝酸盐吸收中发挥重要的功能^[22]。尽管在低氮低硼处理中氮吸收相关基因的表达水平有所改善,但受限于缺硼对根系生长发育的影响,我们并未发现氮素累积量在根系中显著增加。然而,随着氮水平的增加,硼缺乏显著抑制了硝酸盐吸收基因 *NRT2.2s* 和 *NRT1.1s* 的表达水平,导致根系氮素吸收显著降低。此外,硼缺乏促进了低氮条



$N_{0.12}B_{0.25}$ 处理下根部表达量定为 1, 作为计算相对表达量的参照。The root expression level under $N_{0.12}B_{0.25}$ treatment was set as 1, as a reference for calculating the relative expression level.

图5 硼氮交互处理对水培油菜苗期根系和叶片中NRT家族基因表达水平的影响

Fig. 5 Effects of B and N interaction treatment on the expression level of NRT family genes in the root and leaf of rapeseed seedlings in the hydroponic experiment

件下氮素木质部装载基因 *NRT1.5* 的表达,而在正常氮条件下表现出相反的结果。这表明低氮配低硼可能会增加氮从根到地上部的转运,导致低氮条件下地上部氮累积量在不同硼水平之间差异不显著。这些结果表明硼供应水平显著影响了油菜氮素的吸收转运,并且硼氮之间存在显著的交互作用。植物吸收硝酸盐必须经过一系列同化反应,最终才能被植物利用^[3]。本研究结果表明,硼和氮素在油菜氮代谢过程中表现出显著的交互效应,硼氮配合供给显著改善了油菜根系中NR和GS的活性。对于地上部的生长而言,硼缺乏对生物量、氮吸收和氮代谢的负面影响只在正常供氮的情况下观察到。这表明增加氮素供应水平会进一步加剧油菜地上部缺硼症状。总而言之,与低氮或低硼相比,硼氮平衡供给显著改善了氮素吸收、转运及代谢酶活性,共同促进了油菜的生长和发育。

本研究结果表明,不同的硼氮配施处理对油菜生长发育、养分吸收以及产量形成有不同程度的影响,适宜的硼氮配施有显著的正向增效作用。前人研究表明氮和硼肥施用显著提高了油菜籽粒产量^[17,23],这与本研究结果相一致。然而,我们进一步

证明了硼肥施用效果与土壤氮素供应水平显著相关,且硼氮之间存在显著的交互效应。在低氮(60 kg/hm²)条件下,不同硼施用水平对油菜苗期、薹期和成熟期地上部生物量以及籽粒产量的影响较小,这与我们水培苗期试验结果相一致。在氮素胁迫环境下,土壤氮素供应水平是产量形成的关键限制因子,而对硼需求量较小^[24]。但在正常氮(180 kg/hm²)条件下,不施硼(0 kg/hm²)显著抑制了氮素吸收累积以及向种子中的再分配。在成熟期,油菜籽粒中的氮素主要来自营养器官中氮素再分配^[25]。本研究结果表明减少氮肥供应水平提高了油菜氮素收获指数,而不施硼肥显著降低了氮素收获指数,这与缺硼抑制油菜库器官(籽粒)的发育紧密相关^[5]。因此,适宜硼肥供应不仅促进了氮素吸收,还改善了成熟期氮素向籽粒中的分配,进而提高油菜籽粒产量。

值得注意的是,高氮(180 kg/hm²)配施高硼(18 kg/hm²)显著降低了氮素吸收累积量,造成减产的风险。这表明平衡硼氮供应对油菜生长发育和籽粒产量的形成至关重要。同时,也说明硼肥最佳施用水平范围极窄,缺乏或过量都不利于油菜生产^[8]。在抽薹期,适宜硼氮配施显著提高了油菜叶片光合作用

能力,促进了营养生长期生物量的累积,这对成熟期产量的形成提供了保证^[26]。另外,田间试验受到外界环境影响较大,研究结果表明2017—2018年不同硼氮配施处理效果明显优于2018—2019年,这可能与2018—2019年降水量显著低于2017—2018年有关。总而言之,油菜苗期水培试验以及大田施肥配比试验都表明硼氮养分之间存在着显著的交互作用。优化硼氮施肥配比是促进油菜绿色高效生产的重要措施之一。在本研究田间生产条件下,油菜适宜氮肥推荐用量为180~240 kg/hm²,同时搭配4.5~9 kg/hm²的硼砂施用量,可以最大限度地提高油菜增产潜力。

参考文献 References

- [1] 陆志峰,任涛,鲁剑巍.我国冬油菜种植区土壤有效镁状况与油菜施镁效果[J].华中农业大学学报,2021,40(2): 17-23. Soil available magnesium status and effects of magnesium application on rapeseed yield in main producing area of China[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(2): 17-23 (in Chinese with English abstract).
- [2] 刘成,冯中朝,肖唐华,等.我国油菜产业发展现状、潜力及对策[J].中国油料作物学报,2019,41(4): 485-489. LIU C, FENG Z C, XIAO T H, et al. Development, potential and adaptation of Chinese rapeseed industry [J]. Chinese journal of oil crop sciences, 2019, 41(4): 485-489 (in Chinese with English abstract).
- [3] 张俊玲.植物营养学[M].北京:中国农业大学出版社,2021. ZHANG J L. Plant nutrition[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2021 (in Chinese).
- [4] 李慧,马常宝,鲁剑巍,等.中国不同区域油菜氮磷钾肥增产效果[J].中国农业科学,2013,46(9): 1837-1847. LI H, MA C B, LU J W, et al. Increasing effect of N, P and K fertilizer on rapeseed in different regions of China [J]. Scientia agricultura sinica, 2013, 46(9): 1837-1847 (in Chinese with English abstract).
- [5] GONZÁLEZ-FONTES A, FUJIWARA T. Advances in plant boron [J/OL]. International journal of molecular sciences, 2020, 21(11): 4107 [2021-11-29]. <https://doi.org/10.3390/ijms21114107>.
- [6] SHORROCKS V M. The occurrence and correction of boron deficiency [J]. Plant and soil, 1997, 193(1/2): 121-148.
- [7] 王运华,徐芳森,鲁剑巍.中国农业中的硼[M].北京:中国农业出版社,2015. WANG Y H, XU F S, LU J W. Boron of agriculture in China [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015 (in Chinese).
- [8] BRDAR-JOKANOVIĆ M. Boron toxicity and deficiency in agricultural plants [J/OL]. International journal of molecular sciences, 2020, 21(4): 1424 [2021-11-29]. <https://doi.org/10.3390/ijms21041424>.
- [9] RIETRA R P J J, HEINEN M, DIMKPA C O, et al. Effects of nutrient antagonism and synergism on yield and fertilizer use efficiency [J]. Communications in soil science and plant analysis, 2017, 48(16): 1895-1920.
- [10] CAMACHO-CRISTÓBAL J J, REXACH J, GONZÁLEZ-FONTES A. Boron in plants: deficiency and toxicity [J]. Journal of integrative plant biology, 2008, 50(10): 1247-1255.
- [11] HERRERA-RODRÍGUEZ M B, GONZÁLEZ-FONTES A, REXACH J, et al. Role of boron in vascular plants and response mechanisms to boron stresses [J]. Plant stress, 2010, 4(2): 115-122.
- [12] ZHAO Z, WANG Y Q, SHI J Q, et al. Effect of balanced application of boron and phosphorus fertilizers on soil bacterial community, seed yield and phosphorus use efficiency of Brassica napus [J/OL]. Science of the total environment, 2021, 751: 141644 [2021-11-29]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141644>.
- [13] HU B, JIANG Z, WANG W, et al. Nitrate-NRT1.1B-SPX4 cascade integrates nitrogen and phosphorus signalling networks in plants [J]. Nature plants, 2019, 5(4): 401-413.
- [14] COSKUN D, BRITTO D T, KRONZUCKER H J. The nitrogen-potassium intersection: membranes, metabolism, and mechanism [J]. Plant, cell & environment, 2017, 40(10): 2029-2041.
- [15] JI C C, LI J L, JIANG C C, et al. Zinc and nitrogen synergistic act on root-to-shoot translocation and preferential distribution in rice [J]. Journal of advanced research, 2022, 35: 187-198.
- [16] IMRAN M, SUN X C, HUSSAIN S, et al. Molybdenum supply increases root system growth of winter wheat by enhancing nitric oxide accumulation and expression of NRT genes [J]. Plant and soil, 2021, 459(1/2): 235-248.
- [17] 张浩,李双,叶祥盛,等.甘蓝型油菜减氮增效潜力评价及种质资源筛选[J].中国油料作物学报,2021,43(2): 195-202. ZHANG H, LI S, YE X S, et al. Evaluation on potential of reducing nitrogen and increasing efficiency for Brassica napus germplasm [J]. Chinese journal of oil crop sciences, 2021, 43(2): 195-202 (in Chinese with English abstract).
- [18] 徐芳森,王运华.我国作物硼营养与硼肥施用的研究进展[J].植物营养与肥料学报,2017,23(6): 1556-1564. XU F S, WANG Y H. Advances in studies on crop boron nutrition and application of boron fertilizers in China [J]. Journal of plant nutrition and fertilizer, 2017, 23(6): 1556-1564 (in Chinese with English abstract).
- [19] MOTTE H, VANNESTE S, BEECKMAN T. Molecular and environmental regulation of root development [J]. Annual review of plant biology, 2019, 70: 465-488.
- [20] QIN L, WALK T C, HAN P P, et al. Adaption of roots to nitrogen deficiency revealed by 3D quantification and proteomic analysis [J]. Plant physiology, 2019, 179(1): 329-347.
- [21] HE M L, WANG S L, ZHANG C, et al. Genetic variation of BnaA3. NIP5;1 expressing in the lateral root cap contributes to boron deficiency tolerance in Brassica napus [J/OL]. PLoS genetics, 2021, 17(7): e1009661 [2021-11-29]. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009661>.
- [22] WANG Y Y, CHENG Y H, CHEN K E, et al. Nitrate trans-

- port, signaling, and use efficiency [J]. *Annual review of plant biology*, 2018, 69: 85-122.
- [23] 李小坤,任涛,鲁剑巍. 长江流域水稻-油菜轮作体系氮肥增产增效综合调控[J]. *华中农业大学学报*, 2021, 40(3): 13-20. LI X K, REN T, LU J W. Integrated regulation of nitrogen fertilizer for increasing yield and efficiency of rice-oilseed rape rotation system in the Yangtze River Basin [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2021, 40(3): 13-20 (in Chinese with English abstract).
- [24] RERKASEM B, JAMJOD S, PUSADEE T. Productivity limiting impacts of boron deficiency: a review [J]. *Plant and soil*, 2020, 455(1/2): 23-40.
- [25] 张振华,宋海星,刘强,等. 油菜生育期氮素的吸收、分配及转运特性[J]. *作物学报*, 2010, 36(2): 321-326. ZHANG Z H, SONG H X, LIU Q, et al. Absorption, distribution, and translocation of nitrogen at growth stages in oilseed rape plant [J]. *Acta agronomica sinica*, 2010, 36(2): 321-326 (in Chinese with English abstract).
- [26] 刘晓伟,鲁剑巍,李小坤,等. 直播冬油菜干物质积累及氮磷钾养分的吸收利用[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(23): 4823-4832. LIU X W, LU J W, LI X K, et al. Dry matter accumulation and N, P, K absorption and utilization in direct seeding winter oilseed (*Brassica napus* L.) [J]. *Scientia agricultura sinica*, 2011, 44(23): 4823-4832 (in Chinese with English abstract).

Effects of boron-nitrogen interaction on growth, nitrogen uptake and seed yield of rapeseed (*Brassica napus*)

WANG Youqiang¹, ZHAO Zhe¹, WANG Sheliang¹, YE Xiangsheng¹, LIU Qingyun², XU Fangsen¹

1. *Microelement Research Center/College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;*

2. *Xishui Agricultural Technology Extension Center, Huanggang 438000, China*

Abstract To explore the yield-increasing effect and physiological mechanism of boron (B)-nitrogen (N) interaction in *Brassica napus*, the effects of B-N different treatments on rapeseed growth, N uptake and utilization, N metabolism enzyme activity, and seed yield were analyzed by hydroponic culture experiment and field plot experiment. The results showed that B deficiency significantly inhibited the root growth of rapeseed at the seedling stage under different N supply levels. Compared with low N or low B treatment, the balanced supply of B and N significantly increased the N uptake and the expression level of related genes, and improved the activities of nitrate reductase (NR) and glutamine synthetase (GS) in N metabolism. In the field experiment, the application of B and N fertilizer significantly increased the seed yield of rapeseed. However, the effect of B fertilizer application was closely related to soil N availability. Under the normal N supply level (180 kg/hm²), the effect of B fertilizer application was better than that of low N (60 kg/hm²) condition, while high B (18 kg/hm²) combined with high N (240 kg/hm²) limited the further increase of seed yield. Appropriate co-application of B and N significantly improved the N harvest index and promoted the distribution of N to the grains. B and N co-application had significant interaction effects on the growth and development of rapeseed, both in the hydroponic seedling stage and in the field of the whole growth stage. Under the field conditions of this study, the recommended amount of N fertilizer was 180-240 kg/hm², and the combined application with 4.5-9 kg/hm² of borax could maximize the yield increasing potential of rapeseed.

Keywords *Brassica napus*; boron and nitrogen interaction effect; precise fertilization; nitrogen metabolism enzyme activity; comprehensive management of nutrients; balanced fertilization; green and efficient

(责任编辑:赵琳琳)