

# 采气污水中硫酸盐还原菌选育方法 及其生长特性研究\*

韩 静 马 云 屈 撑 圉 秦 芳 玲

(西安石油大学化学化工学院)

**摘 要** 从陕北某含菌采气污水中分离一株硫酸盐还原菌的过程中,对三种培养基进行了筛选,对分离出的菌株进行鉴定、数量检测,同时分别用光学显微镜和扫描电镜进行了形态观察。结果表明:该菌株革兰氏染色阴性,芽孢染色阴性,表面不光滑,有鞭毛,作摇摆式运动;菌体呈杆状或弧状,在 SRB 测试瓶中呈阳性反应,确定该菌株属于脱硫弧菌属(Desulfovibrio)。在适宜条件下,分离得到的 SRB 在筛选出的培养基中 6 h 后进入对数生长期,48 h 达到生长最高峰,含菌量为  $9.5 \times 10^8$  个/mL。

**关键词** 硫酸盐还原菌;分离;纯化;筛选;检测

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 1005-3158(2013)01-0026-04

## 0 引 言

硫酸盐还原菌(Sulphate reducing bacteria, SRB)是生态系统中土著微生物类群,是一类形态各异、营养类型多样、能利用硫酸盐或其它氧化态硫化物作为电子受体来异化有机物质的微生物,可以是革兰氏阳性或阴性<sup>[1]</sup>。常见的细菌有 Desulfobacter Postgatei、Desulfotomaculum Acetoxidans、Desulfovibrio Thermoophilus 等<sup>[2-4]</sup>,分布于脱硫弧菌属(Desulfovibrio)、脱硫肠状菌属(Desulfotomaculum)等。其代谢产物除 CO<sub>2</sub> 和水外,还产生一定浓度的 H<sub>2</sub>S<sup>[5-8]</sup>。SRB 引发的油田生产系统腐蚀和水质污染长期困扰着国内各油田。在油气田生产系统中由于 SRB 的活动而产生的 H<sub>2</sub>S 会加剧金属材料如油水井套管、各类管道(原油集输管道、注水管道和污水净化管道等)、金属储罐和原油处理设备装置等的腐蚀;其腐蚀产物、菌体及其代谢产物还会堵塞储层孔隙而降低储层渗透率,增加注水压力、降低油气井产量<sup>[9-13]</sup>。每年由于 SRB 所造成油田生产系统的停产整修和设备更换的经济损失达数亿元。SRB 虽然有以上很多危害,给人类的生产生活带来了巨大的经济损失,但人们也渐渐注意到了它所具有的经济价值,开发其在水处理中的作用。SRB 代谢过程中,利用 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 作为最终电子受体,将有机物作为细胞合成的碳源和电子供体,降解污染物主要通过以下方

式:①SRB 产生的 H<sub>2</sub>S 与溶解的金属离子反应,生成不可溶的金属硫化物;②硫酸盐还原消耗水合氢离子,使溶液的 pH 值升高,金属离子以氢氧化物形式沉淀;③SRB 的胞外聚合物吸附重金属离子;④SRB 代谢过程中分解有机物生成 CO<sub>2</sub>,部分重金属转化成不溶性的碳酸盐;⑤通过 SRB 细胞的新陈代谢,主动吸收、转化并最终积存在其细胞原生质内,降低和清除重金属的毒害。目前 SRB 法主要应用在处理含重金属离子工业废水、酸性矿山废水<sup>[14-17]</sup> 和有机废水领域。国内外研究表明:硫酸盐还原菌具有生存能力强,代谢谱较宽等许多特点,利用 SRB 的处理废水工艺也具有投资小、运行费用低、处理效果好、工艺稳定、适用性强、管理方便、无二次污染、可回收单质硫等优点,具有广阔的应用前景。从长远看,要最大限度发挥硫酸盐还原菌在废水处理中的作用,还必须进一步深入研究硫酸盐还原菌的作用机理<sup>[18-21]</sup>。

文章从陕北某含菌采气污水中分离出一株硫酸盐还原菌,对三种培养基进行了筛选,并对 SRB 生长特性进行研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要仪器及试剂

◆ 主要仪器 GLC-3 型超净工作台;SPX-150B 型生化培养箱;ZDX-35B 型自控电热压力蒸汽灭菌锅;

\* 基金项目:陕西省社会发展攻关计划(编号:2011K17-03-11);榆林市科技计划项目(编号:Z11121)。

韩静,西安石油大学化学化工学院应用化学专业在读研究生,研究方向:油气田环境保护污染与控制工程。通信地址:陕西省西安市电子二路东段 18 号西安石油大学,710065

SHB-III(A)型循环水多用真空泵;SHZ-82型气浴恒温振荡器;TU-1901双光束紫外可见分光光度计;真空干燥器;Olympus BH-2型光学显微镜;TM-1000型台式扫描电子显微镜。

◆ 主要试剂 氯化钙;酵母汁;柠檬酸钠;硫酸镁;磷酸二氢钾;氯化铵;磷酸氢二钾;硫酸钠;乳酸钠(液体);硫酸钙;硫酸亚铁铵;亚硫酸钠;维生素C;琼脂粉;焦性没食子酸。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 培养基的配方

富集和分离SRB的培养基配方有很多<sup>[22]</sup>,但多数液体培养基中都以硫酸亚铁铵(或刃天青)作为指示剂,SRB的代谢产物硫化氢可以和亚铁离子形成墨汁色,作为富集得到SRB群的标志。

SRB富集培养基<sup>[23]</sup>:氯化钙0.08 g,酵母汁1.0 g,柠檬酸钠5.76 g,硫酸镁2.0 g,磷酸二氢钾0.5 g,氯化铵1.0 g;蒸馏水1 000 mL,调pH至7.4~7.6。在0.1 MPa,121℃下灭菌20 min。培养前加入紫外灭菌的硫酸亚铁铵1.7 g。

实验中对三种液体培养基进行筛选,成分如下。

1<sup>#</sup>液体培养基:氯化钙0.08 g,酵母汁1.0 g,柠檬酸钠5.76 g,硫酸镁2.0 g,磷酸二氢钾0.5 g,氯化铵1.0 g;蒸馏水1 000 mL,调pH至7.4~7.6。0.1 MPa,121℃灭菌20 min。培养前在培养基中加入在紫外灯下照射20 min的亚硫酸钠1.0 g和硫酸亚铁铵1.7 g。

2<sup>#</sup>液体培养基<sup>[24]</sup>:磷酸氢二钾0.5 g,氯化铵1.0 g,硫酸钠0.5 g,氯化钙0.1 g,硫酸镁2.0 g,乳酸钠(液体)3.5 g,酵母汁1.0 g;蒸馏水1 000 mL,调pH至7.0~7.4。0.1 MPa,121℃灭菌20 min。培养前在培养基中加入用滤膜过滤除菌的3%的硫酸亚铁铵溶液10 mL和1%的维生素C溶液10 mL。

3<sup>#</sup>液体培养基<sup>[25]</sup>:组分I:硫酸镁2.0 g,柠檬酸钠5.0 g,硫酸钙1.0 g,氯化铵1.0 g,蒸馏水400 mL;组分II:磷酸氢二钾0.5 g,蒸馏水200 mL;组分III:乳酸钠3.5 g,酵母汁1.0 g;蒸馏水400 mL;各组分调pH值至7.4~7.6。0.1 MPa,121℃灭菌20 min后,将3个组分混匀。培养前给培养基中加入用滤膜过滤除菌的5%的硫酸亚铁铵溶液20 mL。

SRB分离纯化固体培养基:将上述液体培养基中加入2%的琼脂粉制备而成。

### 1.2.2 SRB的富集、分离与纯化

将含菌采气废水按5%的接种量接于装有液

体富集培养基的150 mL三角瓶中至充满状态,然后加入少量液体石蜡密封,37℃厌氧培养5~7 d。待培养基变成墨汁色且瓶口处散发出臭鸡蛋味时,表明富集液中已有大量SRB繁殖<sup>[26]</sup>。取0.1 mL菌液均匀涂布于SRB固体培养基表面,接种好后放入底部装有足量焦性没食子酸的真空干燥器,向干燥器底部快速加入过量10% NaOH溶液使之与焦性没食子酸充分反应消耗氧气,抽真空后将干燥器置入恒温培养箱,37℃下培养。4~5 d后,挑取单个黑色菌落接入相应液体培养基进行厌氧培养。如此重复5~6次进行涂布、挑选、液体厌氧培养等多次,即可获得纯的菌株。

### 1.2.3 SRB的检测

由于培养基中富含 $Fe^{2+}$ ,与SRB的代谢产物 $S^{2-}$ 反应生成黑色的FeS。培养基变成黑色,则证明存在SRB。同时根据SY/T 5329-94《碎屑岩油藏注水水质推荐指标及分析方法》采用SRB测试瓶检测其存在及数量。

### 1.2.4 SRB的细胞染色及个体形态观察

在Olympus BH-2型光学显微镜及TM-1000型台式扫描电子显微镜下观察活体细菌的运动特征、细胞形态,细胞大小,依照文献对分离菌株进行革兰氏染色和芽孢染色<sup>[27]</sup>。

### 1.2.5 SRB生长特性影响研究

为了避免生成的黑色FeS对OD值的干扰,在进行SRB生长特性研究时2<sup>#</sup>培养基中不加 $Fe^{2+}$ ,从接种开始,每隔4 h测定OD值,由TU-1901双光束紫外可见分光光度计波谱扫描结果选取测定波长为410 nm。由于2<sup>#</sup>液体培养基对照组有絮体生成,故以对照组为参比,在测OD<sub>410</sub>值之前将对照组与测样放于恒温摇床上80 r/min震荡10 min,测定OD<sub>410</sub>,测定周期为80 h并绘制生长曲线。

## 2 结果与讨论

### 2.1 SRB的富集、分离、纯化与培养基的筛选

富集培养后,三种固体培养基进行筛选,图1是三种培养基第一代固体分离培养情况。



图1 三种固体培养基第一代分离培养

经过 6 次分离纯化,图 2 和表 1 是三种固体培养基培养的情况。



图 2 SRB 在三种固体培养基上的菌落形态

表 1 三种固体培养基生长情况对比

生长情况	1# 培养基	2# 培养基	3# 培养基
颜色	黄绿色	浅黄色	黑褐色
菌落大小	较小	较小	中等
菌落表面是否光滑	不光滑	不光滑	不光滑
运动性	有运动性	有运动性	有运动性
生长周期	4~5 d	1~2 d	2~3 d
转接培养	不稳定	稳定	不稳定
转接单菌落	不明显	明显	不明显

由图 1 可知,水样经富集后进行固体培养基分离培养,第一代 SRB 菌落及培养基呈黑色。这是由于 SRB 将培养基中的硫酸盐代谢成 S<sup>2-</sup> 且与 Fe<sup>2+</sup> 生成黑色沉淀 FeS。

三种培养基进行筛选,相应生长周期后三种固体培养基上出现大小不等的菌落,即为不同类群 SRB 菌落。由图 2 和表 1 可知,2# 培养基优于其他两种培养基,生长周期短,转接培养稳定,故选取 2# 培养基为 SRB 分离、纯化、扩增培养的固体和液体培养基。

由图 1 和图 2 对比可知,随着进一步分离纯化培养,此 SRB 菌株即使在有 Fe<sup>2+</sup> 存在的固体培养基上也难以形成黑色菌落,这主要和培养条件有关。有研究表明<sup>[28-29]</sup>,SRB 并非严格意义上的绝对厌氧,属于兼性厌氧,但总体来说 SRB 对氧还是较敏感的。实验采用真空干燥器法进行 SRB 固体培养,虽然抽真空前也加入足量焦性没食子酸与 10%NaOH 溶液反应来消耗氧气,但是整体培养条件依然不能达到完全厌氧,导致多次分离纯化后在 2# 固体培养基上形成浅黄色菌落而不是起初的黑色菌落,但在液体培养时实验组变黑情况正常。

## 2.2 SRB 的检测结果

经过反复 6 次分离纯化后,从 2# 固体培养基挑取单菌落于装有 2# 液体培养基的试管中进行检测。SRB 细胞形态、扫描电镜照片见图 3 和图 4。



图 3 SRB 细胞形态

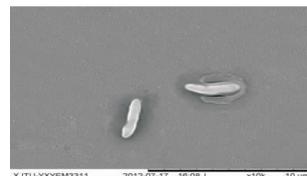


图 4 SRB 扫描电镜照片

由图 3 可知,对照组出现灰白色絮体沉淀且整体较清澈,实验组出现黑色絮体沉淀且整体浑浊。虽然 2# 培养基成分导致对照组有絮体生成,但是由图 3 仍可清晰看出实验组絮体为黑色沉淀。这是由于 SRB 将培养基中的硫酸盐代谢成 S<sup>2-</sup> 并且与 Fe<sup>2+</sup> 生成黑色沉淀 FeS,检测出 SRB 的存在。

同时,分别将对照组和培养 3 d 的实验组菌液用无菌注射器分别注入到 SRB 测试瓶中。1 d,注实验组菌液的测试瓶呈阳性反应,完全变黑;而直至 7 d,注对照组的测试瓶仍无阳性反应,证明实验组有硫酸盐还原菌的存在。同时,采用三次重复绝迹稀释法测定 SRB 菌悬液菌量达到 9.5 × 10<sup>8</sup> 个/mL。

## 2.3 SRB 的个体形态与特征

在光学显微镜及扫描电镜下观察革兰氏染色后 SRB 的细胞形态。

由图 3 和图 4 可知,SRB 细胞革兰氏染色阴性,芽孢染色阴性,有鞭毛,活体观察发现细胞呈摇摆式运动。细胞生长形态有卵圆形、短棒形、弧杆状、杆状,成型的细胞基本为杆状或弧状,具有综合菌株的形态和生理生化特征,确定 SRB 菌株属于脱硫弧菌属<sup>[30]</sup>。

## 2.4 SRB 生长曲线

在不加 Fe<sup>2+</sup> 条件下,SRB 的生长曲线见图 5。

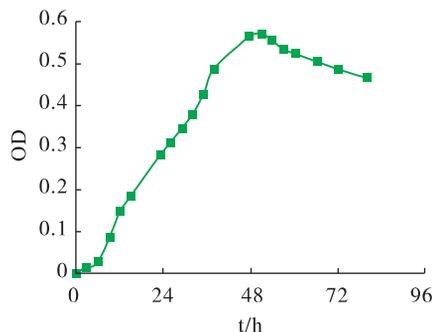


图 5 SRB 的生长曲线

由图5可知,不加  $Fe^{2+}$  菌株出现短暂延迟期,6 h后就进入对数生长期,说明SRB能够很快适应培养环境,细胞新陈代谢活动旺盛,细菌数量增加;在48 h时达到生长最高峰,稳定约4 h后进入衰亡期,此时SRB生长所需的碳源、氮源等营养物质不能满足细胞代谢生长需要,SRB活性降低,细菌数量逐渐减少。这可能与生成的  $H_2S$  浓度升高,对SRB产生毒害作用也有一定作用<sup>[31]</sup>。文献资料<sup>[32-33]</sup>显示  $Fe^{2+}$  对SRB有刺激生长的作用,由此可以推断,当培养基中加入一定  $Fe^{2+}$  后,SRB的对数期和稳定期会提前。

### 3 结论

◆从陕北某气田采出水中分离得到一株SRB,成型细胞基本为弧状或杆状,革兰氏染色呈阴性,芽孢染色呈阴性。根据形态和生理生化特性,初步确定该菌株属于脱硫弧菌属。

◆以生长周期、生长稳定性为条件,选择2#培养基作为此SRB培养基。同时,液体培养后得到菌体数量约  $9.5 \times 10^8$  个/mL。

◆SRB菌株在延迟期6 h后进入对数生长期,48 h达到生长最高峰,稳定约4 h后进入衰亡期。

#### 参考文献

- [1] Robert S, Burlage, Ronald A, David S, et al. *Techniques in Microbial Ecology* [M]. New York Oxford: Oxford University Press, 1998, 35.
- [2] Widdel F, Pfennig N. Isolation of New Sulfate-reducing Bacteria Enriched with Acetate From Saline Environments [J]. *Archives of Microbiology*, 1981, 129: 395-400.
- [3] Widdel F, Pfennig N. A New Anaerobic, Sporing, Acetate Oxidizing, Sulfate-reducing Bacterium, *Desulfotomaculum* (emend.) *Acetoxidans* [J]. *Archives of Microbiology*, 1977, 112: 119-122.
- [4] Rozanova, E. P., Khudyakova, A. J. A New Non Sporeforming Thermophilic Sulfate-reducing Organism, *Desulfovibrio Thermophilus* Nov. Sp. [J]. *Mikrobiologiya*, 1974, 43: 1069-1075.
- [5] Alves J F, Bonattch, Vianam. SRB Measures for Partially Hyperbolic System Whose Central Direction is Mostly Expanding [J]. *Inventiones Mathematicae*, 2000, 140(2): 351-398.
- [6] Amann R I, Stromley J, Devereux R, et al. Molecular and Microscopic Identification of Sulfatereducing Bacteria in Mult Ispecies Biofilms [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(2): 614-623.
- [7] Bernard P, Boudreau, Joseph T, Westrich. The Dependence of Bacterial Sulfate Reduction on Sulfate Concentration in Marine Sediments [J]. *Geochimical Cosmochimica Acta* 2004, 48(12): 2503-2516.
- [8] Zhang X, Young L Y. Carboxylation as an Initial Reaction in the Anaerobic Metabolism of Naphthalene and Phenanthrene by Sulfidogenic Consortia [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(12): 4759-4764.
- [9] Moosa S, Nematil M, Harrison S T L. A Kinetic Study on Reduction of Sulphate, Part I: Effect of Sulphate Concentration [J]. *Chemical Engineering Science*, 2002, 57: 2773-2780.
- [10] Smul A D, Goethal L, Verstraete W. Effect of COD to Sulphate Ratio and Temperature in Expanded-granular-sludge-blanket Reactors for Sulphate Reduction [J]. *Process Biochemistry*, 1999, 34: 407-416.
- [11] Van H R T, Hulshoff P L W, Lettinga G. Biological Sulphate Reduction Using Gas-lift Reactors Fed With Hydrogen Dioxide as Energy and Carbon Source [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1994, 44: 586-594.
- [12] Parshina S. N., Sipma J, Nakashimada Y, et al. *Desulfotomaculum Carboxydivorans* Sp. Nov., a Novel Sulfate Reducing Bacterium Capable of Growth at 100% CO<sub>2</sub> [J]. *J. Syst. Evol. Microbiol.* 2005, 55: 2159-2165.
- [13] Krüger M, Treude T, Wolters H, et al. Microbial Methane Turn Over in Different Marine Habitats [J]. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*, 2005, 227: 6-17.
- [14] Maree J P, Gerber A, McLaren A R, et al. A Biological Treatment of Mining Effluents [J]. *Environ Tech Letters*, 1987, 8: 53-64.
- [15] Maree J P, Hill E. Biological Removal of Sulphate from Industrial Effluents and Concomitant Production of Sphur [J]. *Sci Tech*, 1989, 21: 265-276.
- [16] Vladislav S, Sava T. Application of Fluidized Carrier to Bacterial Sulphate-reduction in Industrial Wastewaters Purification [J]. *Biotechnology Techniques*, 1992, 6(1): 91-96.
- [17] 李亚新, 苏冰琴. 利用硫酸盐还原菌处理酸性矿山废水研究 [J]. *中国给水排水*, 2000, 16(2): 13-17.
- [18] Smul A, Verstrate W. Retention of Sulfate Reducing Bacteria in Expanded Granular Sludge Blanket Reactor [J]. *Water Environ Res*, 1999, 71: 427.
- [19] 赵金辉, 罗启芳, 张小荷. 工艺 A/BAC-SRB 农药生产废水处理的研究 [J]. *重庆环境科学*, 1994, 16(6): 6-9.
- [20] 葛长海, 万海清, 张廷红. PSB 与 SRB 配合处理有机废水的研究 [J]. *四川化工*, 2004, 2(5): 46-48.
- [21] 杨景亮, 赵毅, 任洪强, 等. 废水中硫酸盐生物还原影响因素的研究 [J]. *中国沼气*, 1999, 17(3): 55-57.

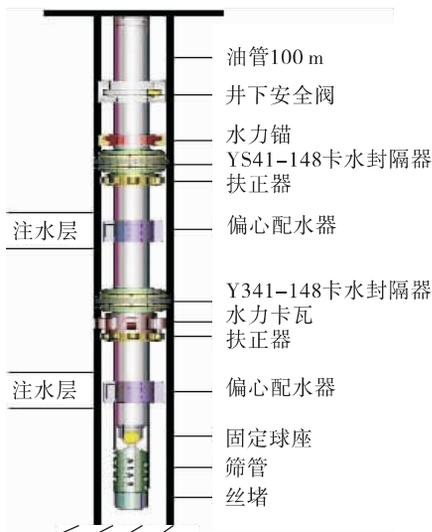


图3 注水井井控装置

### 6 结束语

综上所述,海上油田在注水开发时,回注水是否达标,注采比是否合理,注水方式是否先进,地层压力是否稳定、井口措施是否有效等是防止地质性溢油的重要因素。因此只有完善油田开发方案,优化各措施工作,提高油田管理水平等,才能减少无效注水量,提高注水利用率,改善注水效果,防止溢油事故的发生。

#### 参考文献

[1] 王乃举. 中国油藏开发模式总论[M]. 石油工业出版

社,1999.  
 [2] 庞霄,张刚,李留仁,等. 孤东采油厂含油泥砂热水洗处理参数优选与机理分析研究[J]. 石油与天然气化工, 2009,38(1):85-88.  
 [3] 叶庆全,袁敏. 油气田开发常用名词解释[M]. 北京石油工业出版社,2006.  
 [4] 袁昭,张云杰,邵明记,等. 鄯善油田中含水期合理注采比研究与应用[J]. 海洋石油,2007(4):50-53.  
 [5] 刘学峰,赵玉欣,唐磊,等. 油田开发中后期合理注采比确定方法[J]. 河南油田,2000(2):19-21.  
 [6] 李程彤,刘性全. 萨南开发区水驱高含水后期合理注采比的确定方法研究[J]. 大庆石油地质与开发,2006,25(4):54-56.  
 [7] 张玉荣,闫建文,杨海英,等. 国内分层注水技术新进展及发展趋势[J]. 石油钻采工艺,2011,33(2):102-107.  
 [8] 康兴妹,乔守武,宋志强,等. 油田分层注水工艺技术的应用及发展[J]. 内蒙古石油化工,2008(10).  
 [9] 王金忠,肖国华,宋显民,等. 冀东油田分层防砂分层注水一体化技术研究[J]. 石油机械,2010(11):62-64.  
 [10] 杨凤波,梁文福. 喇嘛甸油田合理地层压力研究[J]. 大庆石油地质与开发,2003,22(6):36-37.  
 [11] 高志华,翟香云,王建东. 大庆油田注水开发后异常地层压力分布规律研究[J]. 大庆石油地质与开发,2005,24(1):51-53.  
 [12] 李爱,左维国,侯东红,等. 华庆油田合水地区井控安全措施与对策[J]. 石油工业技术监督,2010(7):61-62.  
 [13] 杨军,曹勇,左维国. 影响井控质量的因素分析及应对措施[J]. 石油工业技术监督,2010(2):31-32.  
 [14] 赵忠健,谢小辉,尤文超,等. 江汉油田注水井动态监测新技术[J]. 江汉石油科技,2005,15(4):11-13.

(收稿日期 2012-07-20)

(编辑 王蕊)

(上接第 29 页)

[22] Postgate J R. The Sulfate-Reducing Bacteria (2nd ed) [M]. Cambridge: Cambridge University Press,1984, 55.  
 [23] 万里,郑连爽,陈丽娥,等. 嗜热硫酸盐还原菌的分离及生长影响因素研究[J]. 环境科学与技术,2009,32(10): 57-59.  
 [24] 匡飞,王佳,张盾,等. 硫酸盐还原菌的生长过程及其对 D36 钢海水腐蚀行为的影响[J]. 材料开发与应用, 2008, 23(3):49-52.  
 [25] Magot M, Bass O, Tardy-Tacquenod C, et al. Desulfovibrio Bastinii Sp. Nov. and Desulfovibrio Gracilis Sp. Nov., Moderately Halophilic, Sulfate-reducing Bacteria Isolated from Deep Subsurface Oilfield Water [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, 54:1693-1697.  
 [26] 李连华,党志,李舒衡. 硫酸盐还原菌的驯化培养及脱硫性能研究[J]. 矿物岩石地球化学通报, 2005, (2):144-147.  
 [27] 沈萍,范秀容,李广武. 微生物学实验[M]. 北京:高等教育出版社,1999.  
 [28] Cypionka H, Widdel F, Pfennig N. Survival of Sulfate-

reducing Bacteria after Oxygen Stress, and Growth in Sulfate-free Oxygen-sulfide Gradients[J]. FEMS Microbiology Letters, 1985, 31(1):39-45.  
 [29] Mogensen G. L., Kjeldsen K. U., Ingvorsen K. Desulfovibrio Aerotolerans Sp. Nov., an Oxygen Tolerant Sulfate Reducing Bacterium Isolated From Activated Sludge[J]. Anaerobe, 2005, 11(6):339-349.  
 [30] R. E. 布坎南, N. E. 吉布斯. 伯杰细菌鉴定手册第八版 [K]. 中国科学院微生物研究所译. 北京:科学出版社,1984.  
 [31] 焦迪,李进,李娟,等. 硫酸盐还原菌在中水中的分离及生长特性研究[J]. 环境科学与技术,2010,33(10):64-67.  
 [32] 陈效,孙立苹,徐盈,等. 硫酸盐还原菌的分离和生理特性研究[J]. 环境科学与技术,2006,29(9):38-40.  
 [33] 张小里,刘海洪,陈开勋,等. 硫酸盐还原菌生长规律的研究[J]. 西北大学学报(自然科学版),1999, 29(5): 397-402.

(收稿日期 2012-09-25)

(编辑 李娟)