

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2020.12.2.115>

ISSN 2383-5400 (Online)

대황(*Eisenia bicyclis*) 배우체와 아포체의 생장에 미치는 환경 인자의 영향

Effects of Environmental Factors on the Growth of Gametophytes and Young Sporophytes of *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell

이민정^{1†}, 김남길^{2*}

Min-Jeong Lee^{1†}, Nam-Gil Kim^{2*}

¹연구원, 경상대학교 해양산업연구소 경남 통영시 통영 해안로 2, 53064, 대한민국

²교수, 경상대학교 해양생명과학과 경남 통영시 통영 해안로 2, 53064, 대한민국

¹Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong Gyeongnam 53064, Korea

²Department of Marine Biology and Aquaculture, Gyeongsang National University, Tongyeong Gyeongnam 53064, Korea

(Received 9 December 2020, Revised 18 December 2020, Accepted 21 December 2020)

Abstract *Eisenia bicyclis*, a perennial macroalga is a primary producer of in the ocean, It has been identified as a key species that plays a vital role in maintaining the ecosystem stability. Also, it is an important target in marine afforestation projects and useful marine organisms. In addition, *E. bicyclis* is used as a health food for humans. This study investigated the effect of water temperature, light (photon irradiance), and duration of light (photoperiod) on the growth of gametophytes and young sporophytes of *E. bicyclis*. The germination and growth of the zoospores of *E. bicyclis* were examined at five temperatures (5°C, 10°C, 15°C, 20°C and 25°C), four intensities of photon irradiance (10, 20, 40, and 80 μmol m⁻²s⁻¹), and photoperiods (14:10 and 10:14 light/dark cycles). The zoospores released from mature plant germinated into the gametophytes under all experimental conditions. The gametophytes were able to grow at water temperature 5°C-25°C and mature at 10°C-20°C. The optimal range of water temperature for the maturation of the gametophyte was 15°C-20°C. At 25°C, *E. bicyclis* gametophytes grew rapidly but did not mature. The optimal culture conditions for the growth of young sporophytes grew slowly in low temperature and photon irradiances.

Keywords : *Eisenia bicyclis*, Growth, Gametophytes, Young Sporophytes

서 론

대롱편모조식물문(Ochrophyta), 갈조강(Phaeophyceae), 다시마목(Laminariales), 감태과(Lessoniaceae)의

대황속(*Eisenia*) 해조는 전 세계적으로 7종이 알려져 있으며, 우리나라에는 대황(*Eisenia bicyclis*) 1종만 서식하는 것으로 알려져 있다 [2].

* Corresponding author

Phone: +82-55-772-9155 Fax: +82-55-772-9159

E-mail: ngkim@gnu.ac.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

대황속과 관련하여 [1]은 *rbcL* 및 *ITS1-5.8S rDNA* 를 기반으로한 분자계통학적 발생 분석을 통해 대황속(*Eisenia*) 해조 2종(*E. arborea* 와 *E. bicyclis*)을 감태속(*Ecklonia*)과 동의어로 할 것을 제안했다. 그러나 최근 [2]는 분자계통학적 연구에서 대황속과 감태속이 서로 다른 속(*Genus*)에 속한다는 증거를 제시하며 *Eisenia nipponica*를 신종으로 제안하였다.

대황은 우리나라의 울릉도와 독도에서 큰 군락을 유지하고 있는 것으로 알려져 왔지만 이 두 곳의 섬 지역을 제외하면 유일하게 동해안 영덕읍 창포리 연안의 조간대와 조하대에 비교적 큰 규모의 군락이 발견되고 있다.

일본에서는 이바라키현 이남의 쓰시마 난류의 영향을 강하게 받는 중부 이남의 연안 해역에 대형 군락이 발달하고 있는 것으로 알려져 있다 [2]. 대황의 분포는 울릉도와 독도 연안의 저조선 부근에서부터 수심 10 m 전후의 조하대 지역에 제한적으로 분포하는 것으로 알려져 왔지만 경상북도 영덕군 창포리 연안에서는 조하대뿐만 아니라 조간대에서도 서식이 확인되고 있다 [3].

대황의 수지상 부착기는 저서생물의 서식장소를 제공하는 서식, 보육장으로서의 역할을 담당하고 있을 뿐만 아니라 분지된 가지위에 생성된 밀생한 잎들은 큰 규모의 수관부(*canopy*)를 만들어 때조류(*turf algae*)와 같은 하위종(*understory algae*)들의 안정된 군락을 형성하여 안정적인 생태적 지위를 유지시키는 중요한 종으로 인식되고 있다 [4]. 이러한 생태적 기능 차원에서 대황은 바다숲 조성 대상종으로서 뿐만 아니라 전복, 소라 등과 같은 유용한 산업 대상종의 먹이원으로 활용되고 있으며 [5], 울릉도에서는 식용으로 이용되고 있기도 하다. 또한 대황의 추출물에는 항염, 황산화 효과가 있는 것으로 알려져 있을 뿐만 아니라 [6-8], 대황으로부터 유래한 알긴산은 화장품 및 의약품의 고부가가치 원료로서 그 이용 가치가 증대되고 있다 [9-11]. 따라서 천연자원에 의존하는 대황의 안정적인 원료 공급과 바다숲 대상종의 다양성 확보 등을 위해서는 대량 양식에 의한 생산, 공급이 절실한 실정으로 이를 위한 종묘생산 및 양성 기술개발이 매우 시급하다. 또한 대황은 이형세대교번을 통해 번식하는 다른 다시마목 해조류와 같이 배우체 세대에서 암·수 배우체를 각각 분리하여 영양적으로 증식시킬 수 있는 장점이 있어 종묘생산을 위한

초기 배양 연구가 중요하다 [12].

대황의 배양과 관련한 국내연구로는 갈조류 대황과 감태 배우체 및 포자체의 생리적 특성[13], 대황과 감태 배우체의 성장과 성숙에 영향을 미치는 Fe-EDTA의 영향에 관한 연구[14]가 있으며, 생태학적 연구로는 대황의 지역적 형질 특성 및 성장[15], 독도에 서식하는 감태와 대황의 개체군 연구[16]가 있으나 같은 감태과 해조류인 감태의 신종종 개발 [17]과 바다숲 조성에 관한 연구 등[18-19]을 제외하면 매우 부족한 편이다. 반면 국외에서는 감태과 해조류의 배우체와 아포체의 성장과 관련한 다양한 연구가 수행되어 왔으나 대황과 관련한 연구는 천연 군락의 회복과 바다숲 조성을 목적으로 한 다양한 연구가 일본에서 이루어졌다. 배양관련 국.내외 연구로는 *Eisenia arborea*의 생활사 연구[20]와 배양 연구[21]를 시작으로 대황 배우체와 아포체의 발아에 관한 연구[22], 배우체의 성장 및 성숙에 미치는 수온과 광주조건[23], 대황과 감태의 생리특성 연구[24], 감태와 대황 아포체의 광합성에 미치는 임계 광주조건[25], 대황 배우체와 포자체의 성장에 미치는 온도, 광량의 영향[26]이 있으며, 생태학적 연구로는 대황 군락의 변동특성, 군락의 구조와 재생과정 및 해중립 조성[27-30], 자연 군락의 회복과 바다숲 조성[31]에 관한 연구 등이 있다.

이 연구는 유용 해조인 대황의 효과적이고 안정적인 바이오매스 공급 및 바다숲 조성용 종자의 대량생산을 위한 기초 정보 축적을 위해 배우체와 아포체의 초기 성장에 미치는 온도, 광량, 광주기의 영향을 구명하고 이를 기초로 현장에 적용할 수 있는 자료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

이번 연구에 사용된 대황 성숙 모조는 경북 영덕군 창포리 연안 조하대에서 2015년 12월 5일과 2017년 12월 27일 두 번에 걸쳐 SCUBA diving을 통해 채집하였다(Figure 1).

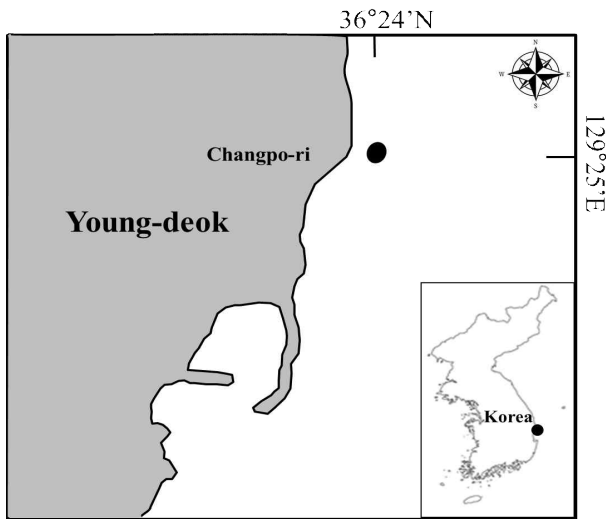


Figure 1. A map showing the collecting site at Changpo-ri coast in Youngdeok in the east coast of Korea.

채집된 대황의 성숙 모조는 적정 온도와 습기를 유지하여 쿨러에 넣어 실험실로 운반하였다. 옆면에 형성된 성숙한 자낭반을 수술용 메스를 이용하여 절취한 후, 세척용 붓을 이용 멸균 여과해수로 수 회 세척하여 부착생물을 제거하였고, 실온에서 2시간 정도 음건한 후 유주자 방출을 유도하였다(Figure 2).

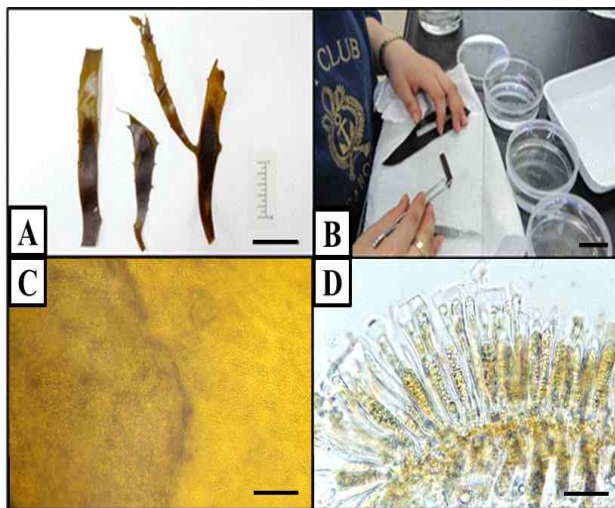


Figure 2. Seedling process of *Eisenia bicyclis*. A, Mature blade with sorus; B, Excising of sorus from mature sporophyte; C, Surface view of excised sorus; D, Cross section view of excised sorus (Scale bars: A-B, 5 cm; C, 2 mm; D, 30 μm)

모조의 전 처리 방법과 배우체 분리배양방법은 [32]의 방법을 따랐으며 배우체와 아포체의 배양은 다

단 온도구배 배양기(Multi-room incubator)를 이용하여 온도 5, 10, 15, 20, 25 $^{\circ}\text{C}$, 광량 10, 20, 40, 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 광주기 14L:10D(장일조건)와 10L:14D(단일조건)의 조합으로 멸균 여과해수에 MGM배지[33]를 첨가한 배양해수를 이용하여 정치배양을 수행하였다. 모든 실험은 광학현미경(Olympus CH30RF200)을 이용하여 관찰, 암, 수배우체의 길이를 측정하여 평균하여 나타내었고, 관찰이 끝난 후 배양해수는 전량 환수해 주었다.

결 과

1. 유주자의 발아와 배우체의 생장

성숙 모조의 자낭반으로부터 방출된 유주자는 실험이 이루어진 모든 조건에서 배우체로 발아하였다(Figure 3).

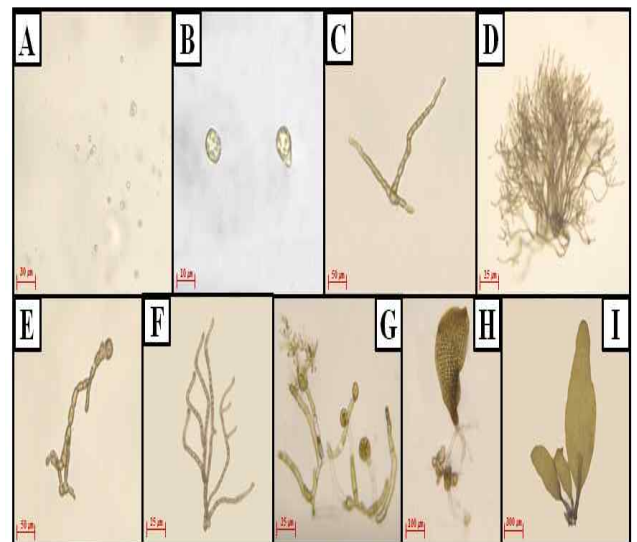


Figure 3. Developmental stage of *Eisenia bicyclis*, A, Settled zoospore; B, Development of germination tube; C, Male gametophyte; D, Colony of male gametophytes; E & F, Female gametophytes; G, Fertilization of gametophyte; H, Young sporophyte with rhizoid; I, Young sporophytes after 9 weeks culture at 20 $^{\circ}\text{C}$ and 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ under 14L:10D (Scale bars: A, 30 μm ; B, 20 μm ; C & E, 50 μm ; D, G & F, 25 μm ; H, 100 μm ; I, 300 μm)

배우체의 생장에 미치는 온도, 광량, 광주기의 영향에 관한 결과는 Figure 4와 같다.

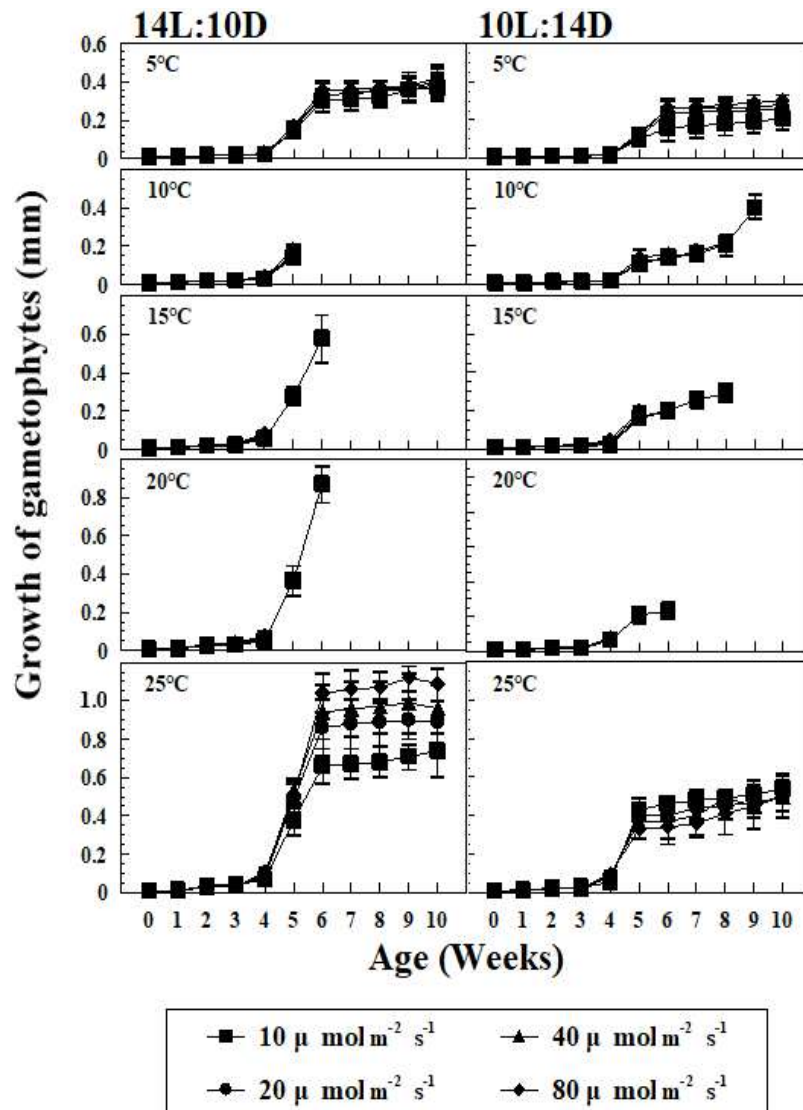


Figure 4. Growth of the gametophytes of *Eisenia bicyclis* under different temperatures, photon irradiance and photoperiods.

유주자가 가장 빠르게 배우체로 발아한 것은 온도 20°C, 광량 40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 10L:14D(단일조건)의 광주기 조건하에서 배양 7일째에 나타났다. 암, 수배우체의 생장은 실내 배양 4주까지 온도, 광량, 광주기 조건에 따른 차이가 없었지만 5주째에 차이를 나타내었으며 배우체의 생장은 9주째에 온도 조건 25°C, 광량 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 평균 길이 1.12 ± 0.06 mm로 가장 빠르게 나타났다. 광량 20-80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 조건하에서 장일조건, 온도 15°C와 단일조건, 온도 20°C에서 5주째에 성숙 및 수정하여 아포체를 형성하였다

반면, 온도 5°C와 25°C의 모든 광량, 광주기 조건하

에서는 10주간의 배양 기간 동안 배우체가 미성숙 상태로 아포체를 형성하지 않고 길이 신장만 계속하였다. 배우체 신장은 장일조건에서 빠르게 나타났고, 10°C 이하의 저온 조건 보다 20°C 이상의 고온 조건에서 생장이 빠른 것으로 나타났으며, 특히 광량 40-80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 상대적으로 높은 광량하에서 빠르게 성장하였다.

2. 아포체의 성장

성숙하여 수정된 배우체는 온도 5°C와 25°C를 제외한 모든 온도 조건에서 아포체를 형성하였으며, 각각의 조건에 따른 아포체의 엽장 생장은 Figure 5와 같다.

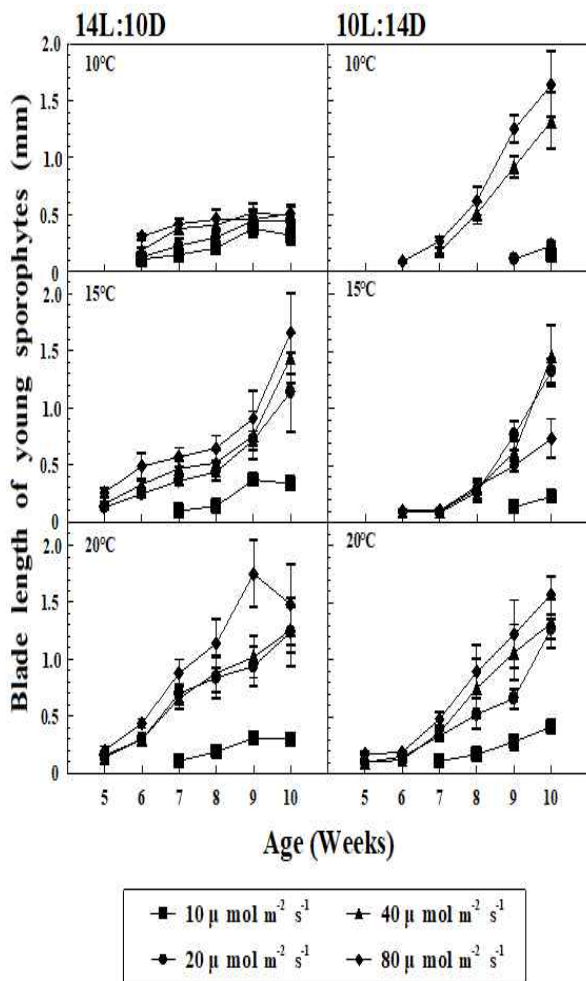


Figure 5. Growth of the young sporophytes of *Eisenia bicyclis* under different temperature, photon irradiance and photoperiods (Blade length).

온도 20°C의 경우 14L:10D(장일조건)와 10L:14D(단일조건)의 광량 10 μmol m⁻²s⁻¹ 을 제외한 3개의 광량 조건하에서 5주째에 가근을 가진 아포체를 형성하였다. 단일조건 하에서는 온도 20°C, 광량 10 μmol m⁻²s⁻¹에서 7주째에 처음으로 아포체를 형성하였으나, 광량 10 μmol m⁻²s⁻¹의 온도 10°C에서는 10주째에 아포체가 형성되었다. 아포체 형성 9주째에 온도 20°C, 광량 80 μmol m⁻²s⁻¹, 장일조건(14L:10D)에서 1.75 ± 0.30 mm로 최대 성장을 나타내었고, 10주째에 온도 10°C, 광량 10 μmol m⁻²s⁻¹, 단일조건(10L:14D) 하에서 엽장 0.18 ± 0.04 mm로 생장이 가장 느린 것으로 나타났다. 상대적으로 15°C 이하의 낮은 온도의 20 μmol m⁻²s⁻¹ 이하의 낮은 광량 조건하에서 아포체 형성 및 생장이 느리게 나타났다.

아포체의 엽폭 성장을 Figure 6에 나타내었다.

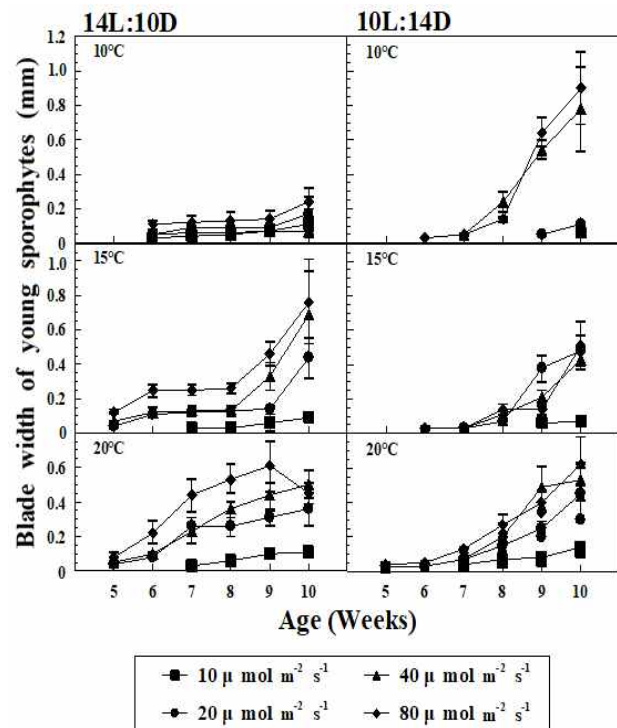


Figure 6. Growth of the young sporophytes of *Eisenia bicyclis* under different temperature, photon irradiance and photoperiods (Blade width).

배양 10주째 단일조건(10L:14D)의 10°C, 광량 40-80 μmol m⁻²s⁻¹에서는 아포체가 형성된 6주째부터 7주째까지 엽폭의 생장이 다른 광량 조건과 큰 차이를 보이지 않았으나 8주째부터 급격히 성장하여 10주째에 평균 엽폭 0.78 ± 0.25 mm, 0.90 ± 0.11 mm로 상대적으로 빠른 성장을 나타내었다. 반면 10°C, 광량 10 μmol m⁻²s⁻¹의 단일조건에서는 0.06 ± 0.02 mm로 생장이 가장 느린 것으로 나타났다. 장일조건(14L:10D), 온도 10°C에서는 각각 4개의 광량 조건(10, 20, 40, 80 μmol m⁻²s⁻¹) 하에서 엽폭 생장이 저조하였다. 14L:10D, 15°C에서는 광량 80 μmol m⁻²s⁻¹에서는 0.76 ± 0.24 mm, 광량 40 μmol m⁻²s⁻¹ 조건 하에서는 0.69 ± 0.25 mm로 성장하였다. 엽폭 생장은 광량 10 μmol m⁻²s⁻¹ 하의 모든 온도, 광주기 조건 하에서는 배양 10주째 까지도 생장이 극히 저조하였다.

고 찰

대항의 성숙 모조에서 방출된 유주자는 온도 5-25°C의 모든 실험 조건에서 발아하여 배우체로 성장하는 것으로 나타났으나, 온도 5°C와 25°C의 조건하

에서는 아포체로 성장하지 않았다. 최근 [2]는 *Eisenia arborea*가 *E. nipponica*와 동일종이라 하였는데, *E. arborea*의 배양을 통해 초기 발생과정을 밝힌 [21]은 17-22°C의 실온에서 *E. arborea*가 아포체로 발아하며 저온하에서 배우체를 배양하였을 때 활력이 떨어져 매우 늦게 발아한다고 하였는데 이는 [22]의 결과와 이번 연구결과가 대체로 유사하였다.

대황 배우체의 성장 및 유성생식기관과 포자체의 형성에 미치는 수온, 조도, 광주기의 영향을 검토한 [23]의 연구결과에 의하면 배우체는 수온 8°C 부터 24°C까지 성장하고, 4°C에서 거의 성장하지 않으며 28°C에서는 거의 사멸한다고 하였다. 이번 연구 결과에서 대황의 배우체는 10주간의 배양기간 동안 5°C와 25°C의 온도 조건에서 미성숙상태로 길이 성장만 계속하여 이들의 연구 결과와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 본 연구의 결과에서 배우체와 아포체의 생장은 광량 40-80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 최대생장을 보였으며 단일조건보다 장일조건에서 전반적으로 생장이 빠르게 나타난 결과는 배우체가 조도 2,000 lux에서 5,000 lux(약 40-80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)의 장일조건에서 잘 성장하였다는 [23]과 고풍량의 조건에서 대황의 순생산이 높았다는 [25]의 보고와도 역시 일치하였다.

감태(*Ecklonia cava*)와 검둥감태(*E. kurome*)의 경우, 배우체는 14-25°C 조건에서 온도가 증가함에 따라 생장이 증가하였지만 28°C에서 비정상적인 형태로 성장한다고 하였으며 [34], 감태 암·수 배우체의 경우 30°C의 고온에서는 상대 생장률이 급격하게 감소하였다고 보고하였다 [35]. [35]의 연구결과와 본 연구결과를 비교해 보면 감태와 검둥감태 배우체의 성장 가능 온도는 대황보다 3°C 정도 높게 나타나 차이를 보였으나 임계 온도는 29-30°C로 유사한 것으로 판단되었다. 대황은 쓰시마 난류의 영향을 강하게 받는 난온대계 해조로서 우리나라에서는 울릉도와 독도 및 영덕 연안에서만 유일하게 분포한다 [2, 14, 16, 36]. 일반적으로 늦가을에서 초겨울에 성숙하여 유주자를 방출한 후 배우체로 발아하여 성숙한 수배우체가 조정기(antheridium)를 만들어 방출시킨 정자가 암 배우체의 생란기(oogonium)에 안착하여 수정 후 아포체를 만드는 전형적인 다시마목 해조의 생활사를 가진다[37-38]. 이번 연구에서 대황은 우리나라의 수온 조건에서 배우체로 발아할 수 있으나 극히 낮은

온도나 높은 온도 조건에서는 배우체 단계에서 아포체(어린 포자체)로의 발육이 어려워질 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 생리 생태적 특성이 난류의 영향이 큰 난온대계 수역에서 대황이 군락을 유지할 수 있었던 생리, 생태학적 요인이 되었던 것으로 판단된다 [39]. 이번 연구에서 얻어진 결과는 우리나라 바다 숲 조성을 위한 대황의 종묘생산과 대량생산에 필요한 유익한 기초자료를 제공하고, 이를 현장에 적용할 수 있는 유익한 정보가 될 수 있을 것으로 판단된다.

결론

이상의 결과로부터 대황 배우체는 25°C에서 빠르게 성장하지만, 성숙은 하지 않는다는 것을 알 수 있었으며, 배우체의 최적 성숙 온도는 15-20°C로 나타났다. 대황의 아포체는 장일조건(14L:10D)하의 광량 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 온도 20°C에서 가장 잘 성장하는 것으로 나타났다.

감사의 글

이 연구는 경상대학교 해양생물교육연구센터의 시설과 장비를 이용하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Rothman, M. D., Mattio, L., Wernberg, T., Anderson, R.J., Uwai, S., Mohring, M. B. and Bolton, J. J. 2015. A molecular investigation of the genus *Ecklonia* (Phaeophyceae, Laminariales) with special focus on the southern hemisphere. *Journal of Phycology*, 51, 236-246.
2. Kawai, H., Akita, S., Hashimoto, K. and Hanyuda, T. 2020. A multigene molecular phylogeny of *Eisenia* reveals evidence for a new species, *Eisenia nipponica* (Laminariales), from Japan. *Euro. J. Phycol.* 55, 234-241.
3. FIRA. 2018. Study on the seaweed growth promotants for the extension of natural seaweed beds. Research Report, Busan, ROK. 1-66.
4. Park, S. K., Lee, J. R., Heo, J. S., An, D. S., Lee, H. P. and Choi, H. G. 2014. Marine algal flora and ecological role of *Eisenia bicyclis* in Dokdo, east sea, Korea. *Kor. J. Env. Ecol.* 28, 613-626.
5. Toshihiro, O., Tomohiko, K., Shunsuke, I., Satoshi, O. and

- Toyomitsu, H. 2010. Dietary value of gametophytes and juvenile sporophytes of the brown macroalga *Eisenia bicyclis* for juvenile abalone *Haliotis diversicolor*. *Fish Sci.* 76, 619-623.
6. Ahn, S. M., Hong, Y. K., Kwon, G. S. and Sohn, H. Y. 2011. Evaluation of antioxidant and nitrite scavenging activity of seaweed extracts. *J. Life Sci.* 21, 576-583.
7. Cho, S. H., Park, S. Y. and Choi, S. W. 2008. Effects of *Eisenia bicyclis* extracts and pill on blood glucose and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic mice. *Kor. J. Nutr.* 41, 493-501.
8. Kwon, T. H. 2014. Antioxidant, anti-obesity, and anti-inflammatory activities of phlorotannins isolated from *Eisenia bicyclis* and their mechanism. *Andong Natl. Univ.* 1-126.
9. Kim, Y. M., Do, J. R., Kim, D. S. and Park, J. H. 2006. Cytotoxicities of hydrolyzed crude Laminaran from *Eisenia bicyclis* on the SNU-1, HeLa and SW cells. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 38(6): 793-798.
10. Kim, D. H. 2012. Isolation and structure elucidation of deodorizing compounds from *Eisenia bicyclis*. Pukyong Natl. Univ. MS Thesis 1-47.
11. Lee, S. H., Eom, S. H., Yoon, N. Y., Kim, M. M., Li, Y. X., Ha, S. K. and Kim, S. K. 2016. Fucufuroeckol-A from *Eisenia bicyclis* inhibits inflammation in lipopolysaccharide-induced mouse macrophages via down regulation of the MAPK/NF- κ B signaling pathway. *J. Chemistry.* 1-9.
12. Lüning K. 1980. Critical levels of light and temperature regulating the gametogenesis of three *Laminaria* species (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 16, 1-15.
13. Jeon, D. V. 2016. Physiological characteristics of gametophytes and sporophytes of brown algae, *Eisenia bicyclis* and *Ecklonia cava*. Wonkwang Univ. MS thesis, 1-44.
14. Choi, H. G., Jeon D. V., Park, S. K. and GAO, X. 2019. Physiological differences in the growth and maturation of *Eisenia bicyclis* and *Ecklonia cava* gametophytes in Korea. *J. Oceanol. Limnol.* 37, 657-664. <https://doi.org/10.1007/s00343-019-8074-4>
15. Shon, Y. S. 2006. Morphological characteristics and growth of *Eisenia bicyclis* (Phaeophyta) on the east coast of Korea. Gangneung Natl. Univ. MS thesis, 1-45.
16. Kang R. S., Won K. S., Hong K. P. and Kim J. M. 2001. Population studies on the kelp *Ecklonia cava* and *Eisenia bicyclis* in Dokdo, Korea. *Algae.* 16, 209-215.
17. Kim, S. O., Heo, J. S., Hwang, E. K., Hwang, M. S., Lee, S. R. and Oak, J. H. 2019. Morphological comparison between aquaculture and natural populations for development of the new varieties of *Ecklonia cava*. *Kor. J. Environ. Biol.* 37, 707-718. <https://doi.org/10.11626/KJEB.2019.37.4.707>
18. Baek, J. M., Park, S. W. and Hwang, E. K. 2009. Afforestation of a brown alga, *Ecklonia cava* Kjellman using a biodegradable polybutylene succinate. *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 523-526.
19. Kim, Y. D., Shim, J. M., Park, M. S., Hong, J. P., Yoo, H. I., Min, B. H., Jin, H. J., Yarish, C. and Kim, J. K. 2013. Size determination of *Ecklonia cava* for successful transplantation onto artificial seaweed reef. *Algae.* 28, 365-369.
20. Clare, T. S. and Herbst. C. C. 1938. The life history of *Eisenia arborea*. *Amer. Jour. Bot.* 25, 494-498.
21. Hollenberg, G. J. 1939. Culture studies of marine algae. I. *Eisenia arborea*. *American J. Bot.* 26, 34-41.
22. Kanda, T. 1941. On the gametophytes of some Japanese species of Laminariales III. *Sci. Papers Inst. Algol. Res. Faculty of Science, Hokkaido Imp. Univ.* 2, 155-193.
23. Taniguchi, K. and Akiyama, K. 1982. Effect of water temperature, light intensity and photoperiod on the growth and maturation of the gametophyte of *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell. *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.* 45, 55-59. (in Japanese with English abstract)
24. Kurashima, A., Yokohama, Y. and Yusho, A. 1996. Physiological characteristics of *Eisenia bicyclis* Setchell and *Ecklonia cava* Kjellman (Phaeophyta). *Jpn. J. Phycol.* 44, 87-94.
25. Maegawa, M., Yokohama, Y. and Aruga, Y. 1987. Critical light conditions for young *Ecklonia cava* and *Eisenia bicyclis* with reference to photosynthesis. *Hydrobiologia*, 151/152, 447-455.
26. Baba, M. 2010. Effects of temperature and irradiance on the growth of gametophyte and young sporophyte of *Eisenia bicyclis* in laboratory culture. *Rep. Mar. Ecol. Res. Inst.* 13, 75 - 82.
27. Taniguchi, K. Sato, Y. and Owada, K. 1986. On the characteristics of the structural variation in *Eisenia bicyclis* the population on the Joban coast, Japan. *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.* 48, 49-57.
28. Taniguchi, K., Sato, M., Osada, Y. and Suenaga, H. 1987. On the structure of the *Eisenia bicyclis* population on the coast of Oshika peninsula in northeastern Honshu, Japan. *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.* 49, 103-109.
29. Taniguchi, K. 1990. Regeneration process of the *Eisenia*

- bicyclis* population off the coast of the Oshika peninsula in Northeastern Honshu, Japan. Bull. Tohoku Natl. Fish. Res. Inst. 52, 9-12. (in Japanese with English abstract)
30. Taniguchi, K. 1991. Marine afforestation of *Eisenia bicyclis* (Laminariaceae; Phaeophyta). NOAA Tech. Rep. NMFS 102, 47-57.
 31. Terawaki, T., Hasegawa, H., Arai, S. and Ohno, M. 2001. Management-free techniques for restoration of *Eisenia* and *Ecklonia* beds along the central pacific coast of Japan. J. Appl. phycol. 13, 13-17.
 32. Hwang, E. K., Gong, Y. G., Ha, D. S. and Park, C. S. 2010. Inducing the regeneration and maturation of free-living gametophytes of *Ecklonia stolonifera* Okamura (Laminariales, Phaeophyta). Kor. J. Fish. Aquat. Sci. 43, 231-238.
 33. McLachlan, J. 1973. Growth media - marine. In: Stein J. R. (ed.), Handbook of Phycological Methods. Cambridge University Press, New York, pp. 25-51.
 34. Toshimitsu, T., Norishige, Y., Hajime, K., and Masahiro, N. 2008. The effects of water temperature on growth and/or maturation of gametophytes and juvenile sporophytes of *Ecklonia cava* and *E. kurome* (Laminariales, Phaeophyta) growing in the coasts of Wakayama Prefecture. Suisan Zoshoku (Aquaculture Sci.) 56, 343-349.
 35. Kang, J. W. and Chung, I. K. 2015. Effects of temperature and light intensity on the gametophyte fragment growth of *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta). Kor. J. Fish. Aquat. Sci. 48, 704-711.
 36. Son, Y. S. 2006. Morphological characteristics and growth of *Eisenia bicyclis* (Phaeophyta) on the East coast of Korea. Gangneung Natl. Univ. MS thesis. ROK. pp. 45.
 37. Kanda, T. 1936. On the gametophytes of some Japanese species of Laminariales. Sci. Papers Inst. Algal. Research. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. 1, 221-260.
 38. Kanda, T. 1938. On the gametophytes of some Japanese species of Laminariales. II. Sci. Papers Inst. Algal. Research. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. 2, 87-111.
 39. Kurashima, A. 1996. Ecophysiological studies on photosynthesis and growth of *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell and *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta). Ph.D. dissertation of Tokyo university of fisheries. Tokyo, Japan. 1-132.