

## 权 利 要 求 书

1、一种微生物复合菌剂，其特征在于：所述复合菌剂为海杆菌（*Marinobacter* sp.）HWP-1、海杆菌（*Marinobacter* sp.）HWP-2、芽孢杆菌（*Bacillus* sp.）HWP-3 和芽孢杆菌（*Bacillus* sp.）HWP-4 复配，所述海杆菌（*Marinobacter* sp.）HWP-1、所述海杆菌（*Marinobacter* sp.）HWP-2、所述芽孢杆菌（*Bacillus* sp.）HWP-3 和所述芽孢杆菌（*Bacillus* sp.）HWP-4 均保藏于中国典型培养物保藏中心，保藏登记号分别为 CCTCC NO: M 20211335，CCTCC NO: M 20211336，CCTCC NO: M 20211337 和 CCTCC NO: M 20211338。

2、根据权利要求 1 所述的一种微生物复合菌剂，其特征在于：所述微生物复合菌剂中，海杆菌（*Marinobacter* sp.）HWP-1、海杆菌（*Marinobacter* sp.）HWP-2、芽孢杆菌（*Bacillus* sp.）HWP-3 和芽孢杆菌（*Bacillus* sp.）HWP-4 菌液的体积比为（1.5~3）：（1.5~3）：（0.5~1）：（0.5~1），四株菌的活细胞浓度均为  $10^7 \sim 10^9$  CFU/mL。

3、权利要求 1 或 2 所述的一种微生物复合菌剂的制备方法，其特征在于：包括：

（1）分别配制牛肉膏蛋白胨固体斜面培养基、牛肉膏蛋白胨液体培养基和无机盐培养基，并控制这三种培养基的盐度为 5%、pH 为 8.6；

（2）将海杆菌（*Marinobacter* sp.）HWP-1、海杆菌（*Marinobacter* sp.）HWP-2、芽孢杆菌（*Bacillus* sp.）HWP-3 和芽孢杆菌（*Bacillus* sp.）HWP-4 分别接种于牛肉膏蛋白胨固体斜面培养基，于  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  条件下培养 48~72 h 进行活化；

（3）将活化后的菌体，接种于牛肉膏蛋白胨液体培养基中，于  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 、140 r/min 条件下振荡培养 48~72 h 得到种子液；

（4）将种子液按照 5%~10% 的接种量接入无机盐培养基中，于  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 、140 r/min 条件下振荡培养 48~72 h 制得各菌株的菌液，然后将各菌株菌液混合均匀。

4、根据权利要求 3 所述的一种微生物复合菌剂的制备方法，其特征在于：所述牛肉膏蛋白胨固体斜面培养基按照终浓度的组成为：牛肉膏 5 g/L，蛋白胨 10 g/L，NaCl 43.5 g/L， $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  6.5 g/L，琼脂 20 g/L。

5、根据权利要求 3 所述的一种微生物复合菌剂的制备方法，其特征在于：所述牛肉膏蛋白胨液体培养基按照终浓度的组成为：牛肉膏 5 g/L，蛋白胨 10 g/L，NaCl 43.5 g/L， $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  6.5 g/L。

6、根据权利要求 3 所述的一种微生物复合菌剂的制备方法，其特征在于：所述无机盐培养液按照终浓度的组成为： $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1 g/L、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.8 g/L、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/L、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1 g/L、葡萄糖 0.05 g/L、NaCl 43.5 g/L、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  6.5 g/L 和微量元素  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.012 g/L、 $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.003 g/L、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.003 g/L、 $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.001 g/L、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.001 g/L，石油 50 g/L。

## 权 利 要 求 书

---

7、权利要求1或2所述的微生物复合菌剂或者权利要求3~6任意一项所述的制备方法获得的微生物复合菌剂在修复石油污染盐碱土壤或者多环芳烃污染土壤中的应用。

8、根据权利要求7所述的应用，其特征在于：所述应用的方法包括：将石油污染盐碱土壤或者多环芳烃污染土壤中添加微生物复合菌剂混匀，使土壤中微生物数量达到  $10^7 \sim 10^9$  CFU/g，土壤盐分和 pH 值分别为 1~1.5% 和 8.0~9.0，并控制土壤含水量为 12%~18%。

9、根据权利要求8所述的应用，其特征在于：对混有微生物复合菌剂的石油污染盐碱土壤或者多环芳烃污染土壤施加 0.8~1.5 V/cm 的直流电场，电极极性每 10~30 min 切换一次，处理时间不少于 100 天。