

# 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物量的影响

马泽跃<sup>1</sup>, 黄 战<sup>1</sup>, 陈波浪<sup>1,2</sup>, 热比亚·吐尔汗江<sup>1</sup>, 柴仲平<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>新疆农业大学资源与环境学院, 乌鲁木齐 830052; <sup>2</sup>新疆土壤与植物生态过程实验室, 乌鲁木齐 830052)

**摘 要:**【目的】通过对库尔勒香梨园进行氮添加试验, 研究施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物量的影响, 为合理施肥及提高氮肥利用率提供参考。【方法】以6~7年生的库尔勒香梨园土壤为研究材料, 采用熏蒸提取-容量分析法和熏蒸提取-茚三酮比色法测定土壤微生物量碳和微生物量氮, 研究了0、150、300、450 kgN·hm<sup>-2</sup> (分别用N<sub>0</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>表示) 4个施氮水平下对库尔勒香梨园土壤微生物量的影响。【结果】随着库尔勒香梨生育期的变化, 土壤微生物量碳、氮表现为先增后减; 在梨树萌芽前期各处理微生物量碳、氮含量最低, 微生物量碳、氮峰值均出现在膨果期; 0~60 cm土层中各施肥处理的土壤微生物量碳、氮总体表现为先增后减: N<sub>2</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>1</sub> > N<sub>0</sub>, 以N<sub>2</sub>处理提高土壤微生物量碳、氮含量效果最好, 但过量的施氮量会使微生物量的积累受到抑制并显著降低土壤微生物量氮熵; 施氮肥会显著降低微生物碳氮比。【结论】在库尔勒香梨栽培中, 应该适宜控制氮素的供给, 推荐6~7年生库尔勒香梨以300 kg·hm<sup>-2</sup>的施氮量为最佳。

**关键词:** 库尔勒香梨; 施氮量; 土壤微生物量; 土壤深度

中图分类号: S661.2

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2022)07-1221-11

## Effects of nitrogen input on soil microbial biomass in Kuerlexiangli pear orchard

MA Zeyue<sup>1</sup>, HUANG Zhan<sup>1</sup>, CHEN Bolang<sup>1,2</sup>, Rebiya·Tuerhanjiang<sup>1</sup>, CHAI Zhongping<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Resource and Environment, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China; <sup>2</sup>Xinjiang Key Laboratory of Soil and Plant Ecological Processes, Urumqi 830052, Xinjiang, China)

**Abstract:** 【Objective】Nitrogen is one of the most active elements in soil fertility. However, excessive application of nitrogen will threaten the ecological environment of the soil and reduce the activity of microorganisms. Soil microbial biomass represents the active part of soil nutrients and is often regarded as an important indicator of soil quality and ecological functions. The application of nitrogen fertilizer affects the soil microbial biomass and soil quality. Therefore, it is very important to study the effect of different nitrogen application rates on soil microbial biomass. Nitrogen fertilizer management has become one of the important means to adjust the soil ecological balance. Recently, with the rapid development of the cultivation technology of Kuerlexiangli pears, excessive nitrogen fertilizers have been applied to obtain high yields. It has an adverse impact on productivity, increases production costs, and poses a potential threat to the soil ecological environment. However, there are few studies on the effect of nitrogen application rate on soil biological characteristics in Kuerlexiangli pear orchards. This study takes the soil in a Kuerlexiangli pear orchard as the research object. The changing pattern of soil microbial biomass carbon (SMBC), soil microbial biomass nitrogen (SMBN) and other biochemical indicators under different nitrogen application rates were examined. Relationships between SMBC, SMBN and different concentrations of soil nitrogen addition were analyzed. The study provides a scientific basis for establishing a scientific and reasonable nitrogen fertilization for maintaining the soil ecological balance in fragrant pear orchards. 【Methods】The soil in a 6-7 year-old Kuerlexiangli pear orchard was used as the

收稿日期: 2022-01-06 接受日期: 2022-02-27

基金项目: 国家自然科学基金(31906639); 新疆维吾尔自治区重点实验室开放课题(2021D04005)

作者简介: 马泽跃, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 果树营养与施肥。Tel: 17509005808, E-mail: 1468165550@qq.com

\*通信作者 Author for correspondence. Tel: 13565912598, E-mail: chaizhongpingth@sina.com

material to study the effects of different nitrogen application levels on the soil microbial biomass. Four levels of nitrogen application including 0, 150, 300 and 450 kg · hm<sup>-2</sup> (represented by N<sub>0</sub>, N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> and N<sub>3</sub>), were set. The soil was sampled by the soil drilling method at different growth periods of the trees (the early bud period (April 1<sup>st</sup>), the fruit setting period (June 1<sup>st</sup>), the fruit swelling period (August 1<sup>st</sup>), the fruit ripening period (September 15<sup>th</sup>). Soil organic carbon was measured by the external heating method of potassium dichromate. Total nitrogen in the soil was determined by the semi-micro Kjeldahl method. The determination of SMBC was carried out with the fumigation extraction-volume analysis method. The determination of SMBN was done with the fumigation extraction-ninhydrin colorimetric method. SMBC was calculated as  $E_c/k_{EC}$ , where  $E_c$  is the difference between fumigated and unfumigated soil and  $k_{EC}$  the conversion coefficient, with a value of 0.38. SMBN was calculated as  $mE_{min-N}$ , where  $E_{min-N}$  is the difference between fumigated and unfumigated soil and  $m$  is the conversion factor with a value of 5.0.【Results】With the continuous changes in the growth period of fruit trees, SMBC and SMBN under different treatments generally increased first and then decreased in each soil layer (the fruit swelling period > the fruit setting period > the fruit ripening period > the early bud period). From the spatial distribution point of view, in different fertilization treatments in each growth period, the SMBC and SMBN decreased with the increase of soil layer. The effect of fertilization on the SMBC and SMBN of the 0-60 cm soil layer in each growing season showed the same change trend, an increase first and then a decrease (N<sub>2</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>1</sub> > N<sub>0</sub>). The treatment effect with N<sub>2</sub> was the best. SMBC and SMBN were extremely significantly positively correlated with the nitrogen concentration and total nitrogen applied ( $p < 0.01$ ), and extremely significantly negatively correlated with the soil depth ( $p < 0.01$ ). The change in SMBC/SMBN was also directly affected by the concentration of nitrogen applied, total nitrogen, and organic carbon. The result suggested that the concentration of nitrogen application, soil depth, total nitrogen, organic carbon and soil microbial biomass are closely related.【Conclusion】Soil microbial biomass tended to increase as result of nitrogen addition at a suitable concentration, indicating that nitrogen addition can promote soil microbial activity to a certain extent. The application of nitrogen fertilizer can significantly improve SMBC and SMBN, and the improvement effect of SMBC and SMBN was the best under N<sub>2</sub> treatment. However, excessive nitrogen application will inhibit the accumulation of soil microbial biomass and significantly reduce the utilization efficiency of soil total nitrogen by microorganisms. Therefore, in the cultivation of Kuerlexiangli pears, the supply of nitrogen should be appropriately controlled. In this study, combining the effects of nitrogen application rate on soil microbial biomass in Kuerlexiangli pear orchard under different nitrogen application rates, it is recommended that the nitrogen application rate of 300kg · hm<sup>-2</sup> was the best for 6-7-year-old Kuerlexiangli pears.

**Key words:** Kuerlexiangli pear; Nitrogen application rate; Soil microbial biomass; Soil depth

氮素是植物生长发育过程所必须的元素之一<sup>[1]</sup>,是土壤肥力中最活跃的因素,适量施氮可以促进作物生长<sup>[2]</sup>,但其过量施用也在一定程度上为土壤生态环境带来潜在的威胁<sup>[3]</sup>,如土壤酸化<sup>[4]</sup>和微生物活性下降等<sup>[5]</sup>。土壤微生物量是指土壤中微生物活体的总量,代表土壤养分的活性部分,是植物营养物质的源和库,并积极参加养分循环<sup>[6]</sup>,因此,土壤微生物量常被认为是反映土壤质量和生态功能的重要指标<sup>[7]</sup>。有研究表明肥料施用量和土壤初始理化

因子(如有机碳、全氮和黏粒含量)可能是调控土壤微生物量变化的主要因素<sup>[7]</sup>;氮添加对微生物量碳、氮有促进<sup>[8]</sup>、不显著<sup>[9]</sup>以及抑制的影响<sup>[5]</sup>;也有研究表明氮添加对土壤微生物量碳含量成单峰曲线变化<sup>[10]</sup>。

由于目前关于施氮量对库尔勒香梨(*Pyrus brestschneideri* Rehd.)园区中土壤生物学特性影响的深入研究还较少。因此,笔者在本研究中以库尔勒香梨园土壤为研究对象,初步探究了不同施氮量

处理下土壤微生物量碳、氮等生物生化指标的变化规律,以及土壤微生物量碳、氮与氮添加浓度之间的关系,明确调控土壤微生物量碳、氮变化的潜在因素。旨在探索不同施氮量处理对土壤微生物量的影响,为建立科学合理的施肥制度以及香梨园土壤生态平衡的维持提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验区概况

该试验于新疆巴音郭楞蒙古自治州库尔勒市南郊阿瓦提农场(86°07'12" E、41°40'28" N,海拔902 m)进行,试验区的气候为暖温带大陆性干旱气候。调查及监测后得到,该地区的年平均气温在10.5~11.8 °C,年降雨量在50~55 mm,年均日照时数达2800~3000 h,日照总辐射量为5700~6400 mJ·cm<sup>-2</sup>,有效积温4100~4400 °C,无霜期210~239 d。试验区土壤类型为草甸土,经过土壤理化性质检测后得到,土壤有机质含量( $w$ ,后同)为14.11 g·kg<sup>-1</sup>,碱解氮含量53.82 mg·kg<sup>-1</sup>,有效磷含量22.75 mg·kg<sup>-1</sup>,速效钾含量217 mg·kg<sup>-1</sup>,pH值为7.84。

### 1.2 试验设计

该试验于2019—2021年在树龄为6~7年的库尔勒香梨园进行,株行距为2 m × 4 m,1125株·hm<sup>-2</sup>。选取生长正常、长势相近,无病虫害且结果正常的36株库尔勒香梨树进行挂牌标记。设置4个施氮处理,分别为N<sub>0</sub>-不施氮、N<sub>1</sub>-低氮量、N<sub>2</sub>-中氮量和N<sub>3</sub>-高氮量,具体施氮量见表1,单株视为1次重复,设9次重复。

表1 不同氮肥施用量的试验方案

Table 1 The experiment scheme with different amount of nitrogen fertilizer

处理 Treatment	养分用量 Quantity of application nutrient					
	/(kg·hm <sup>-2</sup> )			/(kg·plant <sup>-1</sup> )		
	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
N <sub>0</sub>	0	300	75	0.000	0.267	0.067
N <sub>1</sub>	150	300	75	0.133	0.267	0.067
N <sub>2</sub>	300	300	75	0.267	0.267	0.067
N <sub>3</sub>	450	300	75	0.400	0.267	0.067

试验中氮肥(尿素:含N 46%)施用量的60%于果树的萌芽前期基施(N<sub>0</sub>处理除外),剩余40%在果实膨大前期(5月30日至6月1日)追施。磷肥(重过磷酸钙:含P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 46%)和钾肥(硫酸钾:含K<sub>2</sub>O 51%)在萌芽前期一次性全部施入。施基肥与追肥均采用

环状沟施法(距中心干50 cm处挖深和宽均约为30 cm的环状沟),施肥后各处理均进行常规田间管理,不同处理的生长条件和其他栽培管理保持一致。

### 1.3 土样采集与处理

土壤样品于2020年的香梨萌芽前期(施肥前4月1日)、坐果期(施肥前6月1日)、膨果期(8月1日)、成熟期(9月15日)采集。每个处理采集3株果树的土样,采集土样时,先去除地表凋落物,然后分别在施肥沟两侧用土钻法采集3个土层(0~20、>20~40、>40~60 cm)土样,将施肥沟两侧同层土样混合为1个土样,土样经初步破碎混匀后,保存于封口的自封袋中,并放入盛有干冰的保鲜箱中保鲜运回实验室。返回实验室后,土壤样品在去除植物根系和大的石块后过2 mm筛混匀,所有样品分为两部分,一部分于4 °C冰箱保存在1周内完成土壤微生物量碳、氮的测定,另一部分室内风干,过1 mm筛,用于土壤理化分析。

### 1.4 测定方法

土壤有机碳采用重铬酸钾外加热法测定;土壤全氮采用半微量凯氏法测定。以上方法均参照鲍士旦<sup>[11]</sup>的《土壤农化分析》方法测定。

土壤微生物量碳(SMBC)测定采用熏蒸提取-容量分析法;土壤微生物量氮(SMBN)测定采用熏蒸提取-茚三酮比色法<sup>[12]</sup>。

SMBC的计算公式为:SMBC =  $Ec/k_{EC}$ ,式中 $Ec$ 为熏蒸与未熏蒸土壤的差值, $k_{EC}$ 为转换系数,取值0.38。

SMBN的计算公式为:SMBN =  $mE_{min-N}$ ,式中 $E_{min-N}$ 为熏蒸与未熏蒸土壤的差值, $m$ 为转换系数,取值5.0。

土壤微生物利用有机碳的效率(SMBC:SOC)也称微生物碳熵(qSMBC),用SMBC占SOC的百分比计算得出;土壤微生物利用全氮的效率(SMBN:TN)也称微生物氮熵(qSMBN),用SMBN占TN的百分比计算得出<sup>[13]</sup>。

### 1.5 数据处理与分析

采用Excel 2019和SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。采用单因素方差分析(One-way ANOVA),用最小显著差异法(LSD)进行不同处理间的方差分析和多重比较,显著性水平设为0.05,结果以“平均值±标准误”表示,用Pearson法对土壤微生物量和氮添加浓度、土层、土壤理化性质进行相关分

析,采用Excel 2019作图。

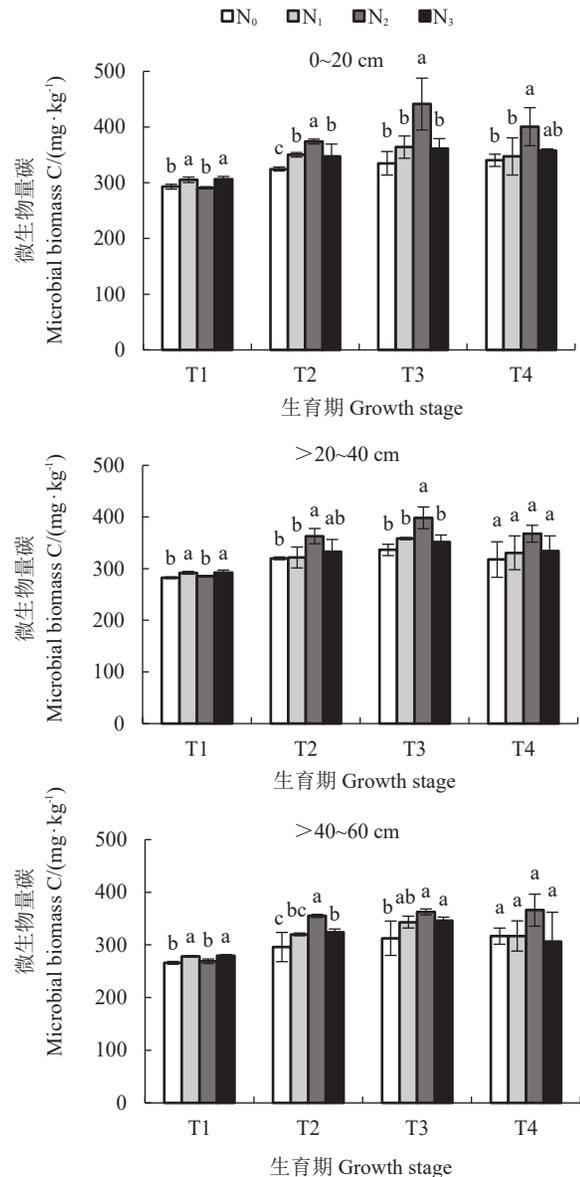
## 2 结果与分析

### 2.1 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物量碳的影响

由图1可知,随着库尔勒香梨生育期的变化,SMBC表现为先增后减:膨果期>成熟期>坐果期>萌芽前期,SMBC在萌芽前期最低,其峰值出现在膨果期,这与作物生育旺盛时期一致,说明土壤微生物量的变化与作物生长、季节温度的变化等紧密相关;从空间分布上看,SMBC表现为随着土层深度的增加呈递减趋势,这可能与随着土层加深土壤通气环境变差以及养分含量降低等有关。在0~20 cm土层坐果期、膨果期、成熟期均表现为N<sub>2</sub>处理SMBC提高效果最为明显,分别较N<sub>0</sub>处理提高15.2%、31.7%、17.7% ( $p < 0.05$ ); >20~40 cm土层在坐果期、膨果期也表现为N<sub>2</sub>处理SMBC提高效果最为明显,分别较N<sub>0</sub>处理提高13.4%、18.4% ( $p < 0.05$ ); >40~60 cm土层在坐果期表现为N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>处理SMBC显著高于N<sub>0</sub>处理,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>处理SMBC分别较N<sub>0</sub>处理提高19.9%、9.5%,在膨果期N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>处理SMBC显著高于N<sub>0</sub>处理,分别较N<sub>0</sub>处理提高16.0%、10.8%。整体来看,在0~60 cm土层中各施肥处理SMBC变化趋势一致,表现为先增后减:N<sub>2</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>1</sub> > N<sub>0</sub>,其中均表现为N<sub>2</sub>处理SMBC提高效果最好,N<sub>3</sub>处理下SMBC有所下降,说明适量氮添加有利于提高果园土壤生物活性,增加微生物量碳的积累,过量的施氮量会使微生物量碳的积累受到抑制。

### 2.2 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物量氮的影响

由图2可知,土壤微生物量氮(SMBN)含量随着生育期的变化表现为:膨果期>坐果期>成熟期>萌芽前期,在萌芽前期最低,峰值出现在膨果期,变化趋势与SMBC保持一致。仍然说明土壤微生物量的变化与作物生长、季节温度的变化等紧密相关,因此SMBN在香梨生育旺盛时期(膨果期)达到最大。SMBN随土层深度的变化趋势也与SMBC随土层深度的变化趋势表现一致,随着土层深度的增加呈递减趋势。0~20 cm土层坐果期、膨果期、成熟期的各施肥处理SMBN较N<sub>0</sub>处理均显著提高 ( $p < 0.05$ ),其中在膨果期、成熟期N<sub>2</sub>处理SMBN提高效果最为明显,分别较N<sub>0</sub>处理提高38.9%、52.9% ( $p <$



T1. 萌芽前期;T2. 坐果期;T3. 膨果期;T4. 成熟期。不同小写字母表示同一时期处理间差异显著 ( $p < 0.05$ )。下同。

T1. Early budding; T2. Fruit setting stage; T3. Fruit swelling stage; T4. Fruit maturity stage. Different small letters indicated significant difference among treatments at the same growth stage at 0.05 level. The same below.

图1 施肥对各生育期0~60 cm土层微生物量碳的影响  
Fig. 1 Effects of fertilization on SMBC content in 0-60 cm soil layers in different seasons

0.05); >20~40 cm土层在膨果期、成熟期均表现为N<sub>2</sub>处理SMBN提高效果最为明显,分别较N<sub>0</sub>处理提高31.0%、62.8% ( $p < 0.05$ ); >40~60 cm土层在膨果期、成熟期也均表现为N<sub>2</sub>处理SMBN提高效果最为明显,分别较N<sub>0</sub>处理提高55.6%、71.2% ( $p < 0.05$ )。整体来看,0~60 cm土层中各施肥处理

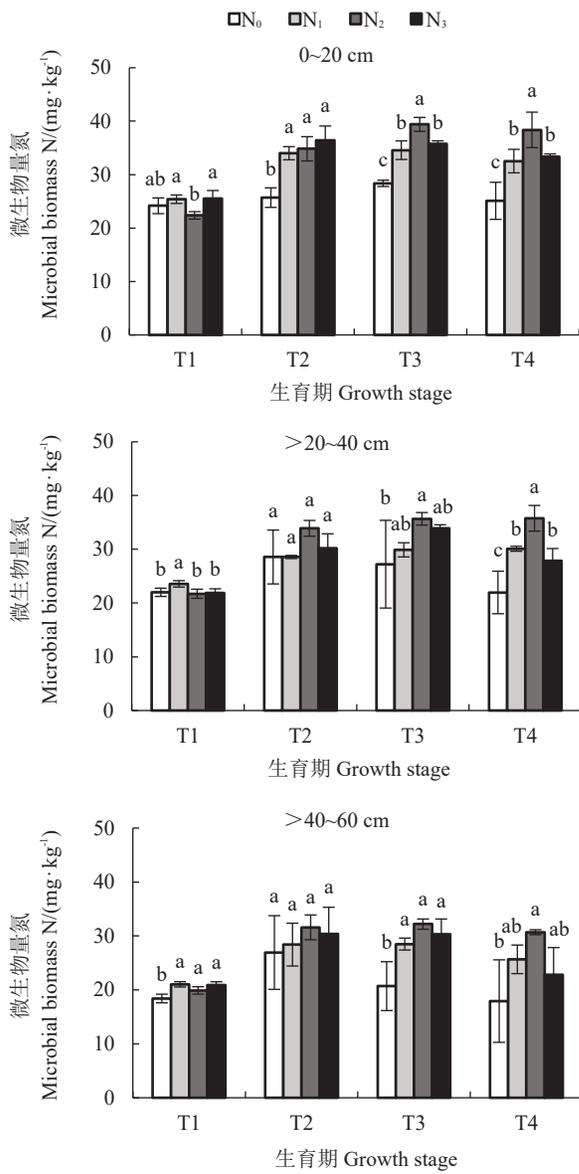


图2 施肥对各生育期0~60 cm 土层微生物量氮的影响  
 Fig. 2 Effects of fertilization on SMBN content in 0-60 cm soil layers in different seasons

SMBN 总体变化趋势与 SMBC 一致, 表现为先增后减: N<sub>2</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>1</sub> > N<sub>0</sub>, N<sub>3</sub> 处理下 SMBN 有所下降, 也说明适量氮添加有利于提高果园土壤生物活性, 增加微生物量氮的积累, 过量的施氮量会使微生物量氮的积累受到抑制。

### 2.3 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物碳熵的影响

土壤微生物量碳(SMBC)占土壤有机碳含量(SOC)的百分比称为微生物碳熵(qSMBC), qSMBC 的变化反映了土壤中输入的 SOC 向 SMBC 的转化效率、土壤中碳损失和土壤矿物对有机质的固

定<sup>[14]</sup>。从图3可以看出, 随着库尔勒香梨生育期的变化, qSMBC 整体表现为依次递增: 成熟期 > 膨果期 > 坐果期 > 萌芽前期, qSMBC 在萌芽前期最低, 随着作物生育期的变化不断增加, 说明土壤微生物对 SOC 的利用效率与作物生长、季节温度的变化等紧密相关; 从土层分布来看 qSMBC 均随土层深度的增加而增加。这主要是由于 SOC、SMBC 的含量虽然都随着土层的加深而减少, 但 SOC 随土层的加深而下降的幅度大于 SMBC 随土层加深而下降的幅度, 导致了较深的土层中 SMBC 在 SOC 中的占比相对增加, 因而表现为 qSMBC 随土层加深而增加。不同施肥处理间 0~20 cm 土层 qSMBC 值在香梨坐果

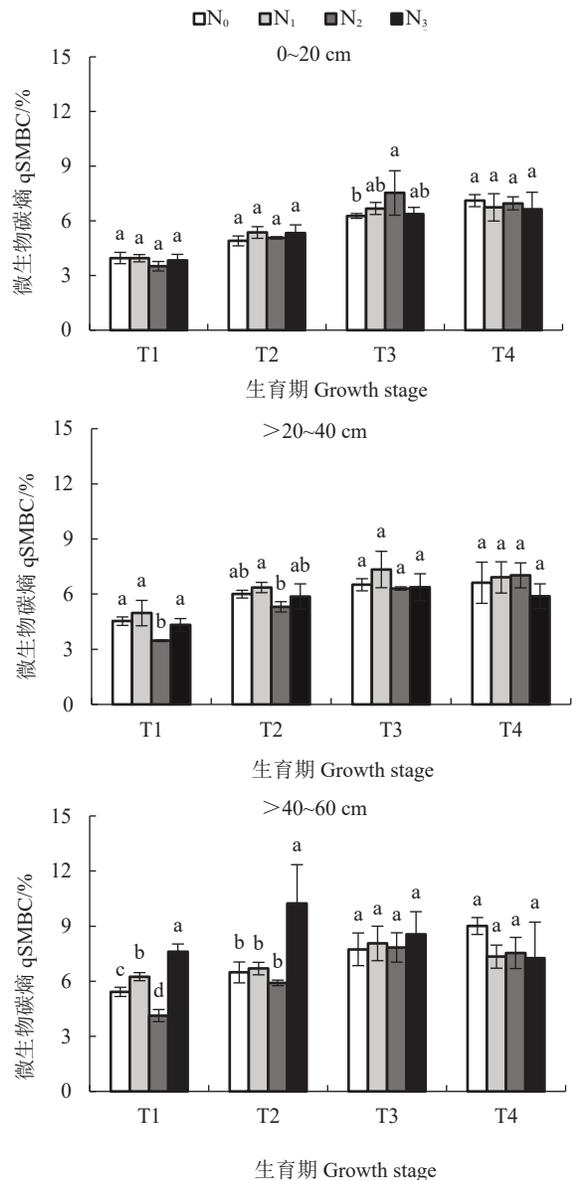


图3 施肥对各生育期0~60 cm 土层微生物碳熵的影响  
 Fig. 3 Effects of fertilization on qSMBC in 0-60 cm soil layers in different seasons

期和成熟期均表现为无显著差异,而在膨果期表现出一定差异,膨果期 $N_2$ 处理qSMBC值最大,高出 $N_0$ 处理20.1%( $p < 0.05$ )。>20~40 cm和>40~60 cm土层qSMBC的值在香梨膨果期和成熟期均表现为无显著差异,而在香梨坐果期表现出一定差异。坐果期>20~40 cm土层中 $N_1$ 处理qSMBC值最大,高出 $N_0$ 处理6.0%( $p < 0.05$ )。坐果期>40~60 cm土层中 $N_3$ 处理qSMBC值最大,高出 $N_0$ 处理57.9%( $p < 0.05$ )。说明在香梨特定生育期,施用氮肥能在一定程度上提高qSMBC,提高土壤微生物对碳的利用率。但从香梨整个生育期来看,不同施肥处理下qSMBC值没有一定的变化规律,也无极显著的差异性,说明施氮对qSMBC无显著影响。

#### 2.4 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物氮熵的影响

土壤微生物量氮(SMBN)与土壤全氮(TN)的比值称为微生物氮熵(qSMBN)。qSMBN反映微生物对TN的利用效率<sup>[13]</sup>。从图4可以看出,随着库尔勒香梨生育期的变化,qSMBN的分布整体表现为先增后减:膨果期>坐果期>成熟期>萌芽前期,qSMBN在萌芽前期最低,其峰值出现在膨果期,这与作物生育旺盛时期一致,说明土壤微生物对土壤全氮(TN)的利用效率也与作物生长、季节温度的变化等紧密相关;从土层分布来看各施肥处理qSMBN均随土层深度的增加变化不明显,说明土壤微生物对全氮(TN)的利用效率受到土层深度变化的影响不明显。不同施肥处理间0~20 cm和>20~40 cm土层中qSMBN值在香梨坐果期表现为无显著差异,而在膨果期和成熟期均表现出一定差异,>40~60 cm土层qSMBN的值在香梨坐果期、膨果期和成熟期均表现为无显著差异。0~20 cm土层膨果期 $N_1$ 处理qSMBN值最小,而成熟期 $N_3$ 处理qSMBN值最小,分别低于 $N_0$ 处理18.9%和17.3%( $p < 0.05$ )。>20~40 cm土层膨果期和成熟期均为 $N_3$ 处理qSMBN值最小,分别低于 $N_0$ 处理27.1%和18.5%( $p < 0.05$ )。说明在香梨生育期,施用氮肥能在一定程度上降低qSMBN,抑制土壤微生物对氮的利用,特别是氮肥施用过量时抑制土壤微生物对氮的利用效果更显著。从香梨整个生育期来看,施氮对qSMBN的影响主要集中在表层0~40 cm土层,而>40~60 cm土层影响较小。

#### 2.5 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物碳氮比值的影响

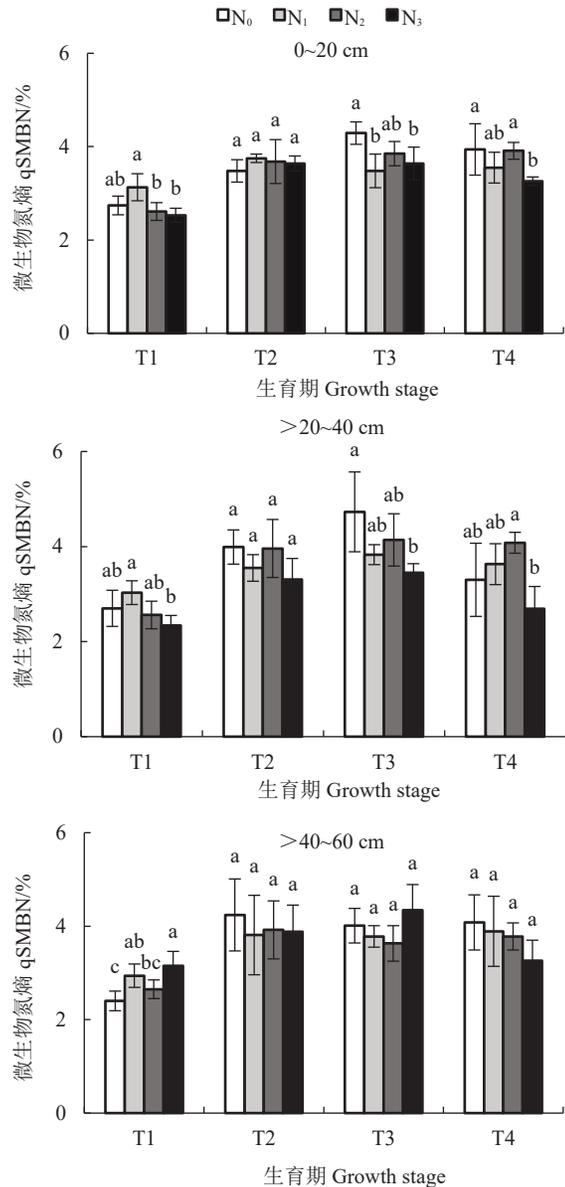


图4 施肥对各生育期0~60 cm土层微生物氮熵的影响

Fig. 4 Effects of fertilization on qSMBN in 0-60 cm soil layers in different seasons

土壤微生物量碳氮比(SMBC/SMBN)可以反映微生物群落结构信息,其显著变化预示着微生物群落结构变化可能是微生物生物量较高的首要原因<sup>[15]</sup>。由图5可知,随着香梨生育期的变化, $N_0$ 处理下各时期之间SMBC/SMBN差异不显著, $N_1$ 、 $N_2$ 、 $N_3$ 处理均表现为萌芽前期SMBC/SMBN最大,在生育中后期的差异不大,说明SMBC/SMBN在生长季内基本不变,即土壤微生物量碳、氮能维持相对稳定的比例;从土层分布来看SMBC/SMBN垂直变化规律总体表现为逐层递增,但差异不显著,说明SMBC/

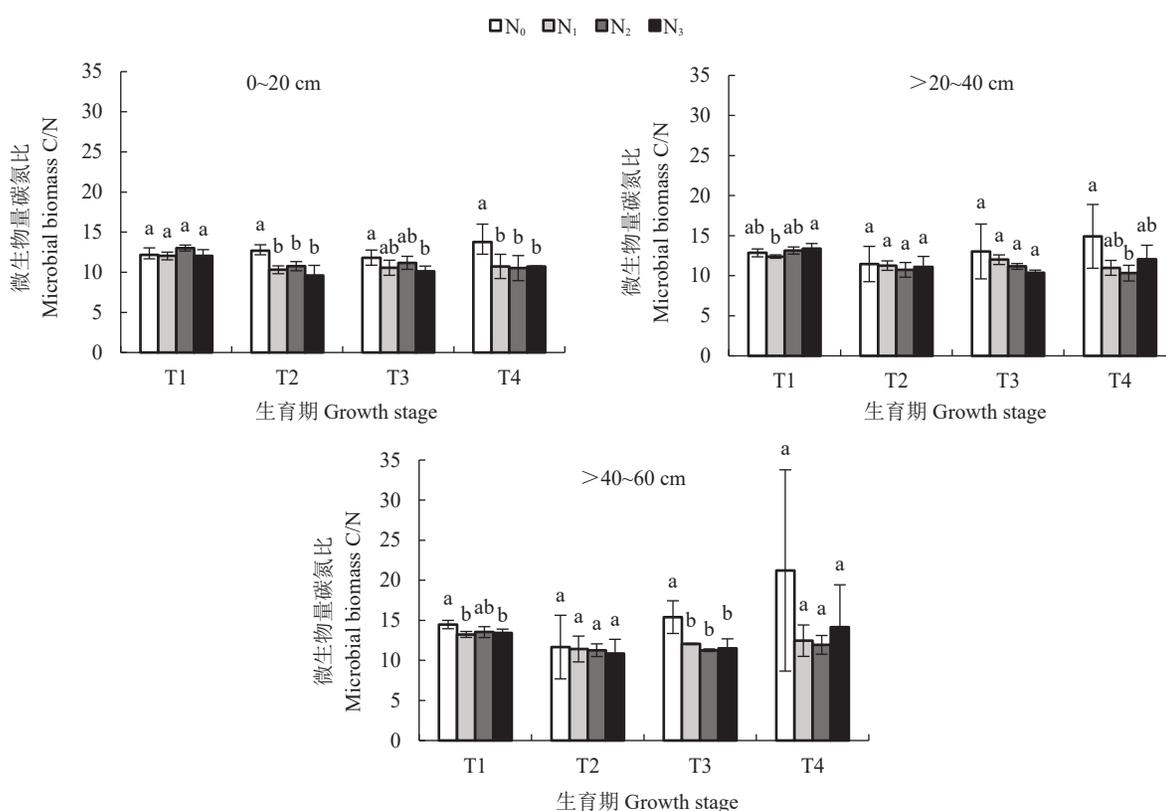


图5 施肥对各生育期 0~60 cm 土层微生物碳氮比的影响

Fig. 5 Effects of fertilization on qSMBN in 0-60 cm soil layers in different seasons

SMBN 受到土层深度变化的影响不明显。0~60 cm 各土层中不同施肥处理 SMBC/SMBN 总体变化趋势一致,均表现为施用氮肥的 N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub> 处理小于不施氮肥的 N<sub>0</sub> 处理,其中在 0~20 cm 土层坐果期、成熟期以及 >40~60 cm 土层膨果期 SMBC/SMBN 均表现为 N<sub>0</sub> 处理显著大于 N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub> 处理 ( $p < 0.05$ ),说

明施用氮肥在一定程度上有抑制 SMBC/SMBN 的趋势。

## 2.6 土层、氮添加浓度、土壤理化性质与土壤微生物量相关分析

由表 2 可知,SMBC、SMBN 与氮添加浓度、全氮呈极显著正相关 ( $p < 0.01$ ),与土层呈极显著负相

表 2 土层、氮添加浓度、土壤理化性质与土壤微生物量的相关关系

Table 2 Correlation coefficients between soil depth, nitrogen concentration, soil physical and chemical properties and soil microbial biomass

指标 Index	有机碳 Organic C	全氮 Total N	微生物量碳 SMBC	微生物量碳 熵 qSMBC	微生物量氮 SMBN	微生物量氮 熵 qSMBN	微生物量碳氮比 SMBC/SMBN
土层 Soil layer	-0.602**	-0.475**	-0.311**	0.314**	-0.378**	0.087	0
氮添加浓度 N concentration	0.136	0.546**	0.223**	0.114	0.341**	-0.180*	-0.272**
有机碳 Organic C	1	0.442**	-0.032	-0.606**	0.074	-0.404**	-0.186*
全氮 Total N		1	0.348**	-0.091	0.476**	-0.422**	-0.321**
微生物量碳 SMBC			1	0.374**	0.726**	0.450**	-0.191*
微生物量碳熵 qSMBC				1	0.231**	0.428**	0.055
微生物量氮 SMBN					1	0.525**	-0.732**
微生物量氮熵 qSMBN						1	-0.283**
微生物量碳氮比 SMBC/SMBN							1

注:\*. 在 0.05 级别(双尾),相关性显著;\*\* 在 0.01 级别(双尾),相关性极显著。

Note: \*. Indicates significant correlation at the  $p < 0.05$  level (two-tailed); \*\*. Indicates extremely significant correlation at the  $p < 0.01$  level (two-tailed).

关( $p < 0.01$ ); qSMBC 与土层呈极显著正相关( $p < 0.01$ ), 与有机碳呈极显著负相关( $p < 0.01$ ), qSMBN 与氮添加浓度呈显著负相关( $p < 0.05$ ), 与有机碳、全氮呈极显著负相关( $p < 0.01$ ); SMBC/SMBN 与氮添加浓度、全氮呈极显著负相关( $p < 0.01$ ), 与有机碳呈显著负相关( $p < 0.05$ )。说明 SMBC、SMBN 的变化受到氮添加浓度、全氮、土层的直接影响; qSMBC 的变化受到土层、有机碳的直接影响, qSMBN 的变化受到氮添加浓度、全氮、有机碳的直接影响; SMBC/SMBN 的变化受到氮添加浓度、全氮、有机碳的直接影响, 它们之间存在着动态依存关系; 表明氮添加浓度、土层、全氮、有机碳与土壤微生物量之间联系紧密。

### 3 讨 论

#### 3.1 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物量的影响

本研究中土壤微生物量碳、氮与土壤全氮呈极显著正相关, 表明微生物量碳、氮的变化趋势与土壤全氮变化趋势一致, 因此微生物量可以代表土壤全氮评价土壤肥力状况, 并作为评价长期培肥过程中土壤质量变化的生物学指标。总体来看, 本研究在库尔勒香梨萌芽前期 SMBC 与 SMBN 最低, 随着库尔勒香梨生育期的变化开始显著增加, SMBC 与 SMBN 峰值均出现在膨果期。这是由于在旺盛生长期, 梨树对养分需要量增加, 微生物加快对土壤养分的分解和代谢; 同时, 膨果期前后土壤温度回升, 大分子有机物分解, 根系生长迅速、代谢旺盛、活化养分能力增强, 根系分泌物、脱落物增多, 释放土壤养分, 可促进微生物繁殖从而增加微生物量<sup>[16]</sup>。在空间分布上, 不同施肥处理下的 SMBC 与 SMBN 均随土层的加深呈现减小的趋势, 其原因可能是表层土壤含有大量碳源, 微生物对碳的吸收会加强自身活性, 进而使表层土壤中真菌和细菌种类增多, 亚层及以下土壤中碳含量减小, 同时氧气流通变差, 限制土壤微生物的生长和繁殖, 导致真菌数量剧减, 同时全氮、有机质也随着土层的增加而降低, 从而导致深层土壤微生物量减少<sup>[17]</sup>。

本研究结果表明, 施氮肥处理可以提高 SMBC 与 SMBN, 与不施氮肥的  $N_0$  处理相比 SMBC 与 SMBN 大部分显著增加。这可能是因为施用有机肥或无机肥能够提高植物光合作用效率, 促进地上和地下部生物量积累, 不仅可以增加根系残茬的还田

量, 而且有利于根系分泌物的释放, 为微生物创造有利的生存环境<sup>[18]</sup>。Vepsalainen 等<sup>[19]</sup>研究表明, 根系残体和根系分泌物有利于微生物生长繁殖, 促进微生物活性提高, 而微生物量的提高反过来影响土壤活性有机碳含量的升高。本研究中不同氮添加水平对 SMBC 与 SMBN 有显著性的影响: 在适量的氮添加水平下 SMBC 与 SMBN 随着施氮量的增加而增加, 而在较高的氮添加水平下 SMBC 与 SMBN 随着施氮量的增加而降低, 与王长廷等<sup>[10]</sup>在青海高寒草甸研究中发现随施肥浓度的增加, SMBC 先增后减相似, 这可能是由于较低氮添加水平下促进了土壤微生物 N 吸收和固持作用, 加强了土壤微生物对无机氮的吸收, 减少了植物与微生物之间的氮素竞争, 增加了土壤微生物生物量<sup>[20]</sup>。但是过量的氮添加会改变土壤微环境, 致使土壤酸化, 盐基离子减少, 从而土壤中的  $Al^{3+}$  含量上升, 破坏微生物细胞<sup>[21]</sup>; 同时会抑制木质素降解酶活性, 加强了微生物 C 限制<sup>[22]</sup>; 导致对土壤微生物群落以及微生物酶产生胁迫效应, 抑制微生物的生长和活性, 造成土壤微生物量的降低<sup>[23]</sup>。本研究部分结果差异不显著, 可能是本试验地的氮添加试验目前只进行了 2~3 年, 土壤微生物对短期氮添加响应不太敏感, 已有研究表明微生物对短期氮添加不敏感可能是因为有机质含量较高<sup>[24]</sup>。因此适宜浓度的长期氮添加能够促进土壤营养元素循环, 从而加速了各环节的能量流动, 同时过量氮添加会显著地抑制微生物活性。

#### 3.2 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物碳氮利用效率的影响

土壤微生物量与土壤养分的比值可以用来反映土壤养分向微生物量的转化效率、土壤养分损失和土壤矿物对有机质的固定, 并且其在标记土壤过程或土壤健康变化时要比单独使用微生物量或土壤养分的值更有效<sup>[25]</sup>。本文中 qSMBC 大部分范围为 3.5%~7.8%、qSMBN 范围为 2.1%~5.7%, 与前人的研究结果 qSMBC、qSMBN 范围为 0.3%~7.0%、2.0%~9.8% 相符<sup>[26-27]</sup>。总体来看, qSMBC 与 qSMBN 随着生育期的变化与 SMBC、SMBN 相似, 在库尔勒香梨萌芽前期 qSMBC 与 qSMBN 最低, 随着库尔勒香梨生育期的变化开始显著增加, qSMBC 与 qSMBN 的峰值均出现在膨果期, 这种现象可能由生育期变化以及土壤温度影响所致。

qSMBC 随土层加深而增加, 均表现为 >40~60 cm

qSMBC最高,这可能是由于土壤微生物的数量和活跃程度与土壤中有机碳的来源紧密相关,本研究中SOC、SMBC含量随土层加深而减少,均与土层深度变化呈极显著负相关( $p < 0.01$ ),其中有机碳与土层相关系数(0.602)高于SMBC与土层相关系数(0.311),说明有机碳的含量与分布受到土层变化的影响更强烈;可能是SOC随土层的加深而下降的幅度大于SMBC随土层加深而下降的幅度,导致了较深的土层中SMBC在SOC中的占比相对增加,表现为qSMBC随土层加深而增加,对此还需进一步的深入研究。qSMBN随土层加深变化不明显。

在本研究中 $N_3$ 处理明显降低了qSMBN,说明过量氮肥的施用抑制了微生物对土壤氮的利用效率,这与田伟等<sup>[28]</sup>研究结果相似。但也有研究表明,施用氮肥提高了土壤微生物对土壤中碳、氮的利用效率<sup>[29-30]</sup>。结果不同的原因可能是土壤微生物量碳、氮的利用效率受施肥处理、不同作物季以及二者之间的交互作用共同影响。

### 3.3 施氮量对库尔勒香梨园土壤微生物量碳氮比的影响

SMBC/SMBN可以作为反映微生物群落结构信息及土壤N供给状况的一个指标,其显著变化喻示着微生物群落结构变化可能是微生物量较高的首要原因<sup>[15]</sup>。研究表明,SMBC/SMBN在3~5时,土壤微生物群落中占据优势的为细菌,而在4~15时则为真菌<sup>[31]</sup>。本研究SMBC/SMBN基本介于9.6~14.9之间,说明土壤微生物群落中真菌为优势种。

总体来看,SMBC/SMBN随着库尔勒香梨生育期的变化差异不大,其中 $N_2$ 处理坐果期、膨果期、成熟期SMBC/SMBN显著低于萌芽前期,且保持一定的稳定,在10.3~11.9的范围,有利于维持。目前研究认为,SMBC/SMBN在生长季内基本不变,即土壤微生物量碳、氮能维持相对稳定的比例<sup>[32]</sup>。

本研究中施肥处理降低了SMBC/SMBN,SMBC/SMBN与氮添加浓度、全氮含量呈极显著负相关( $p < 0.01$ )。说明施肥处理在整体上有抑制SMBC/SMBN的趋势,使得土壤微生物群落由真菌向细菌群落转变。一般认为土壤微生物组成的不同导致SMBC/SMBN的变化,在本试验中SMBC/SMBN因施肥而显著不同,可能是土壤微生物组成发生了变化,这可能是由于真菌在N环境受限制中占据主导地位,但随着N素的增加,细菌将逐渐取代

真菌的地位<sup>[33-34]</sup>,也可能是本研究施氮量偏高,土壤矿质态氮含量高,所以SMBN含量相对较高,对此还需进一步的深入研究。

## 4 结 论

本研究结果表明,土壤微生物量在适宜浓度氮添加下有增加趋势,以 $N_2$ 处理提高SMBC、SMBN效果最好,但过量的施氮量会使微生物量的积累受到抑制并显著降低土壤微生物量氮熵。因此,在库尔勒香梨栽培中,应该适宜控制氮素的供给,本研究结合不同施氮量处理下库尔勒香梨园施氮量对土壤微生物量的影响,推荐6~7年生库尔勒香梨以 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的施氮量为最佳。

### 参考文献 References:

- [1] 陈淼,李玮,陈歆,李宁,杨桂生,彭黎旭. 菜地土壤氮素迁移转化研究进展[J]. 中国瓜菜,2017,30(8):1-6.  
CHEN Miao, LI Wei, CHEN Xin, LI Ning, YANG Guisheng, PENG Lixu. Research progress on transfer and transformation of soil nitrogen in vegetable field[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2017, 30(8): 1-6.
- [2] 张俊华,张家宝,贾科利. 氮素和盐碱胁迫下作物与土壤光谱特征研究[M]. 银川:宁夏人民出版社,2016.  
ZHANG Junhua, ZHANG Jiabao, JIA Keli. Research on spectral characteristics of crops and soils under nitrogen and saline-alkali stress[M]. Yinchuan: Ningxia People's Publishing House, 2016.
- [3] 李学文,李树营,王齐龙,刘家友,萧洪东,施卫明,喻敏. 减氮配施脲酶/硝化抑制剂对冬瓜品质、产量和土壤氮磷淋失的影响[J]. 中国瓜菜,2021,34(1):55-59.  
LI Xuewen, LI Shuying, WANG Qilong, LIU Jiayou, XIAO Hongdong, SHI Weiming, YU Min. Effect of urease/nitrification inhibitors combined with reduction of nitrogen on quality, yield and nitrogen & phosphorus leaching of black wax gourd[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2021, 34(1): 55-59.
- [4] MIAO Y X, STEWART B A, ZHANG F S. Long-term experiments for sustainable nutrient management in China. A review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2011, 31(2): 397-414.
- [5] ZHANG T A, CHEN H Y H, RUAN H H. Global negative effects of nitrogen deposition on soil microbes[J]. The ISME Journal, 2018, 12(7): 1817-1825.
- [6] 徐阳春,沈其荣,冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物量碳、氮、磷的影响[J]. 土壤学报,2002,39(1):89-96.  
XU Yangchun, SHEN Qirong, RAN Wei. Effects of long-term no-tillage and organic fertilizer application on soil microbial biomass C, N and P[J]. Acta Pedologica Sinica, 2002, 39(1): 89-96.
- [7] REN F L, SUN N, XU M, ZHANG X B, WU L H, XU M G. Changes in soil microbial biomass with manure application in

- cropping systems: A meta-analysis - ScienceDirect[J]. *Soil and Tillage Research*, 2019, 194: 104291.
- [8] 李娟, 赵秉强, 李秀英, HWAT BING SO. 长期有机无机肥料配施对土壤微生物学特性及土壤肥力的影响[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(1): 142-152.
- LI Juan, ZHAO Bingqiang, LI Xiuying, HWAT BING SO. Effects of long-term combined application of organic and mineral fertilizers on soil microbiological properties and soil fertility[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(1): 142-152.
- [9] 贾伟, 周怀平, 解文艳, 关春林, 郗春花, 石彦琴. 长期有机无机肥配施对褐土微生物生物量碳、氮及酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2008, 14(4): 700-705.
- JIA Wei, ZHOU Huaiping, XIE Wenyan, GUAN Chunlin, GAO Chunhua, SHI Yanqin. Effects of long-term inorganic fertilizer combined with organic manure on microbial biomass C, N and enzyme activity in cinnamon soil[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2008, 14(4): 700-705.
- [10] 王长庭, 王根绪, 刘伟, 王启兰. 施肥梯度对高寒草甸群落结构、功能和土壤质量的影响[J]. *生态学报*, 2013, 33(10): 3103-3113.
- WANG Changting, WANG Genxu, LIU Wei, WANG Qilan. Effects of fertilization gradients on plant community structure and soil characteristics in alpine meadow[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(10): 3103-3113.
- [11] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- BAO Shidan. *Soil and agricultural chemistry analysis*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005.
- [12] 吴金水. 土壤微生物生物量测定方法及其应用[M]. 北京: 气象出版社, 2006.
- WU Jinshui. *Soil microbial biomass measurement method and its application*[M]. Beijing: Meteorological Press, 2006.
- [13] 冯书珍, 苏以荣, 秦新民, 肖伟, 葛云辉, 何寻阳. 喀斯特峰丛洼地土壤剖面微生物特性对植被和坡位的响应[J]. *生态学报*, 2013, 33(10): 3148-3157.
- FENG Shuzhen, SU Yirong, QIN Xinmin, XIAO Wei, GE Yunhui, HE Xunyang. Responses of soil microbial properties in soil profile to typical vegetation pattern and slope in karst-cluster depression area[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(10): 3148-3157.
- [14] 刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 姜瑞波, HWAT BING SO. 不同施肥制度土壤微生物量碳氮变化及细菌群落 16S rDNA V3 片段 PCR 产物的 DGGE 分析[J]. *生态学报*, 2007, 27(3): 1079-1085.
- LIU Enke, ZHAO Bingqiang, LI Xiuying, JIANG Ruibo, HWAT BING SO. Microbial C and N biomass and soil community analysis using DGGE of 16S rDNA V3 fragment PCR products under different long-term fertilization systems[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(3): 1079-1085.
- [15] LOVELL R D, JARVIS S C, BARDGETT R D. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: Effects of management changes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(7): 969-975.
- [16] 李东坡, 武志杰, 陈利军, 朱平, 任军, 梁成华, 彭畅, 高红军. 长期培肥黑土微生物量碳动态变化及影响因素[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(10): 1334-1338.
- LI Dongpo, WU Zhijie, CHEN Lijun, ZHU Ping, REN Jun, LIANG Chenghua, PENG Chang, GAO Hongjun. Dynamics of microbial biomass C in a black soil under long-term fertilization and related affecting factors[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(10): 1334-1338.
- [17] 潘禹, 宋娅丽, 王克勤, 张雨鉴, 郑兴蕊. 模拟 N 沉降对滇中亚高山典型森林凋落物分解及土壤微生物的影响[J]. *林业科学研究*, 2021, 34(3): 88-97.
- PAN Yu, SONG Yali, WANG Keqin, ZHANG Yujian, ZHENG Xingrui. Effects of simulated N deposition on litter decomposition and soil microbes in typical subalpine forests in central Yunnan[J]. *Forest Research*, 2021, 34(3): 88-97.
- [18] 胡诚, 曹志平, 罗艳蕊, 马永良. 长期施用生物有机肥对土壤肥力及微生物生物量碳的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2007, 15(3): 48-51.
- HU Cheng, CAO Zhiping, LUO Yanrui, MA Yongliang. Effect of long-term application of microorganismic compost or vermicompost on soil fertility and microbial biomass carbon[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2007, 15(3): 48-51.
- [19] VEPSLINEN M, ERKOMAA K, KUKKONEN S, VESTBERG M, NIEMI R. The impact of crop plant cultivation and peat amendment on soil microbial activity and structure[J]. *Plant and Soil*, 2004, 264(1): 273-286.
- [20] STARK S, KYTÖVIITA M M. Simulated grazer effects on microbial respiration in a subarctic meadow: Implications for nutrient competition between plants and soil microorganisms[J]. *Applied Soil Ecology*, 2005, 31(1): 20-31.
- [21] PIETRI J C A, BROOKES P C. Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(7): 1856-1861.
- [22] 周世兴, 黄从德, 向元彬, 韩博涵, 肖永翔, 唐剑东. 模拟氮沉降对华西雨屏区天然常绿阔叶林凋落物木质素和纤维素降解的影响[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(5): 1368-1374.
- ZHOU Shixing, HUANG Congde, XIANG Yuanbin, HAN Bohan, XIAO Yongxiang, TANG Jiandong. Effects of simulated nitrogen deposition on lignin and cellulose degradation of foliar litter in natural evergreen broad-leaved forest in rainy area of Western China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(5): 1368-1374.
- [23] HE H B, ZHANG W, ZHANG X D, XIE H T, ZHUANG J. Temporal responses of soil microorganisms to substrate addition as indicated by amino sugar differentiation[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43(6): 1155-1161.
- [24] 王志瑞, 杨山, 马锐骛, 王汝振, 冯雪, 李慧, 姜勇. 内蒙古草甸草原土壤理化性质和微生物学特性对刈割与氮添加的响

- 应[J]. 应用生态学报, 2019, 30(9): 3010-3018.
- WANG Zhirui, YANG Shan, MA Ruiao, WANG Ruzhen, FENG Xue, LI Hui, JIANG Yong. Responses of soil physicochemical properties and microbial characteristics to mowing and nitrogen addition in a meadow steppe in Inner Mongolia, China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(9): 3010-3018.
- [25] 赵彤, 闫浩, 蒋跃利, 黄懿梅, 安韶山. 黄土丘陵区植被类型对土壤微生物量碳氮磷的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(18): 5615-5622.
- ZHAO Tong, YAN Hao, JIANG Yueli, HUANG Yimei, AN Shaoshan. Effects of vegetation types on soil microbial biomass C, N, P on the Loess Hilly Area[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(18): 5615-5622.
- [26] OMAI, A B, RICE, C W. Changes in soil microbial and chemical properties under long-term crop rotation and fertilization[J]. Soil Science Society of America Journal, 1997, 61(6): 1672.
- [27] DEVI N B, YADAVA P S. Seasonal dynamics in soil microbial biomass C, N and P in a mixed-oak forest ecosystem of Manipur, North-east India[J]. Applied Soil Ecology, 2006, 31(3): 220-227.
- [28] 田伟, 李刚, 陈秋会, 王超, 张弛, 刘明庆, 王磊, 席运官. 等氮条件下化学肥料与有机肥连续大量施用下的环境风险[J]. 生态与农村环境学报, 2017, 33(5): 440-445.
- TIAN Wei, LI Gang, CHEN Qiuhui, WANG Chao, ZHANG Chi, LIU Mingqing, WANG Lie, XI Yunguan. Environmental risk caused by successive and heavy application of mineral fertilizer and compost with the same amount of nitrogen applied[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2017, 33(5): 440-445.
- [29] GEISSELER D, LINQUIST B A, LAZICKI P A. Effect of fertilization on soil microorganisms in paddy rice systems - A meta-analysis[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2017, 115: 452-460.
- [30] 唐海明, 李超, 肖小平, 汤文光, 程凯凯, 潘孝晨, 汪柯. 有机肥氮投入比例对双季稻田根际土壤微生物生物量碳、氮和微生物熵的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(4): 1335-1343.
- TANG Haiming, LI Chao, XIAO Xiaoping, TANG Wenguang, CHENG Kaikai, PAN Xiaochen, WANG Ke. Effects of different manure nitrogen input ratio on rhizosphere soil microbial biomass carbon, nitrogen and microbial quotient in double-cropping rice field[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(4): 1335-1343.
- [31] 戴允泽, 王会荣, 李爱琴, 朱永一, 汪小鹏, 房震, 徐小牛. 亚热带常绿阔叶林土壤微生物量动态变化及其对氮磷添加的响应[J]. 生态环境学报, 2018, 27(8): 13-22.
- DAI Yunze, WANG Huirong, LI Aiqin, ZHU Yongyi, WANG Xiaopeng, FANG Zhen, XU Xiaoniu. Dynamical pattern of soil microbial biomass and its response to nitrogen and phosphorus additions in a subtropical evergreen broad-leaved forest[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2018, 27(8): 13-22.
- [32] CHAN K Y, ZWIETEN L V, MESZAROS I, DOWNIE A, JOSEPH S. Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment[J]. Australian Journal of Soil Research, 2008, 45(8): 629-634.
- [33] 曹志平, 李德鹏, 韩雪梅. 土壤食物网中的真菌/细菌比率及测定方法[J]. 生态学报, 2011, 31(16): 4741-4748.
- CAO Zhiping, LI Depeng, HAN Xuemei. The fungal to bacterial ratio in soil food webs, and its measurement[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(16): 4741-4748.
- [34] WALLENSTEIN M D. Effects of increased nitrogen deposition on forestsoil nitrogen cycling and microbial community structure[D]. Duke: University of Durham, 2004.