

秸秆生物炭对辣椒疫病的防控效果及机理研究^①

王光飞, 马 艳*, 郭德杰, 王秋君

(江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 南京 210014)

摘 要: 在盆栽试验条件下研究了两种温度下制备的秸秆生物炭对辣椒疫病的防控效果, 并测定了辣椒根际土壤理化性状、微生物数量和群落结构、病原菌数量与植株抗性相关的生理生化指标。结果表明: 麦秸在 500℃ 和 600℃ 两种温度下制备的生物炭对辣椒疫病均有一定的防控作用, 500℃ 制备的生物炭防控效果好于 600℃ 制备的生物炭, 且对辣椒具有一定的生长促进作用; 生物炭处理能明显提高土壤中全氮、速效磷和速效钾的含量, 其中速效钾含量的增加最大; 分别添加两种生物炭均能显著提高根际可培养微生物特别是真菌和放线菌的数量, 增加微生物多样性并改变其优势微生物群落; 两种生物炭处理虽然增加了辣椒疫霉的数量, 但并未引起植株发病; 施用生物炭没有显著改变与植株抗性相关的生理指标。总之, 土壤施用秸秆生物炭对辣椒疫病具有良好的防控作用, 生物炭改善土壤养分状况和土壤微生物群落结构可能是其主要防病机理之一。

关键词: 秸秆生物炭; 辣椒疫病; 土壤理化性状; 土壤微生物; 植株抗性

中图分类号: S157; S154.3

辣椒疫病是由辣椒疫霉菌(*Phytophthora capsici*)引起的一种世界性土传病害, 在世界各辣椒产区普遍发生, 虽然有关辣椒疫病的防控有许多的研究报道^[1], 但至今在生产上仍缺乏稳定、高效、可操作性强并能规模化应用推广的防控技术。

我国农作物秸秆产量巨大, 但秸秆利用方式还处于较低水平, 因此秸秆资源严重浪费, 同时也造成严重的环境问题, 例如秸秆焚烧污染大气等。目前, 秸秆问题的重点仍是秸秆的科学利用, 而秸秆炭化是秸秆资源化利用方式之一。秸秆在无氧或缺氧条件下高温裂解产生的固体产物即为生物炭。生物炭富含有机碳、矿质养分等, 且具有极强的吸附能力、抗氧化能力和抗生物分解能力, 是一种集肥料、吸附剂和改良剂于一体的新型材料^[2-3]。

近年, 生物炭在土传病害防控上的报道逐渐增多, 初步显示出巨大潜力和发展前景。Ogawa 和 Okimori^[4]研究发现生物炭和生物炭与堆肥混合物均能抑制细菌和真菌引起的土传病害。Nerome 等^[5]报道了城市生活垃圾制备的生物炭施入土壤中能减少青枯病菌引起的番茄青枯病。Guijarro 等^[6]的试验结果显示温室植株残体制备的生物炭在一定程度上

抑制了立枯丝核菌引起的萝卜猝倒病。此外, Zwart 和 Kim^[7]的研究显示松树木材生物炭能减轻恶疫霉和樟疫霉引起的美国红枫和北美红栎溃疡病。最新的研究表明桉树木和温室有机废弃物制备的生物炭均能促进黄瓜生长并抑制立枯丝核菌引起的黄瓜猝倒病^[8]。不少研究者认为生物炭防控土传病害的机理可能在于生物炭影响土壤理化和生物学性状、抑制病原菌及诱导植物抗病性等方面。目前, 尚未有关于生物炭防控辣椒疫病的研究报道。基于此, 本研究考察了生物炭对辣椒根际土壤理化性状、土壤微生物性状、土壤病原菌数量、与植株抗性相关生理生化指标及辣椒疫病防控效果的影响, 以初步探索生物炭防控辣椒疫病机理, 并为进一步强化生物炭防控辣椒疫病等土传病害效果提供理论支持和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验土壤取自淮安市清浦区耕地; 生物炭(BC)由 20 目麦秸经马弗炉 500℃ 或 600℃ 厌氧裂解 1 h 所得, 基本性质见表 1; 供试病原菌为辣椒疫霉菌

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471949)资助。

* 通讯作者(myjaas@sina.com)

作者简介: 王光飞(1988—), 男, 江西婺源人, 硕士, 主要从事土壤微生物研究。E-mail: wy_wgf@163.com

表 1 生物炭基本性质
Table 1 Basic properties of biochars

麦秸生物炭	全碳 (g/kg)	全氮 (g/kg)	全磷 (g/kg)	全钾 (g/kg)	灰分 (g/kg)	EC (mS/cm)	pH
BC500	582.7	7.23	0.92	42.91	258.1	5.15	10.18
BC600	624.0	7.20	0.94	46.74	293.2	3.97	10.35

(*Phytophthora capsici*), 由本实验室分离所得; 供试辣椒品种为苏椒 5 号。

1.2 试验方法

将制备好的辣椒疫霉游动孢子液均匀加入土壤中, 使得辣椒疫霉数量为每克干土 500 个游动孢子。试验设 4 个处理: CK1, 空白对照; CK2, 人工接种辣椒疫霉游动孢子; BC500, 即在人工接种病原菌的土壤中施入 10 g/kg 500℃ 制备的麦秸生物炭; BC600, 即在人工接种病原菌的土壤中施入 10 g/kg 600℃ 制备的麦秸生物炭。放置两天后分装入 5 个长方形塑料盆中(长×宽×高=25 cm×12 cm×12 cm), 每盆种植 3 棵 8 叶期辣椒苗。栽植辣椒 32 天后统计辣椒发病率和植株生长指标, 并采集健康植株和健康植株根际土样, 进行土壤理化和生物学指标及与植株抗性相关生理生化指标分析。

1.3 测定项目及方法

辣椒生长指标: 栽植 32 天后, 测定存活植株的株高、根基茎粗及干重。

土壤理化指标: 土壤理化指标均以风干土样为测定对象。pH 采用土水比 1:5 浸提, 用 pH 计测定; 电导率采用土水比 1:5 浸提, 用电导仪测定; 全氮采用凯氏定氮法; 速效钾采用乙酸铵浸提-火焰光度法; 速效磷采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗分光光度法; 硝态氮采用酚二磺酸比色法; 铵态氮采用氯化钾浸提-靛酚蓝比色法。

土壤生物学指标: 以鲜土样为测定对象, 采用试管梯度稀释涂平板法测定可培养真菌、放线菌和细菌数量, 采用的培养基分别是马丁氏培养基、高氏一号培养基和牛肉膏蛋白胨培养基。以风干土样为测定对象, 采用实时荧光定量 PCR 技术测定土壤细菌、真

菌及辣椒疫霉数量, 采用 PCR-DGGE 技术分析土壤微生物群落结构。土壤 DNA 提取所用试剂盒为 MP 公司生产的 FastDNA SPIN Kit for Soil, 按照使用说明提取土壤 DNA。土壤细菌、真菌及辣椒疫霉定量分析参照 Wang 等^[9]的研究。PCR-DGGE 参照曹云等^[10]的研究。

辣椒植株抗性相关生理生化指标: 测定辣椒叶部和根部苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量。PAL 活性测定采用紫外分光光度法^[11], POD 活性测定采用愈创木酚法^[11], SOD 活性测定采用氮蓝四唑法^[11], 可溶性糖含量测定采用蒽酮法^[12], 可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[13]。

1.4 数据统计

试验所得数据经 Excel 软件整理后, 应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。文中土壤理化指标、土壤生物学指标和植株抗性相关生理生化指标数据均为 3 次重复平均值。

2 结果与分析

2.1 麦秸生物炭处理对辣椒生长及辣椒疫病防控效果的影响

由表 2 可见, 分别添加两种生物炭后对辣椒生长的影响不同。在株高、茎粗和干重 3 个测定指标中, 两种生物炭处理的影响有明显差异, BC600 处理在 3 种指标上与两个对照均没有差异, 而 BC500 处理的辣椒株高和干重明显大于 BC600 及对照处理, 呈显著差异, 所有处理在辣椒茎粗上没有差异。可见 BC500 处理对辣椒植株生长有一定的促进作用, 而 BC600 处理没有生长促进效果或者效果不明显。

表 2 两种温度下制备的生物炭对辣椒生长及辣椒疫病防控效果的影响
Table 2 Effects of two biochars prepared at different temperatures on growth and disease control of *Phytophthora* blight of chilli pepper

处理	生长因子			发病率(%)		病害防控率 (%)
	株高(cm)	茎粗(cm)	干重(g)	移栽后 15 天	移栽后 32 天	
CK1	19.53 ± 0.52 b	0.39 ± 0.04 a	14.65 ± 0.33 b	0	0	—
CK2	19.18 ± 0.63 b	0.35 ± 0.03 a	12.84 ± 0.54 c	25.0	86.7	—
BC500	21.49 ± 0.41 a	0.41 ± 0.04 a	15.18 ± 0.35 a	13.3	20.0	76.9
BC600	20.83 ± 0.36 b	0.35 ± 0.02 a	12.69 ± 0.59 c	26.7	46.7	46.1

注: 同列不同小写字母表示处理间差异在 $P<0.05$ 水平显著; 下同。

添加两种生物炭对辣椒疫病均有一定的防控效果, BC500 的防控效果明显好于 BC600。辣椒移栽后 15 天, BC500 处理的发病率显著低于 CK2 和 BC600 处理, 防控率为 46.7%, 而 BC600 处理没有表现出病害防控效果; 移栽后 32 天, 各个处理间发病率呈显著差异, CK2 处理发病率达 86.7%, 而两种生物炭处理的发病率分别为 20% 和 46.7%, 防控率分别为 76.9% 和 46.1%。另外, 添加生物炭能明显控制病情发展, 从移栽后的 15 天到 32 天, CK2 处理发病率增加了 61%, 而 BC500 和 BC600 处理的发病率则分别增加了 7% 和 20%。BC500 处理显示较好的病害防控潜力, 值得进一步深入探索。

2.2 麦秸生物炭处理对辣椒根际土壤理化性质的影响

由表 3 可知, 在所测定的 7 个理化指标中, 添加两种生物炭对土壤硝态氮、铵态氮含量和 pH 没有影

响, 但对其余 4 个指标都表现了不同程度的影响。首先, 添加生物炭显著增加了根际土壤中速效钾的含量, 且 BC600 处理的增加量显著大于 BC500 处理, 这可能与 BC600 生物炭中的钾含量较高有关。已有的资料报道, 随着炭化温度升高, 生物炭中灰分(包括钾)含量升高^[14]。其次, 添加两种生物炭均显著增加了根际土壤全氮和速效磷的含量, BC500 处理增加量均大于 BC600 处理, 其原因有待于进一步研究。500℃制备的生物炭电导率显著高于 600℃, 与之相应, BC500 处理显著增加了土壤电导率, 而 BC600 处理对土壤电导率的影响不显著。有研究表明添加生物炭在增加土壤矿质元素含量的同时, 可能也会影响土壤中既有金属离子的存在形式而改变土壤电导率^[15]。可见, 土壤施用生物炭能显著改变土壤的养分组成或改善土壤氮磷钾等养分的供应, 与前人的报道相一致^[15]。

表 3 不同处理根际土壤理化指标
Table 3 Physical and chemical properties of rhizosphere soils in different treatments

处理	全氮(g/kg)	速效钾(mg/kg)	速效磷(mg/kg)	硝态氮(mg/kg)	铵态氮(mg/kg)	EC(μS/cm)	pH
CK1	0.66 ± 0.03 b	81.82 ± 2.87 c	10.45 ± 1.17 b	10.60 ± 0.96 a	12.82 ± 1.07 b	351 ± 6 b	7.93 ± 0.04 a
CK2	0.68 ± 0.11 b	97.77 ± 2.19 c	11.01 ± 0.42 b	10.73 ± 0.73 a	14.09 ± 1.14 a	345 ± 5 b	8.01 ± 0.07 a
BC500	0.84 ± 0.08 a	127.68 ± 3.58 b	17.05 ± 0.93 a	10.32 ± 0.76 a	13.83 ± 0.25 ab	468 ± 8 a	7.97 ± 0.08 a
BC600	0.75 ± 0.06 ab	175.54 ± 2.99 a	13.04 ± 1.06 ab	10.63 ± 0.46 a	14.16 ± 0.95 a	375 ± 12 b	8.08 ± 0.09 a

2.3 麦秸生物炭处理对辣椒根际微生物的影响

2.3.1 对辣椒根际可培养微生物数量的影响 由表 4 数据可知, 添加两种生物炭对辣椒根际可培养真菌、放线菌和细菌的数量有不同程度的影响。两种生物炭处理均显著增加了根际真菌的数量, BC500 和 BC600 处理中真菌数量分别是 CK1 处理的 9.3 和 6.3 倍, 是 CK2 处理的 12.2 和 8.3 倍, BC500 处理真菌数量增加更为显著。与 CK1 处理相比, 添加生物炭对根际放线菌数量的影响不显著, 但必须看到 CK2 处理中, 放线菌数量显著少于 CK1 和生物炭处理, 且在细菌数量的测定中也显示类似的结果, 即与 CK1 处理相比, 添加生物炭对细菌的数量影响也不显著, 但 CK2 处理中细菌数量也明显少于其他处理, 其原因

有待进一步研究。综上, 添加生物炭对土壤可培养微生物数量特别是真菌数量产生了巨大的影响, 可见生物炭对土壤微生物区系产生的影响不容忽视。

2.3.2 对辣椒根际土壤微生物群落结构的影响 PCR-DGGE 3 次重复结果差异较小, 随机选取其中一次结果进行土壤微生物群落结构分析。图 1A 为各处理根际土壤真菌和细菌 DGGE 图谱。运用 Quantity One 软件对 DGGE 图谱进行聚类分析(图 1B)和多样性分析(表 5)。真菌多样性分析结果显示, BC500 和 BC600 处理的真菌条带数目(丰度)分别为 30 和 32 条, 显著高于 CK1 处理(19 条), 略高于 CK2 处理(28 条)。各处理间多样性指数的差异性与丰度指数一致, BC500 和 BC600 处理多样性指数高于 CK1 处理, 略高于 CK2 处理。图谱直观显示各处理主条带位置差别较大, 这代表着不同处理优势真菌种群不同。另外, 真菌聚类树状图显示 CK1 与 CK2 处理真菌群落结构差异性最大, BC500 与 CK1 处理较为相似, 而 BC600 与 CK2 处理较为相似。这表明接种病原菌使得土壤真菌群落结构发生一定的变化, 而施用生物炭能重新塑造土壤真菌区系, 即改变土壤优势真菌群落, 提高真菌群落多样性。另外, 值得关注的是, BC500 和

表 4 不同处理根际可培养微生物的数量
Table 4 Population of culturable microorganisms of rhizosphere soils in different treatments

处理	真菌 (×10 ⁴ cfu/g)	放线菌 (×10 ⁶ cfu/g)	细菌 (×10 ⁷ cfu/g)
CK1	3.0 ± 0.4 b	4.2 ± 0.7 a	3.1 ± 0.5 a
CK2	2.3 ± 0.6 b	2.2 ± 0.5 b	1.8 ± 0.2 b
BC500	28 ± 2.3 a	4.5 ± 1.0 a	2.2 ± 0.3 ab
BC600	19 ± 2.5 a	4.7 ± 0.3 a	2.8 ± 0.3 a

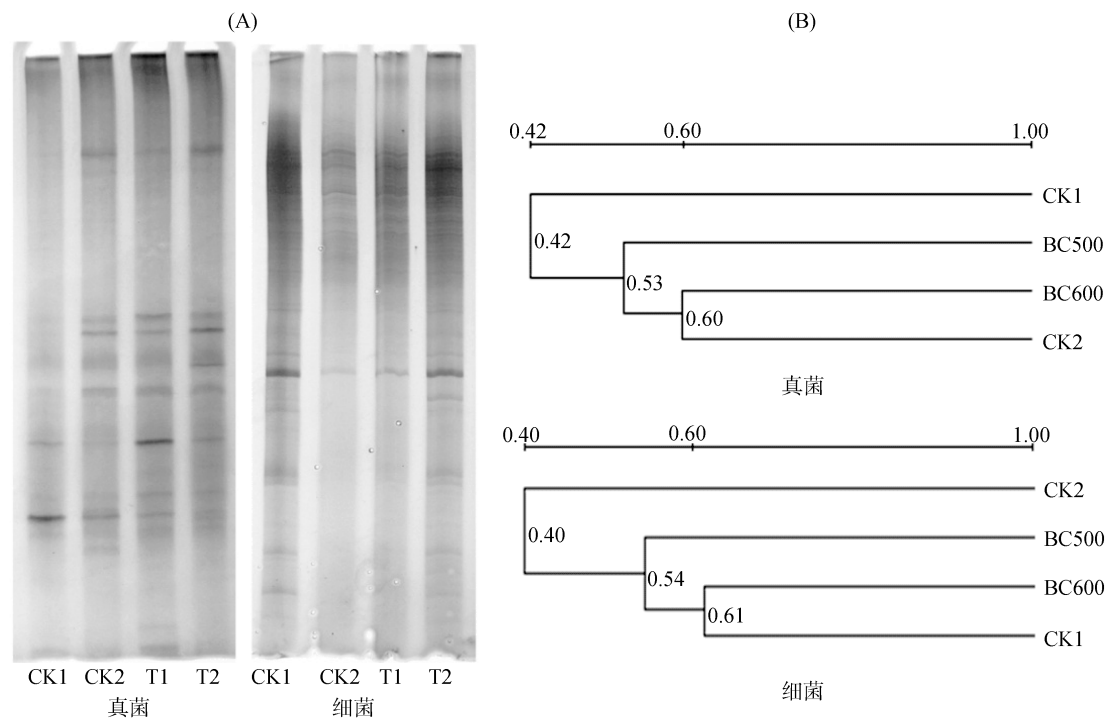


图 1 不同处理根际土真菌和细菌 DGGE 图谱(A)及聚类树状图(B)
Fig. 1 DGGE profiles (A) and cluster analysis (B) of the bacterial and fungal communities in rhizosphere soil

表 5 不同处理微生物丰度、多样性指数、优势度指数和均匀度指数

Table 5 Indices for richness, diversity, dominance and evenness of microbial communities for DGGE profiles from different soils

微生物	处理	丰度	多样性指数	优势度指数	均匀度指数
真菌	CK1	19	2.61	0.098	0.89
	CK2	28	3.15	0.046	0.96
	BC500	30	3.18	0.056	0.93
	BC600	31	3.25	0.047	0.95
细菌	CK1	33	3.27	0.046	0.96
	CK2	24	2.80	0.082	0.88
	BC500	28	3.15	0.050	0.94
	BC600	32	3.24	0.047	0.95

BC600 处理对土壤真菌群落的影响存在较大差异。

细菌多样性分析结果表明，CK2 处理细菌丰度为 24 条，显著小于 CK1 处理(33 条)，而 CK1 处理又略高于 BC500 处理(28 条)和 BC600 处理(32 条)。CK1、BC500 和 BC600 处理多样性指数相近，分别为 3.27、3.15 和 3.24，都显著高于 CK2 处理(2.80)。细菌聚类树状图显示，CK1 与 CK2 处理细菌群落结构差异性最大，这与真菌一致。但 BC500 与 CK2 处理较为相似，而 BC600 与 CK1 处理较为相似，这与真菌不同。另外，图谱显示，CK2 处理总体条带亮度和大部分共有性条带亮度显著低于 CK1 和 BC600 处理，而低于 BC500 处理。说明病原菌的添加使得土壤细菌数量减少，土壤细菌多样性降低，而生物炭能增加土壤细菌数量，提高细菌群落多样性。不容

忽视的是，与 BC500 处理相比，BC600 处理效果更显著。

综上，麦秸生物炭能改变土壤优势微生物群落，提高土壤微生物多样性。另外，不同温度下制备的麦秸生物炭对土壤微生物的影响有较大的差异性。

2.3.3 对辣椒根际细菌、真菌总量及辣椒疫霉数量的影响 采用实时荧光定量 PCR 测定辣椒根际细菌、真菌和辣椒疫霉数量，结果见图 2。由图 2A 可见，采用定量 PCR 对根际细菌总体数量的测定结果与表 4 中可培养细菌数量的测定结果非常类似，即 CK2 处理中细菌总体数量低于 CK1、BC500 和 BC600 处理，且与 BC600 处理差异达显著水平；在辣椒疫霉病原菌存在时，施用生物炭提高了根际细菌的总体数量。与 CK1 处理相比，BC500 处理的细菌数量略有

减少，而 BC600 处理的细菌数量有明显增加。可见，添加生物炭能显著影响接种病原菌土壤的细菌数量。

在真菌数量上，定量 PCR 的测定结果与平板培养的测定结果显示了几乎截然相反的现象。图 2A 显示，与 CK1 和 CK2 处理相比，BC500 处理中根际真菌的总体数量显著减少，BC600 处理真菌总数量也有所减少，而表 4 显示，两种生物炭处理中根际可培养真菌的数量显著增加。可见，添加生物炭显著提高了根际可培养真菌的比例，而这些可培养的真菌与病害的防控可能有直接的关系。另外，此结果也提示，在测定微生物数量时，将不同方法的测定结果结合起来可能会获得多层次、更准确或接近真实的信息。

辣椒疫霉数量的测定结果表明(图 2B)，两种生

物炭处理的辣椒根际疫霉的数量明显增加，分别为 2.54×10^7 和 4.96×10^7 copies/g 干土，分别是 CK2 处理的 2.96 和 5.78 倍，且 BC600 处理中辣椒疫霉数量比 BC500 处理中增加 2.42×10^7 copies/g 干土，表明添加生物炭在改变辣椒根际微生物数量和群落结构的同时也增加了辣椒疫霉数量，但测定的植株并没有发病。Jaiswal 等^[16]的室内试验显示生物炭对病原菌有抑制作用，因此可推测生物炭可能对辣椒疫霉的感染力产生一定的抑制作用。此外，辣椒疫病的发生原因复杂多变并受多种因素影响，根际营养、植株的长势、根际微生物数量和群落结构等因素对病害的发生也具有重大影响，这种影响可能远远大于病原菌数量增加带来的效果。

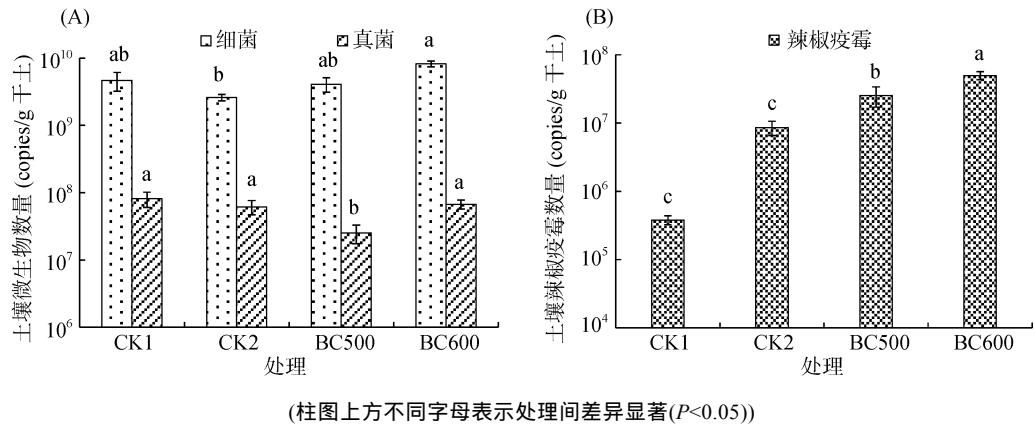


图 2 不同处理根际土细菌、真菌(A)及辣椒疫霉(B)数量
Fig. 2 Population of bacteria, fungi (A) and *P. capsici* (B) of rhizosphere soil in different treatments

2.4 生物炭对辣椒植株主要抗性相关生理生化指标的影响

已有的研究表明，植物体内苯丙氨酸解氨酶(PAL)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等防御酶活性与植物抗病能力呈正相关^[17]，植株可溶性蛋白、可溶性糖等物质含量也与植物抗病能力呈一定的正相关关系^[12-13]。由表 6 可知，在测定的与植株抗性相关的 3 种酶活性中，添加生物炭处理的酶活性变化趋势有明显差别。统计分析表明，BC500 和 BC600 处理对辣椒叶中的 PAL 及叶和根中的 POD 活性均没

有显著影响，但两种生物炭处理均明显降低了根中 PAL 活性，酶活性平均降低了 38%；而两种生物炭对叶和根中 SOD 活性有不同影响：BC500 处理辣椒叶 SOD 活性显著降低，仅为 106.7 U/g，而 CK1、CK2 和 BC600 处理中，SOD 活性分别为 187.6、168.3 和 190.4 U/g，分别是 BC500 处理的 1.76、1.58 和 1.79 倍，但 BC500 处理辣椒根中 SOD 活性低于 CK2 和 BC600 处理，与 CK1 处理相当。根据文献报道的这 3 种酶活性高低与抗病性的关系，综合看来，两种生物炭可能不是通过诱导辣椒植株抗性而提高对病害的防控效果。

表 6 不同处理辣椒叶片和根中 PAL、SOD 和 POD 酶活性
Table 6 PAL, SOD and POD activities of pepper leaves and roots in different treatments

处理	PAL(U/(g·min))		SOD(U/g)		POD(U/(g·min))	
	叶	根	叶	根	叶	根
CK1	124.7 ± 3.6 a	36.6 ± 2.4 a	187.6 ± 2.2 a	103.4 ± 9.1 b	5.83 ± 0.13 b	8.98 ± 0.26 a
CK2	113.1 ± 1.5 a	32.3 ± 0.5 a	168.3 ± 7.5 a	126.7 ± 16.2 a	8.38 ± 0.20 a	9.44 ± 0.50 a
BC500	110.2 ± 0.5 a	18.9 ± 0.3 b	106.7 ± 10.5 b	103.9 ± 11.4 b	7.80 ± 0.06 ab	9.02 ± 0.85 a
BC600	111.5 ± 0.9 a	23.4 ± 0.6 b	190.4 ± 3.7 a	126.3 ± 7.5 a	6.68 ± 0.12 b	8.89 ± 1.38 a

由表 7 可知,两种生物炭处理中,辣椒叶中可溶性糖含量略高于对照处理,但没有达到显著差别,而辣椒根中蛋白含量明显低于对照处理,达到显著水平。而两种生物炭处理对辣椒根中可溶性糖的含量和辣椒叶中蛋白含量的影响结果相反:即 BC600 处理辣椒根中可溶性糖含量与 CK2 处理相近

而显著低于 CK1 处理,比 BC500 处理略低,但没有显著差别;BC500 处理辣椒叶的蛋白含量最低,显著低于 CK2 处理,而与 CK1 和 BC600 处理没有显著差异。可见,在本试验中,植株体内可溶性糖和蛋白含量的变化可能不是生物炭防控辣椒疫病的主要机理。

表 7 不同处理辣椒叶片和根中可溶性糖和蛋白含量
Table 7 Soluble sugar and soluble protein contents of pepper leaves and roots in different treatments

处理	可溶性糖(mg/g)		可溶性蛋白(μ g/g)	
	叶	根	叶	根
CK1	3.22 ± 0.02 a	2.78 ± 0.11 a	50.2 ± 1.1 ab	46.1 ± 0.2 a
CK2	3.57 ± 0.18 a	1.65 ± 0.14 b	53.2 ± 0.3 a	44.1 ± 1.4 a
BC500	3.94 ± 0.16 a	2.02 ± 0.12 ab	46.2 ± 0.4 b	41.6 ± 1.6 b
BC600	3.99 ± 0.28 a	1.60 ± 0.07 b	51.9 ± 0.9 ab	41.8 ± 0.8 b

3 讨论

生物炭防控辣椒疫病可能与其影响土壤养分密切相关。生物炭中含有丰富的 P、K、Mg、Ca、Fe 等矿物质元素,施入土壤后可明显改善土壤中的养分状况^[15]。有研究报道玉米秸秆生物炭能为多种作物供应一季度的磷,并且提高多种类型土壤钾的供应量^[18]。本研究显示,生物炭能增加或者显著增加土壤全氮、速效磷和速效钾含量。磷可以促进植株体内糖和蛋白质的正常代谢,刺激植物根系生长,增进根吸收,有效缓解根部病害^[19]。钾可通过参与植株的酚、碳、氮及活性氧代谢调控植株的抗病性能,进而提高植物的抗病能力^[20]。多项盆栽和田间试验表明土壤施用生物炭能促进水稻、小麦、玉米、番茄和甜椒等农作物生长^[21-23]。本研究也显示出 500℃ 制备的麦秸生物炭对辣椒植株有较明显的生长促进作用,且防控效果较好。可见,生物炭可通过增加土壤养分含量促进作物生长,进而增强作物抗病性。

多项研究表明生物炭对土壤微生物的影响首先表现在增加微生物生物量和增强微生物活性^[24-25]。Elad 等^[26]的研究显示生物炭通过增加可培养假单胞菌、芽孢杆菌和木霉菌等有益微生物数量进而提高土壤微生物健康度。本研究显示,与病原对照相比生物炭处理显著增加了可培养细菌数量、可培养放线菌数量和细菌总数。另外,麦秸生物炭极显著增加了可培养真菌数量。研究表明生物炭对土壤微生物群落结构也产生了巨大影响。Jin^[27]通过真菌 ITS 序列分析证明施用生物炭使得土壤真菌优势种群发生重大改变。Graber 等^[21]对施用生物炭土壤进行 16S rRNA 同源性分析,结果表明大部分细菌与用于促进作物生长和生

物防治的一些假单胞菌、芽孢杆菌、根瘤菌、短短芽孢杆菌等具有 98% 以上的同源性。Kim 等^[28]的报道指出生物炭可增加黑土(Terra preta)土壤 25% 的土壤细菌多样性。与之相似,本研究 DGGE 结果表明生物炭能提高辣椒根际细菌丰富度和多样性,改变优势真菌种群。因此,推测生物炭可通过促进有益微生物生长繁殖,营造健康微生物区系,进而抑制土传病原菌活性,降低侵染率。

盆栽试验显示,麦秸生物炭对辣椒疫病具有良好的防控效果,但 RT-PCR 检测显示麦秸生物炭并没有减少根际辣椒疫霉的数量,反而在一定程度上增加了病原菌数量。Gravel 等^[29]报道针叶树皮制备的生物炭能显著促进终极腐霉菌在多种植物根部的定殖。Guijarro 等^[6]研究发现施用温室植株残体制备的生物炭明显增加了土壤中立枯丝核菌的数量。但两项研究的盆栽结果显示生物炭没有加重病害或者反而具有一定的防控作用,本试验结果亦是如此。由此,推测生物炭防控辣椒疫病等土传病害的机理可能并不在于减少土壤病原菌数量。

Elad 等^[26,30]报道土壤施用生物炭可减轻番茄叶部灰霉病、白粉病和甜椒广明螨病害,生物炭与发病部位没有直接接触,所以研究者推论生物炭通过提高作物系统抗性间接抑制病害。另一报道^[31]在分子水平上证明了生物炭通过激发抗性系统相关基因的表达,进而诱导草莓对多种病害的系统抗性。但在本研究中,植株主要抗性相关生理生化指标测定结果显示,生物炭处理并没有诱导辣椒植株抗性。这可能是由于不同材质制备的生物炭诱导抗性能力不一致,或者是因为不同病害下生物炭诱导抗性能力不一致。

500℃ 下制备的麦秸生物炭对辣椒疫病的防控效

果显著好于 600℃ 麦秸生物炭, 这可能与 BC500 具有促进作物生长效应而 BC600 没有促进效应有关。也可能是因为 BC600 增加土壤辣椒疫霉数量效应强于 BC500, 此负面效应降低了防效。另外, 还应注意到, 两种生物炭影响土壤养分效果不一致, 土壤细菌、真菌优势种群也存在较大差异。两种温度下制备的生物炭防效不一致可能与其理化性状差异有关。有研究表明, 同种材质下, 高温裂解生物炭 pH 高、灰分含量高、孔隙率高、比表面积大、难分解碳物质含量高^[32-33], 而低温裂解生物炭含氮量高、阳离子交换量高、易热解含碳化合物和挥发性有机物含量高^[33-34]。因此, 有机物组成、物理结构、化学属性等方面的差异可能使得两种生物炭影响土壤理化和生物学性状效果不一致, 从而导致两者防效差距较大。

4 结论

本研究表明土壤施用生物炭对辣椒疫病具有良好的防控作用。其防控机理可能并非在于减少病原菌数量, 而可能是通过改善土壤氮磷钾的供应, 促进作物生长使其具有良好的抗病性。另外, 生物炭可能通过增加土壤微生物数量, 提高微生物多样性, 改变土壤优势微生物种群, 进而抑制辣椒疫霉活性或致病性, 从而降低辣椒疫霉对植株的侵染率。虽然本研究未显示出生物炭诱导作物抗性, 但生物炭防控土传病害是否与诱导植株抗性有关还有待于进一步研究。此外, 本研究表明, 不同热解温度制备的生物炭对辣椒疫病防控效果存在明显差异, 这与生物炭对土壤和植株性状产生的影响不同有极大关联, 详细机理还有待于深入研究。

参考文献:

- [1] Hausbeck MK, Lamour KH. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: research progress and management challenges[J]. Plant Disease, 2004, 88(12): 1 292-1 303
- [2] Joseph SD, Camps-Arbestain M, Lin Y, Munroe P, Chia C H, Hook J, van Zwieten L, Kimber S, Cowie A, Singh BP, Lehmann J, Foidl N, Smernik RJ, Amonette JE. An investigation into the reactions of biochar in soil[J]. Australian Journal of Soil Research, 2010, 48: 501-515
- [3] Chan KY, Xu Z. Biochar: nutrient properties and their enhancement[A]//Lehmann J, Joseph S. Biochar for Environmental Management Science and Technology[C]. London: Earthscan Publications Ltd., 2009: 67-84
- [4] Ogawa M, Okimori Y. Pioneering works in biochar research, Japan[J]. Australian Journal of Soil Research, 2010, 48: 489-500
- [5] Nerome M, Toyota K, Islam TM, Nishijima T, Matsuokam T, Sato K, Yamaguchi Y. Suppression of bacterial wilt of tomato by incorporation of municipal biowaste charcoal into soil[J]. Soil Microorganisms, 2005, 59: 9-14
- [6] Guijarro MB, Mattner SW, Wiechel TJ, Brett RW, Edwards JE, Porter IJ. Suppression of damping-off of radish caused by *Rhizoctonia solani* AG2.1 with soil carbon amendments[A]//6th Australasian Soilborne Diseases Symposium[C]. Queensland, 2010: 49
- [7] Zwart DC, Kim SH. Biochar amendment increases resistance to stem lesions caused by *Phytophthora spp* in tree seedlings [J]. HortScience, 2012, 47(12): 1 736-1 740
- [8] Jaiswal AK, Elad Y, Graber ER, Frenkel O. *Rhizoctonia solani* suppression and plant growth promotion in cucumber as affected by biochar pyrolysis temperature, feedstock and concentration[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 69: 110-118
- [9] Wang Q, Ma Y, Wang G, Gu Z, Sun D, An X, Chang Z. Integration of biofumigation with antagonistic microorganism can control *Phytophthora* blight of pepper plants by regulating soil bacterial community structure[J]. European Journal of Soil Biology, 2014, 61: 58-67
- [10] 曹云, 常志州, 马艳, 杨豪, 付广青. 沼液施用对辣椒疫病的防治效果及对土壤生物学特性的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 507-516
- [11] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006
- [12] 李海燕, 刘惕若, 甄艳. 辣椒品种对疫病的抗性研究-氨基酸、丙二醛与可溶性糖在抗病中的作用[J]. 中国农学通报, 2006, 22(11): 315-317
- [13] 黄凤莲, 刘寿明, 曾端香, 罗赫荣, 谢丙炎. 湘研辣椒品种抗病筛选及抗性机制研究[J]. 湖南农业大学学报, 1999, 25(4): 303-307
- [14] Zheng H, Wang Z, Deng X, Xing B. Impact of pyrolysis temperature on nutrient properties of biochar[J]. Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment, 2013, 1: 975-978
- [15] Atkinson CJ, Fitzgerald JD, Hipps NA. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: A review[J]. Plant and Soil, 2010, 337: 1-18
- [16] Jaiswal AK, Frenkel O, Elad Y, Lew B, Graber ER. Non-monotonic influence of biochar dose on bean seedling growth and susceptibility to *Rhizoctonia solani*: the "Shifted Rmax-Effect"[J]. Plant and Soil, 2014, Published online Nov. 2014. (in press).10.1007/s11104-014-2331-2
- [17] Annapurna K, Kumar A, Kumar LV, Govindasamy V, Bose P, Ramadoss D. PGPR-Induced Systemic Resistance (ISR) in Plant Disease Management[J]. Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management, 2013, 405-425
- [18] Silber A, Levkovitch I, Graber ER. pH-dependent mineral release and surface properties of corn straw biochar: Agronomic implications[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44: 9 318-9 323
- [19] Brennan RF. Effect of levels of take-all and Phosphorus fertilizer on the dry matter and grain yield of wheat[J]. Journal of Plant Nutrition, 1995, 18(6): 1 159-1 176
- [20] 刘晓燕, 何萍, 金继运. 钾在植物抗病性中的作用及机理的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(3): 445-450
- [21] Graber ER, Meller Harel Y, Kolton M, Cytryn E, Silber A,

- David DR, Tsechansky L, Borenshtein M, Elad Y. Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media [J]. *Plant and Soil*, 2010, 337: 481–496
- [22] Joseph S, Graber ER, Chia C, Munroe P, Donne S, Thomas T, Nielsen S, Marjo C, Rutledge H, Pan GX, Li L, Taylor P, Rawal A, Hook J. Shifting paradigms: development of high-efficiency biochar fertilizers based on nanostructures and soluble components[J]. *Carbon Management*, 2013, 4: 323–343
- [23] 李晓, 张吉旺, 李恋卿, 潘根兴, 张旭辉, 郑聚锋, 郑金伟, 俞欣妍, 王家芳. 施用生物质炭对黄淮海地区玉米生长和土壤性质的影响[J]. *土壤*, 2014, 46(2): 269–274
- [24] O'Neill B, Grossman J, Tsai MT, Gomes JE, Lehmann J, Peterson J, Neves E, Thies JE. Bacterial community composition in Brazilian Anthrosols and adjacent soils characterized using culturing and molecular identification[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58: 23–35
- [25] Liang B, Lehmann J, Sohi S, Thies JE, O'Neill B, Trujillo L. Black carbon affects the cycling of non-black carbon in soil[J]. *Organic Geochemistry*, 2010, 41: 206–213
- [26] Elad Y, Rav David D, Meller Harel Y, Borenshtein M, Kalifa HB, Silber A, Graber ER. Induction of systemic resistance in plants by biochar, a soilapplied carbon sequestering agent[J]. *Phytopathology*, 2010, 100: 913–921
- [27] Jin H. Characterization of Microbial Life Colonizing Biochar and Biocharamended Soils[D]. Ithaca, NY: Cornell University, 2010
- [28] Kim JS, Sparovek G, Longo RM, Melo WJD, Crowley D. Bacterial diversity of terra preta and pristine forest soil from the Western Amazon[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39: 648–690
- [29] Gravel V, Dorais M, Ménard C. Organic potted plants amended with biochar: Its effect on growth and *Pythium* colonization[J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2013, 93: 1 217–1 227
- [30] Elad Y, Cytryn E, Meller Harel Y, Lew B, Graber ER. The biochar effect: Plant resistance to biotic stresses[J]. *Phytopathologia Mediterranea Mediterr*, 2011, 50: 335–349
- [31] Meller Harel Y, Elad Y, Rav-David D, Borenstein M, Shulchani R, Lew B, Graber ER. Biochar mediates systemic response of strawberry to foliar fungal pathogens[J]. *Plant and Soil*, 2012, 357: 245–257
- [32] Lehmann J. Bio-energy in the black[J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2007, 5: 381–387
- [33] Kloss S, Zehetner F, Dellantonio A, Hamid R, Ottner F, Liedtke V, Schwanninger M, Gerzabek MH, Soja G. Characterization of slow pyrolysis biochars: Effects of feedstocks and pyrolysis temperature on biochar properties[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2012, 41: 990–1 000
- [34] Spokas KA, Novak JM, Stewart CE, Cantrell KB, Uchimiya M, Dusaire MG, Ro KS. Qualitative analysis of volatile organic compounds on biochar[J]. *Chemosphere*, 2011, 85: 869–882

Effect and Mechanism of Straw Biochar on Disease Control of *Phytophthora* Blight of Chilli Pepper

WANG Guang-fei, MA Yan^{*}, GUO De-jie, WANG Qiu-jun

(Institute of Agricultural Resources and Environment, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: The objective of this study is to investigate the effect and mechanism of straw biochar on disease control of *Phytophthora* blight of chilli pepper. The effects of straw biochars produced at two pyrolysis temperatures on disease control of *Phytophthora* blight of chilli pepper was studied with pot experiment. Soil physicochemical properties, soil microbial population and structure, *Phytophthora capsici* density and plant physiological and biochemical indexes associated with disease resistance were determined. Straw biochars produced at 500°C and 600°C both showed a good control efficacy against *Phytophthora* blight, while biochar produced at 500 had a better control efficacy than that produced at 600°C. In addition, biochar produced at 500 also promoted the growth of chilli pepper. Biochar treatment significantly increased content of total N, available P and available K of soil, especially available P. Both biochars not only enhanced the population of culturable microorganisms, especially fungi and actinomycetes, but also increased the diversity of soil microbe and changed the dominant microorganisms. RT-PCR analysis showed that biochar treatment increased the population of bacteria in soil inoculated with *P. capsici*, but had different impacts on fungi population. Although biochar increased the number of pathogens of *P. capsici*, there was no disease incidence. Plant physiological and biochemical indexes showed that the control effect of biochar on disease was not related to disease resistance induced by the biochars. Application of straw biochar reduced chilli pepper blight incidence greatly, and improvement of soil nutrient condition and microbial community structure might be one of mechanisms for disease suppression.

Key words: Straw biochar; *Phytophthora* blight of chilli pepper; Soil physicochemical properties; Soil microbe; Plant resistance