

북극 Svalbard 지역 해양 퇴적물의 고세균 *amoA* 유전자의 다양성 분석

박수제^{1*} · 이성근²

¹제주대학교 생물학과 및 기초과학연구소, ²충북대학교 미생물학과

Diversity Analysis for Archaeal *amoA* Gene in Marine Sediment of Svalbard, Arctic Circle

Soo-Je Park^{1*} and Sung-Keun Rhee²

¹Department of Biology and Research Institute for Basic Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Republic of Korea

²Department of Microbiology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Republic of Korea

(Received April 17, 2014 / Accepted May 8, 2014)

The ecosystem of the Arctic region has been increasingly affected by global warming. Archaeal ammonia monooxygenase alpha subunit coding gene (*amoA*) which is a key enzyme for nitrification was used to investigate the effect of runoff water of ice melt on microbial community of nitrogen cycle. The archaeal *amoA* genes at coastal area of Svalbard, Arctic region were PCR-amplified and sequenced after clone library construction. Analysis of archaeal *amoA* gene clone libraries suggested that the station 188 which is in the vicinity to the area of runoff water harbor lower ammonia-oxidizing archaeal diversity than the station 176 and 184. The average amino acid sequence identity within all archaeal *amoA* gene clones was 94% (with 91% nucleotide sequence identity). While all the clones of the station 188 were affiliated with *Nitrosoarchaeum* clade containing strains isolated from low-salinity and terrestrial environments, about 45% of total clones of the station 176 and 184 were related to marine *Nitrosopumilus* clade. Interestingly, other typical archaeal *amoA* gene clones of thaumarchaeal I.1b clade frequently retrieved from terrestrial environments was identified at station 188. Microbial community of nitrogen cycle in marine sediment might be affected by input of sediments caused by runoff glacier melt waters.

Keywords: *amoA*, ammonia-oxidizing archaea, arctic, diversity, marine sediment

북극지역의 생태계는 지구 온난화에 따라 매우 민감하게 변화하고 있으며, 지구 기후변화에 미치는 영향이 매우 크다(Wilfried *et al.*, 1998). 지난 수십 년간, 여름시기의 해빙에 따른 토양 성분들의 해양환경으로 유입은 계속 증가하고 있으며, 해양생태계에 큰 영향을 미치고 있다(Dierssen *et al.*, 2002; Hanna *et al.*, 2008).

북극 Svalbard 지역은 고위도 지방의 섬으로 이루어져 있으나, 북대서양 및 북태평양이 북극과 서로 통해있기 때문에 저위도로 부터의 많은 열이 공급되는 해류의 영향을 받고 있다(Svendsen *et al.*, 2002). 이러한 물리적 요인으로 의하여 생물의 다양성과 군집이 많은 영향을 받고 있다고 알려져 있으며(Holte and Gulliksen, 1998), 특히 지구 온난화 변화에 따라 많은 관심을 받고 있다. 또한, 해빙에 의한 담수의 유입으로 육상으로부터 영양분들이 해양퇴적층으로 이동되는 채널이 형성되는 양상을

보이고 있다. 따라서 이러한 토양성분의 유입은 해안가와 해양 퇴적물의 미생물 군집에 직접적인 영향을 줄 것으로 예상된다. 비록, 북극 지역의 해수 및 퇴적층에 대한 물리·화학적 연구가 많이 이루어졌으나(Forwick *et al.*, 2010), 해빙에 따른 북극지역의 해양퇴적환경의 미생물 군집에 대한 연구는 상대적으로 적은 편이었다.

생태계에서 질산화(nitrification) 과정은 호기적인 환경에서 전자 공여체로 암모니아(NH₃)를 이용하여 아질산염(NO₂⁻)을 거쳐 질산염(NO₃⁻)까지 단계적으로 이루어지는 산화과정을 말한다. 이 과정은 육상환경 뿐만 아니라 해양환경의 질소순환 과정에도 중요한 역할을 차지한다. 최근까지 이러한 질산화 과정 중 NH₃에서 NO₂⁻으로 산화하는 과정은 β-와 γ-Proteobacteria가, NO₂⁻에서 NO₃⁻으로 산화되는 과정은 β-, γ-, 와 δ-Proteobacteria, 그리고 *Nitrospira* 속의 세균이 수행한다고 알려져 있었다. 하지만, 메타게놈과 같은 분자 생물학적 연구 결과 따라(Francis *et al.*, 2005; Treusch *et al.*, 2005), 고온, 고염과 같은 극한환경에

*For correspondence. E-mail: sjpark@jejunu.ac.kr; Tel.: +82-64-754-3524; Fax: +82-64-756-3541

Table 1. Properties of sediments of sampling stations

Property	Sampling station		
	176	184	188
Latitude (N)	78°21'	78°24'	78°26'
Longitude (E)	16°28'	17°08'	17°18'
Depth (m)	60	71	40
Sedimentation rate (cm/ka) ^a	34	135	3,800

^a Data from Forwick *et al.* (2010)

서만 발견되던 고세균이 일반 육상과 해양 환경의 질소 및 탄소 순환에 큰 역할을 하고 있는 것으로 알려지게 되었다(Konneke *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2008, 2010; Jung *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2012). *Nitrosopumilus maritimus* SCM1이 처음으로 해양 아쿠아리움에서 암모니아 산화 고세균(ammonia-oxidizing archaea, AOA)으로써 분리된 이후에(Konneke *et al.*, 2005), 다양한 해양 및 토양환경으로부터 AOA가 배양되어 그 생리적 특징 및 유전체 정보가 밝혀지고 있다(Walker *et al.*, 2010).

이 연구를 통하여 북극 Svalbard 지역에서 해빙에 따른 토양 성분 및 토양 미생물 유입의 영향을 살펴보고자 해양퇴적물의 표층으로부터 DNA를 추출하고 고세균에 특이적인 암모니아 산화 유전자(ammonia monooxygenase alpha subunit, *amoA*) 분석을 실시하였다. 이를 통하여, 질소 순환에 관여하는 AOA 군집에 미치는 해빙의 영향을 분석하였다.

해양 퇴적물은 북극 Svalbard 지역의 퇴적물을 유입 정도(sedimentation rate)가 다른(Table 1)(Forwick *et al.*, 2010), 근해를 가로지르는 3군데 정점을 선정하였다(Fig. 1). 해양퇴적층의 높은 sedimentation rate는 해빙에 따른 토양의 유기물들이 우세하게 유입되었음을 지시한다. Giant box corer를 이용하여 채취하였으며(2006년 8월), 샘플링 즉시 멸균된 코니칼 튜브에 담아 분석 전까지 -80°C에 보관하였다. Genomic DNA (gDNA)의 추

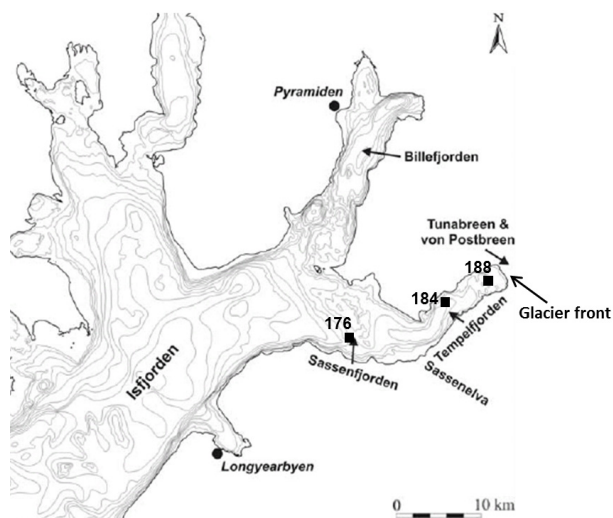


Fig. 1. Box corer sampling sites. Map of Isfjorden, Sassenfjorden, and Tempelfjorden. The stations for the analysis of library of the archaeal *amoA* gene sequences are marked with closed squares.

출은 MoBio사 (USA)의 PowerSoil™ DNA kit를 이용하여 추출하였으며, 추출된 gDNA의 농도는 ND-1000 spectrophotometer (Nanodrop Technologies, USA)를 이용하여 측정하였다. 이 gDNA를 주형으로 고세균 *amoA* 유전자의 PCR 프라이머 쌍을 이용하여 고세균 특이적인 *amoA* 유전자를 증폭하였으며, 세부적인 PCR 방법은 다음과 같다. 추출한 gDNA 1 µl와 10 pmol의 고세균 *amoA* 유전자 프라이머 쌍인 Arch-amoAF (5'-STAATGGTC TGGCTTAGACG-3')과 Arch-amoAR (5'-GCGGCCATCCAT CTGTATGT-3')(Francis *et al.*, 2005)를 각각 1 µl를 넣고 0.1 µl *EF-Taq* DNA polymerase (5 unit/µl, Solgent, Korea), 2 µl 10X PCR buffer, 1 µl dNTP을 넣고 최종 20 µl 반응 혼합물을 만들어 지도록 멸균증류수로 채웠고 이를 통해 PCR 증폭을 실시하였다: 94°C 5분간 pre-heating 과정을 거친 후 denaturation 94°C 30초, annealing 55°C 30초, extension 72°C 45초를 30 cycles 동안 수행하였고 마지막 extension을 5분간 수행하였다. 고세균 *amoA* 유전자의 클로닝 및 다양성 분석을 위하여 증폭된 PCR 산물은 PCR purification kit (Cosmogentech, Korea)로 정제하였으며, T&A Cloning Vector (T&A Cloning Vector Kit, Real Biotech Corporation, Taiwan)를 이용하여 고세균 *amoA* 유전자를 지닌 재조합된 클로닝 벡터를 *Escherichia coli* DH5α에 heat-shock 방법을 통해 형질전환하여 클로나라이브러리를 구축하였다(Park *et al.*, 2008). 고세균 *amoA* 유전자를 지닌 클론의 선별을 위해 M13 universal 프라이머 쌍인 M13F (5'-GTTTCCAGTCACG AC-3')과 M13R (5'-TCACACAGGAAACAGCTATGAC-3')를 이용하여 PCR을 수행하였으며, 산물의 크기를 확인하여 positive clone을 선별하였다. 선별된 클론들은 M13F 프라이머를 이용하여 ABI 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA)로 염기서열을 분석하였다(Cosmogentech).

이를 통하여, 전체 76개의 고세균 *amoA* 유전자 클론을 분석하였으며, 모든 서열들은 NCBI의 GenBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov>)에 등록하였다(KJ703164-KJ703238). 고세균 *amoA* 유전자의 상동성 및 계통분류를 위하여 GenBank의 데이터베이스 및 BLAST program을 이용하였으며, cutoff 95% 상동성을 기준으로 하여 대표 operation taxonomic unit (OTU)를 확보하였다(Park *et al.*, 2008). Sequence alignment는 Bioedit 프로그램 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>)을 이용하여 정렬한 후, MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) 프로그램에서 제공하는 neighbor-joining 방법을 통해 phylogenetic tree를 작성하여 계통학적 정보를 분석하였다. 각 샘플링 정점에 대한 군집의 다양성을 분석하기 위하여 OTU를 기준으로 identity matrix를 만들었으며, 이를 PAST (<http://folk.uio.no/ohammer/past>) 및 estimate S (Colwell *et al.*, 2012) 프로그램에 적용하였다. 퇴적물 유입 속도와 미생물군집간의 상관관계는 Canoco (v 4.5, Biometrics, the Netherlands) 또는 Xlstat (Addinsoft, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다. 176, 184와 188 샘플링 정점에 대한 고세균 *amoA* 유전자의 OUT (10, 11, 2), Chao1 richness estimate (12.4, 18.1, 2.0), 그리고 Shannon index (2.2, 2.2, 0.6) 등의 다양성 지수를 분석하였다. 각 샘플링 장소의 rarefaction curve는 PAST 프로그램에서 제공하는 individual-based Coleman 방법

을 사용하여 plotting을 수행하였다(Park *et al.*, 2008).

본 연구에서는 기능성유전자의 다양성을 분석하기 위하여 클론라이브러리법을 이용하였음에도 불구하고 rarefaction curve가 점근선(asymptote)에 거의 도달하는 것을 볼 수 있어 낮은 다양성을 가짐을 알 수 있었다(Fig. 2). 또한, Good coverage의 값이 70-100%로 분석되어 고세균 *amoA* 유전자의 클론라이브러리를 통하여 얻은 염기서열의 수가 적으나 분석에는 큰 문제점이 없을 것으로 판단하였다.

분석된 각 정점의 고세균 *amoA* 유전자의 다양성은 퇴적물 유입이 비교적 적은 176과 184 정점은 서로 유사하였으나, 해안에서 가장 가까운 188 정점의 경우 두 지역에 비하여 낮은 다양성이 확인되었다. 또한, 고세균의 *amoA* 유전자의 분자계통학적 분석결과 모든 서열들은 해양고세균 그룹인 thaumarchaeal I.1a 그룹에 속하며 비교적 단순한 계통학적 그룹을 형성하고 있음을 알 수 있었다. 북극 Svalbard 지역에서 고세균의 16S rRNA 유전자 분석을 통하여 고세균 군집의 다양성이 낮다는 것이 보고된 바 있다(Park *et al.*, 2011). 분석된 고세균 *amoA* 유전자 클론의 경우, 정점별로 묶이는 경향을 보이고 있었다(Fig. 3). 이는 Park 등(2008)과 Francis 등(2005)의 보고와 같이 고세균 *amoA* 유전자들이 퇴적층 생태계의 차이에 따라 서로 다른 군집을 형성한다는 것과 비슷한 결과였다. 또한, 고세균의 *amoA* 유전자 클론들의 염기 및 아미노산 서열의 평균 상동성은 약 91과 94%로 각각 분석되었으며, 아미노산 서열의 평균 상동성은 염기서열보다 높게 나타났다. 이는 동해 해양퇴적물로부터 고세균의 *amoA* 유전자의 클론라이브러리 분석결과에서도 관찰되었다(Park *et al.*, 2008). 염기서열과 더불어, 아미노산 서열의 상동성이 높다는 것은 고세균의 *amoA* 유전자의 기능이 진화적으로 매우 잘 보존되어 있다는 것을 의미한다. 위와 같은 결과를 바탕으로, AOA의 생지질학적(biogeographical) 특성은 고세균 *amoA* 유전자 분석

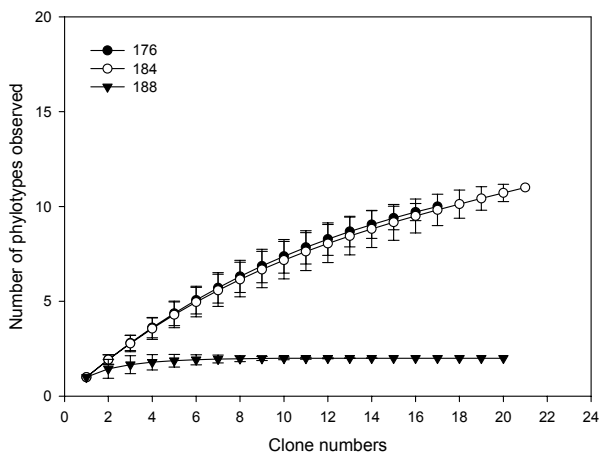


Fig. 2. Rarefaction analysis of the archaeal *amoA* gene sequences recovered from marine sediment of Svalbard, Arctic Circle. The rarefaction curve, plotting the number of observed phylotypes as a function of the number of clones, was computed by PAST. The dotted lines represent 95% confidence intervals. Phylotypes were defined as groups of sequences differing by 5% at the nucleotide sequence level.

을 통하여 가능할 것으로 판단하였다.

대표 OTU를 포함하여 전체 클론 중 약 45%가 *Nitrosopumilus* clade에 속하였으며, 염기 및 아미노산 서열의 평균 상동성은 각각 92와 97%였다(Fig. 3). 특히, 188 정점에서는 *Nitrosopumilus* clade에 속하는 고세균 *amoA* 유전자 클론을 찾을 수 없었다. 이에 비하여 비교적 낮은 염농도 혹은 토양 환경에서 분리된 *Nitrosoarchaeum* clade (Jung *et al.*, 2011; Mosier *et al.*, 2012)에 속하는 클론이 전체 클론 중 약 53%를 차지하여 188 정점의 특이성을 대변하였다. 염기 및 아미노산 서열의 평균 상동성은 각각 89와 94%였다. 이러한 결과를 토대로 해빙으로 인한 토양(담수) 물질의 영향으로 미생물 군집의 변화가 일어나고 있음을 예측할 수 있다. 또한, 토양환경에서 농화배양된 *Nitrosoarchaeum koreensis* MY1 (HQ331117) (Jung *et al.*, 2011)와 AOA_STR_24(GU561910), AOA-AC2 (JQ669392) (French *et al.*, 2012) 및 BGA-490(EU590160) 클론들이 *Nitrosoarchaeum* clade에 속하고 있는 사실로 미루어보아 해양퇴적물에 서식하는 미생물 군집이 변하고 있다는 사실을 뒷받침한다고 할 수 있다(Fig. 3). 그러나, 본 연구에서는 188 정점의 경우 해빙으로 인한 토양 미생물의 유입으로 인하여 토양고세균 그룹인 thaumarchaeal I.1b가 발견될 것으로 예상하였으나, 클론라이브러리에서 분석되지 않았다. 이는 Park 등(2008)이 동해 퇴적물로부터 고세균 *amoA* 유전자를 이용한 분석결과와는 다른 결과를 보이고 있었다. 이러한 이유로는 제작된 고세균의 *amoA* 유전자의 PCR 프라이머 쌍의 증폭범위가 낮아서 발생한 것으로 판단하였고, 모든 샘플링 지역에 대한 토양 고세균의 *amoA* 유전자를 Park 등(2008)이 제작한 I.1b 그룹의 특이적인 프라이머 쌍을 이용하여 PCR 증폭을 시도하였다. 증폭결과, 흥미롭게도 188 정점에서만 I.1b 그룹의 *amoA* 유전자가 증폭되었고, 이를 통해 188 정점이 해빙으로 인한 토양 미생물이 유입되고 있음을 예상할 수 있었다. 증폭된 I.1b 그룹의 *amoA* 유전자 서열에 대한 다양성을 분석하고자, 앞선 방법을 통하여 클론라이브러리를 제작하였다. 클론라이브러리 분석결과 188 정점의 I.1b 그룹의 *amoA* 유전자 역시 I.1a 그룹과 같이 계통학적으로 매우 단순하고 독특한 그룹을 형성하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 3). 188 정점에서 발견된 *amoA* 유전자의 경우 동해 해양퇴적물에서 발견된 JDTS14 (EF591389)(Park *et al.*, 2008)와 84% (염기서열, 아미노산 서열은 86%)의 상동성을 지니고 있음을 확인되었다(Fig. 3). 이 연구에서, 해빙에 따른 육지 퇴적물의 유입과 함께 육지에서 널리 발견되는 고세균의 염기서열이 발견되었지만, 이 고세균들이 188 정점과 같은 퇴적물 유입환경에 서식하면서 실제 암모니아 산화 및 탄소고정 등의 생태학적 기능을 유지하고 있는지에 대한 후속 연구가 필요하다고 생각된다.

북극 Svalbard 지역의 해양 생태계는, 지구온난화로 인한 해빙으로, 토양의 미생물 및 유기물들의 유입이 지속적으로 증가하고 있다. 이는 해양 퇴적층의 미생물 군집 및 이들에 의한 물질순환에도 변화를 유발할 수 있다. 본 연구에서 고세균의 *amoA* 유전자 클론라이브러리를 통하여 분석한 결과, 해빙으로 인한 퇴적층의 유입이 많은 지역의 경우 토양 및 해양에서 서식하는 암모니아 산화 고세균이 공존하는 것으로 보인다. 이는 해빙의

영향으로 해양 퇴적층 미생물 군집의 변화를 야기시켜, 퇴적층 질소 순환에 영향을 미칠 것으로 판단된다. 또한, 해빙에 의한 퇴적물의 퇴적속도와 분석된 미생물군집의 상관관계를 정준유사분석(canonical correspondence analysis) 결과(regression coefficient = 1.00)가 이를 뒷받침하는 것으로 확인되었다. 본 연구를 통하여 지구온난화에 따른 해빙 및 담수의 유입에 의한 국내외 해양 퇴적층생태계의 영향을 모니터링하기 위하여 고세균 *amoA* 유전자를 활용하여 기초정보를 제공할 수 있을 것으로 추정할 수 있었다. 앞으로 Svalbard 지역의 지속적인 모니터링을 통하여, 이 지역의 유기 및 무기 영양분의 변화 조성에 대한 정밀한 조사를 통하여 생지화학적 순환을 담당하는 미생물의 생태학적 변화에 미치는 양상을 규명할 수 있을 것이다.

적요

북극지역은 지구온난화로 인하여 생태계에 큰 영향을 받고 있다. 본 연구는 북극 Svalbard 지역에서 육지 빙하의 해빙(ice melt)의 영향을 받는 해양퇴적층에서 질산화 과정에 핵심역할을 하는 고세균의 질산화유전자(ammonia monooxygenase, AMO)의 공간적 분포의 변화를 조사하였다. 해빙으로 인한 퇴적물 퇴적속도와 고세균 AMO의 alpha subunit를 코딩하는 *amoA* 유전자와의 관계를 클론라이브러리 분석을 통하여 분석하였다. 육지와 근접하여 퇴적속도가 가장 빠른 정점(188)에서 고세균 *amoA* 유전자의 다양성이 육지에서 비교적 먼 지역의 정점(176과 184)에 비해 현저히 낮음을 알 수 있었다. 3 정점의 고세균 *amoA* 유

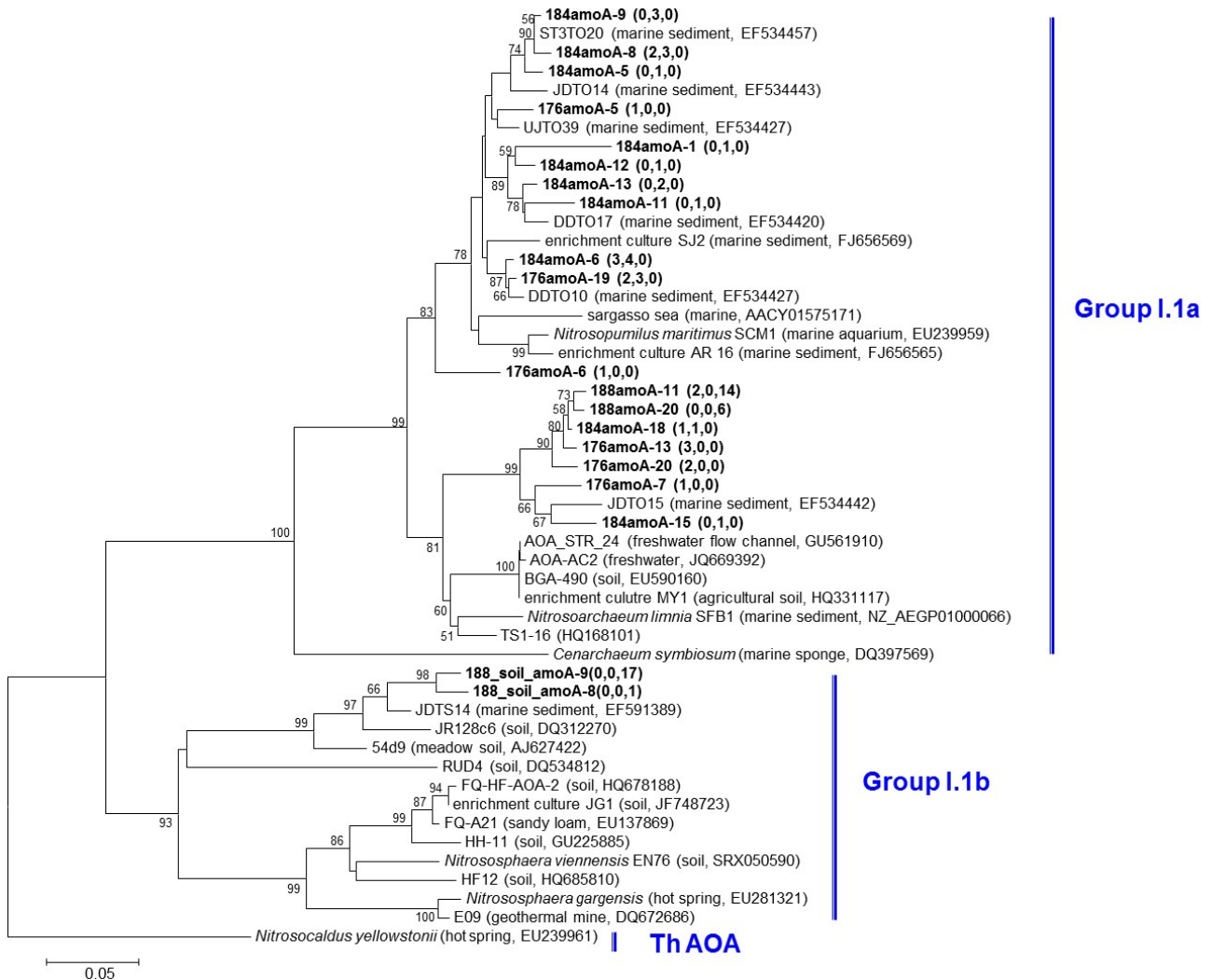


Fig. 3. Phylogenetic tree constructed from archaeal *amoA* gene sequences that were obtained from marine sediments. Phylotype names refer to the name of the sampling site (176, 184, and 188). Numbers in parentheses following the clone names indicate the number of times that the sequences were found in the clone libraries from the three sampling sites 176, 184, and 188, respectively. Clones from this study are indicated in boldface. The reference sequences were chosen to show the diversity of the sequences and to indicate the closest relatives to the sequences found in our study. Numbers at the nodes are bootstrap values obtained from 1,000 replicates. Nucleotide sequence accession numbers are shown in parentheses. Scale bar indicates 50 inferred nucleotide substitutions per 1,000 nucleotide.

전자 클론들의 평균 아미노산 서열의 상동성은 94%(염기서열 91%)로 나타났다. 176과 184 정점에서 분석된 고세균 *amoA* 유전자 클론들 중 약 45%가 *Nitrosopumilus* clade와 근연관계에 있는 반면, 188 지역의 경우 낮은 염농도에서 발견되는 *Nitrosoarchaeum* clade와 근연관계에 있는 클론들이 발견되었다. 토양 고세균 유래 *amoA* 유전자는 육지에 근접하여 해빙에 의한 영향을 가장 많이 받는 188정점에서만 발견이 되었다. 본 연구를 통하여, 해빙으로 인하여 육지로부터 운반되는 퇴적물의 양이 증가함에 따라, 해양퇴적층의 질소순환관련 미생물 군집에 변화가 유발되는 것으로 추정되며, 고세균의 *amoA* 유전자가 해양퇴적층 질소순환생태계 변화의 지표로 이용될 수 있음을 알 수 있었다.

감사의 말

이 논문은 2014년도 제주대학교 학술진흥연구비 지원사업에 의하여 연구되었습니다.

References

- Colwell, R.K., Chao, A., Gotelli, N.J., Lin, S.Y., Mao, C.X., Chazdon, R.L., and Longino, J.T. 2012. Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. *J. Plant Ecol.* **5**, 3–21.
- Dierrsens, H.M., Smith, R.C., and Vernet, M. 2002. Glacial meltwater dynamics in coastal waters west of the Antarctic peninsula. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 1790–1795.
- Forwick, M., Vorren, T.O., Hald, M., Korsun, S., Roh, Y., Vogt, C., and Yoo, K.C. 2010. Spatial and temporal influence of glaciers and rivers on the sedimentary environment in Sassenfjorden and Tempelfjorden, Spitsbergen. *Geological Society, London, Special Publications* **344**, 163–193.
- Francis, C.A., Roberts, K.J., Beman, J.M., Santoro, A.E., and Oakley, B.B. 2005. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 14683–14688.
- French, E., Kozlowski, J.A., Mukherjee, M., Bullerjahn, G., and Bollmann, A. 2012. Ecophysiological characterization of ammonia-oxidizing archaea and bacteria from freshwater. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 5773–5780.
- Hanna, E., Huybrechts, P., Steffen, K., Cappelen, J., Huff, R., Shuman, C., Irvine-Fynn, T., Wise, S., and Griffiths, M. 2008. Increased runoff from melt from the Greenland ice sheet: a response to global warming. *J. Climate* **21**, 331–341.
- Holte, B. and Gulliksen, B. 1998. Common macrofaunal dominant species in the sediments of some north Norwegian and Svalbard glacial fjords. *Polar Biology* **19**, 375–382.
- Jung, M.Y., Park, S.J., Min, D., Kim, J.S., Rijpstra, W.I., Sinninghe Damste, J.S., Kim, G.J., Madsen, E.L., and Rhee, S.K. 2011. Enrichment and characterization of an autotrophic ammonia-oxidizing archaeon of mesophilic crenarchaeal group I.1a from an agricultural soil. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 8635–8647.
- Kim, J.G., Jung, M.Y., Park, S.J., Rijpstra, W.I., Sinninghe Damste, J.S., Madsen, E.L., Min, D., Kim, J.S., Kim, G.J., and Rhee, S.K. 2012. Cultivation of a highly enriched ammonia-oxidizing archaeon of thaumarchaeotal group I.1b from an agricultural soil. *Environ. Microbiol.* **14**, 1528–1543.
- Konneke, M., Bernhard, A.E., de la Torre, J.R., Walker, C.B., Waterbury, J.B., and Stahl, D.A. 2005. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature* **437**, 543–546.
- Mosier, A.C., Allen, E.E., Kim, M., Ferreira, S., and Francis, C.A. 2012. Genome sequence of "*Candidatus Nitrosoarchaeum limnia*" BG20, a low-salinity ammonia-oxidizing archaeon from the San Francisco Bay estuary. *J. Bacteriol.* **194**, 2119–2120.
- Park, S.J., Park, B.J., Jung, M.Y., Kim, S.J., Chae, J.C., Roh, Y., Forwick, M., Yoon, H.I., and Rhee, S.K. 2011. Influence of deglaciation on microbial communities in marine sediments off the coast of Svalbard, Arctic Circle. *Microb. Ecol.* **62**, 537–548.
- Park, S.J., Park, B.J., and Rhee, S.K. 2008. Comparative analysis of archaeal 16S rRNA and *amoA* genes to estimate the abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea in marine sediments. *Extremophiles* **12**, 605–615.
- Park, B.J., Park, S.J., Yoon, D.N., Schouten, S., Sinninghe Damste, J.S., and Rhee, S.K. 2010. Cultivation of autotrophic ammonia-oxidizing archaea from marine sediments in coculture with sulfur-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 7575–7587.
- Svendsen, H., Beszczynska-Møller, A., Hagen, J.O., Lefauconnier, B., Tverberg, V., Gerland, S., Ørbæk, J.B., Bischof, K., Papucci, C., Zajackowski, M., and *et al.* 2002. The physical environment of Kongsfjorden-Krossfjorden, an Arctic fjord system in Svalbard. *Polar Res.* **21**, 133–166.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* **30**, 2725–2729.
- Treusch, A.H., Leininger, S., Kletzin, A., Schuster, S.C., Klenk, H.P., and Schleper, C. 2005. Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling. *Environ. Microbiol.* **7**, 1985–1995.
- Walker, C.B., de la Torre, J.R., Klotz, M.G., Urakawa, H., Pinel, N., Arp, D.J., Brochier-Armanet, C., Chain, P.S., Chan, P.P., Gollabgir, A., and *et al.* 2010. *Nitrosopumilus maritimus* genome reveals unique mechanisms for nitrification and autotrophy in globally distributed marine crenarchaea. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 8818–8823.
- Wilfried, H., Martin, H., and Stephan, S. 1998. Into the second century of worldwide glacier monitoring: prospects and strategies. Paris: UNESCO.