

## 一个新的古菌类群——奇古菌门(Thaumarchaeota)

张丽梅, 贺纪正\*

中国科学院生态环境研究中心, 城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085

**摘要:** 基于 16S rRNA 基因的系统发育关系, 古菌域 (Archaea) 被分为两个主要类群: 广古菌门 (Euryarchaeota) 和泉古菌门 (Crenarchaeota)。近 20 年来, 微生物分子生态学技术的快速发展和应用显示, 在中温环境中广泛存在着大量的未培养古菌, 而且它们可能在自然界重要元素 (N、C) 的生物地球化学循环中发挥着重要作用。最初, 这些未培养古菌因在 16S rRNA 基因系统发育上与泉古菌关系较密切而被称作中温泉古菌 (non-thermophilic Crenarchaeota)。而近年来, 对更多新发现的中温古菌核糖体 RNA 基因序列和其它分子标记物进行的分析均不支持中温泉古菌由嗜热泉古菌进化而来的假设, 而揭示其可能代表古菌域中一个独立的系统发育分支。基因组学、生理生态特征等分析也显示中温泉古菌与泉古菌具有明显不同的特征。因而专家建议将这些古菌 (中温泉古菌) 划分为一个新的门, 成为古菌域的第三个主要类群——Thaumarchaeota (意译为奇古菌门)。这一新古菌门提出后得到其他研究证据的支持和认可。本文对目前已知的奇古菌门的分类地位演化、基因组学、多样性和生理代谢特征等作一简要综述。

**关键词:** 中温泉古菌; 奇古菌; rRNA 基因; 氨氧化古菌

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2012)04-0411-11

小亚基核糖体 RNA (SSU rRNA) 是广泛应用于所有生物进化关系研究的分子标识。基于对 SSU rRNA 的系统发育分析, 1977 年 Woese 提出了著名的三域学说, 将那些生活于极端环境 (如高盐、高温、低 pH 和缺氧) 中的古菌 (Archaea) 建立了一个独立的生命域, 与细菌域 (Bacteria) 和真核生物域 (Eucaryota) 并列为生物的三大域<sup>[1]</sup>。三域系统的提出具有里程碑式的意义, 极大地推动了人们对地球生命及其古菌的认识和理解, 被认为是迄今最能反映地球生物亲缘关系的分类系统<sup>[2]</sup>。古菌和细菌虽同为原核生物, 但从 SSU rRNA 的同源性来看, 古菌与真核生物的亲缘关系比与细菌更近。但古菌的进化进程比细菌和真核生物要慢, 可能为保持了

适应极端环境下特殊表型基因的稳定表达, 因此古菌被认为是地球最早出现的生命形式而受到各领域研究者的重视。揭示古菌的多样性及其各类群之间的分化关系是研究古菌的生命代谢、遗传进化及生态功能的基础。

根据 16S rRNA 基因的同源性, Woese 将可培养的古菌分为广古菌门 (Euryarchaeota) 和泉古菌门 (Crenarchaeota)<sup>[3]</sup>。而近 20 年来, 基于免培养分子生态学技术, 包括 16S rRNA 基因文库、原位荧光杂交技术 (FISH)、宏基因组学等的研究, 发现古菌在中温环境中也广泛分布, 称为中温泉古菌 (non-thermophilic Crenarchaeota)。这些古菌数量巨大、多样性高, 且近年发现其中的氨氧化古菌能催化氨

基金项目: 国家自然科学基金 (41171217, 41025004)

\* 通信作者。Tel/Fax: +86-10-62849788; E-mail: jzhe@rcees.ac.cn

作者简介: 张丽梅 (1977-), 女, 副研究员, 博士, 主要从事微生物生态学研究。E-mail: zhanglm@rcees.ac.cn

收稿日期: 2011-11-30; 修回日期: 2012-02-08

氧化过程,说明这些中温泉古菌在自然界重要元素的生物地球化学循环中发挥着重要作用。但近来对更多新获得的古菌 SSU rRNA 和大亚基核糖体 RNA (LSU rRNA) 基因序列进行的分析显示,中温泉古菌可能代表了新的系统发育分支。对核糖体蛋白 (ribosomal proteins) 进行的系统发育分析也不支持中温泉古菌由嗜热泉古菌进化而来的假设,而暗示中温泉古菌在起源上早于嗜热泉古菌和广古菌门。基因组学分析也显示中温泉古菌与广古菌门有更相似的遗传组成特征。因此,Brochier-Armanet 等在 2008 年建议将中温环境来源的古菌(中温泉古菌)划分为一个新门,作为古菌域的第三个主要类群—Thaumarchaeota(奇古菌门)<sup>[4]</sup>,这一划分系统提出后迅速得到各方面研究证据的支持,近来发表的多数文章也已将“Crenarchaeota”更名为“Thaumarchaeota”。本文对目前已知的奇古菌门的分类地位演化、基因组学、多样性和生理代谢特征等作一简要综述。

## 1 传统的基于 SSU rRNA 基因的古菌划分系统

在 SSU rRNA 系统发育树上,古菌域形成两个明显的分支,根据这一特点 Woese 等<sup>[3]</sup>建议将古菌划分为两个门,即广古菌门和泉古菌门。广古菌门 (Euryarchaeota, 源自希腊语“euryos”指“broad, wide”,即“多样的”)包括分布广泛且生理特征多样的产甲烷菌、极端嗜盐菌、嗜热嗜酸菌和嗜热菌。泉古菌门 (Crenarchaeota, 源自希腊语“crenos”指“spring, fount”,即“泉”)主要为嗜热菌,代表位于系统发育树根部最原始的古菌类群,如热球菌属 (*Thermococcus*) 和热网菌属 (*Pyrodictium*)。目前已发现的 330 个古菌新种,除 *Korarchaeum cryptophilum* 和 *Nanoarchaeum equitans* 外,均属于这两个门。

*Korarchaeum cryptophilum* 于 1994 年发现于美国黄石公园热泉,细丝状,在 SSU rRNA 系统发育树上形成一个独立分支,Barns 等建议建立一个新的门,称为初古菌门 (*Korarchaeota*) 此后在一些陆地和海洋热液环境中也发现初古菌门,但数量不多<sup>[5-6]</sup>。*Nanoarchaeum equitans* 于 2002 年分离自冰岛的一个深海热液口,因其直径仅 400 nm 且基因组大小仅 0.5 Mbp 而被称为纳米古菌<sup>[7]</sup>。纳米古菌在 SSU

rRNA 系统发育树上也形成一个单独的分支,因此被命名为一个新的门,即纳米古菌门 (Nanoarchaeota)<sup>[7]</sup>。目前这两个门中均只发现了以上一个种,虽然对这两个门的分类地位还有一些争议,但广古菌门、泉古菌门、初古菌门和纳米古菌门的建立被普遍接受。

## 2 泉古菌门的系统发育关系和奇古菌门建立的依据

### 2.1 基于 rRNA 小亚基 (SSU) 和大亚基 (LSU) 的分析

近 20 年来,通过对环境样品 16S rRNA 基因的 PCR 扩增及测序分析大大增加了人们对古菌多样性的认识。1992 年, Fuhrman 和 DeLong 等<sup>[8-9]</sup>对第一批来自海洋的古菌 SSU rRNA 基因序列进行系统发育分析,发现海洋古菌形成三个系统发育簇,分别为 Group I, Group II, Group III。其中, Group II 和 Group III 属于广古菌门,而 Group I 与嗜热泉古菌形成一个姊妹群但未形成独立的分支,因此被归入泉古菌门,这两项研究首次揭示了以 Group I 为代表的古菌在中温环境中广泛存在,中温泉古菌 (non-thermophilic Crenarchaeota) 的名称由此而来。2005 年, Schleper 等<sup>[10]</sup>对 1344 个古菌 SSU rRNA 基因序列进行了系统发育分析,结果与 DeLong 等对 Group I 的划分一致,在系统发育树上 Group I 与嗜热泉古菌同属一个大的分支。用于这个系统发育分析的序列涵盖了古菌的所有门和来源于各种环境的克隆子,代表了较为完整的古菌系统发育关系,因此这个划分系统得到广泛认可。此后在土壤、沉积物、淡水、河口、海湾及污水处理系统等中温环境中发现的这类古菌都称被当作中温泉古菌。

但在以上两个系统发育分析中,古菌各分支之间的界线不是非常清晰,对 Group I 归入泉古菌门的划分也受到其它研究的质疑。如 Robertson 等对 770 个古菌 16S rRNA 基因序列进行的分析,发现 Group I 形成一个独立分支,而未与嗜热泉古菌形成同一簇群<sup>[11]</sup>。为排除基于 SSU rRNA 的分析由于序列太短,所包含的信息不足以反映古菌各类群之间的亲缘关系的可能性。Brochier-Armanet 等收集了 226 个古菌和细菌的全基因组序列以及 18 个同时包含了 SSU rRNA 和 LSU rRNA 大片段福斯质粒

(Fosmid)文库中的序列进行同源性分析,发现细菌在发育树中的位置与之前的分类划分一致。但在古菌域中的中温泉古菌和高温泉古菌形成2个不同的

单系群,Bootstrap值的支持率高达99%和100%(图1)。这与Robertson等的分析结果一致,暗示将Group I作为泉古菌的划分明显不合适<sup>[4]</sup>。

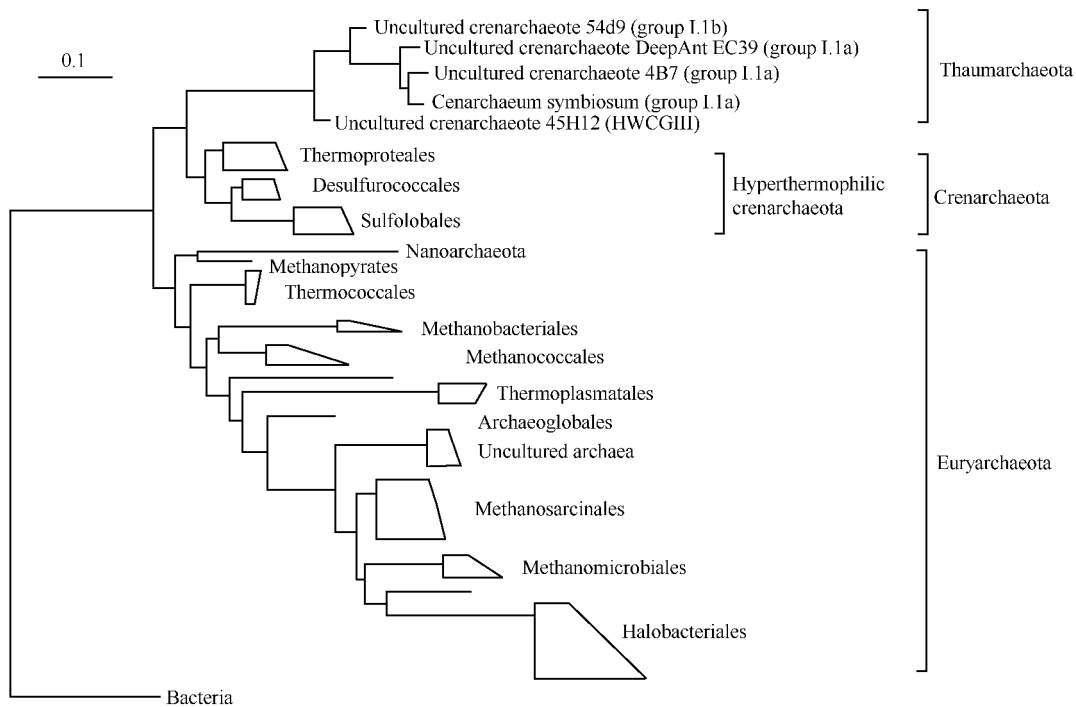


图1 基于226个SSU rRNA和LSU rRNA基因的细菌和古菌系统发育关系示意图<sup>[4]</sup>

Fig.1 Schematic phylogeny of archaea and bacteria based on the concatenation of 226 SSU and LSU rRNA gene sequences<sup>[4]</sup>.

## 2.2 基于核糖体蛋白(ribosomal proteins, r-protein)的分析

虽然对LSU rRNA基因的分析强烈支持中温和高温泉古菌作为两个独立的分支,但对于中温泉古菌在古菌进化树的位置仍难以解决。因此, Brochier-Armanet等对包括了18个真核生物、33个广古菌、14个高温泉古菌、以及一直被归入中温泉古菌门的海绵共生古菌(*Cenarchaeum symbiosum*)在内的53个真核生物和古菌共有的核糖体蛋白(r-蛋白)进行了系统发育分析。发现嗜热泉古菌和广古菌形成两个单系群,Bootstrap值支持率达100%,而*C. symbiosum*则形成一个独立的分支,成为包含广古菌门和嗜热泉古菌门在内的一大分支的姊妹群,支持率达99%,表明*C. symbiosum*与广古菌门的亲缘关系更近,而非嗜热泉古菌<sup>[4]</sup>。

## 2.3 基于蛋白质的分析

Brochier-Armanet等还对*C. symbiosum*进行了比较基因组学分析,在NCBI数据库中进行蛋白质

直系同源簇(Clusters of Orthologous Groups of proteins, COGs)搜索后,鉴定出12种蛋白为广古菌门特有,15种为嗜热泉古菌特有,318种为两个门共有。令人惊讶的是,*C. symbiosum*含有广古菌门12种特有蛋白中的10种,这些蛋白多为DNA复制和细胞分裂相关的蛋白。相比之下,嗜热泉古菌门特有的15种蛋白中,*C. symbiosum*只含有1种,表明*C. symbiosum*一些重要的生物学特征与嗜热泉古菌明显不同,而与广古菌门更接近。

考虑到中温泉古菌的多样性与高温泉古菌和广古菌相当,代表了一个庞大的古菌分支。综合以上SSU/LSU rRNA基因分析、r-蛋白分析和基因组分析的结果,2008年, Brochier-Armanet等<sup>[4]</sup>建议将中温泉古菌独立为古菌的第3个主要的门,命名为Thaumarchaeota,希腊语“*Thaumas*”,指“wonder”,“奇妙的”,在此我们翻译为“奇古菌门”。这样命名可避免将来可能会发现一些属于这个门,但不一定是来自中温环境成员的命名问题,也与“广”古菌门

和“泉”古菌门的命名方式相一致。

### 3 奇古菌门的基因组学特征

Brochier-Armanet 等提出“奇古菌门”后,很快就得到研究者的接受。另外两株刚完成全基因组测序的来自中温环境的古菌 *Nitrosopumilus maritimus* (海洋亚硝化短小杆菌)和 *Nitrososphaera gargensis* (加尔加亚硝化球菌)的比较基因组学分析与对 *C. symbiosum* 的基因组分析结果一致,它们在遗传信息处理系统(包括复制、转录、翻译)和细胞分裂相关基因等方面均表现出与其它古菌明显不同的特征,为奇古菌门的划分提供了更有力的支持。这些明显不同的遗传特征主要包括以下几个方面。

#### 3.1 不同的遗传信息处理系统

**3.1.1 核糖体蛋白(r-蛋白):**除了含有所有三域生物共有的34种r-蛋白外,古菌和真核生物另外共有33种r-蛋白,但二者均不再具有细菌共有的任何r-蛋白。此外,细菌特有的r-蛋白有23种,真核生物特有的有11种,而古菌特有的r-蛋白仅LXa一种<sup>[12-13]</sup>。与细菌和真核生物需要更多特有的r-蛋白相比,古菌的组成似乎由真核生物减约进化而来。如所有古菌中均缺少L35ae和L41e,广古菌还缺少另外5种r-蛋白:L38e、L13e、S25e、S25e和S30e。而3株奇古菌均含有广古菌中所缺少的S25e、S26e、S30e 3种r-蛋白,但缺少泉古菌、初古菌和纳米古菌所含有的L14e和L34e,也不含LXa蛋白,表现出与泉古菌和广古菌明显不同的r-蛋白组成特征<sup>[12,14]</sup>。

**3.1.2 转录—RNA聚合酶:**细菌的依赖DNA的RNA聚合酶(DNA-dependent RNA polymerases, RNAPs)仅有一种类型,由5个亚基组成。而真核生物的RNAPs有三类(I、II、III),每类都至少含有12个亚基<sup>[15]</sup>。古菌只含一种RNAPs,由10-14个亚基组成,多数亚基为真核生物RNAPs亚基的同源体,表明这两域生物参与遗传信息传递的生物大分子非常相似<sup>[16]</sup>。细菌和真核生物RNAPs的A亚基(*rpo/rpbA*)由一个基因编码。而在泉古菌和广古菌中则是由两个独立的基因A'和A''编码。这两个基因与编码H亚基和B亚基的基因形成一个基因簇,但初古菌和奇古菌中仅存在一个*ropA*基因。在RpoA蛋白系统发育树上,奇古菌和初古菌形成两个

独立的分支,出现在发育树的根部,与真核生物更靠近,再次表明奇古菌在进化起源上早于广古菌和泉古菌<sup>[15,17]</sup>。

**3.1.3 DNA复制和DNA结合蛋白:**与广古菌和初古菌一致,三株奇古菌都含有DNA聚合酶B和D家族(DNA polymerases, PolB、PolD),而泉古菌仅含有聚合酶B家族<sup>[12,18]</sup>。在DNA复制过程中起着滑动夹作用的增殖细胞核抗原(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)在广古菌门、初古菌门和奇古菌门中仅有一个基因拷贝,而在绝大多数泉古菌中含有2-3个基因拷贝。在PolD蛋白和PCNA的系统发育树上,奇古菌均形成一个独立的单系群<sup>[19]</sup>。此外,大多数广古菌、奇古菌和初古菌中均含有类似真核生物的组蛋白H3和H4,但在多数泉古菌中没有<sup>[20]</sup>,所有这些均表明奇古菌在DNA复制和调节蛋白等方面的特征明显不同于泉古菌。

**3.1.4 拓扑异构酶(Topoisomerases):**拓扑异构酶在维持DNA的拓扑结构中起着重要作用,也是重要的遗传标记基因。古菌、真核生物、细菌和病毒的拓扑异构酶主要为A家族Type I DNA(IA)型,B家族Type I DNA拓扑异构酶(IB)仅在部分真核生物及少数细菌中发现,而奇古菌的拓扑异构酶为IB型<sup>[21]</sup>。在拓扑异构酶IB的系统发育树上,真核-古菌和病毒-细菌形成两个明显分离的分支,在真核-古菌这一分支上,奇古菌作为真核生物的姊妹群形成一个单系群;此外,在*N. gargensis*的基因组中,发现同时存在拓扑异构酶IA和IB,在*C. symbiosum*和*N. maritimus*中也发现拓扑异构酶IA的氨基酸C-末端,表明拓扑异构酶IA和IB可能存在于奇古菌早期的共同祖先中,并在广古菌门和嗜热泉古菌门进化过程中丢失<sup>[19]</sup>。此外,作为中温环境选择的结果,奇古菌不含嗜热古菌和一些嗜热细菌特有的逆促旋酶(reverse gyrase),但含有多数泉古菌和嗜热广古菌不具有的UvrABC核酸内切酶修复系统和GroEL分子伴侣<sup>[22-23]</sup>。

#### 3.2 细胞分裂相关基因

GTP酶FtsZ是多数细菌和广古菌的细胞分裂蛋白酶,泉古菌不含FtsZ蛋白,含有另外3种蛋白(CdvA, CdvB和CdvC),可能采用不同的细胞分裂模式。而奇古菌中同时存在这两种系统,但*cdvA*、*cdvB*、*cdvC*基因在奇古菌基因组上分布较随机而不像泉古菌那样以基因簇的形成存在<sup>[24-25]</sup>。在*cdvA*

基因的系统发育树上,奇古菌也形成一个单系群,表现出与泉古菌较远的亲缘关系<sup>[19]</sup>。

## 4 奇古菌的多样性和生理代谢特征

### 4.1 奇古菌的系统发育分支多样性

“奇古菌门”提出来以前,在许多中温环境如土壤、海洋、浮游生物、沉积物等中检测到大量古菌的16S rRNA基因以及后来发现的古菌氨单加氧酶基因(*amoA*)。这些基因序列所代表的中温古菌堪称地球上分布最广泛、数量最多的一类微生物。除最早发现的 Group I 外,中温环境中检测到的古菌类群还有 HWCGIII (Hot Water Crenarchaeotic Group III)、SAGMCG-1 (Miscellaneous Crenarchaeotic Group)、FFS (Finnish forest soil Crenarchaeota)、MBGB (Marine Benthic Group B)、YNPFFA 和 THSC1 等分支,但以 Group I 分布最为广泛和常见<sup>[10,26]</sup>。Group I 包括 Group I. 1、Group I. 2、Group I. 3 和 MBG

(Marine Benthic Group) 几个大分支,其中以 Group I. 1 为主,Group I. 1 又可分为 Group I. 1a、Group I. 1b 和 Group I. 1c<sup>[26]</sup>。Group I. 1a 主要分布于海洋环境,其数量可达海洋全部浮游生物的 20%,Group I. 1b 和 I. 1c 主要分布于土壤和陆地环境,约占土壤原核生物的 1% - 5%,Group I. 1c 在酸性土壤中含量尤其丰富,可占全部古菌数量的 85%<sup>[27-29]</sup>。有关这些泉古菌在环境中的多样性、丰度、分布和影响因素等我们已作过专门介绍<sup>[30]</sup>,本文不再赘述。

在新修定的古菌 16S rRNA 的系统发育树上,奇古菌和泉古菌形成两个独立的分支<sup>[31]</sup>(图 2)。在奇古菌这一分支上,来自热泉和热液口的 pSL12 Group 和 HWCGIII/Nitrosocaldus Group、来自开放海域的 ALOHA Group 和来自酸性土壤的 Group I. 1c 等类群与目前已认可的奇古菌(属于 Group I. 1a 和 I. 1b 中的氨氧化古菌富集培养物,详见下述)形成一个单系群,bootstrap 支持率达 100%,这些类群很可能均可以归入奇古菌门<sup>[31]</sup>。

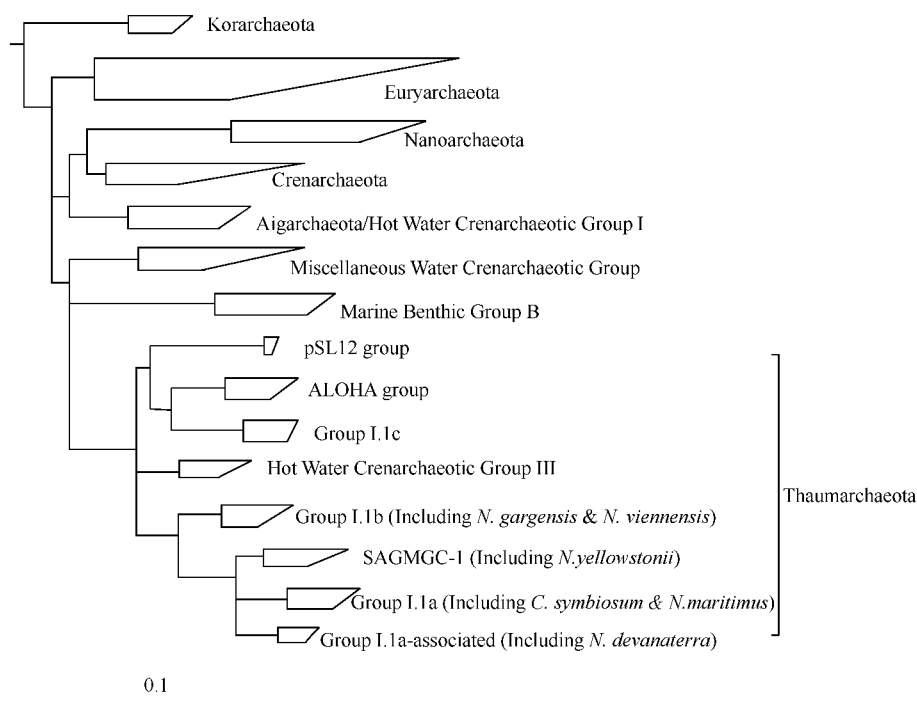


图 2 新修订的古菌 16S rRNA 基因系统发育关系示意图<sup>[31]</sup>

Fig. 2 Schematic phylogeny of archaea based on 16S rRNA gene<sup>[31]</sup>.

### 4.2 奇古菌的生理代谢和功能特征

奇古菌在环境中巨大的数量和高度多样性暗示其在生态系统中可能发挥重要作用,早年通过同位素示踪技术和对古菌类脂的分析发现,泉古菌能利

用<sup>14</sup>C-无机碳和 H<sub>2</sub><sup>13</sup>CO<sub>3</sub> 进行自养<sup>[32-33]</sup>。2004 年和 2005 年,两个对海洋和土壤样品进行的宏基因组学研究揭示古菌基因组中含有类似细菌编码氨单加氧酶的结构基因 *amoA*、*amoB* 和 *amoC*<sup>[34-35]</sup>。随后,

Könneke 等从海洋中成功分离培养到第一株奇古菌 *Nitrosopumilus maritimus*, 证实了这类古菌通过催化氨氧化获取能量进行自养生长的代谢特征<sup>[36]</sup>, 这些古菌也因此被称为氨氧化古菌 (Ammonia-oxidizing Archaea, AOA)。氨氧化古菌的发现, 不仅改变了近

百年来人们对氨氧化过程主要由细菌驱动的认识, 也为揭示奇古菌门的生理代谢特征及其在自然界物质转化尤其是氮和碳循环中的作用开启了新的篇章。以下列举了目前描述的几个奇古菌分离/富集培养物的特征 (表 1)。

表 1 已描述的奇古菌富集培养物及其特征

Table 1 Laboratory cultures or enrichments of Thaumarchaeota species

	<i>Cenarchaeum symbiosum</i>	<i>Nitrosopumilus maritimus</i>	<i>Nitrososphaera gargensis</i>	<i>Nitrosocaldus yellowstonii</i>	<i>Nitrososphaera viennensis</i> EN76	<i>Nitrosotalea devanaterra</i>	Candidatus <i>Giganthauma karukerense</i>	Candidatus <i>Gignathauma insulaporcus</i>
Translated term	海绵共生古菌	海洋亚硝化短小杆菌	加尔加亚硝化球菌	黄石亚硝化热泉菌	维也纳亚硝化球菌	阿伯丁土壤亚硝化细杆菌	暂定种: 卡鲁克拉巨大奇古菌	
Affiliation	Group 1. 1a	Group 1. 1a	Group 1. 1b	HWCGIII	Group 1. 1b	Group 1. 1a-associated	Giganthauma	Giganthauma
Origin and Habitat	Marine sponge symbiont	Tropical marine aquarium	Terrestrial warm spring	Terrestrial hot spring	Soil	Acidic soil (pH < 4.5)	Shallow water	Shallow water
Culture	Inside <i>Axinella Mexicana</i>	Pure culture	Enrichment	Enrichment	Enrichment	Enrichment	Uncultured microbial mat with long and thin white filaments.	Uncultured microbial mat with long and thin white filaments.
Metabolism	Putative ammonia oxidizer	Autotrophic ammonia oxidizer	Autotrophic ammonia oxidizer	Autotrophic ammonia oxidizer	Autotrophic ammonia oxidizer or sometimes mixotroph	Autotrophic ammonia oxidizer	Probably involved in the biological transformation of sulfur.	Unknown
Optimal Ammonium Concentration	~	< 2 mmol/L ( $K_m = 133$ nmol/L)	0.14 - 0.79 mmol/L	1 mmol/L	15 mmol/L	500 μmol/L	~	~
Possessing <i>amoA</i> gene	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Undetected	Undetected
Shape and size	Curved rod	Rod, 0.17 - 0.22 × 0.5 - 0.9 μm.	Cocci, 0.9 ± 0.3 μm in diameter	Small cocci or short rods	Cocci, 0.5 - 0.8 μm in diameter	Straight rod, 0.33 ± 0.01 × 0.89 ± 0.05 μm	Multiple cell assembly, filaments up to 30 mm long, 20 - 24 × 8 - 10 μm for a single cell	Multiple cell assembly, filaments up to 30 mm long, 6 - 8 × 10 μm for a single cell
Growth temperature	10°C (8 - 18°C)	28°C	46°C	72°C (65 - 74°C)	35°C	25°C	28°C	28°C
Others	~	~	~	~	Addition of low amounts of pyruvate or when grown in coculture with bacteria stimulate its growth	Obligate acidophilic, with an optimal pH at 4 - 5	Coated with sulfur-oxidizing Y-Proteobacteria	
Reference	[37]	[36]	[40]	[41]	[42]	[43]	[44]	[44]

*Cenarchaeum symbiosum* (海绵共生古菌), 与海绵 *Axinella mexicana* 共生, 在实验室条件下与海绵的共培养可以稳定繁殖, 但不能独立培养。由于易获得较多的生物量用于脂质、基因组学分析和形态结构鉴定, *Cenarchaeum symbiosum* 是第一株详细描述的中温泉古菌, 虽然未直接证明其氨氧化能力, 但其基因组中含有 *amoA* 基因, 与海绵的共培养物具有氨氧化能力<sup>[37]</sup>。基因组学分析显示 *C. symbiosum* 可能通过 3-羟基丙酸盐循环途径固定 CO<sub>2</sub>, 进行化能无机自养, 也可能通过三羧酸循环代谢有机碳源营混合营养生长<sup>[38]</sup>。

*N. maritimus* SCM1, 分离自热带海洋水族馆, 可利用碳酸氢盐和氨进行自养, 有机物抑制其生长。在 16S rRNA 基因系统发育树上的位置与 *C. symbiosum* 相似, 属于 Group 1.1 a, 代表海洋环境中的优势古菌<sup>[36]</sup>。*N. maritimus* 对氨的亲合力极高, 氨氧化动力学的半饱和常数 ( $K_m$  值) 为 133 nmol/L 铵, 远小于已知的氨氧化细菌的  $K_m$  值 (46 - 1780  $\mu$ mol/L 铵)<sup>[39]</sup>, 表明其与氨氧化细菌具有不同的生态位, 更适应于极端的寡营养环境条件。在营养条件受限的环境如海洋的氨氧化过程中可能起着更重要的作用。

除 *N. maritimus* 外, 从俄罗斯加尔加地区和美国黄石公园的陆地温泉中也富集培养到 2 株氨氧化古菌, 一株为 *Nitrososphaera gargensis* (加尔加亚硝化球菌), 属于 group 1.1 b, 化能自养, 铵的最适宜浓度为 0.14 - 0.79 mmol/L, 高于 3 mmol/L 浓度的铵即抑制其生长<sup>[40]</sup>; 另一株为 *Nitrosocaldus yellowstonii* (黄石亚硝化热泉菌), 属于 HWCG III (Hot Water Crenarchaeotic Group III), 其最适宜的生长温度在 65 - 74°C 之间, 高于其它已培养的中温氨氧化古菌<sup>[41]</sup>, 可见以奇古菌替代中温泉古菌的命名更适合这类微生物。

*Nitrososphaera viennensis* EN76 (维也纳亚硝化球菌), 是第一株分离自土壤环境的氨氧化古菌<sup>[42]</sup>, 比分离自海洋的氨氧化古菌能耐受更高浓度的铵, 化能自养, 但需在低浓度的丙酮酸 (0.1 mmol/L) 存在下或与细菌共培养时才能获得较快的生长速率, 通过 <sup>13</sup>C 同位素标记及二级离子质谱分析 (Nano-Scale Secondary Ion Mass Spectrometry, NanoSIMS) 发现, *N. viennensis* EN76 的细胞骨架中有 10% 的碳是来自丙酮酸, 其余主要来自对碳酸氢盐的固定, 在其基

因组中还发现了编码 3-羟基丙酸盐/4-羟基丁酸盐碳固定代谢途径的关键酶如: 乙酰辅酶 A 羧化酶、甲基丙二酸辅酶 A 变位酶和 3-羟基酰基辅酶 A 脱氢酶等酶系, 但由于类似的代谢途径在一些严格异养的泉古菌中也存在, 因此不排除该菌营混合型营养或异养生长的可能<sup>[42]</sup>。

*Nitrosotalea devanaterra* (阿伯丁土壤亚硝化细杆菌) 是最近从英国苏格兰酸性土壤 (pH 4.5) 中富集培养到的一株嗜酸氨氧化古菌, 其适宜的生长 pH 为 4 - 5, 当 pH > 5.5 时生长受抑制; 适宜的铵浓度为 500  $\mu$ mol/L, 铵浓度高于 50 mmol/L 时不生长; 亚硝酸盐积累超过 40  $\mu$ mol/L 时抑制其生长<sup>[43]</sup>。

除以上氨氧化古菌外, Muller 等<sup>[44]</sup> 在海口浅水区富含硫酸盐 (几百  $\mu$ mol/L - mmol/L) 的环境中也发现一些古菌的聚集体, 它们在树根、石头、沉水木材等表面聚集生长成长丝状, 最长可达 30 mm, 因其 rRNA 基因与 *N. maritimus* 的相似性超过 97%, 故命名为 *Gignathauma* (巨大奇古菌)。Muller 等描述的两个暂定种为: *Candidatus Gignathauma karukerense* 和 *Candidatus Gignathauma insulaporcus*。*Candidatus G. karukerense* 聚集丝状体的外围由  $\gamma$ -变形菌纲的硫酸盐氧化细菌所包裹, 二者表现出明显的共生关系; *Candidatus G. insulaporcus* 无细菌包裹, 随机分布于 *Candidatus G. karukerense* 与硫酸盐氧化菌的共生体内。在这两个巨大奇古菌中均未检测到 *amoA* 基因, 但推测 *Candidatus G. karukerense* 可能与硫化物的转化相关, 其功能有待进一步验证。这两株巨大奇古菌和其与细菌共生关系的发现再次体现了奇古菌种类、形态和生理代谢特征的多样性, 也为奇古菌门的单独划分提供了支持, 但目前还不确定是否所有奇古菌均具有氨氧化能力或部分奇古菌可能具有其他能量代谢途径。

## 5 其他特征

古菌膜脂中甘油通过醚脂键与长链异戊二烯相连, 不同于细菌和真核生物以酯键和脂肪酸连接。核心膜脂、甘油二醚、甘油四醚类物质是古菌的代表性脂类, 其中 Archaeol 和 Sn-2 hydroxyarchaeol 是广古菌门的主要脂类, GDGTs (Glycerol Dialkyl Glycerol Tetraethers) 是泉古菌门的主要脂类<sup>[45]</sup>。GDGTs 因其侧链所含的环戊烷个数不同而被分为 GDGT0、

GDGT1、GDGT2、GDGT3 和 Crenarchaeol。Crenarchaeol 最初发现于 *C. symbiosum* 与海绵的共生体,其侧链除含有 4 个常规的环戊烷环外,还含有一个环己烷半族<sup>[46]</sup>。嗜热泉古菌不含 Crenarchaeol,但近来在 *N. maritimus*、*N. gargensis* 和 *N. yellowstonii* 中均检测到 Crenarchaeol<sup>[47]</sup>。在一些环境中,Crenarchaeol 的含量与奇古菌 *amoA* 基因的丰度具有明显的正相关关系,因此 Crenarchaeol 被认为是氨氧化古菌特有的特征脂,建议更名为 Thaumarchaeol<sup>[19,48]</sup>。

## 6 展望

综上所述,对不同标记基因的系统发育分析和比较基因组学分析均表明奇古菌具有与其它古菌明显不同的特征。从进化的角度来看,奇古菌代表了古菌域中一个独立的分支。奇古菌独特的生理代谢、生态功能和脂类组成特征等也同样支持其作为第三个古菌门的划分,这一划分为认识古菌的进化和早期生命的演化提供了新的思路,也必将快速推进对奇古菌生理生态、遗传和功能等各方面的研究。但作为奇古菌门建立的关键依据如 r-蛋白和基因组学证据,仅局限于对以上少数几株氨氧化古菌培养物的分析,对于奇古菌在古菌域中的分类地位和演化关系还需要通过对更多培养物的相关分析进行验证和完善。此外,奇古菌具有丰富的多样性,对其更多生理代谢特性和生态功能的认识仍依赖于通过纯培养物进行验证或揭示,而目前得到的奇古菌纯培养物非常有限,仅见上述所列,因此分离培养仍是奇古菌今后研究的重要任务。由于奇古菌尤其是氨氧化古菌自养生长等生理代谢的特殊性,分离培养研究的难度更大,周期更长。因此,在开展分离培养研究的同时,利用各种免培养的研究方法,包括新一代高通量测序、宏基因组学、宏转录组学和宏蛋白组学等技术最大限度地揭示奇古菌的遗传多样性和可能的生理代谢特征,并结合利用各种原位分析手段(如稳定性同位素探测技术,Stable Isotope Probing, SIP 和二次离子质谱技术)和其它地球化学研究方法,探测其在生态系统物质和能量转化中的功能作用,也是目前和将来一段时间内的研究重点。

就氨氧化古菌而言,分子生态学研究表明奇古菌 *amoA* 基因丰度在大多数环境,包括海洋、沉积

物、土壤、淡水等中显著高于细菌的 *amoA* 基因,暗示其在生态系统硝化作用中可能起着重要作用。通过分离培养,检测 *amoA* 基因的转录表达,结合利用抑制剂抑制硝化作用过程和运用 SIP 技术等研究也证实氨氧化古菌在一些自然生态系统的硝化过程中起着主导作用<sup>[49-52]</sup>。此外,海洋氨氧化古菌对氨的高亲和力和氧化氨时极低的  $K_m$  值,表明其在低氨浓度环境的硝化作用中具有相当重要的贡献。但是,在一些环境中虽然检测到相当高数量的奇古菌 *amoA* 基因,而硝化作用主要由氨氧化细菌主导,奇古菌在生长过程中不利用 <sup>13</sup>C 标记的 CO<sub>2</sub>,说明部分奇古菌可能进行异养或混和营养生长<sup>[53-54]</sup>,对于这类含 *amoA* 基因的奇古菌在环境中大量存在和分布具有什么样的生理功能或生态学意义有待进一步研究。因此,系统研究奇古菌的生态生理学特征,评估不同氨氧化古菌类群在硝化过程中的作用和其它可能的生态功能,也是当前奇古菌研究中迫切需要解答的问题。除广古菌门中的产甲烷古菌外,奇古菌是迄今已知的唯一一类同时参与自然界 C、N 元素循环的古菌,可以肯定,随着多种研究手段的发展和多个交叉学科科学家的共同努力,人类必将越来越多地揭示出这类在地球上分布最为广泛的微生物类群所蕴藏的令人惊奇的生命奥妙。

致谢 中国科学院微生物研究所东秀珠研究员对本文进行了大量修订和术语校对,中国科学院生态中心博士生胡行伟对本文作了文字校对和修订,在此一并表示衷心的感谢。

## 参考文献

- [1] Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of prokaryotic domain—primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1977, 74: 5088-5090.
- [2] And the winner should be. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9: 696-696.
- [3] Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms—proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, 87: 4576-4579.
- [4] Brochier-Armanet C, Boussau B, Gribaldo S, Forterre P. Mesophilic crenarchaeota: proposal for a



- third archaeal phylum, the Thaumarchaeota. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6: 245-252.
- [ 5 ] 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: 1609-1613.
- [ 6 ] Elkins JG, Podar M, Graham DE, Makarova KS, Wolf Y, Randau L, Hedlund BP, Brochier-Armanet C, Kunin V, Anderson I, Lapidus A, Goltsman E, Barry K, Koonin EV, Hugenholtz P, Kyrpides N, Wanner G, Richardson P, Keller M, Stetter KO. A korarchaeal genome reveals insights into the evolution of the Archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105: 8102-8107.
- [ 7 ] 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: 63-67.
- [ 8 ] Delong EF. Archaea in coastal marine environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89: 5685-5689.
- [ 9 ] Fuhrman JA, Mccallum K, Davis AA. Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature*, 1992, 356: 148-149.
- [10] Schleper C, Jurgens G, Jonuscheit M. Genomic studies of uncultivated archaea. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3: 479-488.
- [11] Robertson CE, Harris JK, Spear JR, Pace NR. Phylogenetic diversity and ecology of environmental Archaea. *Current Opinion in Microbiology*, 2005, 8: 638-642.
- [12] Lecompte O, Ripp R, Thierry JC, Moras D, Poch O. Comparative analysis of ribosomal proteins in complete genomes: an example of reductive evolution at the domain scale. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30: 5382-5390.
- [13] Ramirez C, Louie K A, Matheson AT. A small basic ribosomal protein from the extreme thermophilic archaeobacterium *Sulfolobus solfataricus* that has no equivalent in *Escherichia coli*. *FEBS Letters*, 1991, 284: 39-41.
- [14] de Koning B, Blombach F, Wu H, Brouns SJJ, van der Oost J. Role of multiprotein bridging factor 1 in archaea: bridging the domains? *Biochemical Society Transactions*, 2009, 37: 52-57.
- [15] Kwapisz M, Beckouet F, Thuriaux P. Early evolution of eukaryotic DNA-dependent RNA polymerases. *Trends in Genetics*, 2008, 24: 211-215.
- [16] Puhler G, Leffers H, Gropp F, Palm P, Klenk HP, Lottspeich F, Garrett RA, Zillig W. Archaeobacterial DNA-dependent RNA polymerases testify to the evolution of the eukaryotic nuclear genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86: 4569-4573.
- [17] Hallam SJ, Konstantinidis KT, Putnam N, Schleper C, Watanabe Y, Sugahara J, Preston C, de la Torre J, Richardson PM, DeLong EF. Genomic analysis of the uncultivated marine crenarchaeote *Cenarchaeum symbiosum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103: 18296-18301.
- [18] Makarova KS, Sorokin AV, Novichkov PS, Wolf YI, Koonin EV. Clusters of orthologous genes for 41 archaeal genomes and implications for evolutionary genomics of archaea. *Biology Direct*, 2007, 2:33.
- [19] Spang A, Hatzenpichler R, Brochier-Armanet C, Rattei T, Tischler P, Spieck E, Streit W, Stahl DA, Wagner M, Schleper C. Distinct gene set in two different lineages of ammonia-oxidizing archaea supports the phylum Thaumarchaeota. *Trends in Microbiology*, 2010, 18: 331-340.
- [20] Sandman K, Reeve JN. Archaeal histones and the origin of the histone fold. *Current Opinion in Microbiology*, 2006, 9: 520-525.
- [21] Brochier-Armanet C, Gribaldo S, Forterre P. A DNA topoisomerase IB in Thaumarchaeota testifies for the presence of this enzyme in the last common ancestor of Archaea and Eucarya. *Biology Direct*, 2008, 3:54.
- [22] Kelman Z, White MF. Archaeal DNA replication and repair. *Current Opinion in Microbiology*, 2005, 8: 669-676.
- [23] Brochier-Armanet C, Forterre P. Widespread distribution of archaeal reverse gyrase in thermophilic bacteria suggests a complex history of vertical inheritance and lateral gene transfers. *Archaea*, 2007, 2: 83-93.
- [24] Lindas A-C, Karlsson EA, Lindgren MT, Ettema TJG, Bernander R. A unique cell division machinery in the Archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105: 18942-18946.
- [25] Samson RY, Bell SD. Ancient ESCRTs and the evolution of binary fission. *Trends in Microbiology*, 2009, 17:

- 507-513.
- [26] Nicol GW, Schleper C. Ammonia-oxidising Crenarchaeota: important players in the nitrogen cycle? *Trends in Microbiology*, 2006, 14: 207-212.
- [27] Karner MB, DeLong EF, Karl DM. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature*, 2001, 409: 507-510.
- [28] Buckley DH, Graber JR, Schmidt TM. Phylogenetic analysis of nonthermophilic members of the kingdom Crenarchaeota and their diversity and abundance in soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64: 4333-4339.
- [29] Kemnitz D, Kolb S, Conrad R. High abundance of Crenarchaeota in a temperate acidic forest soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 60: 442-448.
- [30] 贺纪正, 沈菊培, 张丽梅. 土壤中温泉古菌研究进展. *生态学报 (Acta Ecologica Sinica)*, 2009, 29(9): 5047-5055.
- [31] Pester M, Schleper C, Wagner M. The Thaumarchaeota: an emerging view of their phylogeny and ecophysiology. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14: 300-306.
- [32] Pearson A, McNichol AP, Benitez-Nelson BC, Hayes JM, Eglinton TI. Origins of lipid biomarkers in Santa Monica Basin surface sediment: A case study using compound-specific Delta C-14 analysis. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2001, 65: 3123-3137.
- [33] Wuchter C, Schouten S, Boschker HTS, Damste JSS. Bicarbonate uptake by marine Crenarchaeota. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 219: 203-207.
- [34] Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, Halpern AL, Rusch D, Eisen JA, Wu DY, Paulsen I, Nelson KE, Nelson W, Fouts DE, Levy S, Knap AH, Lomas MW, Nealson K, White O, Peterson J, Hoffman J, Parsons R, Baden-Tillson H, Pfannkoch C, Rogers YH, Smith HO. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 2004, 304: 66-74.
- [35] Treusch AH, Leininger S, Kletzin A, Schuster SC, Klenk HP, Schleper C. Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling. *Environmental Microbiology*, 2005, 7: 1985-1995.
- [36] 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: 543-546.
- [37] Preston CM, Wu KY, Molinski TF, DeLong EF. A psychrophilic crenarchaeon inhabits a marine sponge: *Cenarchaeum symbiosum* gen nov, sp, nov. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93: 6241-6246.
- [38] Hallam SJ, Mincer TJ, Schleper C, Preston CM, Roberts K, Richardson PM, DeLong EF. Pathways of carbon assimilation and ammonia oxidation suggested by environmental genomic analyses of marine Crenarchaeota. *Plos Biology*, 2006, 4: 520-536.
- [39] Martens-Habbena W, Berube PM, Urakawa H, de la Torre JR, Stahl DA. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria. *Nature*, 2009, 461: 976-U234.
- [40] Hatzepichler R, Lebecleva EV, Spieck E, Stoecker K, Richter A, Daims H, Wagner M. A moderately thermophilic ammonia-oxidizing crenarchaeote from a hot spring. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105: 2134-2139.
- [41] de la Torre JR, Walker CB, Ingalls AE, Konneke M, Stahl DA. Cultivation of a thermophilic ammonia oxidizing archaeon synthesizing crenarchaeol. *Environmental Microbiology*, 2008, 10: 810-818.
- [42] Tourna M, Stieglmeier M, Spang A, Koenneke M, Schintlmeister A, Urich T, Engel M, Schloter M, Wagner M, Richter A, Schleper C. *Nitrososphaera viennensis*, an ammonia oxidizing archaeon from soil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108: 8420-8425.
- [43] Lehtovirta-Morley LE, Stoecker K, Vilcinskis A, Prosser JI, Nicol GW. Cultivation of an obligate acidophilic ammonia oxidizer from a nitrifying acid soil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108: 15892-15897.
- [44] Muller F, Brissac T, Le Bris N, Felbeck H, Gros O. First description of giant Archaea (Thaumarchaeota) associated with putative bacterial ectosymbionts in a sulfidic marine habitat. *Environmental Microbiology*, 2010, 12: 2371-2383.
- [45] Pancost RD, Damste JSS. Carbon isotopic compositions of prokaryotic lipids as tracers of carbon cycling in diverse settings. *Chemical Geology*, 2003, 195: 29-58.
- [46] Damste JSS, Schouten S, Hopmans EC, van Duin ACT, Geenevasen JAJ. Crenarchaeol: the characteristic core glycerol dibiphytanyl glycerol tetraether membrane lipid of cosmopolitan pelagic crenarchaeota. *Journal of Lipid Research*, 2002, 43: 1641-1651.

- [47] Pitcher A , Schouten S , Damste JSS. In situ production of crenarchaeol in two California hot springs. *Applied and Environmental Microbiology* , 2009 , 75 : 4443-4451.
- [48] Leininger S , Ulrich T , Schloter M , Schwark L , Qi J , Nicol GW , Prosser JI , Schuster SC , Schleper C. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature* , 2006 , 442 : 806-809.
- [49] Tourna M , Freitag TE , Nicol GW , Prosser JI. Growth , activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms. *Environmental Microbiology* , 2008 , 10 : 1357-1364.
- [50] Offre P , Prosser JI , Nicol GW. Growth of ammonia-oxidizing archaea in soil microcosms is inhibited by acetylene. *FEMS Microbiology Ecology* , 2009 , 70 : 99-108.
- [51] Zhang LM , Offre PR , He JZ , Verhamme DT , Nicol GW , Prosser JI. Autotrophic ammonia oxidation by soil thaumarchaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 2010 , 107 : 17240-17245.
- [52] He JZ , Shen JP , Zhang LM , Zhu YG , Zheng YM , Xu MG , Di HJ. Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices. *Environmental Microbiology* , 2007 , 9 : 2364-2374.
- [53] Xia W , Zhang C , Zeng X , Feng Y , Weng J , Lin X , Zhu J , Xiong Z , Xu J , Cai Z , Jia Z. Autotrophic growth of nitrifying community in an agricultural soil. *ISME Journal* , 2011 , 5 : 1226-1236.
- [54] Mussmann M , Brito I , Pitcher A , Damste JSS , Hatzenpichler R , Richter A , Nielsen JL , Nielsen PH , Mueller 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 : 16771-16776.

## A novel archaeal phylum: Thaumarchaeota—A review

Limei Zhang , Jizheng He \*

State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology , Research Center for Eco-Environmental Sciences , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100085 , China.

**Abstract:** Based on the archaeal 16S rRNA gene phylogenetic tree , the archaeal domain is divided into two major phyla , Euryarchaeota and Crenarchaeota. During the past 20 years , diverse groups of archaea have been found to be widely distributed in moderate environments with the rapid development and application of molecular techniques in microbial ecology. Increasing evidence demonstrated that these archaea , especially ammonia-oxidizing archaea , play a major role in biogeochemical cycles of nitrogen and carbon elements. These mesophilic archaea were placed initially as a sister group of the Crenarchaeota and named as “non-thermophilic Crenarchaeota”. More recently , phylogenetic analyses based on more SSU and SLU rDNA sequences suggested that the non-thermophilic Crenarchaeota constituted a separate phylum of the Archaea that branched off before the separation of Crenarchaeota and Euryarchaeota. The Thaumarchaeota ( the Greek “*Thaumas*” , meaning wonder ) was therefore proposed for a novel phylum , as the third archaeal phylum. More studies based on r-proteins and comparative genomics confirm that the Thaumarchaeota are distinct from Crenarchaeota. In this paper , we gave a translated Chinese name for Thaumarchaeota and reviewed the recent progress on the phylogeny position , genetics , ecology and physiology of the Thaumarchaeota.

**Keywords:** non-thermophilic Crenarchaeota , Thaumarchaeota , ribosomal RNA gene , ammonia-oxidizing archaea

( 本文责编: 张晓丽 )

Supported by the National Natural Sciences Foundation of China ( 41171217 , 41025004 )

\* Corresponding Author. Tel/Fax: +86-40-62849788; E-mail: jzhe@cees.ac.cn

Received: 30 November 2011 / Revised: 8 February 2012