

文章编号:1673-0062(2018)02-0019-07

基于含蜡状芽孢杆菌的生物刺激-生物强化联合体系降解石油污染物

邓振山, 高飞, 刘玉珍, 魏婷婷, 余天飞, 王华, 刘鑫垚, 边丹

(延安大学 生命科学学院, 陕西 延安, 716000)

摘要:为了探讨生物刺激、生物强化及其联合体系对石油污染物的去除能力,选择最佳的修复策略,更好地发挥微生物修复的优势.以一株蜡状芽孢杆菌石油降解菌为例,以有机营养物、无机营养物和混合营养物为底物,进行生物刺激、生物强化试验及联合降解试验.结果显示,不同修复方式在不同时段的降解效果不同,生物刺激方式在第 5 天时混合营养物降解效果最好,降解率达到 40.98%,在 10 d 不同营养物的降解率存在明显的差距,而在处理 20 d 后,降解率基本一致,达到 80%.生物强化的处理结果中,以混合营养物为底物时,表现出了优异的降解效果,降解率达到 90.23%.研究表明:不同时期不同的修复策略有表现出了对原油的不同去除能力,也为实践中选择合理的修复方式提供科学的理论指导.

关键词:生物刺激;生物强化;蜡状芽孢杆菌;石油污染;生物修复

中图分类号:X172 **文献标志码:**A

Biodegradation of Petroleum Pollutants Based Biostimulation-bioaugmentation System with *Bacillus Cereus*

DENG Zhen-shan, GAO Fei, LIU Yu-zhen, WEI Ting-ting,
YU Tian-fei, WANG Hua, LIU Xin-yao, BIAN Dan

(College of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an, Shanxi 716000, China)

Abstract: In order to investigate the removal ability of biological stimulation, biological enhancement and its combined system to remove petroleum pollutants, the best repair strategy was chosen to better utilize the advantages of microbial remediation. Taking an oil degrading *Bacillus cereus* as an example, the biological stimulation, biological enhancement test and

收稿日期:2018-02-27

基金项目:陕西省科技统筹创新工程项目(2012KTZB03-02-03);陕西省教育厅服务地方专项计划项目(16JE029);陕西省协同创新计划项目(2015XT-34);陕西省 2016 年科技统筹创新工程三批计划(2016ZCKJ3-106)

作者简介:邓振山(1969-),男,副教授,博士,主要从事于微生物资源与利用和环境微生物学方面的研究.E-mail: zhenshendeng214@163.com

combined degradation test were carried out on the basis of organic nutrients, inorganic nutrients and mixed nutrients. Different repair methods in different periods had different degradation effect, and the biological stimulation had the best degradation effect on the fifth day when the degradation rate of the mixed nutrients reached 40.98%, on the 10th day the degradation rate of different nutrients had obvious differences, and on the 20th day, the degradation rate reached 80% which was consistent. In the treatment of bioaugmentation, when mixed nutrients were used as substrates, the degradation rate was excellent, and the degradation rate was 90.23%. Different periods and different repair strategies showed different removal ability of crude oil, which provided some theoretical significance for selecting reasonable repair methods in practice.

key words: biostimulation; bioaugmentation; *bacillus cereus*; petroleum; pollutants; bioremediation

0 引言

石油烃由复杂的饱和烃类和不饱和烃类组成,在生产、运输、精炼、产品加工过程中会发生许多石油泄漏事件,对土壤微生态环境和地下水安全造成严重的破坏,进一步对人体健康产生影响,因此石油污染防治问题亟待解决^[1-2].生物修复较好的弥补了化学修复和物理修复存在的成本高、存在二次污染等问题^[3].生物修复主要指微生物修复,包括生物刺激、生物强化、固定化微生物和微生物-植物联合修复等修复策略^[4].生物刺激和生物强化是目前使用的两种较好的生物修复方法,二者同时是互补的生物修复方法.生物刺激是指通过添加氮源、磷源来激活石油中本身蕴藏微生物,提高石油的降解效果;生物强化是指在生物刺激的基础上添加外源石油降解菌达到降解石油的一种方法,生物强化在具有生物刺激修复的众多优势的同时也具有微生物修复的特点^[5-6].

我们从陕北某采油厂附近的含油土壤中,分离筛选到一株能高效降解石油烃类物质的细菌.本文对该菌株进行了分子生物学分类鉴定,对不同pH、含油率对其降解能力的影响进行了初步分析,通过测定不同降解策略的石油降解率,进一步对该菌株在生物刺激-生物强化体系下的应用价值进行评估,为利用微生物修复含油污染过程中采取合理的修复方法提供一定的理论依据.

1 材料与方 法

1.1 实验材料

降解菌来源由延安大学生命科学学院微生物实验室之前筛选获得,原油(主要组成成分为烷烃,是一种粘稠的深褐色液体)由陕西安塞某石

油公司提供,2×Es Taq MasterMix (Dye)从康为世纪公司购买,引物由上海生工生物工程公司合成.

1.2 培养基

基础培养基:牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 10.0 g, NaCl 5.0 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 7.2,121 °C 灭菌 20 min,配制固体培养基需另加入 15.0~20.0 g 琼脂.

无机营养盐培养液:NaCl 10.0 g, NH₄Cl 0.5 g, KH₂PO₄ 0.5 g, K₂HPO₄ 1.0 g, MgSO₄ 0.5 g, CaCl₂ 0.02 g, KCl 0.1 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 7, 121 °C 灭菌 20 min.

有机营养物培养液蛋白胨 10 g 卵磷脂 3 g pH 7,121 °C 灭菌 20 min.

混合营养物培养液:NaCl 8.0 g, NH₄Cl 0.5 g, KH₂PO₄ 0.5 g, K₂HPO₄ 1.0 g, MgSO₄ 0.5 g, CaCl₂ 0.02 g, KCl 0.1 g,蛋白胨 5.0 g 卵磷脂 1.0 g, pH 7, 121 °C 灭菌 20 min.

1.3 16S rRNA 分子生物学鉴定

菌株用液体基础培养基在 28 °C,培养 48 h 后,用灭菌的 1.5 mL 离心管 8 000 r/min 离心,10 min后收集菌体,采用上海生工生物工程公司生产的细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒提取石油降解菌总 DNA 提取,以此为 DNA 模板,PCR 扩增 16S rRNA,引物为:

P1 (5'-CGGGATCCAGAGTTTGATCCT GGCT-CAGAACGAACGCT-3')

P6 (5'-CGGGATCCTACGGCTACCTTG TTAC-GACTTCACCCC-3')

PCR 反应体系和反应条件(如表 1、表 2 所示)均参照产品 2×Es Taq MasterMix (Dye)提供的体系和条件进行扩增,部分条件稍有改动.

表 1 PCR 反应体系

Table 1 PCR reaction system	
试剂	50 μ L
2 \times Es Taq MasterMix (Dye)	25 μ L
P1	2 μ L
P6	2 μ L
模板 DNA	2 μ L
无菌去离子水	19 μ L

表 2 PCR 反应条件

Table 2 PCR reaction conditions		
步骤	温度/ $^{\circ}$ C	时间
预变性	94	5 min
变性	94	30 s
退火	55	30 s
延伸	72	30 s
终延伸	72	3 min

PCR 扩增产物用质量分数为 1% 的琼脂糖凝胶, 90 V、40 min 水平电泳, 凝胶成像系统 UV 拍照, 检查扩增结果. 扩增产物送至上海生工生物工程公司进行测序, 所获得的序列上传至 GenBank, 获取序列号. 测序结果在韩国 EZtaxon 数据库进行比对, 用软件 MEGA5.2, 构建系统发育树^[7-8].

1.4 石油烃降解酶基因的检测

取活化后菌液各 0.5 mL 分别接种到牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 30 $^{\circ}$ C 160 r/min 培养 24 h, 12000 r/min 10 min 离心浓缩菌体, 根据试剂盒说明书提取基因组 DNA 和质粒 DNA. 以这些 DNA 为模板, 体外扩增石油降解基因 (如表 3 所示), 基因类型主要参考文献^[9-10], 分别为降解基因芳环加氧酶 C230, 芳环羟化酶 QHM, 烷烃羟化酶 alk B, 长链烷烃降解单加氧酶 alm A, 烷烃羟化酶 p450 基因, PCR 反应条件 94 $^{\circ}$ C 3 min; 94 $^{\circ}$ C, 45 s; 55 $^{\circ}$ C, 45 s; 72 $^{\circ}$ C, 90 s; 72 $^{\circ}$ C, 7 min (alm A 退火温度为 50 $^{\circ}$ C).

表 3 石油降解基因引物序列

Table 3 primer sequence of petroleum degrading gene	
石油降解基因	引物序列 5'-3'
C230f	CCGAGA ACTACCCGTTGCT
C230r	ACCACATCGCAGAGTACCTCG
QHMF	CCGAGA ACTACCCGTTGCT
QHMr	ACCACATCTCAGACTACCTCC
alk Bwf	AAAYACNGCNCAYGARCTNGGVCAYAA

续表

石油降解基因	引物序列 5'-3'
alk Bwr	GCRTGRTGRTCHGARTGNCGYTG
alm Af	GGNGGNACNTGGGAYCTNTT
alm Ar	ATRTCNGCYTTNAGNGTCC
P450f	TGTCGGTTGAAATGTTTCATYGCNMT GGAYCC
P450r	TGCAGTTCGGCAAGGCCGTTDCCSR YRCAVCKRTG

1.5 不同初始条件降解试验

为了解筛选得到的降解菌对在不同环境条件下的降解性能. 本文主要就初始 pH、含油率两个因素对石油降解菌降解效果的影响进行了研究. 在 250 mL 锥形瓶中加入无机盐培养液 100 mL, pH 试验中, 初始 pH 值分别为 3~9, 含油率的质量浓度为 0.5 g/U; 含油率试验中, 含油率的质量浓度 (g/L) 为: 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0, pH7.0, 以 160 rpm, 30 $^{\circ}$ C, 在培养 0、5、10、15、20 d 后, 量取 5 mL 测量石油浓度^[11-12].

1.6 生物刺激-生物强化试验

以不同的营养物为底物, 在 250 mL 锥形瓶中加入营养物 100 mL, 加入原油 0.5 g (加入少量石油醚, 避免原油沾在锥形瓶壁上), 使锥形瓶中原油质量浓度为 0.5 g/L. 生物刺激实验为: 原油+有机营养物 (b), 原油+无机营养物 (c), 原油+混合营养物 (d), 原油+无菌水 (自然降解); 生物强化实验为: 在生物强化的各组实验中加入降解菌 T-04, T-04 加入时浓度均高于 1.0×10^6 CfU/mL, 分别加入 5 mL. 其中无菌水实验组为对照组. 以 160 rpm, 30 $^{\circ}$ C pH 7.0 摇瓶培养, 在培养 0、5、10、15、20 d 后, 量取 5 mL 测量石油浓度^[13-15].

1.7 石油降解率的测定

采用 oil-480 型红外测油仪测量石油降解率, 取 5 mL 样品用 15 mL 四氯化碳萃取 3 次, 合并萃取液, 将萃取液经无水硫酸钠吸收水分后, 转移到容量瓶用四氯化碳定容至 50 mL, 测定其浓度^[16-17]. 降解率计算公式:

$$\text{石油降解率} = \left[\frac{\text{空白试验中石油烃质量浓度} - \text{接菌培养液中石油烃质量浓度}}{\text{空白试验中石油烃质量浓度}} \right] \times 100\%$$

2 结果分析

2.1 菌株生理生化反应和 16S rRNA 鉴定

通过对之前从石油污染土壤中筛选获得的高

效石油降解菌 T-04 16S rRNA 鉴定,采用邻接法 (Neighbour-Joining) 构建进化树,通过细菌形态学观察(图 1),菌落形态近似圆形、质地软、白色菌落、革兰氏阳性,菌落大,表面粗糙、扁平、不规则,结合构建的系统发育树(图 2)分析该菌可能为蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)。



图 1 菌株 T-04 的菌落形态特征

Fig.1 The colony morphology characteristics of strain T-04

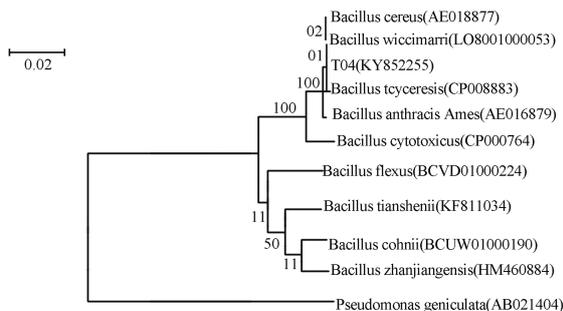
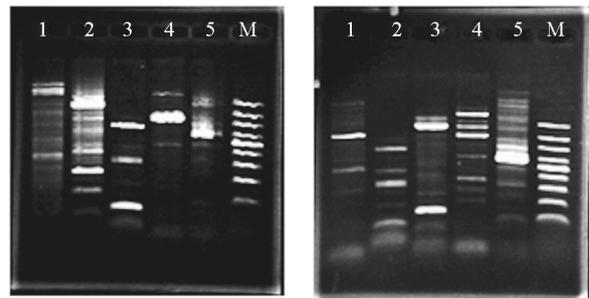


图 2 菌株 T-04 16S rRNA 基因片段序列系统发育分析

Fig.2 Phylogenetic analysis of the strain T-04 based on partial 16S rRNA gene sequence

2.2 降解基因的检测分析

降解菌石油降解关键酶的基因有的存在于基因组 DNA,有的则存在于质粒上.本实验分别对降解菌 T-04 基因组 DNA 和质粒的 5 种主要关键酶基因进行检出.从图 3 中可以看出在降解菌 T-04 基因组 DNA 中成功检测出了 1 600 bp 左右的 C230, 200 bp 和 1 000 bp 的 P450, 100 bp 和 700 bp 的 Alk B 800 bp 的 QHM 600 bp 的 AlmA 在质粒中检出了, 1 000 bp 的 800 bp 和 300 bp 的 P450、1 200bp 的 Alk B 1 600 bp 和 1 200 bp, 1 000 bp 的 QHM 800 bp AlmA.



a-质粒 DNA,b-基因组 DNA,1-5 分别为 C230、P450、Alk B、QHM、AlmA 降解酶基因,M 为 Marker

图 3 降解基因 PCR 结果

Fig.3 The results of degradation gene PCR

2.3 不同条件降解效果分析

通过不同时间的摇瓶发现在第 10 d 时摇瓶中的原油黑色基本消失,说明已被降解,成为絮状,在降解 20 d 后絮状原油消失,完全成为与土壤颜色接近的浑浊液,在锥形瓶瓶底有降解后的沉淀出现如图 4。

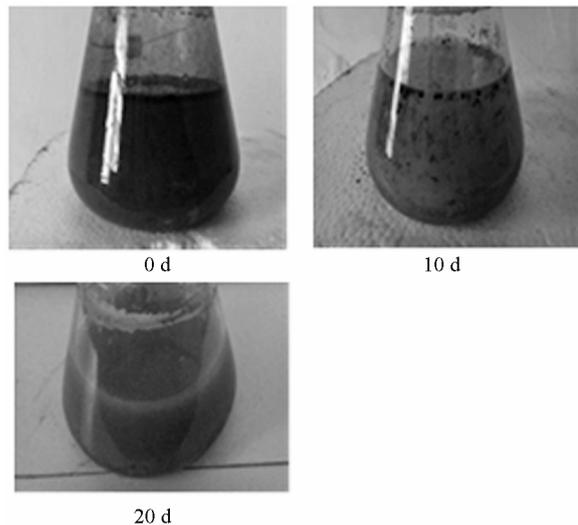


图 4 不同时期降解效果

Fig.4 Degradation effect in different periods

pH 微生物生长代谢有很大影响,是决定微生物降解石油效率的主要因素之一.通过 *t* 检验分析,不同 pH 条件下 $p < 0.05$,说明菌体浓度与降解率之间均有显著性影响,间接反应出 pH 对降解菌的降解率有重要影响.由图 5 可知,该菌株在 pH 为 4~9 的无机盐培养基上都可以生长,酸碱度范围较广,可以很好地适应陕北黄土高原高盐碱的土壤环境.在培养 20 d 后,只有在 pH 为 6 和 7 时降解率超过 60%,其他条件均未超过,pH 为 4

和 9 时降解效果不理想,分别为 26.71% 和 26.01%,说明该菌株在偏酸或者偏碱的环境下生长受到抑制.在 $\text{pH} = 7$ 时,降解效果最好为 78.80%,为该菌株的最佳生长 pH 条件.

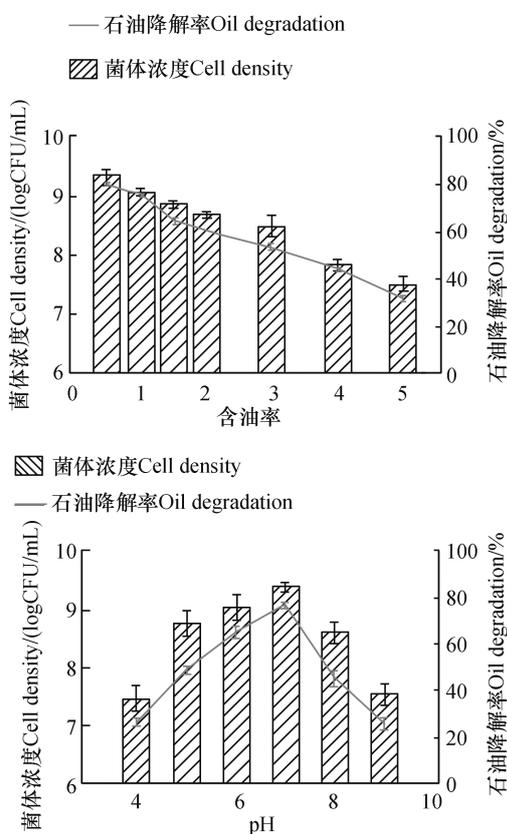


图 5 不同条件降解结果

Fig.5 Degradation results under different conditions

初始含油率是另外一个决定微生物降解石油效率的因素之一.通过 t 检验分析,不同初始含油率条件下, $p < 0.05$,说明不同含油率与降解率之间均有显著性影响,由图可知,在培养 20 d 后,含油率与降解率基本呈线性关系,当初始含油率超过 3.0 g/L 后,降解率低于 60%.当初始含油率达到 5.0% g/L 时,降解率只有 32.53%,当初始含油率为 0.5% g/L 时,石油降解效果最好,降解率为 79.63%.

2.4 生物刺激和生物强化降解效果

原油本身含有可降解石油烃的微生物,通过生物刺激的方式可以激活这部分微生物发挥降解石油的作用.在对照组中,无任何营养物质存在的条件下,石油降解率达到 34.58%,从第五天到第 20 天降解率变化不明显.从图 4 中可以看出,不同的营养刺激方式在不同时间段降解效果不同,可能

是石油中存在的降解菌对营养物质的利用能力不同.在无机营养物的刺激下,第十天,降解率为 42.18%,而在第 20 天降解率为 81.76%,通过多因素方差分析,在第 5 d 时,三组处理与对照组没有显著性差异($p > 0.05$),在第 10 天时,有机物和混合营养物处理组,与对照相比,降解效果已经有显著性差异($p < 0.05$),而无机物处理对照相比仍未显示出显著性差异($p > 0.05$),可能是由石油中的降解菌对有机营养物质会优先利用造成的.在培养 20 d 时,三个处理与对照相比,均有显著性差异($p < 0.05$),说明营养刺激对可以有效促进石油自身蕴藏的降解菌发挥作用.在整个生物刺激实验中,混合营养物与其他两种营养刺激方式相比,没有表现出足够优秀的降解效果($p > 0.05$).

以无菌水和降解菌组合生物强化对组组,在第 5 天时降解率为 30.72% 第 20 天时降解率达到 56.12%,在三个分别以有机营养、无机营养物和混合营养物为营养底物,同时加入降解菌 T-04 的实验组中,在第五天降解效果有较大差异,三个的降解率分别为 27.99%、43.41%、51.27% (如图 6 所示),在第 10 天时与第 5 天相比,三者降解率变化不明显,降解率分别达到了 31.39%、51.57%、53.05%,在第 15 天时,有机营养物组降解效果发生变化最明显,降解率为 72.75%,比其他两个的降解率均高,在第 20 天时,有机营养、无机营养物和混合营养物为营养底物,降解率分别达到了 81.08%、80.57%、90.23%,通过多因素方差分析,每一时期与对照组相比,以有机物营养物加降解菌为处理组的在第 15 天有显著性差异($p < 0.05$),而分别以混合营养物和无机营养物为底物添加降解菌的处理组,在第 5 天就与对照组有显著性差异($p < 0.05$)与对照相比,降解效果已经有显著性差异($p < 0.05$);在培养 20 d 时,三个处理与对照相比,均有显著性差异($p < 0.05$),在生物强化试验中,混合营养物与其他两种营养刺激方式相比,有更好地降解效果($p < 0.05$).

3 结果讨论

通过对石油高效降解菌的菌株形态学观察和 16S rRNA 鉴定,初步确定该菌株为蜡状芽孢杆菌,之前也有人报道过利用蜡状芽孢杆菌处理石油污染,如李淑彬^[18]等人研究显示利用蜡状芽孢杆菌可以对不同的芳香烃类物质都具有一定的降解能力,在 32 h 内能将浓度分别为 15 mmol/L 的

苯酚完全降解.花莉^[19]等研究发现蜡状芽孢杆菌可以代谢产生阴离子糖脂类表面活性剂,在单因素降解试验中,蜡状芽孢杆菌与其他产表面活性剂菌降解菌相比有更好的降解效果.本试验从降解菌 T-04 中检测出不同的降解酶基因,从基因层面进一步验证了蜡状芽孢杆菌对石油的降解能力,试验只是单纯的对基因进行了检测,后续工作需要进一步对相关基因进行鉴定.

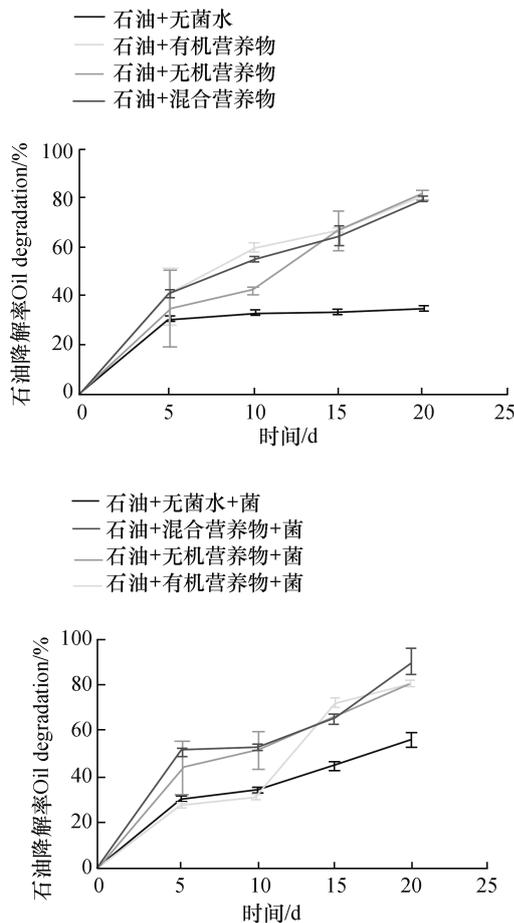


图6 生物刺激和生物强化降解结果

Fig.6 The results of biological stimulation and bioaugmentation degradation

微生物修复作为目前最为有发展前景的生物修复方式,对营养条件的要求十分严格,通过不同策略发挥石油降解菌的作用尤为关键.本实验通过对生物刺激和生物强化方式两种策略的初步评估,获得一些较重要意义的结果,对修复石油污染具有一定的指导意义.今后的工作应当注重不同营养物质在土壤修复过程的作用是否与污水中保持一致,同时也应在营养添加顺序和组合方式上给予一定的注重.

4 结论

本文筛选得到了一株蜡状芽孢杆菌,并对其进行了分子生物学鉴定,由此可初步说明芽孢杆菌具有降解石油的能力.本试验通过生物刺激和生物强化两种方式进行降解实验,发现生物强化比生物刺激的降解效果更好,混合营养物比单一营养物更好.

在生物刺激时,第10天时,各营养物表现出了不同的降解效果,而在第15天到20天的结果中,不同营养物的降解效果又趋于相同,说明不同营养物质被微生物利用的阶段可能不同.

在生物强化处理中,以混合营养物为底物时降解效果更好,降解率达到了90.23%,比不加菌高出10%,但其他营养物在有无降解菌存在时,降解效果区别不大,这可能与不同的菌对不同营养物质利用能力不同有关,同时因为是添加的单一菌,对油污环境适应能力较差.

参考文献:

- [1] BELL T H, YERGEAU E, MAYNARD C, et al. Predictable bacterial composition and hydrocarbon degradation in Arctic soils following diesel and nutrient disturbance [J]. *Isme journal*, 2013, 77(6): 399-407.
- [2] ZHANG Z, HOU Z, YANG C, et al. Degradation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum by a newly isolated *Pseudomonas aeruginosa* DQ8 [J]. *Bioresour technology*, 2011, 102(5): 4111-4116.
- [3] XU J, DENG X, CUI Y, et al. Impact of chemical oxidation on indigenous bacteria and mobilization of nutrients and subsequent bioremediation of crude oil-contaminated soil [J]. *Journal of hazardous materials*, 2016, 20(3): 160-168.
- [4] 黄荣霞, 周际海, 袁颖红, 等. 石油污染土壤修复研究进展 [J]. *南昌工程学院学报*, 2016, 35(3): 48-54.
- [5] KOGBARA R B, AYOTAMUNO J M, WORLU D C, et al. A case study of petroleum degradation in different soil textural classes [J]. *Recent patents on biotechnology*, 2015, 99(2): 108-115.
- [6] MA J, YAN G, MA W, et al. Isolation and characterization of oil-degrading microorganisms for bench-scale evaluations of autochthonous bioaugmentation for soil remediation [J]. *Water, air, and soil pollution*, 2015, 226(8): 1-10.
- [7] 于彩虹, 赵粉红, 吴东奎, 等. 一株假单胞菌 (*Pseudomonas*) SYBS01 降解石油的特性 [J]. *环境工程学报*, 2016, 10(10): 6042-6048.

- [8] 张爱君,郝建安,杨波,等.海洋石油降解菌的筛选、鉴定及降解活性[J].化学工业与工程,2015,32(1):31-36.
- [9] 杨茜,吴蔓莉,曹碧霄,等.石油降解菌的筛选、降解特性及其与基因的相关性研究[J].安全与环境学报,2014,14(1):187-192.
- [10] 杨庆丽,董艳,姬妍茹,等.5株石油降解菌降解相关基因的研究[J].环境科技,2015,28(4):1-4.
- [11] NIKOLOPOULOU M,PASADAKIS N,KALOGERAKIS N. Evaluation of autochthonous bioaugmentation and biostimulation during microcosm-simulated oil spills[J].Marine pollution bulletin,2013,7(2):165-173.
- [12] FAN M Y,XIE R J,QIN G. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by a combined system of biostimulation bioaugmentation with yeast[J].Environmental technology,2014,35(4):391-399.
- [13] VON N F,KUNTZE K,VOGT C, et al. Functional gene markers for fumarate-adding and dearomatizing key enzymes in anaerobic aromatic hydrocarbon degradation in terrestrial environments[J].Journal of molecular microbiology and biotechnology,2016,26(1/2/3):180-194.
- [14] SUNITA J.VARJANI,VIVEK N.Upasani A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum-hydrocarbon pollutants[J].International biodeterioration & biodegradation,2017,20(1):71-83.
- [15] 李丹丹,徐兴健,翟真浩,等.一株筛选自莫莫格湿地石油污染土壤中的十六烷烃降解细菌的分离鉴定及降解特性研究[J].湿地科学,2017,15(1):85-91.
- [16] 李云锋.石油污染水体的治理方法[J].环境与发展,2014,26(4):91-94.
- [17] BO T,ZHEN Q,JING M, et al. Attomolar Zika virus oligonucleotide detection based on loop-mediated isothermal amplification and AC susceptometry[J].Biosensors and bioelectronics,2016,86(86):420-425.
- [18] 李淑彬,陈振军,丘李莉,等.蜡状芽孢杆菌菌株 Jp-A 的分离鉴定及其降解苯酚特性[J].应用生态学报,2006,17(5):920-924.
- [19] 花莉,彭香玉,范洋,等.石油降解单菌株及混合菌降解产物分析[J].陕西科技大学学报,2014,32(5):27-31.

(责任编辑:龙威)

敬告读者

《南华大学学报·自然科学版》自2018年起变更为双月刊,刊登核科学与工程、矿业工程、机械、电气、土木、数理、计算机科学、化学化工、生物、药学、环境与安全、艺术设计等方面的稿件,欢迎广大作者踊跃投稿!

作者投稿时,请务必登陆我刊物唯一的网址(<http://nhqks.cnjournals.com/zr/ch/index.aspx>)投稿,我刊不收审稿费、版面费等任何费用,且优稿优酬。我刊也没有委托社会上任何组稿机构进行代理,不存在收费行为,遇到任何交费通知请不要相信,并请直接与我刊编辑部0734-8160520取得联系。

所投论文中作者信息必须齐全(包括出生年月、技术职称、学历、通讯方式、邮寄地址),论文格式规范(包括摘要、关键词、参考文献、注释、准确的英文翻译)。

本刊不接受一稿多投,因作者一稿多投引起的纠纷,由作者本人承担,本刊概不负责。

《南华大学学报·自然科学版》编辑部