

不同风化时间碳酸岩表面古菌群落结构与功能特征

李方兵¹, 陈进¹, 王阳¹, 赵向维¹, 张丽敏^{1,2}, 冯凌¹, 严令斌¹, 喻理飞^{*1}

1 贵州大学生命科学学院 农业生物工程研究院 山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 贵阳 550025

2 贵州科学院贵州省山地资源研究所, 贵阳 550001

李方兵, 陈进, 王阳, 赵向维, 张丽敏, 冯凌, 严令斌, 喻理飞. 不同风化时间碳酸岩表面古菌群落结构与功能特征[J]. 微生物学通报, 2023, 50(5): 1887-1901.

LI Fangbing, CHEN Jin, WANG Yang, ZHAO Xiangwei, ZHANG Limin, FENG Ling, YAN Lingbin, YU Lifei. Structural and functional characteristics of archaeal community on carbonatite surface weathered for different time[J]. Microbiology China, 2023, 50(5): 1887-1901.

摘要:【背景】古菌群落是碳酸岩表面微生物群落的重要成员,也是碳酸岩表面生物演替的先锋生物,能够促进碳酸岩风化和加快土壤形成,在生物地球化学循环中起重要作用。【目的】揭示在不同风化时间碳酸岩表面风化残积物中的古菌群落结构及生态功能。【方法】采集 19–213 年风化时间段废弃碳酸岩墓碑表面风化残积物样品($n=18$),基于宏基因组测序技术分析其古菌群落结构与功能特征。【结果】门水平上,优势门有广古菌门(*Euryarchaeota*),随后为奇古菌门(*Thaumarchaeota*)、未鉴定古菌门(*unclassified Archaea*)、深古菌门(*Bathyarchaeota*)和泉古菌门(*Crenarchaeota*);属水平上,优势属主要由甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)、甲烷丝状菌属(*Methanothrix*)、*Methanoperedens*、氨氧化古菌属(*Nitrosocosmicus*)、亚硝化球菌属(*Nitrososphaera*)及其他未鉴定属组成;C/N、C/P、N/P 是显著影响碳酸岩表面古菌群落的主要环境因子。进一步分析发现,碳酸岩表面古菌群落功能丰富,其中新陈代谢(*metabolism*)最为突出,值得注意的是,奇古菌门和广古菌门在 C、N、S 循环功能类群中占优势,而且随风化时间的增加,碳酸岩风化强度显著增加,广古菌门、泉古菌门相对丰度显著减少,而奇古菌门相对丰度则无显著变化。【结论】古菌群落随风化时间的增加,生存策略由 r-策略(广古菌门)向 K-策略(奇古菌门)转变。

资助项目:“十三五”国家重点研发计划(2016YFC0502604);贵州省生物学一流学科建设项目(GNYL [2017] 009);贵州省研究生科研基金(黔教合 YJSKYJJ [2021] 079);贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教合 KY 字[2018] 170)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2016YFC0502604), the Construction Program of Biology First-class Discipline in Guizhou Province (GNYL [2017] 009), the Graduate Research Fund of Guizhou Province (YJSKYJJ [2021] 079), and the Natural Science Research Project of Guizhou Provincial Department of Education (KY [2018] 170).

*Corresponding author. E-mail: lfyu@gzu.edu.cn

Received: 2022-08-24; Accepted: 2022-10-10; Published online: 2022-11-16

关键词：碳酸岩；风化时间；风化残积物；宏基因组；古菌

Structural and functional characteristics of archaeal community on carbonatite surface weathered for different time

LI Fangbing¹, CHEN Jin¹, WANG Yang¹, ZHAO Xiangwei¹, ZHANG Limin^{1,2}, FENG Ling¹, YAN Lingbin¹, YU Lifei^{*1}

1 Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), Institute of Agro-Bioengineering, College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

2 Institute of Guizhou Mountain Resources, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550001, Guizhou, China

Abstract: [Background] Archaea, the pioneer on the surface of carbonatite, promote the chemical weathering of carbonatite and the formation of soil and play an essential part in biogeochemical process of elements. [Objective] To reveal the structure and ecological functions of the archaeal community on the carbonatite surface weathered for different time. [Methods] A total of 18 samples were collected from the surface of abandoned carbonatite tombstones (weathered for 19–213 years) in Huaxi District, Guizhou Province, and the structural and functional characteristics of archaeal community were analyzed by metagenomic sequencing. [Results] The dominant archaeal phylum was *Euryarchaeota*, followed by *Thaumarchaeota*, unclassified *Archaea*, *Bathyarchaeota*, and *Crenarchaeota*. At the genus level, *Methanosarcina*, *Methanotherix*, *Methanoperedens*, *Nitrosocosmicus*, *Nitrososphaera* and others unidentified genera were dominant. C/N, C/P and N/P were the main environmental factors that significantly affected the archaeal community on the carbonatite surface. In addition, archaeal community on the surface of carbonatite had diverse functions, particularly metabolism. *Euryarchaeota* and *Thaumarchaeota* were the dominant functional groups in the cycling of C, N, and S. The weathering degree of carbonatite significantly increased and the relative abundance of *Euryarchaeota* and *Crenarchaeota* obviously decreased over time. Moreover, the relative abundance of *Thaumarchaeota* had no significant change over time. [Conclusion] In summary, we believed that the survival strategy of the archaeal community changed from an r-strategy (*Euryarchaeota*) to a K-strategy (*Thaumarchaeota*) with the weathering.

Keywords: carbonatite; weathering time; weathering residues; metagenome; archaea

贵州地处西南喀斯特分布的核心区域，其境内喀斯特地貌发育强烈且分布广泛^[1-2]。喀斯特区石漠化问题突出，土壤浅薄且不连续、生态服务功能低，石漠化现象严重制约当地社会

经济的可持续发展^[3-5]。石漠化区脆弱环境的生态恢复与综合治理有利于生态环境的有效改善和社会经济的可持续发展，已有研究指出植被的恢复是石漠化治理最根本的途径^[6]。喀斯特

石漠化区土壤的形成与聚集机理受到学者的广泛关注, 原始土壤的形成是母质、气候、地形、生物和时间等因素综合作用的结果^[7-8]。其中, 生物因素是影响喀斯特原始土壤形成与积累最活跃的因素, 在一定程度上起决定性作用^[9]。碳酸盐岩原始土壤形成时期, 岩石表面微生物在碳酸盐岩风化及土壤形成与积累过程中发挥重要作用, 从根本上改变了母质的理化性质^[10-12]。古菌是微生物群落的重要组成成员, 也是碳酸岩表面的先锋生物, 能够在各种极端环境中生长发育^[13]。特殊的生活习性使得古菌具有特殊的遗传背景和代谢途径, 并可产生特殊的酶和活性物质作用于岩石表面, 进而促进岩石风化及原始土壤形成与积累^[11,14]。

目前, 针对喀斯特区生态环境中的古菌, 学者们主要从其群落结构、多样性及生态功能等方面开展科学研究, 这些研究表明, 碳酸岩表生环境中存在古菌群落但其多样性较低, 古菌等微生物的相互作用可能对岩溶湿地土壤生物地球化学循环过程具有潜在的重要作用^[14-16]。喀斯特区不同风化时间碳酸岩表面风化残积物中的古菌群落结构和生态功能尚不明晰。本研究以不同风化时间碳酸岩表面风化残积物中的古菌群落为研究对象, 采用宏基因组测序技术对其进行物种鉴定与统计分析, 揭示碳酸岩表面风化残积物中古菌的群落结构及其生态功能, 研究结果以期对深入了解碳酸岩生物风化及原始土壤形成与积累过程中古菌群落的生物作用具有重要的科学意义。

1 材料与方 法

1.1 研究区域概况

研究区域位于黔中花溪区(106°27'–106°52' E, 26°11'–26°34' N), 此区域以山地和丘陵地貌为主, 是典型的喀斯特地貌分布区, 属于亚热带湿

润温和型气候。研究区域平均海拔 1 150 m, 全年平均气温 15.7 °C, 全年日照约 1 162.6 h, 全年降水量约 1 215.7 mm, 降水主要集中在 3–8 月。

1.2 样品收集和处理

研究选取研究区废弃墓碑背面风化残积物中的古菌群落为研究对象, 废弃墓碑岩石类型为碳酸岩, 其上雕刻立碑时间; 废弃墓碑背面通常受到外界干扰较少, 因此以立碑时间选取废弃碳酸岩墓碑, 并将废弃墓碑背面的风化残积物作为采样对象。将废弃碳酸岩墓碑的立碑时间作为风化起始时间(start weathering point, SW), 采样时间作为风化终点(end weathering point, EW), 定义采集样品时废弃碳酸岩墓碑的风化时间(weathering time, WT)为采样时间(2021年)与立碑时间(1808–2002年)之间的时间间隔(WT=EW–SW, 单位: a)。于 2021 年 6–8 月完成废弃墓碑调查及其风化残积物样品采集工作, 采样时清除废弃墓碑表面苔藓等生物, 以防干扰和交叉污染, 采集不同风化时间(19–213 年)碳酸岩废弃墓碑表面上的风化残积物样品($n=18$, 样品编号为 S01–S18), 并将其带回实验室放置于–80 °C 低温冰箱中保存, 用于后续宏基因组分析及理化性质测定。

1.3 主要试剂和仪器

DNA 抽提试剂盒(FastDNA® Spin Kit for Soil), MP Biomedicals 公司; 建库试剂盒(NEXTflex™[®] Rapid DNA-Seq Kit), Bioo Scientific 公司。微型荧光计, Turner BioSystems 公司; 超微量分光光度计(NanoDrop 2000), Thermo Fisher Scientific 公司; 超声波破碎仪, Gene 公司; Illumina NovaSeq 6000 测序仪, Illumina 公司; 电热恒温鼓风干燥箱, 上海贺德试验设备有限公司; 箱式电阻炉, 上海索域试验设备有限公司; 精密恒温油槽, 常州易晨仪器制造有限公司; 重金属消解仪, 海能未来技

术集团股份有限公司。

1.4 理化因子测定和方法

测定碳酸岩表面风化残积物有机碳(organic carbon, OC)、全氮(total nitrogen, TN)、全磷(total phosphorus, TP)和全钾(total potassium, TK)含量等理化指标,有机碳(OC)含量采用重铬酸钾-外加加热法测定^[17],全氮(TN)含量采用凯氏定氮法测定(LY/T 1228—2015)^[18],全磷(TP)含量采用钼蓝比色法测定(LY/T 1232—2015)^[19],全钾(TK)含量采用碱熔法测定(LY/T 1234—2015)^[20]。采用 X-射线荧光光谱法测定碳酸岩化学元素含量,利用 X-射线衍射(X-ray diffraction, XRD)确定岩石物相。

1.5 DNA 提取和宏基因组测序

利用 FastDNA[®] Spin Kit for Soil 提取样品总 DNA。利用 TBS-380 和 NanoDrop 2000 检测 DNA 浓度和纯度,并进行 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性。通过 Covaris M220 将 DNA 片段化,筛选约 400 bp 的片段,用于构建 PE 文库。使用 NEXTflex[™] Rapid DNA-Seq Kit 建库,送上海美吉生物医药科技有限公司通过 Illumina NovaSeq 6000 测序平台进行宏基因组测序。原始数据已提交至 NCBI 获得 GenBank 登录号为 PRJNA848062。

利用软件 Fastp (<https://github.com/OpnGene/fastp>)对原始数据进行质控,获得质控之后的优化序列。使用基于 succinct de Bruijn graphs 原理的拼接软件 MEGAHIT (<https://github.com/voutcn/megahit>, V1.1.2)对优化序列进行拼接组装,筛选 ≥ 300 bp 的 contigs 作为最终的组装结果。使用 MetaGene (<http://metagene.cb.k.u-tokyo.ac.jp/>)对拼接结果中的 contig 进行开放阅读框(open reading frame, ORF)预测,并通过 CD-HIT (<http://www.bioinformatics.org/cd-hit/>, V4.6.1)软件对基因序列进行聚类,对聚类得到代表序列

构建非冗余基因集。最后使用 SOAPaligner 软件,分别将每个样品的高质量 reads 与非冗余基因集进行比对(95% identity),统计基因在对应样品中的丰度信息^[21-23]。

1.6 物种和功能注释

使用 Diamond (<https://github.com/bbuchfink/diamond>)将非冗余基因集的氨基酸序列与 NR 数据库进行比对(参数:BLASTp; $E\text{-value} \leq 1 \times 10^{-5}$),并通过 NR 数据库对应的分类学信息数据库获得物种注释结果,然后使用物种对应的基因丰度总和计算该物种的丰度,并在域界门纲目科属种各个分类学水平上统计物种在各个样品中的丰度,从而构建相应分类学水平上的丰度表^[24-25]。使用 Diamond (<https://github.com/bbuchfink/diamond>)将非冗余基因集序列与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)的基因数据库(GENES)进行比对,根据 Pathway 对应的基因丰度总和计算该功能类别的丰度^[24-26]。根据 C、N、S 循环相关的 KO 号建立 C、N、S 循环功能类群基因集。

1.7 数据整理和分析

采用 Microsoft Excel 2016、运用 R (V4.1.3)及美吉生物平台进行数据整理、统计分析与可视化,运用 R 语言 vegan 包^[27]的“diversity”函数计算古菌群落 α 多样性指数,采用 stat 包内置“lm”函数检验拟合回归的显著性,利用 igraph 包^[28]进行核心物种共存网络分析,利用 pheatmap 包对古菌与环境因子进行相关性分析,使用 ggplot2 包^[29]进行绘图。

2 结果与分析

2.1 碳酸岩的风化率

使用元素迁移指数(I_{mob})表征碳酸岩风化过程中风化层相对于母岩层的元素迁移^[30],采用

风化强度(W_s)衡量碳酸岩相对于母岩的风化强度^[31]。我们所采集的 18 块废弃碳酸岩墓碑的母岩性质不同,因此用相对于母岩的化学风化指数(元素迁移指数和风化强度)来表征不同母岩性质碳酸岩的风化程度,以此来弱化母岩性质的影响,突显风化时间的相对效应。 I_{mob} 随风化时间的增加而显著降低($P<0.05$),表明碳酸岩风化前期风化剧烈而后期逐渐减弱; W_s 随着风化时间的增加而显著升高($P<0.01$),表明随风化时间的增加碳酸岩风化程度逐渐加深(图 1)。

2.2 碳酸岩表面古菌群落组成及多样性

稀释曲线用于评估测序量是否足以覆盖样本中所有微生物类群,并间接反映样品中物种的丰富程度^[32]。在物种水平上,按照最小样本量 16 894 进行抽平处理并绘制稀释曲线(图 2),结果显示,古菌群落物种种类变化范围为 365–516,随着古菌群落样本数量逐渐增加,物种数量变化曲线逐渐趋于平缓,表明本研究宏基因组测序深度已基本覆盖到样品中所有的物种,数据代表性较好且足以反映碳酸岩

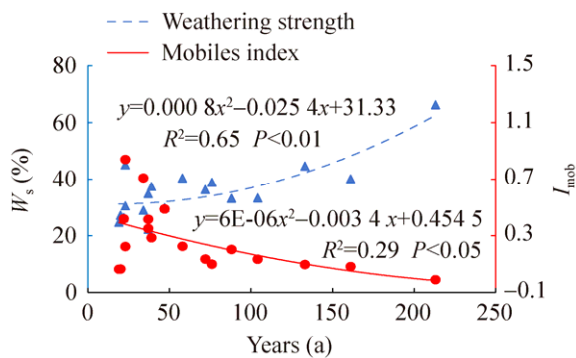


图 1 碳酸岩风化强度、迁移指数与风化时间的相关关系 多项回归可决定系数更大,拟合效果更好

Figure 1 The relationship of carbonatite rock weathering strength, mobiles index and weathering time. In regression analysis, compared with linear regression, multinomial regression has larger coefficient of determination and better fitting effect.

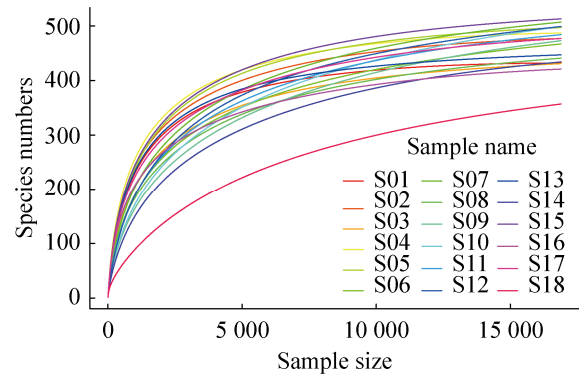


图 2 古菌物种稀释曲线

Figure 2 Rarefaction curve for species of archaea.

古菌群落的多样性,宏基因组测序数据量合理。

α 多样性用于描述样本内微生物群落的丰富度和物种多样性, Simpson 指数和 Shannon 指数表征群落多样性, Chao1 指数和 ACE 指数表征群落丰富度。对碳酸岩表面古菌群落进行 α 多样性分析(表 1),结果显示,反映古菌群落丰富度的 ACE 指数和 Chao1 指数分别介于 432.00–571.86 和 432.00–574.74 之间, S01 样本物种丰富度最低, S10 样本物种丰富度最高;反映古菌群落多样性的 Simpson 指数和 Shannon 指数分别在 0.86–0.99 和 2.95–5.09 之间, S04 样本多样性最高, S18 样本多样性最低,古菌群落丰富度指数和多样性指数随风化时间的增加均无明显变化。

不同风化时间的 18 个碳酸岩风化残积物样本经宏基因组测序共鉴定出 1 080 个物种,分属于 22 个门 40 个纲 65 个目 95 个科 220 个属。门水平上,碳酸岩风化残积物古菌群落优势门(平均相对丰度>1%)有 5 个,分别为广古菌门(*Euryarchaeota*, 44.29%)、奇古菌门(*Thaumarchaeota*, 38.48%)、未分类古菌门(*unclassified Archaea*, 6.41%)、深古菌门(*Bathyarchaeota*, 5.41%)和泉古菌门(*Crenarchaeota*, 1.72%),其中广古菌门(*Euryarchaeota*)和奇古菌门(*Thaumarchaeota*)在古菌群落中处于绝对优势地位(图 3)。属水平

表 1 碳酸岩表面古菌群落 α 多样性指数

Table 1 Alpha diversity index of archaeal community in carbonatite surface

样本编号	风化时间	香农指数	辛普森指数	Chao1 指数	ACE 指数
Sample No.	Weathering time (a)	Shannon index	Simpson index	Chao1 index	ACE index
S01	19	4.75	0.98	432.00	432.00
S02	20	4.98	0.98	479.71	484.73
S03	22	4.66	0.98	446.15	445.62
S04	23	5.09	0.99	487.79	490.76
S05	23	4.82	0.98	501.55	506.49
S06	34	3.89	0.91	509.00	521.07
S07	37	4.23	0.94	565.92	566.90
S08	37	4.15	0.94	471.50	474.88
S09	39	3.57	0.89	551.39	555.72
S10	47	3.47	0.86	574.74	571.86
S11	58	3.64	0.86	547.91	536.16
S12	72	3.62	0.87	540.61	542.95
S13	76	4.75	0.97	467.76	467.38
S14	88	3.26	0.86	493.44	503.14
S15	104	4.89	0.98	539.50	538.49
S16	133	4.77	0.98	434.27	433.37
S17	161	4.80	0.98	491.68	496.35
S18	213	2.95	0.90	457.06	442.34

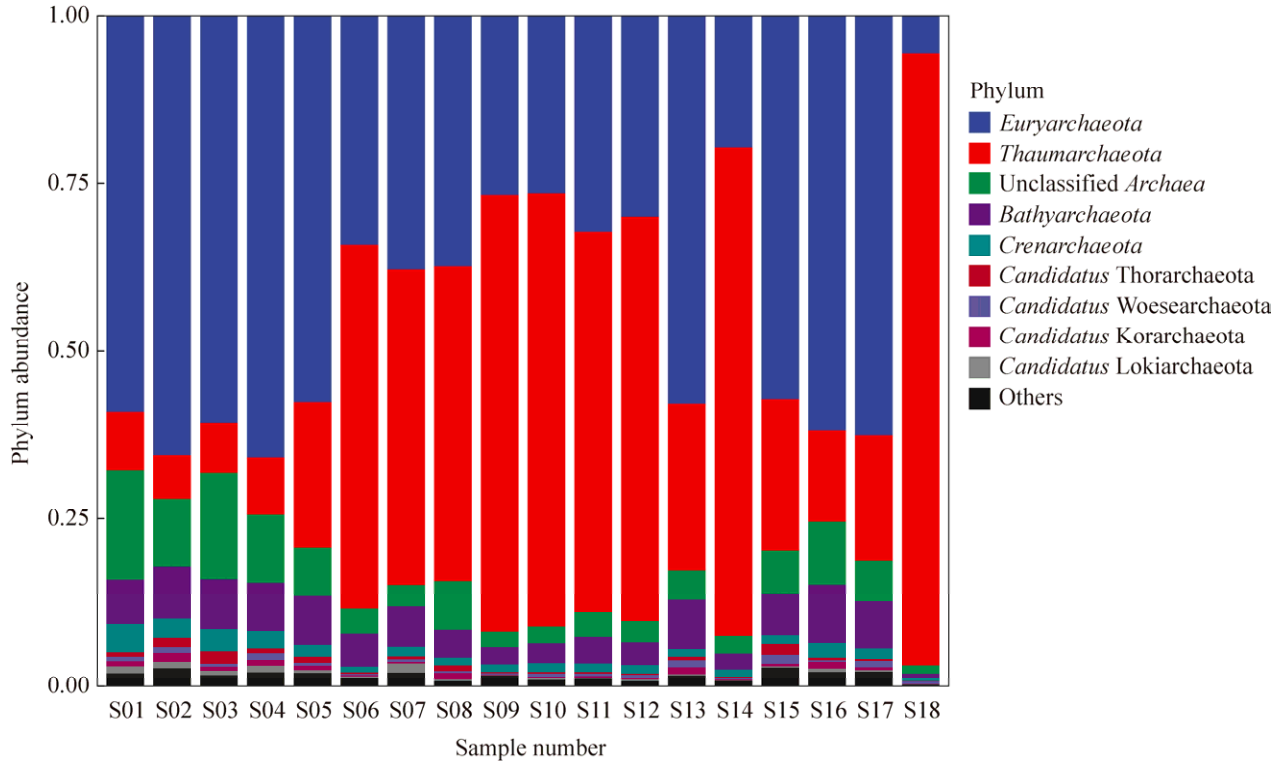


图 3 不同风化时间碳酸岩表面古菌群落组成

Figure 3 Composition of the archaeal community on the limestone surface at different weathering phases.

上, 所有样本共有 14 个优势属(平均相对丰度>1%), 平均相对丰度之和为 68.77%, 优势属为氨氧化古菌属(*Nitrosocosmicus*, 29.55%)、亚硝化球菌属(*Nitrososphaera*, 2.28%)、甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*, 4.18%)、甲烷丝状菌属(*Methanothrix*, 3.85%)、*Methanoperedens* (2.24%)以及其他未分类属(26.67%) (表 2)。碳酸岩不同风化时间的 18 个风化残积物样本的古菌群落物种组成相似, 优势门总相对丰度(96.3%)占比大, 但不同样本优势门的相对丰度

存在一定差异(图 3)。此外, 将古菌优势门的相对丰度与碳酸岩风化时间做线性回归拟合可知(表 3), 广古菌门(*Euryarchaeota*)、泉古菌门(*Crenarchaeota*)随风化时间的增加显著减少(Slope<0, $P<0.05$), 而奇古菌门(*Thaumarchaeota*)和深古菌门(*Bathyarchaeota*)随风化时间的增加无显著变化($P>0.05$)。

2.3 古菌群落共存网络

为了深入探讨碳酸岩表面风化残积物古菌群落的种内与种间关系, 选择至少在 17 个样本

表 2 碳酸岩表面风化残积物古菌优势属

Table 2 The dominant genus of archaea on the weathering remnants of carbonate rock surface

门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	平均相对丰度 Mean relative abundance (%)
<i>Bathyarchaeota</i>	—	—	—	—	5.41
<i>Euryarchaeota</i>	—	—	—	—	4.44
<i>Euryarchaeota</i>	<i>Methanomicrobia</i>	<i>Methanosarcinales</i>	<i>Methanosarcinaceae</i>	<i>Methanosarcina</i>	4.18
<i>Euryarchaeota</i>	<i>Methanomicrobia</i>	<i>Methanosarcinales</i>	<i>Methanotrichaceae</i>	<i>Methanothrix</i>	3.85
<i>Euryarchaeota</i>	<i>Methanomicrobia</i>	<i>Methanosarcinales</i>	<i>Methanoperedenaceae</i>	<i>Methanoperedens</i>	2.24
<i>Euryarchaeota</i>	<i>Methanomicrobia</i>	<i>Methanosarcinales</i>	—	—	1.85
<i>Euryarchaeota</i>	<i>Halobacteria</i>	<i>Halobacteriales</i>	—	—	1.73
<i>Euryarchaeota</i>	<i>Methanomicrobia</i>	<i>Methanophagales</i>	—	—	1.58
<i>Thaumarchaeota</i>	<i>Nitrososphaeria</i>	<i>Nitrososphaerales</i>	<i>Nitrososphaeraceae</i>	<i>Nitrosocosmicus</i>	29.55
<i>Thaumarchaeota</i>	—	—	—	—	2.52
<i>Thaumarchaeota</i>	<i>Nitrososphaeria</i>	<i>Nitrososphaerales</i>	<i>Nitrososphaeraceae</i>	<i>Nitrososphaera</i>	2.28
<i>Thaumarchaeota</i>	<i>Nitrososphaeria</i>	<i>Nitrososphaerales</i>	<i>Nitrososphaeraceae</i>	—	1.50
<i>Thaumarchaeota</i>	—	<i>Nitrosopumilales</i>	—	—	1.23
Unclassified Archaea	—	—	—	—	6.41

—: 未鉴定出相应的物种水平

—: The level of the corresponding species not identified.

表 3 古菌优势门相对丰度与风化时间的关系

Table 3 Relationship of the relative abundance of dominant phyla of archaea and weathering phase

Phylum	Slope	SE	R^2	Adj R^2	Parametric P value	Significance P value
<i>Euryarchaeota</i>	-2.44E-03	-2.44E-03	0.25	0.20	0.036	0.037*
<i>Crenarchaeota</i>	-2.33E-03	8.72E-04	0.31	0.27	0.017	0.017*
<i>Thaumarchaeota</i>	2.12E-03	2.12E-03	0.09	—	—	0.221
<i>Bathyarchaeota</i>	-2.39E-03	1.10E-03	0.23	0.18	0.045	0.057

SE: 标准误差; —: 无数据(门相对丰度方差不齐并不服从正态分布, 无须进行置换检验); *: $P<0.05$

SE: Standard error; —: No data (variance heterogeneity and non-normality distribution of phyla relative abundance data, so there is no need for permutation test); *: $P<0.05$.

中都出现的 182 个核心物种, 根据 Spearman 相关性系数和显著性 ($R^2 > 0.6$, $P < 0.05$) 构建物种水平共存网络(图 4A)。共存网络显示了样品的物种丰度及共现情况, 剔除孤立节点的共存网络由 147 个节点和 424 条边组成(图 4A), 其中正相关边数为 416 条, 负相关边数为 8 条, 正相关边数远远大于负相关边数, 表明碳酸岩表面古菌群落物种之间的协同作用较强而拮抗作用较弱。核心物种主要来源于广古菌门(*Euryarchaeota*, 74.83%), 其次为奇古菌门(*Thaumarchaeota*, 9.52%) 和未分类古菌(*unclassified Archaea*, 4.76%)。枢纽物种往往在共存网络中具有较高的

度、高的介数和高的紧密性, 可根据度、介数中心性和紧密中心性 3 个网络属性确定古菌网络枢纽物种^[33]。依据枢纽物种的定义, *Candidatus Methanoperedens nitroreducens* 为古菌群落枢纽物种(图 4B), 隶属于广古菌门(*Euryarchaeota*) 甲烷八叠球菌目(*Methanosarcinales*)。

2.4 古菌群落与环境因子间的相关性

为了探究古菌群落与风化残积物理化学性质的关系, 对风化残积物理化学因子与优势菌门之间进行相关性分析(图 5)。C/P 与广古菌门(*Euryarchaeota*)、未分类古菌(*unclassified Archaea*)、深古菌门(*Bathyarchaeota*) 和泉古菌门

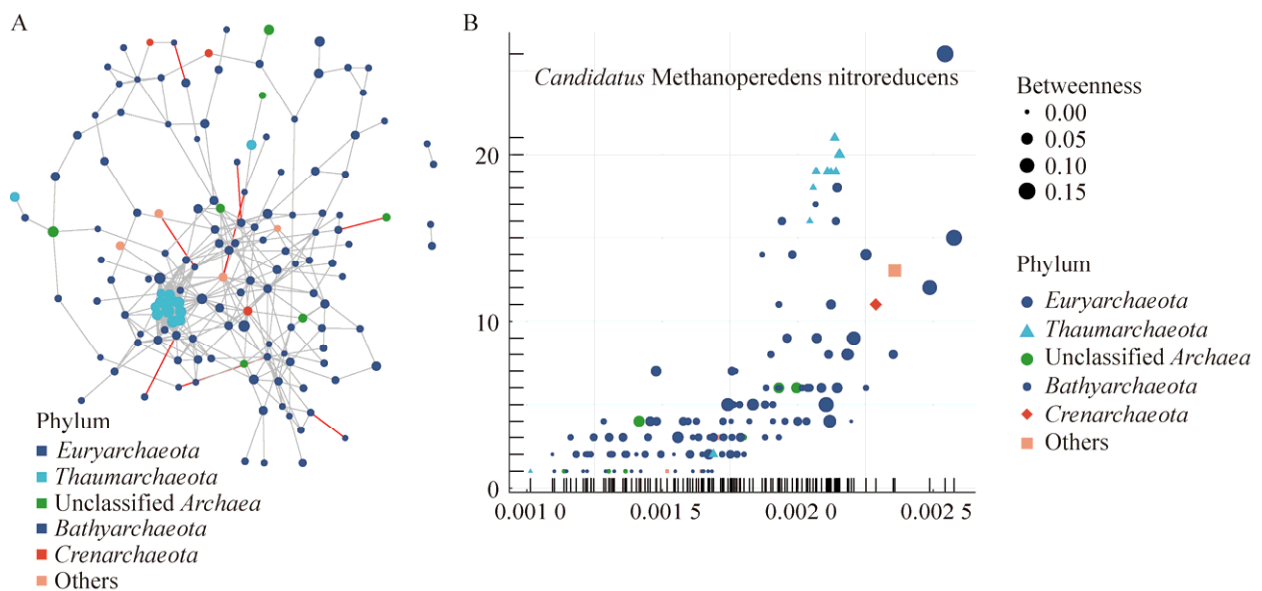


图 4 碳酸岩表面古菌群落共存网络图 A: 红色线条代表负相关, 灰色线条代表正相关; 线的粗细代表相关性的强弱, 线越粗表示相关性越强, 反之则表示相关性越弱; 节点颜色代表古菌门类, 而节点大小表示古菌物种的相对丰度大小, 节点越大相对丰度越大, 反之则相对丰度越小. B: 横坐标为紧密中心性大小, 纵坐标为度的大小, 形状的大小代表介数中心性大小

Figure 4 Coexistence network of archaeal communities on limestone surfaces. A: The red line represents negative correlation, the gray line represents positive correlation; The thickness of the line represents the strength of the correlation, the thicker the line, the stronger the correlation; Otherwise, the weaker the correlation; The color of the node represents the archaea, and the node size indicates the relative abundance of archaeal species, the larger the node, the greater the relative abundance, and vice versa, the smaller the relative abundance. B: The abscissa is the size of the closeness centrality, the ordinate is the size of the degree, and the size of the shape represents the size of the betweenness centrality.

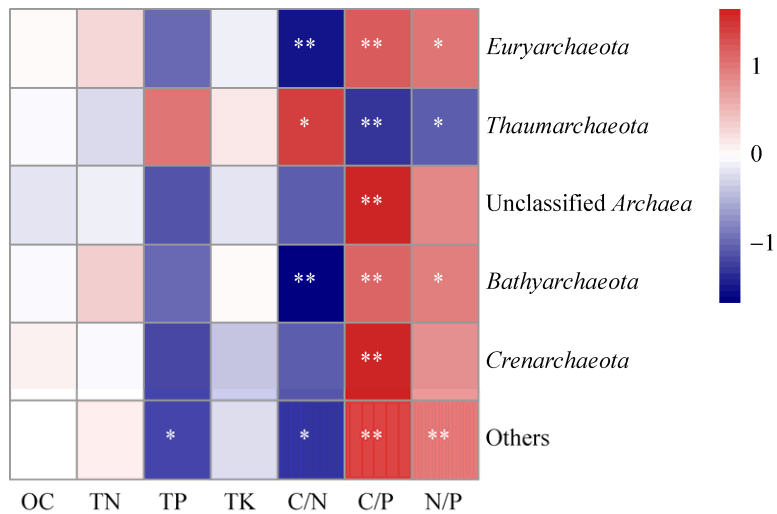


图 5 环境因子与古菌群落之间的相关性 * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$; 颜色深浅代表相关性大小

Figure 5 Correlations between environmental factors and archaeal communities. * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$; The shade of color represents the magnitude of the correlation.

(*Crenarchaeota*)呈极显著正相关; N/P 与广古菌门(*Euryarchaeota*)和深古菌门(*Bathyarchaeota*)呈显著正相关, C/P、N/P 与奇古菌门(*Thaumarchaeota*)呈显著负相关; C/N 与奇古菌门(*Thaumarchaeota*)呈显著正相关, 与广古菌门(*Euryarchaeota*)和深古菌门(*Bathyarchaeota*)呈极显著负相关, 而 OC、TN、TN 和 TP 与优势古菌门的相关性不显著, 表明 C/N、N/P 和 C/P 是影响碳酸岩表面古菌群落结构的主要理化因子。

2.5 不同风化时间碳酸岩表面古菌群落功能

2.5.1 碳酸岩表面古菌群落代谢途径

不同风化时间碳酸岩表面古菌群落非冗余基因集包含 30 221 个基因, 平均序列长度为 492.76 bp, 采用 KEGG 数据库进行代谢通路分析(图 6), 结果得到 Level 1、Level 2 和 Level 3 层级代谢通路的个数分别为 6、43 和 266 个。Level 1 水平注释到的代谢通路分别为细胞进程(cellular processes, 2.00%–7.01%)、环境信息处理(environmental information processing, 1.7%–5.7%)、遗传信息进程(genetic information processing, 4.83%–13.13%)、人类疾病(human

diseases, 2.15%–7.85%)、新陈代谢(metabolism, 61.97%–84.06%)和有机系统(organismal systems, 0.84%–13.16%), 其中新陈代谢功能相对丰度最大, 表明新陈代谢为古菌群落的核心功能。Level 2 水平上, 新陈代谢中的 global and overview maps、氨基酸代谢(amino acid metabolism)、碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)、能量代谢(energy metabolism)、辅助因子和维生素的代谢(metabolism of cofactors and vitamins)等通路的相对丰度较大, 占比 54.56%。

2.5.2 碳酸岩表面 N、C、S 循环相关功能类群

碳酸岩古菌群落 N、C、S 循环功能类群在地球化学循环过程中发挥重要作用, 碳酸岩表面参与 N、C、S 循环功能的古菌类群主要有奇古菌门(*Thaumarchaeota*)、广古菌门(*Euryarchaeota*)和泉古菌门(*Crenarchaeota*)。在碳酸岩风化早期, 广古菌门(*Euryarchaeota*)能够在极为恶劣的生态环境中生存, 并在 N、C、S 循环功能类群中优势度最大; 相较于碳酸岩风化前期, 碳酸岩风化中后期奇古菌门(*Thaumarchaeota*)在 N、C、S 循环功能类群中占绝对优势(图 7)。

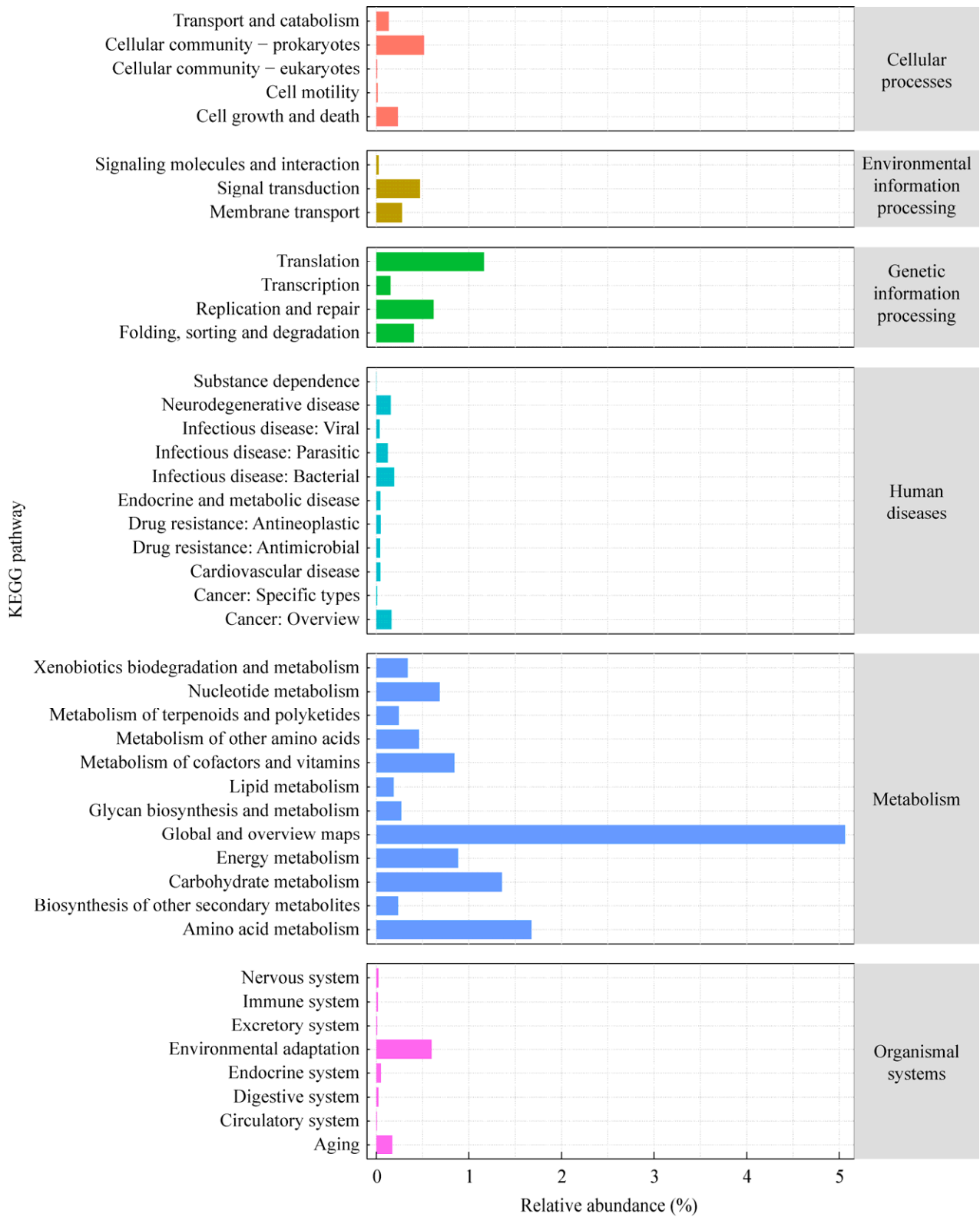


图 6 KEGG 二级代谢通路相对丰度柱形图

Figure 6 The histogram of KEGG secondary metabolic pathway relative abundance.

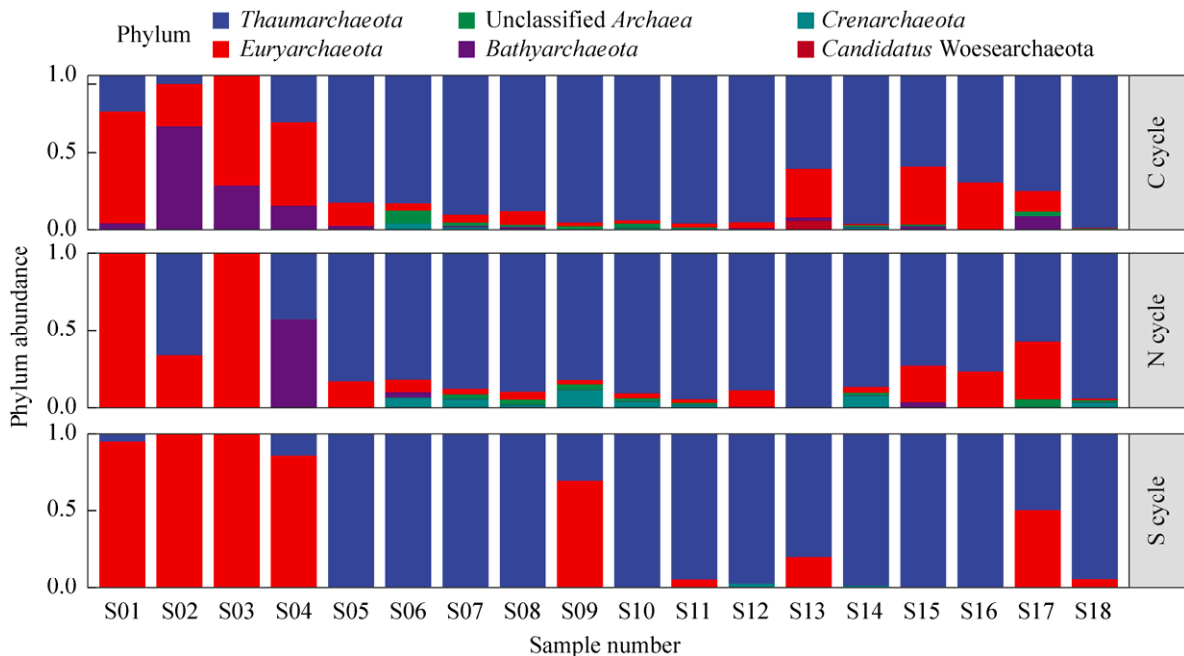


图7 古菌 N、C、S 循环功能群门水平柱状图

Figure 7 The phyla of the N, C and S cyclic functional groups of *Archaea*.

3 讨论

碳酸岩表面古菌群落与喀斯特区原始土壤的形成与发展密切相关, 其在土壤形成与积累过程中发挥重要作用。本研究采用宏基因组测序技术对碳酸岩表面古菌群落结构与功能进行了研究。研究区碳酸岩表面古菌群落多样性高于贵州南江大峡谷碳酸岩表生环境中的古菌群落^[14], 碳酸岩表面风化残积物古菌群落物种较为丰富、多样性较高。碳酸岩表面古菌群落由 1 080 个物种组成, 隶属于 22 个门 220 个属; 在门水平上, 广古菌门(*Euryarchaeota*)和奇古菌门(*Thaumarchaeota*)的古菌群落中占绝对优势, 广古菌门、奇古菌门和泉古菌门分别与碳循环、氮循环和硫循环有关^[34-35]; 在属水平上, 甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)、甲烷丝状菌属(*Methanothrix*)和氨氧化古菌属(*Nitrosocosmicus*)等优势属主要参与甲烷代谢(产甲烷和甲烷氧化)和氨氧化过程^[36-37]。从群落组成上看, 本研

究结果与贵州南江大峡谷碳酸岩岩生环境的古菌群落组成^[14]差异较大。唐源等^[14]研究表明其研究区碳酸岩表生古菌群落门水平上主要由泉古菌门(*Crenarchaeota*)组成, 未发现本研究中出现的广古菌门(*Euryarchaeota*)、奇古菌门(*Thaumarchaeota*)等优势门类。已有研究认为典型的古菌群落都反应出对特殊小生境的适应, 环境的差异影响古菌群落结构与多样性^[38-39]。本研究结果显示 C/N、C/P、N/P 是显著影响碳酸岩表面古菌群落的主要环境因子, 而程跃扬等^[16]发现除 C/N 外, pH、可溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)也是显著影响土壤古菌群落的关键因子, 田润敏等^[40]研究发现湿地底泥古菌多样性可能受 pH 和盐分含量的影响。因此, 我们认为区域及环境差异可能是引起研究区域与其他生境古菌群落结构差异较大的原因。

我们进一步研究发现, 碳酸岩表面风化残

积物中古菌群落功能丰富,其中新陈代谢功能最为突出,说明古菌可能参与氨基酸、碳水化合物等营养物质的合成,为古菌群落提供生长发育所需的营养物质^[41]。广古菌门和奇古菌门是研究区域碳酸岩表面古菌群落两大主要类群,广古菌门主要为产甲烷古菌,奇古菌门主要为氨氧化古菌(图3,表3)。产甲烷古菌是甲烷产生的重要生物源,在碳循环的过程中起重要作用^[39,42-44]。氨氧化古菌是氨氧化作用的重要参与者,而氨氧化作用是全球氮循环的中心环节^[45-46]。碳酸岩表面生存环境极为恶劣,古菌从周围环境中获取营养物质,为古菌群落的生存繁殖提供能量。正是产甲烷古菌和氨氧化古菌独特的新陈代谢过程以及它们对极端环境的适应性,特殊的生存环境可能导致新陈代谢成为古菌群落的核心功能。值得注意的是,奇古菌门(*Thaumarchaeota*)、广古菌门(*Euryarchaeota*)和泉古菌门(*Crenarchaeota*)在C、N、S循环功能类群中占优势,已有研究表明广古菌门(*Euryarchaeota*)、奇古菌门(*Thaumarchaeota*)和泉古菌门(*Crenarchaeota*)主要参与碳循环、氨氧化与消化还原和硫循环过程^[34]。随风化时间的增加,碳酸岩风化强度逐渐增加,广古菌门(*Euryarchaeota*)和泉古菌门(*Crenarchaeota*)相对丰度显著减少,奇古菌门(*Thaumarchaeota*)相对丰度则无显著变化。这可能与古菌群落生存策略的转变有关,已有研究表明广古菌门(*Euryarchaeota*)是r-策略者,通常生长于贫瘠环境中^[47],如产甲烷古菌能够在厌氧环境中生存^[40],碳酸岩风化作用初期生存环境恶劣,r-策略者能适应这样的恶劣环境,碳酸岩风化中后期生存环境较好,奇古菌门(*Thaumarchaeota*) 在C、N、S循环功能类群中优势度最大,因此,可能暗示奇古菌门(*Thaumarchaeota*)生存对策为K-策略。

4 结论

碳酸岩表面风化残积物中古菌群落物种较为丰富、多样性较高。门水平上,优势菌门为广古菌门(*Euryarchaeota*, 44.29%),随后为奇古菌门(*Thaumarchaeota*, 38.48%)、未鉴定古菌门(6.41%)、深古菌门(*Bathyarchaeota*, 5.41%)和泉古菌门(*Crenarchaeota*, 1.72%);属水平上,优势属由甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*, 4.18%)、甲烷丝状菌属(*Methanothrix*, 3.85%)、*Methanoperedens* (2.24%)、氨氧化古菌属(*Nitrosocosmicus*, 29.55%)、亚硝化球菌属(*Nitrososphaera*, 2.28%)及其他未鉴定属(26.67%)组成;C/N、C/P、N/P是显著影响碳酸岩表面古菌群落的主要环境因子。进一步分析发现,碳酸岩表面古菌群落功能丰富,其中新陈代谢(metabolism)最为突出,值得注意的是,核心类群奇古菌门(*Thaumarchaeota*)和广古菌门(*Euryarchaeota*)在C、N、S循环功能类群中占优势。随着碳酸岩风化时间的增加,碳酸岩风化程度增加,广古菌门、泉古菌门相对丰度显著减少,而奇古菌门相对丰度则无显著变化。综上所述,古菌群落随风化时间的增加生存策略由r-策略(广古菌门)向K-策略(奇古菌门)转变。

REFERENCES

- [1] 何霄嘉,王磊,柯兵,岳跃民,王克林,曹建华,熊康宁. 中国喀斯特生态保护与修复研究进展[J]. 生态学报, 2019, 39(18): 6577-6585.
HE XJ, WANG L, KE B, YUE YM, WANG KL, CAO JH, XIONG KN. Progress on ecological conservation and restoration for China Karst[J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(18): 6577-6585 (in Chinese).
- [2] 宋同清,彭晚霞,杜虎,王克林,曾馥平. 中国西南喀斯特石漠化时空演变特征、发生机制与调控对策[J]. 生态学报, 2014, 34(18): 5328-5341.
SONG TQ, PENG WX, DU H, WANG KL, ZENG FP.

- Occurrence, spatial-temporal dynamics and regulation strategies of Karst rocky desertification in southwest China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(18): 5328-5341 (in Chinese).
- [3] 熊康宁, 朱大运, 彭韬, 喻理飞, 薛建辉, 李坡. 喀斯特高原石漠化综合治理生态产业技术与示范研究[J]. *生态学报*, 2016, 36(22): 7109-7113.
XIONG KN, ZHU DY, PENG T, YU LF, XUE JH, LI P. Study on Ecological industry technology and demonstration for Karst rocky desertification control of the Karst Plateau-Gorge[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(22): 7109-7113 (in Chinese).
- [4] 王克林, 岳跃民, 陈洪松, 吴协保, 肖峻, 祁向坤, 张伟, 杜虎. 喀斯特石漠化综合治理及其区域恢复效应[J]. *生态学报*, 2019, 39(20): 7432-7440.
WANG KL, YUE YM, CHEN HS, WU XB, XIAO J, QI XK, ZHANG W, DU H. The comprehensive treatment of Karst rocky desertification and its regional restoration effects[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(20): 7432-7440 (in Chinese).
- [5] 王世杰, 李阳兵, 李瑞玲. 喀斯特石漠化的形成背景、演化与治理[J]. *第四纪研究*, 2003, 23(6): 657-666.
WANG SJ, LI YB, LI RL. Karst rocky desertification: formation background, evolution and comprehensive taming[J]. *Quaternary Sciences*, 2003, 23(6): 657-666 (in Chinese).
- [6] 刘娜, 喻理飞, 赵庆, 武亚楠, 严令斌. 喀斯特高原石漠化区次生林叶片—枯落物—土壤连续体碳氮磷生态化学计量特征[J]. *应用与环境生物学报*, 2020, 26(3): 681-688.
LIU N, YU LF, ZHAO Q, WU YN, YAN LB. C: N: P stoichiometry of leaf-litter-soil continuum in secondary forests of the rocky desertification regions of the Karst Plateau[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2020, 26(3): 681-688 (in Chinese).
- [7] 赵景波. 黄土形成与演变模式[J]. *土壤学报*, 2002, 39(4): 459-466, 609.
ZHAO JB. Pattern of loess formation and evolution[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(4): 459-466, 609 (in Chinese).
- [8] PETER D, HERMAN JPE. *Developments in Soil Science*[M]. Amsterdam: Elsevier, 2004: 21-40.
- [9] 孙庆峰, COLIN C, 陈发虎, 张家武. 气候环境变化研究中影响粘土矿物形成及其丰度因素的讨论[J]. *岩石矿物学杂志*, 2011, 30(2): 291-300.
SUN QF, COLIN C, CHEN FH, ZHANG JW. A discussion on the factors affecting formation and quantity of clay minerals in climatic and environmental researches[J]. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 2011, 30(2): 291-300 (in Chinese).
- [10] 连宾, 陈焯, 朱立军, 杨瑞东. 微生物对碳酸盐岩的风化作用[J]. *地学前缘*, 2008, 15(6): 90-99.
LIAN B, CHEN Y, ZHU LJ, YANG RD. Progress in the study of the weathering of carbonate rock by microbes[J]. *Earth Science Frontiers*, 2008, 15(6): 90-99 (in Chinese).
- [11] 连宾. 碳酸盐岩风化成土过程中的微生物作用[J]. *矿物岩石地球化学通报*, 2010, 29(1): 52-56.
LIAN B. Microbial roles in the genesis of soil from carbonate rock weathering[J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2010, 29(1): 52-56 (in Chinese).
- [12] SCHRÖER L, BOON N, DE KOCK T, CNUDDÉ V. The capabilities of bacteria and archaea to alter natural building stones—a review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2021, 165: 105329.
- [13] GORBUSHINA AA. Life on the rocks[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(7): 1613-1631.
- [14] 唐源, 连宾, 程建中. 贵州喀斯特地区碳酸盐岩表生古菌群落结构及多样性研究: 以南江大峡谷为例[J]. *中国岩溶*, 2017, 36(2): 193-201.
TANG Y, LIAN B, CHENG JZ. Archaeal community structure and diversity of the carbonate rocks in Karst regions, Guizhou: a case study of the Nanjiang canyon[J]. *Carsologica Sinica*, 2017, 36(2): 193-201 (in Chinese).
- [15] 丁丽君. 岩石微生物对碳酸盐岩的风化作用研究[D]. 贵阳: 贵州大学硕士学位论文, 2009.
DING LJ. Study of weathering carbonate rock by rock microorganism[D]. Guiyang: Master's Thesis of Guizhou University, 2009 (in Chinese).
- [16] 程跃扬, 靳振江, 袁武, 贾远航, 梁锦桃, 邱江梅, 潘复静, 刘德深. 会仙岩溶湿地古菌和细菌群落的共现性[J]. *桂林理工大学学报*, 2021, 41(1): 183-192.
CHENG YY, JIN ZJ, YUAN W, JIA YH, LIANG JT, QIU JM, PAN FJ, LIU DS. Archaeal and bacterial communities co-occurrence pattern in Huixian Karst wetland[J]. *Journal of Guilin University of Technology*, 2021, 41(1): 183-192 (in Chinese).
- [17] 鲍士旦. *土壤农化分析*[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 25-38.
BAO SD. *Soil Agrochemical Analysis*[M]. 3rd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2000: 25-38 (in Chinese).
- [18] 国家林业局. *森林土壤氮的测定: LY/T 1228—2015*[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
National forestry administration. Nitrogen determination methods of forest soils: LY/T 1228—2015[S]. Beijing,

- China standards press, 2015 (in Chinese).
- [19] 国家林业局. 森林土壤磷的测定: LY/T 1232—2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
National forestry administration. Phosphorus determination methods of forests soils: LY/T 1232—2015[S]. Beijing, China standards press, 2015 (in Chinese).
- [20] 国家林业局. 森林土壤钾的测定: LY/T 1234—2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National forestry administration. Potassium determination methods of forest soils: LY/T 1234—2015[S]. Beijing, China standards press, 2016 (in Chinese).
- [21] 常尧枫, 郭萌蕾, 谢军祥, 谢嘉玮, 陈重军. 厌氧氨氧化脱氮除碳功能菌群结构及代谢途径[J]. 中国环境科学, 2022, 42(3): 1138-1145.
CHANG YF, GUO ML, XIE JX, XIE JW, CHEN CJ. The structure and metabolic pathway of functional bacteria for nitrogen and carbon removal in Anammox[J]. China Environmental Science, 2022, 42(3): 1138-1145 (in Chinese).
- [22] HE XQ, YIN HJ, FANG C, XIONG JP, HAN LJ, YANG ZL, HUANG GQ. Metagenomic and q-PCR analysis reveals the effect of powder bamboo biochar on nitrous oxide and ammonia emissions during aerobic composting[J]. Bioresource Technology, 2021, 323: 124567.
- [23] GUO ML, JIANG Y, XIE JX, CAO QF, ZHANG Q, MABRUK A, CHEN CJ. Bamboo charcoal addition enhanced the nitrogen removal of anammox granular sludge with COD: performance, physicochemical characteristics and microbial community[J]. Journal of Environmental Sciences: China, 2022, 115: 55-64.
- [24] BUCHFINK B, REUTER K, DROST HG. Sensitive protein alignments at tree-of-life scale using DIAMOND[J]. Nature Methods, 2021, 18(4): 366-368.
- [25] BUCHFINK B, XIE C, HUSON DH. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND[J]. Nature Methods, 2015, 12(1): 59-60.
- [26] OGATA H, GOTO S, SATO K, FUJIBUCHI W, BONO H, KANEHISA M. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic Acids Research, 1999, 27(1): 29-34.
- [27] OKSANEN J, SIMPSON GL, BLANCHET FG, KINDT R, LEGENDRE P, MINCHIN PR, O'HARA RB, SOLYMOS P, STEVENS MH, SZOEC S, WAGNER H, BARBOUR M, BEDWARD M, BOLKER B, BORCARD D, CARVALHO G, CHIRICO M, CACERES MD, DURAND S, EVANGELISTA HBA. Vegan: community Ecology Package. R package version 2.6-2. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. 2022.
- [28] CSÁRDI G, NEPUSZ T. The igraph software package for complex network research[J]. 2006, InterJournal, Complex Systems, 1695. <https://igraph.org>.
- [29] WICKHAM H. Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis[M]. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 2016.
- [30] IRFAN TY. Mineralogy, fabric properties and classification of weathered granites in Hong Kong[J]. Quarterly Journal of Engineering Geology, 1996, 29(1): 5-35.
- [31] 黄镇国, 张伟强, 陈俊鸿, 刘瑞华, 何正钟. 中国南方红色风化壳[M]. 北京: 海洋出版社, 1996.
HUANG ZG, ZHANG WQ, CHEN JH, LIU RH, HE ZZ. South China Red Weathering Shell[M]. Beijing: Ocean Press, 1996 (in Chinese).
- [32] 陈进, 徐明, 邹晓, 杨云礼, 张姣, 张健. 黔中地区马尾松林土壤细菌群落结构特征研究[J]. 微生物学杂志, 2021, 41(4): 12-22.
CHEN J, XU M, ZOU X, YANG YL, ZHANG J, ZHANG J. Soil bacterial community structure and stability of *Pinus massoniana* forest in central Guizhou[J]. Journal of Microbiology, 2021, 41(4): 12-22 (in Chinese).
- [33] BERRY D, WIDDER S. Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 219.
- [34] 向兴. 大九湖泥炭古菌的环境基因组学研究[D]. 武汉: 中国地质大学博士学位论文, 2019.
XIANG X. Environmental genomics study of Archaea in Dajiuhu peatland[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of China University of Geosciences, 2019 (in Chinese).
- [35] 杨艳芳, 张秀娟, 于小彦. 巢湖十五里河不同河段沉积物古菌群落结构特征研究[J]. 土壤通报, 2022, 53(1): 106-115.
YANG YF, ZHANG XJ, YU XY. Characteristics of archaeal community structures in the different river reach sediments in the Shiwuli River, Caohu Lake basin[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2022, 53(1): 106-115 (in Chinese).
- [36] 鞠峰, 张彤. 活性污泥微生物群落宏组学研究进展[J]. 微生物学通报, 2019, 46(8): 2038-2052.
JU F, ZHANG T. Advances in meta-omics research on activated sludge microbial community[J]. Microbiology China, 2019, 46(8): 2038-2052 (in Chinese).
- [37] 戴九兰, 苗永君. 黄河三角洲不同盐碱农田生态系统中氮循环功能菌群研究[J]. 安全与环境学报, 2019, 19(3): 1041-1048.

- DAI JL, MIAO YJ. Nitrogen recycling function and microorganism of different saline-alkali agro-ecosystems around Yellow River Estuary delta[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2019, 19(3): 1041-1048 (in Chinese).
- [38] 黄备, 王婕妤, 魏娜, 母清林, 罗韩燕. 滨海化工园区海域沉积物古菌多样性及其影响因素研究[J]. *海洋环境科学*, 2020, 39(4): 593-599.
- HUANG B, WANG JY, WEI N, MU QL, LUO HY. Study on sedimental archaeal diversity and its correlation with environmental factors in Coastal Chemical Industry Park[J]. *Marine Environmental Science*, 2020, 39(4): 593-599 (in Chinese).
- [39] 邓霏. 古菌研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(28): 11-14, 47.
- DENG F. Research progress of Archaea[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2018, 46(28): 11-14, 47 (in Chinese).
- [40] 田润敏, 赵铎, 洪艳华, 张洪奇, 申贵男, 晏磊, 邱化蛟, 王伟东. 龙凤湿地与瑯奈湿地底泥细菌古菌多样性及其对环境因子的响应[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(7): 2500-2514.
- TIAN RM, ZHAO D, HONG YH, ZHANG HQ, SHEN GN, YAN L, QIU HJ, WANG WD. Diversity of bacteria and Archaea in sediments of Longfeng wetland and Dangnai wetland and its response to environmental factors[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(7): 2500-2514 (in Chinese).
- [41] 牟丹, 曾召英, 钟文琳, 周家喜, 瞿娇娇, 邹晓. 贵阳地区蝉花微生态系统中细菌种群结构与功能[J]. *微生物学报*, 2021, 61(2): 469-481.
- MU D, ZENG ZY, ZHONG WL, ZHOU JX, QU JJ, ZOU X. Bacterial community structure and function of *Cordyceps cicadae* microecosystem in Guiyang[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 469-481 (in Chinese).
- [42] 张坚超, 徐懿钦, 陆雅海. 陆地生态系统甲烷产生和氧化过程的微生物机理[J]. *生态学报*, 2015, 35(20): 6592-6603.
- ZHANG JC, XU YQ, LU YH. Microbial mechanisms of methane production and oxidation in terrestrial ecosystems[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(20): 6592-6603 (in Chinese).
- [43] 承磊, 郑珍珍, 王聪, 张辉. 产甲烷古菌研究进展[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(5): 1143-1164.
- CHENG L, ZHENG ZZ, WANG C, ZHANG H. Recent advances in methanogens[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(5): 1143-1164 (in Chinese).
- [44] 段昌海, 张翠景, 孙艺华, 李猛. 新型产甲烷古菌研究进展[J]. *微生物学报*, 2019, 59(6): 981-995.
- DUAN CH, Zhang CJ, Sun YH, Li M. Recent advances on the novel methanogens[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(6): 981-995 (in Chinese).
- [45] 贾仲君, 翁佳华, 林先贵, CONRAD R. 氨氧化古菌的生态学研究进展[J]. *微生物学报*, 2010, 50(4): 431-437.
- JIA ZJ, WENG JH, LIN XG, CONRAD R. Microbial ecology of archaeal ammonia oxidation—a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(4): 431-437 (in Chinese).
- [46] 贺纪正, 张丽梅. 氨氧化微生物生态学与氮循环研究进展[J]. *生态学报*, 2009, 29(1): 406-415.
- HE JZ, ZHANG LM. Advances in ammonia-oxidizing microorganisms and global nitrogen cycle[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(1): 406-415 (in Chinese).
- [47] ZUMSTEG A, LUSTER J, GÖRANSSON H, SMITTENBERG RH, BRUNNER I, BERNASCONI SM, ZEYER J, FREY B. Bacterial, archaeal and fungal succession in the forefield of a receding glacier[J]. *Microbial Ecology*, 2012, 63(3): 552-564.