

微生物修复及油污土壤改良研究

王曙光, 穆驰*, 林兆丰 (陕西省土地工程建设集团, 陕西西安 710075)

摘要 微生物的种类和菌群对土壤中石油降解具有重要影响, 与传统修复方法相比, 微生物具有成本低、繁殖快、污染物完全氧化等特点, 通过改变微生物在油污土壤的表面活化剂和外界条件, 同时接种高效的降解菌株, 以此来提高菌种在土壤中石油的降解速率。通过设定每组混合菌剂不同的初始条件, 研究不同条件对混合菌剂降解率的影响, 结果表明, 当微生物培养的最适宜温度 35 ℃、pH 8.0、培养时间 7 d 时, 混合菌剂对油污土壤的降解率最高达 88.63%, 混合培养菌的石油降解效果明显优于单株培养菌, 有效改善了土壤中石油降解效果, 较大提高了菌种在土壤中石油的降解速率, 为油污土壤修复改良提供科学依据。

关键词 油污土壤; 混合菌剂; 修复改良; 降解速率

中图分类号 X53 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)30-0145-04

Microbial Remediation and Improvement of Oily Soil

WANG Shu-guang, MU Chi, LIN Zhao-feng (Shaanxi Provincial Land Engineering Construction Group, Xi'an, Shaanxi 710075)

Abstract Microbial species and flora have important effects on the degradation of petroleum in soil. Compared with traditional physical and chemical repair methods, microorganisms have the characteristics of low cost, rapid reproduction, and complete oxidation of pollutants. Therefore, microorganisms are used to improve contaminated petroleum soil by changing the external temperature, humidity, salinity, oxygen content of microorganisms in oily soils. The surfactant is inoculated with high-efficiency degrading strains and strengthens the microbial remediation ability to increase the degradation rate of the oil in the soil. The mechanism of microbial remediation of oil contaminated soil is introduced and the influencing factors are analyzed. By setting different initial conditions of each group of mixed bacteria, the degradation rate of microorganisms on oily soil was recorded. The results showed that when the optimum temperature for microbial culture was 35 ℃, pH was 8.0, and culture time was 7 days, the degradation rate of mixed bacteria to the oily soil reached 88.63%. The oil degradation effect of the mixed culture bacteria was significantly higher than that of the single culture, which significantly improves the oil degradation effect in the soil, which greatly improved the degradation rate of the oil in the soil, and provided a scientific basis for the improvement of oily soil.

Key words Oily soil; Mixed bacteria; Repair and improvement; Degradation rate

石油被称为工业的血脉, 是我国现代化进程的重要能源之一^[1]。然而, 随着石油使用量的增加, 各种泄露事故造成的环境污染在石油的勘探、开采、运输过程中越来越严重^[2]。研究表明, 全球每年约有 500 万 t 的石油污染物进入环境, 每年约有 60 万 t 石油污染衍生物进入环境^[3]。这些石油污染物以不同的渠道进入土壤, 降低土壤透气性, 改变土壤结构, 影响微生物种群, 减少农作物产量^[4-7]。污染土壤中石油主要成分为 C₁₅~C₃₆ 的烷烃及苯系物酚类等, 其中 30 多种污染物受环境优先控制^[8]。

微生物修复技术是在人工增强条件下, 使用天然微生物或者人造微生物起主导作用的一种方法。通过人为因素, 将外来微生物添加到油污土壤, 降解并去除土壤中烃类化合物^[9-10]。相比传统方法, 微生物修复技术具有成本低、种类多、易变异等特点, 同时, 使用微生物修复技术不会破坏土壤环境, 保障生态环境的完整性。

通过改变外部环境的温度、湿度、通气量、营养物质及微生物表面活化性, 可以实现油污土壤受损修复^[11-13]。借助微生物修复技术, 接种高效降解菌株或者微生物群体, 可以提高土壤中石油的降解率, 但微生物修复技术对于难降解的复杂化合物(沥青、石蜡等)和油污土壤难以适用, 该方面技术还需深入研究^[14-15]。

1 油污土壤微生物修复机理

石油烃是高分子的复杂混合物, 由链烷烃、芳香烃、环烷

烃组成。链烷烃的代谢机制是氧化作用和脱氢作用, 通过酶的氧化作用将链烷烃进行降解, 链烷烃经过酶化作用转换成伯醇, 经由丙醛转化成相应的脂肪酸, 转化产物进入三羧酸循环并分解成 CO₂ 和 H₂O, 或进入其他转换过程^[16-17]。环烷烃通过还原反应可形成烯烃, 烯烃通过进一步脱氢作用形成伯醇和丙醛, 两者相互作用形成脂肪酸; 或者由过氧化作用直接转化成脂肪酸。一些微生物还可以通过氧化作用形成伯醇, 并进一步氧化分解。同时, 部分微生物通过脱氢作用成为不饱和脂肪酸, 并形成某些脂肪酸带有末端氢键, 该类烃化脂肪酸降解能力强。土壤退化中后期细菌的生长情况见图 1、2。



图 1 土壤退化中期细菌生长情况

Fig.1 Bacteria growth in the mid-degradation of soil

环烷烃属于难降解烃类。环烷烃的端部没有氢键, 其生理原理与烷烃端部氢化原理相似, 并通过氧化酶氧化功能生成醇, 然后脱氢为酮并进一步氧化成内酯或者直接转化为

基金项目 陕西省土地工程建设集团内部科研项目(DJNY2018-6)。
作者简介 王曙光(1967—), 男, 陕西蓝田人, 高级经济师, 从事矿产经济研究。* 通讯作者, 在读博士, 从事矿产开发与矿区土壤修复研究。
收稿日期 2018-08-26



图2 土壤退化后期细菌生长情况

Fig.2 Bacteria growth in the late stage of soil degradation

脂肪酸^[18-20]。苯和短链烷基被脱氢酶和氧化还原酶代谢成为邻苯二酚和甲基二酚,后者可以在邻位或者间位断裂形成羧酸。

多环芳烃(PAHs)的降解首先由微生物产生的氧化酶进行,产物相互作用进行定位氧化。环氧化物由真菌被单加酶氧化所形成,再加入 H_2O 产生醇和醛,将氧原子加到2个末端的苯环上,生化为过氧化物。通过物质之间相互反应形成的代谢产物,一方面可被生物合成用于微生物成分,另一方面可氧化成碳水化合物^[21-22]。

2 油污土壤微生物修复影响因素分析

2.1 微生物种类和菌群特性 微生物不仅是石油降解的执行者,而且是微生物修复的核心力量,研究表明,混合菌株降解石油的效果明显高于单独菌株。Hamme等^[23]通过混合菌株培养试验,结果表明,混合培养菌株可明显提高油脂的降解率;魏伟^[24]通过设置不同复合盐浓度筛选微生物混合菌株,结果表明,混合培养的菌株可明显增加石油降解效果;于齐等^[25]采集陕北典型石油污染土壤,施入19种常见城市绿化树木枯落叶粉碎样,进行混合分解培养试验,并以主要成分层次分析法进行综合评价。

2.2 表面活性剂 在石油烃的生物降解期间,烃的溶解度直接影响微生物降解速率。当浓度极低时,碳氢化合物是可溶的,但大部分溢出来的油脂远大于其溶解限度,通过在微生物表面加入化学合成的表面活化剂可解决上述问题。微生物表面活化剂具有易降解、毒害低、对周围环境超强适应性等特点成为材料化学和分子物理研究的热点。微生物表面结构特性不同会产生不同结构的表面活化剂,主要是磷脂、脂质、脂肪酸和中性脂肪酸等。研究表明,微生物表面活化剂对石油烃类有明显降解作用。

2.3 系统环境 由于石油构造成分复杂,因此微生物对油脂降解能力不尽相同,环境因素对石油烃类降解具有影响,这种影响通常对石油降解起关键作用。石油碳氢化合物可以在环境中长时间存在,而在另一个环境中,相同的碳氢化合物可以在数天或者数小时内完全降解。①土壤pH。像大多数微生物一样,能够降解石油物质的土壤微生物pH为6.0~8.0,优选7.0~7.5。在微生物降解过程中,由于长期影响产生的酸性物质在土壤中积累,导致土壤pH逐渐下降,引起土壤

酸化,在被污染的酸性土壤中,为了增强微生物活化性能和提高石油烃类降解速率,一些农业酸碱缓冲剂可添加到土壤中,调节土壤的酸碱性。因此,土壤最适pH与降解菌种和降解环境有关。②土壤温度。土壤温度通过影响石油的物理性质和化学组成影响微生物的碳氢化合物代谢率。在温度较低的环境下,随着油黏度增加,烷烃末端有毒的短链作用挥发减弱,且烷烃水溶性加大,对微生物的毒性也增加,这将间接影响碳氢化合物的生物降解率,当温度降低时,酶活性降低,导致降解速率降低。较高的温度可以使碳氢化合物的代谢率最大化,通常为30~40℃。③供氧状况。环境中的氧气是微生物极其重要的限制因素,石油的微生物降解过程因碳氢化合物而异,但好氧微生物降解的初始反应类似,在微生物降解过程中,需要寻找大量的带电粒子,主要溶解土壤的含氧量和负离子,由于油脂会在表面形成一层油膜,降低氧气在土壤中的传递速率,在石油污染区,供氧不足已成为制约土壤中石油降解的主要因素。④土壤中营养成分。微生物的生长环境离不开必要的无机因素,但土壤环境提供的营养成分是有限的,石油中的烃类可以提供土壤必要的有机物,但不能提供氮、磷、硫、镁等无机元素,因此该类无机养料是限制微生物活性的重要因素。为了降低土壤中的石油含量,提高土壤油脂降解率,需要在土壤中适当添加营养成分,促进石油烃类生物降解。⑤盐浓度。低浓度的盐类(NaCl、KCl、 $MgSO_4$ 等)对土壤中微生物生长具有促进作用,但浓度过高时,会抑制微生物生长,同时溶液中NaCl浓度对细胞膜上的 Na^+ 、 K^+ 泵有很大影响,而 Na^+ 、 K^+ 泵维持的细胞内外离子梯度具有重要的生理学意义,它不仅维持细胞的膜电位,也调节细胞的体积和驱动某些细胞中糖与氨基酸的运输,从而影响细胞的生长。

3 不同条件对混合菌剂降解率的影响

3.1 培养时间 根据1:1混合培养的2种菌剂,每100mL筛选培养基0.5mL,在30℃、110r/min下振荡培养,分别在培养后第2、3、4、5、6和7天测定,计算每种混合菌剂的油污降解率。从图3可以看出,混合菌剂1[#]在培养初期的降解率非常低,第2天降解率为28.10%,混合菌剂2[#]为32.89%;降解率从第3天开始明显增加,第5天混合菌剂1[#]的降解率为59.73%,混合菌剂2[#]为73.31%。随着培养时间的延长,2种混合微生物菌剂对石油的降解速率逐渐变慢。第7天,混合菌剂1[#]对油污的降解率为70.10%,混合菌剂2[#]的降解率为81.23%。这说明随着培养时间的延长,油脂去除率越高,去除效果越好,在设定的培养条件下,混合菌剂2[#]石油降解率显著高于混合菌剂1[#]。因此,采用7d为适宜的培养时间。

3.2 培养温度 根据1:1混合培养的2种菌剂,每100mL筛选培养基0.5mL,分别置于温度15、20、25、30、35、40、45℃条件下100r/min密闭培养,经过7d振荡培养后,测量培养基中油脂含量,并计算每种温度培养下石油的降解率。从图4可以看出,培养温度对混合菌剂2[#]的影响远大于混合菌剂1[#]。在温度15℃培养7d后,混合菌剂1[#]石油降解率为32.59%,混合菌剂

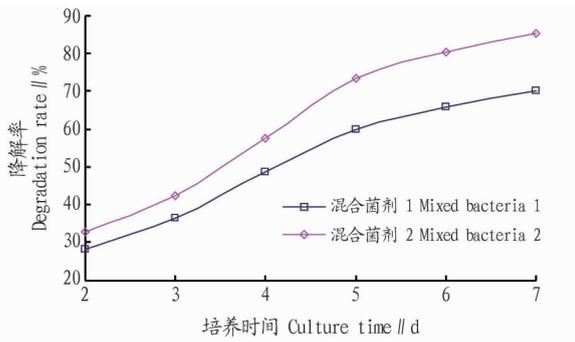


图3 培养时间对不同混合菌剂降解率的影响

Fig.3 Effect of culture time on degradation rate of different mixed bacteria

2[#]石油降解率为 24.19%,在该温度条件下,混合菌剂 1[#]石油降解率显著高于混合菌剂 2[#]。当培养温度继续升高时,混合菌剂 2[#]的降解速率呈线性增加,而混合菌剂 1[#]的降解速率增加缓慢。当培养温度设定为 35 ℃时,混合菌剂 1[#]对石油的降解率最大,随着温度继续升高,降解率逐渐下降;当培养温度设定为 33 ℃时,混合菌剂 2[#]对石油的降解率达到最大,降解率为 78.69%,当温度继续升高,其降解率也随之下降。这说明培养温度对 2 组混合菌剂石油降解率均有影响,当培养时间 7 d、菌剂接种量 0.5 mL 时,混合菌剂 1[#]的最适培养温度为 35 ℃,混合培养菌剂 2[#]最适培养温度为 33 ℃。

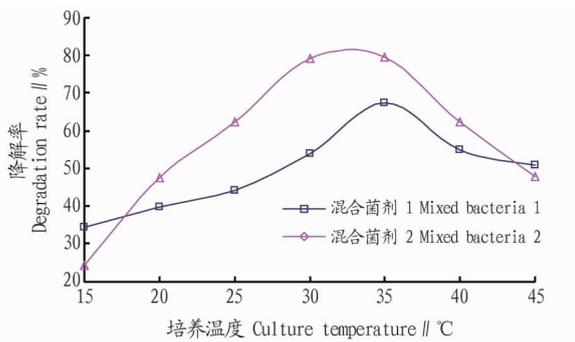


图4 培养温度对不同混合菌剂降解率的影响

Fig.4 Effect of culture temperature on degradation rate of different mixed bacteria

3.3 培养基 pH 设定混合菌剂培养基的 pH 分别为 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0 共 9 个水平。根据 1:1 混合培养的 2 种菌剂,每 100 mL 筛选培养基 0.5 mL,分别放置于温度 35 ℃条件下振荡培养,将培养基放置 7 d,并测定培养基中石油含量和混合菌剂对石油的降解率。从图 5 可以看出,当初始 pH 为 5.0~7.0 时,混合菌剂 1[#]石油降解率显著高于混合菌剂 2[#],当初始 pH 为 7.0~9.0 时,混合菌剂 2[#]石油降解率显著高于混合菌剂 1[#],对于混合菌剂 1[#],在初始 pH 为 5.0~7.5 时,其降解率随着初始 pH 的升高而升高,在初始 pH 为 7.5 时降解率达到最大值 70.24%,之后随着初始 pH 的升高,降解率呈直线下降趋势;对于混合菌剂 2[#],在初始 pH 为 5.0~8.0 时,其降解率随着初始 pH 的升高而升高,在初始 pH 为 8.0 时降解率达到最大值 80.10%,之后随着初始 pH 的升高,降解率呈明显下降趋势。这说明培养基 pH 不同对 2 组

混合菌剂石油降解率有较大影响,当培养时间为 7 d,菌剂接种量为 0.5 mL,混合培养菌剂的最适培养温度为 35 ℃时,混合菌剂 1[#]的最适初始 pH 为 7.5,而混合菌剂 2[#]的最适初始 pH 为 8.0。

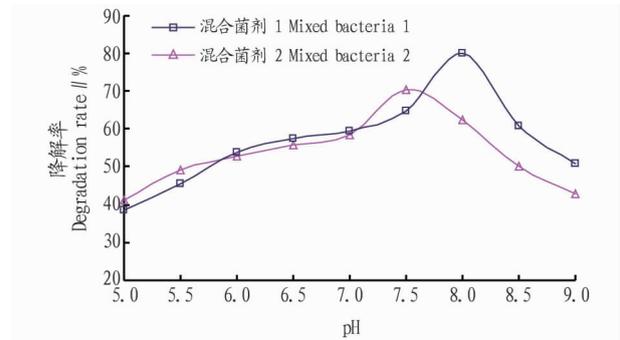


图5 pH 对不同混合菌剂降解率的影响

Fig.5 Effect of pH on degradation rate of mixed bacteria

4 结论

(1) 相比传统物理、化学修复方法,微生物具有成本低、繁殖快、污染物完全氧化等特点,因此使用微生物改良污染的石油土壤,通过改变微生物在油污土壤的外界温度、湿度、盐分、氧气含量和表面活性剂,同时接种高效的降解菌株,强化微生物修复能力,以此提高菌种在土壤中石油的降解速率。

(2) 微生物的种类和菌群对土壤中石油降解具有重要影响,研究表明,混合培养菌的石油降解效果明显高于单株培养菌,为混合培养菌添加表面活性剂,可提高石油降解效率,显著改善土壤中石油降解效果。微生物表面活性剂在石油降解过程中具有积极促进作用,通过对污染土壤进行处理,修复后土壤中石油污染物的降解率达 88.63%。

(3) 每组混合菌种设置不同的培养时间、培养温度和 pH,不同试验条件对混合菌种的降解率均有影响。随着培养时间的延长,对石油的去除率越高,且去除效果越好,采用 7 d 为适宜的培养时间,最适宜培养温度为 35 ℃,当总接种量为 0.5 mL 时,混合菌剂最适 pH 为 8.0。试验结果显示,微生物培养环境达到以上最适条件,混合菌剂对油污土壤的降解率最大。

参考文献

- [1] 卢升高.环境生态学[M].杭州:浙江大学出版社,2010:223-224.
- [2] 詹研.中国土壤石油污染的危害及治理对策[J].环境污染与防治,2008,30(3):91-93,96.
- [3] 程国玲,李培军.石油污染土壤的植物与微生物修复技术[J].环境工程学报,2007,1(6):91-96.
- [4] KAAMEHCHIYAN M, CHARKHABI A H, TAJIK M. Effects of crude oil contamination geotechnical properties of clayey and sandy soils[J]. Engineering geology, 2007, 89(3/4): 220-229.
- [5] 吴伟林, 张秀霞, 赵朝成, 等. 生物强化处理石油污染土壤理化性质和微生物学特性的纵向分布特征[J]. 环境工程学报, 2010, 4(10): 2321-2326.
- [6] 李洪梅, 邵玉环, 江丽华, 等. 不同浓度石油烃对油菜产量、土壤中石油烃残留量及土壤微生物的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(17): 382-385.
- [7] 王小雨, 冯江, 王静. 莫莫格湿地油田开采区土壤石油烃污染及对土壤性质的影响[J]. 环境科学, 2009, 30(8): 2394-2401.
- [8] ZAPPI M E, ROGERS B A, TEETER C L, et al. Bioslurry treatment of a soil contaminated with low concentrations of total petroleum hydrocarbons

- [J].Journal of hazardous materials,1996,46(1):1-12.
- [9] SINGH C,LIN J.Isolation and characterization of diesel oil degrading indigenous microorganisms in Kwazulu-Natal, South Africa[J]. African journal of biotechnology,2008,7(12):1927-1932.
- [10] MURYGINA V, ARINBASAROV M,KALYUZHNYI S.Bioremediation of oil polluted aquatic systems and soil with novel preparation 'Rhoder' [J].Biodegradation,2000,11(6):385-389.
- [11] PERELO L W.Review:In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments[J].Journal of hazardous materials,2010,177(1/2/3):81-89.
- [12] OTOKUNEFOR T V,OBIUKWU C.Impact of refinery effluent on the physicochemical properties of a water body in the Niger Delta[J].Applied ecology and environmental research,2005,3(1):61-72.
- [13] 张子间,刘勇弟,孟庆梅,等.微生物降解石油烃污染物的研究进展[J].化工环保,2009,29(3):193-198.
- [14] TAO Y,BENTLEY W E,WOOD T K.Regiospecific oxidation of naphthalene and fluorene by toluene monooxygenases and engineered toluene 4-monoxygenases of *Pseudomonas mendocina* KR1[J]. Biotechnol Bioeng,2005,90(1):85-94.
- [15] 吴凡,刘训理.石油污染土壤的生物修复研究进展[J].土壤,2007,39(5):701-707.
- [16] 吴作军,卢滇楠,张敏莲,等.微生物分子生态学技术及其在石油污染土壤修复中的应用现状与展望[J].化工进展,2010,29(5):789-795.
- [17] KIM S J,CHOI D H,SIM D S,et al.Evaluation of bioremediation effectiveness on crude oil-contaminated sand[J].Chemosphere,2005,59(6):845-852.
- [18] CAPELLI S M,BUSALMEN J P,DE SÁNCHEZ S R.Hydrocarbon bioremediation of a mineral-base contaminated waste from crude oil extraction by indigenous bacteria[J].International biodeterioration and biodegradation,2001,47(4):233-238.
- [19] 甄丽莎.石油污染土壤的微生物修复[J].江苏农业科学,2012,40(8):321-324.
- [20] SOOD N,LAL B.Isolation of a novel yeast strain *Candida digboiensis* TERI ASN6 capable of degrading petroleum hydrocarbons in acidic conditions[J].Journal of environmental management,2009,90(5):1728-1736.
- [21] 司美茹,江翠翠,李桂芝,等.石油污染土壤生物修复菌 Z1a-B 的分离鉴定与调控效应研究[J].环境污染与防治,2010,32(4):28-33,39.
- [22] RICHARD J Y,VOGEL T M.Characterization of a soil bacterial consortium capable of degrading diesel fuel[J]. International biodeterioration and biodegradation,1999,44(2/3):93-100.
- [23] HAMME,DEBBY IANSON,CHRISTOPHER J. Lowe. Risks of hypoxia and acidification in the high energy coastal environment near Victoria, Canada's untreated municipal sewage outfalls[J].Marine Pollution Bulletin,2018,133.
- [24] 魏伟.山东省聊城市莘县油田区浅层地下水防污性能评价[J].环境与发展,2018,30(07):77-78.
- [25] 于齐,张晓曦,刘增文,等.陕北石油区城市绿化树木枯落叶对油污土壤的修复效应[J].农业环境科学学报,2015,34(1):50-57.

(上接第130页)

3.4 完善科技支撑体系 建立珍稀树种研究平台,对发展珍稀树种过程中所遇到的问题开展深入研究,包括珍稀树种资源调查与评价、生态学和群落学调查、珍稀树种的引种驯化以及开发利用等。在此基础上,针对具体树种或类别形成完整的技术标准,用于规范珍稀树种采种、育苗、造林、抚育以及开发利用的各个环节,同时,要加强与科研院所的合作,对珍稀树种研究成果进行推广利用和示范,开展技术培训,完善珍稀树种培育专家咨询和技术支撑系统,使科技成果最大化地服务于生产,推动产业的发展^[22-24]。

3.5 加大宣传教育和保护力度 珍稀树种和其他资源一样,作为生态系统的组成部分,深受人类活动的影响,采伐过度、生境破坏等都会严重危及珍稀树种资源。珍稀树种的保护工作需要全社会共同努力,积极倡导,通过普及《野生植物保护条例》《森林法》等法律法规常识,增强民众的法制观念,明确野生植物保护的底线。同时,组织市民参加林业科普活动,了解一些常见珍稀树种的基本知识,培养人们对大自然的热爱。加强自然保护区的建设和管理,将一些濒危树种划入自然保护范围是最有力、最有效的保护措施^[22-24]。

参考文献

- [1] 韩素芸,田大伦,闫文德,等.湖南省主要森林类型生态服务功能价值评价[J].中南林业科技大学学报,2009,29(6):6-13.
- [2] 隆振雄.湖南省珍稀植物观赏价值及应用前景探讨[J].植物科学学报,1996,14(4):341-348.
- [3] 颜玉娟,罗明春,袁红辉.湖南省珍稀濒危植物在园林中应用的可行性探讨[J].中南林业学院学报,1999,19(4):61-66.
- [4] 四川省绿化委员会,四川省林业厅.四川省珍惜树木发展规划(2011-2020)[R].2011.
- [5] 浙江省林业厅.浙江省珍贵树种资源发展纲要(2008-2020)[R].2008.
- [6] 邓三龙.明确工作思路 转变发展方式 全面开创现代林业科学发展新局面[J].林业与生态,2011(2):6-7.
- [7] 吴凌辉,郑延敏,唐国滔.基于信息熵的土地利用结构演化研究[J].北京农业,2008(30):52-53.
- [8] 唐忠元.永州地区的气候类型名称匡正[J].湖南科技学院学报,2003,24(5):76-78.
- [9] 王宏.永州市能源林碳汇计量研究[D].长沙:中南林业科技大学,2011.
- [10] 零陵地区林业局.零陵地区林业区划报告集[R].1985.
- [11] 国家重点保护野生植物名录(第一批):国家林业局农业部令第4号[R].1999.
- [12] 龚峰.都庞岭自然保护区植物物种的多样性及其保护[J].湖南林业科技,2004,31(4):51-53.
- [13] 欧阳叙回,刘玉茂.绿色宝库——都庞岭国家级自然保护区[J].林业与生态,2000(9):25.
- [14] 蒋建军,胡楠.阳朔山自然保护区野生动植物资源现状及保护对策初探[J].今日科苑,2010(20):85.
- [15] 吴卫明.舜皇山国家森林公园生物多样性及其保护研究[D].长沙:湖南农业大学,2009.
- [16] 徐飞雄,刘韵琴.湘南九嶷山旅游资源特质及深度开发发议[J].热带地理,2007,27(6):564-568.
- [17] 吴卫明,葛大兵.舜皇山国家森林公园生物多样性面临的威胁及保护[J].湖南师范大学自然科学学报,2008,31(3):93-97.
- [18] 祁承经,林亲众.湖南树木志[M].长沙:湖南科学技术出版社,2000.
- [19] 姜芸,吴际友,姚贤清,等.湖南省珍贵乡土用材树种研究现状与发展对策[J].湖南林业科技,2013,40(3):1-4.
- [20] 柏方敏.湖南省林地保护利用现状及对策[J].湖南林业科技,2013,40(2):1-5.
- [21] 邓东发,袁亚光.永州市林地保护利用现状及建议[J].湖南林业科技,2008,35(4):90-92.
- [22] 孟庆法,高红莉,王洪友,等.河南省珍稀树种资源保护及开发利用对策[J].地域研究与开发,2009,28(4):134-138.
- [23] 周修权,何才生,陈旺群,等.郴州市珍稀树种资源现状与展望[J].湖南林业科技,2014,41(3):89-92.
- [24] 全奇峰,和晓,彭险峰,等.湘西州珍稀树种资源现状与发展对策[J].河南林业科技,2013,33(4):44-46.

本刊提示 参考文献只列主要的、公开发表的文献,序号按文中出现先后编排。著录格式(含标点)如下:(1)期刊——作者(不超过3人者全部写出,超过者只写前3位,后加“等”)。文章题名[J]。期刊名,年份,卷(期):起止页码。(2)图书——编者。书名[M]。版次(第一版不写)。出版地:出版者,出版年:起止页码。(3)论文集——析出文献作者.题名[C]//.主编.论文集名.出版地:出版者,出版年:起止页码。