

海洋奇古菌门认知的拓展：从新类群到新功能

刘吉文^{1,2,3*}, 刘姣¹, 黄付燕¹, 任高杨¹, 张晓华^{1,2,3}

1 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003

2 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛 266071

3 中国海洋大学深海圈层与地球系统前沿科学中心, 山东 青岛 266100

刘吉文, 刘姣, 黄付燕, 任高杨, 张晓华. 海洋奇古菌门认知的拓展：从新类群到新功能. 微生物学报, 2022, 62(12): 4628–4645.

Liu Jiwen, Liu Jiao, Huang Fuyan, Ren Gaoyang, Zhang Xiaohua. The expanding knowledge of marine *Thaumarchaeota*: from new groups to new functions. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(12): 4628–4645.

摘要：奇古菌门是全球海洋中的重要微生物类群，在海洋原核浮游生物中的比例可达20%–40%。作为一类化能无机自养微生物，奇古菌门成员可通过氧化氨获得能量，实现不依赖光照的无机碳固定，在碳、氮等元素的地球化学循环中起关键作用。奇古菌门是海洋中氨氧化反应的主要执行者，其化能合成的有机质是海洋特别是深海环境中微生物的重要能量来源。随着研究的逐步深入，有关该类群生理代谢特性的认知不断被拓展，包括奇古菌门异养代谢的揭示、不具氨氧化能力类群在深海中的发现，以及最新报道的奇古菌门在厌氧条件下介导氧气、氧化亚氮和氮气的产生等。这些研究揭示了奇古菌门参与海洋生物地球化学循环和气候变化调节的新机制，为围绕该类群的深入探究和培养提供了新的思路和方向。本文从群落组成、环境适应、生态功能、进化历史和培养现状等方面综述了近年来有关海洋奇古菌门的新发现和新认识，以期增进对该类群的了解。

关键词：海洋；奇古菌门；时空分布；环境适应；生态功能；培养

基金项目：国家自然科学基金(92051115, 41976101)；山东省自然科学基金(ZR2022YQ38)；中央高校基本科研业务费专项(202141009)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (92051115, 41976101), by the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2022YQ38) and by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (202141009)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-532-82032721; E-mail: liujiwen@ouc.edu.cn

Received: 15 September 2022; Revised: 26 October 2022

The expanding knowledge of marine *Thaumarchaeota*: from new groups to new functions

LIU Jiwen^{1,2,3*}, LIU Jiao¹, HUANG Fuyan¹, REN Gaoyang¹, ZHANG Xiaohua^{1,2,3}

1 College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, Shandong, China

2 Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, Shandong, China

3 Frontiers Science Center for Deep Ocean Multispheres and Earth System, Ocean University of China, Qingdao 266100, Shandong, China

Abstract: *Thaumarchaeota* is an important microbial group in the global ocean, accounting for 20%–40% of the total marine prokaryotic plankton. As a group of chemautotrophs, *Thaumarchaeota* members are able to oxidize ammonia and leverage the released energy to fix inorganic carbon in the dark. They thus play a crucial role in the biogeochemical cycling of carbon and nitrogen. *Thaumarchaeota* are the major driver of ammonia oxidization in the ocean. The primary production by *Thaumarchaeota* through chemosynthesis serves as an important energy source for marine microorganisms, especially those in the deep-sea environments. With increasing efforts, the knowledge on the physiological and metabolic features of this group is expanded. This includes the evidence of heterotrophic metabolism, the discovery of thaumarchaeotal groups with no ammonia oxidation capacity in the deep sea, and the production of oxygen, nitrous oxide, and dinitrogen under anaerobic conditions. These studies reveal the new mechanisms of *Thaumarchaeota* in participating in the marine biogeochemical cycling and regulating climate change, which provide novel insights and perspectives for further studies and culture. In this study, we review new discoveries about marine *Thaumarchaeota* in recent years in terms of community composition, environmental adaptation, ecological function, evolutionary history, and culture status, with an aim of improving the understanding of this group.

Keywords: marine environment; *Thaumarchaeota*; distribution pattern; environmental adaptation; ecological functions; culture

古菌是构成三域生命系统的一个域^[1], 其成员在细胞结构、生长繁殖和生理代谢等方面与细菌和真核生物具有明显区别。以往认为古菌仅生存于高温、高盐等极端环境中, 但越来越多的证据表明, 古菌在常规自然环境, 如海水、土壤和沉积物中均有分布, 并可成为优势类群。海洋是古菌的重要栖息地, 在无光的深海水体中, 以奇古菌门为代表的古菌类群可占总微生物群落的近 40%, 甚至超过细菌所占比重^[2–3]。这些海洋古菌是碳、氮、硫等元素的循环转化过程中的重要驱动者, 在维持生态系统

稳定和调节气候变化中起关键作用。

Woese 等在 1977 年提出古菌域时^[1], 古菌仅由泉古菌门 (*Crenarchaeota*) 和广古菌门 (*Euryarchaeota*) 2 个门类组成, 前者主要包括在热泉中发现的嗜热类群, 而后者则以嗜盐古菌和厌氧的产甲烷古菌为主要代表。由于这些微生物的生存环境与早期地球环境类似, 因此得名古菌, 且古菌一直被认为只生存于类似极端环境中。1992 年, 古菌所属 16S rRNA 基因序列在近岸和深海水体中的发现^[4–5]颠覆了上述认知, 使人们意识到古菌的物种多样性远超以

往所知。这些从有氧、温度适中的海水中发现的古菌序列在进化树上形成了 2 个单系进化分支, 分别属于泉古菌门和广古菌门, 但均与先前已知的古菌类群亲缘关系较远, 被命名为 Group I 和 Group II。由于 Group I 代表首个从非高热环境发现的泉古菌门类群, 因此当时被称为中温泉古菌(mesophilic *Crenarchaeota*)。从海绵组织中检测到的与之共生的 *Candidatus* (*Ca.*) *Cenarchaeum symbiosum* 同样具有较低的生长温度(约 10–20 °C)^[6]。然而, 随后基于 *Ca. C. symbiosum* 基因组的系统进化分析表明, 这些中温泉古菌起源的时间早于泉古菌门和广古菌门的分化, 应该代表一个新的古菌门, 即奇古菌门(*Thaumarchaeota*)^[7]。在最新的分类体系中, 奇古菌门成员被归类为泉古菌门(*Silva* 数据库)/热变形菌门(*Thermoproteota*; genome taxonomy database 数据库)下的亚硝化球形菌纲(*Nitrososphaeria*)。然而, 鉴于奇古菌门这一名称仍被广泛使用, 且新的分类体系尚未被广泛接受, 本文沿用奇古菌门这一名称。

奇古菌门在海洋和陆地环境中均有分布, 但其优势类群构成不同的进化分支。海洋中奇古菌门的代表类群为 Group I.1a, 又称 Marine Group I (MGI), 而陆地/淡水类群更为多样, 包括 Group I.1b、I.1c、I.2 和 I.3 等^[8]。受河水径流等影响, 近海特别是河口区域往往可检测到较高丰度的陆源类群^[9]。在开放大洋区域, MGI 在寡营养深海环境中的丰度高于表层海洋^[2], 其成员可通过氧化氨释放的能量固定 CO₂, 主要营化能自养生活^[10]。该类群固定的 CO₂ 也为黑暗无光深海中异养生物的生存提供了重要的碳源和能源, 可贡献深海异养菌碳需求量的约 0.1%–1.0%^[11]。同时, MGI 对海洋氮素的循环转化起关键作用, 所有已知的海洋氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)都属于 MGI。

鉴于 MGI 的生态重要性, 其一直是领域学者研究的焦点, 不断有关于该类群的新的发现被报道出来(图 1)。早期国内对奇古菌门及氨氧化古菌的研究历史、多样性和生态功能已有较好的综述^[12]。2020 年, 洪义国等对氨氧化古菌的氨氧化和碳固定途径和机制进行了介绍^[13]。本文总结了近年来有关海洋中奇古菌门(主要是 MGI 类群)在分布特征、生理代谢和演化历史上的新结果和新发现。这些研究表明目前我们对奇古菌门的了解仍不全面, 有待进一步探究。

1 海洋奇古菌门的多样性和分布规律

MGI 是海洋中丰度最高的奇古菌门类群, 其在真光层以下的海水中占主导地位, 可占深海微生物细胞总量的 35%–40%^[2]。MGI 主要包括 4 个属:*Nitrosopumilus*、*Ca. Nitrosopelagicus*、*Ca. Nitrososmarinus* 和 *Ca. Cenarchaeum*。其中前 3 个属均有纯培养或富集培养物, 而 *Ca. Cenarchaeum* 是从海绵组织中发现和鉴定的类群, 尚未获得培养。虽然 *Ca. Nitrososmarinus* 首次被报道时将其归类为一个新属, 但 Qin 等近期基于基因组的系统发生分析表明, 该属与 *Nitrosopumilus* 在进化上无法区分开, 是 *Nitrosopumilus* 的异模式异名(heterotypic synonym)^[14]。不同 MGI 种属在海水中的分布具有明显区别。例如, *Nitrosopumilus* 主要分布于近海水体, 而 *Ca. Nitrosopelagicus* (water column A, WCA)则主要分布于大洋表层水体。深海中的 MGI 不仅数量高, 而且种属组成显著区别于上层海洋, 主导类群为尚未被培养的 water column B (WCB)。WCB 是整个深海水柱中的优势 MGI 类群, 但在水深超过 6 000 m 的深渊海沟区域, 一个特殊类群——深渊类群(hadal clade)的丰度显著升高^[3,15]。值得注意的是, 深渊类群与 *Nitrosopumilus* 的亲缘关系更近, 而并非

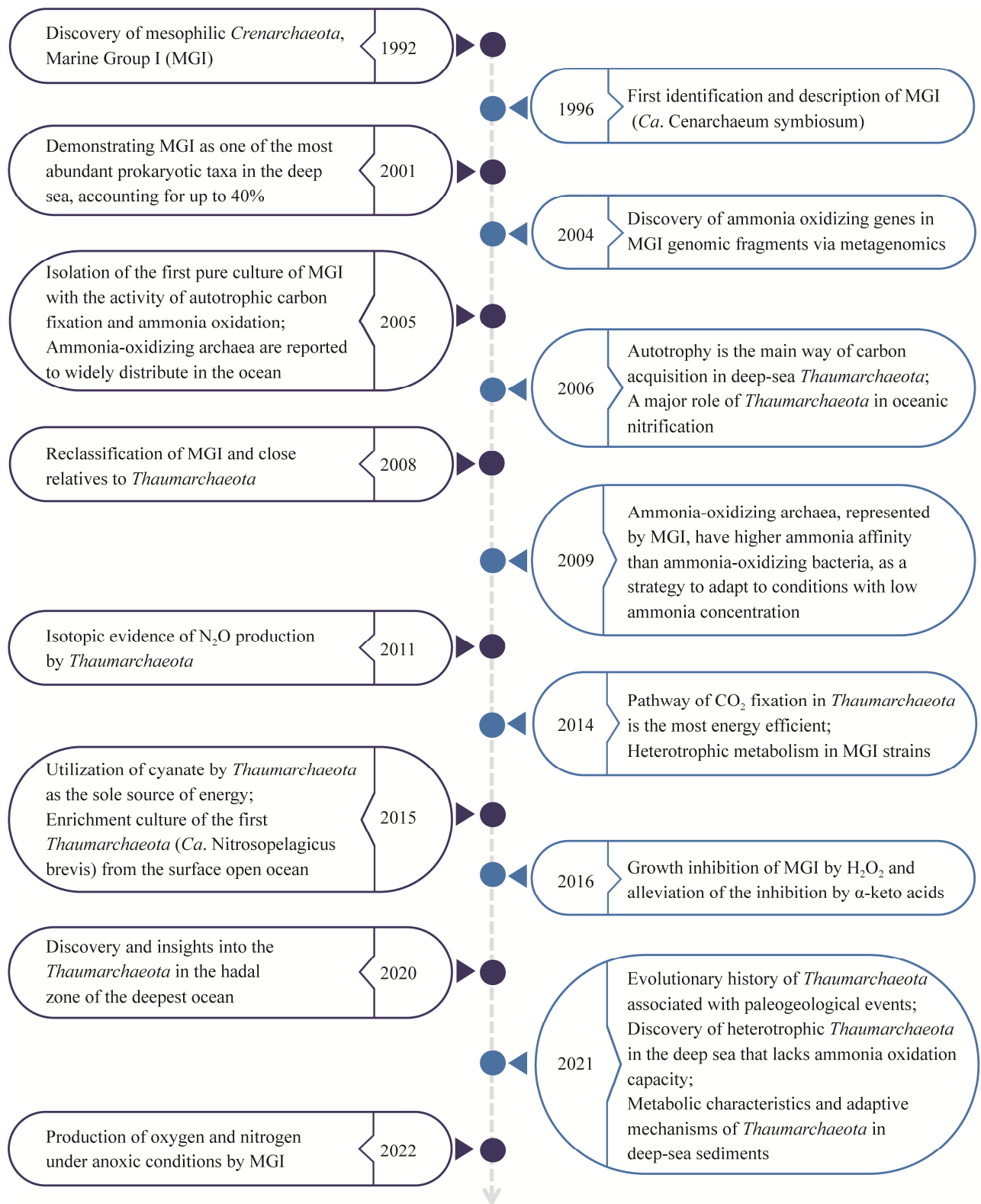


图 1 有关奇古菌门的重大发现时间轴

Figure 1 Timeline of significant discoveries in the *Thaumarchaeota*.

在深海占优的 WCB^[15], 其起源进化有待进一步探究。

除上述主导不同水层的 MGI 类群外, 近期的研究发现海洋中还存在一些其他的具特殊代谢特征的奇古菌门类群。例如, Aylward 等^[16]与 Reji 等^[17]分别在其研究中发现海洋中生活着一种基因组较小、缺乏氨氧化能力的化能异养类群(具糖酵解、脂肪酸 β -氧化途径和三羧酸循环), 可能使用二磷酸核酮糖羧化酶(RuBisCO)进行 CO₂ 的补偿吸收。该类群与典型的化能自养型 MGI 具有显著区别, 代表与氨氧化古菌不同的进化分支, 其主要分布在深海, 广泛存在于全球范围中层海洋(mesopelagic, 200–1 000 m), 丰度可达 MGI 氨氧化古菌的 6%^[16]。除自由生活的奇古菌外, Wang 等^[18]在采集自西太平洋深海的海绵中获得了 3 个奇古菌门所属基因组, 其中 1 个代表潜在的新种, 具特殊的共生附着和与宿主互作相关的基因。Zou 等^[19]在中国九龙江口发现了 *Nitrosopumilus* 的 1 个新种, 命名为 *Ca. Nitrosopumilus aestuariumsis*。其基因组编码多个与糖代谢、重金属转运和趋化运动等相关的蛋白, 可能是其适应生存环境的重要遗传基础。

奇古菌门 MGI 不仅存在于海水, 也分布于海洋沉积物中, 这与同期被发现的仅生活在海水中的广古菌门 Group II (MGII)类群截然不同。MGI 在近海和大洋沉积物中均有分布, 并具有较高丰度。例如, 我国边缘海表层沉积物中 MGI 的平均丰度占总古菌的 60%以上^[20]; 在大西洋等不同纬度(34°N–79°N)的深海表层沉积物中, MGI 在古菌中的平均比重约为 53%^[21]。不同类型海洋沉积物中的 MGI 丰度与氧含量显著相关, 高含氧量沉积物显著高于低含氧量沉积物^[22]。在位于北大西洋的寡营养含氧沉积物中, MGI 的相对丰度可达总微生物的 80%, 超过细菌成为最优势类群^[23]。虽然 MGI 喜好相对

有氧的环境, 但诸多证据显示其也可存在于厌氧沉积物中, 如 Jorgensen 等^[24]发现其在挪威–格陵兰深海厌氧沉积层中可占总微生物丰度的半数以上。另外, Zhao 等^[25]近期从大西洋中脊侧翼的玄武岩地壳层中检测到了 MGI, 并通过模型预测其可介导活跃的硝化反应。

MGI 的不同类群具有明显的生境偏好性, 代表不同的生态型, 基于 16S rRNA 基因的系统进化分析显示, 海水和沉积物中的 MGI 属于不同的进化分支^[26]。与海水类似, 近海沉积物中的 MGI 主要来自于 *Nitrosopumilus* 类群。而在深海沉积物中, 绝大多数类群无法被划分到上述的已知属, 只暂时命名为 *upsilon*、*eta*、*zeta* 等亚类群(基于 16S rRNA 基因的分类, 其中 *Nitrosopumilus* 为 *alpha* 亚类、*Ca. Nitrosopelagicus* 为 *beta* 亚类、WCB 为 *gamma* 亚类)。总体来说, 沉积物中 MGI 类群的多样性高于海水中的浮游类群, 但目前我们对底栖类群的了解十分有限。Kerou 等^[27]近期首次从深海沉积物(>2 000 m 水深)中获得了 *upsilon* 和 *eta* 等类群的基因组序列, 发现它们具有以甲酸、乳酸和 3-氨基丁酰基-CoA 等发酵产物作为额外碳源的异养潜能。这些基因组的获得对进一步明确深海沉积物奇古菌门类群的系统发生、生境迁移和环境适应具有重要意义。

2 个体和基因水平的环境适应策略

奇古菌门具有很强的环境适应能力, 也正因此其成员遍布从低温到高温^[28]、从淡水到高盐^[29]、从酸性到碱性^[30]的各种不同生境。对盐度适应能力的差异是陆地与海洋奇古菌类群生态位分化的主要原因^[31]。在海洋中, MGI 对深海生境的偏好可能源于其对光的敏感性。研究表明, 在实验室内光照可显著抑制 MGI 所属菌株的生长^[32], 且在野外光控实验中, 增强光照可

显著降低海水中 MGI 驱动的氨氧化反应速率^[33]。对于光照是起直接作用, 还是通过诱发光化学反应产生活性氧分子从而发挥间接作用, 目前尚存有一定争议^[34]。光照也一定程度上引发了 MGI 在表层和深层海洋间的生态分化, 参与光损伤 DNA 修复的光裂解酶几乎仅存在于表层类群, 而在深海类群中无法检测到^[35]。在表层海洋占优的富集菌株 *Ca. Nitrosopelagicus brevis* CN25 即拥有 2 个脱氧核糖二嘧啶光裂解酶 (deoxyribodipyrimidine photolyases) 编码基因^[36]。另外, 铵浓度也是海洋 MGI 分布的重要影响因素, 表层类群喜好高铵生境, 而深海类群则偏好低铵生境^[37]。一项最新的研究表明, 相比表层类群, 深海 MGI 的铵转运蛋白 (ammonium transporter, Amt) 可通过放大跨膜电势从而提高对底物的亲和力^[38]。事实上, MGI 对氨的高亲和力是其比氨氧化细菌在海洋中更占优势的最主要原因。

除满足对氨的摄取需求, 深海中的 MGI 也需面对高静水压力的挑战, 它们的基因组中具有合成一些特殊渗透压保护剂如二肌肌醇磷酸 (di-myoinositol phosphate) 和甘氨酸的编码基因, 可能用于抵抗高压胁迫。ATP 合成酶 (ATPase) 似乎也与深海, 特别是深渊 MGI 的高压适应有关^[15]。近海/表层海洋中的 MGI (*Nitrosopumilus* 和 *Ca. Nitrosopelagicus*) 的 ATP 合成酶主要为 A 型, 而 WCB 类群则拥有 V 型 ATP 合成酶^[14]。有趣的是, 深渊 MGI 具有 2 个 ATP 合成酶基因拷贝, 分别为 A 型和 V 型, 前者在 MGI 中保守存在, 而后者可能经过水平基因转移从广古菌门成员处获得, 二者分别通过形成 H^+ 和 Na^+ 跨膜梯度进行 ATP 的合成^[15]。Wang 等发现酸性土壤中的奇古菌门成员也同时具有 2 种类型的 ATP 合成酶, 其中的 V 型合

成酶已经实验证明可通过外排质子提高大肠杆菌对酸性环境的适应^[39]。然而, 对 V 型 ATP 合成酶对高压保护的具体机制目前尚不清楚。

MGI 是需氧型微生物, 其分布也与氧的浓度密切相关。在全球范围海洋沉积物中, 氧含量是 MGI 相对丰度的决定性影响因素^[22]。MGI 虽喜好有氧环境, 但表现出较强的低氧耐受性。其代表菌株 *Nitrosopumilus maritimus* SCM1 的氧半饱和常数为 $3.91 \mu\text{mol/L}$, 可在低至约 $1 \mu\text{mol/L}$ 的溶解氧环境中生长, 大气氧水平甚至可一定程度抑制该菌株的生长^[40-41]。对低氧的耐受性为 MGI 在海洋溶解氧最小值区 (oxygen minimum zone, OMZ) 氧跃层中的高丰度和高活性提供了竞争优势^[42]。实际上, 通过同位素示踪手段实地测量的氧半饱和常数甚至更低 [低至 $(0.33 \pm 0.13) \mu\text{mol/L}$]^[43]。OMZ 中的 MGI 可通过硝化作用为厌氧氨氧化和反硝化细菌提供底物, 并可与厌氧氨氧化细菌竞争氨底物, 在该区域的氮素循环过程中发挥重要作用。

3 海洋奇古菌门的代谢特征与生态作用

化能自养是海洋奇古菌门的主要营养类型。奇古菌门使用一种经过修饰的 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸 (3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate, HP/HB) 途径进行 CO_2 的固定。简而言之, 该途径将乙酰 CoA 和 2 分子碳酸氢根转化为 3-羟基丙酸, 之后生成琥珀酰 CoA, 再由琥珀酰 CoA 转变为 4-羟基丁酸, 最终生成 2 分子乙酰 CoA。3-羟基丙酸和 4-羟基丁酸生成后的继续转化由 2 种不同的 CoA 连接酶介导发生, 它们均消耗 ATP 产生二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP)。相比之下, 在典型的未经修饰的 HP/HB 途径中 (主要存在于好氧的泉古菌门类群), 催化

这一反应的酶消耗 ATP 的产物为单磷酸腺苷 (adenosine monophosphate, AMP)。因此, 经过修饰的 HP/HB 途径降低了其每循环一次所需消耗的高能磷酸键的数量, 使其成为有氧条件下能量效率最高的碳固定途径^[44]。目前, 该途径仅在奇古菌门成员中发现, 这也是奇古菌门 MGI 得以在寡营养的深海环境中占据优势的重要原因。作为深海初级生产力的重要贡献者^[45], 奇古菌门在驱动碳元素的循环中发挥重要作用。据估计, 全球深海中的 MGI 每年可固定约 3.3×10^{13} mol 碳^[46], 其中 4%–50% 可释放到周围水体环境, 占深海异养菌碳需求的 0.1%–1.0%^[11]。

CO₂ 固定是耗能反应, 而奇古菌门主要以氨作为能量来源, 在有氧条件下将氨氧化为亚硝酸盐。氨氧化反应主要分为 2 个步骤, 首先在氨单加氧酶(ammonia monooxygenase, AMO) 的作用下产生羟胺。AMO 为异源三聚体复合物, 由 3 个亚基构成, 分别由 *amoA*、*amoB* 和 *amoC* 编码, 这 3 个基因在氨氧化细菌和氨氧化古菌中均存在, 但后者具有一个额外的功能尚不清楚的 *amoX* 基因^[47]。*amoA* 已被广泛应用于不同环境中氨氧化微生物的多样性和分布规律研究^[9,48–49]。氨氧化反应的第二步是羟胺的转化, 但目前该反应的具体发生机制尚存在争议。在氨氧化细菌中, 羟胺在羟胺脱氢酶(hydroxylamine oxidoreductase, HAO)的作用下被氧化为 NO^[50], 但 NO 的后续转化过程仍不清晰。有研究推测, 含铜亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, NirK)及其同源蛋白亚硝基花青素(nitrosocyanin, NcyA)可能参与 NO 的转化, 但这 2 种酶的编码基因并非保守存在于所有氨氧化细菌中, 因此其作用有待进一步探究。氨氧化古菌中的羟胺转化过程更加模糊不清。首先, 氨氧化古菌中不存在羟胺脱氢酶, 羟胺的氧化机

制尚不清楚, 并且由于该酶的缺乏, NO 可能并非由羟胺转化而来。其次, NO 在氨氧化古菌中的产生和消耗紧密衔接, 添加 NO 清除剂可显著抑制氨氧化古菌而非氨氧化细菌的活性, 因此 NO 对氨氧化古菌来说是一种更为重要的中间代谢产物^[51]。据此推测, 羟胺和 NO 可能作为共同底物被转化为亚硝酸盐, 而生成的部分亚硝酸盐在 NirK 的催化下被还原成 NO, 从而使反应循环进行^[51–52], 但这一推测尚需实验证实。尽管细菌和古菌均能介导氨的氧化, 但奇古菌门 MGI 因具有比氨氧化细菌更高的氨亲和力, 成为大洋寡营养环境中最具优势的氨氧化微生物^[53]。多项研究表明海水中奇古菌 *amoA* 基因的丰度与氨氧化速率呈显著正相关^[54–56], 表明该门成员是海洋中氨氧化反应的主要执行者, 它们将再生的氨态氮转化为氧化形式的硝态氮, 活跃地驱动着海洋中氮元素的循环转化^[53,57]。

氨氧化反应中还会产生另外一种重要的中间代谢产物——N₂O。由于 N₂O 是一种重要的温室气体, 效应比 CO₂ 更为显著, 因此其产生和消耗过程被广为关注。在氨氧化细菌中, N₂O 可在硝化反硝化过程(nitrifier denitrification, 即氨氧化产生的亚硝酸盐经 NO 被还原成 N₂O)及由细胞色素 P460 催化的厌氧羟胺氧化反应中产生。相比之下, 氨氧化古菌中没有执行硝化反硝化过程的相关基因, 也没有酶学证据表明其可将羟胺氧化为 N₂O。它们介导的 N₂O 产生可能由中间代谢产物羟胺、亚硝酸盐和 NO 经非生物过程转化而来^[52]。氨氧化古菌产生的 N₂O 可占海洋硝化作用来源 N₂O 总量的 1.7%–100.0%^[58], 如此大的变化范围可能与研究区域及环境因子如溶解氧的差异有关^[59–60]。Qin 等对 2 个 MGI 菌株的研究发现, 低氧浓度可显著增强其 N₂O 的产生量^[41]。因此, 奇古菌门 MGI 被认为是海洋特别是 OMZ 区域 N₂O 的重要来源^[61]。除了产生

N_2O , 一项最新的研究发现, 菌株 *N. maritimus* SCM1 可在氧含量低至纳摩尔级别的条件下行产生 O_2 和 N_2 , 反应的中间产物为 NO 和 N_2O 。由于缺乏生化证据, 作者推测 NO 可通过歧化反应产生 O_2 和 N_2O , 后者进一步被还原为 N_2 ^[62]。这一发现为好氧的奇古菌门类群在低氧环境中的生存提供了合理解释, 同时表明奇古菌门介导的 N_2 产生可能是厌氧环境中除反硝化和厌氧氨氧化外, 脱氮作用的一条新途径。

尽管氨的氧化为奇古菌门提供了重要能量来源, 但海洋尤其是深海中的氨氧化速率往往较低, 使得仅靠氨氧化反应提供的能量可能无法长期维持奇古菌门处于较高的丰度水平, 因此海洋奇古菌门还可能具有其他的物质和能量来源^[63]。虽然绝大多数奇古菌门菌株均为专性自养菌, 但基于底物和脂质同位素标记的实验证实奇古菌门细胞可摄入氨基酸、乙酸、尿素等有机质进行自身细胞合成^[64-65], 深海奇古菌门 MGI 的脂质碳也有约 20% 可能来自外源有机物质^[66]。此外, 2 个 *Nitrosopumilus* 属的纯培养菌株被发现需要 α -酮戊二酸等小分子有机质才能进行正常生长^[32], 尽管有研究指出 α -酮戊二酸并非碳源, 其生长促进作用源自于对过氧化物的清除^[67]。此外, 研究显示 MGI 可直接利用氰酸盐和尿素作为能源和氮源^[68], 但对氨基酸和有机胺等其他含氮有机物的利用能力相对有限, 需要异养微生物的辅助才能进行^[69]。对氰酸盐的利用已在 *N. maritimus* SCM1 菌株中得到验证^[68], 但在其基因组中未寻找到已知的氰化酶编码基因, 暗示其通过未知的途径利用氰酸盐。另外, 在九龙江口发现的 *Ca. Nitrosopumilus aestuariumsis* 被发现具有降解几丁质的潜能^[19]。这些研究表明许多奇古菌门类群可能营混合营养(mixotrophy)生活以增强自身竞争优势。

奇古菌门在利用碳源的同时, 可通过自身代谢释放一系列具不同反应活性的有机物, 尤以含氮组分为主, 包括氨基酸、胸腺嘧啶和 B 族维生素等易降解有机质。如上所述, 奇古菌门释放的溶解有机质可贡献深海异养菌碳需求量的约 0.1%–1.0%^[11]。同时, 奇古菌门释放的有机质分子中还含有约 30% 的富含羧基的脂环族化合物(carboxyl-rich alicyclic molecules, CRAM)^[11]。CRAM 是惰性有机物的代表, 表明该门可通过微型生物碳泵作用贡献惰性有机碳库, 促进碳在海洋中的长期存储^[70]。除上述的基础碳、氮代谢外, 奇古菌门还具有一些特殊的生理特征, 例如能够合成维生素 B_{12} 。在海洋中仅奇古菌门和特定异养细菌具有维生素 B_{12} 合成能力, 而所有生物却需依赖该物质进行正常生长。奇古菌门在深海具维生素 B_{12} 合成潜力的微生物中占比 30%–80%, 是维生素 B_{12} 的主要产生源, 为深海中该物质缺陷型类群提供了基础营养成分^[71]。奇古菌门成员还能够合成含 C–P 键的甲基膦酸, 可作为许多海洋细菌类群在磷酸盐限制条件下的重要磷源物质^[72]。细菌对甲基膦酸的分解能够生成甲烷, 这可能是上层海洋中甲烷的重要来源, 具有重要的气候效应^[73]。反过来, 由于大多数奇古菌门成员对过氧化氢十分敏感, 因此其生长需要共存的异养细菌分泌酶以清除环境中的过氧化氢^[67]。这些结果表明, 奇古菌门与海洋中的其他微生物类群间具有复杂的代谢相互作用, 对生态系统的稳定运转具有重要意义。

4 海洋奇古菌门的演化历程

奇古菌门在海洋、陆地等不同环境中广泛存在, 其生境迁移和演化历史也得到了领域学者的广泛关注。祖先重建分析表明奇古菌门的祖先是一类嗜热、好氧、营自养生活的类群^[74],

最早可追溯到约 21 亿年前的古元古代中期^[75], 而其具有氨氧化能力的分支出现于约 12 亿年前的中元古代时期^[75]。当时罗迪尼亚(Rodinia)超大陆发生聚合, 并伴随强烈的弧火山作用和热事件, 为氨氧化古菌的出现提供了良好的环境条件, 而热泉被认为是氨氧化古菌的起源地。罗迪尼亚超大陆在约 9 亿年前解体, 地球随之进入冰川盛行的“雪球地球”时期, 而后又经历短暂的“温室地球”时期。在此阶段, 氨氧化古菌由热泉向周围低温环境迁移并发生适应性进化, 在约 7 亿年前演化出可耐受低温的土壤类群。伴随海水的不断氧化, 奇古菌门在大约 5 亿年前由陆地进入海洋环境, 此后, 由于深海氧含量持续升高, 铵盐浓度降低, 其在约 3 亿年前快速扩散到深海环境, 衍生出对氨有高亲和力的类群^[75]。奇古菌门由陆地向海洋的生境扩张可能并非一次性完成, 而是至少经历了 1 次淡水到海洋和 2 次海洋到淡水的进化事件^[31]。对 *Nitrosarchaeum* 的研究也表明, 虽然其首个纯菌株 *Nitrosarchaeum koreense* 分离自农业土壤^[76], 但系统进化分析表明其可能是由近海/河口类群演化而来的^[27], 从而为奇古菌门从海洋向陆地生境的反向迁移提供了证据。值得注意的是, 使用不同的分析模型, Ren 等^[77]推断奇古菌门由陆地到海洋及由浅海向深海分化的发生时间更为久远, 分别为约 10 亿年和 6.5 亿年。这表明不同分析模型的使用会对推断结果产生一定影响。

5 海洋奇古菌门的培养

因奇古菌门的化能自养和慢速生长等特性, 难以在实验室条件下获得其成员的培养物, 一定程度上限制了对其生理代谢和生态功能的了解。世界上第一个奇古菌门的纯培养株 *N. maritimus* SCM1 是从热带水族馆鱼缸的碎石中分离得到的^[10]。在此之前, 研究发现 MGI 古菌在自然硝

化环境和硝化菌的富集培养物中占主导地位, 预示 MGI 可能具有氨氧化活性^[78]。2004 年, Venter 等^[79]从海水宏基因组中拼接得到的 MGI 基因片段中发现了 *amoA* 基因, 为奇古菌门的氨氧化能力提供了遗传证据。在此基础上, 美国华盛顿大学的 David A. Stahl 教授团队建立了一种以氯化铵为电子供体、碳酸氢盐为唯一碳源的自养培养体系, 在首先获得了 MGI 的富集培养物后, 通过稀释性连续传代最终获得了奇古菌门的首个纯培养菌株, 并且发现该菌株可氧化氨同时固定 CO₂, 有机物的添加甚至可抑制该菌株的生长^[10]。

采用同样的培养策略并加以修订, 若干个海洋和陆地来源的奇古菌门菌株相继被培养出来(表 1)。例如, Park 等采用常规培养基(synthetic *Crenarchaeota media*)无法获得奇古菌的富集物, 但通过在培养基中额外添加硫代硫酸盐从而建立氨氧化古菌和硫氧化细菌的共培养体系, 成功从近海沉积物中获得了 2 个 MGI 的富集培养物, 作者猜测硫氧化细菌可能提供 MGI 必须的生长因子或通过呼吸作用产生低氧环境以提升 MGI 的活性^[80]。通过调整培养基缓冲液(碳酸氢盐或 HEPES)和降低氯化铵浓度, Qin 等分离纯化到若干新的 *Nitrosopumilus* 属菌株(表 1), 发现了以尿素为底物的氮获取方式以及小分子有机质如丙酮酸等对生长的促进作用, 表明 MGI 可能营混合营养生活^[32,81]。虽然这些小分子有机质主要是用于清除环境中的 H₂O₂ 而非作为碳源, 但 MGI 对尿素及氰酸盐^[68]的利用表明其具有一定的异养能力。这些研究表明, 奇古菌门有氧呼吸产生的过氧化物可能会抑制其自身生长, 而在低氧环境下该抑制作用可有所缓解, 这为解释其在海洋低氧环境的高丰度提供了新的思路。总之, 对奇古菌门的培养需要盐度、铵盐、溶解氧、有机质等多重环境因素的综合考量。

表 1 奇古菌门纯菌株和富集培养物的信息

Table 1 The information of thaumarchaeotal isolates and enrichments

Habitat	AOA strain	Source	Proportion/%	T/°C	pH	References
Marine	<i>Ca. Nitrosopumilus koreensis</i> AR1	Marine sediment (Svalbard, the Arctic Circle)	>80	25	8.0–8.2	[80]
	<i>Ca. Nitrosopumilus sediminis</i> AR2	Marine sediment (Svalbard, the Arctic Circle)	>80	25	8.0–8.2	[80]
	<i>Nitrosopumilus maritimus</i> SCM1	Tropical marine aquarium	100	32	7.3	[10,81]
	<i>Ca. Nitrosoarchaeum limnia</i> SFB1	San Francisco Bay Estuary sediment	84	22	N/A	[82]
	<i>Nitrosopumilus cobalaminigenes</i> HCA1	The Puget Sound Estuary system 50 m depth marine water	100	25	7.3	[32,81]
	<i>Nitrosopumilus ureiphilus</i> PS0	Puget Sound surface sediment	100	26	6.8	[32,81]
	<i>Ca. Nitrosoarchaeum limnia</i> BG20	San Francisco Bay Estuary sediment	N/A	N/A	N/A	[83]
	<i>Ca. Nitrosopumilus salaria</i> BD31	San Francisco Bay Estuary sediment	N/A	N/A	N/A	[84]
	<i>Ca. Nitrosopumilus maritimus</i> NAO2	Surface ocean water (the Benguela upwelling system)	100	22	N/A	[85]
	<i>Ca. Nitrosopumilus maritimus</i> NAO6	Surface ocean water (the Benguela upwelling system)	100	27	N/A	[85]
	<i>Ca. Nitrosopelagicus brevis</i> CN25	25 depth marine water in North Eastern Pacific	90–95	22	N/A	[36,86]
	<i>Ca. Nitrosopelagicus brevis</i> CN75	75 depth marine water in North Eastern Pacific	N/A	22	N/A	[86]
	<i>Ca. Nitrosopelagicus brevis</i> CN150	150 depth marine water in North Eastern Pacific	N/A	13	N/A	[86]
	<i>Nitrosopumilus piranensis</i> D3C	Northern Adriatic Sea from approx. 0.5 m depth	100	32	7.1–7.3	[87–88]
	<i>Nitrosopumilus adriaticus</i> NF5	Northern Adriatic Sea from approx. 0.5 m depth	100	30–32	7.1	[87–88]
	<i>Nitrosopumilus maritimus</i> DDS1	200 m depth of seawater	100	25	7.5	[67]
	<i>Ca. Nitrosomarinus catalina</i> SPOT01	San Pedro Ocean Time-Series seawater	≥97	23	N/A	[89]
	<i>Nitrosopumilus oxycliniae</i> HCE1	17 m depth marine water in Hood Canal	100	25	7.3	[81]
	<i>Nitrosopumilus zosterae</i> NM25	Shimoda coastal eelgrass zone sediment	100	30	7.1	[90–91]
	Terrigenous	<i>Ca. Nitrosocaldus yellowstonii</i> HL72	Hot spring sediment	>90	65–72	N/A
<i>Nitrososphaera viennensis</i> EN76		Garden soil	100	42	7.5	[92–93]
<i>Ca. Nitrososphaera</i> sp. EN123		Garden soil	>75	37	7.5	[92]
<i>Nitrosoarchaeum koreensis</i> MY1		Agricultural soil	100	25	7.0	[76,94]

(待续)

(续表 1)

<i>Ca. Nitrososphaera</i> sp. JG1	Agricultural soil	90	37	6.5	[95]
<i>Ca. Nitrosotenuis uzonensis</i> N4	Kamchatka peninsula (Russia) hot spring	50	46	7.6–7.8	[96]
<i>Ca. Nitrososphaera evergladensis</i> SR1	Everglades soil	50	N/A	N/A	[97]
<i>Ca. Nitrosotenuis chungbukensis</i> MY2	Agricultural soil	91	30	7.0–7.5	[98]
<i>Ca. Nitrosotalea devanaterre</i> Nd1	Acid agricultural soil	100	25	5.0	[99–100]
<i>Ca. Nitrosotalea</i> sp. Nd2	Acidic paddy field soil	100	35	5.0	[100]
<i>Ca. Nitrososphaera gargensis</i> Ga9.2	Microbial mats (Garga hot spring)	100	46	8.2	[101–102]
<i>Ca. Nitrosotenuis cloacae</i> SAT1	Activated sludge (wastewater treatment plant)	91	29	6.5	[103]
<i>Ca. Nitrosocosmicus oleophilus</i> MY3	Coal tar-contaminated sediment	>99	30	6.5–7.0	[104]
<i>Ca. Nitrosocosmicus franklandus</i> C13	Arable soil	100	40	7.5	[105]
<i>Ca. Nitrosocosmicus exaquare</i> G61	Biofilm (wastewater treatment plant)	99	33	8.5	[106]
<i>Ca. Nitrososphaera</i> sp. OTU-8	Wastewater treatment plant	91	30	7.5	[107]
<i>Ca. Nitrosocaldus islandicus</i>	Hot spring biofilm	85	60	7.0–8.0	[108]
<i>Ca. Nitrosocaldus cavascurensis</i> SCU2	Hot spring mud	92	68	N/A	[109]
<i>Ca. Nitrosotenuis aquarius</i> AQ6F	Freshwater aquarium biofilter	97–99	33	8.5	[110]
<i>Ca. Nitrosocosmicus agrestis</i> SS	Vegetable soil	92–94	30	7.0	[111–112]
<i>Ca. Nitrosocosmicus</i> sp. HNSD	Paddy soil	91	30	7.0	[112]
<i>Ca. Nitrosocosmicus</i> sp. HNBJ	Banana soil	89	30	7.0	[112]

N/A: no report in the related reference.

目前所报道的奇古菌门菌株或富集培养物都是在液体培养基中生长并维持的。液体培养方式便于收集菌体，监控生长、底物消耗和产物生成等过程，但难以构建遗传操作体系从而解析分子机制。而在固体培养基中获得菌株的单克隆菌落，对深入理解奇古菌门的代谢机制具有重要意义。2015年，Chu等^[113]通过穿刺培养方法，证实了奇古菌门菌株可以在低熔点琼脂糖中生长和维持，但仅观测到连续的细胞团块，而并非单一菌落。2022年，Klein等^[114]进一步改善了培养条件，他们使用一种液固联合培养法成功对奇古菌门的3个纯培养菌株进行

了培养，并成功获得了单一菌落。该方法使用的培养基分为2层，其中下层为半固体培养基，而上层为等体积的液体培养基。此研究为富集纯化奇古菌所属菌株，乃至其他难培养微生物类群的纯培养提供了新的思路。

6 研究展望

如上所述，目前我们已对海洋奇古菌门类群的多样性、分布、代谢和功能有了许多认识，它们广泛分布于海洋的各个角落，响应环境变化衍生出多个不同的进化分支，通过氧化氨和固定CO₂，为真光层中的浮游藻类提供硝酸盐，

为深海中异养微生物提供有机质,因而在海洋元素的地球化学循环中发挥关键作用。然而,目前对海洋奇古菌门(MGI)的研究仍存在着许多重要问题,其解决有待于进一步开展更多更细致的工作。

首先,自 MGI 发现以来,近 30 年围绕该类群的研究极大地拓展了对其代谢特性的认识,从氧化氨为亚硝酸盐,产生 NO 和 N₂O,合成磷酸类化合物和维生素 B₁₂,到最新发现的具有产 O₂ 和 N₂ 的活性,关于该类群的新发现不断涌现。因此,未来的工作应进一步聚焦 MGI 的生理代谢特征,以增进对其驱动的生物地球化学循环的理解。另一方面,虽然 MGI 的许多代谢活性已得到实验证实,但其相应的遗传基础和分子机制仍未阐明,例如羟胺的氧化和 O₂ 的产生等,因此对该类群遗传机制的解析有待加强。

其次,已有研究报道海洋中的浮游和底栖 MGI 代表不同的进化分支^[24],但现有针对 MGI 的研究多数聚焦于水体,而对同样具有高丰度和多样性的近海和大洋沉积物中的 MGI 知之甚少。海洋沉积物中的 MGI 物种多样性显著高于水体环境,可能衍生出特殊的物质利用能力,比如吸收和降解有机质的异养代谢^[19,32],但目前罕有关于深海沉积物中 MGI 代谢特征的相关报道。因此,后续研究应更多关注海洋沉积物中的 MGI 类群,有望进一步扩充其系统发育多样性,深化对该类群生理代谢和生态功能的认知。

再次,已知 MGI 与许多海洋微生物间形成了基于代谢偶联的互惠共生关系,但海洋生态系统中的代谢过程是一个复杂的网络体系,可能包括更为丰富的代谢形式,涉及更多类群的参与。解析高层次的涉及 MGI 的物种互作和代谢交流对深入理解该类群的生态角色和环境

效应具有重要科学意义。

最后,MGI 的培养依然是亟需攻克的难题。以上所有工作的开展和科学问题的解答均有赖于针对 MGI 纯培养菌株的室内验证实验。基于基因 *amoA* 的系统进化分析表明,目前已有纯培养物的分支仅占 MGI 多样性的一小部分^[115],其中以高丰度生存于深海水体中 MGI 类群仍未获得纯培养。在此背景下,进一步从不同环境中获得更多的纯培养菌株迫在眉睫。未来的研究需进一步明确 MGI 的营养缺陷特性,有针对性地改良培养基,并结合基因组学特性指导培养基的配制,逐步建立不同 MGI 类群通用的富集和纯培养体系。

参考文献

- [1] Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *PNAS*, 1977, 74(11): 5088–5090.
- [2] Karner MB, DeLong EF, Karl DM. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature*, 2001, 409(6819): 507–510.
- [3] 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. *PNAS*, 2015, 112(11): E1230–E1236.
- [4] DeLong EF. Archaea in coastal marine environments. *PNAS*, 1992, 89(12): 5685–5689.
- [5] Fuhrman JA, McCallum K, Davis AA. Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature*, 1992, 356(6365): 148–149.
- [6] Preston CM, Wu KY, Molinski TF, DeLong EF. A psychrophilic crenarchaeon inhabits a marine sponge: *Cenarchaeum symbiosum* gen. nov., sp. nov.. *PNAS*, 1996, 93(13): 6241–6246.
- [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] Jurgens G, Glöckner FO, Amann R, Saano A, Montonen L, Likolammi M, Münster U. Identification of novel archaea in bacterioplankton of a boreal forest

- lake by phylogenetic analysis and fluorescent *in situ* hybridization. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 34(1): 45–56.
- [9] Liu YY, Liu JW, Yao P, Ge TT, Qiao YL, Zhao MX, Zhang XH. Distribution patterns of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in sediments of the eastern China marginal seas. *Systematic and Applied Microbiology*, 2018, 41(6): 658–668.
- [10] 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.
- [11] Bayer B, Hansman RL, Bittner MJ, Noriega-Ortega BE, Niggemann J, Dittmar T, Herndl GJ. Ammonia-oxidizing archaea release a suite of organic compounds potentially fueling prokaryotic heterotrophy in the ocean. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(11): 4062–4075.
- [12] 张丽梅, 贺纪正. 一个新的古菌类群——奇古菌门 (*Thaumarchaeota*). *微生物学报*, 2012, 52(4): 411–421. Zhang LM, He JZ. A novel archaeal phylum: *Thaumarchaeota*—a review. *Acta Microbiologica Sinica*, 2012, 52(4): 411–421. (in Chinese)
- [13] 洪义国, 何翔, 吴佳鹏, 刘晓晗. 海洋氨氧化古菌及其驱动的碳氮生物地球化学循环过程研究进展. *中国科学院大学学报*, 2020, 37(4): 433–441. Hong YG, He X, Wu JP, Liu XH. Carbon-nitrogen biogeochemical cycle processes driven by ammonia-oxidizing archaea in marine environment. *Journal of University of Chinese Academy of Sciences*, 2020, 37(4): 433–441. (in Chinese)
- [14] Qin W, Zheng Y, Zhao F, Wang YL, Urakawa H, Martens-Habbena W, Liu HD, Huang XW, Zhang XX, Nakagawa T, Mende DR, Bollmann A, Wang BZ, Zhang Y, Amin SA, Nielsen JL, Mori K, Takahashi R, Virginia Armbrust E, Winkler MKH, DeLong EF, Li M, Lee PH, Zhou JZ, Zhang CL, Zhang T, Stahl DA, Ingalls AE. Alternative strategies of nutrient acquisition and energy conservation map to the biogeography of marine ammonia-oxidizing archaea. *The ISME Journal*, 2020, 14(10): 2595–2609.
- [15] 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.
- [16] Aylward FO, Santoro AE. Heterotrophic *Thaumarchaea* with small genomes are widespread in the dark ocean. *mSystems*, 2020, 5(3): e00415–e00420.
- [17] 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.
- [18] Wang P, Li MC, Dong L, Zhang C, Xie W. Comparative genomics of *Thaumarchaeota* from deep-sea sponges reveal their niche adaptation. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 869834.
- [19] 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): e00736–20.
- [20] Liu JW, Zhu SQ, Liu XY, Yao P, Ge TT, Zhang XH. Spatiotemporal dynamics of the archaeal community in coastal sediments: assembly process and co-occurrence relationship. *The ISME Journal*, 2020, 14(6): 1463–1478.
- [21] Danovaro R, Molari M, Corinaldesi C, Dell’Anno A. Macroecological drivers of archaea and bacteria in benthic deep-sea ecosystems. *Science Advances*, 2016, 2(4): e1500961.
- [22] 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. *PNAS*, 2020, 117(44): 27587–27597.
- [23] 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.
- [24] 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. *PNAS*, 2012, 109(42): E2846–E2855.
- [25] Zhao R, Dahle H, Ramírez GA, Jørgensen SL. Indigenous ammonia-oxidizing archaea in oxic subseafloor oceanic crust. *mSystems*, 2020, 5(2): e00758–19.
- [26] Liu JW, Yu SL, Zhao MX, He BY, Zhang XH. Shifts in archaeoplankton community structure along ecological gradients of Pearl Estuary. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 90(2): 424–435.

- [27] Kerou M, Ponce-Toledo RI, Zhao R, Abby SS, Hirai M, Nomaki H, Takaki Y, Nunoura T, Jørgensen SL, Schleper C. Genomes of *Thaumarchaeota* from deep sea sediments reveal specific adaptations of three independently evolved lineages. *The ISME Journal*, 2021, 15(9): 2792–2808.
- [28] De La Torre JR, Walker CB, Ingalls AE, Könneke M, Stahl DA. Cultivation of a thermophilic ammonia oxidizing archaeon synthesizing crenarchaeol. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(3): 810–818.
- [29] Pachiadaki MG, Yakimov MM, LaCono V, Leadbetter E, Edgcomb V. Unveiling microbial activities along the halocline of Thetis, a deep-sea hypersaline anoxic basin. *The ISME Journal*, 2014, 8(12): 2478–2489.
- [30] Gubry-Rangin C, Kratsch C, Williams TA, McHardy AC, Embley TM, Prosser JI, MacQueen DJ. Coupling of diversification and pH adaptation during the evolution of terrestrial *Thaumarchaeota*. *PNAS*, 2015, 112(30): 9370–9375.
- [31] Ren ML, Wang JJ. Phylogenetic divergence and adaptation of *Nitrososphaeria* across lake depths and freshwater ecosystems. *The ISME Journal*, 2022, 16(6): 1491–1501.
- [32] 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. *PNAS*, 2014, 111(34): 12504–12509.
- [33] Horak REA, Qin W, Bertagnolli AD, Nelson A, Heal KR, Han H, Heller M, Schauer AJ, Jeffrey WH, Armbrust EV, Moffett JW, Ingalls AE, Stahl DA, Devol AH. Relative impacts of light, temperature, and reactive oxygen on thaumarchaeal ammonia oxidation in the North Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography*, 2018, 63(2): 741–757.
- [34] 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.
- [35] Luo HW, Tolar BB, Swan BK, Zhang CL, Stepanauskas R, Ann Moran M, Hollibaugh JT. Single-cell genomics shedding light on marine *Thaumarchaeota* diversification. *The ISME Journal*, 2014, 8(3): 732–736.
- [36] 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. *PNAS*, 2015, 112(4): 1173–1178.
- [37] Sintès 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.
- [38] Kellom M, Pagliara S, Richards TA, Santoro AE. Exaggerated trans-membrane charge of ammonium transporters in nutrient-poor marine environments. *Open Biology*, 2022, 12(7): 220041.
- [39] Wang BZ, Qin W, Ren Y, Zhou X, Jung MY, Han P, Eloe-Fadrosch EA, Li M, Zheng Y, Lu L, Yan X, Ji JB, Liu Y, Liu LM, Heiner C, Hall R, Martens-Habbena 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.
- [40] 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(7266): 976–979.
- [41] Qin W, Meinhardt KA, Moffett JW, Devol AH, Virginia Armbrust E, Ingalls AE, Stahl DA. Influence of oxygen availability on the activities of ammonia-oxidizing archaea. *Environmental Microbiology Reports*, 2017, 9(3): 250–256.
- [42] Lam P, Lavik G, Jensen MM, Van De Vossenberg J, Schmid M, Wobken D, Gutiérrez D, Amann R, Jetten MSM, Kuypers MMM. Revising the nitrogen cycle in the Peruvian oxygen minimum zone. *PNAS*, 2009, 106(12): 4752–4757.
- [43] Bristow L, Dalsgaard T, Tiano L, Mills DB, Ulloa O, Canfield D, Revsbech N, Thamdrup B. High sensitivity of ammonia and nitrite oxidation rates to nanomolar oxygen concentrations. *Mineralogical Magazine*, 2013, 77(5): 775.
- [44] Könneke M, Schubert DM, Brown PC, Hügler M, Standfest S, Schwander T, Von Borzyskowski LS, Erb TJ, Stahl DA, Berg IA. Ammonia-oxidizing archaea use the most energy-efficient aerobic pathway for CO₂ fixation. *PNAS*, 2014, 111(22): 8239–8244.
- [45] Yakimov MM, Cono VL, Smedile F, DeLuca TH, Juárez S, Ciordia S, Fernández M, Albar JP, Ferrer M, Golyshin PN, Giuliano L. Contribution of crenarchaeal autotrophic ammonia oxidizers to the dark primary production in Tyrrhenian deep waters (central Mediterranean Sea). *The ISME Journal*, 2011, 5(6):

- 945–961.
- [46] Wuchter C, Abbas B, Coolen MJL, Herfort L, Van Bleijswijk J, Timmers P, Strous M, Teira E, Herndl GJ, Middelburg JJ, Schouten S, Sinninghe Damsté JS. Archaeal nitrification in the ocean. *PNAS*, 2006, 103(33): 12317–12322.
- [47] Tolar BB, Herrmann J, Bargar JR, Van Den Bedem H, Wakatsuki S, Francis CA. Integrated structural biology and molecular ecology of N-cycling enzymes from ammonia-oxidizing archaea. *Environmental Microbiology Reports*, 2017, 9(5): 484–491.
- [48] Li M, Cao HL, Hong YG, Gu JD. Spatial distribution and abundances of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in mangrove sediments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(4): 1243–1254.
- [49] Wu JP, Hong YG, He X, Liu XH, Ye JQ, Jiao LJ, Li YB, Wang Y, Ye F, Yang YH, Du J. Niche differentiation of ammonia-oxidizing archaea and related autotrophic carbon fixation potential in the water column of the South China Sea. *iScience*, 2022, 25(5): 104333.
- [50] Caranto JD, Lancaster KM. Nitric oxide is an obligate bacterial nitrification intermediate produced by hydroxylamine oxidoreductase. *PNAS*, 2017, 114(31): 8217–8222.
- [51] Kozłowski JA, Stieglmeier M, Schleper C, Klotz MG, Stein LY. Pathways and key intermediates required for obligate aerobic ammonia-dependent chemolithotrophy in bacteria and *Thaumarchaeota*. *The ISME Journal*, 2016, 10(8): 1836–1845.
- [52] Stein LY. Insights into the physiology of ammonia-oxidizing microorganisms. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2019, 49: 9–15.
- [53] Santoro AE, Richter RA, Dupont CL. Planktonic marine archaea. *Annual Review of Marine Science*, 2019, 11: 131–158.
- [54] Tolar BB, Ross MJ, Wallsgrove NJ, Liu Q, Aluwihare LI, Popp BN, Hollibaugh JT. Contribution of ammonia oxidation to chemoautotrophy in Antarctic coastal waters. *The ISME Journal*, 2016, 10(11): 2605–2619.
- [55] Peng XF, Fuchsman CA, Jayakumar A, Warner MJ, Devol AH, Ward BB. Revisiting nitrification in the Eastern Tropical South Pacific: a focus on controls. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 2016, 121(3): 1667–1684.
- [56] Shiozaki T, Ijichi M, Isobe K, Hashihama F, Nakamura KI, Ehama M, Hayashizaki KI, Takahashi K, Hamasaki K, Furuya K. Nitrification and its influence on biogeochemical cycles from the equatorial Pacific to the Arctic Ocean. *The ISME Journal*, 2016, 10(9): 2184–2197.
- [57] Hutchins DA, Capone DG. The marine nitrogen cycle: new developments and global change. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20(7): 401–414.
- [58] Wu L, Chen XM, Wei W, Liu YW, Wang DB, Ni BJ. A critical review on nitrous oxide production by ammonia-oxidizing archaea. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(15): 9175–9190.
- [59] Löscher CR, Kock A, Könneke M, LaRoche J, Bange HW, Schmitz RA. Production of oceanic nitrous oxide by ammonia-oxidizing archaea. *Biogeosciences*, 2012, 9(7): 2419–2429.
- [60] Yoshikawa C, Abe H, Aita MN, Breider F, Kuzunuki K, Toyoda S, Ogawa NO, Suga H, Ohkouchi N, Danielache SO, Wakita M, Honda MC, Yoshida N. Insight into nitrous oxide production processes in the western North Pacific based on a marine ecosystem isotopomer model. *Journal of Oceanography*, 2016, 72(3): 491–508.
- [61] Trimmer M, Chronopoulou PM, Maanoja ST, Upstill-Goddard RC, Kitidis V, Purdy KJ. Nitrous oxide as a function of oxygen and archaeal gene abundance in the North Pacific. *Nature Communications*, 2016, 7: 13451.
- [62] Kraft B, Jehmlich N, Larsen M, Bristow LA, Könneke M, Thamdrup B, Canfield DE. Oxygen and nitrogen production by an ammonia-oxidizing archaeon. *Science*, 2022, 375(6576): 97–100.
- [63] Offre P, Spang A, Schleper C. Archaea in biogeochemical cycles. *Annual Review of Microbiology*, 2013, 67: 437–457.
- [64] Seyler LM, McGuinness LR, Gilbert JA, Biddle JF, Gong D, Kerkhof LJ. Discerning autotrophy, mixotrophy and heterotrophy in marine TACK archaea from the North Atlantic. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94(3): fiy014.
- [65] Ouverney CC, Fuhrman JA. Marine planktonic archaea take up amino acids. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(11): 4829–4833.
- [66] Ingalls AE, Shah SR, Hansman RL, Aluwihare LI, Santos GM, Druffel ERM, Pearson A. Quantifying archaeal community autotrophy in the mesopelagic ocean using natural radiocarbon. *PNAS*, 2006, 103(17): 6442–6447.
- [67] 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. *PNAS*, 2016, 113(28): 7888–7893.
- [68] Kitzinger K, Padilla CC, Marchant HK, Hach PF, Herbold CW, Kidane AT, Könneke M, Littmann S, Mooshammer M, Niggemann J, Petrov S, Richter A, Stewart FJ, Wagner M, Kuypers MMM, Bristow LA. Cyanate and urea are substrates for nitrification by *Thaumarchaeota* in the marine environment. *Nature Microbiology*, 2019, 4(2): 234–243.
- [69] Damashek J, Bayer B, Herndl GJ, Wallsgrove NJ, Allen T, Popp BN, Hollibaugh JT. Limited accessibility of nitrogen supplied as amino acids, amides, and amines as energy sources for marine *Thaumarchaeota*. *bioRxiv*, 2021, DOI: 10.1101/2021.07.22.453390.
- [70] Jiao NZ, Herndl GJ, Hansell DA, Benner R, Kattner G, Wilhelm SW, Kirchman DL, Weinbauer MG, Luo TW, Chen F, Azam F. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(8): 593–599.
- [71] Heal KR, Qin W, Ribalet F, Bertagnolli AD, Coyote-Maestas W, Hmelo LR, Moffett JW, Devol AH, Armbrust EV, Stahl DA, Ingalls AE. Two distinct pools of B₁₂ analogs reveal community interdependencies in the ocean. *PNAS*, 2017, 114(2): 364–369.
- [72] Metcalf WW, Griffin BM, Cicchillo RM, Gao JT, Janga SC, Cooke HA, Circello BT, Evans BS, Martens-Habbena W, Stahl DA, Van Der Donk WA. Synthesis of methylphosphonic acid by marine microbes: a source for methane in the aerobic ocean. *Science*, 2012, 337(6098): 1104–1107.
- [73] Karl DM, Beversdorf L, Björkman KM, Church MJ, Martinez A, DeLong EF. Aerobic production of methane in the sea. *Nature Geoscience*, 2008, 1(7): 473–478.
- [74] Abby SS, Kerou M, Schleper C. Ancestral reconstructions decipher major adaptations of ammonia-oxidizing archaea upon radiation into moderate terrestrial and marine environments. *mBio*, 2020, 11(5): e02371–20.
- [75] Yang YY, Zhang CL, Lenton TM, Yan XM, Zhu MY, Zhou MD, Tao JC, Phelps TJ, Cao ZW. The evolution pathway of ammonia-oxidizing archaea shaped by major geological events. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(9): 3637–3648.
- [76] Jung MY, Islam MA, Gwak JH, Kim JG, Rhee SK. *Nitrosarchaeum koreense* gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon member of the phylum *Thaumarchaeota* isolated from agricultural soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(10): 3084–3095.
- [77] 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.
- [78] Stahl DA. The path leading to the discovery of the ammoniaoxidizing archaea. *Environmental Microbiology*, 2020, 22(11): 4507–4519.
- [79] 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(5667): 66–74.
- [80] Park BJ, Park SJ, Yoon DN, Schouten S, Sinninghe Damsté JS, Rhee SK. Cultivation of autotrophic ammonia-oxidizing archaea from marine sediments in coculture with sulfur-oxidizing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(22): 7575–7587.
- [81] Qin W, Heal KR, Ramdasi R, Kobelt JN, Martens-Habbena W, Bertagnolli AD, Amin SA, Walker CB, Urakawa H, Könneke M, Devol AH, Moffett JW, Armbrust EV, Jensen GJ, Ingalls AE, Stahl DA. *Nitrosopumilus maritimus* gen. nov., sp. nov., *Nitrosopumilus cobalaminigenes* sp. nov., *Nitrosopumilus oxycliniae* sp. nov., and *Nitrosopumilus ureiphilus* sp. nov., four marine ammonia-oxidizing archaea of the phylum *Thaumarchaeota*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(12): 5067–5079.
- [82] 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.
- [83] Mosier AC, Allen EE, Kim M, Ferriera S, Francis CA. Genome sequence of “*Candidatus Nitrosoarchaeum limnia*” BG20, a low-salinity ammonia-oxidizing archaeon from the San Francisco Bay Estuary. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(8): 2119–2120.
- [84] Mosier AC, Allen EE, Kim M, Ferriera S, Francis CA. Genome sequence of “*Candidatus Nitrosopumilus salaria*” BD31, an ammonia-oxidizing archaeon from

- the San Francisco Bay Estuary. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(8): 2121–2122.
- [85] Elling FJ, Könneke M, Mußmann M, Greve A, Hinrichs KU. Influence of temperature, pH, and salinity on membrane lipid composition and TEX₈₆ of marine planktonic thaumarchaeal isolates. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2015, 171: 238–255.
- [86] Santoro AE, Casciotti KL. Enrichment and characterization of ammonia-oxidizing archaea from the open ocean: phylogeny, physiology and stable isotope fractionation. *The ISME Journal*, 2011, 5(11): 1796–1808.
- [87] Bayer B, Vojvoda J, Offre P, Alves RJE, Elisabeth NH, Garcia JA, Volland JM, Srivastava A, Schleper C, Herndl GJ. Physiological and genomic characterization of two novel marine thaumarchaeal strains indicates niche differentiation. *The ISME Journal*, 2016, 10(5): 1051–1063.
- [88] Bayer B, Vojvoda J, Reinthaler T, Reyes C, Pinto M, Herndl GJ. *Nitrosopumilus adriaticus* sp. nov. and *Nitrosopumilus piranensis* sp. nov., two ammonia-oxidizing archaea from the Adriatic Sea and members of the class *Nitrososphaeria*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2019, 69(7): 1892–1902.
- [89] Ahlgren NA, Chen YY, Needham DM, Parada AE, Sachdeva R, Trinh V, Chen T, Fuhrman JA. Genome and epigenome of a novel marine *Thaumarchaeota* strain suggest viral infection, phosphorothioation DNA modification and multiple restriction systems. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(6): 2434–2452.
- [90] Nakagawa T, Koji M, Hosoyama A, Yamazoe A, Tsuchiya Y, Ueda S, Takahashi R, Stahl DA. *Nitrosopumilus zosterae* sp. nov., an autotrophic ammonia-oxidizing archaeon of phylum *Thaumarchaeota* isolated from coastal eelgrass sediments of Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2021, 71(8): 10.1099/ijsem.0.004961.
- [91] Matsutani N, Nakagawa T, Nakamura K, Takahashi R, Yoshihara K, Tokuyama T. Enrichment of a novel marine ammonia-oxidizing archaeon obtained from sand of an eelgrass zone. *Microbes and Environments*, 2011, 26(1): 23–29.
- [92] Tourna M, Stieglmeier M, Spang A, Könneke M, Schintlmeister A, Urich T, Engel M, Schloter M, Wagner M, Richter A, Schleper C. *Nitrososphaera viennensis*, an ammonia oxidizing archaeon from soil. *PNAS*, 2011, 108(20): 8420–8425.
- [93] Stieglmeier M, Klingl A, Alves RJE, Rittmann SKMR, Melcher M, Leisch N, Schleper C. *Nitrososphaera viennensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon from soil and a member of the archaeal phylum *Thaumarchaeota*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(Pt_8): 2738–2752.
- [94] Jung MY, Park SJ, Min D, Kim JS, Rijkstra WIC, Sinnighe Damsté JS, Kim GJ, Madsen EL, Rhee SK. Enrichment and characterization of an autotrophic ammonia-oxidizing archaeon of mesophilic crenarchaeal group I.1a from an agricultural soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(24): 8635–8647.
- [95] Kim JG, Jung MY, Park SJ, Rijkstra WIC, Sinnighe Damsté JS, Madsen EL, Min D, Kim JS, Kim GJ, Rhee SK. Cultivation of a highly enriched ammonia-oxidizing archaeon of thaumarchaeotal group I.1b from an agricultural soil. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(6): 1528–1543.
- [96] Lebedeva EV, Hatzepichler R, Pelletier E, Schuster N, Hauzmayr S, Bulaev A, Grigor'eva NV, Galushko A, Schmid M, Palatinszky M, Le Paslier D, Daims H, Wagner M. Enrichment and genome sequence of the group I.1a ammonia-oxidizing archaeon “*Ca. Nitrosotenuis uzonensis*” representing a clade globally distributed in thermal habitats. *PLoS One*, 2013, 8(11): e80835.
- [97] Zhálnina KV, Dias R, Leonard MT, Dorr De Quadros P, Camargo FAO, Drew JC, Farmerie WG, Daroub SH, Triplett EW. Genome sequence of *Candidatus Nitrososphaera evergladensis* from group I.1b enriched from Everglades soil reveals novel genomic features of the ammonia-oxidizing archaea. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101648.
- [98] Jung MY, Park SJ, Kim SJ, Kim JG, Sinnighe Damsté JS, Jeon CO, Rhee SK. A mesophilic, autotrophic, ammonia-oxidizing archaeon of thaumarchaeal group I.1a cultivated from a deep oligotrophic soil horizon. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(12): 3645–3655.
- [99] Lehtovirta-Morley LE, Stoecker K, Vilcinskis A, Prosser JI, Nicol GW. Cultivation of an obligate acidophilic ammonia oxidizer from a nitrifying acid soil. *PNAS*, 2011, 108(38): 15892–15897.
- [100] Lehtovirta-Morley LE, Ge CR, Ross J, Yao HY, Nicol GW, Prosser JI. Characterisation of terrestrial acidophilic archaeal ammonia oxidisers and their inhibition and stimulation by organic compounds. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 89(3): 542–552.

- [101] Palatinszky M, Herbold C, Jehmlich N, Pogoda M, Han P, Von Bergen M, Lagkouvardos I, Karst SM, Galushko A, Koch H, Berry D, Daims H, Wagner M. Cyanate as an energy source for nitrifiers. *Nature*, 2015, 524(7563): 105–108.
- [102] Hatzenpichler R, Lebedeva EV, Spieck E, Stoecker K, Richter A, Daims H, Wagner M. A moderately thermophilic ammonia-oxidizing crenarchaeote from a hot spring. *PNAS*, 2008, 105(6): 2134–2139.
- [103] Li YY, Ding K, Wen XH, Zhang B, Shen B, Yang YF. A novel ammonia-oxidizing archaeon from wastewater treatment plant: its enrichment, physiological and genomic characteristics. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23747.
- [104] Jung MY, Kim JG, Rijpstra WIC, Madsen EL, Kim SJ, Hong H, Si OJ, Kerou M, Schleper C, Rhee SK. A hydrophobic ammonia-oxidizing archaeon of the *Nitrosocosmicus* clade isolated from coal tar-contaminated sediment. *Environmental Microbiology Reports*, 2016, 8(6): 983–992.
- [105] Lehtovirta-Morley LE, Ross J, Hink L, Weber EB, Gubry-Rangin C, Thion C, Prosser JI, Nicol GW. Isolation of ‘*Candidatus Nitrosocosmicus franklandus*’, a novel ureolytic soil archaeal ammonia oxidiser with tolerance to high ammonia concentration. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(5): fiw057.
- [106] Sauder LA, Albertsen M, Engel K, Schwarz J, Nielsen PH, Wagner M, Neufeld JD. Cultivation and characterization of *Candidatus Nitrosocosmicus exaquare*, an ammonia-oxidizing archaeon from a municipal wastewater treatment system. *The ISME Journal*, 2017, 11(5): 1142–1157.
- [107] Chen HY, Yue YY, Jin WB, Zhou X, Wang QL, Gao SH, Xie GJ, Du S, Tu RJ, Han SF, Guo KX. Enrichment and characteristics of ammonia-oxidizing archaea in wastewater treatment process. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 323: 465–472.
- [108] 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.
- [109] Abby SS, Melcher M, Kerou M, Krupovic M, Stieglmeier M, Rossel C, Pfeifer K, Schleper C. *Candidatus Nitrosocaldus cavascurensis*, an ammonia oxidizing, extremely thermophilic archaeon with a highly mobile genome. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 28.
- [110] Sauder LA, Engel K, Lo CC, Chain P, Neufeld JD. “*Candidatus Nitrosotenuis aquarius*,” an ammonia-oxidizing archaeon from a freshwater aquarium biofilter. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(19): e01430–18.
- [111] Liu LT, Liu MF, Jiang YM, Lin WT, Luo JF. Production and excretion of polyamines to tolerate high ammonia, a case study on soil ammonia-oxidizing archaeon “*Candidatus Nitrosocosmicus agrestis*”. *mSystems*, 2021, 6(1): e01003–e01020.
- [112] Liu LT, Li SR, Han JM, Lin WT, Luo JF. A two-step strategy for the rapid enrichment of *Nitrosocosmicus*-like ammonia-oxidizing Thaumarchaea. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 875.
- [113] Chu YJ, Lee JY, Shin SR, Kim GJ. A method for cell culture and maintenance of ammonia-oxidizing archaea in agar stab. *Indian Journal of Microbiology*, 2015, 55(4): 460–463.
- [114] Klein T, Poghosyan L, Barclay JE, Murrell JC, Hutchings MI, Lehtovirta-Morley LE. Cultivation of ammonia-oxidising archaea on solid medium. *FEMS Microbiology Letters*, 2022, 369(1): fnac029.
- [115] Alves RJE, Minh BQ, Urich T, von Haeseler A, Schleper C. Unifying the global phylogeny and environmental distribution of ammonia-oxidising archaea based on *amoA* genes. *Nature Communications*, 2018, 9: 1517.

刘吉文, 博士, 中国海洋大学副教授, 博士生导师。主要从事微生物海洋学研究, 近年来在近海、深海大洋等典型生境中微生物的群落演替、构建机制及生物地球化学作用方面取得系列创新成果, 以第一或通讯作者在 *ISME J*、*Microbiome*、*Molecular Ecology* 和 *Applied and Environmental Microbiology* 等领域权威期刊发表 SCI 论文 20 余篇, 成果获山东省高等学校科学技术奖, 入选 2019 年度“中国海洋与湖沼十大科技进展”。主持国家自然科学基金 3 项, 山东省优秀青年科学基金 1 项, 作为研究骨干参与国家重点研发计划等多项国家级科研项目。

