

DNA 바코드를 이용한 제주도 연안 파래대발생(green tide)을 형성하는 갈파래(genus *Ulva*) 군집구조 및 주요 종 구성의 시간적 변이

박혜진, 변서연, 박상울^{1,2}, 이혁제*

상지대학교 생명과학과 분자생태및진화학연구소, ¹제주대학교 해양생명과학과 하구및연안생태학연구소,

²제주대학교 기후변화대응센터

Temporal variation in the community structure of green tide forming macroalgae (Chlorophyta; genus *Ulva*) on the coast of Jeju Island, Korea based on DNA barcoding

Hye Jin Park, Seo Yeon Byeon, Sang Rul Park^{1,2} and Hyuk Je Lee*

Molecular Ecology and Evolution Laboratory, Department of Biological Science, Sangji University, Wonju 26339, Republic of Korea

¹Estuarine and Coastal Ecology Laboratory, Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

²Center for Climate Change Response, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

*Corresponding author

Hyuk Je Lee

Tel. 033-730-0436

E-mail. hyukjelee@sangji.ac.kr

Received: 2 November 2022

Revised: 5 December 2022

Revision accepted: 13 December 2022

Abstract: In recent years, macroalgal bloom occurs frequently in coastal oceans worldwide. It might be attributed to accelerating climate change. "Green tide" events caused by proliferation of green macroalgae (*Ulva* spp.) not only damage the local economy, but also harm coastal environments. These nuisance events have become common across several coastal regions of continents. In Korea, green tide incidences are readily seen throughout the year along the coastlines of Jeju Island, particularly the northeastern coast, since the 2000s. *Ulva* species are notorious to be difficult for morphology-based species identification due to their high degrees of phenotypic plasticity. In this study, to investigate temporal variation in *Ulva* community structure on Jeju Island between 2015 and 2020, chloroplast barcode *tufA* gene was sequenced and phylogenetically analyzed for 152 specimens from 24 sites. We found that *Ulva ohnoi* and *Ulva pertusa* known to be originated from subtropical regions were the most predominant all year round, suggesting that these two species contributed the most to local green tides in this region. While *U. pertusa* was relatively stable in frequency during 2015 to 2020, *U. ohnoi* increased 16% in frequency in 2020 (36.84%), which might be associated with rising sea surface temperature from which *U. ohnoi* could benefit. Two species (*Ulva flexuosa*, *Ulva procera*) of origins of Europe should be continuously monitored. The findings of this study provide valuable information and molecular genetic data of genus *Ulva* occurring in southern coasts of Korea, which will help mitigate negative influences of green tide events on Korea coast.

Keywords: climate change, green tide, Jeju Island, DNA barcoding, *Ulva*

서 론

최근 기후변화의 가속화로 인해 전 세계 각지의 연안에서 해조류 대발생 (macroalgal bloom)이 빈번하게 발생하고 있다 (Ye *et al.* 2011; Smetacek and Zingone 2013; Xiao *et al.* 2021). 해수온의 상승, 영양염류의 증가 등과 같은 환경 변화로 인해 해조류 대발생의 빈도, 규모 및 강도가 꾸준히 증가추세에 있다 (Ye *et al.* 2011; Zhang *et al.* 2019). 특히, 녹조류 (Chlorophyta) 중 갈파래속 (genus *Ulva*)에 속하는 *Ulva*종의 대량 증식으로 인한 녹조 (파래) 대발생 (green tide) 현상은 지역 경제뿐만 아니라 연안 생태계에도 막대한 피해를 주고 있다 (Valiela *et al.* 1997; Wang *et al.* 2009; Teichberg *et al.* 2010). 파래대발생의 원인 중은 갈파래속에 속하는 종으로서 일반적으로 해양환경에 서식하며 강어귀 및 담수환경에서도 서식한다 (Fletcher 1996). 암모늄 (NH_4^+), 질산염 (NO_3^-), 아질산염 (NO_2^-)과 같은 무기질소가 풍부한 부영양화된 연안환경에서 대량 번식하며 주로 강어귀와 만에서 파래대발생이 일어난다고 알려져 있

나 (Valiela *et al.* 1997), 최근에는 연안생태계 도처에서 발생하고 있다. 갈파래류는 기질에 부착하지 않고 생육이 가능한 생리·생태적 특성 때문에 (Schramm and Nienhuis 1997; Hiraoka *et al.* 2004a; Wang *et al.* 2018), 염삼체가 부유하며 대량으로 증식하여 해변을 잠식시키고 무산소 환경을 만들어 산소고갈을 유발한다 (Bolam *et al.* 2000). 이러한 생태환경의 급격한 변화로 인해 연안에 서식하는 갈피 종인 거머리말 (*Zostera marina*)과 같은 해초 (seagrass) 개체수 감소 (McGlathery 2001)와 더불어 저서동물 군집구조의 변화를 야기시킨다고 알려져 있으나 (Norkko and Bonsdorff 1996), 이와 관련된 파래대발생이 연안생태계에 미치는 생태적 영향에 대한 더 많은 연구가 필요하다.

우리나라의 경우 2000년대부터 제주도 동북부 해안을 중심으로 파래대발생이 연중 지속적으로 관찰되며 (Fig. 1), 최근에는 남해와 동해 일대에서도 국지적으로 관찰되고 있다 (Park 2014; Kang *et al.* 2019). 또한, 중국 동부 연안에서 유래된 파래대발생 패치가 우리나라 남서해 연안으로 유입되기도 하였다 (Kang *et al.* 2014). 이러한 국내 해역에



Fig. 1. Green algal *Ulva* mats (local green tides) observed at Sinyang (upper left; Site. 1), Jongdal (upper right; Site. 3), Bangsatap (bottom left; Site. 10), and Geumneung (bottom right; Site. 15) study sites on Jeju Island, Korea. Photos were taken in May 2020.

서 파래대발생 현상을 유발하는 갈파래류에 대한 군집구조(community structure), 종 조성(species composition) 및 주요 우점종, 종 다양성(species diversity)과 지리적 분포에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다(Kang *et al.* 2019; Lee *et al.* 2019). 또한, 파래대발생을 일으키는 갈파래류 군집의 시간적 변화를 이해하는 것은 최근 기후변화로 인한 연안 환경의 급격한 변화에 따른 파래군집이 어떻게 반응하는가를 구명하는 데 기여할 수 있을 것이다.

갈파래류는 환경변화에 따라 형태적 발현이 다르게 나타나는, 즉 형태적 발현의 가소성이 높은 표현형적응성(phenotypic plasticity) 때문에 형태적으로 종을 동정하는 것이 거의 불가능하다(Loughnane *et al.* 2008; Hofmann *et al.* 2010; Wolf *et al.* 2012). 현재 DNA 기반 분자 유전학적 기술이 발전함에 따라, 형태적으로 종 식별이 모호한 갈파래류 분류군의 경우 분자마커(molecular marker)를 이용한 분자계통 분석을 수행하여 종 동정이 이루어져 왔다(Destombe *et al.* 2010; Saunders and Kucera 2010; Kirkendale *et al.* 2013; Steinhagen 2021). 전 세계적으로 대략 100여 종의 파래종이 보고되었고, 이 중 한국의 갈파래류는 18종이 기록되었다. 분자계통학적 분석을 적용하여 굽은갈파래(*Ulva flexuosa*)와 *Ulva rigida* 종이 2014년 한국 남해안에서 처음으로 기록되었고(Lee *et al.* 2014), *Ulva torta* 종은 동해안에 분포하는 것이 최초로 기록된 바 있다(An and Nam 2017). 그럼에도 불구하고 분자데이터를 이용한 종 판별 기반 갈파래류 생태조사연구는 국내에서 매우 미흡한 실정이다.

파래대발생을 생태적으로 이해하고 나아가 피해 저감을 위해서는 이 현상을 일으키는 주요 파래종들을 분자계통학적 분석을 통하여 정확하게 파악하는 것이 우선이다. 이전 선행 연구에서 2015년 4월 파래대발생을 일으키는 주요 종 파악을 위해 핵 DNA ITS (internal transcribed spacer)와 엽록체 DNA *tufA* (chloroplast elongation factor Tu) 유전자를 이용하여 분자계통학적 연구가 수행되었으며, 갈파래류 종 동정에서 *tufA* 유전자의 종 판별 해상도가 높게 나타나 더 유용하였다(Kang *et al.* 2019). 또한, 다른 연구에서도 *tufA* 유전자가 다른 핵 DNA 분자마커에 비해 종 수준에서 더 높은 해상도를 나타내는 결과가 보고된 바 있다(Saunders and Kucera 2010; Lee *et al.* 2019).

본 연구에서는 엽록체 DNA *tufA* 유전자를 이용한 분자계통학적 분석을 수행하여 파래대발생이 연중 내내 발생하고 있는 제주도 전 연안의 봄철(2020년 5월) 파래 군집

구조, 종 조성 및 주요 우점종을 파악하고자 하였다. 또한, 선행 연구에서 조사된 제주도 2015년 4월 파래군집 자료와 계절적으로 동일한 본 연구(2020년 5월)의 파래 군집 구조를 비교 분석하여 5년간의 시간적 변화에 따라 군집 구조와 종 다양성 등의 차이를 평가하였다. 본 연구 결과는 우리나라 제주도 연안에서 종종 발생하는 파래대발생의 주범이 되는 갈파래류 파래종에 대한 유전자원 정보를 제공하여 추후 이 분야 연구에 귀중한 자료가 될 것으로 기대한다. 또한, 제주 연안 파래군집을 지속적이고 정기적으로 모니터링함으로써 기후변화에 따른 파래대발생의 변동양상을 파악할 수 있을 것이다.

재료 및 방법

1. 연구대상 지역

연구대상지는 제주도 연안에서 파래대발생이 관찰되는 해역 중에서 해안선을 따라 24개의 조사정점을 선정하였다(Fig. 2; Table 1). 이전 선행 연구(Kang *et al.* 2019)와 비교 시 8개 정점(오조, 하도, 김녕항, 조천, 애월항, 한림항, 모슬포항, 서귀포항)이 본 연구에서 새롭게 추가되었고, Kang *et al.* (2019) 연구의 23개 조사정점 중 16개 정점을 포함하였다(Fig. 2).

해안도로나 둑과 같은 지형물에 의해 조사해역 내에서 연안 환경이 지리적으로 격리된 경우, 채집 해역에서 내륙 쪽의 구역을 ‘안’, 연안 쪽의 구역을 ‘밖’으로 구분하였다. 예를 들어, 토끼섬(Tokki-seom; Population ID: 6A, 6B)은 해안도로에 의해 구분되어 해안도로를 중심으로 inside Tokki-seom (안)과 outside Tokki-seom (밖)으로 구분하였다. 함덕(Hamdeok)도 유사한 방식으로 구분하였다(Table 1). 채집지점 정보는 Table 1에 기재하였다.

2. 유전자 분석을 위한 시료 채취 및 전처리

이전 선행 연구(Kang *et al.* 2019)에서는 2015년 4월 제주도 전 연안 23개 지점으로부터 총 215개체를 엽록체 DNA *tufA* 계통분석에 이용하였다. 본 연구에서는 2020년 5월 5~8일 기간 24개 조사 지점에서 갈파래류 시료를 채집하였다. 모든 채집 해역 현장에서 육안으로 구별되는 형태형(morphotype)당 5개체 이상을 채집하였으며, 같은 채

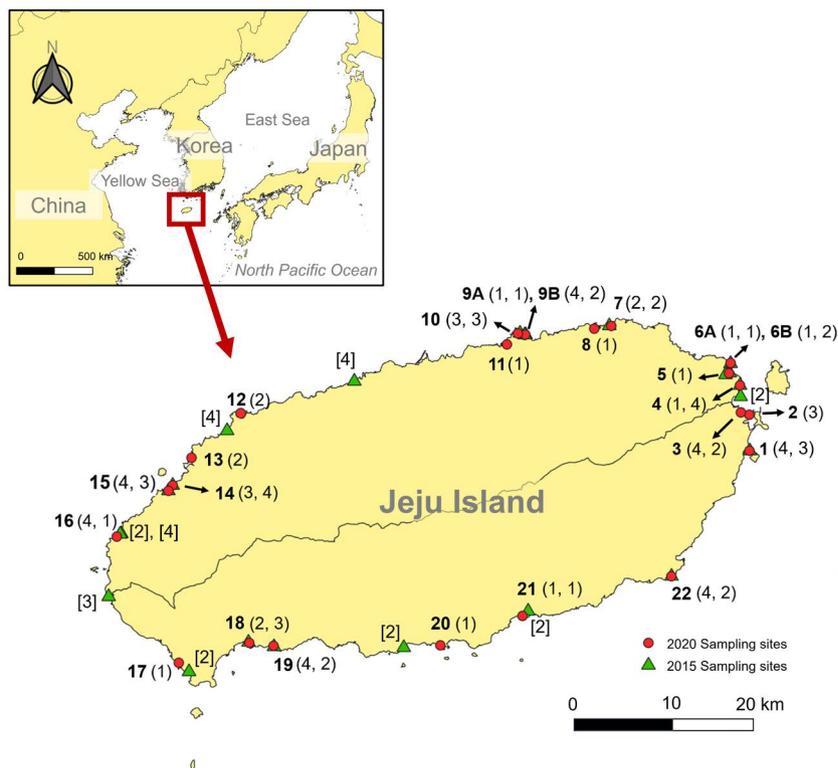


Fig. 2. Map showing 24 collection sites for *Ulva* species along the coast of Jeju Island, Korea. Sampling sites for 2020-year are indicated by red circles and those for 2015-year are shown by green triangles. The sampling site IDs and their names are given in Table 1. The number within the parentheses shows the number of *Ulva* species identified in 2020. When collection sites are the same as in a previous study (Kang *et al.* 2019), the number of species found in 2015 and 2020 at a particular site is displayed side by side. Numbers inside the brackets indicate the number of *Ulva* species identified in 2015 (Kang *et al.* 2019).

집해역 내에서 2~3 m 간격으로 시료를 채취하여 유전적으로 동일한 시료가 채집되는 것을 방지하였다. 총 514개 체 시료를 확보하였으며, 채집된 시료는 4°C 이하로 온도를 유지하며 실험실로 운반하였고, 모든 시료는 DNA 추출 전에 사진을 촬영하였다. 촬영이 완료된 시료는 담수로 여러 회 세척하고 실온에 1차적으로 하룻밤 건조시켰으며 건조된 샘플은 건조기를 이용해 60°C에서 최소 24시간 이상 완전히 건조시켰다. 완전히 건조된 시료는 TissueLyserII (Qiagen, USA)를 사용하여 분쇄하였다. 분쇄된 분말 조직 시료는 2.0 mL 튜브에 실리카겔과 함께 보관하였으며 유전자 분석까지 자동 제습 기능이 있는 데시케이터에 보관하였다. 조사정점별 형태형당 2~3개체씩 유전자 분석을 수행하였고 총 152개 시료를 본 연구를 위한 유전자 분석에 이용하였다.

3. Genomic DNA 추출 및 엽록체 DNA *tufA* PCR

Genomic DNA (gDNA) 추출은 i-genomic Plant DNA

Extraction Mini Kit (iNtRON Biotechnology, Korea)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 gDNA의 농도는 Qubit 2.0 Fluorometer (Invitrogen, USA)를 이용하여 측정하였다. 엽록체 DNA (cpDNA)의 *tufA* (Saunders *et al.* 2010) 유전자는 중합효소연쇄반응 (Polymerase chain reaction; PCR)을 수행하여 증폭하였다. 사용된 primer 정보는 다음과 같다:

TufGF4 (5'-GGN GCN GCN CAA ATG GAY GG-3')
TufAR (5'-CCT TCN CGA ATM GCRAAW CGC-3')

PCR 반응은 10×Dream Taq Green buffer (Thermo Scientific Inc., USA) 1.5 μL, 2.5 mM dNTPs (Bio Basic Inc., Canada) 1.5 μL, 10 pmol forward/reverse primers 0.5 μL, 0.2 units of Taq DNA polymerase (Thermo Scientific Inc., USA) 0.1 μL, template genomic DNA (~15 ng μL⁻¹) 및 멸균된 증류수 9.9 μL를 혼합하여 총 15 μL의 부피로 2720 thermal cycler (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 실행하였다. PCR 증폭은 94°C에서 4분간 초기 변성 (denaturation) 후 94°C

Table 1. Detailed geographic information of sampling sites of *Ulva* species along coasts of Jeju Island, Korea in May 2020

Population ID	Sampling site	Latitude	Longitude
1	Sinyang	33°26'5.30"N	126°55'22.79"E
2	Ojo (Seongsan harbor)	33°28'13.87"N	126°55'20.90"E
3	Jongdal	33°28'22.10"N	126°54'45.15"E
4	Jongdal (cultivation)	33°29'58.93"N	126°54'40.82"E
5	Hado	33°30'42.01"N	126°53'53.60"E
6A	inside Tokki-seom	33°31'17.25"N	126°53'59.70"E
6B	outside Tokki-seom	33°31'18.58"N	126°54'0.29"E
7	Gimnyeong	33°33'28.36"N	126°45'29.69"E
8	Gimnyeong harbor	33°33'18.01"N	126°44'17.19"E
9A	inside Hamdeok	33°32'53.75"N	126°39'20.21"E
9B	outside Hamdeok	33°32'54.79"N	126°39'22.53"E
10	Bangsatab	33°32'58.91"N	126°38'51.04"E
11	Jocheon	33°32'19.38"N	126°38'4.48"E
12	Aewol harbor	33°28'2.89"N	126°19'13.77"E
13	Hallim harbor	33°25'22.63"N	126°15'43.30"E
14	Hyeopjae	33°23'43.36"N	126°14'24.36"E
15	Geumneung	33°23'23.61"N	126°14'6.44"E
16	Sinchang	33°20'37.41"N	126°10'29.09"E
17	Moseulpo harbor	33°13'9.00"N	126°14'59.50"E
18	Hwasun	33°14'23.27"N	126°19'58.08"E
19	Daepyeong	33°14'13.56"N	126°21'42.02"E
20	Seogwipo harbor	33°14'21.34"N	126°33'31.84"E
21	Wimi	33°16'8.94"N	126°39'20.34"E
22	Pyoseon	33°18'34.58"N	126°49'52.98"E

에서 1분간 변성, 45°C에서 30초간 결합(annealing), 72°C에서 1분간 신장(extension) 반응을 35회 반복하였으며, 이후 72°C 7분으로 최종 신장 반응을 수행하였다. PCR 산물은 2%의 agarose gel에서 전기영동을 통해 증폭 여부를 확인하였으며, 확인된 PCR 산물은 1,000 U mL⁻¹ Exonuclease I (New England BioLabs, USA) 0.4 µL와 20,000 U mL⁻¹ Shrimp Alkaline Phosphatase (rSAP) (New England BioLabs, USA) 1.6 µL, PCR 산물 8 µL를 혼합하여 37°C에서 15분, 85°C에서 15분 동안 정제(purification)과정을 거친 후 Macrogen Inc. Sequencing (Korea)에 의뢰하여 ABI PRISM 3730xl automated DNA sequencer (Applied Biosystems)로 염기서열 분석을 수행하였다.

4. DNA 염기서열 정렬 및 분자계통수 분석

DNA를 추출하고 획득된 152개 염기서열은 Geneious prime ver. 2021.0.3 (Kearse et al. 2012)을 이용하여 편집하였으며, 프로그램 내 Clustal Omega ver. 1.2.2를 이용하여

정렬하였다. 분자유전학적 종 동정을 위해 선행 연구에서 *tufA* 계통수 분석을 통해 밝혀진 갈파래류의 17종 56개 단상형을 사용하였으며 그중 미확인 갈파래류 3개의 단상형이 포함되었다(Kang et al. 2019; Table 2). *tufA* 계통수 분석에는 외군을 포함하여 총 58개의 염기서열 NCBI 데이터를 참조로 사용하였으며 참고문헌 정보는 Table 2에 나타내었다. 외군(outgroup)으로는 2개의 *Blidingia* sp.의 염기서열을 사용하였다(GenBank accession numbers: MK992087, HQ610240).

정렬된 염기서열은 최적 모델을 구현하기 위해 jModel-test ver. 2.1.7를 사용하여 JC (Jukes-Cantor) 모델로 선정하였다. 근린결합법(Neighbour joining; NJ) 분석은 MEGA ver. 7.0 (Tamura et al. 2013)을 이용하여 JC (Jukes-Cantor) 모델로 1,000회 반복검증(bootstrap)을 실시하였다. 최대우도법(Maximum likelihood; ML) 분석은 PhyML ver. 3.1 프로그램을 사용하여 JC 모델로 1,000회 반복 검증하여 수행하였다.

Table 2. Detailed information of species names, GenBank accession numbers, and relevant references for 58 *tufA* DNA sequences used for molecular phylogenetic analyses for *Ulva* species identification (Fig. 3)

<i>Ulva</i> species	Accession no.	Reference	<i>Ulva</i> species	Accession no.	Reference	
<i>Ulva ohnoi</i>	JN029335	Kirkendale <i>et al.</i> (2013)	<i>Ulva compressa</i>	HQ610290	Saunders and Kucera (2010)	
	MK992043	Kang <i>et al.</i> (2019)		MK992195	Kang <i>et al.</i> (2019)	
	MK992140	Kang <i>et al.</i> (2019)		MK992200	Kang <i>et al.</i> (2019)	
	MK992173	Kang <i>et al.</i> (2019)		JN029292	Kirkendale <i>et al.</i> (2013)	
	MK992157	Kang <i>et al.</i> (2019)		<i>Ulva howensis</i>	JN029312	Kirkendale <i>et al.</i> (2013)
	MK992139	Kang <i>et al.</i> (2019)		<i>Ulva intestinalis</i>	JN029320	Kirkendale <i>et al.</i> (2013)
	MK992218	Kang <i>et al.</i> (2019)		AY454399	O'Kelly <i>et al.</i> (2004)	
<i>Ulva lactuca</i>	JN029306	Kirkendale <i>et al.</i> (2013)	<i>Ulva lobata</i>	HQ610375	Saunders and Kucera (2010)	
	HQ610359	Saunders and Kucera (2010)	AB561079	Matsumoto <i>et al.</i> (2011)		
<i>Ulva laetevirens</i> (<i>U. rigida</i>)	HQ610428	Saunders and Kucera (2010)	<i>Ulva arasakii</i>	MK992082	Kang <i>et al.</i> (2019)	
	HE600178	Wolf <i>et al.</i> (2012)		MK992103	Kang <i>et al.</i> (2019)	
	JN029325	Kirkendale <i>et al.</i> (2013)		MK992104	Kang <i>et al.</i> (2019)	
<i>Ulva gigantea</i>	MK992167	Kang <i>et al.</i> (2019)	MK992044	Kang <i>et al.</i> (2019)		
	HQ610297	Saunders and Kucera (2010)	MK992080	Kang <i>et al.</i> (2019)		
	MK992051	Kang <i>et al.</i> (2019)	MK992072	Kang <i>et al.</i> (2019)		
<i>Ulva californica</i>	MK992052	Kang <i>et al.</i> (2019)	<i>Ulva pertusa</i> (= <i>Ulva australis</i>)	MK992045	Kang <i>et al.</i> (2019)	
	JN029283	Kirkendale <i>et al.</i> (2013)	JN029265	Kirkendale <i>et al.</i> (2013)		
	KM255003	Saunders (2014)	HQ610379	Saunders and Kucera (2010)		
	HQ610279	Saunders and Kucera (2010)	KF195528	Lawton <i>et al.</i> (2013)		
<i>Ulva torta</i>	HQ610437	Saunders and Kucera (2010)	<i>Bliadingia</i> sp.	MK992087	Kang <i>et al.</i> (2019)	
	MK992135	Kang <i>et al.</i> (2019)	HQ610240	Saunders and Kucera (2010)		
	MK992178	Kang <i>et al.</i> (2019)	<i>Ulva stenophylla</i>	HQ610434	Saunders and Kucera (2010)	
<i>Ulva procera</i>	MK992100	Kang <i>et al.</i> (2019)	<i>Ulva prolifera</i>	EF595334	Rinkel <i>et al.</i> (2012)	
	MK992088	Kang <i>et al.</i> (2019)	<i>Ulva linza</i>	HQ610368	Saunders and Kucera (2010)	
	MK992078	Kang <i>et al.</i> (2019)	<i>Ulva flexuosa</i>	MK992051	Kang <i>et al.</i> (2019)	
	MK992108	Kang <i>et al.</i> (2019)	MK992052	Kang <i>et al.</i> (2019)		
	MK992067	Kang <i>et al.</i> (2019)	MK992131	Kang <i>et al.</i> (2019)		
	HQ610393	Saunders and Kucera (2010)	<i>Ulva</i> sp.	MK992193	Kang <i>et al.</i> (2019)	
	MK992117	Kang <i>et al.</i> (2019)	MK992144	Kang <i>et al.</i> (2019)		

결과 및 고찰

1. 분자 계통학적 분석 기반 제주도 연안 파래 군집구조 및 주요 종

엽록체 DNA *tufA*를 바코드(barcode) 유전자로 이용한 분자계통학적 분석을 수행하여 제주도 연안 24개 해역에 분포하는 갈파래속 152개체로부터 709 bp의 염기서열을 확보하였다. 정확한 종 동정을 위해 기존에 밝혀진 갈파래 종 56개 단상형과 함께 계통수 분석을 수행하여 계

통수에서 단계통(monophyly)을 형성할 시 동일 “종”으로 정의하였으며(Kang *et al.* 2019), 그 결과 갈파래 7종을 확인하였다(Fig. 3). 152개체 중 큰갈파래(*Ulva ohnoi*) 56개체(36.84%), 구멍갈파래(*Ulva pertusa*; syn. *Ulva australis*) 55개체(36.18%), *Ulva californica* 17개체(11.18%), *Ulva laetevirens* (= *U. rigida*) 15개체(9.87%), 긴통갈파래(*Ulva procera*) 3개체(1.97%), 굽은갈파래(*U. flexuosa*)와 *Ulva arasakii* 종은 각각 2개체(1.32%), 미동정 개체 2개체로 갈파래속 7종이 확인되었다(Fig. 4). 미동정 개체의 경우는

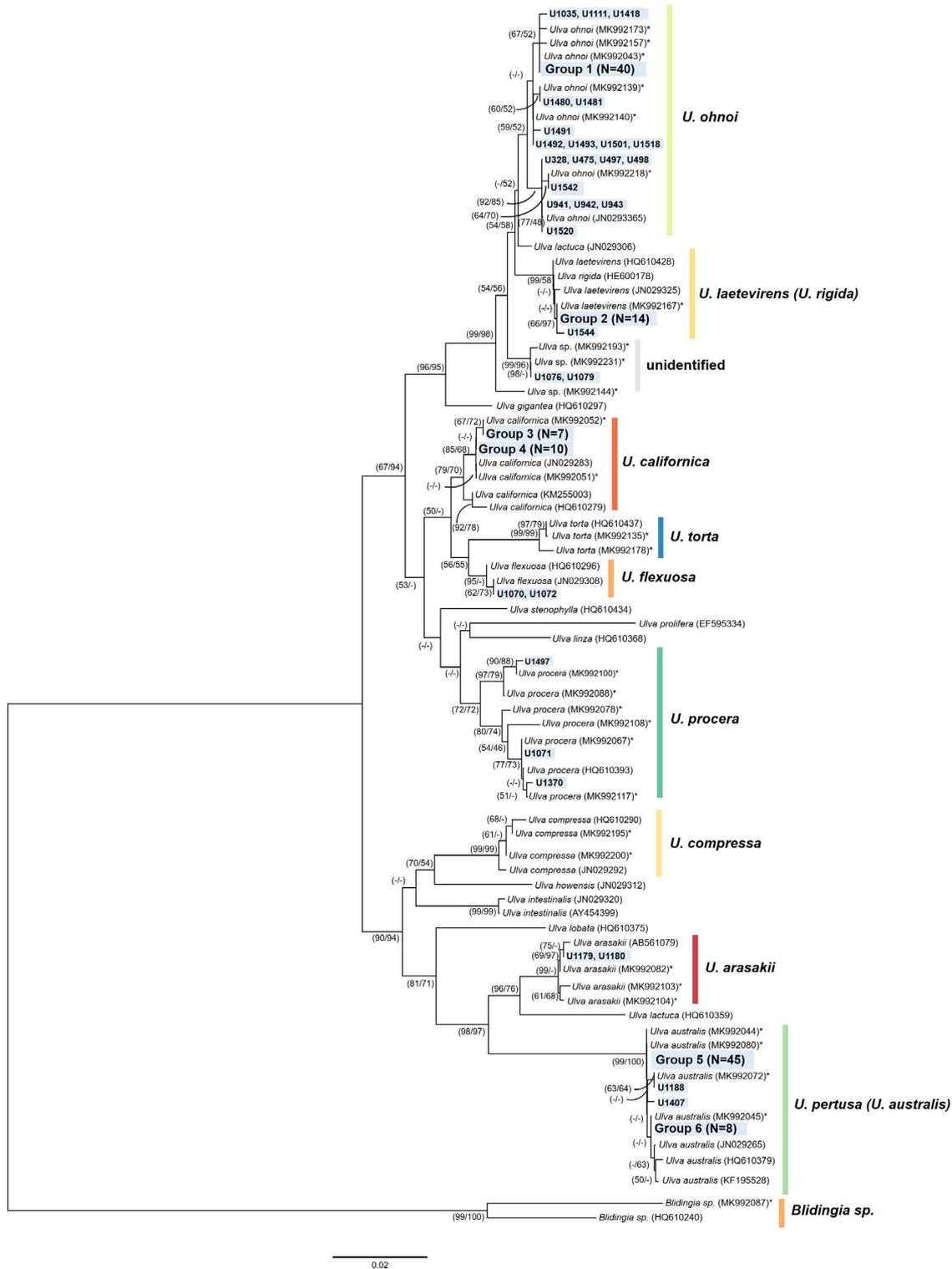


Fig. 3. Neighbor-joining (NJ) phylogeny based on 152 *tufA* sequences of *Ulva* and *Blidingia* species. Reference sequences were obtained from GenBank (Table 2) and used for phylogenetic analysis of species identification. Among these reference sequences, samples collected in 2020-year are highlighted in bold and shaded in light blue. A large number of specimens found within a particular clade are marked as “Group” with the total number of specimens [e.g., Group 1 (N = 40)]. Numbers on nodes indicate bootstrap values for neighbor-joining (NJ) and maximum likelihood (ML), respectively.

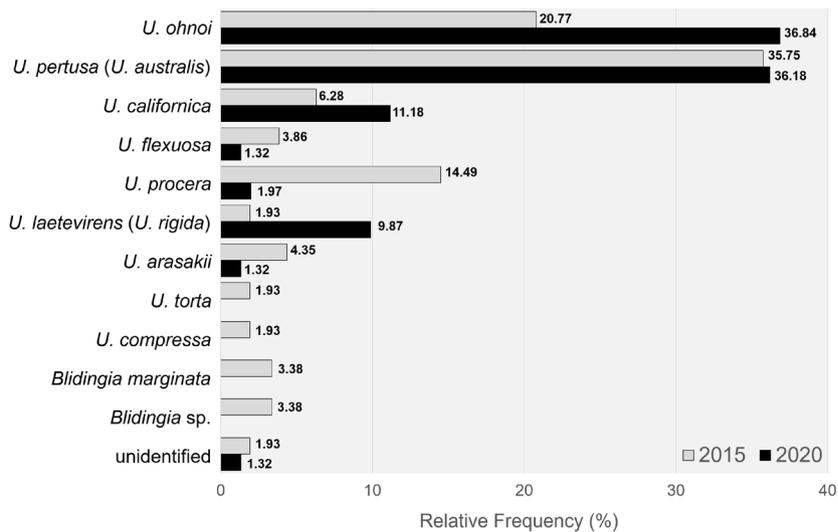


Fig. 4. Temporal variation in the *Ulva* community structure (relative frequency) between 2015 and 2020 on the coast (2015: 23 sites, 2020: 24 sites) of Jeju Island, Korea.

기준에 밝혀진 특정 파래 종과 단계통을 형성하는 것이 확인되지 않았다(‘unidentified’; Fig. 3). 2020년 봄철 제주도 연안 파래군집을 구성하는 우점종은 큰갈파래와 구멍갈파래로 나타났다. 따라서 이 두 종이 제주도 연안에서 파래대발생을 일으키는 주요 종으로 판단된다. 본 연구에서 분자계통학적 분석을 통해 동정된 갈파래 7종의 형태 사진은 Fig. 5에서 확인할 수 있다. 큰갈파래(Fig. 5a)는 아열대 또는 열대지역이 원산지인 종으로서 여름철 고수온에서도 높은 성장률을 보이는 것으로 알려져 있다(Hiraoka et al. 2004b). 큰갈파래는 작은 원반형의 부착기로 주로 암반에 부착하여 성장하나, 기저로부터 탈락된 부유엽상체도 빠른 영양분 흡수로 영양생식(vegetative reproduction)을 통해 증식하기 때문에 연안에서 종종 파래대발생을 일으키는 것으로 알려져 있다(Hiraoka et al. 2004b). 본 연구팀의 현장조사에서도 큰갈파래 종은 기저에서 탈락된 상태의 부유개체 비율이 70% 이상 높게 관찰되었다(Park et al. 2022). Hanyuda and Kawai (2018)의 연구 결과에 따르면 *Ulva pertusa* Areschoug, 1851과 *Ulva australis* Kjellman, 1897이 동종이명(synonyms)으로 간주되며 본 연구의 결과에서도 *U. pertusa*, *U. australis* 개체들은 단계통을 형성하여 동일 종으로 식별되었으며 이 분류군을 구멍갈파래[*U. pertusa* (= *U. australis*)]로 지칭하였다. 구멍갈파래는 일본의 남부와 서부의 온대 지역에서 파래대발생을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 특히 일본 중부 태평양 연안의 온대

해역에서도 파래대발생을 형성하는 것으로 알려져 있다(Hiraoka et al. 2004a, b). 또한, 이 종은 겨울기간 동안 비교적 높은 생물량을 유지하는 것으로 보고된 바 있으며(Park et al. 2014; Yoshida et al. 2015), 연안에 대량으로 번식하여 파래대발생 현상을 일으키는 주요 종인 것으로 보인다. 외래종으로 알려진 *U. californica*의 경우 북아메리카 태평양 연안에 서식하는 종으로서 해상운송을 위한 선체에 의해 아일랜드와 영국을 포함하는 유럽, 지중해, 오세아니아 및 아시아에 최근 도입된 것으로 보고되었다(Loughnane et al. 2008; Wolf et al. 2012; Steinhagen et al. 2019). 이 종은 10개월 이상의 광량이 부족한 환경과 같은 가혹한 환경 조건에서도 생존이 유지될 수 있는 생리·생태적 특성이 있다고 보고된 바 있으며, 이로 인해 아일랜드와 영국 등지에서 대량으로 발생한 엽상체들이 부유하고 해안을 잠식하며 파래대발생 현상을 일으킨다고 보고되었다(Santelices et al. 2002). 또 다른 유럽 원산지 외래종인 긴통갈파래와 굵은갈파래의 경우 다양한 운송 매개체를 통해 유입되는 것으로 알려져 있다(Mineur et al. 2008). 이 두 종이 우리나라 제주 연안에서 파래대발생을 일으키는 주요 구성 종은 아니지만, 해외에서 대발생의 원인종으로 종종 보고되고 있어 추후 한국에서도 파래대발생을 일으킬 가능성이 있다(Flagella et al. 2007; Mineur et al. 2008; Flagella et al. 2010). 2015년과 2020년 모두 제주 연안에서 관찰된 이 두 외래종에 대한 향후 지속적인 모니터링이 필요하다. 또한, 갈파래

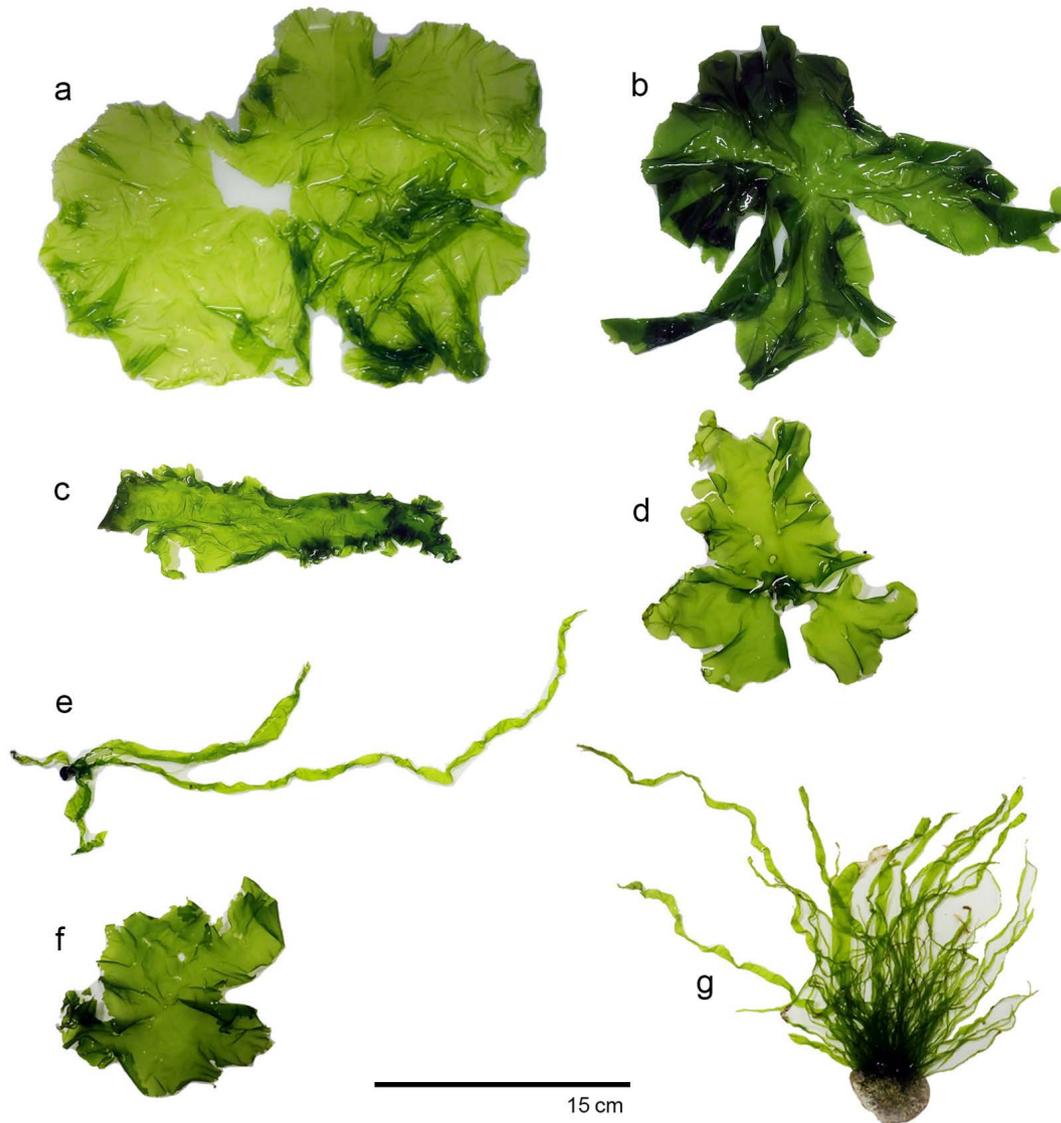


Fig. 5. Seven *Ulva* species identified by *tufA*-based phylogeny. Samples were collected in May 2020 on coasts of Jeju Island. The scale bar is 15 cm [a. *U. ohnoi*; b. *U. arasaki*; c. *U. californica*; d. *U. pertusa* (= *U. australis*); e. *U. procer*a; f. *U. laetevirens* (= *U. rigida*); g. *U. flexuosa*].

는 높은 표현형적응성으로 인해 형태적 종 동정이 매우 어려워 종별 생체량(biomass), 피도(percent cover) 등의 정량적 분석은 본 연구에서 수행되지 못했지만, 갈파래 전체 생체량, 피도 등의 시·공간적 변이에 대한 연구는 파래대발생의 변화양상을 이해하는 데 반드시 필요할 것으로 생각된다.

2. 제주도 연안 파래 군집구조의 5년간 시간적 변이

파래대발생의 군집구조와 종 다양성의 시간적 변화를 확인하기 위해, 선행 연구에서 밝혀진 2015년 4월과 계절

적으로 동일한 본 연구의 2020년 5월의 갈파래 종의 종 구성을 비교한 결과, 갈파래 종은 2015년에 9종 2020년에 7종으로, 2015년 확인되었던 *U. torta*와 *U. compressa* 종은 2020년에는 확인되지 않았다. 전체 종 구성의 상대빈도를 비교한 결과 (Fig. 4), 2015년의 경우 구멍갈파래, 큰갈파래 종이 각각 35.75%, 20.77% 순으로 군집을 구성하였고, 2020년의 경우 각각 36.18%, 36.84%로 확인되어 우점종과 아우점종에는 차이가 있었다. 2015년과 2020년 모두 파래대발생을 일으키는 주요 종은 큰갈파래와 구멍갈파래이며, 5년의 시간적 변화에도 불구하고 4~5월 봄철에 두 종

의 전체 갈파래 종 구성에서 차지하는 비율이 높게 나타났다. 아열대가 원산지인 큰갈파래가 대략 16% 증가한 반면에 구멍갈파래는 거의 차이가 없었다. 일반적으로 해조류는 온도에 대하여 성장률이 민감하게 반응하며(Choi *et al.* 2020) 큰갈파래의 경우 20°C 이상 25°C의 온도에서 더 높은 성장 속도를 가진다고 보고되었으며(Zanolla *et al.* 2019; Nakamura *et al.* 2020), 제주도에 서식하는 큰갈파래는 20°C에서 가장 높은 성장률을 보였다(Kang *et al.* 2021). 우리나라 해역의 평균 해수면 온도(Sea surface temperature; SST)는 1968년도부터 2018년도까지 51년간 평균 1.23°C 증가하였고 이 수치는 전 세계 평균 SST 추세보다 2.5배 높은 수치로 보고되었다(Han and Lee 2020). 또한 국립수산물학원(National Institute of Fisheries Science; NIFS)의 정선해양 관측자료(nifs.go.kr/kodc/soo_list.kodc)에서 남해 해역의 정선-정점 중 제주도과 인접한 정선-정점지역(203-03, 204-06, 313-02, 314-05)을 대상으로 2015년과 2020년 4월 SST 변화 추이를 비교한 결과 2015년에는 각각 12.85°C, 15.39°C, 14.53°C, 16.02°C였으며, 2020년에는 13.53°C, 16.50°C, 15.34°C, 17.05°C로 나타나 모든 정선-정점 지역의 수온이 증가하였음을 알 수 있다. 이전에 수행된 생리·생태 연구에서도 20°C 이상의 높은 수온에서 큰갈파래가 구멍갈파래보다 성장률이 유의하게 높게 나타났고, 그 차이가 20°C에서 가장 컸으며 이러한 결과는 고수온 환경에서 큰갈파래의 높은 적응력을 시사한다(Nakamura *et al.* 2020). 따라서 해수면 온도의 상승은 구멍갈파래보다 고수온에 대해 적응력이 높은 큰갈파래의 성장에 기여하였을 것으로 예상되며, 2015년에 비해 2020년 갈파래류의 종 구성에 큰갈파래의 비율이 증가하였을 것으로 추정할 수 있다(Fig. 4). 일본에서도 큰갈파래는 해수온도가 온난한 남서연안에 파래대발생을 형성하는 반면에, 구멍갈파래는 북동연안에서 형성하는 경향이 있다(Nakamura *et al.* 2020). 큰갈파래의 경우 기후변화 가속화에 따른 해양생태계의 높은 CO₂ 환경에서 폭발적인 성장 가능성이 있다고 최근에 보고되었다(Kang *et al.* 2021). 구멍갈파래는 부착 또는 부유 형태로 봄에서 초 여름철인 4~6월에 발생하며 생물량은 5월에 정점에 달하고 6월에서 9월 사이에 유의하게 감소하였다고 보고되었으며(Kim *et al.* 2004), 큰갈파래의 경우 8월 중순에 최대 생물량에 도달하고 11월부터는 급감하는 경향을 보인다고 보고되었다(Hiraoka *et al.* 2004b). Kawai *et al.* (2007)의 연구에 따르면 봄에서 초여

름철에 구멍갈파래가 우점한 반면, 가을에서 초겨울철에는 큰갈파래가 우점하였다고 보고되었다. 따라서 두 종은 대체로 온대, 혹은 아열대 해역에서 성장하는 특성 때문에 5년의 시간적 변이에도 불구하고 4~5월 봄철에 전체 종 구성에서 차지하는 비율이 높게 나타난 것으로 판단된다.

긴통갈파래 종은 중국과 일본에서 파래대발생을 형성하는 주요 종으로(Zhang *et al.* 2011), 2015년에 14.49%, 2020년에는 1.97%로 확인되었다. *Ulva lactevirens* (= *U. rigida*) 종은 2015년에 1.93%, 2020년에는 9.87%로 확인되었다. 이 종은 아일랜드 하구에서 관찰되는 파래대발생의 주요 종으로 11월에 어린 엽상체가 관찰되기 시작하여 다음연도 5월까지 성장이 지속되면서 최대 생물량을 나타낸다(Haritonidis 1978; Wan *et al.* 2017). 기후변화에 따른 해양 환경 변화로 인해 제주 연안에 서식하는 갈파래 군집의 향후 종 구성에도 변화가 있을 것으로 예상되며 이에 따른 장기적인 모니터링을 통해 파래대발생을 일으키는 주요 구성 종 조성의 비율에 변화가 있는지 추적하는 후속 연구가 필요하다. 또한, 파래대발생 저감을 위해서는 주요 원인 종을 정확히 판별하는 것과 해당 종의 생리·생태적 특성을 이해하는 것이 매우 중요하다. 본 연구의 결과로 제주도 연안에 파래대발생을 일으키는 주요 갈파래 종에 대한 분자계통학적 자료를 제공하고 기후변화에 따른 환경 변화에 의한 군집구조의 변동양상과 종 구성 변화에 대해 기초적인 데이터를 제공하여 향후 파래대발생 저감을 위한 후속 연구의 기반이 될 것이다.

적 요

가속화되는 기후변화로 인해 전 세계 각지의 연안에서 해조류 대발생(macroalgal bloom)이 빈번하게 일어나고 있다. 특히, 녹조류의 대량 증식으로 인한 녹조(파래) 대발생(green tide) 현상은 지역 경제뿐만 아니라 연안 생태계 환경에도 막대한 피해를 주고 있다. 우리나라의 경우 2000년대부터 제주도 동북부 해안을 중심으로 파래대발생이 연중 지속적으로 관찰되며, 최근에는 남해와 동해 일대에서도 국지적으로 관찰되고 있다. 파래대발생의 원인 종은 갈파래속(Chlorophyta; genus *Ulva*)으로 알려져 있으며, 기후변화의 영향으로 해수 온도의 상승과 담지하수 및 인근 지역 오염수 배출로 인한 질소와 인의 대량 유입으로 인한

영양염류 증가가 주요 원인으로 추정되고 있다. 갈파래속은 환경변화에 의해 형태적 발현의 가소성이 높은 표현형 적응성 (phenotypic plasticity) 때문에 형태적 종 동정은 거의 불가능하다. 갈파래류 종 판별을 위해서는 분자유전학적 분석이 수행되어야 하나 현재 분자데이터를 이용한 갈파래 종 분포, 군집구조와 같은 생태조사연구는 매우 미흡한 실정이다. 파래대발생 피해 저감을 위해서는 파래대발생 주요 종들을 분자계통학적 분석을 통하여 정확하게 파악하는 것이 우선이다. 선행 연구에서는 2015년 파래대발생을 일으키는 주요 종 파악을 위해 핵 DNA ITS와 엽록체 DNA *tufA* (chloroplast elongation factor Tu) 유전자를 이용하여 분자계통학적 분석을 수행하였으며, 종 동정에는 *tufA* 유전자가 더 정확한 결과를 나타냈다. 따라서 본 연구에서는 *tufA* 유전자를 이용해 2015~2020년 제주도 연안에서 파래대발생을 일으키는 주요 구성 갈파래 종의 군집구조 및 종 다양성을 파악하고 종 구성의 시간적 변이를 확인하고자 하였다.

본 연구에서는 온대와 아열대 해역에서 주로 성장하는 것으로 알려진 큰갈파래와 구멍갈파래 종이 파래대발생의 주요 구성 종임을 확인하였다. 구멍갈파래는 2015년(35.75%)에서 2020년(36.18%) 기간 상대빈도의 변화가 거의 없고 안정적으로 유지되었으나, 큰갈파래의 경우 2015년(20.77%)에 비해 2020년(36.84%) 빈도가 대략 16% 증가하였다. 이러한 결과는 기후변화와 연관된 평균 해수면 온도의 상승에 큰갈파래의 높은 성장률 및 적응력과 관련이 있을 수 있으며, 제주도의 갈파래 군집을 구성하는 종 수는 2015년에는 9종이었으나 2020년에는 7종으로 감소하는 것으로 나타났다. 또한, 유럽 원산지 외래종인 긴통갈파래와 굵은갈파래가 2015년과 2020년 모두 제주 연안에서 관찰되어 이 두 종에 대한 향후 지속적인 모니터링이 필요하다. 본 연구의 결과는 우리나라 연안에서 발생하는 파래대발생의 저감을 위해 주요 종인 갈파래속 (genus *Ulva*)에 대한 분자유전학적 데이터에 대한 정보를 제공하고자 한다.

CRedit authorship contribution statement

HJ Park: Methodology, Software, Formal analysis, Data curation, Writing - original draft, Visualization. SY Byeon: Methodology, Investigation, Data curation, Writing - review & editing, Visualization. SR Park: Conceptualization, Methodology, Validation, Writing - review & editing. HJ Lee: Conceptualiza-

tion, Methodology, Validation, Data curation, Writing - original draft, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

사 사

본 연구는 해양수산부 해양수산환경기술개발사업 ‘해양생태계 교란생물과 유해해양생물의 관리기술개발 (20190518)’과 상지대학교 대학원의 지원을 받아 수행되었습니다. 또한, 이 논문은 2022년도 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행되었습니다(20220559, 기후변화에 따른 해양생태계 반응·변화 연구). 본 연구 수행을 위하여 현장 시료 채집에 도움을 준 제주대학교 해양생명과학과 하구및연안생태학연구실, 상지대학교 생명과학과 분자생태및진화학연구실 대학원 및 학부 학생들께 감사를 표합니다.

REFERENCES

- An JW and KW Nam. 2017. First record of *Ulva torta* (Ulvales, Chlorophyta) in Korea. Korean J. Environ. Biol. 35:329–334. <https://doi.org/10.11626/KJEB.2017.35.3.329>
- Bolam SG, TF Fernandes, P Read and D Raffaelli. 2000. Effects of macroalgal mats on intertidal sandflats: an experimental study. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 249:123–137. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(00\)00185-4](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(00)00185-4)
- Choi SK, YH Kang and SR Park. 2020. Growth responses of kelp species *Ecklonia cava* to different temperatures and nitrogen sources. Korean J. Environ. Biol. 38:404–415. <https://doi.org/10.11626/KJEB.2020.38.3.404>
- Destombe C, M Valero and ML Guillemin. 2010. Delineation of two sibling red algal species, *Gracilaria gracilis* and *Gracilaria dura* (Gracilariales, Rhodophyta), using multiple DNA markers: Resurrection of the species *G. dura* previously described in the northern Atlantic 200 years ago. J. Phycol. 46:720–727. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00846.x>
- Flagella MM, N Andreakis, M Hiraoka, M Verlaque and MC Buia. 2010. Identification of cryptic *Ulva* species (Chlorophyta, Ulvales) transported by ballast water. J. Biol. Res. 13:47.
- Flagella MM, M Verlaque, A Soria and MC Buia. 2007. Macroalgal survival in ballast water tanks. Mar. Pollut. Bull. 54:1395–1401. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.05.015>
- Fletcher R. 1996. The occurrence of “green tides” - a review. pp. 7–43. In: Marine Benthic Vegetation (Schramm W and PH Nienhuis, eds.). Springer Berlin. Heidelberg, Germany.

- Han IS and JS Lee. 2020. Change the annual amplitude of sea surface temperature due to climate change in a recent decade around the Korean Peninsula. *J. Korean Soc. Mar. Environ. Saf.* 26:233–241. <https://doi.org/10.7837/kosomes.2020.26.3.233>
- Hanyuda T and H Kawai. 2018. Genetic examination of the type specimen of *Ulva australis* suggests that it was introduced to Australia. *Phycol. Res.* 66:238–241. <https://doi.org/10.1111/pre.12222>
- Haritonidis S. 1978. A survey of the marine algae of Thermaikos Gulf, Thessaloniki, Greece. I. Distribution and seasonal periodicity. *Bot. Marina* 21:527–535. <https://doi.org/10.1515/botm.1978.21.8.527>
- Hiraoka M, M Ohno, S Kawaguchi and G Yoshida. 2004a. Crossing test among floating *Ulva* thalli forming green tide in Japan. *Hydrobiologia* 512:239–245.
- Hiraoka M, S Shimada, M Uenosono and M Masuda. 2004b. A new green-tide-forming alga, *Ulva ohnoi* Hiraoka et Shimada sp. nov. (Ulvales, Ulvophyceae) from Japan. *Phycol. Res.* 52:17–29. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2003.00321.x>
- Hofmann LC, JC Nettleton, CD Neefus and AC Mathieson. 2010. Cryptic diversity of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) in the Great Bay Estuarine System (Atlantic USA): introduced and indigenous distromatic species. *Eur. J. Phycol.* 45:230–239. <https://doi.org/10.1080/09670261003746201>
- Kang EJ, AR Han, JH Kim, IN Kim, S Lee, JO Min, BR Nam, YJ Choi, MS Edwards and G Diaz-Pulido. 2021. Evaluating bloom potential of the green-tide forming alga *Ulva ohnoi* under ocean acidification and warming. *Sci. Total Environ.* 769:144443. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144443>
- Kang EJ, JH Kim, K Kim, HG Choi and KY Kim. 2014. Re-evaluation of green tide-forming species in the Yellow Sea. *Algae* 29:267–277. <https://doi.org/10.4490/algae.2014.29.4.267>
- Kang JH, JE Jang, JH Kim, SY Byeon, S Kim, SK Choi, YH Kang, SR Park and HJ Lee. 2019. Species composition, diversity, and distribution of the genus *Ulva* along the coast of Jeju Island, Korea based on molecular phylogenetic analysis. *PLoS One* 14:e0219958. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219958>
- Kawai H, S Shimada, T Hanyuda and T Suzuki. 2007. Species diversity and seasonal changes of dominant *Ulva* species (Ulvales, Ulvophyceae) in Mikawa Bay, Japan, deduced from ITS2 rDNA region sequences. *Algae* 22:221–228. <https://doi.org/10.4490/ALGAE.2007.22.3.221>
- Kearse M, R Moir, A Wilson, S Stones-Havas, M Cheung, S Sturrock and A Drummond. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- Kim KY, TS Choi, JH Kim, T Han, HW Shin and DJ Garbary. 2004. Physiological ecology and seasonality of *Ulva pertusa* on a temperate rocky shore. *Phycologia* 43:483–492. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-43-4-483.1>
- Kirkendale L, GW Saunders and P Winberg. 2013. A molecular survey of *Ulva* (Chlorophyta) in temperate Australia reveals enhanced levels of cosmopolitanism. *J. Phycol.* 49:69–81. <https://doi.org/10.1111/jpy.12016>
- Lawton RJ, L Mata, R Nys and NA Paul. 2013. Algal bioremediation of waste waters from land-based aquaculture using *Ulva*: selecting target species and strains. *PLoS One* 8:e77344. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077344>
- Lee HW, JC Kang and MS Kim. 2019. Taxonomy of *Ulva* causing blooms from Jeju Island, Korea with new species, *U. pseudo-ohnoi* sp. nov. (Ulvales, Chlorophyta). *Algae* 34:253–266. <https://doi.org/10.4490/algae.2019.34.12.9>
- Lee SH, PJ Kang and KW Nam. 2014. New record of two marine ulvlean species (Chlorophyta) in Korea. *J. Ecol. Environ.* 37:379–385. <https://doi.org/10.5141/ecoenv.2014.039>
- Loughnane CJ, LM McIvor, F Rindi, DB Stengel and MD Guiry. 2008. Morphology, rbc L phylogeny and distribution of distromatic *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta) in Ireland and southern Britain. *Phycologia* 47:416–429. <https://doi.org/10.2216/PH07-61.1>
- Matsumoto T, F Shinozaki, T Chikuni, A Yabuki, K Takishita, M Kawachi, T Nakayama, I Inouye, T Hashimoto and Y Inagaki. 2011. Green-colored plastids in the dinoflagellate genus *Lepidodinium* are of core chlorophyte origin. *Protist* 162:268–276. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2010.07.001>
- McGlathery KJ. 2001. Macroalgal blooms contribute to the decline of seagrass in nutrient-enriched coastal waters. *J. Phycol.* 37:453–456. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.037004453.x>
- Mineur F, MP Johnson and CA Maggs. 2008. Macroalgal introductions by hull fouling on recreational vessels: seaweeds and sailors. *Environ. Manage.* 42:667–676. <https://doi.org/10.1007/s00267-008-9185-4>
- Nakamura M, NH Kumagai, M Tamaoki, K Arita, Y Ishii, N Nakajima and T Yabe. 2020. Photosynthesis and growth of *Ulva ohnoi* and *Ulva pertusa* (Ulvophyceae) under high light and high temperature conditions, and implications for green tide in Japan. *Phycol. Res.* 68:152–160. <https://doi.org/10.1111/pre.12410>
- Norkko A and E Bonsdorff. 1996. Rapid zoobenthic community responses to accumulations of drifting algae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 131:143–157. <https://doi.org/10.3354/meps131143>
- O'Kelly CJ, BW Wysoor and WK Bellows. 2004. Gene sequence diversity and the phylogenetic position of algae assigned to the genera *Phaeophila* and *Ochlochaete* (Ulvophyceae, Chlorophyta). *J. Phycol.* 40:789–799. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.03204.x>
- Park JY, S Shin, JH Chae, HJ Lee and YD Mo. 2022 Development

- of the Methods for Controlling and Managing the Marine Ecosystem Disturbing and Harmful Organisms. Marine Ecology Division, Ministry of Oceans and Fisheries. Sejong, Korea.
- Park SR. 2014. Seasonal patterns and recruitment dynamics of green tide-forming *Ulva* species along the intertidal rocky shores of the southern coast of Korea. *Ocean Sci. J.* 49:383–390. <https://doi.org/10.1007/s12601-014-0035-4>
- Rinkel BE, P Hayes, C Gueidan and J Brodie. 2012. A molecular phylogeny of acrochaete and other endophytic green algae (Ulvales, Chlorophyta) 1. *J. Phycol.* 48:1020–1027.
- Santelices B, D Aedo and A Hoffmann. 2002. Banks of microscopic forms and survival to darkness of propagules and microscopic stages of macroalgae. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 75:547–555. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2002000300006>
- Saunders GW and H Kucera. 2010. An evaluation of *rbcL*, *tufA*, *UPA*, *LSU* and *ITS* as DNA barcode markers for the marine green macroalgae. *Cryptogam. Algal.* 31:487–528.
- Saunders GW. 2014. Long distance kelp rafting impacts seaweed biogeography in the Northeast Pacific: the kelp conveyor hypothesis. *J. Phycol.* 50:968–974. <https://doi.org/10.1111/jpy.12237>
- Schramm W and P Nienhuis. 1997. Marine benthic vegetation: recent changes and the effects of eutrophication. *Oceanographic Literature Review* 2:158.
- Smetacek V and A Zingone. 2013. Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature* 504:84–88. <https://doi.org/10.1038/nature12860>
- Steinhagen S, L Düsedau and F Weinberger. 2021. DNA barcoding of the German green supralittoral zone indicates the distribution and phenotypic plasticity of *Blidingia* species and reveals *Blidingia cornuta* sp. nov. *Taxon* 70:229–245. <https://doi.org/10.1002/tax.12445>
- Steinhagen S, R Karez and F Weinberger. 2019. Cryptic, alien and lost species: molecular diversity of *Ulva* sensu lato along the German coasts of the North and Baltic Seas. *Eur. J. Phycol.* 54:466–483. <https://doi.org/10.1080/09670262.2019.1597925>
- Tamura K, G Stecher, D Peterson, A Filipinski and S Kumar. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30:2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Teichberg M, SE Fox, YS Olsen, I Valiela, P Martinetto, O Iribarne, EY Muto, MA Petti, TN Corbisier and M Soto-Jiménez. 2010. Eutrophication and macroalgal blooms in temperate and tropical coastal waters: nutrient enrichment experiments with *Ulva* spp. *Glob. Change Biol.* 16:2624–2637. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.02108.x>
- Valiela I, J McClelland, J Hauxwell, PJ Behr, D Hersh and K Foreman. 1997. Macroalgal blooms in shallow estuaries: controls and ecophysiological and ecosystem consequences. *Limnol. Oceanogr.* 42:1105–1118. https://doi.org/10.4319/lo.1997.42.5_part_2.1105
- Wan AH, RJ Wilkes, S Heesch, R Bermejo, MP Johnson and L Morrison. 2017. Assessment and characterisation of Ireland's green tides (*Ulva* species). *PLoS One* 12:e0169049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169049>
- Wang S, Y Huo, J Zhang, J Cui, Y Wang, L Yang, Q Zhou, Y Lu, KYu and P He. 2018. Variations of dominant free-floating *Ulva* species in the source area for the world's largest macroalgal blooms, China: Differences of ecological tolerance. *Harmful Algae* 74:58–66. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.03.007>
- Wang Y, B Zhou and X Tang. 2009. Effects of two species of macroalgae - *Ulva pertusa* and *Gracilaria lemaneiformis* - on growth of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *J. Appl. Phycol.* 21:375–385. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9380-y>
- Wolf MA, K Sciuto, C Andreoli and I Moro. 2012. *Ulva* (Chlorophyta, Ulvales) biodiversity in the North Adriatic Sea (Mediterranean, Italy): cryptic species and new introductions. *J. Phycol.* 48:1510–1521. <https://doi.org/10.1111/jpy.12005>
- Xiao Y, R Liu, K Kim, J Zhang and T Cui. 2021. A random forest-based algorithm to distinguish *Ulva prolifera* and *Sargassum* from multispectral satellite images. *IEEE Trans. Geosci. Remote Sensing* 60:1–15. <https://doi.org/10.1109/TGRS.2021.3071154>
- Ye NH, XW Zhang, YZ Mao, CW Liang, D Xu, J Zou, ZM Zhuang and QY Wang. 2011. 'Green tides' are overwhelming the coastline of our blue planet: taking the world's largest example. *Ecol. Res.* 26:477–485. <https://doi.org/10.1007/s11284-011-0821-8>
- Yoshida G, M Uchimura and M Hiraoka. 2015. Persistent occurrence of floating *Ulva* green tide in Hiroshima Bay, Japan: seasonal succession and growth patterns of *Ulva pertusa* and *Ulva* spp. (Chlorophyta, Ulvales). *Hydrobiologia* 758:223–233. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2292-3>
- Zanolla M, R Carmona, H Kawai, DB Stengel and M Altamirano. 2019. Role of thermal photosynthetic plasticity in the dispersal and settlement of two global green tide formers: *Ulva pertusa* and *U. ohnoi*. *Mar. Biol.* 166:1–12. <https://doi.org/10.1007/s00227-019-3578-1>
- Zhang J, J Shi, S Gao, Y Huo, J Cui, H Shen, G Liu and P He. 2019. Annual patterns of macroalgal blooms in the Yellow Sea during 2007–2017. *PLoS One* 14:e0210460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210460>
- Zhang X, D Xu, Y Mao, Y Li, S Xue, J Zou and N Ye. 2011. Settlement of vegetative fragments of *Ulva prolifera* confirmed as an important seed source for succession of a large-scale green tide bloom. *Limnol. Oceanogr.* 56:233–242. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.1.0233>