

· 重大研究计划专题:水圈微生物驱动地球元素循环的机制 ·

MGII 古菌在中国近海和河口的空间分布特征

赖登训¹ 谢伟^{1,2} 范陆¹ 陶建昌³
胡安谊⁴ 王鹏³ 朱元清¹ 张传伦^{1*}

(1. 南方科技大学海洋地球古菌组学重点实验室,深圳 518055;2. 中山大学海洋科学学院,珠海 51908242;
3. 同济大学海洋地质国家重点实验室,上海 200092;4. 中国科学院城市环境研究所,厦门 361021)

[摘要] MGII 古菌是浅层海洋水体中丰度较高的异养微生物类群之一,在海洋有机质代谢中具有不可忽视的作用。研究表明 MGII 古菌在边缘海比远海环境具有更高的丰度和代谢活性。然而,我们对于 MGII 古菌在边缘海的分布特征仍知之甚少。本研究对中国四个区域(从南到北依次为珠江口、九龙江口、东海和胶州湾)表层水体的 MGII 种群结构进行了研究,分析了 MGII 古菌在这些区域中生境内、生境间的多样性, MGII OTUs 分布情况以及进化关系。结果表明: MGII 古菌在珠江口的多样性最高,东海和九龙江口次之,胶州湾最低。同时,珠江口 MGII 的均匀性指标最高,暗示其较为稳定的 MGII 群落结构。此外,珠江口的 MGII 的多样性与其他区域具有显著差异。进化树分析发现珠江口的 MGII 类群包含四个亚组,分布最为广泛,并且与其他区域有着明显的区分,而九龙江口、东海和胶州湾的分布相对紧凑,相互之间的 MGII 类群有交叉。研究珠江口 MGII 生态功能的特异性有助于进一步理解 MGII 古菌在全球边缘海的分布特征及其生态功能。

[关键词] MGII;古菌;近海与河口;生物多样性;碳循环;生物地球化学

20 多年以前,海洋浮游古菌就已经被报道^[1, 2]。当时,DeLong 和 Fuhrman 等人基于 16S rRNA 测序技术在海水中发现了泉古菌门(Crenarchaeota)下的 Marine Group I(MGI)和广古菌门(Euryarchaeota)下的 Marine Group II(MGII)。研究发现,MGI 的 16S rRNA 基因序列的平均相似度高达 94%,而 MGII 的 16S rRNA 平均相似性仅为 85%^[3, 4],具有较高的多样性。现今,MGI 的研究取得了重大进展,相比之下,我们对于 MGII 的生理代谢途径和生态功能等方面的理解仍不甚明了^[5, 6]。目前研究的瓶颈在于尚未有 MGII 的纯培养或富集培养,对于该类群的认知主要通过分子生态学和宏基因组学等研究方法获得。

MGII 是海洋水体中丰度最高的广古菌^[1],在全球海洋中的生物量约为 3×10^{27} 个细胞^[7]。一般来说, MGII 在表层水中的丰度大于深层水^[8-10],而 MGI 在深层水具有更高的丰度^[9-11]。这表明 MGII

古菌是真光层的主要类群, MGI 则是中层和深层海水的优势类群^[3, 8]。通过 16S rRNA 分析, MGII 古菌主要被分为 MGII. A, MGII. B 两大亚组^[3, 12, 13], 此外 MGII. C, MGII. D 亚组在深海热液口环境中另有报道^[12]。Hugoni 等人在巴祖尔湾的研究发现 MGII. B 在冬季大量勃发,而 MGII. A 在夏季含量最高,冬季最低^[15]。Xia X, Guo W 等人在南海的研究也发现同样的现象^[16]。这种随季节变化而截然不同的变化模式表明他们可能受到不同季节的温度、营养盐等因素的影响,暗示 MGII. A 和 MGII. B 为不同的生态型^[15]。在空间上, MGII. A 主要分布在表层或真光层,而 MGII. B 主要在深层^[14, 15, 17, 18],因此表明 MGII. A 和 MGII. B 具有不同的生态位。Frigaard 等人发现真光层中大约有 10% 的 MGII 古菌含有编码具有利用光能潜力的视紫红质蛋白的 *pop* 基因,而在真光层以深的 MGII 古菌中尚未发现^[18]。Iverson 等人在 2012 年从皮吉

特湾表层水中获得了首个 MGII 古菌全基因组序列,发现该 MGII 含有编码蛋白酶和脂酶的基因^[19]。李猛等人在 2015 年发现海洋深层水的 MGII 古菌的基因组中含有具有编码蛋白质降解、糖类降解、脂肪酸的 β 氧化等代谢通路的酶^[20]。同年, Martin-Cuadrado 等人报道了在地中海叶绿素最大层 MGII. B 类群的基因组,该基因组含有较高丰度和多样性的肽酶和一个特征性的琼脂酶,表明其具有降解海洋中蛋白质有机质和大部分藻类产生的多糖的能力^[21]。由此可见 MGII. A 和 MGII. B 具有不同的生存方式和代谢途径。

海洋中的有机碳由 particulate organic matter (POM) 和 dissolved organic matter (DOM) 组成^[22]。MGII 古菌既能降解 POM 为 DOM,同时也具有吸收利用 DOM 和无机碳的能力^[23]。因此, MGII 古菌的研究对于全球海洋碳氮循环意义重大,而边缘海区域 MGII 古菌的研究对于理解 MGII 古菌的生态功能尤为关键。首先, MGII 古菌的分布呈现近海丰度高,离岸越远丰度逐渐降低的趋势^[16, 24, 25]。谢伟等人在珠江河口的研究表明该区域 MGII 古菌的丰度相比其他已报道的海洋环境中的高了一个数量级^[6]。同时, Aylward 等人的模拟培养实验的转录组数据显示,在加利福尼亚沿海的 MGII 古菌含有大量的转录本 (transcript),而北太平洋亚热带换流中未检测到 MGII 古菌的转录本,证明近海的 MGII 古菌比远洋的具有更高的代谢活性^[25]。另外, Needham 和 Fuhrman 在对南加州圣佩德罗海的一次藻华勃发的连续观测发现, MGII 古菌在藻类勃发的中后期,可达到整个原核生物类群的 30%,比 SAR11 的丰度都要高^[26],而在边缘海区域,特别是近海和河口,有大量从陆地输送来的新鲜的有机质,伴随着有大量的硅、磷和氮元素的输入,藻类勃发^[27]。这些研究表明, MGII 在近年来藻类爆发频繁的河口及边缘海区域的有机碳转化过程中,发挥着重要作用。

目前,研究报道 MGII 古菌的分布受到诸多环境因素的影响,例如温度^[6, 28-30]、季节^[14, 15, 31]、初级生产力(或藻类)^[6, 29]和盐度^[29, 32, 33]等。然而,我们对于 MGII 古菌在近海与河口的整体分布的认知仍十分有限^[34, 35]。在本研究中,我们从南到北依次为珠江口,九龙江口,东海和胶州湾的表层水样品中提取了 DNA,利用古菌特异引物进行 PCR 扩增,通过 Illumina Miseq 平台进行高通量测序。我们对测序数据进行了分析,得到了古菌的群落结构信息。同

时,结合温度、盐度等环境参数进行分析,研究了 MGII 古菌在近海与河口的多样性和分布特征,并探讨其分布模式。此项研究为理解 MGII 古菌在全球海洋的分布及其生态功能提供了指示意义。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究样品采集来自中国近海与河口四个不同位点的表层水,共 59 个样品(图 1)。其中,珠江口 21 个,九龙江口 18 个,东海 10 个,胶州湾 10 个。珠江口是对同一个站点进行 24 小时连续观测,每间隔 2 小时进行取样;九龙江样品的采集选自 A6、A7、A8 等 6 个站点;东海采样位点处于一个水层断面 A6 内,并对其中一个站点 A6-8 在不同时间进行样品收集;胶州湾选取了近岸点 (A53) 和湾外点 (D710) 两个站点。利用潜水泵采水后立即使用过滤器进行过滤,收集膜样。部分站点采用分级过滤,即分别通过 $2.7 \mu\text{m}$ 滤膜 (Whatman GF/D 1823-047), $0.7 \mu\text{m}$ (Whatman GF/D 1825-047) 和 $0.2 \mu\text{m}$ 的滤膜 (Millipore GTTP04700),膜样放置于 -80°C 冰箱进行保存。过滤后的部分水样使用 50 ml 离心管 (NEST 602002) 保存,用于营养盐的测定。

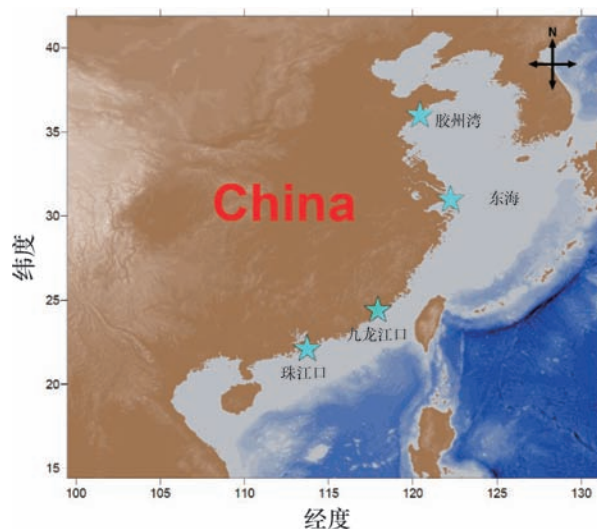


图 1 采样站点分布图

1.2 DNA 提取和高通量测序

膜样用剪刀剪碎后,利用 FastDNA 土壤试剂盒 (MP Biomedicals, USA) 结合快速研磨仪 (JXFST-PRP-24) 进行 DNA 提取,流程按照参考手册进行操作。古菌 16S rRNA 的 PCR 扩增采用覆盖 V4 和 V5 区的古菌特异引物 Arch524F (5'-TGACAGC-CGCCGCGGTAA-3') 和 958R-mod (5'-YCCG-

GCGTTGAVTCCAATT-3')。反应程序如下:95℃ 预变性 3 分钟,接着进行 35 个循环,包含 95℃ 变性 45 秒,55℃ 退火 45 秒,72℃ 延伸 90 秒,循环结束后 72℃ 10 分钟进行最后的延伸,接着降温到 4℃。DNA 纯化后进行 Illumina MiSeq 平台双端测序 (PE250)。

1.3 营养盐的测定

营养盐分析使用德国 Auto-Analyzer Technicon 147 II 营养盐分析仪 (AAII, Bran Luebbe)。具体而言,采用硅钼黄法测定硅酸盐含量;采用磷钼蓝分光光度法测定磷酸盐浓度;采用苯乙二胺分光光度法测定亚硝酸盐含量;采用铬柱还原法及苯乙二胺分光光度法测定硝酸盐和氮的含量。

1.4 数据分析

1.4.1 数据预处理

测序后得到的原始数据导入 Qiime2 version 2018.2 (<https://qiime2.org/>) 中按照 DADA2^[36] 方法进行低质量序列的过滤、拼接、嵌合体的去除等质量控制。相对于过去通常使用的基于 97% 的聚类挑选代表 OTU,利用 Qiime2 100% OTU 可以获得更高分辨率和准确的信息。OTU 注释与 Silva128 数据库进行比对,挑选出属于 MGII 古菌的序列,根据 MGII 古菌序列数表格的分布特征,为了消除测序深度差异对多样性分析的影响,将样品测序条数统一抽平至 1195 条,共保留有 44 个样品。其中珠江口 15 个,九龙江口 16 个,东海 8 个,胶州湾 5 个,共有 242 个 MGII OTUs。为了降低实验过程中产生的误差,同时排除极低丰度类群,我们过滤了只存在一个样品中的 MGII OTUs 后,剔除了在全部样品中 (44 个) 频率总数小于 200 的 (去除了含量在所有样品中平均丰度低于 0.38% 的 OTU),最终得到了该研究区域平均相对丰度最高的 77 个 MGII OTUs。

1.4.2 MGII 古菌多样性分析

MGII 古菌的生境内多样性 (Alpha 多样性) 采用了物种群落丰富度指标 Faith Phylogenetic Diversity^[37] 和均匀性指标 Pielou's Evenness^[38]。在生态学家开发的一系列计算物种丰富度的方法中,其中最为广泛使用的度量指标为 Faith 在 1992 年提出的 Faith's phylogenetic diversity (PD)^[37, 39]。该指标结合了物种的进化关系,对群落结构的丰富度进行了定性描述。计算的结果使用 Kruskal-wallis 秩和检验分别计算显著性情况。Pielou 在 1969 年把均匀度定义为群落测量的多样性 H' 与最大的多样性 H'_{\max} 的比值,该指标表示在一个区域中的范

围为 0 (无均匀性) 到 1 (完全均匀)。以 Shannon 指标为例,若设群落的 Shannon 指数为 H' , P_i 为第 i 个物种的相对值,物种数为 S ,则均匀度指数 J' 为:

$$J' = H' / H'_{\max} = \left(- \sum_{i=1}^n P_i \ln P_i \right) / \ln S \quad (1)$$

生境内多样性 (Beta 多样性) 采用了 unweighted UniFrac distance^[40] 距离进行计算,图形的绘制采用 R 语言软件包 phyloseq^[41]。另外,我们对抽平后的 MGII 古菌序列进行了多样性 Shannon 指标随着抽样深度的分析。以上分析均利用 Qiime2 内置插件 diversity 进行分析,结果使用 EMP^{eror}^[42] 进行可视化。

1.4.3 MGII 古菌进化树构建

MGII 古菌的 16S rRNA 系统发育树构建采用 phylogeny.fr^[43],建树的 MGII 古菌序列参考与已发表文章的 MGII 古菌不同亚组的序列^[12] 进行比对,主要有五个步骤:(i) 最初根据 MUSCLE^[44] 算法进行比对;(ii) 比对结果通过 Gblock^[45] 进行优化;(iii) 利用 PhyML^[46] 根据最大似然法构建发育树;(iv) 通过 TreeDyn^[47, 48] 对发育树进行展示;(v) 系统发育树的物种丰度注释和修饰通过 iTOL^[49]。物种注释中的 MGII OTUs 相对丰度为四个区域各自的平均值。

2 结果

2.1 研究区域环境参数

除了季节、温度和盐度参数以外,其他已测量的环境参数指标在不同区域存在着差异 (表 1)。采样季节上分为春季 (三月和四月份)、夏季 (八月) 和秋季 (九月和十月),过膜孔径分为 2.7 μm 、0.7 μm 和 0.2 μm 。其中,胶州湾采样时间涵盖春夏两个季节,九龙江的采样包含春夏秋三个季节,东海和珠江只在夏季进行。季节和温度在胶州湾有明显的一致性,但在九龙江区域,这种春夏秋季节的差距则明显缩小。从营养盐测试数据来看,不同的站点水体环境具有区域环境多样性。珠江口的站点采集的样品在一天不同的时间内盐度存在明显的变化;九龙江口不同位点样品同样存在较大的盐度变化;胶州湾和东海的样品盐度变化则较小。珠江口站点不同时间硝酸、亚硝酸和硅酸参数变化波动明显;胶州湾的亚硝酸和硅酸含量远低于珠江口,其中湾内站点 A53 的亚硝酸、硝酸、磷酸和硅酸的含量均远大于湾外站点 D710。亚硝酸盐是硝化反应的中间产物,通常会很快被相应的微生物利用,在海水中浓度一般

表 1 样品采样信息表

样品名称	区域	过膜孔径	季节	经度	纬度	温度	盐度	亚硝酸	磷酸	硅酸	硝酸	溶解氧	pH
PRE_T0230_F02	珠江口	0.2 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.2	27.6	5.56	N/A	32.73	18.37	N/A	7.84
PRE_T0230_F30	珠江口	2.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.2	27.6	5.56	N/A	32.73	18.37	N/A	7.84
PRE_T0230_F07	珠江口	0.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.2	27.6	5.56	N/A	32.73	18.37	N/A	7.84
PRE_T0630_F02	珠江口	0.2 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.4	26.14	7.19	0.49	29.89	18.25	3.69	7.72
PRE_T0630_F30	珠江口	2.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.4	26.14	7.19	0.49	29.89	18.25	3.69	7.72
PRE_T0630_F07	珠江口	0.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.4	26.14	7.19	0.49	29.89	18.25	3.69	7.72
PRE_T0830_F02	珠江口	0.2 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.7	23.94	4.7	0.39	22.35	15.47	2.45	7.65
PRE_T0830_F30	珠江口	2.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.7	23.94	4.7	0.39	22.35	15.47	2.45	7.65
PRE_T0830_F07	珠江口	0.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.7	23.94	4.7	0.39	22.35	15.47	2.45	7.65
PRE_T1030_F02	珠江口	0.2 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	28.8	16.96	11.32	0.83	65.42	54.94	4.06	7.45
PRE_T1030_F30	珠江口	2.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	28.8	16.96	11.32	0.83	65.42	54.94	4.06	7.45
PRE_T1230_F07	珠江口	0.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.8	23.84	6.03	0.46	31.28	20.7	3.46	7.5
PRE_T1430_F02	珠江口	0.2 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.8	24.99	N/A	N/A	N/A	N/A	4.46	7.59
PRE_T1430_F30	珠江口	2.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.8	24.99	N/A	N/A	N/A	N/A	4.46	7.59
PRE_T1430_F07	珠江口	0.7 μm	夏季	E113°44'6"	N22°07'12.5"	27.8	24.99	N/A	N/A	N/A	N/A	4.46	7.59
JRE_A6_2014_10	九龙江口	0.2 μm	秋季	E117°50'56"	N24°25'52"	26.2	7.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_A7_2014_10	九龙江口	0.2 μm	秋季	E117°53'31"	N24°24'21"	26.1	15.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_A7_2014_4	九龙江口	0.2 μm	春季	E117°53'31"	N24°24'21"	23	15.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_A7_2014_8	九龙江口	0.2 μm	夏季	E117°53'31"	N24°24'21"	N/A	3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_A8_2014_10	九龙江口	0.2 μm	秋季	E117°55'26"	N24°23'46"	26.2	21.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_A8_2014_4	九龙江口	0.2 μm	春季	E117°55'26"	N24°23'46"	22.6	19.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_A8_2014_8	九龙江口	0.2 μm	夏季	E117°55'26"	N24°23'46"	N/A	5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

(续表)

样品名称	区域	过膜孔径	季节	经度	纬度	温度	盐度	亚硝酸	磷酸	硅酸	硝酸	溶解氧	pH
JRE_A9_2014_10	九龙江口	0.2 μm	秋季	E117°57'47"	N24°24'3.6"	26.2	25.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_A9_2014_4	九龙江口	0.2 μm	春季	E117°57'47"	N24°24'3.6"	21.8	29.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_A9_2014_8	九龙江口	0.2 μm	夏季	E117°57'47"	N24°24'3.6"	N/A	13.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_JY0_2014_10	九龙江口	0.2 μm	秋季	E118°1'23"	N24°25'23"	26.3	29.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_JY0_2014_4	九龙江口	0.2 μm	春季	E118°1'23"	N24°25'23"	20.5	28.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_JY0_2014_8	九龙江口	0.2 μm	夏季	E118°1'23"	N24°25'23"	N/A	19.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_JY3_2014_10	九龙江口	0.2 μm	秋季	E118°6'43"	N24°23'13"	26.2	30.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_JY3_2014_4	九龙江口	0.2 μm	春季	E118°6'43"	N24°23'13"	19.5	30.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
JRE_JY3_2014_8	九龙江口	0.2 μm	夏季	E118°6'43"	N24°23'13"	N/A	29.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ECS_A6_4	东海	0.7 μm	夏季	E122°29'43"	N30°52'15"	26.21	29.25	N/A	N/A	N/A	N/A	6.24	8.42
ECS_A6_5	东海	0.7 μm	夏季	E122°38'31"	N30°50'19"	25.76	29.75	N/A	N/A	N/A	N/A	5.35	8.4
ECS_A6_6	东海	0.7 μm	夏季	E122°49'24"	N30°46'5"	25.87	29.56	N/A	N/A	N/A	N/A	5.29	8.39
ECS_A6_7	东海	0.7 μm	夏季	E123°0'1"	N30°42'52"	26.27	28.81	N/A	N/A	N/A	N/A	5.57	8.38
ECS_A6_8_T1	东海	0.7 μm	夏季	E123°14"	N30°39'22"	26.35	30.72	N/A	N/A	N/A	N/A	7.26	8.39
ECS_A6_8_T5	东海	0.7 μm	夏季	E123°14"	N30°39'22"	26.83	32.78	N/A	N/A	N/A	N/A	6.54	8.54
ECS_A6_8_T7	东海	0.7 μm	夏季	E123°14"	N30°39'22"	26.67	32.47	N/A	N/A	N/A	N/A	6.58	8.55
ECS_A6_8_T8	东海	0.7 μm	夏季	E123°14"	N30°39'22"	27.21	32.08	N/A	N/A	N/A	N/A	7.13	8.62
JZB_A53_F07	胶州湾	0.7 μm	夏季	E120°19'48"	N36°09'18"	25.56	29.79	2.48	0.86	1.99	32.68	N/A	N/A
JZB_A53_F02	胶州湾	0.2 μm	夏季	E120°19'48"	N36°09'18"	25.56	29.79	2.48	0.86	1.99	32.68	N/A	N/A
JZB_D710_F30	胶州湾	2.7 μm	春季	E120°25'30"	N35°59'00"	5.43	30.6	0.42	0.08	0.96	12.8	N/A	N/A
JZB_D710_F07	胶州湾	0.7 μm	春季	E120°25'30"	N35°59'00"	5.43	30.6	0.42	0.08	0.96	12.8	N/A	N/A
JZB_D710_F02	胶州湾	0.2 μm	春季	E120°25'30"	N35°59'00"	5.43	30.6	0.42	0.08	0.96	12.8	N/A	N/A

注: N/A 为未检测或低于检测线

较低,如同大洋水体缺氧层中发生的反硝化作用而造成的亚硝酸盐累积一样^[50],在胶州湾内站点和珠江口出现的亚硝酸盐高值可能与这些区域水体中由于低氧而发生的反硝化过程有关。

2.2 MGII 古菌群落在中国近海和河口的多样性特征

根据 Shannon 曲线,抽平后的 MGII 古菌在不同区域样品中均已达到了平台期(图 2),表明数据抽样深度满足多样性分析要求。群落 α 多样性包含了物种丰富度 (Species richness) 和均匀度 (Evenness) 两个指标。本研究中, MGII 古菌物种多样性在珠江口最高,东海和九龙江口次之,胶州湾最低,

总体表现为南高北低的趋势(图 3)。根据 Kruskal-wallis 算法计算得到的 Faith's PD 值的显著性情况表明除了东海和九龙江河口的 MGII 古菌多样性未有显著差异外,其他区域之间均有显著差异 ($p < 0.05$),而珠江口区域与其他区域的 MGII 古菌的多样性均有极显著的差异 ($p < 0.01$)(表 2)。

MGII 古菌在中国近海和河口的 Pielou 均匀度表现为珠江口最高,而九龙江、东海和胶州湾区域之间并无明显区分(图 4)。Kruskal-wallis 算法计算 Pielou 均匀性表明珠江口与其他环境具有极显著差异 ($P < 0.01$),而除珠江口以外的其他环境之间并无显著区分(表 3)。

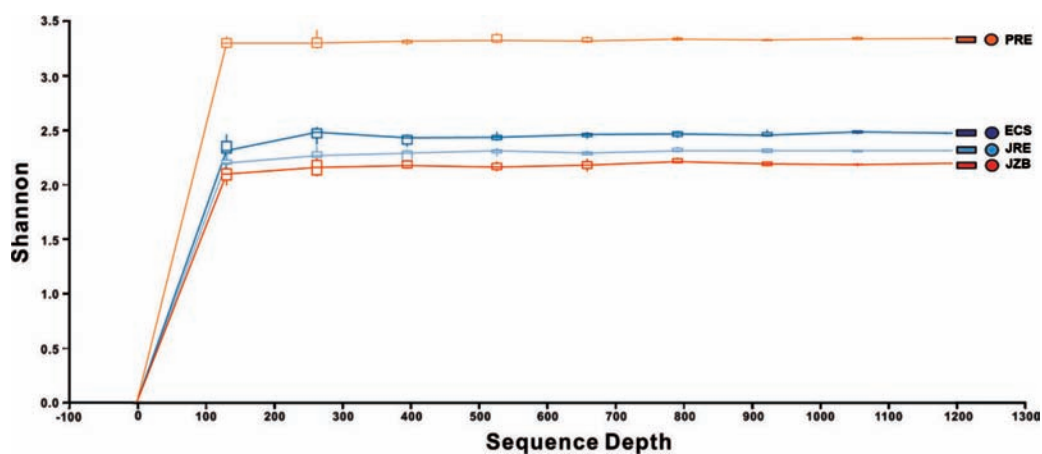


图 2 不同区域 MGII 的多样性指标 Shannon 随抽样深度的变化情况

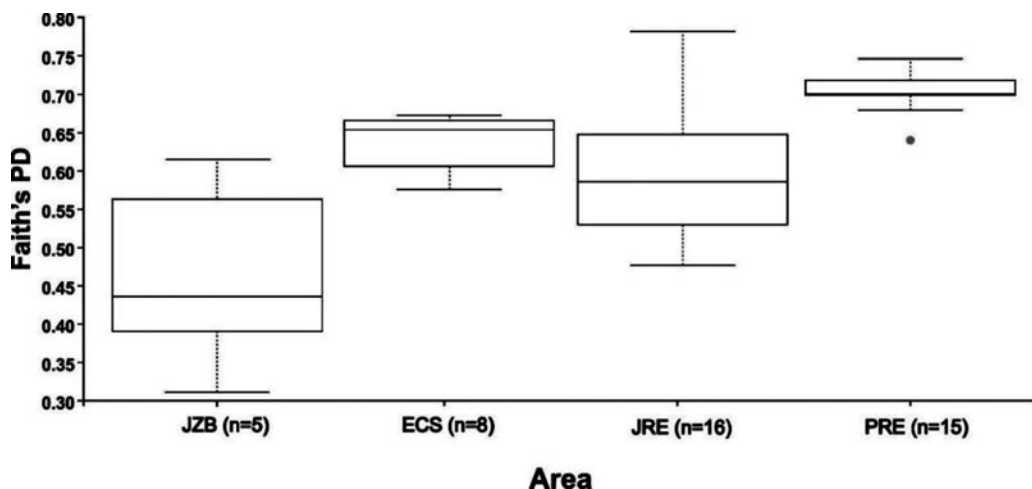


图 3 不同区域 MGII 古菌 Faith's Phylogenetic Diversity 值

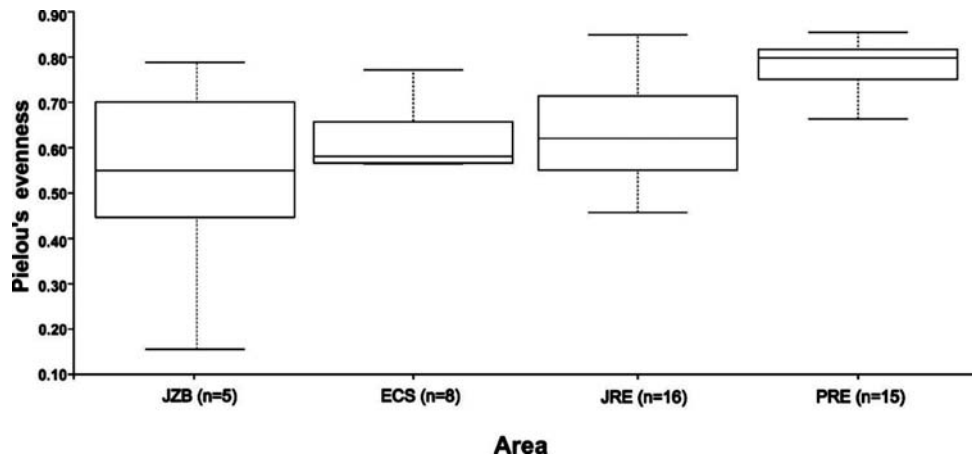


图 4 根据 Pielou's evenness 计算 MGII 古菌在不同区域分布的均匀性

表 2 Kruskal-wallis 算法计算 Faith's PD 值的显著性。

带**为红色的表示极显著相关,*为显著相关

Group 1	Group 2	H	p-value	q-value
ECS (n=8)	JLR (n=16)	2.7338	0.098	0.098
ECS (n=8)	JZB (n=5)	6.1929	0.013*	0.0192*
ECS (n=8)	PRE (n=15)	12.6042	0.0004**	0.0018**
JRE (n=16)	JZB (n=5)	4.2614	0.039*	0.0468*
JRE (n=16)	PRE (n=15)	11.8266	0.0006**	0.0018**
JZB (n=5)	PRE (n=15)	10.7143	0.001**	0.0021**

表 3 Kruskal-wallis 算法计算 pielow's evenness 值的显著性。

带**为红色的表示极显著相关,*为显著相关

Group 1	Group 2	H	p-value	q-value
ECS (n=8)	JLR (n=16)	0.0038	0.9512	0.9512
ECS (n=8)	JZB (n=5)	0.7714	0.3798	0.4557
ECS (n=8)	PRE (n=15)	10.0042	0.0016**	0.0047**
JLR (n=16)	JZB (n=5)	0.9818	0.3218	0.4557
JLR (n=16)	PRE (n=15)	12.1000	0.0005**	0.0030**
JZB (n=5)	PRE (n=15)	7.0876	0.0078**	0.0155*

PCoA(Unweighted Unifrac distance)分析不考虑序列的丰度,根据物种进化间的关系对样品间进行距离的计算。本研究中,MGII 古菌群落组成在珠江口生境与中国近海和河口其他生境之间有明显的区分(图 5)。根据 MGII 古菌计算得到的距离指标,珠江口样品间的距离十分接近,表明在珠江口环境的 MGII 古菌在组成上的差异十分微小;东海环境中不同的样品存在较大差异,分布范围广;胶州湾和九龙江的部分样品距离较近,表明其 MGII 古菌群落组成存在较大的重叠;九龙江区域样品分布距离最为广泛,表明该区域存在多种 MGII 古菌类群结构。

2.3 MGII 古菌进化树分析

根据已发表的 MGII 可分为 MGII. A、MGII. B、MGII. C、MGII. D 四个亚组^[12],以这些亚组的

代表序列和本研究得到的 MGII 古菌 16S rRNA 进行序列比对,并根据最大似然法构建系统发育树,四个区域的 MGII 序列分布于四个亚组代表序列之间,根据这些代表序列的位置,将相应分支命名为 Cluster A, B, C, D(图 6)。图中分支的深蓝色圆点表示 bootstrap 大于 50%。不同区域的 MGII 古菌的分布具有不同的模式:珠江口的 MGII 古菌在 Cluster A, B, C, D 上均有分布,且分布比较均匀;胶州湾的 MGII 古菌主要分布在 Cluster A 和 Cluster C 两个分支;而东海的 MGII 古菌分布主要在 Cluster A 和 Cluster B 两个分支,少量在 Cluster C 分支;九龙江的 MGII 古菌分布与东海类似,同样是在 Cluster A, Cluster B 和 Cluster C 三个分支,但是在进化树上分布更为广泛。珠江口环境的 MGII OTUs 与其他区域的 MGII OTUs 分布有明显的区分,而其他区域之间互有交叉。

3 讨论

3.1 MGII 古菌的生态功能、区域特点及其多样性

边缘海面积虽然只占全球海洋表面积的 7%,但贡献了全球海洋初级生产力的 30%^[51]。其有机质含量丰富,种类繁多,既有大量从陆源来的有机质,也有海洋藻类、浮游微生物等海洋环境自身产生的物种^[52],微生物丰度和多样性高。Bianchi 等人发现了在边缘海存在大量陆源难降解有机质“丢失”的情况,并提出了微生物介导的“激发效应”^[53]。最新基因组学的研究均表明 MGII 古菌介导有机质代谢^[19-21],是海洋碳循环的重要的驱动者^[5]。亮氨酸分解后能迅速转换成葡萄糖,因此可以用它的代谢速率估算异养微生物的次级生产量^[54]。Alderkamp

等人发现 MGII 对亮氨酸的吸收能力和拟杆菌相近,远高于 MGI^[55],这表明 MGII 古菌能高效的利用藻类和浮游微生物固定的有机质。由此可见, MGII 古菌在边缘海区域有机质代谢中可能发挥了重要的作用。

系统发育树结果表明 MGII. A 和 MGII. B 在中国近海和河口区大量存在是海洋中的主要类群^[3, 56],且在进化关系上是与深海热液口相似的类群。经前人研究表明 MGII 古菌具有不同的生态型^[15],

不同的生态型适应了不同的生态位^[10, 11, 16],并且在代谢途径上有所不同^[18, 20]。例如, MGII. A 和 MGII. B 在季节变化上、海洋中分布层位、生态功能等方面存在明显差异^[15]。MGII. C 和 MGII. D 则在深海环境中被发现^[12]。因此,在中国近海和河口区 MGII 古菌这种特殊的种群结构暗示其可能有着独特的生态功能。

本研究整合了中国近海和河口区域环境(珠江口、九龙江口、东海和胶州湾)的 MGII 古菌 16S rRNA 数据,首次系统研究了 MGII 古菌在中国近海和河口的分布。PCoA 分析表明中国近海和河口的不同区域 MGII 古菌分布具有区域特异性。九龙江区域 MGII 古菌群落分布广泛,表明该区域 MGII 古菌群落结构可能受到多种复杂的因素控制;胶州湾和九龙江部分样品间的距离较近,表明其 MGII 古菌群落组成存在较大的重叠。珠江口的环境多样性、均匀度和其他区域有显著差异,进化树分析也同样表明该区域 MGII OTUs 的分布与中国近海和河口其他区域具有不同的模式。这种分布的差异表明 MGII 在中国近海和河口不同区域的生态功能、生物地球化学循环中发挥的作用可能有所差别。由于不同区域采样过程所测试的环境参数的不一致性, MGII 群落分布与环境因子关系的研究受到限制,这一方面在后续研究中待进一步开展。

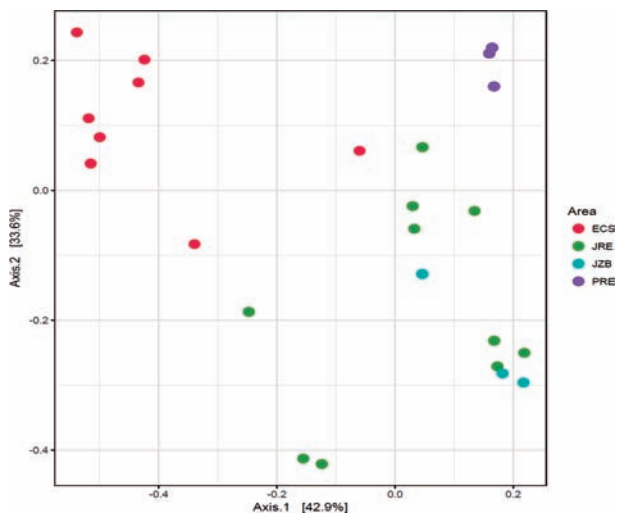


图5 PCoA(unweighted Unifrac distance)分析 MGII 古菌在不同区域分布距离情况

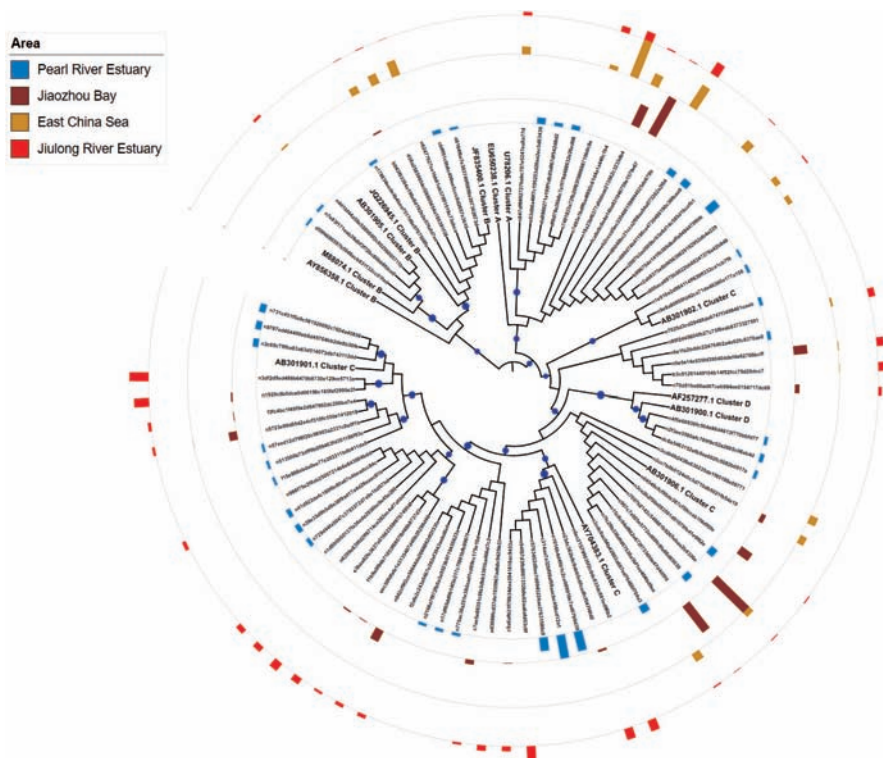


图6 MGII 古菌进化树分析

3.2 MGII 古菌在珠江口的环境特殊性

MGII 古菌系统发育树中显示珠江口环境的 MGII 在四个亚组均有分布,并且在不同分枝上较为广泛和均匀。类似的,Liu J, Yu S 等人在珠江口系统发育树分析发现 MGII 多样性十分高,可以分为九个小的分枝,并且每个分枝均具有较高的丰度^[33]。Xie W, Luo H 等人在珠江口咸淡水混合区的研究表明该区域颗粒态的 MGII 16S rRNA 的丰度可达到每升海水 108 个拷贝,数值远大于其他海域^[6]。Mincer 等人对蒙特利湾进行了长达两年以上的观测,发现 MGII 呈现出明显的季节性变化,表层水体每升海水中,MGII 16S rRNA 基因大部分在 107 个拷贝,但在 1997 年春季勃发阶段,MGII 16S rRNA 基因的丰度可到 108 拷贝/升。美国加州沿海研究发现 MGII 16S rRNA 的丰度为 107 拷贝/升^[24]。

另外,本研究显示 MGII 在中国河口区的多样性的系统性研究发现 MGII 古菌类群在珠江口环境具有较高的多样性(图 2、图 3、图 6)。地中海和法国滨海巴纽尔斯湾两处边缘海的研究发现 MGII 主要分为 MGII. A 和 MGII. B 两个亚组^[15, 21]。太平洋边缘海的研究发现了 MGII. A, MGII. B 以外只存在于中层或中层海水的亚组 MGII. C^[11]。由上可见,珠江口环境的 MGII 古菌相比全球边缘海其他区域同样具有较多的类群和更高的丰度。

MGII 古菌在珠江口有较高的丰度和多样性可能由以下几个原因导致:1. 珠江口 MGII 古菌群落受到剧烈的环境扰动,环境差异大。珠江口盐度的巨大变化反映该区域受到明显的潮汐作用,水动力过程强烈。这种差异和复杂的河口生态环境演化适应了不同的 MGII 古菌类群。另一方面,这些 MGII 古菌群落高度的均一性,表明其结构具有极高的稳定性,从而对珠江口环境的扰动具有较强的抵抗能力。因此,在珠江口区域不同时间的研究均发现了 MGII 古菌有较高的丰度和多样性^[6, 16, 33, 57]。2. 珠江口特殊的磷酸盐限制环境使得 MGII 具有突出优势。从珠江口获得的 MGII 基因组 MGII_P 中发现了含有高亲和力的磷酸盐转运子^[6],相比其他微生物类群,在对磷酸盐的利用具有更强的竞争力,因此 MGII 古菌在珠江口能保持较高的丰度。总而言之,珠江口的 MGII 古菌这种稳定的群落结构、高度的多样性和丰度,具有降解通过珠江输送来的大量的有机质和营养物质的能力,以及特殊的代谢功能暗示该区域的 MGII 古菌在生物地球化学元素循环中

发挥了积极和关键的作用。

4 研究展望

MGII 古菌占了海洋水体古菌的近 20%^[7],在近海及开阔大洋^[10]中都具有较高的多样性。尽管目前我们鉴别出了部分亚组,由于目前 MGII 的系统分类树多是通过 16S rRNA 的部分区间进行计算获得,不同研究团体得出 MGII 亚群也存在一定差别^[12, 23],基于 16S rRNA 全长或者全基因组的测序而建立更加稳定的 MGII 系统分类树,是下一步亟待开展的一项重要工作。

近年来,基因组学的研究使得我们对于 MGII 有了全新的认识。Zhang CL 等人在 2015 年发表了关于 MGII 古菌的首篇综述^[5],结合其中提到的关于海洋 MGII 古菌的主要研究方向,我们提出 MGII 未来应聚焦以下几个方面:

系统研究 MGII 古菌在全球海洋的分布模式及与环境因子关系;

通过宏基因组测序和单细胞测序,提升 MGII 古菌的基因组序列饱和度;

加强对 MGII 古菌的富集与培养,以便对其生理生态特征进行详细的研究;

对 MGII 古菌膜质化合物特征进行鉴定,以评估海洋中 glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) 化合物的真正来源和其生物地球化学功能;

量化 MGII 古菌与异养细菌在降解有机碳速率上的差别,以评估 MGII 在海洋碳循环中的贡献;

厘清 MGII 古菌在海洋微生物中的演化地位及与其他原核生物或病毒的可能共生模式。

目前国家自然科学基金委员会新开展的“水圈微生物驱动地球元素循环的机制研究重大研究计划”,选择包括近岸与河口的典型水域自然生境,“聚焦微生物参与的碳氮硫等元素生物地球化学循环过程,发现功能微生物(群)与环境之间相互作用的新类型,阐明水圈微生物驱动碳氮硫等元素生物地球化学循环的机制”。对以上 MGII 古菌的深入研究,能够帮助我们回答该研究计划所关注的近海与河口生境微生物群落形成及其与环境互作机制的关键科学问题。

致谢 本研究得到中国国家自然科学基金(项目资助号:41530105(张传伦),41373072(张传伦),41776137(谢伟),31470539(胡安谊),41776134(王鹏);国家科技部项目(No: 2016YFA0601101),同

济跨学科项目(No: 1350219165)资助,在此一并感谢。

参 考 文 献

- [1] DeLong EF. Archaea in coastal marine environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(12): 5685—5689.
- [2] Fuhrman JA, McCallum K, Davis AA. Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature*, 1992, 356(6365): 148—149.
- [3] Massana R, DeLong EF, Pedrós-Alió C. A few cosmopolitan phylotypes dominate planktonic archaeal assemblages in widely different oceanic provinces. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(5): 1777—1787.
- [4] Herfort L, Schouten S, Abbas B, et al. Variations in spatial and temporal distribution of archaea in the north sea in relation to environmental variables. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 62(3): 242—257.
- [5] Zhang CL, Wei X, Ana-Belen MC, et al. Marine Group II Archaea, potentially important players in the global ocean carbon cycle. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1108.
- [6] Xie W, Luo H, Murugapiran SK, et al. Localized high abundance of marine group II archaea in the subtropical pearl river estuary: Implications for their niche adaptation. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(2): 734—754.
- [7] Karner MB, DeLong EF, Karl DM. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the pacific ocean. *Nature*, 2001, 409(6819): 507—510.
- [8] Massana R, Murray AE, Preston CM, et al. Vertical distribution and phylogenetic characterization of marine planktonic archaea in the santa barbara channel. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(1): 50—56.
- [9] Mincer TJ, Church MJ, Taylor LT, et al. Quantitative distribution of presumptive archaeal and bacterial nitrifiers in monterey bay and the north pacific subtropical gyre. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(5): 1162—1175.
- [10] Lincoln SA, Wai B, Eppley JM, et al. Reply to Schouten et al.: Marine Group II planktonic Euryarchaeota are significant contributors to tetraether lipids in the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(41): E4286.
- [11] Xia X, Guo W, Liu H. Basin Scale Variation on the Composition and Diversity of Archaea in the Pacific Ocean. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2057.
- [12] Belmar L, Molina V, Ulloa O. Abundance and phylogenetic identity of archaeoplankton in the permanent oxygen minimum zone of the eastern tropical south pacific. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 78(2): 314—326.
- [13] Galand PE, Lovejoy C, Hamilton AK, et al. Archaeal diversity and a gene for ammonia oxidation are coupled to oceanic circulation. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(4): 971—980.
- [14] Galand PE, Gutiérrez-Provecho C, Massana R, et al. Inter-annual recurrence of archaeal assemblages in the coastal NW mediterranean sea (blanes bay microbial observatory). *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(5): 2117—2125.
- [15] Hugoni M, Taib N, Debroas D, et al. Structure of the rare archaeal biosphere and seasonal dynamics of active ecotypes in surface coastal waters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(15): 6004—6009.
- [16] Xia X, Guo W, Liu H. Dynamics of the bacterial and archaeal communities in the Northern South China Sea revealed by 454 pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2015, 117: 97—107.
- [17] Liu H, Zhang CL, Yang C, et al. Marine Group II Dominates Planktonic Archaea in Water Column of the Northeastern South China Sea. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1098.
- [18] Frigaard NU, Martinez A, Mincer TJ, et al. Proteorhodopsin lateral gene transfer between marine planktonic bacteria and archaea. *Nature*, 2006, 439(7078): 847—850.
- [19] Iverson V, Morris RM, Frazar CD, et al. Untangling genomes from metagenomes: Revealing an uncultured class of marine euryarchaeota. *Science*, 2012, 335(6068): 587—590.
- [20] Meng L, Baker BJ, Anantharaman K, et al. Genomic and transcriptomic evidence for scavenging of diverse organic compounds by widespread deep-sea archaea. *Nature Communications*, 2015, 6: 8933.
- [21] Martin-Cuadrado A-B, Garcia-Heredia I, Molto AG, et al. A new class of marine euryarchaeota group II from the mediterranean deep chlorophyll maximum. *The ISME Journal*, 2015, 9(7): 1619—1634.
- [22] Zhang Y, Zhao M, Cui Q, et al. Processes of coastal ecosystem carbon sequestration and approaches for increasing carbon sink. *Science China Earth Sciences*, 2017, 60(5): 809—820.
- [23] Herndl GJ, Reinthaler T, Teira E, et al. Contribution of archaea to total prokaryotic production in the deep atlantic ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(5): 2303—2309.
- [24] Orsi WD, Smith JM, Wilcox HM, et al. Ecophysiology of uncultivated marine euryarchaea is linked to particulate organic matter. *The ISME Journal*, 2015, 9(8): 1747—1763.
- [25] Aylward FO, Eppley JM, Smith JM, et al. Microbial community transcriptional networks are conserved in three domains at ocean basin scales. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(17): 5443—5448.
- [26] Needham DM, Fuhrman JA. Pronounced daily succession of phytoplankton, archaea and bacteria following a spring bloom. *Nature Microbiology*, 2016, 1(4): 16005.
- [27] Chain PSG, Grafham DV, Fulton RS, et al. Genome project standards in a new era of sequencing. *Science*, 2009, 326(5950): 236—237.

- [28] Amano-Sato C, Akiyama S, Uchida M, et al. Archaeal distribution and abundance in water masses of the arctic ocean, pacific sector. *Aquatic Microbial Ecology*, 2013, 69 (2): 101—112.
- [29] Parada AE, Fuhrman JA. Marine archaeal dynamics and interactions with the microbial community over 5 years from surface to seafloor. *The ISME Journal*, 2017, 11 (11): 2510—2525.
- [30] Galand PE, Casamayor EO, Kirchman DL, et al. Unique archaeal assemblages in the arctic ocean unveiled by massively parallel tag sequencing. *The ISME Journal*, 2009, 3 (7): 860—869.
- [31] Galand PE, Gutiérrez-Provecho C, Massana R, et al. Inter-annual recurrence of archaeal assemblages in the coastal nw mediterranean sea (blanes bay microbial observatory). *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(5): 2117—2125.
- [32] Galand PE, Lovejoy C, Pouliot J, et al. Heterogeneous archaeal communities in the particle-rich environment of an arctic shelf ecosystem. *Journal of Marine Systems*, 2008, 74 (3—4): 774—782.
- [33] Liu J, Yu S, Zhao M, et al. Shifts in archaeoplankton community structure along ecological gradients of pearl estuary. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 90(2): 424—435.
- [34] Crump BC, Baross JA. Archaeoplankton in the columbia river, its estuary and the adjacent coastal ocean, USA. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 31(3): 231—239.
- [35] Vieira RP, Clementino MM, Cardoso AM, et al. Archaeal communities in a tropical estuarine ecosystem: Guanabara bay, brazil. *Microbial Ecology*, 2007, 54(3): 460—468.
- [36] Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, et al. Dada2: High-resolution sample inference from illumina amplicon data. *Nature Methods*, 2016, 13(7): 581—583.
- [37] Faith DP. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation*, 1992, 61(1): 1—10.
- [38] Pielou EC. *An introduction to mathematical ecology*. New York: Wiley, 1969.
- [39] Faith DP. Systematics and conservation: On predicting the feature diversity of subsets of taxa. *Cladistics—the International Journal of the Willi Hennig Society*, 1992, 8 (4): 361—373.
- [40] Lozupone CA, Hamady M, Kelley ST, et al. Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73 (5): 1576—1585.
- [41] McMurdie PJ, Holmes S. Phyloseq: An r package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61217.
- [42] Vázquez-Baeza Y, Pirrung M, Gonzalez A, et al. EMPPeror: a tool for visualizing high-throughput microbial community data. *GigaScience*, 2013, 2(1): 16.
- [43] Dereeper A, Guignon V, Blanc G, et al. Phylogeny. fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(suppl_2): W465—W469.
- [44] Edgar RC. Muscle: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(5): 1792—1797.
- [45] Castresana J. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution*, 2000, 17(4): 540—552.
- [46] Guindon S, Dufayard JF, Hordijk W, et al. PhyML: Fast and accurate phylogeny reconstruction by maximum likelihood. *Infection Genetics and Evolution*, 2009, 9 (3): 384—385.
- [47] Dereeper A, Audic S, Claverie J M, et al. Blast-explorer helps you building datasets for phylogenetic analysis. *BMC Evolutionary Biology*, 2010, 10(8): 8.
- [48] Chevenet F, Brun C, Bañuls AL, et al. Treedyn: Towards dynamic graphics and annotations for analyses of trees. *BMC Bioinformatics*, 2006, 7(1): 439.
- [49] Letunic I, Bork P. Interactive tree of life (itol): An online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Bioinformatics*, 2007, 23(1): 127—128.
- [50] Ulloa O, Canfield DE, DeLong EF, et al. Microbial oceanography of anoxic oxygen minimum zones. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(40): 15996—16003.
- [51] Gattuso JP, Frankignoulle M, Wollast R. Carbon and carbonate metabolism in coastal aquatic ecosystems. *Annual Review of Ecology & Systematics*, 1998, 29(1): 405—434.
- [52] Tao S, Eglinton TI, Montluçon DB, et al. Diverse origins and pre-depositional histories of organic matter in contemporary Chinese marginal sea sediments. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2016, 191: 70—88.
- [53] Bianchi TS. The role of terrestrially derived organic carbon in the coastal ocean: A changing paradigm and the priming effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108 (49): 19473—19481.
- [54] Levipan HA, Quinones RA, Urrutia H. A time series of prokaryote secondary production in the oxygen minimum zone of the humboldt current system, off central chile. *Progress in Oceanography*, 2007, 75(3): 531—549.
- [55] Alderkamp AC, Sintes E, Herndl GJ. Abundance and activity of major groups of prokaryotic plankton in the coastal north sea during spring and summer. *Aquatic Microbial Ecology*, 2006, 45(3): 237—246.
- [56] Martin-Cuadrado AB, Rodriguez-Valera F, Moreira D, et al. Hindsight in the relative abundance, metabolic potential and genome dynamics of uncultivated marine archaea from comparative metagenomic analyses of bathypelagic plankton of different oceanic regions. *The ISME Journal*, 2008, 2(8): 865—886.
- [57] Xie W, Zhang C, Zhou X, et al. Salinity-dominated change in community structure and ecological function of archaea from the lower pearl river to coastal south china sea. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98 (18): 7971—7982.

The spatial patterning of Marine Group II archaea in Chinese coastal and estuarine waters

Lai Dengxun¹ Xie Wei^{1,2} Fan Lu¹ Tao Jianchang³
Hu Anyi⁴ Wang Peng³ Zhu Yuanqing¹ Zhang Chuanlun¹

(1. Department of Ocean Science and Engineering, Southern University of Science and Technology, Shenzhen, 518055;
2. School of Marine Sciences, Sun Yat-sen University, Zhuhai, 5190824; 3. State Key Laboratory of Marine Geology,
Tongji University, Shanghai, 200092; 4. Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen, 361021)

Abstract MGII that belonging to Euryarchaeota, are among the most abundant heterotrophic microorganisms in surface ocean and are important players in the degradation of organic matter. Research so far has shown that the distribution of MGII could be affected by various parameters such as seasonality, temperature and salinity. They were known to have higher metabolic activity in coastal and estuarine regions than the open ocean. However, the patterning of MGII distribution in the ocean and their ecological functions are unclear. Here, we performed sequencing analysis using samples from four different regions including Pearl River Estuary (PRE), Jiulong River Estuary (JRE), East China Sea (ECS), and Jiaozhou Bay (JZB). Results of Miseq sequencing indicate that the MGII have different distributional patterns and community compositions in various areas. Diversity analyses show that the faith' PD and Pielou' evenness of MGII in PRE are significantly different from those in other areas, indicating regional specificity of MGII community in Chinese coasts and estuaries. Phylogenetic analyses show that MGII OTUs from the PRE represent a unique group, whereas MGII OTUs in other areas have considerable overlaps. This study provides an integrated view of MGII's distributional patterns in Chinese coastal and estuarine waters which may contribute to a better understanding of MGII's potential ecological functions in the Pearl River Estuary.

Key words MGII; archaea; coastal seas and estuaries; biodiversity; carbon cycle; biogeochemistry