



深部生物圈古菌的研究进展与展望

林喜铨^{1,2}, 谢伟^{1,2*}

¹ 中山大学海洋科学学院, 广东 珠海 519082

² 南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海), 广东 珠海 519082

摘要: 古菌作为深部生物圈中常见的原核生物, 广泛分布于各类海洋沉积生境中, 在沉积物生物地球化学循环中发挥着重要作用。由于不同的古菌类群对环境条件存在生理适应性差异, 它们分别在近岸沿海和开阔大洋沉积物中构成了厌氧微生物生态系统和好氧微生物生态系统。本文通过对近岸与远洋、沉积物与上覆水体两个不同维度的古菌群落结构进行比较, 以及对出现在深部生物圈中的常见古菌(奇古菌门(*Thaumarchaeota*)、深古菌门(*Bathyarchaeota*)、底栖古菌目(*Thermoprofundales*)、Asgard 古菌超级门、乌斯古菌门(*Woesearchaeota*))的分布、代谢和环境适应机制进行论述, 总结了深部生物圈中古菌的研究进展, 并在此基础上展望了几个未来研究的方向与重点。

关键词: 古菌, 深部生物圈, 海洋沉积物, 分布, 代谢

自 1977 年 Woese 和 Fox 运用核糖体 RNAs 的分子系统发育分析, 将古菌确定为细菌和真核生物之外的第三种生命形式以来, 古菌逐渐成为学术界研究的热点^[1]。最初的几十年里, 古菌一直被认为是专性嗜极微生物, 只存在于高温、高压、高盐 and 厌氧^[2–4]等极端环境中, 并被划分为两个主要门类: 广古菌门(*Euryarchaeota*)和泉古菌门(*Crenarchaeota*)^[3,5–6]。后来, 温带富氧海水中泉古菌的发现^[3,5]颠覆了以前关于古菌专性嗜极端环境的观点。基于 16S rRNA 序列比对以及基因组学分

析, 将中温泉古菌划分为一个新门——奇古菌门(*Thaumarchaeota*)^[7]。近年来, 随着高通量测序技术的发展, 自然界大量未培养的古菌被发现。大量研究表明, 古菌广泛存在于淡水^[8]、土壤^[9]、河口^[10–11]、海洋^[3,5,12]等常规生境, 以及盐湖^[13]、热泉^[14]、海底热液^[15]等极端生境中, 其参与甚至主导了生物圈生源元素循环的关键过程^[16]。古菌作为海洋微生物的重要组成部分, 是海洋生态系统中物质与能量传递的重要贡献者, 在全球生物地球化学循环中扮演着不可或缺的角色。

基金项目: 国家自然科学基金(41776137, 92051117); 南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海)创新团队建设项目(SML311019006, SML311020006); 中国地质调查局项目(DD20191002)

*通信作者。E-mail: xiewei9@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2021-04-16; 修回日期: 2021-05-17; 网络出版日期: 2021-05-21

目前,古菌家族主要包含约 30 个门,隶属于四个超级门:广古菌、TACK、DPANN 和 Asgard。其中, TACK 包括奇古菌门、泉古菌门、深古菌门 (*Bathyarchaeota*)^[17]、初古菌门 (*Korarchaeota*)^[18]、*Geothermarchaeota*^[19]、*Marsarchaeota*^[20]、*Nezarchaeota*^[21]、韦斯特古菌门 (*Verstraetearchaeota*)^[19,22] 和曙古菌门 (*Aigarchaeota*)^[23]。DAPNN 主要包括 *Diapherotrites*^[24]、*Aenigmarchaeota*^[24]、微古菌门 (*Parvarchaeota*)^[25–26]、纳古菌门 (*Nanoarchaeota*)^[27–28]、盐纳古菌门 (*Nanohaloarchaeota*)^[29]、佩斯古菌门 (*Pacearchaeota*)^[25]、乌斯古菌门 (*Woesearchaeota*)^[25]、*Micrarchaeota*^[25–26]、*Altiarchaeota*^[27] 和 *Huberarchaeota*^[27]。Asgard 则包括洛基古菌门 (*Lokiarchaeota*)^[30]、索尔古菌门 (*Thorarchaeota*)^[31]、海拉古菌门 (*Helarchaeota*)^[32]、奥丁古菌门 (*Odinarchaeota*)^[33]、海姆达尔古菌门 (*Heimdallarchaeota*)^[33] 和葛德古菌门 (*Gerdarchaeota*)^[34]。TACK 的不同门之间的代谢功能差异很大。DAPNN 的一些成员被假设为具有共生或寄生的生活方式。Asgard 超级门的成员被认为是与真核生物关系最密切的原核生物。例如, Asgard 古菌成员含有编码真核生物特征蛋白的基因,而这些基因曾被认为是真核生物所特有^[30,32–34]。尽管迄今为止只获得了极少的纯培养古菌菌株,但包括宏基因组学和单细胞基因组学在内的非培养技术能够极大地帮助我们拓宽对古菌多样性和功能的理解^[24]。此外,组学数据结果也可为未培养古菌的富集培养提供指导^[35]。

海洋沉积物覆盖了地球表面 70% 的面积,代表着地球上最大的微生物栖息地之一,蕴藏着和

海水一样多的生物量^[36]。“大洋钻探计划”开展近半个世纪以来,最令人激动的重要成果之一是大洋“深部生物圈”的发现,即海底沉积物深处乃至岩石中仍有生命^[37]。在过去的几十年里,科学家们通过在不同的海洋环境中进行科学的海洋钻探,探索了海底生命的性质和范围。目前,海洋沉积物中微生物细胞总数估计为 2.9×10^{29} – 5.4×10^{29} 个,占地球总生物量的 0.18%–3.6%,相当于 4 Pg 的生物量碳^[38–39]。细胞计数和孔隙水化学分析表明,海底沉积物中的微生物呼吸速率通常极低,平均每细胞每年转移 2.8×10^{-18} 至 1.1×10^{-14} 摩尔电子,这取决于电子供体和受体的可用性^[40–41]。单细胞靶向稳定同位素探测培养和纳米级二次离子质谱研究表明,在不同深度范围的海底沉积物样品中(包括来自 2 km 深的缺氧中新世沉积物^[42]和距今 101.5 Ma 的含氧沉积物^[43]),大多数微生物细胞都能将碳、氮化合物同化为细胞生物量。另外,基于沉积物中古菌膜脂计算出的 TEX₈₆ 指标,被广泛应用于古海水温度重建^[44],这些脂类化合物最早被认为都来自生活在海洋表层的奇古菌^[44],但是,近期研究表明,海洋沉积物中原位自生的各种古菌类群,也能产生这些膜脂化合物,对 TEX₈₆ 的计算产生了一定的影响^[45]。由此可见,古菌作为海洋沉积物中微生物的重要组分,在生物地球化学研究中扮演着极为重要的角色。

尽管几十年来对各种海底沉积生境中的微生物生物量进行了广泛的探索,但古菌的丰度和分布仍然存在争议^[46]。本文综述了近岸与远洋深部生物圈中古菌的水平分布,并以上覆水体古菌为比较对象,探讨了深部生物圈中古菌的独特之处,同时,对常见古菌的分布、代谢和环境适应机制进行了总结。

1 古菌在近岸与开阔大洋深部生物圈中分布的比较

海底以下沉积环境中含有数量可观的微生物, 它们分别在近岸沿海和开阔海洋环流之下构成厌氧微生物生态系统^[39]和好氧微生物生态系统^[40]。微生物生物量、多样性和丰富度一般随着沉积物深度和埋藏时间的增加而降低^[38,47]。在沿海富含有机质的缺氧沉积物中, 细胞丰度通常比在开阔大洋贫有机质的含氧沉积物中高出一个数量级^[40]。最近一项研究利用基于微流控技术的数字 PCR 分析表明, 在海洋边缘和开阔大洋, 古菌 16S rRNA 基因占总 16S rRNA 基因(即古菌和细菌的 16S rRNA 基因)的相对丰度平均分别为 22.6% 和 5.9%^[47]。这种差异可能意味着古菌对厌氧微生物生态系统的贡献比对好氧微生物生态系统的贡献更大^[47]。为了评估古菌细胞在原核生物群落中的比重, 采用 16S rRNA 基因在古菌和细菌基因组上的平均拷贝数(分别为 1.7 和 4.7 拷贝/基因组)^[48], 估计古菌占海洋沉积物细胞总数的 37.3%, 相当于 1.1×10^{29} 个细胞, 其中海洋边缘沉积物中的古菌比例明显高于远洋沉积物(分别为 40.0% 和 12.8%)^[47]。

到目前为止, 大多数研究都集中在相对富含有机质的沉积物^[49]。然而, 大于 2000 米水深的深海沉积物覆盖的范围高达海底总面积的 89%^[50], 与大陆边缘或沿海沉积物相比, 它们通常具有贫营养、有机碳含量较低(<1%)、沉积速率较慢等特点^[50]。氧或硝酸盐等电子受体在这些贫营养沉积物中可穿透至几米^[51]或几十米^[52]的深度。与此形成鲜明对比的是, 在富含有机物质的大陆边缘或陆架沉积物中, 这些强电子受体仅在几厘米范围

内就被消耗殆尽。贫营养沉积物中氧化区和硝酸盐还原区的扩大是碳沉积速度缓慢和微生物对有机碳再矿化作用的结果。在覆盖地球大部分表面的贫营养海洋沉积物中, 强电子受体类型和较慢的电子供体沉积速率的综合作用, 导致该环境下的微生物代谢活动受到明显的限制^[53]。除了氧和有机碳浓度外, 可能限制深层沉积生物圈古菌群落的因素还包括温度、盐度、压力、pH、沉积物孔隙度或渗透性等。例如, 如果沉积物中没有流体传输(断层流动、泥火山活动和碳氢化合物渗漏), 且质子泵驱动的鞭毛运动不太可能在如此低的能量下发生, 因此微生物细胞的移动可能仅限于扩散传输^[36]。在这种情况下, 即使在孔隙度非常大的沉积层中, 微生物在 100 万年内的移动距离可能仅达到 6 m^[41,54]。根据能量可用性和微生物过程的数学模型, 维持生存所需的能量(而非生长所需的能量)是构成沉积物中微生物群落消耗的总能量的主要部分^[55]。

缺氧海底沉积物中的古菌群落的分类组成与含氧海底沉积物中古菌群落的分类组成明显不同^[36]。深古菌门、广古菌门中的底栖古菌目(*Thermopfundales*)、Asgard 古菌超级门已被确定为典型的、广泛存在于海洋缺氧沉积物中的古菌类群^[56]。这些在富含有机质的缺氧沉积物中占据主导地位的古菌类群通常在贫营养沉积物中也会存在较低丰度^[53]。与厌氧群落相反, 好氧沉积物中古菌群落由奇古菌门的成员(如 *Nitrososphaerales*)主导。奇古菌的这种优势表明海水微生物被掺入到含氧沉积物中并在那里定殖的可能性^[57]。此外, 在部分研究所获得的沉积物中, 乌斯古菌门、*Hadesarchaeaeota*、纳古菌门占古菌群落总丰度的比例很高^[36,58]。研究发现, 古菌 16S rRNA 基因的

相对丰度通常随着钻探地点水深的增加而降低,表明水深是制约古菌相对丰度的关键环境因子之一,原因可能是有机物从水体光合带向下沉积到不同深度的海底时,其剩余部分在质量和数量上的差异^[59]。有机物的不同可能导致不同的氧气消耗速率,从而导致沉积物中不同的氧气浓度。此外,与水深相关的任何其他因素也可能影响沉积生境中的古菌种群。

驱动贫营养沉积物中的古菌群落结构有别于富营养的因素可能是:(1) 难降解有机物分布差异。在颗粒下沉过程中,有机物的组成和数量会发生显著变化,在通过深海水柱后,预计会变得更加难以降解。在对电子供体竞争激烈的贫营养沉积物中,能够代谢难降解底物的微生物比不能利用这些底物的微生物更具优势^[60]。(2) 沉降速率慢。贫营养沉积物的主要特征是沉降速率慢,导致微生物可利用的底物含量很低,能量也很有限。随着进入沉积物的有机碳被微生物降解,惰性的有机质变得越来越丰富起来^[53]。(3) 高能电子受体的深度渗透。由于沉降量和碳通量的减少导致电子受体耗尽的速度变慢,高能电子受体(氧、硝酸盐)在贫营养沉积物中渗透到更大的深度范围,而非被限制在表层沉积物中。因此,能够高效利用这些受体的特定古菌谱系在贫营养沉积物中占优势^[47]。

若以电子受体组成梯度划分沉积物的营养状态,氧气和硝酸盐渗透超过几十厘米至几米,并且没有硫酸盐消耗,这是贫营养沉积物的特征,甚至在部分超贫营养海区,如在南太平洋环流下的沉积物中,氧气的存在可从海底表层一直到玄武岩基底^[40];显示硫酸盐下降,但在几百米深的沉积物中没有耗尽,将其认为是中度营养沉积物;

富营养沉积物的氧气和硝酸盐渗透深度只有几厘米到几毫米,硫酸盐耗尽深度只有几十米甚至更少,硫酸盐的耗竭导致沉积物深层产甲烷^[53]。不同氧化还原生境的定义意味着每个生境中特定的微生物活动和生理状况,因此古菌群落沿着沉积物营养状态的梯度会发生明显的变化,中度营养沉积物作为贫营养至富营养沉积物的过渡,可能同时拥有二者的部分特定古菌类群。在超贫营养海区的沉积物中,奇古菌在古菌群落中占有绝对优势。沿着沉积物营养状态梯度,深古菌、Asgard 古菌、底栖古菌目等古菌类群在古菌群落中的比例逐渐升高,直至在富营养的缺氧沉积物中,这些古菌类群变得占据优势地位^[61-62]。

2 深部生物圈与上覆水体中古菌的比较

Tara Oceans 项目估计了近表层海洋(海平面以下 0 至 1000 m)中海洋原核生物(古菌和细菌)的全球多样性,一共包含 3.75×10^4 个基于 16S rRNA 的操作分类单元^[63]。这些海水样品的古菌群落组成随温度变化而变化,其中以奇古菌门和广古菌门中的 MG-II 古菌(*Candidatus Poseidoniales*)在古菌群落中占优势地位。相较而言,深古菌门、广古菌门中的底栖古菌目、Asgard 古菌超级门在海洋沉积物中占优势^[36]。值得注意的是,在贫营养的深海好氧沉积物古菌群落中,奇古菌门占有绝对的主导地位^[36]。在能量匮乏的有氧沉积环境中,奇古菌能够在长时间尺度上保持原位优势与海洋浮游 AOA 对营养通量较低(如氨)的贫营养环境的适应是一致的^[64],在有氧海底沉积物中,氨一般低于检测阈值^[65]。沉积物 AOA 通常代表与浮游

AOA 类群不同的谱系^[66-67], 这种分化可能由它们不同的生理适应性过程导致^[68]。海水样本中, 大多数氨氧化古菌 (AOA) 属于 MG-I.1a (包括 α -AOA、 β -AOA、 γ -AOA) 的成员^[69], 而沉积物中占主导的是 MG-I.1b 中的 *Nitrososphaerales* 的成员, 由于对光照、底物等环境因素的敏感性不同, 各个亚群在不同的环境中可能拥有各自的生存优势。此外, 海洋沉积生物圈中古菌的相对丰度与全球海洋中的估计值相似, 分别为 37.3% 和 41.9%, 这表明古菌在整个海洋水体和沉积物微生物生态系统中的生物量可与细菌相媲美^[47]。

在描述生活在北大西洋超贫营养海区沉积物中的好氧微生物群落的多样性、丰富度、功能潜力和生存能力的一项研究中发现, 所提取的 DNA 主要是来自生活在沉积物中的活细胞, 大部分胞外 DNA (environmental DNA) 都与粘土矿物发生了化学结合而对 DNA 提取具有抵抗力, 并且培养实验表明沉积物中的活细胞可以利用与矿物质结合的 eDNA 作为生长底物^[70]。这些实验结果表明在该研究中所提取的 DNA 主要来源于沉积物中的活细胞。

3 深部生物圈中的常见古菌

3.1 奇古菌门 (*Thaumarchaeota*)

Marine Group I (MG-I) 古菌最早发现于温带海水中^[3]。MG-I 古菌分布广泛, 在近岸水域及开阔大洋区域都十分普遍, 在这些地区的微生物群落中占有相当大的比例^[71]。氨氧化古菌 (AOA) *Nitrosopumilus maritimus* SCM1 的成功分离, 证实了古菌具有氨氧化的能力^[72]。对编码氨单加氧酶 (AMO) α 亚基的古菌 *amoA* 基因的分析表明, 具有氨氧化潜力的古菌在自然环境中普遍存在^[66,73-74]。

目前, 分离得到的纯培养海洋奇古菌菌株很少, 且都属于 *Nitrosopumilaceae* 科的成员^[72]。

然而, 并不是所有的奇古菌都是氨氧化古菌, 也不是所有的 AOA 都是专性自养氨氧化菌。前人已研究发现属于奇古菌的非 AOA 成员^[24,75-77], 这些非 AOA 成员在奇古菌系统发育树上形成了基础类群 (group I.1c), 代表了奇古菌系统发育树中最深的谱系^[76]。陆地上的非 AOA 成员被认为是 AOA 的祖先, 它们在获得 AOA 的好氧氨氧化、钴胺和生物素生物合成途径后, 将它们的栖息地扩展到海洋环境, 这一过程可能主要是由氧气推动的^[78]。此外, 非 AOA 成员既可以在厌氧条件下生长, 也可以在有氧条件下生长, 氧气可能会影响非 AOA 成员群落的多样性和结构^[79]。

一些沿海 AOA 菌株能够吸收和同化有机碳化合物, 被认为是营混合营养生活^[80]。作为混合营养的证据, α -酮酸不仅能够增强一些 AOA 的活性, 还在 H_2O_2 的解毒中发挥着重要作用^[81]。因此, 明确 AOA 是利用有机化合物提供生长所需的能量, 还是将其用于其他生理代谢途径来改善自身的生长状况是非常重要的。奇古菌 Group I.1b (*Nitrososphaeraeae*) 的成员在污泥中过着异养的生活方式, 但它们编码了 *amoA* 基因^[82]。这表明, 在特定条件下, 并不是所有的 AOA 都是专性自养氨氧化菌。然而, 没有明确的证据表明这些异养的 AOA 不能自养或实际上是混合营养。有趣的是, 发现了一组与 AOA 关系密切的海洋奇古菌姊妹类群, 它们不属于基础类群, 且缺乏氧化氨和 AOA 特定的碳固定的能力^[77,83]。根据宏基因组学数据, 这一组奇古菌广泛存在于海洋环境中, 其基因组小于 AOA, 并且可能编码在核苷酸清除中发挥作用的 III 型核酮糖-二磷酸羧化酶

(rubisco)^[77,83]。这一组 AOA 姊妹群的发现改变了人们对奇古菌代谢多样性的认识。

氨氧化古菌是地球上普遍存在的氨氧化生物之一, 栖息于温和和极端环境中, 也被发现是海洋无脊椎动物的共生菌^[84-85]。一些 AOA 培养物的生长温度高达 70 °C 以上^[86], pH 值范围为 4.0 至 7.5^[87]。然而, 在较宽的温度(0.2 °C 至 97 °C)^[88]、pH (2.5 至 9.0)和盐度(从 0 至 38 psu)^[89]范围, 都发现了古菌 *amoA* 基因。这一发现意味着 AOA 或 *amoA* 编码古菌(AEA)可能会比目前所了解的更为普遍。根据许多基于 *amoA* 基因的研究, AOA 或 AEA 的分布和丰度与环境密切相关。它们通常可以分为海洋和陆地类群^[73,90]。海洋类群的分布主要与水深有关, 反映了不同生态类型对不同光照和氨浓度的响应和适应^[69,91], 而陆地类群主要按 pH 值划分^[92]。

细菌 *amoA* 基因的转录随着溶解氧(DO)浓度的降低而降低, 而 DO 的变化对古菌 *amoA* 基因的转录没有显著影响, 不同的氨氧化微生物对沉积物溶解氧的变化具有不同的响应^[93]。古菌 *amoA* 基因通常在海洋氧极小区或缺氧区高度丰富^[94]。光线也会影响 AOA 的分布, 古菌 AMO 酶比细菌 AMO 酶对光抑制更敏感^[95], 这会导致海洋次表层中 AOA 的富集。此外, 温度对 AOA 的多样性和分布也有影响^[96]。这是因为温度变化可能会影响底物的利用率, 这对于微生物生长是至关重要的^[97]。光和温度的季节性变化是控制不同 AOA 物种分布的重要因素^[98]。AOA 被认为是贫营养环境(例如贫营养海洋)中氮循环的主要参与者^[66,89]。在某些富营养化河口和湖泊, 它们也被认为是主要的氨氧化者^[99]。磷酸盐通常会限制近岸海区水生微生物的生长。因此, 据报道, 河口 AOA 具有许

多与磷酸盐转运相关的基因以及与磷酸盐获取相关的调控系统^[100]。或者, 它们可以通过使用多磷酸盐酶和磷酸酶来利用各种类型的磷源^[101]。在珠江口和九龙河口等富营养化河口, AOA 基因组编码参与重金属运输和调控系统以及碳水化合物代谢的额外基因, 这可能是适应这些河口富营养化和重金属污染的重要策略^[100-101]。这些环境参数(特别是盐度和铵盐浓度)对 AOA 分布的影响因物种而异^[102], 这表明 AOA 能够很好地适应同环境。

研究发现, AOA 生态型之间的基因组差异与栖息地密切相关。例如, 编码 K⁺转运蛋白的基因 *kefA* 很少出现在陆地 AOA 类群中, 而是主要由海洋 AOA 所拥有, 这被解释为对水生环境中渗透压的适应^[78]。从河口沉积物中富集的低盐度类型 *Candidatus Nitrosoarchaeum limnia* (*N. limnia*)菌株 SFB1 优先生活在低盐度环境中, 但也可以在淡水和高盐度条件下生长, 其基因组编码许多机械敏感通道蛋白, 这是保护微生物免受低渗性休克所必需的^[103]。此外, 生活于浅水区的 AOA 成员通常编码 *uvr* 系统和 *pst* 系统, 它们分别对修复磷限制下的紫外线诱导的 DNA 损伤和竞争性获取磷酸盐很重要。这些基因在深水区成员的基因组中并未找到, 这与深海中缺少光线以及磷酸盐不受限制的环境条件相一致^[69,78]。表层水比深层水的氧化应激更为明显, 这主要是由于许多光化学和光合作用过程产生的活性氧种类较多^[104]。因此, 上层 AOA 比深层 AOA 编码更多与超氧化物歧化酶相关的基因^[69]。此外, 与中层 AOA 相比, 上层 AOA 与信号转导和调控机制相关的基因更丰富^[105], 这可能会对适应不断变化的海洋环境至关重要。

不同的奇古菌系统发育谱系在不同的水深中占主导地位: 表层水体中存在的奇古菌序列非常少^[106-107], 这可能是由于古菌 AMO 酶对光抑制很敏感; 在光合作用带下部和中层海洋上部区域 (约 50–500 m) 通常是 β -AOA (如 *Candidatus Nitrosopelagicus brevis*) 的成员占主导地位^[106,108-109]; γ -AOA 在水体中分布广泛, 在中深层水体 (>2000 m) 中占据明显优势^[69,107,110]; α -AOA (如 *Nitrosopumilus* 属) 在全球海洋中都普遍存在, 研究发现其在超深渊水体 (>8000 m) 的奇古菌群落中占有优势地位^[106,111-112]。 α -AOA 可能由单一的系统型组成^[112], 由于编码类似凝血酶原蛋白的胞外结构基因的存在, α -AOA 的基因组可能会经历较少的基因流动。这种结构包含 5 个 Ca^{2+} 结合域, 可以调节细胞结构的粘附性, 从而导致 α -AOA 的发散度较小^[109]; 而 γ -AOA 有多种系统型, 其较大的物种多样性导致在宏基因组分析时难以获得其高质量的基因组^[107,112]。

对于生活在超深渊区海水中的 α -AOA, 氨氧化和通过改进的 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸 (3-HP/4-HB) 循环固定碳被认为是化学自养生长的核心途径。其中, 改进的 3-HP/4-HB 循环被认为是在有氧条件下固碳的最有效途径, 且非常适合古菌在低能量供应下的生活方式^[113]。除此之外, 不完全的三羧酸循环和非氧化性戊糖磷酸途径普遍存在于海洋 AOA 中, 包括超深渊区的 α -AOA。尿素是海水中常见的一种分子, 各种 *Nitrosopumilus* 菌株都能以尿素作为唯一能源生长^[80,114]。

一些海洋生物通过合成渗透保护剂来适应超深渊区的极端压力, 避免体内蛋白质发生变性^[115-116]。基因组分析表明, 一些 *Nitrosopumilus* 属的成员具有合成渗透蛋白的遗传潜力^[111]。在超

深渊区的 α -AOA 中发现了一个与肌醇-1-磷酸胞苷基转移酶 (IPCT) 和二肌醇-磷酸合酶 (DIPPS) 有关的基因组岛^[107], 这些基因参与一种关键的渗透保护剂——磷酸二肌醇 (DIP) 的生物合成, 该渗透保护剂以前在许多嗜嗜热古菌和细菌中发现^[117]。此外, 在该基因组岛中还发现了负责肌醇单磷酸水解以产生磷酸盐和肌醇的肌醇-1-单磷酸酶 (IMPA) 基因^[107], 肌醇是一种常用的渗透保护剂和 DIP 的前体, 肌醇的生成被认为是古菌适应深海的一个关键机制^[109]。在深海 AOA 谱系中发现的甘氨酸裂解系统也可能在渗透调节中发挥作用, 并且表明甘氨酸的积累或利用可能在深海古菌分支中普遍存在^[107,109]。除了渗透保护剂外, 伴侣蛋白还可以帮助蛋白质正确折叠, 并在高静水压下保持其功能^[107]。在超深渊区 AOA 中发现的独特的、非典型的 ATP 合成酶也可能是适应压力升高的关键因素^[118]。

深海沉积 AOA 和浮游 AOA 在利用有机氮进行混合营养方面表现出很大的一致性: 宏基因组分析表明, 它们对肽和氨基酸的代谢潜力比糖和尿素的代谢潜力大几个数量级, 表明肽和氨基酸是 AOA 混合营养的重要碳源^[70,119]; 编码氨裂解酶、脱氨酶和蛋白酶的基因普遍存在于深海沉积物 AOA 中, 氨裂解酶和脱氨酶是降解有机氮化合物 (氨基酸、核苷酸和蛋白质) 过程中负责产氨的主要酶类^[120]。此前认为, 在深海沉积物中, AOA 主要利用由脱氨异养细菌产生的氨^[121]。最近的研究通过宏基因组分析发现, 贫营养沉积物中的 AOA 具有与深海浮游 AOA 相同的潜在的独特氨浓缩机制, 以适应环境中极低的氨浓度。它们有可能通过胞内脱氨并氧化, 从而显著地限制了氨的扩散损失, 在能源匮乏的环境中代表着一种适应性

优势^[65,70]。3-羟基丙酸/4-羟基丁酸(3-HP/4-HB)循环是仅由 AOA 编码的碳固定途径,是最节能的有氧固定碳途径^[113]。氧化由有机氮脱氨作用产生的细胞内再生氨有可能提供额外的能量来驱动 3-HP/4-HB 固碳循环,从而将混合营养代谢和化学自养代谢结合起来^[70]。这种新陈代谢特征可能会减少能量损失,改善 AOA 在能源匮乏、有氧条件下的生长状况,从而使它们在数百万年的时间里保持其在深部生物圈中的优势地位。

3.2 深古菌门(*Bathyarchaeota*)

深古菌是新近提出的古菌门,以前被称为 Miscellaneous Crenarchaeotal Group 古菌^[17],广泛存在于各种环境,如红树林湿地^[122]、深海沉积物^[123]、热泉^[124]、河口^[125]等,具有高度的系统发育多样性和丰富性。深古菌作为淡水和海洋沉积物中最主要且最活跃的微生物类群之一,其相对丰度可占总古菌丰度的 $36\% \pm 22\%$ ^[126]。然而在深渊沉积环境中,现在仅在雅浦海沟 6500 m 水深的表层沉积物中检测到深古菌^[127]。目前,深古菌门被划分为 25 个亚群^[128],其中亲缘关系最远的深古菌成员的 16S rRNA 基因序列仅有 76% 的相似性^[123]。虽然还没有获得其成员的纯培养或富集培养,但宏基因组学和单细胞测序的数据分析在很大程度上揭示了深古菌亚群的代谢能力、生态功能、底物偏好和生态位差异。

盐度被认为是影响深古菌群落结构的最重要的环境因子之一^[126,129]。不同的深古菌亚群是不同盐度环境的生物指标类群:亚群 1 和亚群 8 是海洋指标,亚群 5 和亚群 11 是淡水指标;深古菌的进化主要发生在从咸水到淡水的方向^[126,130]。此外,亚群 3、4、13 和 16 被确定为河口的指标亚群^[129]。深古菌亚群的分布被认为与环境密切相关,

在谱系中具有巨大的多样性。如在南海沉积物环境中,亚群 6 主要分布于氧化层和表层沉积物中,而亚群 8 通常在还原层和深层沉积物中占优势^[131–132]。亚群 15 和亚群 17 广泛存在于淡水和海洋沉积物中,随着深度和氧化还原条件的变化,亚群 15 的丰度相对稳定^[131]。亚群 5a 和亚群 5b 主要分布于静止、缺氧、富含硫化物和还原性有机物的底层水体中,而亚群 6 则广泛分布于各类沉积物^[8]。这些亚群的环境特异性分布突出了深古菌在特定生境中独特的代谢能力、潜在的生态功能和适应策略。

盐度和氨氮水平是影响珠江口表层沉积物中深古菌分布的主要因素^[125]。另一方面,影响滨海红树林和湖泊沉积物中深古菌群落结构的主要因素是 pH 和氧气水平,而非盐度^[122,133–134]。此外,在黄海南部和东海北部,水深、温度和盐度是决定表层沉积物中深古菌分布的关键因素^[135]。同样,水深是解释深古菌从近岸浅海到南海北部深海的分布格局的主要变量^[132]。深古菌的总丰度随着沉积物深度的增加而增加,这可能是由于不同的沉积物类型产生了多种代谢方式,从而塑造了不同深度的古菌多样性^[136]。在南海沉积物岩芯和滨海红树林沉积物中,深古菌的丰度还与总有机碳浓度呈正相关^[122,131,133–134]。

基因组分析表明,深古菌的代谢类型为兼性厌氧^[128],它们是底栖碳循环的重要参与者,可能通过甲烷代谢或乙酰化作用,降解各种有机化合物,包括碎屑蛋白质、芳香族化合物、多聚碳水化合物、脂肪酸^[17,137–139]等。目前,还在深古菌的基因组中发现一种利用丁烷代替甲烷的独特甲基辅酶还原酶(MCR)类型^[140],表明深古菌在丁烷氧化方面的潜力。

通过在不同环境中的调查分析表明, 深古菌各亚群在代谢方面具有巨大的多样性。研究发现, 亚群 3 可以利用多肽和葡萄糖, 亚群 8 可以降解脂肪酸^[137]。在对长江口缺氧区沉积物进行的富集实验还证实了亚群 8 具有木质素降解潜能, 且通过 ¹³C 同位素发现该类群能以碳酸氢盐作为碳源^[141]。陆源的木质素是长江口沉积物中的重要有机质组分^[142], 而长江口地区的深古菌绝大部分(超过 70%)属于亚群 8, 表明亚群 8 在该区域难降解有机质的降解过程中发挥重要作用, 是长时间尺度的碳循环中的关键环节^[141]。对来自白栎河口沉积物的深古菌基因组的研究发现, 亚群 6 具有水解胞外植物来源的碳水化合物的能力^[139], 亚群 1、6、15 和 17 都能降解碎屑蛋白质, 且在这四个基因组中都检测到编码参与乙酸生成以及还原性乙酰辅酶 A 途径的基因^[139], 因此它们可能是有机异养和自养产乙酸菌。在这些基因组中还发现了与异化亚硝酸盐还原为铵有关的基因, 表明对亚硝酸盐有潜在的还原能力^[139]。此外, 亚群 13、16、21 和 22 也被推测是乙酸菌, 可以利用不同的有机底物进行发酵^[138]。最近, 在亚群 6 的基因组中发现存在视紫红质基因、钴胺生物合成基因和依赖氧的代谢途径, 表明在该亚群中可能存在一种对光敏感和微好氧的生活方式^[133]。在亚群 6、8、15 和 17 中发现了 III 型 RuBisCO 基因和磷酸核酮酸激酶基因, 暗示深古菌可能参与 Calvin-Benson-Bassham 循环来固定二氧化碳^[133]。此外, 来自热液环境的亚群 21 和亚群 22 可能代表了深古菌的古老类型, 暗示着深古菌可能起源于海底热液或陆地热泉等热环境^[124]。深古菌基因组中的不断研究, 扩大了已知古菌的代谢潜力, 并突显了深古菌在底栖碳循环中的关键作用。

近年来, 基因组学方面的证据表明, 深古菌在底栖氮循环和硫循环中也发挥着重要作用。目前, 已经在深古菌基因组中发现了多种与氮代谢相关的基因, 如氨转运蛋白(*amt*)、羟胺还原酶(*hcp*)和固氮酶铁蛋白(*nifH*)基因^[133]; 在亚群 6、8 和 15 中发现了潜在的尿素产生途径, 包括精氨酸酶(*rocF*)和胍丁酶(*speB*)途径^[133]; 这表明深古菌可能具备利用各种高价含氮化合物生成铵盐并转换为尿素的能力。此外, 深古菌可能利用氢酶/硫还原酶(*hydA*)将 S^0 还原为硫化物, 而亚群 15 和亚群 17 编码与硫酸盐还原有关的基因, 亚群 6 的基因组含有硫代硫酸盐还原基因^[133]。

深古菌可能通过产甲烷和产乙酸过程与其他微生物密切相互作用。例如, 其他异养和乙酰碎屑微生物可能以深古菌产生的乙酸为食^[138-139], 而基因组分析表明深古菌可能具有厌氧甲烷氧化能力。提出了海洋细菌、硫酸盐还原菌和厌氧甲烷氧化古菌之间可能的相互作用^[128,137]。深古菌还能在不同的环境中充当“关键种”, 维持古菌群落的稳定性和适应性^[129]。从遗传学角度推断, 深古菌和底栖古菌目之间存在潜在的共生或协同关系, 因为它们具有相似的途径, 包括乙酰化和蛋白质降解途径^[138-139,143]。然而, 这些假说大多是基于有限的基因组信息。详细的代谢功能和相互作用需要进一步的生理探索, 进行更精确和严格的实验验证。

3.3 底栖古菌目(*Thermoprofundales*)

底栖古菌目(以前被称为 MBG-D 古菌), 是隶属于广古菌门热源体纲(*Thermoplasmata*)下的一个新目, 广泛分布于海洋沉积物、海底热液口和红树林沉积物等生境^[143-144]。底栖古菌目是全球海洋沉积物中发现最多的古菌谱系之一, 分布广泛,

丰度高, 共有 16 个亚群^[143]。其特定亚群与特定环境条件之间存在关联: 亚群 3 与亚群 4 主要分布于高盐环境中, 亚群 8c 在中盐环境中占主导地位, 亚群 9c 和亚群 9b 是非盐环境中的优势类群; 亚群 6 和亚群 7 是甲烷渗漏环境中的优势类群, 而亚群 9c 在非渗漏区占主导地位^[143]。

通过宏基因组学、宏转录组学和单细胞基因组的分析研究, 目前已经对底栖古菌目的代谢潜力和生态功能有了一定了解。底栖古菌目可能运输和同化多肽, 并通过发酵产生乙酸和乙醇^[145]。宏转录组的分析表明, 乙酸和氨基酸利用相关基因以及肽酶基因在底栖古菌目内均有高表达。除了异养碳代谢外, 底栖古菌目基因组还包括可能编码两种自养途径的基因: 以四氢甲烷蝶呤和四氢叶酸为 C₁ 载体的 Wood-Ljungdahl (WL) 途径, 以及在二羧化过程中从丙酮酸到苹果酸/草酰乙酸酯交替旁路的不完全二羧酸/4-羟基丁酸循环^[143]。这些发现揭示了底栖古菌目是一个重要且普遍存在的、具有特殊混合营养代谢途径的古菌类群。此外, 共现性分析表明, 底栖古菌目与深古菌、洛基古菌和 *Hadesarchaea* 之间存在显著的非随机关联, 表明这些古菌类群之间存在潜在的相互作用^[30,143,146]。

3.4 Asgard 古菌超级门

Asgard 古菌, 以前被称为 Marine Benthic Group B (MBG-B)^[147] 和 Deep-Sea Archaeal Group (DSAG)^[148], 广泛分布于深海沉积物、河口、红树林湿地沉积物、海底热液等环境中^[149], 主要是栖息在缺氧生境中^[53,62], 其相对丰度与沉积物中的有机质含量密切相关^[53]。Asgard 古菌内的各个古菌门的分布各有其特点: 洛基古菌和索尔古菌广泛分布于各类不同生境中^[33-34,149-150], 奥丁古

菌在地热环境中最为丰富^[151], 海姆达尔古菌通常在海洋沉积物中最为常见^[152-153], 海拉古菌在深海热液沉积物中有所发现^[32], 葛德古菌则主要分布于河流、湖泊和海洋的沉积物中^[34]。

尽管目前尚未获得 Asgard 古菌的纯培养菌株, 但 Imachi 等于 2020 年获得的洛基古菌富集培养物^[154]以及越来越多的基因组学研究正不断揭示 Asgard 古菌的代谢潜能和生态功能。基因组学分析表明, Asgard 古菌可能在碳、氮、硫循环中发挥重要作用。洛基古菌被认为是氢依赖型古菌, 且能够代谢卤化有机化合物^[155]。索尔古菌被认为是营混合营养的, 不仅能够利用卤化有机化合物、丙酮酸盐和蛋白质水解产物, 还能参与固氮和发酵产乙醇过程^[150,156]。在海姆达尔古菌的基因组中发现了编码视紫红质的基因, 且可能具有微好氧的代谢途径^[152-153]。海拉古菌具有激活并厌氧氧化水热作用产生的短链碳氢化合物的潜力^[32]。葛德古菌具有利用有机碳和无机碳的混合营养代谢潜力^[34]。此外, Asgard 古菌被认为是真核生物和原核生物之间的桥梁, 因为它们在系统发育上与真核细胞相近, 并编码许多与真核特征蛋白相关的基因, 这些基因以前被认为是真核生物所特有的^[33]。最近, 李猛等通过比较分析了 Asgard 古菌的 162 个完整或几乎完整的基因组, 包括 75 个未报道的宏基因组组装的基因组, 发现了 6 个 Asgard 古菌新门, 分别命名为霍德尔古菌(*Hodarchaeota*)、卡瑞古菌(*Kariarchaeota*)、包尔古菌(*Borrarchaeota*)、巴德尔古菌(*Baldrarchaeota*)、赫尔莫德古菌(*Hermodarchaeota*) 和 悟空古菌(*Wukongarchaeota*)。悟空古菌具有氨氧化的化能自养代谢潜能, 显著区别于其他 Asgard 古菌混合营养或异养的代谢模式。并且较其他 5 个 Asgard

古菌新门而言, 悟空古菌更加古老^[157]。此外, 该研究的结果表明, 真核生物起源于 Asgard 古菌内部, 即海姆达尔-悟空的共同祖先分支, 或起源于其他更古老的未知古菌分支^[157]。该研究还重构了 Asgard 古菌关键代谢途径的演化过程, 提出了真核生物可能起源于“自养型 Asgard 古菌与发酵型细菌”的代谢共生模式, 为解答真核生物起源这一重大科学问题提供了新的见解^[157]。

3.5 乌斯古菌门(*Woesearchaeota*)

乌斯古菌(以前被称为 Deep-sea Hydrothermal Vent Euryarchaeota Group-6, DHVEG-6)是 DPANN 古菌超级门中最丰富且普遍的古菌门之一^[25,158], 目前被划分为 26 个亚群^[159], 广泛分布于淡水、海水^[160]、淤泥^[161]、深海热液^[30]、深渊海沟^[58,162]等环境中。氧气被认为是驱动乌斯古菌分布与进化的重要环境因素^[159]。乌斯古菌在中低纬度河口的丰度与多样性均要高于高纬度河口, 其群落结构主要由温度、盐度和氧气含量决定^[159]。在深渊海沟沉积物中, 乌斯古菌是仅次于奇古菌的高丰度古菌类群之一^[58,162]。

通过宏基因组分箱技术已经构建出乌斯古菌的完整基因组, 其大小仅为 0.8 Mb, 缺失了一些核酸合成和糖代谢相关基因, 并存在一些分解肽聚糖的壁质转糖类似基因, 因此乌斯古菌可能与革兰氏阴性菌存在共生或者寄生关系^[25]。此外, 乌斯古菌还可能与产甲烷菌存在共生关系, 乌斯古菌可能通过发酵有机物产生乙酸、氢气和甲基化合物, 这些发酵产物可能会支持产甲烷菌的生长, 来换取一些氨基酸和其他化合物^[159]。在深部生物圈中, 乌斯古菌的一些成员能够进行有氧 H_2 氧化, 这是深海沉积物能量代谢的一种潜在的重要形式^[25,163]。

4 展望

随着高通量测序技术的发展, 越来越多的未培养古菌逐渐被人们所熟知, 但由于目前所获得的纯培养古菌菌株有限且古菌分离难度较大, 因而对于古菌生理特征、代谢机制、生态功能的了解大多是基于宏基因组学和单细胞基因组学的研究, 仍然缺乏实质性的证据。考虑到古菌在全球生物地球化学循环中的重要作用, 古菌生态学的研究仍将有很长一段路要走。这里提出几个未来研究的方向与重点以供参考。

(1) 根据宏基因组、宏转录组、单细胞基因组学等组学技术所获得的古菌的潜在生理特征和代谢机制, 为古菌的纯培养和富集培养提供针对性的指导, 提高古菌培养的效率, 基于培养的方法必然会继续为古菌的生理学和新陈代谢提供重要的新见解。

(2) 改进和发明新的、更有效的微生物培养策略, 包括培养条件的大规模平行变化, 使用改进的较低培养量和低细胞密度的培养和表征策略, 以及微生物组合与共培养的富集与代谢剖析。

(3) 多学科交叉合作, 结合生物、化学、地质等学科方法量化古菌在全球生物地球化学循环中的贡献。

(4) 结合组学数据, 在富集实验中剖析古菌与古菌、古菌与细菌、古菌与环境因子之间的关系。

(5) 关于不同海洋古菌的生理代谢、古菌蛋白质和酶的异源表达以及随后的生化特性也是非常有价值的研究方向。

(6) 古菌病毒和其他可移动元件是海洋古菌研究的另一个新兴领域。利用宏基因组学、宏转录组学、单细胞基因组学, 以及最终的古菌纯培养, 将了解它们的病毒多样性、病毒-宿主相互

作用和水平基因转移提供新的见解。

(7) 对海洋古菌进行平行分析, 以进一步评估它们的核心基因组、泛基因组和代谢谱、它们的病毒和可移动元件, 以及它们与环境 and 群落的相互作用。

(8) 真核生物的起源和细胞复杂性是生物学研究中的一个重大科学问题。古菌作为在系统发育上与真核生物最近并编码许多与真核特征蛋白相关的基因的原核生物, 研究其与真核生命起源的关系将对整个地球生命演化的理论体系产生重大影响。

参考文献

- [1] Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1977, 74(11): 5088–5090.
- [2] Britschgi TB, Giovannoni SJ. Phylogenetic analysis of a natural marine bacterioplankton population by rRNA gene cloning and sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(6): 1707–1713.
- [3] DeLong EF. Archaea in coastal marine environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(12): 5685–5689.
- [4] Woese CR, Magrum LJ, Fox GE. Archaeobacteria. *Journal of Molecular Evolution*, 1978, 11(3): 245–252.
- [5] Fuhrman JA, McCallum K, Davis AA. Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature*, 1992, 356(6365): 148–149.
- [6] Barns SM, Fundyga RE, Jeffries MW, Pace NR. Remarkable archaeal diversity detected in a Yellowstone National Park hot spring environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(5): 1609–1613.
- [7] Brochier-Armanet C, Boussau B, Gribaldo S, Forterre P. Mesophilic crenarchaeota: proposal for a third archaeal Phylum, the Thaumarchaeota. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(3): 245–252.
- [8] Fillol M, Sánchez-Melsió A, Gich F, Borrego CM. Diversity of Miscellaneous Crenarchaeotic Group Archaea in freshwater karstic lakes and their segregation between planktonic and sediment habitats. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(4): fiv020.
- [9] Xie W, Jiao N, Ma CL, Fang S, Phelps TJ, Zhu RX, Zhang CL. The response of archaeal species to seasonal variables in a subtropical aerated soil: insight into the low abundant methanogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(16): 6505–6515.
- [10] Xie W, Zhang CL, Zhou XD, Wang P. Salinity-dominated change in community structure and ecological function of Archaea from the lower Pearl River to coastal South China Sea. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(18): 7971–7982.
- [11] Xie W, Luo HW, Murugapiran SK, Dodsworth JA, Chen SZ, Sun Y, Hedlund BP, Wang P, Fang HY, Deng MH, Zhang CL. Localized high abundance of Marine Group II Archaea in the subtropical Pearl River Estuary: implications for their niche adaptation. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(2): 734–754.
- [12] Li T, Wang P, Wang PX. Microbial diversity in surface sediments of the Xisha Trough, the South China Sea. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(3): 1166–1173. (in Chinese) 李涛, 王鹏, 汪品先. 南海西沙海槽表层沉积物微生物多样性. *生态学报*, 2008, 28(3): 1166–1173.
- [13] Seyler LM, McGuinness LM, Kerkhof LJ. Crenarchaeal heterotrophy in salt marsh sediments. *The ISME Journal*, 2014, 8(7): 1534–1543.
- [14] Xie W, Zhang CL, Wang JX, Chen YF, Zhu YQ, de la Torre JR, Dong HL, Hartnett HE, Hedlund BP, Klotz MG. Distribution of ether lipids and composition of the archaeal community in terrestrial geothermal springs: impact of environmental variables. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(5): 1600–1614.
- [15] Li JT, Sun YN, Fang JS, Xie W, Peng XT, Dong L, Wu ZJ, Zhou HY. Aerobic and anaerobic ammonia-oxidizing microorganisms in low-temperature hydrothermal Fe-Si-rich precipitates of the southwestern Pacific Ocean. *Geomicrobiology Journal*, 2014, 31(1): 42–52.

- [16] Dong XZ, Li M, Xiang H, Xu J, Wang FP, Shen YL, Zhang ZF, Han J, Li J, Li M, Huang L. Unraveling the secrets of the third form of life—A review and future perspective on archaeal research in China. *Scientia Sinica: Vitae*, 2019, 49(11): 1520–1542. (in Chinese)
东秀珠, 李猛, 向华, 徐俊, 王风平, 申玉龙, 张臻峰, 韩静, 李洁, 李明, 黄力. 探秘生命的第三种形式——我国古菌研究之回顾与展望. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(11): 1520–1542.
- [17] Meng J, Xu J, Qin D, He Y, Xiao X, Wang FP. Genetic and functional properties of uncultivated MCG Archaea assessed by metagenome and gene expression analyses. *The ISME Journal*, 2014, 8(3): 650–659.
- [18] Barns SM, Delwiche CF, Palmer JD, Pace NR. Perspectives on archaeal diversity, thermophily and monophyly from environmental rRNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(17): 9188–9193.
- [19] Jungbluth SP, Amend JP, Rappé MS. Metagenome sequencing and 98 microbial genomes from Juan de Fuca Ridge flank subsurface fluids. *Scientific Data*, 2017, 4: 170037.
- [20] Jay ZJ, Beam JP, Dlakić M, Rusch DB, Kozubal MA, Inskeep WP. Marsarchaeota are an aerobic archaeal lineage abundant in geothermal iron oxide microbial mats. *Nature Microbiology*, 2018, 3(6): 732–740.
- [21] Wang YZ, Wegener G, Hou JL, Wang FP, Xiao X. Expanding anaerobic alkane metabolism in the domain of Archaea. *Nature Microbiology*, 2019, 4(4): 595–602.
- [22] Vanwonterghem I, Evans PN, Parks DH, Jensen PD, Woodcroft BJ, Hugenholtz P, Tyson GW. Methylophilic methanogenesis discovered in the archaeal Phylum Verstraetearchaeota. *Nature Microbiology*, 2016, 1: 16170.
- [23] Martijn J, Ettema TJG. From archaeon to eukaryote: the evolutionary dark ages of the eukaryotic cell. *Biochemical Society Transactions*, 2013, 41(1): 451–457.
- [24] Rinke C, Schwientek P, Sczyrba A, Ivanova NN, Anderson IJ, Cheng JF, Darling A, Malfatti S, Swan BK, Gies EA, Dodsworth JA, Hedlund BP, Tsiamis G, Sievert SM, Liu WT, Eisen JA, Hallam SJ, Kyrpides NC, Stepanauskas R, Rubin EM, Hugenholtz P, Woyke T. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. *Nature*, 2013, 499(7459): 431–437.
- [25] Castelle CJ, Wrighton KC, Thomas BC, Hug LA, Brown CT, Wilkins MJ, Frischkorn KR, Tringe SG, Singh A, Markillie LM, Taylor RC, Williams KH, Banfield JF. Genomic expansion of domain Archaea highlights roles for organisms from new Phyla in anaerobic carbon cycling. *Current Biology*, 2015, 25(6): 690–701.
- [26] Baker BJ, Comolli LR, Dick GJ, Hauser LJ, Hyatt D, Dill BD, Land ML, VerBerkmoes NC, Hettich RL, Banfield JF. Enigmatic, ultrasmall, uncultivated Archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(19): 8806–8811.
- [27] Probst AJ, Ladd B, Jarett JK, Geller-Mcgrath DE, Sieber CMK, Emerson JB, Anantharaman K, Thomas BC, Malmstrom RR, Stieglmeier M, Klingl A, Woyke T, Cathryn Ryan M, Banfield JF. Differential depth distribution of microbial function and putative symbionts through sediment-hosted aquifers in the deep terrestrial subsurface. *Nature Microbiology*, 2018, 3(3): 328–336.
- [28] Huber H, Hohn MJ, Rachel R, Fuchs T, Wimmer VC, Stetter KO. A new Phylum of Archaea represented by a nanosized hyperthermophilic symbiont. *Nature*, 2002, 417(6884): 63–67.
- [29] Narasingarao P, Podell S, Ugalde JA, Brochier-Armanet C, Emerson JB, Brocks JJ, Heidelberg KB, Banfield JF, Allen EE. De novo metagenomic assembly reveals abundant novel major lineage of Archaea in hypersaline microbial communities. *The ISME Journal*, 2012, 6(1): 81–93.
- [30] Spang A, Saw JH, Jørgensen SL, Zaremba-Niedzwiedzka K, Martijn J, Lind AE, van Eijk R, Schleper C, Guy L, Ettema TJG. Complex Archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Nature*, 2015, 521(7551): 173–179.
- [31] Lazar CS, Baker BJ, Seitz KW, Teske AP. Genomic reconstruction of multiple lineages of uncultured benthic Archaea suggests distinct biogeochemical roles and ecological niches. *The ISME Journal*, 2017, 11(5): 1118–1129.

- [32] Seitz KW, Dombrowski N, Eme L, Spang A, Lombard J, Sieber JR, Teske AP, Ettema TJG, Baker BJ. Asgard Archaea capable of anaerobic hydrocarbon cycling. *Nature Communications*, 2019, 10: 1822.
- [33] Zaremba-Niedzwiedzka K, Caceres EF, Saw JH, Bäckström D, Juzokaite L, Vancaester E, Seitz KW, Anantharaman K, Starnawski P, Kjeldsen KU, Stott MB, Nunoura T, Banfield JF, Schramm A, Baker BJ, Spang A, Ettema TJG. Asgard Archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity. *Nature*, 2017, 541(7637): 353–358.
- [34] Cai MW, Liu Y, Yin XR, Zhou ZC, Friedrich MW, Richter-Heitmann T, Nimzyk R, Kulkarni A, Wang XW, Li WJ, Pan J, Yang YC, Gu JD, Li M. Diverse Asgard Archaea including the novel Phylum Gerdarchaeota participate in organic matter degradation. *Science China Life Sciences*, 2020, 63(6): 886–897.
- [35] Mu DS, Liang QY, Wang XM, Lu DC, Shi MJ, Chen GJ, Du ZJ. Metatranscriptomic and comparative genomic insights into resuscitation mechanisms during enrichment culturing. *Microbiome*, 2018, 6(1): 1–15.
- [36] Hoshino T, Doi H, Uramoto GI, Wörmer L, Adhikari RR, Xiao N, Morono Y, D'Hondt S, Hinrichs KU, Inagaki F. Global diversity of microbial communities in marine sediment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(44): 27587–27597.
- [37] Wang FP, Chen YR. Progress and prospect in deep biosphere investigation. *Advances in Earth Science*, 2017, 32(12): 1277–1286. (in Chinese)
王风平, 陈云如. 深部生物圈研究进展与展望. *地球科学进展*, 2017, 32(12): 1277–1286.
- [38] Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari RR, Smith DC, D'Hondt S. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(40): 16213–16216.
- [39] Parkes RJ, Cragg B, Roussel E, Webster G, Weightman A, Sass H. A review of prokaryotic populations and processes in sub-seafloor sediments, including biosphere: geosphere interactions. *Marine Geology*, 2014, 352: 409–425.
- [40] D'Hondt S, Inagaki F, Zarikian CA, Abrams LJ, Dubois N, Engelhardt T, Evans H, Ferdelman T, Gribsholt B, Harris RN, Hoppie BW, Hyun JH, Kallmeyer J, Kim J, Lynch JE, McKinley CC, Mitsunobu S, Morono Y, Murray RW, Pockalny R, Sauvage J, Shimono T, Shiraishi F, Smith DC, Smith-Duque CE, Spivack AJ, Steinsbu BO, Suzuki Y, Szpak M, Toffin L, Uramoto G, Yamaguchi YT, Zhang GL, Zhang XH, Ziebis W. Presence of oxygen and aerobic communities from sea floor to basement in deep-sea sediments. *Nature Geoscience*, 2015, 8(4): 299–304.
- [41] Hoehler TM, Jørgensen BB. Microbial life under extreme energy limitation. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(2): 83–94.
- [42] Trembath-Reichert E, Morono Y, Ijiri A, Hoshino T, Dawson KS, Inagaki F, Orphan VJ. Methyl-compound use and slow growth characterize microbial life in 2-km-deep subseafloor coal and shale beds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(44): E9206–E9215.
- [43] Morono Y, Ito M, Hoshino T, Terada T, Hori T, Ikehara M, D'Hondt S, Inagaki F. Aerobic microbial life persists in oxic marine sediment as old as 101.5 million years. *Nature Communications*, 2020, 11: 3626.
- [44] Schouten S, Hopmans EC, Schefuß E, Sinninghe Damsté JS. Distributional variations in marine crenarchaeotal membrane lipids: a new tool for reconstructing ancient sea water temperatures? *Earth and Planetary Science Letters*, 2002, 204(1-2): 265–274.
- [45] Guo WT, Xie W, Li XY, Wang P, Hu AY, Zhang CL. Environmental factors shaping the archaeal community structure and ether lipid distribution in a subtropic river and estuary, China. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(1): 461–474.
- [46] Hinrichs KU, Inagaki F. Downsizing the deep biosphere. *Science*, 2012, 338(6104): 204–205.
- [47] Hoshino T, Inagaki F. Abundance and distribution of Archaea in the subseafloor sedimentary biosphere. *The ISME Journal*, 2019, 13(1): 227–231.
- [48] Stoddard SF, Smith BJ, Hein R, Roller BRK, Schmidt TM. rrnDB: improved tools for interpreting rRNA gene

- abundance in bacteria and Archaea and a new foundation for future development. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43: D593–D598.
- [49] Nunoura T, Inagaki F, Delwiche ME, Colwell FS, Ken TK. Subseafloor microbial communities in methane hydrate-bearing sediment at two distinct locations (ODP Leg204) in the Cascadia margin. *Microbes and Environments*, 2008, 23(4): 317–325.
- [50] Dunne JP, Sarmiento JL, Gnanadesikan A. A synthesis of global particle export from the surface ocean and cycling through the ocean interior and on the seafloor. *Global Biogeochemical Cycles*, 2007, 21(4): GB4006.
- [51] D'Hondt S, Jørgensen BB, Miller DJ, Batzke A, Blake R, Cragg BA, Cypionka H, Dickens GR, Ferdelman T, Hinrichs KU, Holm NG, Mitterer R, Spivack A, Wang GZ, Bekins B, Engelen B, Ford K, Gettemy G, Rutherford SD, Sass H, Skilbeck CG, Aiello IW, Guérin G, House CH, Inagaki F, Meister P, Naehr T, Niitsuma S, Parkes RJ, Schippers A, Smith DC, Teske A, Wiegel J, Padilla CN, Acosta JLS. Distributions of microbial activities in deep subseafloor sediments. *Science*, 2004, 306(5705): 2216–2221.
- [52] D'Hondt S, Spivack AJ, Pockalny R, Ferdelman TG, Fischer JP, Kallmeyer J, Abrams LJ, Smith DC, Graham D, Hasiuk F, Schrum H, Stancin AM. Subseafloor sedimentary life in the South Pacific Gyre. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(28): 11651–11656.
- [53] Durbin AM, Teske A. Archaea in organic-lean and organic-rich marine subsurface sediments: an environmental gradient reflected in distinct phylogenetic lineages. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 168.
- [54] Fenchel T. Motility of bacteria in sediments. *Aquatic Microbial Ecology*, 2008, 51: 23–30.
- [55] Bradley JA, Amend JP, LaRowe DE. Survival of the fewest: Microbial dormancy and maintenance in marine sediments through deep time. *Geobiology*, 2019, 17(1): 43–59.
- [56] Zhang XX, Li M. Distribution and metabolic features of some common archaeal groups in marine sediments. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(9): 1907–1921. (in Chinese)
- 张新旭, 李猛. 海洋沉积物中几类常见古菌类群的分布与代谢特征. *微生物学报*, 2020, 60(9): 1907–1921.
- [57] Wang FP, Zhou YH, Zhang XX, Xiao X. Biodiversity of deep-sea microorganisms. *Biodiversity Science*, 2013, 21(4): 446–456. (in Chinese)
- 王凤平, 周悦恒, 张新旭, 肖湘. 深海微生物多样性. *生物多样性*, 2013, 21(4): 446–456.
- [58] Hiraoka S, Hirai M, Matsui Y, Makabe A, Minegishi H, Tsuda M, Juliarni, Rastelli E, Danovaro R, Corinaldesi C, Kitahashi T, Tasumi E, Nishizawa M, Ken TK, Nomaki H, Nunoura T. Microbial community and geochemical analyses of trans-trench sediments for understanding the roles of hadal environments. *The ISME Journal*, 2020, 14(3): 740–756.
- [59] Lutz MJ, Caldeira K, Dunbar RB, Behrenfeld MJ. Seasonal rhythms of net primary production and particulate organic carbon flux to depth describe the efficiency of biological pump in the global ocean. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 2007, 112(C10): C10011.
- [60] Wakeham SG, Lee C, Hedges JJ, Hernes PJ, Peterson MJ. Molecular indicators of diagenetic status in marine organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1997, 61(24): 5363–5369.
- [61] Inagaki F, Nunoura T, Nakagawa S, Teske A, Lever M, Lauer A, Suzuki M, Takai K, Delwiche M, Colwell FS, Nealson KH, Horikoshi K, D'Hondt S, Jørgensen BB. Biogeographical distribution and diversity of microbes in methane hydrate-bearing deep marine sediments on the Pacific Ocean Margin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(8): 2815–2820.
- [62] Lauer A, Sørensen K, Teske A. Phylogenetic characterization of marine benthic Archaea in organic-poor sediments of the eastern equatorial Pacific Ocean (ODP site 1225). *Microorganisms*, 2016, 4(3): 32.
- [63] Sunagawa S, Coelho LP, Chaffron S, Kultima JR, Labadie K, Salazar G, Djahanschiri B, Zeller G, Mende DR, Alberti A, Cornejo-Castillo FM, Costea PI, Cruaud C, d'Ovidio F, Engelen S, Ferrera I, Gasol JM, Guidi L, Hildebrand F, Kokoszka F, Lepoivre C, Lima-Mendez G, Poulain J, Poulos

- BT, Royo-Llonch M, Sarmiento H, Vieira-Silva S, Dimier C, Picheral M, Searson S, Kandels-Lewis S, Bowler C, de Vargas C, Gorsky G, Grimsley N, Hingamp P, Iudicone D, Jaillon O, Not F, Ogata H, Pesant S, Speich S, Stemmann L, Sullivan MB, Weissenbach J, Wincker P, Karsenti E, Raes J, Acinas SG, Bork P, Tara Oceans C. Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, 2015, 348(6237).
- [64] Pester M, Schleper C, Wagner M. The Thaumarchaeota: an emerging view of their phylogeny and ecophysiology. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(3): 300–306.
- [65] Wankel SD, Buchwald C, Ziebis W, Wenk CB, Lehmann MF. Nitrogen cycling in the deep sedimentary biosphere: nitrate isotopes in porewaters underlying the oligotrophic North Atlantic. *Biogeosciences*, 2015, 12(24): 7483–7502.
- [66] Francis CA, Roberts KJ, Beman JM, Santoro AE, Oakley BB. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing Archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(41): 14683–14688.
- [67] Lai DX, Hedlund BP, Xie W, Liu JJ, Phelps TJ, Zhang CL, Wang P. Impact of terrestrial input on deep-sea benthic archaeal community structure in South China sea sediments. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 572017.
- [68] Jorgensen SL, Hannisdal B, Lanzén A, Baumberger T, Flesland K, Fonseca R, Ovreås L, Steen IH, Thorseth IH, Pedersen RB, Schleper C. Correlating microbial community profiles with geochemical data in highly stratified sediments from the Arctic Mid-Ocean Ridge. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(42): E2846–E2855.
- [69] Luo HW, Tolar BB, Swan BK, Zhang CL, Stepanauskas R, Moran MA, Hollibaugh JT. Single-cell genomics shedding light on marine Thaumarchaeota diversification. *The ISME Journal*, 2014, 8(3): 732–736.
- [70] Vuillemin A, Wankel SD, Coskun ÖK, Magritsch T, Vargas S, Estes ER, Spivack AJ, Smith DC, Pockalny R, Murray RW, D'Hondt S, Orsi WD. Archaea dominate oxic subseafloor communities over multimillion-year time scales. *Science Advances*, 2019, 5(6): eaaw4108.
- [71] Schattenhofer M, Fuchs BM, Amann R, Zubkov MV, Tarran GA, Pernthaler J. Latitudinal distribution of prokaryotic picoplankton populations in the Atlantic Ocean. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(8): 2078–2093.
- [72] Könneke M, Bernhard AE, de la Torre JR, Walker CB, Waterbury JB, Stahl DA. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*, 2005, 437(7058): 543–546.
- [73] Cao HL, Auguet JC, Gu JD. Global ecological pattern of ammonia-oxidizing Archaea. *PLoS One*, 2013, 8(2): e52853.
- [74] Cheung S, Mak W, Xia XM, Lu YH, Cheung Y, Liu HB. Overlooked genetic diversity of ammonia oxidizing Archaea lineages in the global oceans. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 2019, 124(7): 1799–1811.
- [75] Weber EB, Lehtovirta-Morley LE, Prosser JI, Gubry-Rangin C. Ammonia oxidation is not required for growth of Group 1.1c soil Thaumarchaeota. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(3): fiv001.
- [76] Hua ZS, Qu YN, Zhu QY, Zhou EM, Qi YL, Yin YR, Rao YZ, Tian Y, Li YX, Liu L, Castelle CJ, Hedlund BP, Shu WS, Knight R, Li WJ. Genomic inference of the metabolism and evolution of the archaeal Phylum Aigarchaeota. *Nature Communications*, 2018, 9: 2832.
- [77] Aylward FO, Santoro AE. Heterotrophic thaumarchaea with small genomes are widespread in the dark ocean. *mSystems*, 2020, 5(3): e00415–00420.
- [78] Ren ML, Feng XY, Huang YJ, Wang H, Hu Z, Clingenpeel S, Swan BK, Fonseca MM, Posada D, Stepanauskas R, Hollibaugh JT, Foster PG, Woyke T, Luo HW. Phylogenomics suggests oxygen availability as a driving force in Thaumarchaeota evolution. *The ISME Journal*, 2019, 13(9): 2150–2161.
- [79] Biggs-Weber E, Aigle A, Prosser JI, Gubry-Rangin C. Oxygen preference of deeply-rooted mesophilic thaumarchaeota in forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 148: 107848.
- [80] Qin W, Amin SA, Martens-Habbena W, Walker CB, Urakawa H, Devol AH, Ingalls AE, Moffett JW, Armbrust EV, Stahl DA. Marine ammonia-oxidizing archaeal isolates display obligate mixotrophy and wide ecotypic variation.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(34): 12504–12509.
- [81] Kim JG, Park SJ, Sinninghe Damsté JS, Schouten S, Rijpstra WIC, Jung MY, Kim SJ, Gwak JH, Hong H, Si OJ, Lee S, Madsen EL, Rhee SK. Hydrogen peroxide detoxification is a key mechanism for growth of ammonia-oxidizing Archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(28): 7888–7893.
- [82] Musmann M, Brito I, Pitcher A, Sinninghe Damsté JS, Hatzenpichler R, Richter A, Nielsen JL, Nielsen PH, Müller A, Daims H, Wagner M, Head IM. Thaumarchaeotes abundant in refinery nitrifying sludges express *AmoA* but are not obligate autotrophic ammonia oxidizers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(40): 16771–16776.
- [83] Reji LT, Francis CA. Metagenome-assembled genomes reveal unique metabolic adaptations of a basal marine Thaumarchaeota lineage. *The ISME Journal*, 2020, 14(8): 2105–2115.
- [84] Steger D, Ettinger-Epstein P, Whalan S, Hentschel U, De Nys R, Wagner M, Taylor MW. Diversity and mode of transmission of ammonia-oxidizing Archaea in marine sponges. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(4): 1087–1094.
- [85] Erwin PM, Pineda MC, Webster N, Turon X, López-Legentil S. Down under the tunic: bacterial biodiversity hotspots and widespread ammonia-oxidizing Archaea in coral reef ascidians. *The ISME Journal*, 2014, 8(3): 575–588.
- [86] Daebeler A, Herbold CW, Vierheilig J, Sedlacek CJ, Pjevac P, Albertsen M, Kirkegaard RH, de la Torre JR, Daims H, Wagner M. Cultivation and genomic analysis of “*Candidatus nitrosocaldus islandicus*,” an obligately thermophilic, ammonia-oxidizing thaumarchaeon from a hot spring biofilm in graendalur valley, Iceland. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 193.
- [87] Schleper C, Nicol GW. Ammonia-oxidising Archaea—physiology, ecology and evolution. *Advances in Microbial Physiology*, 2010, 57: 1–41.
- [88] Reigstad LJ, Richter A, Daims H, Urich T, Schwark L, Schleper C. Nitrification in terrestrial hot springs of Iceland and Kamchatka. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 64(2): 167–174.
- [89] Erguder TH, Boon N, Wittebolle L, Marzorati M, Verstraete W. Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing Archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(5): 855–869.
- [90] Pester M, Rattei T, Flechl S, Gröngroft A, Richter A, Overmann J, Reinhold-Hurek B, Loy A, Wagner M. *AmoA*-based consensus phylogeny of ammonia-oxidizing Archaea and deep sequencing of *AmoA* genes from soils of four different geographic regions. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(2): 525–539.
- [91] Sintes E, Bergauer K, De Corte D, Yokokawa T, Herndl GJ. Archaeal *AmoA* gene diversity points to distinct biogeography of ammonia-oxidizing Crenarchaeota in the ocean. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(5): 1647–1658.
- [92] Gubry-Rangin C, Hai B, Quince C, Engel M, Thomson BC, James P, Schlöter M, Griffiths RI, Prosser JI, Nicol GW. Niche specialization of terrestrial archaeal ammonia oxidizers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(52): 21206–21211.
- [93] Abell GCJ, Banks J, Ross DJ, Keane JP, Robert SS, Revill AT, Volkman JK. Effects of estuarine sediment hypoxia on nitrogen fluxes and ammonia oxidizer gene transcription. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 75(1): 111–122.
- [94] Peng XF, Jayakumar A, Ward BB. Community composition of ammonia-oxidizing Archaea from surface and anoxic depths of oceanic oxygen minimum zones. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 177.
- [95] Merbt SN, Stahl DA, Casamayor EO, Martí E, Nicol GW, Prosser JI. Differential photoinhibition of bacterial and archaeal ammonia oxidation. *FEMS Microbiology Letters*, 2012, 327(1): 41–46.
- [96] Sahan E, Muyzer G. Diversity and spatio-temporal distribution of ammonia-oxidizing Archaea and Bacteria in sediments of the Westerschelde estuary. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 64(2): 175–186.

- [97] Andersson M, van Rijswijk P, Middelburg JJ. Uptake of dissolved inorganic nitrogen, urea and amino acids in the Scheldt estuary: comparison of organic carbon and nitrogen uptake. *Aquatic Microbial Ecology*, 2006, 44: 303–315.
- [98] Liu Q, Tolar BB, Ross MJ, Cheek JB, Sweeney CM, Wallsgrove NJ, Popp BN, Hollibaugh JT. Light and temperature control the seasonal distribution of thaumarchaeota in the South Atlantic bight. *The ISME Journal*, 2018, 12(6): 1473–1485.
- [99] Bollmann A, Bullerjahn GS, McKay RM. Abundance and diversity of ammonia-oxidizing Archaea and bacteria in sediments of trophic end members of the Laurentian Great Lakes, Erie and Superior. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97068.
- [100] Zou DY, Li YD, Kao SJ, Liu HB, Li M. Genomic adaptation to eutrophication of ammonia-oxidizing Archaea in the Pearl River estuary. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(7): 2320–2332.
- [101] Zou DY, Wan R, Han LL, Xu MN, Liu Y, Liu HB, Kao SJ, Li M. Genomic characteristics of a novel species of ammonia-oxidizing Archaea from the Jiulong river estuary. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(18): e00736–00720.
- [102] Fukushima T, Wu YJ, Whang LM. The influence of salinity and ammonium levels on *AmoA* mRNA expression of ammonia-oxidizing prokaryotes. *Water Science and Technology*, 2012, 65(12): 2228–2235.
- [103] Blainey PC, Mosier AC, Potanina A, Francis CA, Quake SR. Genome of a low-salinity ammonia-oxidizing archaeon determined by single-cell and metagenomic analysis. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16626.
- [104] Diaz JM, Hansel CM, Voelker BM, Mendes CM, Andeer PF, Zhang T. Widespread production of extracellular superoxide by heterotrophic bacteria. *Science*, 2013, 340(6137): 1223–1226.
- [105] Rodriguez-Brito B, Rohwer F, Edwards RA. An application of statistics to comparative metagenomics. *BMC Bioinformatics*, 2006, 7(1): 1–11.
- [106] Nunoura T, Takaki Y, Hirai M, Shimamura S, Makabe A, Koide O, Kikuchi T, Miyazaki J, Koba K, Yoshida N, Sunamura M, Ken TK. Hadal biosphere: Insight into the microbial ecosystem in the deepest ocean on Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(11): E1230–E1236.
- [107] Zhong HH, Lehtovirta-Morley L, Liu JW, Zheng YF, Lin HY, Song DL, Todd JD, Tian JW, Zhang XH. Novel insights into the Thaumarchaeota in the deepest oceans: their metabolism and potential adaptation mechanisms. *Microbiome*, 2020, 8(1): 78.
- [108] Santoro AE, Dupont CL, Richter RA, Craig MT, Carini P, McIlvin MR, Yang Y, Orsi WD, Moran DM, Saito MA. Genomic and proteomic characterization of “*Candidatus Nitrosopelagicus brevis*”: an ammonia-oxidizing archaeon from the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(4): 1173–1178.
- [109] Wang Y, Huang JM, Cui GJ, Nunoura T, Takaki Y, Li WL, Li J, Gao ZM, Ken TK, Zhang AQ, Stepanauskas R. Genomics insights into ecotype formation of ammonia-oxidizing Archaea in the deep ocean. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(2): 716–729.
- [110] Swan BK, Chaffin MD, Martinez-Garcia M, Morrison HG, Field EK, Poulton NJ, Masland EDP, Harris CC, Sczyrba A, Chain PSG, Koren S, Woyke T, Stepanauskas R. Genomic and metabolic diversity of marine group I thaumarchaeota in the mesopelagic of two subtropical gyres. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95380.
- [111] Ngugi DK, Blom J, Alam I, Rashid M, Ba-Alawi W, Zhang GS, Hikmawan T, Guan Y, Antunes A, Siam R, Dorry HE, Bajic V, Stingl U. Comparative genomics reveals adaptations of a halotolerant thaumarchaeon in the interfaces of brine pools in the Red Sea. *The ISME Journal*, 2015, 9(2): 396–411.
- [112] Baker BJ, Lesniewski RA, Dick GJ. Genome-enabled transcriptomics reveals archaeal populations that drive nitrification in a deep-sea hydrothermal plume. *The ISME Journal*, 2012, 6(12): 2269–2279.
- [113] Könneke M, Schubert DM, Brown PC, Hügler M, Standfest S, Schwander T, Schada von Borzyskowski L, Erb TJ, Stahl DA, Berg IA. Ammonia-oxidizing Archaea use the most energy-efficient aerobic pathway for CO₂ fixation.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(22): 8239–8244.
- [114] Alonso-Saez L, Waller AS, Mende DR, Bakker K, Farnelid H, Yager PL, Lovejoy C, Tremblay JE, Potvin M, Heinrich F, Estrada M, Riemann L, Bork P, Pedros-Alio C, Bertilsson S. Role for urea in nitrification by polar marine Archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(44): 17989–17994.
- [115] Gross M, Jaenicke R. Proteins under pressure. The influence of high hydrostatic pressure on structure, function and assembly of proteins and protein complexes. *European Journal of Biochemistry*, 1994, 221(2): 617–630.
- [116] Jamieson AJ, Fujii T, Mayor DJ, Solan M, Priede IG. Hadal trenches: the ecology of the deepest places on Earth. *Trends in Ecology & Evolution*, 2010, 25(3): 190–197.
- [117] Gonçalves LG, Borges N, Serra F, Fernandes PL, Dopazo H, Santos H. Evolution of the biosynthesis of di-myo-inositol phosphate, a marker of adaptation to hot marine environments. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(3): 691–701.
- [118] Wang BZ, Qin W, Ren Y, Zhou X, Jung MY, Han P, Elloe-Fadrosh EA, Li M, Zheng Y, Lu L, Yan X, Ji JB, Liu Y, Liu LM, Heiner C, Hall R, Martens-Habbenha W, Herbold CW, Rhee SK, Bartlett DH, Huang L, Ingalls AE, Wagner M, Stahl DA, Jia ZJ. Expansion of Thaumarchaeota habitat range is correlated with horizontal transfer of ATPase operons. *The ISME Journal*, 2019, 13(12): 3067–3079.
- [119] Li M, Baker BJ, Anantharaman K, Jain S, Breier JA, Dick GJ. Genomic and transcriptomic evidence for scavenging of diverse organic compounds by widespread deep-sea Archaea. *Nature Communications*, 2015, 6: 8933.
- [120] Teira E, van Aken H, Veth C, Herndl GJ. Archaeal uptake of enantiomeric amino acids in the meso- and bathypelagic waters of the North Atlantic. *Limnology and Oceanography*, 2006, 51(1): 60–69.
- [121] Tully BJ, Heidelberg JF. Potential mechanisms for microbial energy acquisition in oxic deep-sea sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(14): 4232–4243.
- [122] Pan J, Chen YL, Wang YM, Zhou ZC, Li M. Vertical distribution of bathyarchaeotal communities in mangrove wetlands suggests distinct niche preference of bathyarchaeota subgroup 6. *Microbial Ecology*, 2019, 77(2): 417–428.
- [123] Kubo K, Lloyd KG, Biddle JF, Amann R, Teske A, Knittel K. Archaea of the Miscellaneous Crenarchaeotal Group are abundant, diverse and widespread in marine sediments. *The ISME Journal*, 2012, 6(10): 1949–1965.
- [124] Feng XY, Wang YZ, Zubin R, Wang FP. Core metabolic features and hot origin of bathyarchaeota. *Engineering*, 2019, 5(3): 498–504.
- [125] Zou DY, Pan J, Liu ZB, Zhang CL, Liu HB, Li M. The distribution of *Bathyarchaeota* in surface sediments of the Pearl River estuary along salinity gradient. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 285.
- [126] Fillol M, Auguet JC, Casamayor EO, Borrego CM. Insights in the ecology and evolutionary history of the Miscellaneous Crenarchaeotic Group lineage. *The ISME Journal*, 2016, 10(3): 665–677.
- [127] Fu LL, Li D, Mi TZ, Zhao J, Liu CG, Sun CJ, Zhen Y. Characteristics of the archaeal and bacterial communities in core sediments from Southern Yap Trench via *in situ* sampling by the manned submersible Jiaolong. *Science of the Total Environment*, 2020, 703: 134884.
- [128] Zhou ZC, Pan J, Wang FP, Gu JD, Li M. Bathyarchaeota: globally distributed metabolic generalists in anoxic environments. *FEMS Microbiology Reviews*, 2018, 42(5): 639–655.
- [129] Xiang X, Wang RC, Wang HM, Gong LF, Man BY, Xu Y. Distribution of bathyarchaeota communities across different terrestrial settings and their potential ecological functions. *Scientific Reports*, 2017, 7: 45028.
- [130] Wang P, Zhang TT, Chen SZ, Li XX, Lai DX, Gao SM, Xie W, Zhang CL. Niche specificity and potential terrestrial organic carbon utilization of benthic Bathyarchaeota in a eutrophic subtropic estuarine system. *Chemical Geology*, 2020, 556: 119839.
- [131] Yu TT, Liang QY, Niu MY, Wang FP. High occurrence of Bathyarchaeota (MCG) in the deep-sea sediments of South China Sea quantified using newly designed PCR primers. *Environmental Microbiology Reports*, 2017, 9(4): 374–382.

- [132] Zhou ZC, Zhang GX, Xu YB, Gu JD. Successive transitory distribution of Thaumarchaeota and partitioned distribution of Bathyarchaeota from the Pearl River estuary to the northern South China Sea. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(18): 8035–8048.
- [133] Pan J, Zhou ZC, Béjà O, Cai MW, Yang YC, Liu Y, Gu JD, Li M. Genomic and transcriptomic evidence of light-sensing, porphyrin biosynthesis, Calvin-Benson-Bassham cycle, and urea production in Bathyarchaeota. *Microbiome*, 2020, 8(1): 43.
- [134] Chen YL, Pan J, Zhou ZC, Wang FP, Li M. Progress in studies on Bathyarchaeota in coastal ecosystems. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1690–1698. (in Chinese)
陈玉连, 潘杰, 周之超, 王凤平, 李猛. 滨海深古菌的研究进展. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1690–1698.
- [135] Chen Y, Li SQ, Yu ZG, Chen YY, Mi TZ, Zhen Y. Characteristics of the Bathyarchaeota community in surface sediments from the southern Yellow Sea and northern East China sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2020, 235: 106595.
- [136] Liu JW, Yang HM, Zhao MX, Zhang XH. Spatial distribution patterns of benthic microbial communities along the Pearl Estuary, China. *Systematic and Applied Microbiology*, 2014, 37(8): 578–589.
- [137] Evans PN, Parks DH, Chadwick GL, Robbins SJ, Orphan VJ, Golding SD, Tyson GW. Methane metabolism in the archaeal Phylum Bathyarchaeota revealed by genome-centric metagenomics. *Science*, 2015, 350(6259): 434–438.
- [138] He Y, Li M, Perumal V, Feng X, Fang J, Xie J, Sievert SM, Wang F. Genomic and enzymatic evidence for acetogenesis among multiple lineages of the archaeal Phylum Bathyarchaeota widespread in marine sediments. *Nature Microbiology*, 2016, 1: 16035.
- [139] Lazar CS, Baker BJ, Seitz K, Hyde AS, Dick GJ, Hinrichs KU, Teske AP. Genomic evidence for distinct carbon substrate preferences and ecological niches of Bathyarchaeota in estuarine sediments. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(4): 1200–1211.
- [140] Laso-Pérez R, Wegener G, Knittel K, Widdel F, Harding KJ, Krukenberg V, Meier DV, Richter M, Tegetmeyer HE, Riedel D, Richnow HH, Adrian L, Reemtsma T, Lechtenfeld OJ, Musat F. Thermophilic Archaea activate butane via alkyl-coenzyme M formation. *Nature*, 2016, 539(7629): 396–401.
- [141] Yu TT, Wu WC, Liang WY, Lever MA, Hinrichs KU, Wang FP. Growth of sedimentary Bathyarchaeota on lignin as an energy source. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(23): 6022–6027.
- [142] Yang LY, Wu Y, Zhang J, Yu H, Zhang GS, Zhu ZY. Distribution of lignin and sources of organic matter in surface sediments from the adjacent area of the Changjiang Estuary in China. *Acta Oceanologica Sinica*, 2008, 30(5): 35–42. (in Chinese)
杨丽阳, 吴莹, 张经, 于灏, 张国森, 朱卓毅. 长江口邻近陆架区表层沉积物的木质素分布和有机物来源分析. *海洋学报: 中文版*, 2008, 30(5): 35–42.
- [143] Zhou ZC, Liu Y, Lloyd KG, Pan J, Yang YC, Gu JD, Li M. Genomic and transcriptomic insights into the ecology and metabolism of benthic archaeal cosmopolitan, Thermoproteales (MBG-D Archaea). *The ISME Journal*, 2019, 13(4): 885–901.
- [144] Lloyd KG, Schreiber L, Petersen DG, Kjeldsen KU, Lever MA, Steen AD, Stepanauskas R, Richter M, Kleindienst S, Lenk S, Schramm A, Jørgensen BB. Predominant Archaea in marine sediments degrade detrital proteins. *Nature*, 2013, 496(7444): 215–218.
- [145] Inagaki F, Kuypers MMM, Tsunogai U, Ishibashi JI, Nakamura KI, Treude T, Ohkubo S, Nakaseama M, Gena K, Chiba H, Hirayama H, Nunoura T, Ken TK, Jørgensen BB, Horikoshi K, Boetius A. Microbial community in a sediment-hosted CO₂ lake of the southern Okinawa Trough hydrothermal system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(38): 14164–14169.
- [146] Baker BJ, Saw JH, Lind AE, Lazar CS, Hinrichs KU, Teske AP, Ettema TJG. Genomic inference of the metabolism of

- cosmopolitan subsurface Archaea, Hadesarchaea. *Nature Microbiology*, 2016, 1: 16002.
- [147] Vetriani C, Jannasch HW, MacGregor BJ, Stahl DA, Reysenbach AL. Population structure and phylogenetic characterization of marine benthic Archaea in deep-sea sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(10): 4375–4384.
- [148] Inagaki F, Ken TK, Komatsu T, Kanamatsu T, Fujioka K, Horikoshi K. Archaeology of Archaea: geomicrobiological record of Pleistocene thermal events concealed in a deep-sea subseafloor environment. *Extremophiles*, 2001, 5(6): 385–392.
- [149] MacLeod F, Kindler GS, Wong HL, Chen R, Burns BP. Asgard Archaea: Diversity, function, and evolutionary implications in a range of microbiomes. *AIMS Microbiology*, 2019, 5(1): 48–61.
- [150] Liu Y, Zhou ZC, Pan J, Baker BJ, Gu JD, Li M. Comparative genomic inference suggests mixotrophic lifestyle for Thorarchaeota. *The ISME Journal*, 2018, 12(4): 1021–1031.
- [151] Spang A, Caceres EF, Ettema TJG. Genomic exploration of the diversity, ecology, and evolution of the archaeal domain of life. *Science*, 2017, 357(6351): eaaf3883.
- [152] Bulzu PA, Andrei AŞ, Salcher MM, Mehrshad M, Inoue K, Kandori H, Beja O, Ghai R, Banciu HL. Casting light on Asgardarchaeota metabolism in a sunlit microoxic niche. *Nature Microbiology*, 2019, 4(7): 1129–1137.
- [153] Pushkarev A, Inoue K, Larom S, Flores-Urbe J, Singh M, Konno M, Tomida S, Ito S, Nakamura R, Tsunoda SP, Philosof A, Sharon I, Yutin N, Koonin EV, Kandori H, Béjà O. A distinct abundant group of microbial rhodopsins discovered using functional metagenomics. *Nature*, 2018, 558(7711): 595–599.
- [154] Imachi H, Nobu MK, Nakahara N, Morono Y, Ogawara M, Takaki Y, Takano Y, Uematsu K, Ikuta T, Ito M, Matsui Y, Miyazaki M, Murata K, Saito Y, Sakai S, Song CH, Tasumi E, Yamanaka Y, Yamaguchi T, Kamagata Y, Tamaki H, Ken TK. Isolation of an archaeon at the prokaryote–eukaryote interface. *Nature*, 2020, 577(7791): 519–525.
- [155] Manoharan L, Kozłowski JA, Murdoch RW, Löffler FE, Sousa FL, Schleper C. Erratum for manoharan et al., “metagenomes from coastal marine sediments give insights into the ecological role and cellular features of Loki-and Thorarchaeota”. *mBio*, 2019, 10(5): e02039–02019.
- [156] Seitz KW, Lazar CS, Hinrichs KU, Teske AP, Baker BJ. Genomic reconstruction of a novel, deeply branched sediment archaeal Phylum with pathways for acetogenesis and sulfur reduction. *The ISME Journal*, 2016, 10(7): 1696–1705.
- [157] Liu Y, Makarova KS, Huang WC, Wolf YI, Nikolskaya AN, Zhang XX, Cai MW, Zhang CJ, Xu W, Luo ZH, Cheng L, Koonin EV, Li M. Expanded diversity of Asgard Archaea and their relationships with eukaryotes. *Nature*, 2021: 1–5.
- [158] Teske A, Sørensen KB. Uncultured Archaea in deep marine subsurface sediments: have we caught them all? *The ISME Journal*, 2008, 2(1): 3–18.
- [159] Liu XB, Li M, Castelle CJ, Probst AJ, Zhou ZC, Pan J, Liu Y, Banfield JF, Gu JD. Insights into the ecology, evolution, and metabolism of the widespread Woese archaeal lineages. *Microbiome*, 2018, 6(1): 1–16.
- [160] Zhang XX, Xu W, Liu Y, Cai MW, Luo ZH, Li M. Metagenomics reveals microbial diversity and metabolic potentials of seawater and surface sediment from a hadal biosphere at the Yap trench. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2402.
- [161] Kuroda K, Hatamoto M, Nakahara N, Abe K, Takahashi M, Araki N, Yamaguchi T. Community composition of known and uncultured archaeal lineages in anaerobic or anoxic wastewater treatment sludge. *Microbial Ecology*, 2015, 69(3): 586–596.
- [162] Nunoura T, Nishizawa M, Hirai M, Shimamura S, Harnvoravongchai P, Koide O, Morono Y, Fukui T, Inagaki F, Miyazaki J, Takaki Y, Ken TK. Microbial diversity in sediments from the bottom of the challenger deep, the Mariana trench. *Microbes and Environments*, 2018, 33(2): 186–194.
- [163] Koch H, Galushko A, Albertsen M, Schintlmeister A, Gruber-Dorninger C, Lückers S, Pelletier E, Le Paslier D, Spieck E, Richter A, Nielsen PH, Wagner M, Daims H. Growth of nitrite-oxidizing bacteria by aerobic hydrogen oxidation. *Science*, 2014, 345(6200): 1052–1054.

Research progresses and prospects of archaea in deep biosphere

Xizheng Lin^{1,2}, Wei Xie^{1,2*}

¹ College of Marine Science, Sun Yat-Sen University, Zhuhai 519082, Guangdong Province, China

² Southern Laboratory of Ocean Science and Engineering (Guangdong, Zhuhai), Zhuhai 519082, Guangdong Province, China

Abstract: As a common prokaryote in the deep subsurface biosphere, archaea are widely distributed in various marine sedimentary habitats and play important roles in the biogeochemical cycles. Due to the differences in physiological adaptabilities of different archaeal groups to environmental conditions, they constitute anaerobic microbial ecosystem and aerobic microbial ecosystem in coastal and open ocean sediments, respectively. In this paper, we compare the archaeal community structure in two different dimensions: nearshore and ocean, sediment and overlying water, and discuss the distribution, metabolism and environmental adaptation mechanism of common archaea (*Thaumarchaeota*, *Bathyarchaeota*, *Thermopfundales*, Asgard, *Woesearchaeota*) in deep subsurface biosphere. We summary the research progresses of archaea in the deep subsurface biosphere. We also put forward several future research directions and key points of archaea for references.

Keywords: archaea, deep subsurface biosphere, marine sediment, distribution, metabolism

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41776137, 92051117), by the Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhuhai) (SML311019006, SML311020006) and by the Regional Marine Geological Survey Projects of China Geological Survey (DD20191002)

*Corresponding author. E-mail: xiewei9@mail.sysu.edu.cn

Received: 16 April 2021; Revised: 17 May 2021; Published online: 21 May 2021



谢伟, 中山大学海洋科学学院副教授、博士生导师, 主要研究方向为海洋古菌生态学。研究兴趣是海洋古菌的环境响应与记录及其驱动的生物地球化学元素循环过程。到目前为止, 已取得一系列交叉特色鲜明的科研成果, 例如揭示了新型异养古菌 MGII 在珠江口的持续勃发现象及机制、阐明了海洋古菌群落结构演变对膜脂指标应用的影响、提出了反演 pH 变化的新的古菌膜脂指标等等。目前已发表科研论文 30 余篇。先后主持中国博士后科技基金特别资助 1 项、国家自然科学基金 3 项, 以研究骨干身份参与国家重点研发计划 1 项。担任 *Frontier in Microbiology* 审稿编辑。