

온도와 질소원 종류에 따른 대형갈조류 감태(*Ecklonia cava*)의 생장

최선경, 강윤희¹, 박상률*

제주대학교 해양생명과학과 하구 및 연안생태학 연구실, ¹제주대학교 지구해양학과

Growth responses of kelp species *Ecklonia cava* to different temperatures and nitrogen sources

Sun Kyeong Choi, Yun Hee Kang¹ and Sang Rul Park*

Estuarine and Coastal Ecology Laboratory, Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

¹Department of Earth and Marine Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

***Corresponding author**

Sang Rul Park

Tel. 064-754-3425

E-mail. srpark@jejunu.ac.kr

Received: 25 May 2020

First Revised: 21 August 2020

Second Revised: 30 August 2020

Revision accepted: 31 August 2020

Abstract: We investigated the seasonal variations in growth and physiological responses of the kelp species *Ecklonia cava* to different nitrogen sources to establish indoor culture conditions for mass production. *Ecklonia cava* was cultivated for 10 days in 16 combinations of seawater temperatures (15, 17, 21, and 25°C) and different nitrogen sources (control; NH-NH₄⁺ 100 μM; NO-NO₃⁻ 100 μM; and NHNO-NH₄⁺ 50 μM + NO₃⁻ 50 μM). The growth and growth rate of the blade were affected by temperature. The mean fresh weight and area-based daily growth rate were the highest (5.8±0.5 and 6.6±0.5% day⁻¹, respectively) at 15°C and the lowest (2.2±0.2 and 3.0±0.3% day⁻¹, respectively) at 25°C. The daily growth rate was the highest in the NH and NO treatments and lowest in the control. The nitrate reductase activity of *E. cava* varied with water temperature (season). The highest activity was in the control (1.32±0.10 μmol NO₂⁻ g⁻¹ dry weight h⁻¹) and the lowest was in the NH treatment (0.25±0.02 μmol NO₂⁻ g⁻¹ dry weight h⁻¹). The photosynthetic pigment concentrations reached a maximum value in the NHNO treatment and a minimum value in the control. These results showed that water temperature played an important role in the cultivation of *E. cava* and that a single supply of NH₄⁺ or NO₃⁻ may induce the accelerated growth of *E. cava*. The growth and physiological responses of *E. cava* to different nitrogen sources during each season provide valuable information for determining the optimal nitrogen source in *E. cava* cultivation under indoor conditions.

Keywords: *Ecklonia cava*, daily growth rate, different nitrogen source, water temperature, nitrate reductase activity

서 론

감태(*Ecklonia cava* Kjellman)는 다시마목(Laminariales) 감태과(Lessoniaceae)에 속하는 다년생 대형갈조류로 한국 연안과 일본에 분포하는 고유종이다(Yoshida *et al.* 2000; Lee and Kang 2001). 이 종은 암반 조하대에서 해중립을 구성하는 주요 종으로 생산성이 매우 높고, 경제성이 높은 해양생물의 서식처와 산란장으로써 중요한 역할을 한다(Kang 1966; Ohno 1985; Yokohama *et al.* 1987; Tominaga *et al.* 2004). 감태는 엽록소 *a*와 *c* 및 푸코산틴을 비롯하여 후코이단과 폴리페놀인 플로로탄닌 등 다양한 성분들을 포함하고 있어서 간보호, 심장보호, 신장보호, 면역조절, 고지혈증, 당뇨병 등 약물 개발의 잠재적 후보로써 평가받고 있다(Shibata *et al.* 2007; Heo *et al.* 2009; Wijesekara *et al.* 2010; Li and Kim 2011; Wijesinghe and Jeon 2012; Koirala *et al.* 2017). 또한 감태는 전복과 같은 양식 생물의 사료로 이용되며 각종 식품, 첨가물, 의약품, 화장품 등 다양한 분야의 원료로 이용되고 있다(Wijesinghe and Jeon 2012; Hwang *et al.* 2013a; Lee *et al.* 2016). 최근 감태는 연안생태계 복원 프로그램에서 인공해중립을 조성하는 데 주요한 해조 종으로 각광받고 있다(Hong and Choa 2008; Kang 2011; Kim *et al.* 2020).

감태의 수요는 감태의 기능과 다양한 활용성으로 인해 매우 빠르게 증가하고 있다. 그러나 감태는 수산자원관리법(Act No. 13495, Presidential Decree No. 29502)에 의해 보호대상 해조류로 분류되어서 엄격하게 모조채취를 금지하고 있어 사용자에게 충분히 공급되지 못하고 있다. 이에, 감태 자연개체군을 보전하고, 공급의 불균형을 해소하기 위해서 감태 양식에 대한 연구가 수행되었다. 감태의 대량 양식을 위해서 암수 배우체의 분리 배양, 성장과 성숙 조건에 대한 연구가 진행되었으며, 유주자와 유리배우체를 이용한 자연배양장에서 대량 양식에 적용 가능성에 대한 연구도 수행되었다(Wi *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2013b). 대량 양식기술개발에 의해서 해조류 생산성은 증가하였으나, 주변 환경의 중금속에 대한 해조(특히 갈조류)의 높은 친화력으로 인해서 해조 엽체 내 중금속이 축적되는 문제가 발생하였다(Bryan and Hummerstone 1973; Schiewer and Wong 1999; Besada *et al.* 2009). 이러한 문제를 해결하기 위해서 인공 해수와 심층수 등 안정적인 수자원을 이용한 해조류 실내 배양 연구가 진행되었다(Kaladharan 2000; Sahoo *et al.* 2002; Hiraoka and Oka

2008). 실내 배양환경에서 해조류 양식에 대한 연구는 바이오매스의 안정적인 확보를 꾀할 수 있으며, 이는 해조류를 이용한 고부가가치 산업의 확대와 발전에 기여할 것이다.

수온, 광량과 영양염은 해조 성장에 영향을 미치는 주요한 요인으로 알려져 있다(Lobban and Harrison 1994; Dawes *et al.* 1999; Harrison and Hurd 2001). 영양염 중, 질소와 인은 해조류의 성장과 생존에 영향을 주는 제한요인으로 작용한다(Zimmerman and Kremer 1984; Brzezinski *et al.* 2013). 또한 질소는 단백질, 핵산과 광합성 색소를 구성하는 필수적인 요소이다(Lobban and Harrison 1994). 이러한 질소 요구량을 충족시키기 위해서 해조는 많은 양의 질소를 필요로 하며, 다양한 형태의 질소[암모늄(NH_4^+), 질산염(NO_3^-), 아질산염(NO_2^-)과 요소(Urea)]를 흡수한다(Turpin 1991; Navarro-Angulo and Robledo 1999; Phillips and Hurd 2003; Rees 2003). 해조는 일반적으로 질소원으로 NH_4^+ 를 사용하는 것으로 알려져 있으나, 질소원 선호도는 해조분류군에 의해 달라질 수 있다(Lobban and Harrison 1994; Wiencke and Bischof 2012). 예를 들어, *Ulva*와 *Codium*은 질소원으로 NO_3^- 보다 NH_4^+ 를 선호하며(Kang *et al.* 2020), *Gracilaria cornea*는 NH_4^+ 와 NO_3^- 를 동일하게 사용한다(Navarro-Angulo and Robledo 1999). 그러나, 대형갈조류인 *Saccharina japonica*와 *Nereocystis luetkeana*는 NH_4^+ 에 비해 NO_3^- 에 높은 선호도를 보였다(Mizuta and Maita 1991; Ahn *et al.* 1998; Li *et al.* 2007; Kang *et al.* 2011). 감태는 대형갈조류에 속하는 다년생으로 계절적인 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Yokohama *et al.* 1987; Kim *et al.* 2016). 따라서, 감태의 성장과 질소원 흡수 능력은 대표적인 계절적 특성인 수온에 의해 달라질 수 있음을 의미한다.

이 연구는 감태의 대량 생산을 위한 실내배양 조건 확립을 위하여, 제주 연안에 생육하는 감태 포자체를 대상으로 수온과 질소원 종류에 따른 성장률과 생화학적 반응을 통하여, 향후 감태의 대량배양을 위한 배양액의 질소원 조성에 관한 유용한 정보를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료 채집 및 순응 조건

실험에 사용된 시료는 제주도 서귀포 문섬 해역(33°13'

13°N, 126°34'04"E)의 수심 10 m에서 생육하는 감태 군락에서 SCUBA diving을 실시하여 계절별로 채집하였다. 영양염 흡수와 생장률 실험을 하기 4일 전, 실험에 사용될 시료를 채집하였고, 채집된 시료는 아이스박스에 담아서 실험실로 이동하였다. 실험 시료는 가입 후, 12~16개월 된 충분히 성숙한 개체로 선정하였다(Kim *et al.* 2018). 시료는 여과된 해수를 이용하여 이물질과 부착생물을 제거한 후, 코르크 보러를 이용하여 자낭반(sorus)이 형성되지 않은 가장 최근에 생성된 엽체에서 직경 22 mm 크기의 디스크 모양으로 절취하였다. 절취된 감태 디스크는 배양기(MLR-352, Panasonic, Japan)에서 3일간 순응시켰다. 순응기간 동안 배양기의 온도는 감태 자연군락에서 HOBO 센서(HOBO pendant temperature/light data logger, Onset Computer Corp., USA)를 설치하여 10분 간격으로 측정하는 수온 자료(봄 17°C, 여름 25°C, 가을 21°C, 겨울 15°C)를 참고하였다(Fig. 1). 배양기의 광량도 자연군락에서 측정된 자료를 기준으로 100~150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 결정하였으며, 광주기는 12:12h(L:D)로 설정하였고 배양 해수는 매일 1회 교환하였다. 실험에 사용된 모든 해수는 문섬 해역의 표층 해수를 취수한 후, 0.22 μm membrane filter로 여과하여 사용하였으며, 모든 배양과정에 에어펌프를 사용하여 지속적으로 공기를 공급하였다.

2. 실험설계 및 배양조건

실험은 배양기에서 순응과정과 동일한 광조건에서 진행하였으며, 계절 조건(또는 수온 조건)과 배양액의 영양염 조건(질소원 종류와 농도)을 조합해서 진행하였다. 계절 조건은 계절별 평균 현장 수온을 반영하여 4가지 조건(봄 17°C, 여름 25°C, 가을 21°C, 겨울 15°C)으로 설정하였다(Fig. 1). 배양액의 영양염 조건은 4가지[대조구(control), 100 μM NH_4^+ 를 넣은 실험구(NH), 100 μM NO_3^- 를 추가한 실험구(NO), 50 μM NH_4^+ 와 50 μM NO_3^- 를 함께 넣은 실험구(NHNO)]로 설정하여 진행하였다. 모든 실험구에서 인산염(PO_4^{3-}) 부족에 따른 해조 생장의 영향을 최소화하기 위해서 각 실험구에 인산염 30 μM 을 추가하였다. 실험은 계절별로 진행되었으며, 각 조건마다 250 mL 삼각플라스크에 건강한 5개의 감태 디스크와 200 mL 배양액을 넣고 10일 동안 배양하였으며, 배양액은 12 시간마다 환수하였다. 대조구는 3반복($n=3$), 실험구는 4반복($n=4$)으로 실험하였다. 실험 전과 후, 감태 디스크의

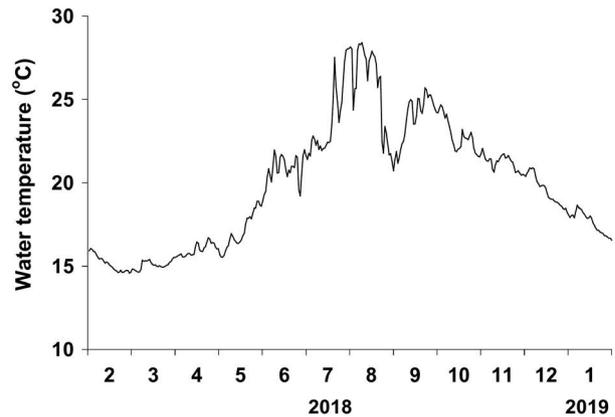


Fig. 1. Seasonal changes in water temperature at a water depth of 10 m at Munseom on Jeju Island, Korea.

생체량(fresh weight; FW), 면적(mm^2), 광합성 색소와 질산환원효소의 활성도를 측정하였다.

3. 생장률과 광합성 색소

감태 생장률을 측정하기 위해서 감태 디스크의 생체량과 면적을 측정하였으며, 감태 디스크의 면적은 디지털카메라(G10, Canon, Japan)로 촬영된 이미지를 ImageJ program(National Institutes of Health, USA)을 이용하여 측정하였다. 감태의 일일생장(Daily growth; DG)과 일일생장률(Daily growth rate; DGR)은 감태 디스크의 생체량과 면적을 이용하여 아래의 식에 각각 대입하여 계산하였다(Yong *et al.* 2013):

$$DG = (W_t - W_0) / t,$$

$$DGR = [(W_t / W_0)^{1/t} - 1] \times 100\%$$

t 는 시간(day), W_0 는 초기의 생체량(또는 면적)과 W_t 는 t 에서의 생체량(또는 면적)을 나타낸다.

감태 엽체 내 광합성 색소 함량은 실험 10일 후, Seely *et al.* (1972)와 Duncan and Harrison (1982)의 방법을 이용하여 측정하였다. 감태 디스크를 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 이용하여 5분간 1차 추출하였고, 2차 추출은 methanol을 이용하여 15분간 반응시켰다. 1차 추출물은 증류수와 함께 480, 582, 631와 665 nm에서, 2차 추출물은 acetone과 증류수와 함께 470, 581, 631와 664 nm에서 흡광도 측정을 실시하여 엽록소 a 와 c (Chlorophyll a and c) 및 푸코산틴(Fucoxanthin)의 농도를 계산하였고 모든 광합성색소의

Table 1. Photosynthetic pigment concentrations (chlorophyll *a*, chlorophyll *c*, and fucoxanthin) and total chlorophyll/fucoxanthin ratio of *Ecklonia cava* under four different nutrient conditions. The values are the mean \pm SE ($n=3-6$). Control (no nutrient addition), NH (100 μ M NH_4^+); NO (100 μ M NO_3^-); NHNO (50 μ M NH_4^+ + 50 μ M NO_3^-).

Parameter	Treatment	Spring	Summer	Autumn	Winter
Chlorophyll <i>a</i> (mg g ⁻¹ FW)	Control	0.1377 \pm 0.0142	0.2832 \pm 0.0162	0.2590 \pm 0.0183	0.2656 \pm 0.0159
	NH	0.1710 \pm 0.0111	0.3254 \pm 0.0165	0.3047 \pm 0.0169	0.2852 \pm 0.0172
	NO	0.1722 \pm 0.0105	0.3674 \pm 0.0220	0.3238 \pm 0.0337	0.3068 \pm 0.0113
	NHNO	0.1613 \pm 0.0085	0.3586 \pm 0.0257	0.3303 \pm 0.0207	0.3497 \pm 0.0165
Chlorophyll <i>c</i> (mg g ⁻¹ FW)	Control	0.0373 \pm 0.0035	0.0712 \pm 0.0061	0.0648 \pm 0.0040	0.0691 \pm 0.0050
	NH	0.0483 \pm 0.0036	0.0790 \pm 0.0043	0.0755 \pm 0.0043	0.0748 \pm 0.0037
	NO	0.0474 \pm 0.0036	0.0932 \pm 0.0057	0.0747 \pm 0.0063	0.0812 \pm 0.0021
	NHNO	0.0426 \pm 0.0020	0.0922 \pm 0.0054	0.0846 \pm 0.0055	0.0894 \pm 0.0039
Fucoxanthin (mg g ⁻¹ FW)	Control	0.1063 \pm 0.0116	0.2003 \pm 0.0152	0.1680 \pm 0.0108	0.1548 \pm 0.0116
	NH	0.1339 \pm 0.0072	0.2349 \pm 0.0134	0.2192 \pm 0.0168	0.1801 \pm 0.0094
	NO	0.1349 \pm 0.0073	0.2649 \pm 0.0172	0.2199 \pm 0.0150	0.1937 \pm 0.0048
	NHNO	0.1265 \pm 0.0048	0.2623 \pm 0.0142	0.2296 \pm 0.0174	0.2171 \pm 0.0103
Total chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	Control	0.1750 \pm 0.0176	0.3544 \pm 0.0222	0.3238 \pm 0.0221	0.3347 \pm 0.0195
	NH	0.2193 \pm 0.0146	0.4044 \pm 0.0196	0.3802 \pm 0.0209	0.3600 \pm 0.0202
	NO	0.2196 \pm 0.0139	0.4606 \pm 0.0272	0.3985 \pm 0.0385	0.3879 \pm 0.0116
	NHNO	0.2040 \pm 0.0102	0.4508 \pm 0.0309	0.4148 \pm 0.0257	0.4390 \pm 0.0199
Total chlorophyll/ Fucoxanthin ratio	Control	1.65 \pm 0.01	1.78 \pm 0.04	1.93 \pm 0.06	2.18 \pm 0.04
	NH	1.63 \pm 0.02	1.74 \pm 0.08	1.75 \pm 0.05	2.00 \pm 0.02
	NO	1.62 \pm 0.03	1.75 \pm 0.07	1.80 \pm 0.05	2.00 \pm 0.03
	NHNO	1.61 \pm 0.03	1.72 \pm 0.08	1.82 \pm 0.04	2.03 \pm 0.03

농도는 mg g⁻¹ FW로 표기하였다.

4. 질산환원효소 활성도

질산환원효소 활성도(nitrate reductase activity) 측정은 *in situ* 방법을 적용하였다(Corzo and Niell 1991). 질산환원효소 활성도 측정 용액은 증류수에 60 mM KNO_3 , 2.5% 1-propanol과 0.1 M KH_2PO_4 를 넣은 후 pH를 8.0으로 조절했다. 질산환원효소 활성도 측정은 삼각플라스크에 측정 용액과 감태 디스크를 넣고 질소가스를 주입하여 공기를 제거하고, 항온수조(30°C)에서 1시간 동안 암반응하여 배양액을 채수하여 sulfanilamide와 NED reagent를 이용하여 아질산염(NO_2^-) 농도를 측정하였다. 분석에 사용된 디스크는 증류수로 세척하여 60°C에서 72시간 이상 건조하여 건중량(dry weight; DW)을 측정하였다. 질산환원효소 활성도($\mu\text{M NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ dry weight h}^{-1}$)는 배양 전과 후의 NO_2^- 농도의 차이를 통해 계산하였다(Teichberg *et al.* 2007).

5. 통계분석

모든 데이터는 평균(means) \pm 표준오차(SE)로 표시하였으며, 통계분석은 IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, NY, USA)을 이용하였다. 통계 분석 전, 모든 자료는 정규성(normality) 및 등분산성(homogeneity of variance) 검정을 실시하였으며, 가정에 위배될 경우에 log-transformation 과정을 거쳐 통계분석을 수행하였다. 계절 조건(수온 조건)과 영양염 배양 조건에 따른 일일생장률, 질산환원효소 활성도와 광합성 색소 농도의 차이는 two-way ANOVA를 이용하여 분석하였다. 분석 값이 유의할 경우, SNK (Student-Newman-Keuls) 검정법을 이용하여 각 자료의 유의성을 검정하였다.

결 과

1. 생장률과 생장 양상

엽체의 무게와 면적으로 측정된 감태 디스크의 생장은

Table 2. Summary of ANOVA results for daily growth (weight, area), daily growth rate (weight, area) and nitrate reductase activity of *Ecklonia cava*

Parameter	Source	df	MS	F-ratio	p-value
Daily growth (weight)	Temperature (T)	3	323.900	29.026	<0.001
	Treatment (Tr)	3	285.398	25.576	<0.001
	T×Tr	9	27.882	2.499	0.014
Daily growth (area)	Temperature (T)	3	2832.068	44.292	<0.001
	Treatment (Tr)	3	1545.411	24.169	<0.001
	T×Tr	9	63.941	2.611	0.011
Daily growth rate (weight)	Temperature (T)	3	69.460	40.949	<0.001
	Treatment (Tr)	3	32.713	19.285	<0.001
	T×Tr	9	3.958	2.333	0.022
Daily growth rate (area)	Temperature (T)	3	75.316	35.840	<0.001
	Treatment (Tr)	3	51.852	24.674	<0.001
	T×Tr	9	3.909	1.860	0.070
Nitrate reductase activity	Temperature (T)	3	1.632	33.524	<0.001
	Treatment (Tr)	3	5.387	110.664	<0.001
	T×Tr	9	0.233	4.785	<0.001

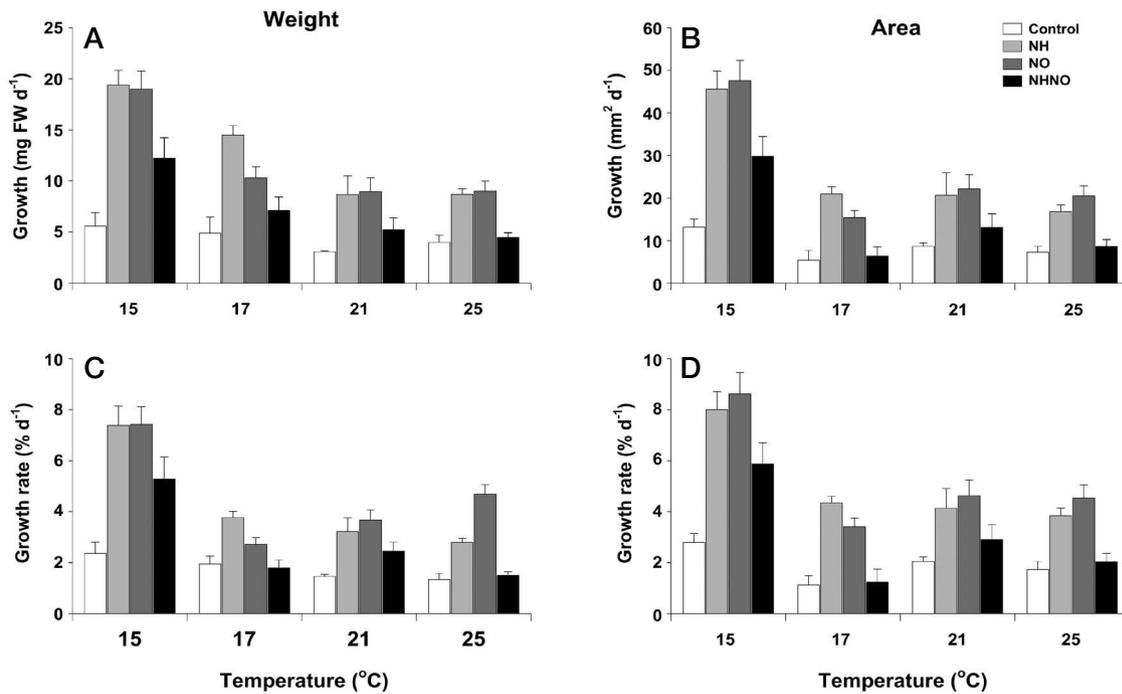


Fig. 2. Daily growth (A and B) and daily growth rate (C and D) of *Ecklonia cava* cultured at 15, 17, 21 and 25°C under four different nutrient conditions based on weight (mg fresh weight) and area (mm²). The experiments were carried out for 10 days. The values are the mean ± SE ($n=3-4$). Control (no nutrient addition), NH (100 μM NH₄⁺); NO (100 μM NO₃⁻); NHNO (50 μM NH₄⁺ + 50 μM NO₃⁻).

뚜렷한 계절적인 경향을 나타냈다 (Table 2, Fig. 2A, B). 감태 엽체는 수온 조건 15°C에서 가장 높은 생장을 보였으

며, 21°C와 25°C에서 가장 낮은 생장을 보였다. 또한, 감태 엽체의 생장은 배양액 실험구 조건에 따라 유의한 차이를

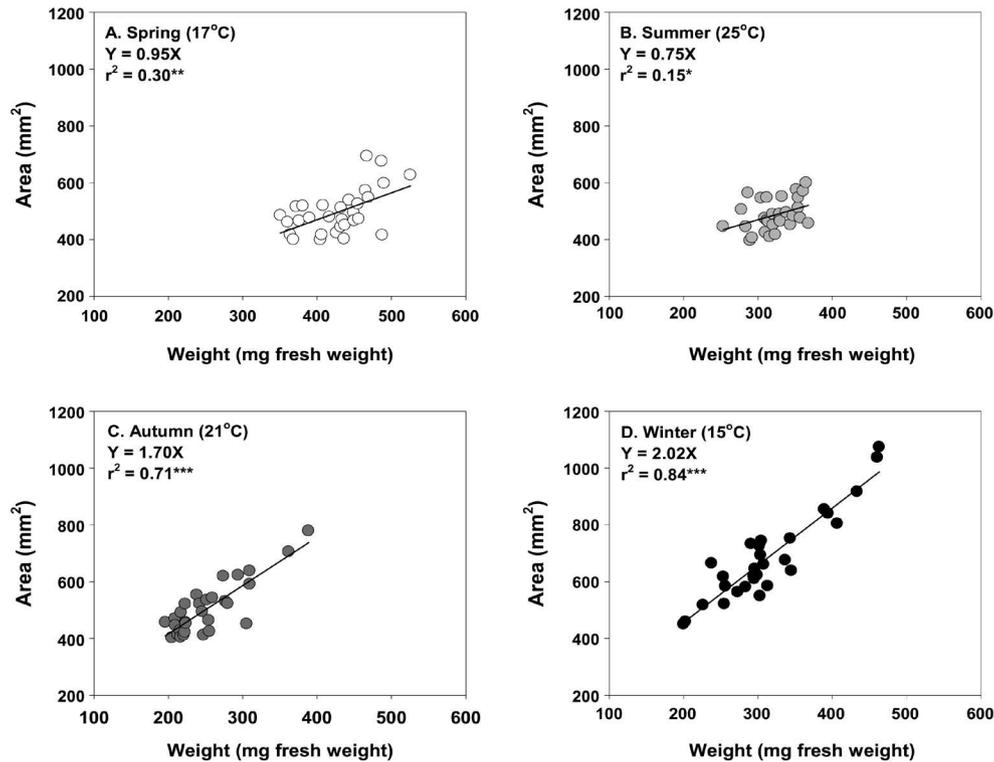


Fig. 3. Relationships between the area (mm^2) and weight (mg fresh weight) of *Ecklonia cava* blades under different nutrient regimes during each season. The relationships between the area and weight of the blades were fitted using the equations $Y = aX$. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

나타냈다 (Table 2, Fig. 2A, B). 감태 엽체는 NH 실험구에서 가장 높은 무게와 면적을 보였으나 NO 실험구와의 통계적 차이가 없었으며 대조구에서 가장 낮은 값이 관찰되었다. 수온 조건 15°C의 NH와 NO 실험구에서 감태의 무게(면적) 생장은 각각 $19.4 \text{ mg fresh weight day}^{-1}$ ($45.6 \text{ mm}^2 \text{ day}^{-1}$)와 $19.0 \text{ mg fresh weight day}^{-1}$ ($47.6 \text{ mm}^2 \text{ day}^{-1}$)로 나타났다. 감태 엽체의 일일생장률은 일일생장과 유사한 양상을 보였다 (Table 2, Fig. 2C, D). 감태 엽체의 연평균 무게(면적) 일일생장률은 NH와 NO 실험구에서 각각 4.6 ± 0.5 (5.4 ± 0.5)와 $4.4 \pm 0.4\% \text{ day}^{-1}$ ($5.4 \pm 0.5\% \text{ day}^{-1}$)로 가장 높았다. 감태의 연평균 일일생장률은 NHNO 실험구에서 중간 값 (2.9 ± 0.4 와 $3.3 \pm 0.5\% \text{ day}^{-1}$) 그리고 대조구에서 가장 낮은 값 (1.7 ± 0.2 와 $2.1 \pm 0.2\% \text{ day}^{-1}$)을 보였다. 감태의 연평균 일일생장률은 15°C에서 최고 값 (5.8 ± 0.5 와 $6.6 \pm 0.5\% \text{ day}^{-1}$)에 이르렀으며, 25°C에서 최저 값 (2.2 ± 0.2 와 $3.0 \pm 0.3\% \text{ day}^{-1}$)을 나타냈다.

10일 동안 배양된 감태 엽체의 무게와 면적과의 상관관계는 수온 조건에 따라 상이한 양상을 나타냈다 (Fig. 3).

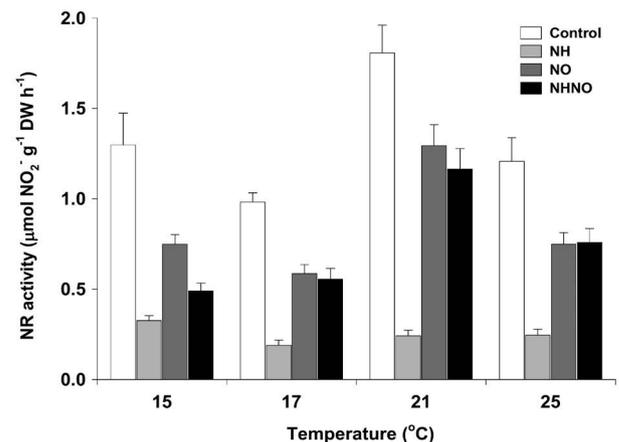


Fig. 4. Nitrate reductase activity of *Ecklonia cava* grown at 15, 17, 21 and 25°C under four different nutrient conditions for 10 days. The values are the mean \pm SE ($n = 3-4$). Control (no nutrient addition), NH ($100 \mu\text{M NH}_4^+$); NO ($100 \mu\text{M NO}_3^-$); NHNO ($50 \mu\text{M NH}_4^+ + 50 \mu\text{M NO}_3^-$).

감태 엽체의 무게와 면적과의 상관성은 수온 조건 21°C ($r^2 = 0.71$)와 15°C ($r^2 = 0.84$)에서 매우 높게 관찰되었으

며, 17°C ($r^2=0.30$)와 25°C ($r^2=0.15$)에서 낮은 상관성을 보였다. 또한 두 변수사이의 기울기 값도 수온에 따라 상이하었는데, 수온 조건 17°C와 25°C에서 기울기의 값은 1 미만이었으며, 21°C와 15°C에서 기울기는 1 이상이였다.

2. 질산환원효소 활성도

감태의 질산환원효소 활성도는 수온 조건에 따라 뚜렷한 경향을 보였다 (Table 2, Fig. 4). 모든 실험구에서 감태의 질산환원효소 활성도는 수온 조건 21°C에서 가장 높은 값 ($1.08 \pm 0.11 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{dry weight h}^{-1}$)을 나타냈으며, 17°C에서 가장 낮은 값 ($0.55 \pm 0.05 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{dry weight h}^{-1}$)을 보였다. 또한 질산환원효소 활성도는 질소원 종류에 따라 유의한 차이를 보였다 (Table 2, Fig. 4). 질산환원효소 활성도는 대조구에서 가장 높은 값 ($1.32 \pm 0.10 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{dry weight h}^{-1}$)을 보였으며, NH 실험구에서 가장 낮은 값 ($0.25 \pm 0.02 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{dry weight h}^{-1}$)을 보였다. NO와 NHNO 실험구에서 질산환원효소 활성도는 각각 0.85 ± 0.06 와 $0.74 \pm 0.06 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{dry weight h}^{-1}$ 를 보였다. 이러한 경향은 모든 수온 조건에서 동일하게 나타났다.

3. 광합성 색소

감태 엽체 내 광합성 색소(엽록소 a, 엽록소 c, 총 엽록소

와 푸코산틴) 함량은 수온 조건에 따라 유의한 차이를 나타냈으며, 17°C에서 가장 낮은 값을 보였다 (Tables 1, 3). 또한 모든 색소는 대조구에서 가장 낮은 값을 보였으며, NHNO 실험구에서 가장 높은 값을 보였다 (Tables 1, 3). 엽록소 a, 엽록소 c와 푸코산틴은 대조구에서 각각 평균 0.248, 0.064와 0.163 mg g^{-1} fresh weight로 측정되었으며, NHNO 실험구에서 각각 평균 0.304, 0.078과 0.212 mg g^{-1} fresh weight로 측정되었다. Total chlorophyll/fucoanthin ratio는 15°C에서 가장 높았으며, 17°C에서 가장 낮았다 (Tables 1, 3). Total chlorophyll/fucoanthin ratio는 다른 실험구보다 대조구에서 높았으며, 대조구 외에 다른 세 실험구는 서로 차이를 보이지 않았다 (Tables 1, 3). Total chlorophyll/fucoanthin ratio는 대조구에서 평균 1.92 ± 0.05 로 가장 높았으며, NHNO 실험구에서 가장 낮은 값 (1.80 ± 0.04)을 보였다.

고 찰

다년생 대형갈조류의 성장율은 겨울과 봄에 높고, 여름과 가을에 낮은 계절적인 양상을 보인다 (Kain 1989; Lüning 1993; Miller 2003). 다년생 갈조류인 감태의 생장은 연구 해역의 환경에 따라 시기적인 차이를 보일 수 있으나, 뚜렷한 계절적인 양상을 보였다 (Yokohama et

Table 3. Summary of ANOVA results for photosynthetic pigments and the total chlorophyll/fucoanthin ratio of *Ecklonia cava*

Parameter	Source	df	MS	F-ratio	p-value
Chlorophyll a	Temperature (T)	3	0.139	59.361	<0.001
	Treatment (Tr)	3	0.018	7.498	<0.001
	T×Tr	9	0.002	0.785	0.630
Chlorophyll c	Temperature (T)	3	0.008	53.342	<0.001
	Treatment (Tr)	3	0.001	8.133	<0.001
	T×Tr	9	0.0002	1.166	0.326
Fucoxanthin	Temperature (T)	3	0.056	52.130	<0.001
	Treatment (Tr)	3	0.011	10.406	<0.001
	T×Tr	9	0.001	0.777	0.638
Total chlorophyll	Temperature (T)	3	0.211	61.594	<0.001
	Treatment (Tr)	3	0.028	8.079	<0.001
	T×Tr	9	0.003	0.861	0.563
Total chlorophyll / Fucoxanthin ratio	Temperature (T)	3	0.833	51.707	<0.001
	Treatment (Tr)	3	0.045	2.801	0.044
	T×Tr	9	0.009	0.533	0.847

al. 1987; Serisawa *et al.* 2003; Kim *et al.* 2012; Hwang *et al.* 2013a). 해조 실내배양 연구에서 각 계절별로 채집된 해조류의 성장률과 형태발달은 여름보다 겨울에 더 높은 것으로 보고되었다(Stewart 1984; Gal-Or and Israel 2004). 이 연구에서 감태 포자체의 생장은 배양 온도에 따라 뚜렷한 차이를 보였으며, 배양액 조건이 다른 모든 실험구에서 동일하게 관찰되었다. 이러한 결과는 현장에서 관찰된 감태 자연개체군의 성장 양상과 유사하였으며, 수온이 감태의 성장을 제한하는 주요 요인임을 의미한다(Kim *et al.* 2016). 본 연구에서 계절에 따른 감태 성장률의 차이는 감태 개체군의 성장 특성과 생존전략과 밀접한 관계가 있는 것으로 생각된다. 제주 해역과 일본에서 감태 생장은 수온이 20°C 이상인 초여름부터 뚜렷하게 감소하였으며, 늦가을까지 자낭반을 형성하여 포자 방출에 따른 엽상부 탈락현상과 생식에 따른 영향으로 새로운 엽체가 발달되지 않은 것으로 알려졌다(Yokohama *et al.* 1987; Haroun *et al.* 1989; Kim *et al.* 2016). 실내에서 진행된 배양 실험에서도 감태 포자체의 성장과 생존은 증가하는 배양 온도에 의해서 감소하며, 이는 배양액 내 낮은 질소 농도에 의해서 가속화된다(Gao *et al.* 2016). 또한 대표적인 대형갈조류인 미역(*Undaria pinnatifida*)의 생존과 성장도 감태와 동일한 경향을 보였다(Gao *et al.* 2013). 이러한 결과는 감태가 고수온조건에서 성장보다 생식에 더 많은 에너지를 사용하는 생존전략으로 인해 성장 저해 현상이 발생하는 것으로 판단된다.

또한 감태 엽체의 무게와 면적과의 상관 관계는 수온 조건에 따라 상이한 양상을 보였다. 수온 15°C와 21°C에서 엽체의 무게와 면적과의 기울기는 기울기 1 미만의 값을 보였는데, 이러한 결과는 감태의 엽체가 무게보다 면적 증가를 통해 생장이 진행되는 것을 의미한다. 그러나 두 변수 사이의 기울기 1 이상으로 나타난 17°C와 25°C에서 감태의 엽체는 면적보다 무게 증가를 통해 생장이 일어나는 것으로 사료된다. 따라서 이러한 감태의 성장 특성을 이용한다면, 양식을 통해 공급된 감태 엽체에서 필요한 물질의 추출 시기를 결정하는 데 중요한 고려 사항이 될 것으로 기대한다.

질소는 해조의 성장, 생산성과 생존을 제한하는 요인으로 널리 알려졌다(Harrison and Hurd 2001; Buschmann *et al.* 2004; Gao *et al.* 2013). 모든 수온 조건에서 엽체의 성장률은 질소를 투입하지 않은 대조구(control)보다 배양액

에 질소를 추가한 NH(100 μM NH_4^+), NO(100 μM NO_3^-)와 NHNO 실험구(50 μM NH_4^+ + 50 μM NO_3^-)에서 더 높은 것으로 관찰되었다. 해조의 성장과 흡수율은 질소원 종류에 따른 흡수 메커니즘의 차이에 의해서 해조 종별로 특이하게 반응할 수 있다(Abreu *et al.* 2011; Pritchard *et al.* 2015). 해조는 에너지 효율이 좋은 NH_4^+ 를 우선적으로 흡수하는 것으로 알려졌으나, 많은 양의 질소를 필요로 하는 대형갈조류는 NH_4^+ 와 NO_3^- 를 동시에 사용하는 것으로 알려졌다(Neori *et al.* 1996; Ahn *et al.* 1998). 그러나 두 가지 질소 형태의 존재는 해조의 영양염 흡수를 방해할 수 있다고 하였다(Ashkenazi *et al.* 2019). 이 연구에서 NH_4^+ 와 NO_3^- 를 동시에 추가한 NHNO 실험구의 감태의 성장률은 대조구보다 높았으나, 단일 형태의 질소를 투입한 NH와 NO 실험구보다 낮은 것으로 관찰되었다. 이는 두 가지 형태의 질소 투입이 해조 성장에 방해가 되었음을 의미하며, 감태의 실내 배양에 있어 NH_4^+ 와 NO_3^- 를 복합적으로 공급하는 것보다 단일 종류의 질소원을 공급하는 것이 성장에 유리할 수 있음을 시사한다.

해조가 NO_3^- 를 이용할 때, 질소환원효소의 합성이 유도되어 활성도가 증가한다(Berges 1997). 해조의 질산환원효소 활성도는 해수 내 NO_3^- 농도와 양의 상관관계를 보이며, NH_4^+ 농도에 의해 억제된다(Weidner and Kiefer 1981; Corzo and Niell 1991; Teichberg *et al.* 2007; Cabello-Pasini *et al.* 2011; Gordillo 2012). 이 연구에서 NO_3^- 를 첨가한 NO와 NHNO 실험구에서 감태의 질산환원효소 활성도는 NH_4^+ 만 첨가한 NH 실험구보다 높게 나타났다. 이는 감태가 성장에 NO_3^- 를 이용했다는 것을 의미하며, NH 실험구의 감태는 NH_4^+ 가 충분히 공급되어 질산환원효소가 활성화되지 않은 것을 말한다. 본 결과는 NH_4^+ 가 풍부한 해수에서 감태의 질산환원효소 활성도가 낮아진다는 이전의 연구결과와 일치하였다(Hwang *et al.* 2011). 그러나 질소를 첨가하지 않은 대조구에서 감태가 높은 질소환원효소 활성도를 보인 것은 해조류의 질산환원효소 활성도가 해수 내의 NO_3^- 농도와 양의 상관관계를 보인다는 기존의 연구결과와 상반된다(Corzo and Niell 1991; Teichberg *et al.* 2007). 이와 같이 대조구에서 관찰된 감태의 질소환원효소 활성도 증가는 질소 결핍조건에서 NH_4^+ 뿐만 아니라 NO_3^- 도 사용하기 위한 감태의 생존전략이라 판단된다(Turpin 1991; Chow and de Oliveira 2008; Young *et al.* 2009). 또한, 해수 내 NO_3^- 농도(<2 μM)가 낮게 유지되며

라도, 해조의 질소환원효소 활성도는 높게 유지될 수 있다 (Young *et al.* 2009). 대형갈조류는 질산환원효소를 줄여 엽체 내부의 질소를 유지하는 질소 보존 메커니즘이 있으나 주변환경에서 낮은 농도의 NO_3^- 가 지속적으로 공급되거나 노출되면, 이러한 메커니즘이 작동하지 않아서 질산환원효소 활성도가 증가할 수 있다 (Korb and Gerard 2000). 이 연구가 진행된 해역은 해수 내 NO_3^- 농도가 연중 약 $3 \mu\text{M}$ 미만으로 관찰되었으나, 외해에 노출되어 연중 조석 차이가 크고 유속이 빠른 조류의 영향을 강하게 받아 해수 순환이 활발하게 일어난다 (Choa and Lee 2000; Ko *et al.* 2008). 이 연구에 사용된 감태도 질소 보존 메커니즘이 발달되지 않았을 가능성이 매우 높을 수 있으나, 이에 대한 추가적이고 체계적인 연구가 선행되어 검증할 필요가 있다.

해조류 엽체 내 광합성 색소 함량은 성장과 빛의 강도와 상관관계를 보였으며 계절적인 경향을 띤다 (Fairhead and Cheshire 2004; Dean and Hurd 2007). 이 연구에서 엽체 내 광합성 색소 함량은 봄에 가장 낮게 측정되었으며, 이러한 경향은 일본 Tei 해역의 감태에서 관찰된 결과와 유사하였다 (Serisawa *et al.* 2001). 이는 감태가 채집된 제주 서귀포 주변 해역의 봄에 관찰된 높은 수중광량이 기인한다 (Park and Park 2013; Kim *et al.* 2016). 또한 광합성 색소 함량은 대조구에서 가장 낮은 값을 보였는데, 이러한 결과는 제한요소로 작용하는 해수 내 질소의 양과 관계가 있는 것으로 보인다. 해조류의 성장에서 질소 부족은 엽록소와 같은 광합성 색소 발달과 광합성 활성에도 부정적인 영향을 미치는 것으로 알려졌다 (Chapman *et al.* 1978; Levy and Gantt 1990). 본 연구 결과에서 질소를 첨가한 실험구에서 광합성 색소의 증가가 관찰되었으며, 이는 질소가 광합성 색소 함량의 증가와 연관이 있다는 것을 의미한다.

결론적으로 이 연구에서 감태 엽체의 생장은 수온 조건과 뚜렷한 경향성을 보였으며, 이는 수온이 성장에 매우 중요한 요인으로 작용하고 있다는 것을 의미한다. 수온 조건 17°C 와 25°C 에서 감태 엽체는 무게 증가, 15°C 와 21°C 에서 면적 증가가 뚜렷하게 관찰되었다. 배양액에 질소원을 추가적으로 첨가한 실험구에서 감태 엽체의 성장, 엽체 내 광합성 색소 함량과 질산환원효소 활성도는 증가하였다. 이는 질소가 감태 엽체의 성장 촉진에 영향을 미치는 것을 의미한다. 그러나 NH_4^+ 와 NO_3^- 를 동시에 투입하여 배양액을 구성하는 것보다 한가지 질소원만을 투입한 배양액이 감태의 성장에 더 좋은 효과를 보였다. 감태의 생

장과 생리학적 특성을 파악하는 것은 감태의 상업적 양식 기술을 증진시키는 데 필수적이며, 감태의 질소원에 따른 성장반응에 대한 연구결과는 실내배양을 위한 최적 질소원을 결정하는 데 중요한 기초자료로 활용될 것이다.

적 요

감태 (*Ecklonia cava*)는 다년생 대형갈조류로서 활용성이 매우 높은 것으로 알려졌다. 이 연구는 감태의 대량 생산을 위한 실내 배양 조건 확립을 위해서 계절과 질소원 종류에 따른 감태 포자체의 성장과 생화학적 반응을 조사하였다. 제주도 서귀포 해역에 생육하는 감태를 계절별로 채집하여 계절별 수온조건 (봄 17°C , 여름 25°C , 가을 21°C 와 겨울 15°C)과 4가지 영양염 조건 [대조구 (control), $100 \mu\text{M NH}_4^+$ 를 넣은 실험구 (NH), $100 \mu\text{M NO}_3^-$ 를 추가한 실험구 (NO), $50 \mu\text{M NH}_4^+$ 와 $50 \mu\text{M NO}_3^-$ 를 함께 넣은 실험구 (NHNO)]에서 배양하여 엽체의 생체량과 면적 변화에 따른 성장률, 질산환원효소 활성도와 광합성 색소 함량을 조사하였다. 감태의 생장은 뚜렷한 계절 변화를 나타냈고, 무게와 면적과의 상관성은 계절별로 차이를 보였다. 무게와 면적의 일일성장률은 겨울에 최고 값 (5.8 ± 0.5 와 $6.6 \pm 0.5 \text{ day}^{-1}$)을 보였고, 여름에 최저 값 (2.2 ± 0.2 와 $3.0 \pm 0.3 \text{ day}^{-1}$)을 나타냈다. 엽체의 일일성장률은 NH와 NO 실험구에서 가장 높았으며 NHNO 실험구에서 중간 값 그리고 대조구에서 가장 낮은 값을 보였다. 감태의 질산환원효소 활성도는 계절적으로 유의한 차이를 나타냈으며, 대조구에서 가장 높고 ($1.32 \pm 0.10 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ dry weight h}^{-1}$), NH 실험구에서 가장 낮았다 ($0.25 \pm 0.02 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ dry weight h}^{-1}$). 엽체 내 광합성 색소의 함량은 대조구에서 가장 낮고 NHNO 실험구에서 가장 높았다. 본 연구 결과는 감태 배양을 위한 배양액을 제작 시, 단일 종류의 질소원으로 제작하는 것이 성장률을 향상시킨다는 것을 보여주었으며, 실내배양에 따른 최적 질소원 종류를 결정하는 데 중요한 기초자료를 제공할 것이다.

사 사

이 논문은 2018년도 제주대학교 교원성과지원사업에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

- Abreu MH, R Pereira, AH Buschmann, I Sousa-Pinto and C Yarish. 2011. Nitrogen uptake responses of *Gracilaria vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss under combined and single addition of nitrate and ammonium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 407:190–199.
- Ahn O, RJ Petrell and PJ Harrison. 1998. Ammonium and nitrate uptake by *Laminaria saccharina* and *Nereocystis luetkeana* originating from a salmon sea cage farm. *J. Appl. Phycol.* 10:333–340.
- Ashkenazi DY, A Israel and A Abelson. 2019. A novel two-stage seaweed integrated multi-trophic aquaculture. *Rev. Aquac.* 11:246–262.
- Berges JA. 1997. Minireview: algal nitrate reductases. *Eur. J. Phycol.* 32:3–8.
- Besada V, JM Andrade, F Schultze and JJ González. 2009. Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption. *J. Mar. Syst.* 75:305–313.
- Bryan GW and LG Hummerstone. 1973. Brown seaweed as an indicator of heavy metals in estuaries in south-west England. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 53:705–720.
- Brzezinski MA, DC Reed, S Harrer, A Rassweiler, JM Melack, BM Goodridge and JE Dugan. 2013. Multiple sources and forms of nitrogen sustain year-round kelp growth: on the inner continental shelf of the Santa Barbara channel. *Oceanography* 26:114–123.
- Buschmann AH, D Varela, M Cifuentes, M del Carmen Hernández-González, L Henríquez, R Westermeier and JA Correa. 2004. Experimental indoor cultivation of the carrageenophytic red alga *Gigartina skottsbergii*. *Aquaculture* 241:357–370.
- Cabello-Pasini A, V Macías-Carranza, R Abdala, N Korbee and FL Figueroa. 2011. Effect of nitrate concentration and UVR on photosynthesis, respiration, nitrate reductase activity, and phenolic compounds in *Ulva rigida* (Chlorophyta). *J. Appl. Phycol.* 23:363–369.
- Chapman ARO, JW Markham and K Lüning. 1978. Effects of nitrate concentration on the growth and physiology of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) in culture. *J. Phycol.* 14:195–198.
- Choa JH and JB Lee. 2000. Bioecological characteristics of coral habitats around Moonsom, Cheju Island, Korea I. Environment properties and community structures of phytoplankton. *J. Korean Soc. Oceanogr.* 5:59–69.
- Chow F and MC de Oliveira. 2008. Rapid and slow modulation of nitrate reductase activity in the red macroalga *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta): influence of different nitrogen sources. *J. Appl. Phycol.* 20:775–782.
- Corzo A and FX Niell. 1991. Determination of nitrate reductase activity in *Ulva rigida* C. Agardh by the *in situ* method. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 146:181–191.
- Dawes CJ, J Orduna-Rojas and D Robledo. 1999. Response of the tropical red seaweed *Gracilaria cornea* to temperature, salinity and irradiance. *J. Appl. Phycol.* 10:419.
- Dean PR and CL Hurd. 2007. Seasonal growth, erosion rates, and nitrogen and photosynthetic ecophysiology of *Undaria pinnatifida* (Heterokontophyta) in southern New Zealand 1. *J. Phycol.* 43:1138–1148.
- Duncan MJ and PJ Harrison. 1982. Comparison of solvents for extracting chlorophylls from marine macrophytes. *Bot. Mar.* 25:445–448.
- Fairhead VA and AC Cheshire. 2004. Seasonal and depth related variation in the photosynthesis-irradiance response of *Ecklonia radiata* (Phaeophyta, Laminariales) at West Island, South Australia. *Mar. Biol.* 145:415–426.
- Gal-Or S and A Israel. 2004. Growth responses of *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta) in laboratory and outdoor cultivation. *J. Appl. Phycol.* 16:195–202.
- Gao X, H Endo, K Taniguchi and Y Agatsuma. 2013. Combined effects of seawater temperature and nutrient condition on growth and survival of juvenile sporophytes of the kelp *Undaria pinnatifida* (Laminariales; Phaeophyta) cultivated in northern Honshu, Japan. *J. Appl. Phycol.* 25:269–275.
- Gao X, H Endo, M Nagaki and Y Agatsuma. 2016. Growth and survival of juvenile sporophytes of the kelp *Ecklonia cava* in response to different nitrogen and temperature regimes. *Fish. Sci.* 82:623–629.
- Gordillo FJL. 2012. Environment and algal nutrition. pp. 67–86. In: *Seaweed Biology* (Wiencke C and K Bischof eds.). Springer, Verlag Berlin Heidelberg.
- Haroun R, Y Yokohama and Y Aruga. 1989. Annual growth cycle of the brown alga *Ecklonia cava* in central Japan. *Sci. Mar.* 53:349–356.
- Harrison PJ and CL Hurd. 2001. Nutrient physiology of seaweeds: application of concepts to aquaculture. *Cah. Biol. Mar.* 42:71–82.
- Heo SJ, SC Ko, SH Cha, DH Kang, HS Park, YU Choi, D Kim, WK Jung and YJ Jeon. 2009. Effect of phlorotannins isolated from *Ecklonia cava* on melanogenesis and their protective effect against photo-oxidative stress induced by UV-B radiation. *Toxicol. In Vitro* 23:1123–1130.
- Hiraoka M and N Oka. 2008. Tank cultivation of *Ulva prolifera* in deep seawater using a new “germling cluster” method. *J. Appl. Phycol.* 20:97–102.
- Hong CH and JH Choa. 2008. An experimental study on development of artificial reefs using volcanic stones for marine forests. *J. Ocean Eng. Technol.* 22:103–108.
- Hwang EK, YG Gong, IK Hwang, EJ Park and CS Park. 2013a.

- Cultivation of the two perennial brown algae *Ecklonia cava* and *E. stolonifera* for abalone feeds in Korea. J. Appl. Phycol. 25:825–829.
- Hwang EK, IK Hwang, EJ Park, YG Gong and CS Park. 2013b. Cultivation technique of *Ecklonia cava* Kjellman for restoration of natural resources. Korean J. Environ. Biol. 31:347–352.
- Hwang JR, YH Kang, JH Oak, SR Lee and IK Chung. 2011. Effects of nitrogen form and light conditions on the nitrate reductase activity of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) and *Ecklonia cava* (Phaeophyta). Korean J. Fish. Aquat. Sci. 44:64–70.
- Kain JM. 1989. The seasons in the subtidal. Eur. J. Phycol. 24:203–215.
- Kaladharan P. 2000. Artificial seawater for seaweed culture. Indian J. Fish. 47:257–260.
- Kang JW. 1966. On the geographical distribution of marine algae in Korea. Bull. Pusan Fish. Coll. 7:1–125.
- Kang SK. 2011. Economic analysis of the seaweed forest creation project: the case of Jeju Woodo Seokwang-ri. J. Fish. Bus. Admin. 42:37–55.
- Kang YH, SR Park and IK Chung. 2011. Biofiltration efficiency and biochemical composition of three seaweed species cultivated in a fish-seaweed integrated culture. Algae 26:97–108.
- Kang YH, S Kim, SK Choi, HJ Lee, IK Chung and SR Park. 2020. A comparison of the bioremediation potential of five seaweed species in an integrated fish-seaweed aquaculture system: implication for a multi-species seaweed culture. Rev. Aquac. <https://doi.org/10.1111/raq.12478>
- Kim S, YH Kang, TH Kim and SR Park. 2016. Recovery pattern and seasonal dynamics of kelp species, *Ecklonia cava* population formed following the large-scale disturbance. J. Korean Soc. Oceanogr. 21:103–111.
- Kim S, SH Youn, HJ Oh, SK Choi, YH Kang, TH Kim, HJ Lee, KS Choi and SR Park. 2018. Stipe length as an indicator of reproductive maturity in the kelp *Ecklonia cava*. Ocean Sci. J. 53:595–600.
- Kim YD, JP Hong, HI Song, MS Park, TS Moon and HI Yoo. 2012. Studies on technology for seaweed forest construction and transplanted *Ecklonia cava* growth for an artificial seaweed reef. J. Environ. Biol. 33:969.
- Kim YK, JY Lee, IS Kwak and JK Kim. 2020. Diffusion characteristics of *Ecklonia cava* spores around marine forest reefs. J. Korean Soc. Mar. Environ. Saf. 26:93–102.
- Ko JC, JH Koo and MH Yang. 2008. Characteristics of ocean environmental factors and community structure of macrobenthos around Munseom, Jeju Island, Korea. Korean J. Malacol. 24:215–228.
- Koirala P, HA Jung and JS Choi. 2017. Recent advances in pharmacological research on *Ecklonia* species: a review. Arch. Pharm. Res. 40:981–1005.
- Korb RE and VA Gerard. 2000. Nitrogen assimilation characteristics of polar seaweeds from differing nutrient environments. Mar. Ecol. Prog. Ser. 198:83–92.
- Lee W, G Ahn, JY Oh, SM Kim, N Kang, EA Kim, KN Kim, JB Jeong and YJ Jeon. 2016. A prebiotic effect of *Ecklonia cava* on the growth and mortality of olive flounder infected with pathogenic bacteria. Fish Shellfish Immunol. 51:313–320.
- Lee Y and SY Kang. 2001. A catalogue of the seaweeds in Korea. Publishing Department of Cheju National University. Jeju, Korea.
- Levy I and E Gantt. 1990. Development of photosynthetic activity in *Porphyridium purpureum* (rhodophyta) following nitrogen starvation. J. Phycol. 26:62–68.
- Li JY, Y Murauchi, M Ichinomiya, Y Agatsuma and K Taniguchi. 2007. Seasonal changes in photosynthesis and nutrient uptake in *Laminaria japonica* (Laminariaceae; Phaeophyta). Aquacult. Sci. 55:587–597.
- Li YX and SK Kim. 2011. Utilization of seaweed derived ingredients as potential antioxidants and functional ingredients in the food industry: An overview. Food Sci. Biotechnol. 20:1461–1466.
- Lobban CS and PJ Harrison. 1994. Seaweed ecology and physiology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lüning K. 1993. Environmental and internal control of seasonal growth in seaweeds. Hydrobiologia 260/261:1–14.
- Miller SM. 2003. Ecophysiology of *Ecklonia radiata* (Alariaceae: Laminariales) in Doubtful Sound, Fiordland. University of Otago. Dunedin, New Zealand.
- Mizuta H and Y Maita. 1991. Effects of nitrate supply on ammonium assimilations in the blade of *Laminaria japonica* (Phaeophyceae). Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ. 42:107–114.
- Navarro-Angulo L and D Robledo. 1999. Effects of nitrogen source, N: P ratio and N-pulse concentration and frequency on the growth of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) in culture. Hydrobiologia 398:315–320.
- Neori A, MD Krom, SP Ellner, CE Boyd, D Popper, R Rabinovitch, PJ Davison, O Dvir, D Zuber and M Ucko. 1996. Seaweed biofilters as regulators of water quality in integrated fish-seaweed culture units. Aquaculture 141:183–199.
- Ohno M. 1985. Marine forest-its ecology and constructing technology. Kaiyo Kagaku 17:706–713.
- Park JK and JH Park. 2013. Estimation of solar radiation distribution considering the topographic conditions at Jeju island. J. Korean Soc. Agric. Eng. 55:39–48.
- Phillips JC and CL Hurd. 2003. Nitrogen ecophysiology of intertidal seaweeds from New Zealand: N uptake, storage and utilisation in relation to shore position and season. Mar. Ecol. Prog. Ser. 264:31–48.
- Pritchard DW, CL Hurd, J Beardall and CD Hepburn. 2015. Re-

- stricted use of nitrate and a strong preference for ammonium reflects the nitrogen ecophysiology of a light-limited red alga. *J. Phycol.* 51:277–287.
- Rees TAV. 2003. Safety factors and nutrient uptake by seaweeds. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 263:29–42.
- Sahoo D, M Ohno and M Hiraoka. 2002. Laboratory, field and deep seawater culture of *Eucheuma serra*-a high Lectin yielding red alga. *Algae* 17:127–133.
- Schiewer S and MH Wong. 1999. Metal binding stoichiometry and isotherm choice in biosorption. *Environ. Sci. Technol.* 33:3821–3828.
- Seely GR, MJ Duncan and WE Vidaver. 1972. Preparative and analytical extraction of pigments from brown algae with dimethyl sulfoxide. *Mar. Biol.* 12:184–188.
- Serisawa Y, Y Yokohama, Y Aruga and J Tanaka. 2001. Photosynthesis and respiration in bladelets of *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta) in two localities with different temperature conditions. *Phycol. Res.* 49:1–11.
- Serisawa Y, M Aoki, T Hirata, A Bellgrove, A Kurashima, Y Tsuchiya, T Sato, H Ueda and Y Yokohama. 2003. Growth and survival rates of large-type sporophytes of *Ecklonia cava* transplanted to a growth environment with small-type sporophytes. *J. Appl. Phycol.* 15:311–318.
- Shibata T, K Ishimaru, S Kawaguchi, H Yoshikawa and Y Hama. 2007. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae. *J. Appl. Phycol.* 20:705–711.
- Stewart JG. 1984. Vegetative growth rates of *Pterocladia capillacea* (Gelidiaceae, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 27:85–92.
- Teichberg M, LR Heffner, S Fox and I Valiela. 2007. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity, internal N pools, and growth of *Ulva lactuca*: responses to long and short-term N supply. *Mar. Biol.* 151:1249–1259.
- Tominaga H, Y Serisawa and M Ohno. 2004. Seasonal changes in net production of the bladelets and size of the proximal blade of *Ecklonia cava* in Tosa Bay, Kochi Prefecture. *Jpn. J. Phycol.* 52:13–19.
- Turpin DH. 1991. Effects of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. *J. Phycol.* 27:14–20.
- Weidner M and H Kiefer. 1981. Nitrate reduction in the marine brown alga *Giffordia mitchellae* (Harv.) Ham. *Z. Pflanzphysiol. Bd.* 104:341–351.
- Wi MY, EK Hwang, SC Kim, MS Hwang, JM Baek and CS Park. 2008. Regeneration and maturation induction for the free-living gametophytes of *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta). *Korean J. Fish. Aquat. Sci.* 41:381–388.
- Wiencke C and K Bischof. 2012. *Seaweed Biology: Novel Insights into Ecophysiology, Ecology and Utilization*. Springer, Berlin.
- Wijesekera I, NY Yoon and SK Kim. 2010. Phlorotannins from *Ecklonia cava* (Phaeophyceae): Biological activities and potential health benefits. *Biofactors* 36:408–414.
- Wijesinghe WAJP and YJ Jeon. 2012. Exploiting biological activities of brown seaweed *Ecklonia cava* for potential industrial applications: a review. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 63:225–235.
- Yokohama Y, J Tanaka and M Chihara. 1987. Productivity of the *Ecklonia cava* community in a bay of Izu Peninsula on the Pacific Coast of Japan. *Bot. Mag. Tokyo* 100:129–141.
- Yong YS, WTL Yong and A Anton. 2013. Analysis of formulae for determination of seaweed growth rate. *J. Appl. Phycol.* 25:1831–1834.
- Yoshida T, K Yoshinaga and Y Nakajima. 2000. Check list of marine algae of Japan (revised in 2000). *Jpn. J. Phycol.* 48:113–166.
- Young EB, JA Berges and MJ Dring. 2009. Physiological responses of intertidal marine brown algae to nitrogen deprivation and resupply of nitrate and ammonium. *Physiol. Plant.* 135:400–411.
- Zimmerman RC and JN Kremer. 1984. Episodic nutrient supply to a kelp forest ecosystem in Southern California. *J. Mar. Res.* 42:591–604.