

Article

녹조류 실염주말의 유주자 방출과 배아생장에 미치는 환경요인의 영향

한수진¹ · 나연주¹ · 전다빈¹ · 김영식² · 최한길^{1*} · 남기완³

¹원광대학교 생명과학부/환경과학연구소
(54538) 전라북도 익산시 익산대로 460

²군산대학교 해양과학대학 해양생물공학과
(54150) 전라북도 군산시 대학로 558

³부경대학교 수산과학대학 자원생물학과
(48513) 부산광역시 남구 용소로 45

Effects of Environmental Factors on the Zoospore Release and Germling Growth of the Green Macroalga *Chaetomorpha linum*

Su Jin Han¹, Yeon Ju Na¹, Da Vine Jeon¹, Young Sik Kim²,
Han Gil Choi^{1*}, and Ki Wan Nam³

¹Faculty of Biological Science and Institute for Environmental Science, Wonkwang University
Iksan 54538, Korea

²Department of Marine Biotechnology, College of Ocean Science & Technology, Kunsan National University
Kunsan 54150, Korea

³Department of Marine Biology, College of Fisheries Sciences, Pukyong National University
Busan 48513, Korea

Abstract : Effects of environmental factors on the zoospore release and germling growth of *Chaetomorpha linum* were examined. Zoospore release and germling growth experiments were carried out under a combination of temperatures × irradiances, and a single factor of irradiances, salinities, daylength and nutrients (nitrogen, phosphorus). Zoospore release was maximal under condition of 20°C × 100 μmol photons m⁻²s⁻¹ in a factorial experiment (temperatures × irradiances), at 100 μmol photons m⁻²s⁻¹ in irradiance experiment and at 34 psu in salinity conditions. After 24 days in culture, germling growth was maximal at 25°C × 100 μmol photons m⁻²s⁻¹ in temperatures × irradiances and at normal seawater (34 psu) in salinity. Germling growth is faster at higher irradiance under same temperature condition and it increased with increasing daylengths (8–16 h). *Chaetomorpha linum* grew in wide range of N and P concentrations. The growth of germling was maximal at 50 μM PO₄³⁻ and 40 μM NH₄⁺. Germling growth was more effective under nitrogen addition than phosphorus addition in culture. In conclusion, optimal environmental conditions for zoospore release were 20°C, 100 μmol photons m⁻²s⁻¹, and 34 psu. In addition, the optimal germling growth was observed at 25°C, 100 μmol photons m⁻²s⁻¹, 34 psu, 16 h, 50 μM (PO₄³⁻) and 40 μM (NH₄⁺).

Key words : *Chaetomorpha linum*, growth, nutrient, temperature, zoospore release

*Corresponding author. E-mail : hgchoi@wku.ac.kr

1. 서론

산업화와 인구증가로 인하여 하구와 연안생태계는 부영양화와 환경오염이 심화되었으며, 이로 인하여 해양생물의 서식처와 종다양성은 지속적으로 감소되고 있는 실정이다(Bricker et al. 2008; Chan et al. 2008; Howarth et al. 2011; Fan et al. 2014). 부영양 혹은 교란된 연안해역에서 녹조류인 갈파래류(*Ulva* spp.), 염주말류(*Chaetomorpha* spp.), 대마디말류(*Cladophora* spp.)와 청각류(*Codium* spp.) 등 기회종이 대량으로 발생하는 것을 녹조대발생(green tide)이라고 하며, 이러한 종은 영양염 흡수율이 높고 빠른 성장을 보이는 특성을 가지며(Yabe et al. 2009; Gao et al. 2013; Zhang and Shao 2013; Zhang et al. 2013; Tsutsui et al. 2015), 이러한 녹조대발생은 아시아와 유럽을 포함한 많은 나라에서 보고되고 있다(Taylor et al. 2001; Hiraoka and Oka 2008; Choi et al. 2010; Ye et al. 2011; Gao et al. 2014).

녹조류 갈파래강(Ulvophyceae), 대마디말과(Cladophoraceae)에 속하는 염주말속(*Chaetomorpha* spp.) 해조류는 전 세계적 분포를 보이며, 배우체와 포자체가 세대교번하는 생활사를 가진다. 염주말류에서 대발생을 일으키는 몇 종은 매트 형성으로 대기와 해양 사이에 생물학적 장벽을 형성하여 광투과 억제, 저산소증(혹은 산소 결핍)으로 해조류의 군집구조 단순화와 종다양성 감소를 초래하고 다른 해양생물의 성장, 생식 및 종다양성 감소를 가져온다고 하였다(Xu and Lin 2008; Nelson et al. 2010; Deng et al. 2011a; Renjun et al. 2013; Gavio and Mancera-Pineda 2015; Jeon et al. 2015). 한 예로, 호주와 뉴질랜드가 원산지인 *Chaetomorpha valida*는 중국의 Dalian 해안에 유입되어 봄·여름에 대발생을 일으켰고 산둥성의 Rongchent에서는 2008년에 대량으로 번무하여 전복과 해삼의 성장을 억제하고 수질을 악화시켜 막대한 경제적 손실을 가져온 유해종이 되었다(Chi et al. 2009; Deng et al. 2011a, 2011b, 2012, 2013). 또한, 유럽, 북아메리카와 중국 등 세계 많은 나라의 강과 바다에서 관찰되는 실염주말(*Chaetomorpha linum*)은 주로 여름과 가을에 대량 발생하여 해양환경을 오염시키는 것으로 알려져 있다(Taylor et al. 2001; Menéndez 2005; Ajjabi and Chouba 2009; Gao et al. 2013, Gavio and Mancera-Pineda 2015).

본 연구에 이용된 실염주말은 사분포자체에서 방출한 유주자가 배우체로 성장 및 성숙하여 방출한 암수 배우자가 접합하여 포자체로 성장하는 생활사를 가지는 것으로 알려져 있으며(Deng et al. 2011a), 무생물적 환경(온도, 광도, 영양분, 염분)과 생물적 환경(초식과 경쟁)에 광범위한 내성을 가졌으며, 빠른 성장을 보이는 기회종으로 특히 부영양화 해역에서 다른 종에 비해 빠른 성장을 보

였다(McGlathery and Pedersen 1999; Tyler et al. 2001; Menéndez 2005; Bischof et al. 2006; Xu and Lin 2008). 일반적으로 해조류의 배아는 성체에 비해 무생물 및 생물적 요인에 빠른 반응을 보이고, 광을 차단하는 성체가 제거되면 빠르게 성장하는 것으로 알려져 있으나, 대발생 원인종인 실염주말에 대한 선행연구는 성체에 집중되어 있으며, 배아에 관한 연구는 미흡한 실정이다(Hoffmann and Santelices 1991; Lotze et al. 2000; Cordi et al. 2001; Sousa et al. 2007).

우리나라에서 실염주말은 해역의 부영양화를 유발하는 어·패류 양식장이 대규모로 조성되어 적조가 빈번하게 발생하는 동·남해안에 생육하므로 향후 대발생을 일으킬 수 있는 잠재적인 종이라고 볼 수 있다. 따라서, 본 연구의 목적은 녹조대발생의 원인종인 실염주말의 유주자 방출 및 배아 성장에 환경요인이 미치는 영향을 연구하여 녹조대발생의 원인을 파악하고 예방할 수 있는 기초적인 자료를 제공하는 것이다.

2. 재료 및 방법

유주자 방출과 환경요인

환경요인이 실염주말의 유주자 방출에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 미성숙한 실염주말 염체를 경남 통영시 평립(34°51'N, 128°22'E)에서 2014년 6월에 채집하여 현장에서 해수와 함께 지퍼백에 넣고 아이스박스에 담아 실험실로 운반하였다. 운반된 염체에서 착생 동·식물과 불순물을 제거하고 유회용 붓과 여과해수(0.45 μm)를 사용하여 수회 세척한 후 실험에 사용되었다. 세척한 실염주말 염체(습중량 1g)는 슬라이드글라스(slide glass) 조각(2.5×2.5 cm)이 바닥에 깔린 Petri dish(Ø 12 cm)에 멸균해수(150 mL)와 함께 넣고 연속광으로 세팅된 배양기에서 온도, 광도 및 염분별로 유주자 방출을 유도하였다. 배양액으로 사용된 멸균해수는 34 psu였고 3일 간격으로 전량 교체하였다. 착생하지 않은 현미경적 크기의 유주자를 계수하는 어려움 때문에 유주자 방출량은 실험개시 6일 후 슬라이드글라스 조각에 착생된 배아(germlings mm⁻²)를 광학현미경(Olympus, BX53F, Japan)하에서 계수하였으며, 실험구별로 3개의 반복구를 두었다.

실염주말 유주자 방출 실험은 우리나라 연안의 수온변화와 광도를 고려하였으며, 온도와 광도의 조합은 5개 온도(10, 15, 20, 25, 30°C)와 2개 광도(50, 100 μmol photons m⁻²s⁻¹), 그리고 연속광으로 배양기를 세팅하였으며, 멸균해수에서 6일 동안 실험하였다. 광도구배는 배양기 내의 광원인 형광등과 Petri dish의 간격을 조절하여 만들었으며, 디지털 조도계(Takemura, DX-200, Japan)로 측정하여 광도로 변환(1 μmol photons m⁻²s⁻¹ = ca. 51.17 Lux) 하였

다(Olla et al. 2000). 광도가 실염주말의 유주자 방출에 미치는 영향은 4개 광도(80, 100, 120, 140 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)와 동일한 온도(20°C)로 조절된 배양기에서 6일 동안 실험하였으며, 평균 해수의 염분(34 psu)은 동일하였다. 또한, 해수의 염분농도가 실염주말의 유주자 방출에 미치는 영향은 5개 염분농도(26, 30, 34, 38, 42 psu)에서 6일 동안 실시되었으며, 이때 온도와 광도는 20°C와 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 동일하였다. 정상해수(34 psu)에 비해 저염 농도(26, 30 psu)는 평균해수에 3차 증류수를 혼합하여 만들었고, 고염 농도(38, 42 psu)는 천일염을 녹여 조절하였으며, 염분계(Atago, S/Mill, Japan)로 측정 및 확인하였다.

배아 성장과 환경요인

환경요인이 실염주말의 배아생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 실염주말 엽체는 경남 통영시 평립에서 2014년 10월(온도, 염분 실험), 2015년 2월(광도 실험)과 5월(일장, 영양염 실험)에 채집되었고, 현장에서 해수가 담긴 지퍼백에 넣고 아이스박스과 함께 실험실로 운반하여 세척한 후 실험에 사용되었으며, 실험에 사용된 실염주말은 미성숙하여 채집 시기에 따른 차이는 없었다. 세척된 실염주말은 연속광인 배양기에서 온도(20°C), 광도(100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 염분(34 psu)을 일정하게 유지시켜 유주자 방출을 유도하였으며, 실험 개시 6일 후 평균해수(15 mL)가 담긴 Petri dish (\varnothing 5 cm)에 배아가 착생된 슬라이드글라스 조각 1개를 넣어 다양한 환경조건에서 실험하였다. 규조류의 생장은 산화게르마늄(GeO_2 , 5 mgL^{-1})을 평균해수에 첨가하여 억제하였고, 배양액은 4일 간격으로 전량 교체하였다. 배아는 배양 개시 12일과 24일 후에 광학현미경(Olympus, BX53F, Japan)에 부착된 디지털카메라로 촬영한 후 Image J 프로그램(1.48v, National Institute of Health, USA)을 이용하여 길이를 측정하였고, 상대성장률(RGR, relative growth rate)을 아래의 식으로 계산하였다(Serisawa et al. 2002).

$$\text{RGR} (\% \text{ day}^{-1}) = 100 (\ln L_2 - \ln L_1) / T_2 - T_1$$

L_2 는 배양 종료 시 배아길이, L_1 는 배양 개시 때의 배아길이, $T_2 - T_1$ 는 배양일 수(day)를 나타낸다. 배아 성장 실험에서는 조건별로 3회 반복구를 두었으며, 반복구별로 30개의 배아 길이를 측정하였다.

온도와 광도 조합이 실염주말의 배아 성장에 미치는 영향을 파악하기 위하여 5개의 온도(10, 15, 20, 25, 30°C)와 2개의 광도(50, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)로 조절된 배양기에서 24일 동안 배양하였으며, 일장(12 h)과 염분(34 psu)은 동일하게 유지시켰다. 광도에 대한 실염주말 배아의 생

장 실험은 4개의 광도(80, 100, 120, 140 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)로 조절된 배양기에서 24일동안 실시되었으며, 이때 온도(25°C), 염분(34 psu)과 일장(12 h)은 동일하였다. 또한, 염분 농도가 배아 성장에 미치는 영향은 5개 농도(26, 30, 34, 38, 42 psu)에서 실험하였고 배양기의 온도(25°C), 광도(100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)와 일장(12 h)은 동일하게 유지하였다. 배아생장 실험은 24일 동안 실시되었으며, 배양액은 3일 간격으로 전량 교체하였다.

일장이 실염주말의 배아생장에 미치는 영향은 3개의 일장(8, 12, 16 h)으로 조절된 배양기에서 확인하였으며, 이때 온도(25°C)와 광도(100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)는 일정하게 유지하였다. 배양액의 염분은 모두 34 psu였으며, 배아는 24일 동안 배양한 후 12일 간격으로 길이를 측정하였다. 영양염인 인산염(PO_4^{3-})과 암모늄(NH_4^+)의 농도가 실염주말의 배아생장에 미치는 영향을 파악하기 위하여, 실염주말 성체에서 유주자를 방출 및 착생시켜 평균해수(150 mL)가 들어있는 Petri dish (\varnothing 12 cm)에 옮긴 후 25°C, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 16 h 조건에서 36일 동안 배양하였다. 배양 36일이 경과된 길이가 0.94 ± 0.13 mm (mean \pm SE, n = 150 germlings)인 배아를 인산염 5개 농도(0, 10, 20, 50, 100 μM)와 암모늄 5개 농도(0, 5, 10, 40, 80 μM)를 가진 배양액에서 6일 동안 배양하였으며 3회 반복구를 가지고 실험하였다. 인산염과 암모늄에서 0 μM 의 농도는 대조구로 사용된 저영양염해수(low nutrient seawater, OSIL, LNS23, UK)이고 다른 인산염과 암모늄 농도는 저장용액(stock solution, 10 mM)을 저영양염 해수로 희석하여 사용하였다. 저영양염해수는 질산염(nitrate), 아질산염(nitrite), 인산염(phosphate)이 < 0.1 μM 이고 규산염(silicate)이 < 0.3 μM 이하인 인공해수이다. 인산염의 저장용액(stock solution, 10 mM)은 저영양염해수(100 mL)에 0.119 g의 NaH_2PO_4 (Sigma Co., USA)를 녹였고, 암모늄의 저장용액은 저영양염해수(100 mL)에 NH_4Cl (0.054 g)을 첨가하여 만들었다. 배아의 성장실험은 실험 개시 전과 동일한 온도, 광도와 일장에서 수행되었으며, 배양액은 2일 간격으로 전량 교체하였고 배양개시 6일 후 반복구별로 15개의 배아 길이를 측정하여 상대성장률을 계산하였다.

통계분석

다양한 환경요인(온도, 광도, 염분, 일장, 영양염)이 실염주말의 배아 성장에 미치는 영향을 파악하기 위하여, 통계분석은 Cochran's test로 등분산검정(homogeneity of variances)을 실시하여 데이터의 동질성을 확인한 후, two-way ANOVA test(온도-광도 조합)와 one-way ANOVA test(단일환경요인)로 유의차를 검정하였고, 평균에 대한 유의차가 발견되면 Tukey's HSD test 방법으로 사후 검정

을 실시하였으며(Sokal and Rohlf 1995), 데이터 분석을 위해 사용된 통계 프로그램은 STATISTICA version 5.0 이었다.

3. 결 과

온도, 광도 및 염분별 유주자 방출

실염주말은 실험 개시 4일 후에 유주자를 형성하였으며, 유주자 방출은 10–25°C의 온도 범위에서 가능하였고, 모든 온도 실험구에서 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에 비해 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 착생된 배아가 많았으며, 30°C에서는 염체가 미성숙하여 유주자가 형성되지 않았다 (Table 1). 착생된 배아는 20°C의 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 288.33 ± 18.32 germlings mm^{-2} (n = 3)로 가장 많았고, 10°C의 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 1.87 ± 0.07 germlings mm^{-2} 로써 최소였다. 따라서, 실염주말의 유주자 형성 및 방출을 위한 최적 온도는 20°C였으며, 동일한 온도에서는 광도가 높을 때 더 많은 유주자가 방출된 것으로 확인되었다(Table 1).

실염주말의 유주자 방출은 20°C의 모든 광도(100–160 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서 일어났으며, 광도가 증가하면 착생된 배아 수는 감소하였다. 실염주말의 배아 수는 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 261.81 ± 14.92 germlings mm^{-2} 로써 최대였고 160 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 19.33 ± 2.14 germlings mm^{-2} 로 최소로 나타남으로써 유주자 방출을 위한 최적 광도는 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 확인되었다.

또한, 실염주말의 유주자는 25°C의 모든 염분 실험구 (26–42 psu)에서 형성 및 방출되었으며, 착생된 배아는

34 psu에서 84.68 ± 1.08 germlings mm^{-2} 로 가장 많았고, 42 psu에서 5.72 ± 0.04 germlings mm^{-2} 로써 최소였다. 실염주말의 유주자 방출을 위한 해수의 최적 염분농도는 34 psu의 정상해수였으며, 저염분(26, 30 psu)에 비해 고염분인 42 psu에서 유주자 방출은 상대적으로 억제되었다.

환경 조건별 배아 성장

성숙한 실염주말의 성체에서 방출된 유주자는 1일 이내 슬라이드글라스 조각의 표면에 착생하였으며, 성장 실험 개시 전에 착생된 배아의 길이는 5.51 ± 0.04 μm (mean \pm SE, n = 150)였다. 배아는 10–30°C의 다양한 온도에서 성장하였으며, 배양 12일 후에 배아길이는 26.05–53.05 μm 였고, 24일 후에는 42.18–133.51 μm 로써 25°C의 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 최대생장을 보였으며, 10°C의 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 최저생장을 보임으로써 최적 성장 온도는 25°C로 확인되었다(Table 2). 실험 기간 동안, 저온인 10°C와 15°C에서는 광도에 따른 성장 차이가 없었으나, 온도가 상승할수록 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에 비해 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 빠른 성장을 보임으로써 동일한 온도조건에서는 고광도에서 생장이 빠른 것으로 나타났다. 실염주말 배아의 상대성장률은 배양 12일 후 16.96–26.56% day^{-1} 였고, 24일 후에 8.48–13.28% day^{-1} 로써 25°C와 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 조합에서 최대값을 보였다(Table 2). 배아 생장은 온도와 광도 실험구에 대하여 유의차를 보였으며, 온도와 광도의 상호작용에도 영향을 받는 것으로 확인되었다(Table 3).

실염주말의 배아는 80–140 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광도에서 성장하였으며, 성장을 위한 최적광도는 100 μmol

Table 1. Effects of temperature and irradiance on the zoospore release examined with number of settled germlings (mm^{-2}) of *Chaetomorpha linum* fronds. Data represent mean \pm SE (n = 3 replicates)

Irradiance ($\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Temperature (°C)				
	10	15	20	25	30
50	1.87 ± 0.07	7.73 ± 0.47	280.20 ± 12.43	63.80 ± 4.63	–
100	23.27 ± 9.95	34.07 ± 1.03	288.33 ± 18.32	152.00 ± 12.94	–

–, No zoospore

Table 2. Relative growth rate (RGR, % day^{-1}) of *Chaetomorpha linum* germlings cultured under various temperature and irradiance levels for 12 and 24 days. Culture conditions were 34 psu and 12:12 h LD. Data represent mean \pm SE (n = 3 replicates)

Irradiance ($\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Culture period (day)	Temperature (°C)				
		10	15	20	25	30
50	12	16.96 ± 0.12	19.13 ± 0.18	21.68 ± 0.14	23.99 ± 0.16	19.92 ± 0.14
	24	8.48 ± 0.15	9.57 ± 0.14	10.84 ± 0.17	12.00 ± 0.19	9.96 ± 0.18
100	12	17.50 ± 0.11	19.39 ± 0.16	23.63 ± 0.18	26.56 ± 0.17	23.69 ± 0.15
	24	8.75 ± 0.13	9.69 ± 0.15	11.82 ± 0.15	13.28 ± 0.14	11.85 ± 0.17

Table 3. Results of two-way ANOVAs for RGR of *Chaetomorpha linum* germlings which were grown under different temperature and irradiance levels for 12 and 24 days

Factors	Day 12				Day 24			
	df	MS	F	p	df	MS	F	p
Temperature (T)	4	20.298	231.01	< 0.001	4	2.575	56.98	< 0.001
Irradiance (I)	1	6.093	69.35	< 0.001	1	1.544	34.17	< 0.001
T × I	4	0.445	5.07	< 0.01	4	0.394	8.72	< 0.001
Error	20	0.087			20	0.045		

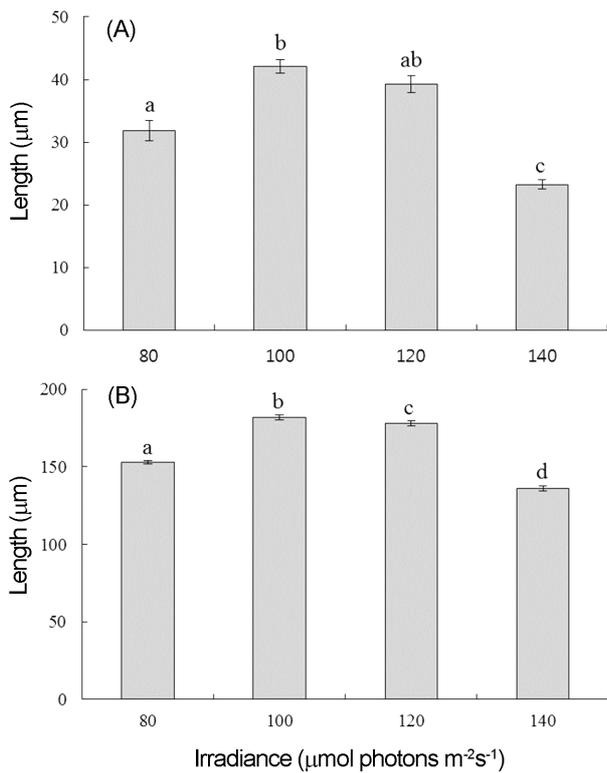


Fig. 1. Average lengths of *Chaetomorpha linum* germlings grown for 12 days (A) and 24 days (B). Germlings were cultured under 25°C, 34 psu and 12:12 h LD. Vertical bars indicate standard errors (n = 3 replicates). Different letters indicate significant group of mean found with the Tukey HSD test

photons m⁻²s⁻¹로 나타났다. 배양 12일 후, 배아의 길이는 100 μmol photons m⁻²s⁻¹에서 42.66 ± 1.09 μm로 최대였고($F_{3,8} = 276.41$, $p < 0.001$), 100과 120 μmol photons m⁻²s⁻¹를 제외한 모든 광도에서 배아생장은 실험 개시의 길이에 비해 4–8배 이상 증가하였으며(Fig. 1A), 상대성장률은 11.99–17.05% day⁻¹였다. 배양 24일 후, 배아길이는 136.11–181.96 μm(상대성장률, 11.64–15.40% day⁻¹)로써 100 μmol photons m⁻²s⁻¹에서 최대였고 140 μmol photons m⁻²s⁻¹에서 최소였으며, 광도가 120 μmol photons m⁻²s⁻¹인 실험구에서 배아길이는 177.99 ± 2.49 μm로써

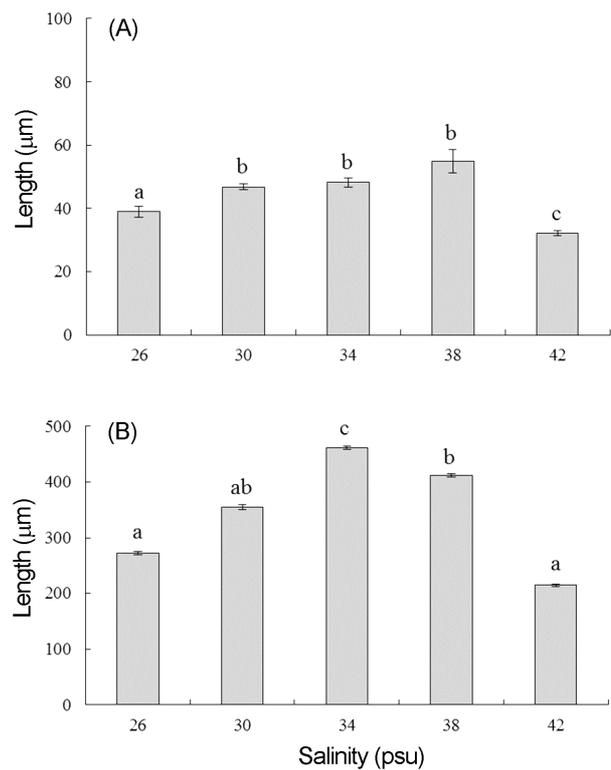


Fig. 2. Average lengths of *Chaetomorpha linum* germlings grown for 12 days (A) and 24 days (B). Germlings were cultured under 25°C, 100 μmol photons m⁻²s⁻¹ and 12:12 h LD. Vertical bars indicate standard errors (n = 3 replicates). Different letters indicate significant group of mean found with the Tukey HSD test

100 μmol photons m⁻²s⁻¹ 조건과 유사하였고, 모든 광도 조건에서 유의차가 나타났다($F_{3,8} = 75.36$, $p < 0.001$, Fig. 1B).

실험주말의 배아 생장은 배양 24일 후에 34 psu에서 최대였고 고염분인 42 psu에서는 연구기간 동안 최저 생장을 나타냈다. 12일 후 배아의 길이는 33.86–54.96 μm였고 상대성장률은 14.70–19.13% day⁻¹로써 염분 농도에 따른 성장 차이를 보였으나, 3가지 염분 농도(30, 34, 38 psu)에서 통계학적 유의차가 없었다($F_{4,10} = 50.27$, $p < 0.001$,

Fig. 2A). 또한, 배양 24일 후 배아길이는 239.40–461.01 μm 였으며 상대성장률은 15.40–18.82% day^{-1} 로서 염분별로 차이가 있음을 확인하였고($F_{4,10}=32.69$, $p<0.001$, Fig. 2B), 34 psu에서 최대생장을 보였고 염분이 감소하거나 증가했을 때 생장은 감소하였으며, 26, 30, 42 psu에서는 배아생장에 대한 통계적 유의차가 없었다.

실험주말의 배아는 8–16 h의 일장에서 성장하였으며, 16 h에서 최대생장을 보임으로써 단일조건에 비해 장일조건에서 빠른 성장을 보였다(Fig. 3). 배아 길이는 배양 12일 후 16 h에서 $73.06 \pm 1.33 \mu\text{m}$ (상대성장률, 17.56–21.53% day^{-1})로써 최대였고 일장에 따른 성장 차이는 16 h > 12 h > 8 h 순으로 나타났으며(Fig. 3A), 장일조건에서 생장이 빠른 것으로 나타났다($F_{2,6}=105.22$, $p<0.001$). 배양 24일 후, 실험주말 배아의 길이는 126.30–421.82 μm (상대성장률, 8.54–14.61% day^{-1})로써 16 h에서 최대였고 8 h에서 최소였으며, 단일조건(8 h)에 비해 중·장일조건(12, 16 h)에서 약 4배 빠르게 성장하여 일장에 따른 성장 차이가 확인되었다($F_{2,6}=163.67$, $p<0.001$, Fig. 3B).

실험 개시 전 배아의 길이는 $0.94 \pm 0.13 \text{ mm}$ (mean \pm SE, $n=150$)였고, 배양 6일 후 인산염을 첨가한 실험구에

서 배아길이는 1.49–2.02 mm였다. 상대성장률은 7.67–12.63% day^{-1} 였고, 50 μM 에서 배아 생장이 다른 농도에 비해 빠르게 나타났지만($F_{4,10}=5.28$, $p<0.01$, Fig. 4A), 다른 농도에서의 성장률과는 유의차가 없었다. 또한, 배아 생장은 인산염 농도가 0–50 μM 까지는 증가하였으나 100 μM 에서는 오히려 감소되어 고농도 인산염에서는 생장이 억제됨이 확인되었으며, 실험 종료 후, 대조구(0 μM)를 제외한 모든 농도(10–100 μM)에서 성장하였던 배아는 탈색되었다. 암모늄이 첨가된 배양액에서 6일 후 실험주말 배아길이는 1.76–5.85 mm였고 상대성장률은 10.34–30.40% day^{-1} 로써 대조구(0 μM)에서 최소였으며, 40 μM 농도에서 최대로서 암모늄 농도에 따른 성장 차이를 보였다($F_{4,10}=544.69$, $p<0.01$, Fig. 4B).

결론적으로, 실험주말 배아의 생장은 대조구(0 μM)에 비해 인산염(10–100 μM) 혹은 암모늄(4–80 μM) 첨가구에서 빠른 것으로 나타났다. 배아의 길이는 최대생장이 일어난 인산염 농도(50 μM)에서 $2.02 \pm 0.13 \text{ mm}$ 였고, 암모늄 농도(40 μM)에서 $5.85 \pm 0.10 \text{ mm}$ 로서 실험주말 배아는 인산염에 비해 암모늄이 첨가될 때 약 3배 빠르게 성장하는 것으로 확인되었다.

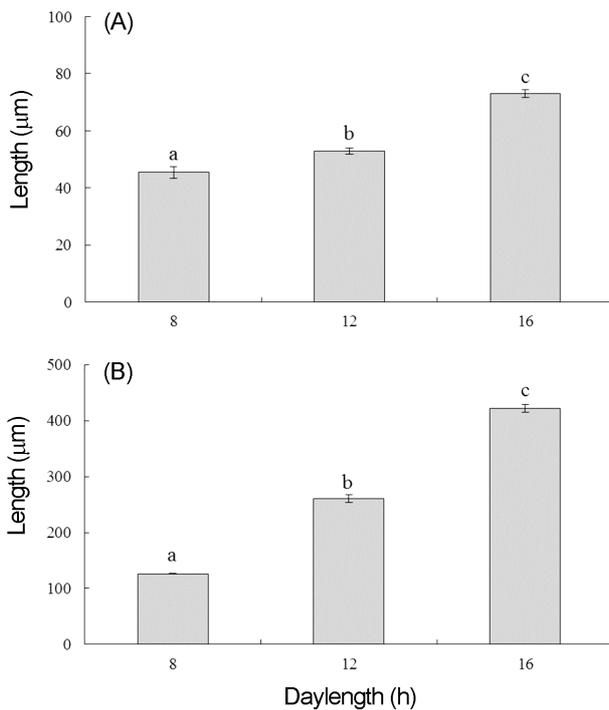


Fig. 3. Average lengths of *Chaetomorpha linum* germlings grown for 12 days (A) and 24 days (B). Germlings were cultured under 25°C, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and 34 psu. Vertical bars indicate standard errors ($n=3$ replicates). Different letters indicate significant group of mean found with the Tukey HSD test

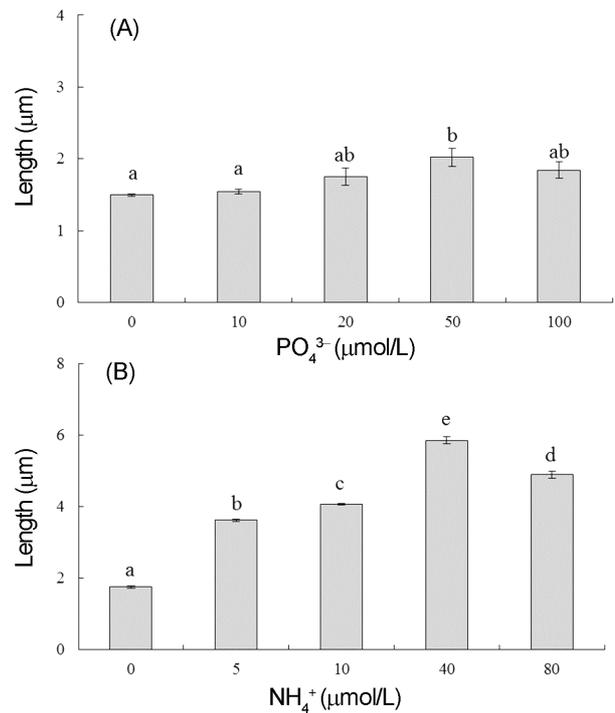


Fig. 4. Average lengths of *Chaetomorpha linum* germlings grown in PO_4^{3-} (A) and NH_4^+ (B) for 6 days. Germlings were cultured under 25°C, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 34 psu and 16 h. Vertical bars indicate standard errors ($n=3$ replicates). Note different scales. Different letters indicate significant group of mean found with the Tukey HSD test

4. 고찰

유주자 형성 및 방출

해조류의 초기 생활사 단계에 있는 유주자(혹은 포자)의 형성, 방출 및 가입된 배아의 수는 기회종의 번무에 매우 중요한 역할을 하며, 동일종에서도 생활사 단계(배아, 성체)에 따라 환경요인이 생장 및 성숙에 미치는 영향이 다른 것으로 알려져 있다(Callow and Callow 2000; Kim et al. 2005, 2007; Martins et al. 2008). 본 연구에서 미성숙한 실험주말 엽체가 20°C, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 34 psu와 연속광 조건의 멸균 해수에서 배양 4일 후에 유주자가 형성되었다. 선행연구에 의하면, *Ulva australis* (= *U. pertusa*)의 유주자는 20°C, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 조건에서 배양 2-3일 후에 형성되었으며(Hiraoka and Enomoto 1998), *Ulva spinulosa*는 20°C의 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 배양 3일 후에 형성되었다(Hiraoka et al. 2003). 또한, *Ulva fasciata*는 최적환경(25-30°C, 15 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 15 psu)에서 배양 2일 후에 유주자가 100% 형성되었으며, 다른 조건(25-35°C, 20-30 psu)에서는 배양 6일 후에 80-100% 정도 형성되었다(Mantri et al. 2011). 본 연구에서는 다양한 조건하에서 실험주말의 유주자 형성기간을 정량화하지는 않았지만, 다른 종의 유주자 형성기간(2-3일)과 마찬가지로 비교적 짧은 4일 이내에 유주자가 형성됨을 확인할 수 있었다.

본 연구에서 실험주말의 유주자 방출량은 배양 6일 후에 고온(20, 25°C)과 증광도 조건(100, 120 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서 저온(10, 15°C)과 고광도(140, 160 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)보다 상대적으로 많았으며, 34 psu의 정상해수에서 다른 염분(26, 30, 38, 42 psu)에 비해 높게 나타났다. 배아의 착생 밀도는 20°C의 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 288.33 germlings mm^{-2} 으로 최대였다. 그러나 Castelar et al. (2014)은 21°C, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 와 35 psu의 실험 조건에서 로프(1 m)에 부착된 갈파래류(*Ulva* spp.)의 포자수가 약 800개였는데, 고광도(200 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 조건에서는 포자수가 3,000여개 정도로 약 4배 증가하였다고 하여 본 연구와는 상반된 결과를 보였다. 그러나, 실험 방법이 달라 직접적으로 비교하기는 곤란하지만 *Ulva flexuosa*(=*Enteromorpha flexuosa*)의 유주자 착생 밀도는 20과 25°C에서 다른 온도(10, 15, 30°C)에 비해 현저하게 높은 것으로 확인되어(Imchen 2012a), 본 연구 결과와 유사하였다.

종합적으로 실험주말은 부착기질과 측정방법의 차이로 인해 유주자 부착밀도에 대한 직접적인 비교는 어려우나, 유주자 형성은 녹조대발생을 일으키는 대표종인 구멍갈파래(*Ulva australis*)와 유사한 환경에서 일어나고, 비교적 단기간에 다량의 유주자를 형성하고 방출한다는 것을 확인하였다. 선행연구에 의하면 녹조대발생을 일으키는 해조류의 유주자(혹은 포자)는 환경조건 및 종에 따른 차이가 있지만 명확한 계절성을 보이는데, 대부분 봄에 다량의 유주자가 방출되어 부착된 후 여름에 번무하여 녹조대발생이 나타나며, 가을과 겨울에는 포자은행(propagule bank)을 형성하여 생존한 후 다음해 봄에 다시 생장을 한다고 하였다(Schories 1995; Lotze et al. 1999, 2000). 따라서, 본 연구에 사용된 실험주말의 채집지인 통영의 2015년 연중 수온과 염분으로 추정해 볼 때(Table 4), 늦은 봄(5-6월)에 다량의 유주자가 방출되어 축적된 후 여름과 가을철에 성체의 급속한 생물량 증가로 이어질 가능성도 충분할 것으로 예상된다. 향후 수온이 급격히 낮아지는 겨울철(12월-2월)과 같은 극한의 환경조건에서 실험주말의 유주자 생존과 생장에 대한 추가 실험이 수행된다면 녹조대발생과 초기 생활사 단계에서의 상관관계를 좀더 정확하게 파악할 수 있을 것으로 사료된다.

배아 생장

해조류의 생장과 발생에 있어 온도와 광도는 중요한 환경인자이며, 초기 생활사 단계의 배아는 성체에 비해 환경변화에 더 민감하게 반응하는 것으로 알려져 있다(Sousa et al. 2007; Fu et al. 2008; Xu and Lin 2008). 본 연구 결과, 실험주말 배아는 저온(10, 15°C)에 비해 고온(20, 25, 30°C)에서 그리고 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에 비해 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 빠른 생장을 보였으며, 특히 25°C의 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 최대생장을 보임으로써 주생장시기는 여름과 가을철로 생각된다. 선행연구에서 엽주말류의 성체는 대부분의 갈파래류에 비해 비교적 높은 온도(33-35°C)와 광도(108-400 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서 생장이 가능하였으며(Table 5), 배아 생장의 경우, *Ulva flexuosa*는 20-25°C와 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서(Imchen 2012b), *Enteromorpha* sp.는 20°C와 90 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서(Sousa et al. 2007), 빠르게 생장하여 본 연구결과와 유사하게 나타났다. 엽주말속의 한 종인 *Chaetomorpha firma*의 배아는 2-25 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 저광도에서 생장하고, 고광도인 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Table 4. Seasonal changes in average seawater temperature and salinity of Tongyeong, Gyeongnam, Korea in 2005

Environment	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec
Temperature (°C)	8.6	12.7	16.9	19.8	23.2	25.9	25.6	22.7	17.7	11.9
Salinity (psu)	34.6	33.6	32.5	32.5	31.5	30.9	30.4	31.0	31.9	32.9

$m^{-2}s^{-1}$ 에서는 성장하지 않는다고 하였는데(Santelices et al. 2002), 본 연구에서 실험주말은 *C. firma*에 비해 폭 넓은 환경조건에서 배아의 생장이 가능하였으며, 특히 고온(25–30°C)과 고광도(120–160 $\mu mol photons m^{-2}s^{-1}$)에서는 성체의 성장률(7.52–21.00% day^{-1})에 비해(Taylor et al. 2001) 높은 성장률(13.47–26.56% day^{-1})을 보여 늦은 봄에 유주자가 대량으로 방출되고 봄과 여름철에 배아가 빠르게 성장하여 높은 생물량을 나타낼 것으로 보여진다.

본 연구에서 염분에 따른 실험주말 배아의 생장은 26–42 psu의 범위에서 나타났으며, 최대 생장은 배양 12일까지는 34 psu에 비해 약간 높은 38 psu에서 일어났으나 유의차는 없었으며, 24일 후에는 평균해수(34 psu)에서 일어났다. 염주말류 해조류 생장의 최적 염분은 *Chaetomorpha indica*가 20 psu(de Paula Silva et al. 2008), *Chaetomorpha* sp.가 30 psu(Tsutsui et al. 2015), 그리고 실험주말은 27 psu(Taylor et al. 2001)와 35 psu로서(Xu and Lin 2008), 염주말류 성체는 34 psu 이하의 저염분을 선호하는 것으로 보이며, 다른 녹조류에 비해 폭 넓은 염분에 내성을 갖는 것으로 확인되었다(Table 5). 또한, 실험주말 배아와 성체의 생장은 서식처 환경에 따라 최적 염분조건이

다름으로써 서식지의 염분 농도에 빠른 적응력을 가지는 것으로 사료된다.

Santelices et al. (2002)은 갈파래류(*Ulva rigida*, *U. confervoides*, *U. compressa*)의 배아 생장이 일장과 정비례적인 관계를 보인다고 하였는데, 본 연구에서도 실험주말 배아가 단일(8 h)에 비해 중일(12 h)과 장일(16 h) 조건에서 빠른 성장을 보였고, 16 h에서 최대생장을 보였다. 선행연구에서는 녹조류의 대부분 실험이 장일조건(14–16 h)에서 이루어졌는데(Table 5), 이것은 연안지역에서 해조류의 번무가 나타나는 시기인 봄과 여름철(5월–9월)의 일장(11.5–14.5 h)과 유사하였다(Choi 1996; Choi et al. 2008).

실험주말 배아는 저염양염 해수에 비해 인산염(PO_4^{3-})이나 암모늄(NH_4^+)을 첨가한 실험구에서 빠른 성장을 보였으며, 인산염에 비해 암모늄을 첨가할 때 생장이 촉진되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Taylor et al. (2001)의 실험주말 성체 실험에서 인산염과 질산염(NO_3^-)을 첨가한 배양액 보다 암모늄만 첨가한 배양액에서 생장이 증가하였다는 것과 유사하다. 이외에도 *Cladophora vagabunda*의 생장은 고농도의 암모늄에서 촉진된다고 하였으며

Table 5. Environmental factors (temperatures, irradiance, salinity, daylength, and nutrient) and growth rates of seaweeds made green tide

Taxon	Temperature (°C)	Irradiance ($\mu mol photons m^{-2}s^{-1}$)	Salinity (psu)	Daylength (h)	Nutrient ($\mu mol/L$)		Growth rate (% day^{-1})	References
					PO_4^{3-}	NH_4^+		
Ulvales								
<i>Ulva</i> sp. (<i>Ulva intestinalis</i>)	20	20–90	5–35	14	0.8–6.4	12.8–102.4	–	Sousa et al. (2007)
<i>Ulva compressa</i>	10–30	0–175	0–34	16	0–200	0–100	< 20	Taylor et al. (2001)
<i>Ulva linza</i>	10–30	0–175	0–34	16	0–200	0–100	< 20	Taylor et al. (2001)
<i>Ulva clathrata</i>	26–29	–	26–33	–	–	–	< 12	Copertino et al. (2009)
<i>Ulva fasciata</i>	15–35	15	15–30	12	–	–	< 16.1	Mantri et al. (2011)
<i>Ulva flexuosa</i>	10–30	20–80	15–35	14	4–15	20–150	< 0.24	Imchen (2012b)*
<i>Ulva australis</i> (= <i>U. pertusa</i>)	20	150	6.6–66.2	12	–	–	< 23	Kakinuma et al. (2004)
<i>Ulva prolifera</i>	5–30	60	30	12	19–503	7–64	–	Fan et al. (2014)
Cladophorales								
<i>Chaetomorpha</i> sp.	15–35	70	0.2–80	12	–	–	< 60	Tsutsui et al. (2015)
<i>Chaetomorpha indica</i>	30	100	5–45	14	–	0–700	< 30	de Paula Silva et al. (2008)
<i>Chaetomorpha linum</i>	10–30	50–160	26–42	16	0–100	0–80	< 31	This study
<i>Chaetomorpha linum</i>	25–32	60–120	20–45	12	–	–	< 7.52	Xu and Lin (2008)
<i>Chaetomorpha linum</i>	22–23	400	–	15	2–17	20–100	< 0.13	Menéndez (2005)
<i>Chaetomorpha linum</i>	10–33	10–175	0–34	16	0–200	0–100	< 22	Taylor et al. (2001)
<i>Chaetomorpha valida</i>	13–29	36–108	17–29	10	–	–	< 25	Deng et al. (2012)
<i>Cladophora coelothrix</i>	30	100	15–45	14	–	0–700	< 20	de Paula Silva et al. (2008)
<i>Cladophora dalmatica</i>	10–30	10–175	0–34	16	0–200	0–100	< 15	Taylor et al. (2001)

*, zoospore; –, no data

(Peckol and Rivers 1995), de Paula Silva et al. (2008)의 연구에서는 과래류와 대마디말류에 비해 염주말류에서는 암모늄의 농도가 증가할수록 생장이 빨라진다고 하였다. 그러나, Menéndez (2005)는 실염주말은 암모늄에 비해 질산염에서, 인산염에 비해 질산염이 첨가된 배양액에서 빠른 생장을 보임으로써 실염주말의 생장은 질산염의 농도가 더 많은 영향을 준다고 하였다. 이러한 결과는 실염주말을 채집한 Tancada lagoon의 영양염 구성이 높은 질산염 농도(117 μM)와 대비되는 낮은 암모늄 농도(40 μM)로 이루어져 있어, 질산염을 선택적으로 흡수하여 성장한 것으로 보여진다. 따라서, 실염주말의 생장은 인산염, 암모늄과 질산염의 영향을 받지만 서식지의 환경에 따라 선호하는 영양염의 종류가 다를 수 있으며, 배아의 최적 생장이 일어나는 그 이상의 영양염 농도에서는 오히려 생장이 억제됨으로써 고농도로 부영양화된 환경에서는 생장이 저해될 수 있는 것으로 사료된다.

많은 연구자들은 연안의 부영양화 및 환경 변화가 해조류의 대발생과 밀접한 관련이 있다고 밝혔으며, 녹조대발생을 일으키는 해조류는 광범위한 온도, 광도와 염분조건에서 생장이 가능하다고 하였다(Taylor et al. 2001; Sousa et al. 2007; Tsutsui et al. 2015). 본 연구에서 사용된 실염주말의 배아 또한 다양한 환경조건에 대한 폭넓은 적응력을 가지고 있으며, 다른 해조류에 비해 빠르게 성장할 수 있는데, 특히 고농도의 암모늄 조건에서 성장 속도가 크게 향상되었다. 따라서 수온과 일장이 증가하는 봄과 여름철에 고농도의 암모늄에 의한 부영양화가 발생된 해역에서 실염주말의 성체가 유입되었을 때, 다량으로 방출된 유주자의 생존과 배아의 빠른 생장은 성체의 생물량 증대를 촉진시키게 되어 녹조대발생이 나타날 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 해양수산부의 재원으로 해양수산생명공학기술개발사업 연구개발비 지원에 의해 수행되었습니다. 또한, 본 연구의 일부는 군산대학교 해양생물연구교육센터 공간 및 장비를 활용하여 수행되었습니다.

참고문헌

- Ajjabi LC, Chouba L (2009) Biosorption of Cu^{2+} and Zn^{2+} from aqueous solutions by dried marine green macroalga *Chaetomorpha linum*. J Environ Manage **90**:3485–3489
- Bischof K, Rautenberger R, Brey L, Pérez-Lloréns JL (2006) Physiological acclimation to gradients of solar irradiance within mats of the filamentous green macroalga *Chaetomorpha linum* from southern Spain. Mar Ecol- Prog Ser **306**:165–175
- Bricker SB, Longstaff B, Dennison W, Jones A, Boicourt K, Wicks C, Woerner J (2008) Effects of nutrient enrichment in the nation's estuaries: a decade of change. Harmful Algae **8**:21–32
- Callow ME, Callow JA (2000) Substratum location and zoospore behaviour in the fouling alga *Enteromorpha*. Biofouling **15**:49–56
- Castelar B, Reis RP, dos Santos Calheiros AC (2014) *Ulva lactuca* and *U. flexuosa* (Chlorophyta, Ulvophyceae) cultivation in Brazilian tropical waters: recruitment, growth, and ulvan yield. J Appl Phycol **26**:1989–1999
- Chan F, Barth JA, Lubchenco J, Kirincich A, Weeks H, Peterson WT, Menge BA (2008) Emergence of anoxia in the California current large marine ecosystem. Science **319**:920
- Chi YX, Wang LM, Luan RX, Wang HW (2009) *Chaetomorpha valida*, a new recorded green alga species in genus *Chaetomorpha* Kützting in China. Fish Sci **28**: 162–163 (in Chinese)
- Choi HG, Lee KH, Yoo HI, Kang PJ, Kim YS, Nam KW (2008) Physiological differences in the growth of *Sargassum horneri* between the germling and adult stages. J Appl Phycol **20**:729–735
- Choi TS, Kang EJ, Kim JH, Kim KY (2010) Effects of salinity on growth and nutrient uptake of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) from an eelgrass bed. Algae **25**:17–26
- Copertino MS, Tormena T, Seeliger U (2009) Biofiltering efficiency, uptake and assimilation rates of *Ulva clathrata* (Roth) J. Agardh (Chlorophyceae) cultivated in shrimp aquaculture waste water. J Appl Phycol **21**:31–45
- Cordi B, Donkin ME, Peloquin J, Price DN (2001) The influence of UV-B radiation on the reproductive cells of the intertidal macroalga, *Enteromorpha intestinalis*. Aquat Toxicol **56**:1–11
- Deng Y, Tang X, Huang B, Ding L (2011a) Life history of *Chaetomorpha valida* (Cladophoraceae, Chlorophyta) in culture. Bot Mar **54**:551–556
- Deng Y, Tang X, Huang B, Ding L (2011b) The temperature character of marine green alga, *Chaetomorpha valida*, with analysis of its diffusion potential in marine algal flora of China. Oceanol Limnol Sin **42**:404–408
- Deng Y, Tang X, Huang B, Ding L (2012) Effect of temperature and irradiance on the growth and reproduction of the green macroalga, *Chaetomorpha valida* (Cladophoraceae, Chlorophyta). J Appl Phycol **24**:927–933
- Deng Y, Tang X, Zhan Z, Teng L, Ding L, Huang B (2013) Culture observation and molecular phylogenetic analysis

- on the blooming green alga *Chaetomorpha valida* (Cladophorales, Chlorophyta) from China. *Chin J Oceanol Limn* **31**:552–559
- de Paula Silva PH, McBride S, de Nys R, Paul NA (2008) Integrating filamentous ‘green tide’ algae into tropical pond-based aquaculture. *Aquaculture* **284**:74–80
- Fan X, Xu D, Wang Y, Zhang X, Cao S, Mou S, Ye N (2014) The effect of nutrient concentrations, nutrient ratios and temperature on photosynthesis and nutrient uptake by *Ulva prolifera*: implications for the explosion in green tides. *J Appl Phycol* **26**:537–544
- Fu G, Yao J, Liu F, Liu J, Wang X, Fu W, Li D, Zhou M, Sun S, Duan D (2008) Effect of temperature and irradiance on the growth and reproduction of *Enteromorpha prolifera* J. Ag. (Chlorophycophyta, Chlorophyceae). *Chin J Oceanol Limn* **26**:357–362
- Gao L, Zhang L, Hou J, Wei Q, Fu F, Shao H (2013) Decomposition of macroalgal blooms influences phosphorus release from the sediments and implications for coastal restoration in Swan Lake, Shandong, China. *Ecol Eng* **60**:19–28
- Gao Z, Xu D, Meng C, Zhang X, Wang Y, Li D, Zou J, Zhuang Z, Ye N (2014) The green tide-forming macroalga *Ulva linza* outcompetes the red macroalga *Gracilaria lemaneiformis* via allelopathy and fast nutrients uptake. *Aquat Ecol* **48**:53–62
- Gavio B, Mancera-Pineda JE (2015) Blooms of ephemeral green algae in San Andres island, international biosphere reserve seaflower, southwestern Caribbean. *Acta Biol Colomb* **20**:259–262
- Hiraoka M, Enomoto S (1998) The induction of reproductive cell formation of *Ulva pertusa* Kjellman (Ulvales, Ulvophyceae). *Phycol Res* **46**:199–203
- Hiraoka M, Oka N (2008) Tank cultivation of *Ulva prolifera* in deep seawater using a new “germling cluster” method. *J Appl Phycol* **20**:97–102
- Hiraoka M, Shimada S, Ohno M, Serisawa Y (2003) Asexual life history by quadriflagellate swimmers of *Ulva spinulosa* (Ulvales, Ulvophyceae). *Phycol Res* **51**:29–34
- Hoffmann A, Santelices B (1991) Banks of algal microscopic forms: hypotheses on their functioning and comparisons with seed banks. *Mar Ecol-Prog Ser* **79**:185–194
- Howarth R, Chan F, Conley DJ, Garnier J, Doney SC, Marino R, Billen G (2011) Coupled biogeochemical cycles: eutrophication and hypoxia in temperate estuaries and coastal marine ecosystems. *Front Ecol Environ* **9**:18–26
- Imchen T (2012a) Effect of temperature, salinity and biofilm on the zoospores settlement of *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J. Agardh. *Indian J Geomarine Sci* **41**:355–358
- Imchen T (2012b) Recruitment potential of a green alga *Ulva flexuosa* Wulfen dark preserved zoospore and its development. *PLoS ONE* **7**:e32651. doi:10.1371/journal.pone.0032651
- Jeon DV, Na YJ, Yu OH, Choi HG (2015) Effects of varying CO₂, nutrient and light irradiance levels on the growth of *Ulva australis* at germling, juvenile, and adult stages. *Kor J Fish Aquat Sci* **48**:96–103
- Kakinuma M, Kuno Y, Amano H (2004) Salinity stress responses of a sterile mutant of *Ulva pertusa* (Ulvales, Chlorophyta). *Fisheries Sci* **70**:1177–1179
- Kim DS, Hong JP, Kim YD, Song HI, Kim HG (2007) Seed production and cultivation of *Ecklonia stolonifera* Okamura, Phaeophyta. *J Aquac* **20**:7–13
- Kim HG, Park JG, Kim DS (2005) Comparative laboratory culture studies of the native kelp *Kjellmaniella crassifolia* and the introduced kelp *Laminaria japonica* in east coast of Korea. *J Aquac* **18**:299–304
- Lotze HK, Schramm W, Schories D, Worm B (1999) Control of macroalgal blooms at early developmental stages: *Pilayella littoralis* versus *Enteromorpha* spp. *Oecologia* **119**:46–54
- Lotze HK, Worm B, Sommer U (2000) Propagule banks, herbivory and nutrient supply control population development and dominance patterns in macroalgal blooms. *Oikos* **89**:46–58
- Martins I, Marcotegui A, Marques JC (2008) Impacts of macroalgal spores on the dynamics of adult macroalgae in a eutrophic estuary: high versus low hydrodynamic seasons and long-term simulations for global warming scenarios. *Mar Pollut Bull* **56**:984–998
- Mantri VA, Singh RP, Bijo AJ, Kumari P, Reddy CRK, Jha B (2011) Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in *Ulva fasciata* (Chlorophyta, Ulvales). *J Appl Phycol* **23**:243–250
- McGlashery KJ, Pedersen MF (1999) The effect of growth irradiance on the coupling of carbon and nitrogen metabolism in *Chaetomorpha linum*. *J Phycol* **35**:721–731
- Menéndez M (2005) Effect of nutrient pulses on photosynthesis of *Chaetomorpha linum* from a shallow Mediterranean coastal lagoon. *Aquat Bot* **82**:181–192
- Nelson TA, Olson J, Imhoff L, Nelson AV (2010) Aerial exposure and desiccation tolerances are correlated to species composition in “green tides” of the Salish Sea (northeastern Pacific). *Bot Mar* **53**:103–111
- Olla BL, Davis MW, Rose C (2000) Differences in

- orientation and swimming of walleye Pollock *Theragra chalcogramma* in a trawl net under light and dark conditions: concordance between field and laboratory observations. *Fish Res* **44**:261–266
- Peckol P, Rivers JS (1995) Physiological responses of the opportunistic macroalgae *Cladophora vagabunda* (L.) van den Hoek and *Gracilaria tikvahiae* (McLachlan) to environmental disturbances associated with eutrophication. *J Exp Mar Biol Ecol* **190**:1–16
- Renjun W, You W, Jing Z, Junhua S, Xuexi T (2013) Algicidal activity of *Ulva pertusa* and *Ulva prolifera* on *Prorocentrum donghaiense* under laboratory conditions. *Afr J Microbiol Res* **7**:4389–4396
- Santelices B, Aedo D, Hoffmann A (2002) Banks of microscopic forms and survival to darkness of propagules and microscopic stages of macroalgae. *Rev Chil Hist Nat* **75**:547–555
- Schories D (1995) Sporulation of *Enteromorpha* spp. (Chlorophyta) and overwintering of spores in sediments of the Wadden Sea, Island Sylt, North Sea. *Neth J Aquat Ecol* **29**:341–347
- Serisawa Y, Yokohama Y, Aruga Y, Tanaka J (2002) Growth of *Ecklonia cava* (Laminariales, Phaeophyta) sporophytes transplanted to a locality with different temperature conditions. *Phycol Res* **50**:201–207
- Sokal RR, Rohlf FJ (1995) *Biometry*, 3rd edn. W. H. Freeman and Company, NY, 887 p
- Sousa AI, Martins I, Lillebø AI, Flindt MR, Pardal MA (2007) Influence of salinity, nutrients and light on the germination and growth of *Enteromorpha* sp. spores. *J Exp Mar Biol Ecol* **341**:142–150
- Taylor R, Fletcher RL, Raven JA (2001) Preliminary studies on the growth of selected ‘green tide’ algae in laboratory culture: effects of irradiance, temperature, salinity and nutrients on growth rate. *Bot Mar* **44**:327–336
- Tsutsui I, Miyoshi T, Aue-umneoy D, Songphatkaew J, Meeanan C, Klomkling S, Sukchai H, Pinphoo P, Yamaguchi I, Ganmanee M, Maeno Y, Hamano K (2015) High tolerance of *Chaetomorpha* sp. to salinity and water temperature enables survival and growth in stagnant waters of central Thailand. *Int Aquat Res* **7**:47–62
- Tyler AC, McGlathery KJ, Anderson IC (2001) Macroalgae mediation of dissolved organic nitrogen fluxes in a temperate coastal lagoon. *Estuar Coast Shelf S* **53**:155–168
- Xu Y, Lin J (2008) Effect of temperature, salinity, and light intensity on the growth of the green macroalga, *Chaetomorpha linum*. *J World Aquacult Soc* **39**:847–851
- Yabe T, Ishii Y, Amano Y, Koga T, Hayashi S, Nohara S, Tatsumoto H (2009) Green tide formed by free-floating *Ulva* spp. at Yatsu tidal flat, Japan. *Limnology* **10**:239–245
- Ye N, Zhang X, Mao Y, Liang C, Xu D, Zou J, Zhuang Z, Wang Q (2011) ‘Green tides’ are overwhelming the coastline of our blue planet: taking the world’s largest example. *Ecol Res* **26**:477–485
- Zhang J, Huo Y, Yu K, Chen Q, He Q, Han W, Chen L, Cao J, Shi D, He P (2013) Growth characteristics and reproductive capability of green tide algae in Rudong coast, China. *J Appl Phycol* **25**:795–803
- Zhang L, Shao H (2013) Direct plant-plant facilitation in coastal wetlands: a review. *Estuar Coast Shelf S* **119**:1–6

Received Feb. 22, 2016

Revised Mar. 4, 2016

Accepted Mar. 10, 2016