

微生物对砷的氧化还原竞争

杨婷婷^{1,2} 柏耀辉^{2*} 梁金松² 霍旻² 王明星¹ 袁林江¹

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院,西安 710055; 2. 中国科学院生态环境研究中心,中国科学院饮用水科学与技术重点实验室,北京 100085)

摘要: 滤池被广泛运用于饮用水厂中,前期研究发现某水厂生物滤池处理含砷地下水时,一方面三价砷可被生物氧化锰氧化为五价砷,另一方面滤池系统中存在的微生物砷还原酶可促使五价砷还原为三价砷,而滤池表面存在的这种微生物竞争关系会影响滤池的稳定性及处理效率.为探讨其内在机制,本研究选取 1 株锰氧化模式菌(*Pseudomonas* sp. QJX-1)和 1 株砷还原模式菌(*Brevibacterium* sp. LSJ-9),考察在 Mn^{2+} 、As(As^{3+} 、 As^{5+}) 共存时,两菌株对空间、营养物质以及对砷氧化/还原的竞争关系.结果表明,不同的反应时间, Mn 、As 质量浓度/价态不同,三价及五价砷体系中,*Pseudomonas* sp. QJX-1 生成的锰氧化物在砷的氧化还原反应中占主导地位,即能迅速氧化本身存在的 As^{3+} (三价砷体系)和砷还原菌产生的 As^{3+} (五价砷体系),最终两体系中砷都主要以 As^{5+} 的形式存在. PCR 及 RT-PCR 结果表明,反应过程中锰氧化菌功能基因(*cumA*)抑制了砷还原酶(*arsC*)的表达,锰氧化菌 16S rRNA 表达量始终比砷还原菌高两个数量级,即锰氧化菌在生长竞争过程中占优势.实验结果表明滤池的水力停留时间是决定出水中砷价态的一个重要因素.

关键词: 砷氧化还原; 锰氧化; 微生物竞争; 生物滤池; 营养物质

中图分类号: X131.2; X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)02-0609-06 DOI: 10.13227/j.hjxx.2016.02.028

Competitive Microbial Oxidation and Reduction of Arsenic

YANG Ting-ting^{1,2} ,BAI Yao-hui^{2*} ,LIANG Jin-song² ,HUO Yang² ,WANG Ming-xing¹ ,YUAN Lin-jiang¹

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. Key Laboratory of Drinking Water Science and Technology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: Filters are widely applied in drinking water treatment plants. Our previous study, which explored the arsenic redox in a filter of drinking water plant treating underground water, found that As^{3+} could be oxidized to As^{5+} by biogenic manganese oxides, while As^{5+} could be reduced to As^{3+} by some microbial arsenic reductases in the biofilter system. This microbial competition could influence the system stability and treatment efficiency. To explore its mechanism, this study selected a manganese-oxidizing bacterial strain (*Pseudomonas* sp. QJX-1) and a arsenic-reducing strain (*Brevibacterium* sp. LSJ-9) to investigate their competitive relationship in nutrient acquisition and arsenic redox in the presence of Mn^{2+} , As^{3+} or As^{5+} . The results revealed that the concentration and valence of Mn and As varied with different reaction time; biological manganese oxides dominated the arsenic redox by rapidly oxidizing the As^{3+} in the existing system and the As^{3+} generated by arsenic reductase into As^{5+} . PCR and RT-PCR results indicated that the arsenic reductase (*arsC*) was inhibited by the manganese oxidase (*cumA*). The expression of 16S rRNA in QJX-1 was two orders of magnitude higher than that in LSJ-9, which implied QJX-1 was dominant in the bacterial growth. Our data revealed that hydraulic retention time was critical to the valence of arsenic in the effluent of filter in drinking water treatment plant.

Key words: oxidation and reduction of arsenic; manganese oxides; microbial competition; biofilter; nutrient

砷在自然水体中主要以 As^{3+} 和 As^{5+} 两种形式存在,其中 As^{3+} 毒性比 As^{5+} 毒性高出 60 倍.砷在人体新陈代谢过程中的迁移十分缓慢,长期饮用受砷污染的地下水会造成皮肤癌、肺癌等疾病^[1,2].我国云南、山西、新疆、内蒙等地区的地下水均受到不同程度的砷污染^[3],作为主要饮用水源,某些地区地下水砷质量浓度高达 $1530 \mu g \cdot L^{-1}$ ^[4],远高于《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006)中规定的砷浓度.在常规饮用水处理系统中,混凝/絮凝工艺^[5]、滤池吸附工艺^[6,7]均可以在一定程度上降低砷质量浓度,而与混凝/絮凝工艺相比,滤池吸附工

艺兼具有净化效率高、处理成本低廉等优点.生物滤池主要利用进水中的锰氧化菌,将 Mn^{2+} 氧化为锰的高价氧化物^[8],生成的锰氧化物具有高效的氧化性和一定的吸附性^[9,10],氧化吸附水体中的 As (As^{3+} 、 As^{5+}) 在氧化吸附的过程中形成包括锰氧化物、砷以及细菌在内的多重络合物附着在滤料表面,从而达到通过价态转换降低 As 的毒性,通过吸

收稿日期: 2015-09-04; 修订日期: 2015-10-14

基金项目: 环境保护公益性行业科研专项(201409029); 环境水质学实验室基金项目(13Z03ESPCT)

作者简介: 杨婷婷(1990~),女,硕士研究生,主要研究方向为铁锰生物氧化物除砷, E-mail: yangtt619@163.com

* 通讯联系人, E-mail: yhbai@cees.ac.cn

附作用去除水体中的 As 的效果。

通过前期对生物滤池微生物群落宏基因组分析,发现滤池表面生物膜中含有丰度较高的砷还原酶^[11],这表明滤池中存在一定的砷还原菌。而当滤池中 Mn^{2+} 、As(As^{3+} 、 As^{5+})和两种细菌同时存在时,针对 As 的氧化还原反应会同时发生,竞争对砷形态的影响:即锰氧化菌作用产生的锰氧化物,将 As^{3+} 氧化为 As^{5+} ,而砷还原菌将 As^{5+} 还原成 As^{3+} ;同时,两种细菌还会竞争空间、营养物质。以往很多研究发现^[12,13],经过生物滤池处理后的水含砷量明显降低,且残余的砷主要以 As^{5+} 的形式存在。据此提出如下假设:生物氧化锰导致的砷氧化相比微生物的砷还原在滤池表面占主导作用,即含 As(As^{3+} 、 As^{5+})的地下水经滤池作用后出水以 As^{5+} 为主。为验证此假设,以 1 株锰氧化模式菌和 1 株砷还原模式菌为研究对象,结合理化分析及分子检测,探究两菌株生长过程的竞争以及对砷的氧化/还原竞争的关系,以期对生物滤池转化去除地下水中 Mn^{2+} 、As 提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 培养基和菌株

菌株培养采用 PYG 培养基(peptoneyeast extract-glucose):葡萄糖 0.25 g,酵母膏 0.25 g,蛋白胨 0.25 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 60 mg,蒸馏水 1 L,用 HEPES(*N*-2-Hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid 4-羟乙基哌嗪乙磺酸)调节 pH 为 7.6 ± 0.2 ,高温灭菌。

实验采用的砷还原菌为短杆菌 LSJ-9(*Brevibacterium* sp. LSJ-9),该菌株为革兰氏阳性专性好氧无芽孢菌,呈短杆状,由湖南受砷污染严重的土壤分离纯化得到;锰氧化菌为假单胞菌 QJX-1(*Pseudomonas* sp. QJX-1)^[14],该菌株为革兰氏阴性好氧无芽孢菌,呈杆状或略弯,细胞两端圆钝,由湖南湘潭锰矿区域土壤分离纯化得到。

取保存于 $-80^\circ C$ 冰箱中的 *Pseudomonas* sp. QJX-1 和 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌液 3 mL,分别加至装有 27 mL 新鲜 PYG 培养基的 100 mL 锥形瓶中, $30^\circ C$, $170 r \cdot min^{-1}$ 恒温振荡培养 24 h,取 3 mL 培养后的菌液,重复上述操作,完成菌株的活化。

1.2 两菌株对 As^{3+} 、 As^{5+} 的氧化还原

取上述活化后的菌液各 20 mL,同时加至装有 160 mL 新鲜 PYG 培养基的 500 mL 锥形瓶中,将 HEPES 缓冲液、 Mn^{2+} 母液和 As(As^{3+} 、 As^{5+})母液

一起用高温灭菌后的 $0.22 \mu m$ 滤膜过滤,添加到培养基中,使得 Mn^{2+} 终浓度为 $5 mg \cdot L^{-1}$,As(As^{3+} 、 As^{5+})终浓度为 $0.75 mg \cdot L^{-1}$, $30^\circ C$, $170 r \cdot min^{-1}$ 恒温振荡培养 72 h。培养过程中间隔特定时间取样,样品经 $0.22 \mu m$ 滤膜过滤,通过电感耦合等离子体原子发射光谱法(700 series ICP-OES)测定 Mn^{2+} 的浓度,通过原子荧光光谱法测定 As^{3+} 和总 As 浓度。相同条件下,设置 *Pseudomonas* sp. QJX-1 菌株单独氧化 Mn^{2+} 和 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌株单独还原 As^{5+} 作为对照实验,上述实验均设置 3 组平行。

1.3 两菌株生长及功能表达竞争

有研究表明 *cumA* 在假单胞菌锰氧化过程中是必不可少的基因,而 *arsC* 是微生物细胞质砷还原的重要基因。因此采用 PCR 及 Real-time PCR 分析两菌株在同一环境下生长竞争及功能表达竞争的关系。

(1) RNA 提取与反转录 根据实验分析 9 h 培养基中细菌数最多,27 h 两菌株处于竞争关系,51 h 达到“稳定”。因此选取 9、27、51 h 这 3 个时间点取样 1.8 mL,用 Trizol 法(Tiagen,China)提取样品中菌体的总 RNA,用 FastQuant RT Kit (With gDNase) (Tiagen,China)将总 RNA 反转录为 cDNA。

(2) PCR 扩增 以上述 cDNA 为模板,分别对两菌株的功能基因——多铜氧化酶 *cumA*^[15] 和砷还原酶 *arsC*^[16] 进行 PCR 扩增。根据 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 和 *Pseudomonas* sp. QJX-1 纯菌株的 cDNA 序列,设计并合成两菌株 16S rRNA 相对特异性的引物,两对引物分别以纯菌株的 cDNA 为模板,进行 PCR 扩增。所采用的 PCR 引物及扩增条件如表 1 所示。PCR 采用 20 μL 扩增体系, $2 \times Taq$ PCR Master Mix 10 μL , Forward primer($10 \mu mol \cdot L^{-1}$) 0.4 μL , Reverse primer($10 \mu mol \cdot L^{-1}$) 0.4 μL , ddH₂O 7.2 μL , 模板 2 μL , 实验设置 3 组平行。

(3) Real-time PCR 将两株纯菌的 16S rRNA 和 *arsC* 基因的 PCR 扩增产物纯化、回收后送至上海美吉生物公司合成质粒,以合成的质粒作为标准品,实验提取的总 RNA 反转录 cDNA 为模板,进行 Real-time PCR,计算各阶段 *Pseudomonas* sp. QJX-1 菌株和 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌株 16S rRNA 拷贝数和各阶段两菌株 16S rRNA 拷贝数之比,以及各阶段 *arsC* 基因的拷贝数。Real-time PCR 采用 20 μL 扩增体系, $2 \times SuperRealPreMix Plus$ (with SYBR Green I) 10 μL , $50 \times ROX Reference Dye 2$ 2 μL ,

Forward primer($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 0.4 μL ,Reverse primer
($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 0.4 μL , ddH_2O 5.2 μL ,模板 2 μL ,

实验设置 3 组平行. 所采用的 Real-time PCR 引物
及扩增条件如表 1 所示.

表 1 PCR、RT-PCR 引物及扩增条件¹⁾

Table 1 Sequence of the primers and thermocycling condition for PCR and RT-PCR

扩增产物	引物(5'-3')	扩增条件	文献
<i>cumA</i> (800bp)	cumAIdg2B: GAYGCCGGYAGCTACTGTTAYCACCC cumAIdgR: ACYTTGAARSYCATGCCRTGCARRTG	94°C 3 min; 94°C 30 s ,45°C 30 s ,60°C 1 min; 72°C 2 min; 30 次循环	[17]
<i>arsC</i> (353bp)	aml142f: TCGCGTAATACGCTGGAGAT aml1376r: ACTTTCTCGCCGTCTTCCTT	95°C 5 min; 95°C 45 s ,60°C 45 s ,72°C 1 min; 72°C 2 min; 40 次循环	[16]
<i>arsC</i> (353bp)	aml142f: TCGCGTAATACGCTGGAGAT aml1376r: ACTTTCTCGCCGTCTTCCTT	* 95°C 15 min; 95°C 45 s ,60°C 45 s ,72°C 1 min; 40 次循环	[16]
16S(短杆菌)	F: AGACGGTTTACGCTGTCACTT R: GGTAAGTGTCTTCCCTAACACA	* 95°C 15 min; 95°C 30 s ,45°C 30 s ,60°C 1 min; 40 次循环	本研究
16S(假单胞菌)	F: GGTAAGTGTCTTCCCTAACACA R: CCACTGGTGTTCCTTCCTATATC	* 94°C 15 min; 94°C 30 s ,45°C 30 s ,60°C 1 min; 30 次循环	本研究

1) * 表示 Real-time PCR 扩增条件

2 结果与讨论

2.1 两菌株对 As^{3+} 及 As^{5+} 的氧化还原

为探究两菌株对 As^{3+} 、 As^{5+} 的氧化还原竞争,按 1.2 节所示方法,首先分析了 *Pseudomonas* sp. QJX-1 单独氧化 Mn^{2+} 及 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 单独还原 As^{5+} 的过程,如图 1. 可以看出 *Pseudomonas* sp. QJX-1 菌株 9 h 左右生长达到最大,并开始生成不溶性氧化锰[图 1(a)]. 与 *Pseudomonas* sp. QJX-1 菌株生长趋势相似,*Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌株 9 h 左右生长达到最大,而与之不同的是,在菌株生长达到最大之前, As^{5+} 已经开始被还原[图 1(b)]. 这与两菌株的作用机制不同有关,环境中的 As^{5+} 可通过砷还原菌细胞膜上的磷脂通道进入细胞内,为降低细胞内的砷浓度,达到细胞解毒的目的, *arsC* 基因将 As^{5+} 还原为 As^{3+} ,再通过膜蛋白将 As^{3+} 泵出细胞^[18,19]. 因此砷还原微生物的生长伴随着五价砷的还原. 而 *cumA* 的活性并不需要 Mn^{2+} 的诱导^[20], Mn^{2+} 的存在是锰氧化菌生长的非必要因素,因此锰氧化发生在菌体生长稳定之后.

同时设置了三价砷及五价砷体系,考察两菌株对 As^{3+} 、 As^{5+} 的氧化还原竞争,如图 2. 与菌株单独培养相比,两菌株同时培养时,三价砷体系中不溶性氧化锰生成的时间明显延后[图 2(a)],但最终 Mn^{2+} 的氧化率达 98.3%,生成的生物氧化锰对 As^{3+} 的氧化率也达 95%,与报道的生物氧化锰单独氧化 As^{3+} 的效率相似^[10],即砷还原菌的存在并不影响生物氧化锰对 As^{3+} 的氧化效率. 五价砷体系中, As^{5+} 被还原到一定程度(73%),生物氧化锰开始氧化生成的 As^{3+} [图 2(b)],而此时并

未达到砷还原菌单独还原砷的最大效率(86%),且反应结束时,砷基本以 As^{5+} 的形式存在. 结果表明,反应初期,两菌株分别起到了锰氧化和砷还原作用,但最终生物氧化锰对砷的氧化作用相比于砷还原菌的还原作用占优势. 同时也可以看出,不同反应时间,培养基中 Mn 与 As 存在的浓度以及价态不同,由此可推出滤池水力停留时间(HRT)的不同会影响出水中锰、砷的质量浓度/形

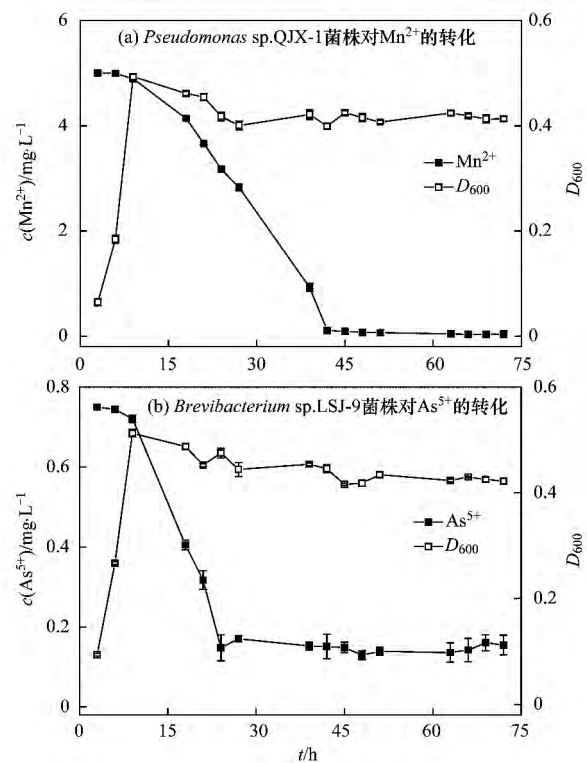


图 1 菌株生长曲线及分别对 Mn^{2+} 、 As^{5+} 的作用

Fig. 1 Strain growth curves and effect of Mn^{2+} and As^{5+} , respectively

态,从而影响出水水质. 停留时间短,生物氧化锰未完全氧化 As^{3+} ,没有达到降低水体毒性的目的,并且很多氧化物对 As^{3+} 的吸附效果不如 As^{5+} 好^[21],因此 As^{3+} 的存在不利于对总 As 的吸附去除. Devi 等^[13]在对不同 HRT 对砷去除效果的研究中也发现,相同条件下,停留 10 h 对砷的去除效果要优于停留 2~8 h.

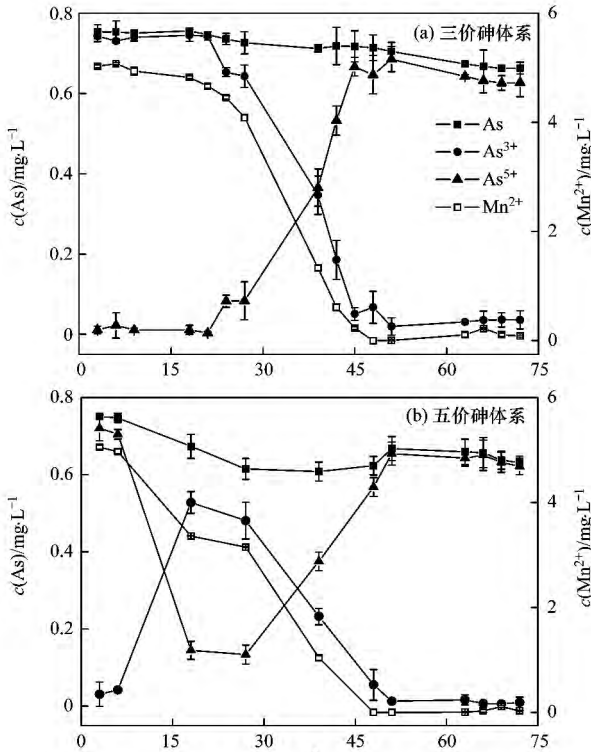


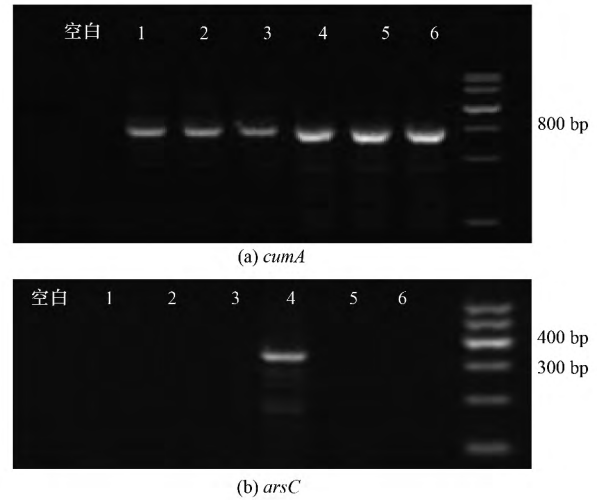
图2 两菌株共存时 Mn^{2+} 、 As^{5+} 浓度变化

Fig. 2 Concentration changes of Mn^{2+} and As in the coexistence of two strains

2.2 两菌株生长及功能表达竞争

2.2.1 PCR 扩增

为分析生物氧化锰在对砷价态竞争中占优势的原因,对两菌株的功能基因进行了 PCR 扩增. 由图 3 可以看出,多铜氧化酶 *cumA* (800bp) 在两体系中均有表达,而砷还原酶 *arsC* (353bp) 只在五价砷体系 9h 样品中有表达,其余时间样品中均未表达. 由此推测反应过程中 *cumA* 基因抑制了 *arsC* 基因的表达,使得 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌株的还原性受到抑制. Greene 等^[22]在研究反硝化脱硫菌(NR-SOB)和硫酸盐还原菌(SRB)竞争时也得出相似的结论. 从而解释了反应末期,两体系培养基中 Mn^{2+} 最终基本完全被氧化,砷主要以 As^{5+} 的形式存在的原因. 也解释了虽然滤池中存在砷还原微生物,并不会导致滤池出水中含有大量 As^{3+} 的原因.



1~3 分别表示三价砷体系 9、27、51 h;

4~6 分别表示五价砷体系 9、27、51 h

图3 功能基因 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of PCR products of the functional genes *cumA* and *arsC*

2.2.2 Real-time PCR 分析

为进一步研究两菌株生长过程中对空间、营养物质的竞争关系,对两菌株 16S rRNA 进行 Real-time PCR 定量分析. 由图 4(a)、4(b) 可看出,反应初期(9 h),16S rRNA 表达量均达最大值,与图 1 结果相符,即空间、营养物质丰富时,两菌株均可大量生长. 但两体系中 *Pseudomonas* sp. QJX-1 菌株与 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌株 16S rRNA 表达量之比分别为 2.63×10^2 和 1.53×10^2 ,表明 *Pseudomonas* sp. QJX-1 是优势菌,在同一环境中更快生长. 随着空间、营养物质的逐渐减少,16S rRNA 的表达量均减弱,但比值逐渐增大,27 h 菌株的 16S rRNA 表达量之比分别为 2.86×10^2 和 1.76×10^2 ,51 h 分别为 3.13×10^2 和 4.4×10^2 . 表明空间、营养物质的改变影响菌体间的相互作用,从而增强菌体间的竞争关系^[23-24]. 分析原因,这与两菌株对空间、营养物质的不同需求有关,有研究报道锰氧化菌属于贫营养菌^[25]在贫营养中生长得更好.

为进一步分析功能基因竞争关系,对 *arsC* 基因进行了 Real-time PCR 定量分析[图 4(c)],结果表明,反应初期,五价砷体系 *arsC* 基因量较多,较其余时期高出一个数量级,即 As^{5+} 的存在有利于 *arsC* 基因的表达. 随着反应的进行, *arsC* 基因量逐渐减少,且 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌株 16S rRNA 与 *arsC* 基因表达量相比始终相差两个数量级以上. 对比图 3、图 4 可以看出, *Pseudomonas* sp. QJX-1 菌株在竞争非生物环境时占优势,但并没有抑制 *Brevibacterium*

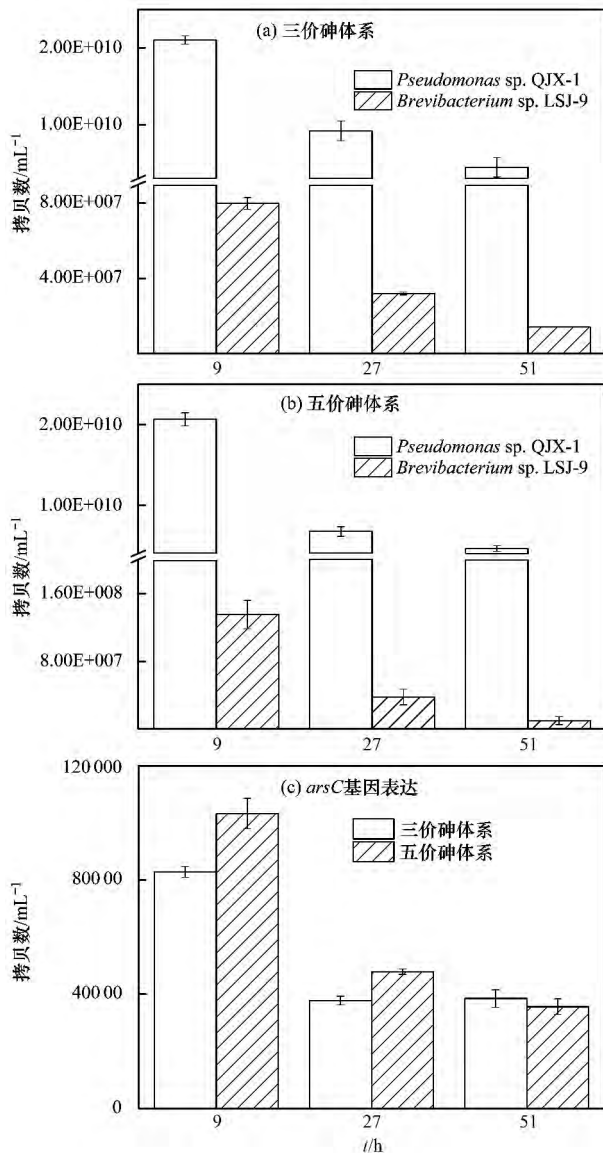


图4 两菌株各阶段16S rRNA表达量及 *arsC* 基因表达

Fig. 4 Expression of 16S rRNA and *arsC* at different growth stages of the two strains

sp. LSJ-9 菌株的生长,但随着反应的进行, *cumA* 基因抑制了 *arsC* 基因的表达。

2.3 环境学意义

生物处理工艺越来越多地被运用于水厂中,而微生物之间的竞争关系影响到处理工艺的稳定性及效率^[26-27]。如由于菌体作用机制不同,导致水体中锰、砷的质量浓度/价态随着反应时间的不同而变化。由此推测,若滤池进水中以 As^{5+} 为主,反应时间短,砷还原菌迅速将 As^{5+} 还原,而生成的生物氧化锰未来得及将生成的 As^{3+} 氧化,反而提高了水体中砷的毒性。进一步验证了 HRT 短滤池对砷的氧化去除效果差,影响出水水质。因此研究滤池滤膜表面微生物的竞争,有利于了解滤池的作用机制,以便提高滤池去

除 Mn、As 等离子的效率,降低出水毒性。

3 结论

(1) *cumA* 基因抑制 *arsC* 基因的表达,从而降低了 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌株对 As^{5+} 的还原性,即生物氧化锰对砷的氧化相对于微生物对砷的还原占优势。

(2) *Pseudomonas* sp. QJX-1 菌株 16S rRNA 基因表达量始终比 *Brevibacterium* sp. LSJ-9 菌株高两个数量级,即在对非生物环境(空间、营养物质)竞争中 *Pseudomonas* sp. QJX-1 菌株始终占优势。

(3) 锰氧化菌与砷还原菌的作用机制不同,从而反应时间短,不利于降低水体中砷的毒性。验证了水厂滤池中 HRT 时间短,影响出水的水质。

参考文献:

- [1] EPA. Technologies and costs for removal of arsenic from drinking water[R]. Washington DC: U. S. EPA, 2000.
- [2] Herbert K J, Holloway A, Cook A L, et al. Arsenic exposure disrupts epigenetic regulation of SIRT1 in human keratinocytes [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2014, **281**(1): 136-145.
- [3] 吴佳,谢明吉,杨倩,等. 砷污染微生物修复的进展研究 [J]. 环境科学, 2011, **32**(3): 817-824.
- [4] 丁爱中,杨双喜,张宏达. 地下水砷污染分析 [J]. 吉林大学学报(地球科学版), 2007, **37**(2): 319-325.
- [5] Wang Y X, Duan J M, Liu S X, et al. Removal of As(III) and As(V) by ferric salts coagulation-Implications of particle size and zeta potential of precipitates [J]. Separation and Purification Technology, 2014, **135**: 64-71.
- [6] Katsoyiannis I A, Zouboulis A I. Application of biological processes for the removal of arsenic from groundwaters [J]. Water Research, 2004, **38**(1): 17-26.
- [7] Katsoyiannis I A, Zouboulis A I, Jekel M. Kinetics of bacterial As(III) oxidation and subsequent As(V) removal by sorption onto biogenic manganese oxides during groundwater treatment [J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2004, **43**(2): 486-493.
- [8] Bruins J H, Petrussevi B, Slokar Y M, et al. Biological and physico-chemical formation of Birnessite during the ripening of manganese removal filters [J]. Water Research, 2015, **69**: 154-161.
- [9] Han X, Li Y L, Gu J D. Abiotic oxidation of Mn(II) and its effect on the oxidation of As(III) in the presence of nano-hematite [J]. Ecotoxicology, 2012, **21**(6): 1753-1760.
- [10] Watanabe J, Tani Y, Chang J N, et al. As(III) oxidation kinetics of biogenic manganese oxides formed by *Acremonium strictum* strain KR21-2 [J]. Chemical Geology, 2013, **347**: 227-232.

- [11] Bai Y H , Liu R P , Liang J S , *et al.* Integrated metagenomic and physiochemical analyses to evaluate the potential role of microbes in the sand filter of a drinking water treatment system [J]. *PLoS One* , 2013 , **8**(4) : e61011.
- [12] Katsoyiannis I A , Zikoudi A , Hug S J. Arsenic removal from groundwaters containing iron , ammonium , manganese and phosphate: A case study from a treatment unit in northern Greece [J]. *Desalination* , 2008 , **224**(1-3) : 330-339.
- [13] Devi R , Alemayehu E , Singh V , *et al.* Removal of fluoride , arsenic and coliform bacteria by modified homemade filter media from drinking water [J]. *Bioresource Technology* , 2008 , **99**(7) : 2269-2274.
- [14] 周娜娜 , 柏耀辉 , 梁金松 , 等. *Pseudomonas* sp. QJX-1 的锰氧化特性研究 [J]. *环境科学* , 2014 , **35**(2) : 740-745.
- [15] Brouwers G J , de Vrind J P M , Corstjens P L , *et al.* *CumA* , a gene encoding a multicopper oxidase , is involved in Mn^{2+} oxidation in *Pseudomonas putida* GB-1 [J]. *Applied and Environmental Microbiology* , 1999 , **65**(4) : 1762-1768.
- [16] Sun Y M , Polishchuk E A , Radoja U , *et al.* Identification and quantification of *arsC* genes in environmental samples by using real-time PCR [J]. *Journal of microbiological methods* , 2004 , **58**(3) : 335-349.
- [17] Francis C A , Tebo B M. *CumA* multicopper oxidase genes from diverse Mn (II)-oxidizing and non-Mn (II)-oxidizing *Pseudomonas* strains [J]. *Applied and Environmental Microbiology* , 2001 , **67**(9) : 4272-4278.
- [18] Gladysheva T B , Oden K L , Rosen B P. Properties of the arsenate reductase of plasmid R773 [J]. *Biochemistry* , 1994 , **33**(23) : 7288-7293.
- [19] Achour A R , Bauda P , Billard P. Diversity of arsenite transporter genes from arsenic-resistant soil bacteria [J]. *Research in Microbiology* , 2007 , **158**(2) : 128-137.
- [20] Francis C A , Co E M , Tebo B M. Enzymatic manganese(II) oxidation by a marine alpha-proteobacterium [J]. *Applied and Environmental Microbiology* , 2001 , **67**(9) : 4024-4029.
- [21] Xiu W , Guo H M , Liu Q , *et al.* Arsenic removal and transformation by *Pseudomonas* sp. strain GE- 1-induced ferrihydrite: co-precipitation versus adsorption [J]. *Water , Air , & Soil Pollution* , 2015 , **226**: 167.
- [22] Greene E A , Hubert C , Nemati M , *et al.* Nitrite reductase activity of sulphate-reducing bacteria prevents their inhibition by nitrate-reducing , sulphide-oxidizing bacteria [J]. *Environmental Microbiology* , 2003 , **5**(7) : 607-617.
- [23] Lawrence D , Fiegna F , Behrends V , *et al.* Species interactions alter evolutionary responses to a novel environment [J]. *PLoS Biology* , 2012 , **10**(5) : e1001330.
- [24] Collins S. Competition limits adaptation and productivity in a photosynthetic alga at elevated CO_2 [J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* , 2011 , **278**(1703) : 247-255.
- [25] Gouzinis A , Kosmidis N , Vayenas D V , *et al.* Removal of Mn and simultaneous removal of NH_3 , Fe and Mn from potable water using a trickling filter [J]. *Water Research* , 1998 , **32**(8) : 2442-2450.
- [26] Begum S A , Batista J R. Impact of butyrate on microbial selection in enhanced biological phosphorus removal systems [J]. *Environmental Technology* , 2014 , **35**(21-24) : 2961-2972.
- [27] Carvalheira M , Oehmen A , Carvalho G , *et al.* The effect of substrate competition on the metabolism of polyphosphate accumulating organisms (PAOs) [J]. *Water Research* , 2014 , **64**: 149-159.