Korean Journal of Environmental Biology

Original article

https://doi.org/10.11626/KJEB.2024.42.3.325

Korean J. Environ. Biol.
42(3) : 325-331 (2024)
ISSN 1226-9999 (print)
ISSN 2287-7851 (online)

매생이(*Capsosiphon fulvescens*)의 인공종자 생산을 위한 구상체 형성 및 생장 조건 분석

이지웅, 유현일[1], 황은경, 김승오*

국립수산과학원 해조류연구소, [1]국립수산과학원 수산식물품종관리센터

Optimal conditions for the formation of cyst-zygote for stable artificial seed production of *Capsosiphon fulvescens* (Ulvophyceae, Chlorophyta)

Ji Woong Lee, Hyun Il Yoo[1], Eun Kyoung Hwang and Seung Oh Kim*

Seaweed Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Haenam 59002, Republic of Korea
[1]Aquatic Plant Variety Center, National Institute of Fisheries Science, Mokpo 58746, Republic of Korea

Contribution to Environmental Biology

- Physiological characteristics were examined for stable and sustainable production of *C. fulvescens* that is sensitive to changes in the marine environment.
- Physiological studies of *C. fulvescens* can help elucidate how changes in habitat environment affect life cycle.

***Corresponding author**
Seung Oh Kim
061-530-3906
E-mail. niceguya@korea.kr

Received: 12 August 2024
First revised: 10 September 2024
Second revised: 12 September 2024
Revision accepted: 19 September 2024

Abstract: Among the different types of seaweed that are cultivated in Korea for food, *Capsosiphon fulvescensis* the filamentous green alga with the highest production value. However, its harvest yield varies significantly from year to year due to its dependence on the natural seeding method. The present study aimed to identify the conditions affecting the formation of cyst-zygotes that can be utilized as artificial seeds during the life cycle of *C. fulvescens*. Gametangia and zygotes of *C. fulvescens* were found to be highly developed at temperatures above 15°C, with a maximum gametangial development rate of about 35% observed after 7 days of culture. The formation of zygotes into cyst-zygotes was induced within 7 days in all temperature conditions, but after 30 days of culturing, cyst-zygotes germinated into filamentous thalli at temperatures above 20°C, while the most stable formation and stabilization were observed at 15°C. Cyst-zygotes formed at 15°C showed high growth when they were transferred to 25°C conditions, and zoospores matured inside the cells. The production of cyst-zygotes was mostly influenced by temperature, and a gradual increase in temperature was found to be necessary for the formation and growth of cyst-zygotes. The culture conditions facilitating the formation of cyst-zygotes reported in this study can be useful for the production of artificial seeds and breeding technology for the effective cultivation of seaweed.

Keywords: seaweed, green algae, *Capsosiphon fulvescens*, zygote, artificial seed production

1. 서 론

우리나라에서 주로 양식되고 있는 해조류 중 녹조류(Chlorophyta)는 매생이, 가시파래, 잎파래, 청각 등 4종이 있다. 이 중 매생이(*Capsosiphon fulvescens* (C. Agardh) Setchell & Gardner)는 12월부터 2월까지 양식되는 사상형 해조류로 독특한 향과 부드러운 식감을 지녀 우리나라의 전통적인 식재료로 이용되어 왔다(Sohn 1998; Hwang *et al.* 2008a; Sun *et al.* 2016). 매생이는 한때 김 양식망에 붙어 오염시키는 유해종으로 여겨졌지만, 2023년 기준 생산량 대비 생산금액이 약 2,590원 kg^{-1} (습중량)으로 주요 양식 해조류인 김(1,183원 kg^{-1}), 미역(172원 kg^{-1}), 다시마(198원 kg^{-1})에 비해 높은 단가를 갖는 고부가가치 해조류이다(KOSIS 2024). 또한 같은 식용 녹조류인 가시파래(*Ulva prolifera*)에 비해 단백질, 필수 아미노산 및 비타민 A, C의 함량이 높아 일반적인 식재료 및 영양보조식품으로 사용될 수 있다(Hwang *et al.* 2008b).

우리나라 매생이 양식은 평균적으로 연간 약 3,000톤을 생산하지만(KOSIS 2024), 작황에 따라 연간 생산량의 변동이 매우 크다(2018년, 7,000톤; 2020년, 2,063톤; 2022년, 3,789톤; 2023년, 2,745톤). 이 같은 매생이의 불안정한 생산은 해양환경의 변화에 따른 원인도 있지만, 다른 주요 양식 해조류에 활용되는 인공채묘 및 양식 기술이 적용되지 못하고 자연채묘와 대나무발을 이용한 전통적인 양식 방법에 의존하고 있기 때문이다(Moreira *et al.* 2022). 2000년대 매생이 양식에 대한 관심이 높아지면서 대량 생산을 위한 기초 연구가 수행되었지만(Hwang *et al.* 2003), 인공종자 및 인공채묘를 위한 연구는 미미한 수준이며 생활사에 대한 일부 연구만이 보고되었다(Migita 1967; Yoshida 1970). 모조를 냉동하여 이듬해 배우자를 방출시키는 인공채묘 기술이 개발되었지만(Lee 2001; Shin 2002), 대량의 엽체를 장기간 냉동 보관해야 하므로 높은 비용이 소요될 뿐 아니라 채묘 효율이 낮아 활용이 되지 못하고 있다. 따라서, 매생이의 안정적인 채묘와 양식을 위한 인공종자 생산 연구가 필요하다.

매생이가 속하는 갈파래강(Ulvophyceae), 초록실목(Ulothrichales)의 일부 녹조류는 배우자의 접합 또는 단위생식을 통해 구상체(Cyst-zygote) 또는 코디올룸기(Codiolum phage)라고 알려진 단세포성 생활사 단계를 관찰할 수 있다(Tatewaki 1969; O'Kelly *et al.* 2004). 구상체는 비교적 단단한 세포벽을 가진 구형의 단세포 형태로 건조, 온도 등의 환경스트레스에 강하기 때문에 휴면포자로 여겨졌지만, 핵상의 변화와 다수의 유주자 생성, 계절에 따른 출현, 대사활동 등을 종합적으로 검토할 때 포자체(Codiolum-sporophyte)의 특성을 갖는 것으로 나타났다(Hanic and Lindstrom 2008; Horinouchi *et al.* 2019). 일본에서는 이 같은 구상체를 활용한 인공종자 생산 연구를 진행해 녹조류인 홑파래(*Monostroma nitidum*)의 인공채묘 및 양식에 성공하였다(Ohno 1995).

매생이와 유연관계가 높은 *Pseudothrix borealis*는 배우자의 단성생식(parthenogenesis) 및 유성생식 생활사 내에 구상체 단계가 있는 것으로 알려졌다(Hanic and Lindstrom 2008). 매생이에서도 구상체의 관찰과 인공종자로의 활용 가능성이 알려졌지만(Yoshida 1970; Lee 2001), 생성 조건 등 실질적인 활용을 위한 연구가 진행되지 않았다.

따라서 이 연구는 매생이의 생활사 단계별 생리학적 특성과 구상체의 유도에 필요한 환경조건을 분석하여 양식에 활용될 수 있는 인공종자 생산 기반 자료를 확보하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료 확보

2023년 1월 장흥의 매생이 양식어장(34°26′04″N, 126°53′32″E)에서 채집한 엽체(배우체)를 멸균된 해수로 세척하고 Provasoli's enriched seawater (PES) 배지(Provasoli 1968)를 사용해 10°C, 20 μmol m^{-2} s^{-1}, 10L : 14D 조건에서 배양하였다.

2.2. 배우체의 배우자낭 발달 및 접합자 생성 조사

매생이 배우체를 페트리디쉬(cell culture dish 11060; SPL, Korea)에 분주하여 온도(5, 10, 15, 20, 25°C), 광도(20, 40, 80 μmol m^{-2} s^{-1}) 및 광주기(10L : 14D, 14L : 10D) 조건이 다르게 설정된 배양기(MTI-202B; EYELA, Japan)에서 7일간 배양하여 배우자낭의 발달 및 접합자의 생성률을 조사하였다. 배우자낭의 발달은 광학현미경(BX51, DP73; Olympus, Japan)을 사용해 세포분열, 안점 생성, 색

 ©2024. Korean Society of Environmental Biology.

소체 변화 등 배우체의 형태학적 특성을 관찰하여 판단하였으며, 접합자는 역상현미경(IX73, DP73; Olympus, Japan)을 사용해 페트리디쉬 바닥에 부착한 개체의 면적(1 mm^2)당 밀도를 조사하였다.

2.3. 구상체의 형성 및 생장 조건 조사

매생이 접합자를 스크래퍼(cell scraper; SPL, Korea)를 이용해 바닥에서 분리하고 40 μm 나일론 필터(cell strainer 93040; SPL, Korea)로 여과하여 이물질을 제거하였다. 분리된 접합자는 각 페트리디쉬에 35개 mm^{-2} 밀도로 분주하고 15°C, 40 μmol m^{-2} s^{-1}, 14L : 10D 조건에서 24시간 동안 정치 배양하여 다시 바닥에 부착시켰다. 이후 페트리디쉬를 각 온도(5, 10, 15, 20, 25°C)에서 30일간 배양하여 구상체의 면적(1 mm^2) 당 밀도를 조사하였다. 구상체의 생장 조건 조사를 위해 접합자를 15°C, 40 μmol m^{-2} s^{-1}, 14L : 10D에서 약 30일간 배양한 후 20개 mm^{-2}의 밀도로 페트리디쉬에 분주하였다. 이후에 각 온도(5, 10, 15, 20, 25°C), 광도(20, 40, 80 μmol m^{-2} s^{-1}) 및 14L : 10D 조건에서 90일간 배양하고, 역상현미경 및 Fiji (ImageJ) 프로그램(Schindelin *et al.* 2012)을 사용해 배양 기간에 따른 직경의 변화를 측정하였다.

2.4. 통계처리

통계 분석은 GraphPad Prism 10 (GraphPad Software Inc., USA)을 활용하였다. 정규성 검정은 Shapiro-Wilk test를 이용하였으며, 이후 각 결과의 유의차는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 및 Dunnett 사후검정(multiple comparison test)을 이용해 0.05 유의수준에서 검정하였다. 일부 동일한 온도 및 광도 조건에서 광주기에 따른 유의차는 Welch's *t*-test를 이용해 0.05 유의수준에서 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 환경조건별 배우자낭의 발달 및 접합자 생성률

매생이 배우체를 온도, 광도 및 광주기가 다른 환경조건에서 7일 동안 배양했을 때, 10°C 이하에서는 배우자낭이 거의 관찰되지 않았지만 15°C부터 전체 배우체의 약 20% 이상에서 짙은 황색의 성숙한 배우자낭이 관찰되었다 (Fig. 1A, B). 배우자낭은 광도가 높을수록 많이 관찰되었고, 특히 80 μmol m^{-2} s^{-1}의 15°C 이상에서는 평균 35% 이상의 발달률을 나타냈다. 광주기가 길수록(14L : 10D) 배우자낭의 발달이 근소하게 높았지만, 대부분 통계적으로

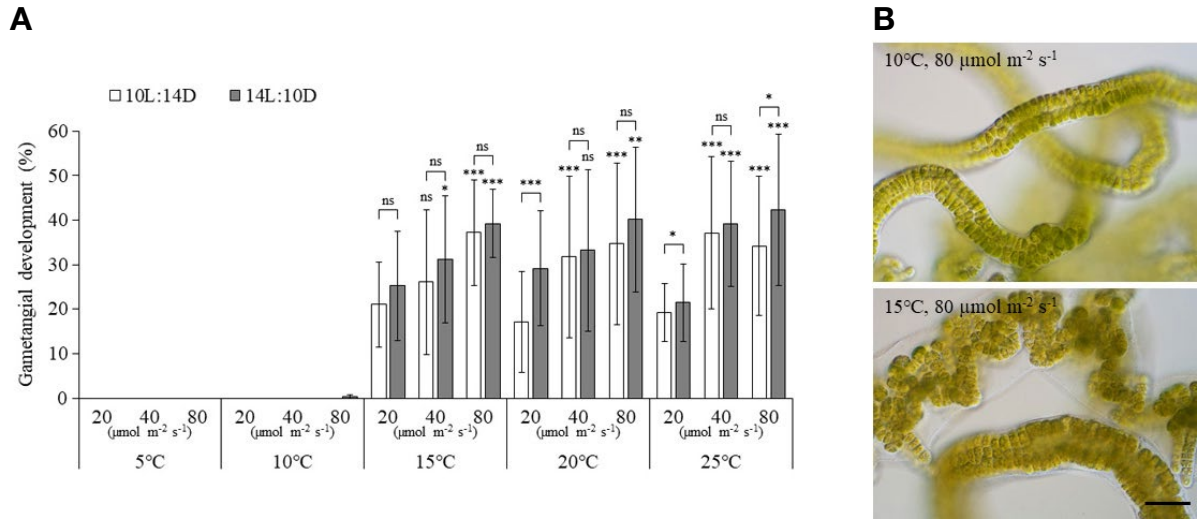

Fig. 1. Gametangium development rate by culture conditions. A, Gametangial development rate. B, Comparison of gametangium development in gametophyte cultured at 10 and 15°C. Data are expressed in the form of mean ± SD (n = 50). One-way ANOVA with Dunnett's multiple comparison test (vs 20 μmol m^{-2} s^{-1}) was used to determine significant differences among light intensities with an identical photoperiod in each temperature, while Welch's *t*-test was used to compare between photoperiods. *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001; ns, not significant. Scale bar = 50 μm.

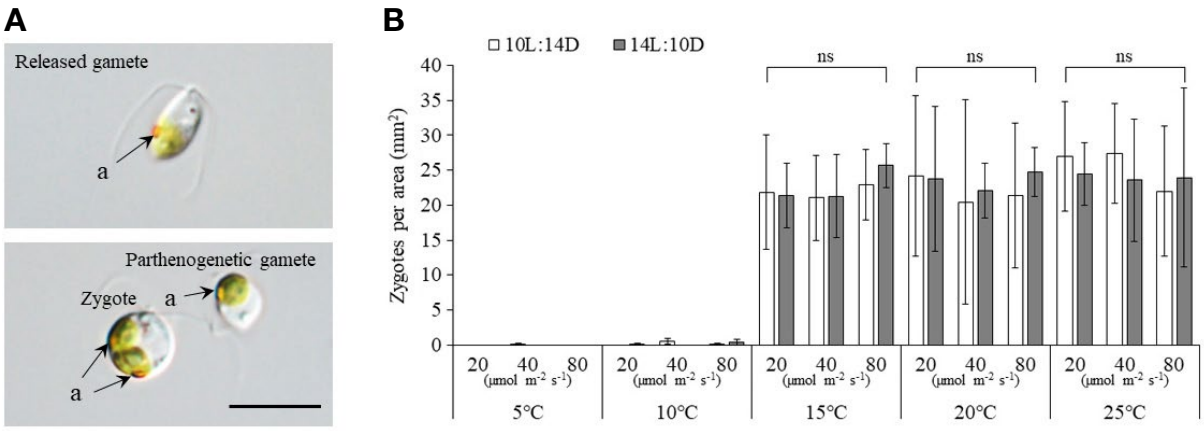

Fig. 2. Zygote density by culture conditions. A, Morphological difference in reproductive spores. B, Zygote density. Data are expressed in the form of mean ± SD (n = 50). One-way ANOVA was used to determine significant differences among light intensities with an identical photoperiod in each temperature. ns, not significant. a = Eyespot. Scale bar = 10 μm.

유의미한 차이를 나타내지 않았다.

배우자낭의 발달에 따라 페트리디쉬 바닥에서는 방출된 배우자, 접합자 및 단위생식 배우자가 동시에 관찰되었는데, 2개의 안점, 비운동성, 세포의 크기(직경 7~8 μm) 등 형태학적 특징을 통해 접합자를 뚜렷하게 구별할 수 있었다(Fig. 2A). 접합자의 생성은 15°C 이상부터 관찰되어(약 20개 mm^{-2}) 배우자낭의 발달률과 유사한 경향을 보였지만, 광도와 광주기에 따른 유의미한 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 2B). 이 같은 결과는 빛의 세기에 따른 녹조류 배우자의 주광성 운동(Yoshida 1970; Vesty *et al.* 2015)의 변화 등 접합자 생성에 기타 환경적 요인이 영향을 줄 수 있음을 암시하였다.

매생이의 배우자낭 발달 및 접합자 생성은 다른 환경조건에 비해 온도에 큰 영향을 받는 것으로 판단된다. 따라서 10°C에서 15°C 이상으로 수온이 올라가는 시기인 3~5월 매생이의 모조를 확보한다면 효과적인 배우자 방출과 접합자를 확보할 수 있을 것으로 판단된다. 홑파래 양식에서는 4~5월 사이 짙은 황색으로 배우낭이 충분히 성숙된 모조를 채취하여 인공종자를 위한 접합자를 생성한다고 알려져 있다(Ohno and Triet 1997). 국내 매생이 양식장은 3월 이후 수온이 올라가는 시기에 가시파래 등 잡조가 많이 유입되므로 순수한 모조의 확보를 위해서는 자연적으로 성숙되기 이전 모조를 확보하고 15°C 이상의 인공적인 환경을 적용해 접합자를 생성하는 것이 효과적일 것으로 판단된다.

3.2. 구상체 형성 조건 분석

매생이의 접합자를 40 μmol m^{-2} s^{-1} 및 14L : 10D의 광조건에서 각각 다른 온도로 배양하여 구상체로의 형성을 유도했을 때, 7일 이후 5°C, 10°C, 15°C 조건에서는 구상체들이 지속적으로 관찰되었으며, 30일에는 15°C에서 30.3 ± 6.8개 mm^{-2}의 가장 높은 밀도의 구상체가 관찰되었다(Fig. 3A). 반면 20°C와 25°C에서는 7일 이후부터 구상체 밀도가 급격히 감소하였으며, 30일에는 20°C(2.9 ± 0.9개 mm^{-2}), 25°C(4.4 ± 2.9개 mm^{-2}) 모두 매우 낮은 구상체 밀도를 나타냈다. 이 같은 결과는 이미 구상체로 형성된 접합자가 엽체로 발아하는 특성을 나타냈기 때문이다. 구상체의 발아는 모든 온도 구간에서 관찰되었지만, 특히 20°C 이상의 조건에서는 구상체 대부분이 발아하였다(Fig. 3B).

초록실목의 녹조류에서 관찰되는 구상체는 접합자로부터 형성되는 단세포성 생활사로 두꺼운 세포벽, 높은 환경 내성, 유주자를 생성시킨다는 면에서 휴면포자와 유사한 역할을 하는 것으로 알려졌으며(Van den Hoek *et al.* 1995), 핵상 분석에서 단세포성 포자체(sporophyte)의 특성을 갖는 것으로 연구되었다(Horinouchi *et al.* 2019). 그리고 최근 *Monostroma angicava*를 이용한 연구에서 접합자의 생장 조건에 따라 구상체가 아닌 다세포의 포자체로 발달하여 동형세대교번을 하는 것으로 밝혀졌다(Horinouchi and Togashi 2023). 매생이의 과거 연구에서 각 관찰자에 따라 접합자가 엽체로만 발달하거나

 ©2024. Korean Society of Environmental Biology.

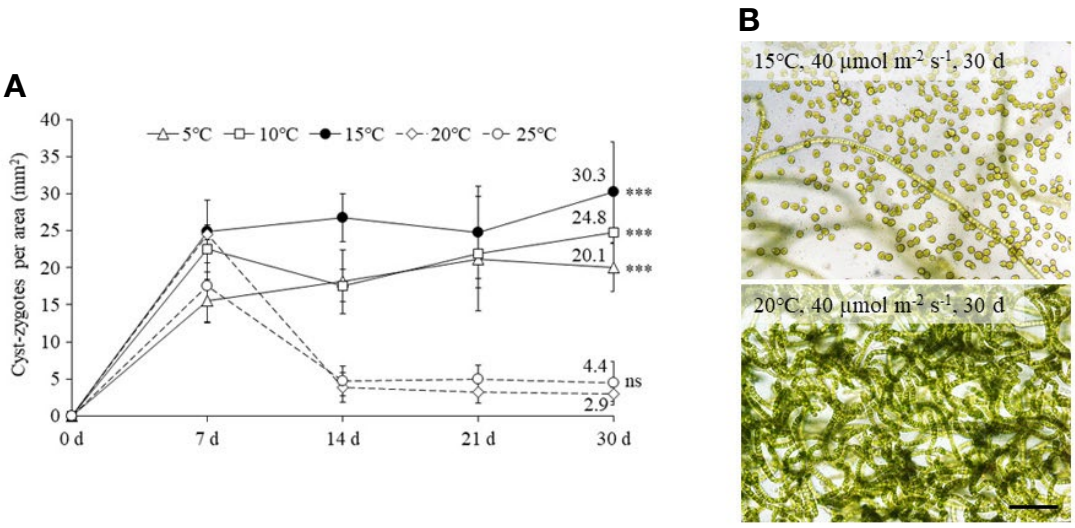

Fig. 3. Changes in cyst-zygote formation with culture temperature. A, Density of cyst-zygotes observed at each temperature and period. B, Early germination of zygotes showing clear differences at 15 and 20°C. Data are expressed in the form of mean ± SD (n = 10). One-way ANOVA with Dunnett's multiple comparison test (vs 20°C) was used to determine significant differences among each temperature in 30 d. ***p < 0.001; ns, not significant. Scale bar = 100 µm.

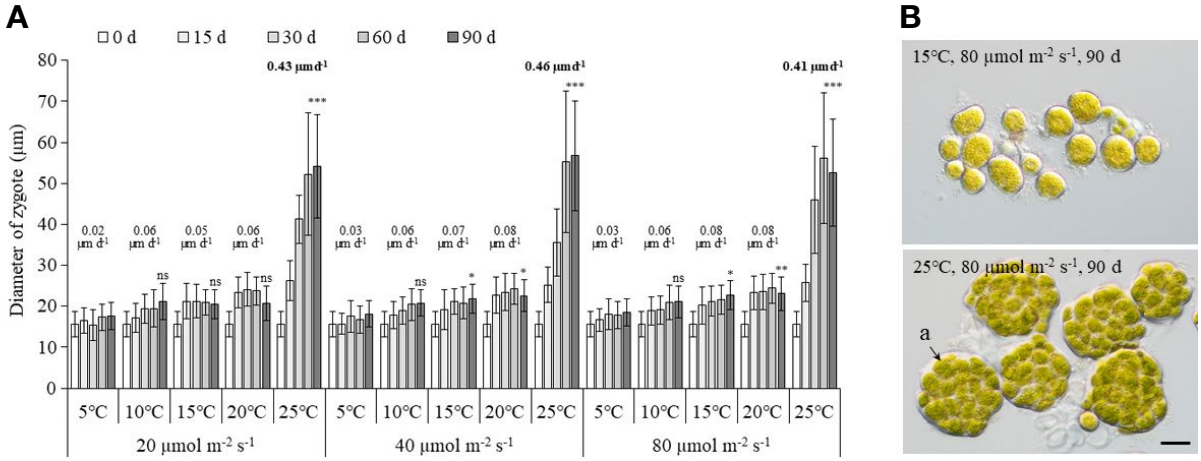

Fig. 4. Growth of cyst-zygotes under each culture condition. A, Changes in the diameter of cyst-zygotes. B, Morphological differences in cyst-zygotes depending on the growth temperatures. Data are expressed in the form of mean ± SD (n = 40). One-way ANOVA with Dunnett's multiple comparison test (vs 5°C) was used to determine significant differences among each temperature condition with identical light intensities in 90 d. *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001; ns, not significant. a = Developed zoospore. Scale bar = 20 µm.

(Chihara 1967), 구상체로만 발달(Migita 1967), 또는 두 가지 모두로 발달(Yoshida 1970)하는 상이한 결과가 보고되었다. 우리의 결과는 이 같은 구상체의 형태 변화가 접합 이후 초기의 환경조건, 특히 온도에 따라 결정된다는 것을 규명하였다. 앞선 초록실목의 연구 결과와 같이 매생이의 구상체에서 발달된 엽체도 배우체가 아닌 다세포성 포자체일 가능성이 있으며, 추후 핵상 및 생활사 분석을 통해 매생이의 선택적 동형세대교번에 대한 분석과 종자 생산에 활용하기 위한 응용연구가 필요하다.

3.3. 구상체의 최적 생장 조건 분석

15°C에서 30일 동안 안정적으로 형성된 매생이 구상체를 각 배양조건에서 90일간 배양했을 때, 온도가 높을수

Table 1. Optimal conditions for producing cyst-zygotes of *Capsosiphon fulvescens* using sexual reproduction process

Artificial seed production process (Culture period)	Temperature (°C)	Light intensity (μmol m^{-2} s^{-1})	Light : Dark
1) Gametangium development and zygote formation (7 d)	15	80	14 : 10
2) Formation and stabilization of cyst-zygote (30 d)	15	20–40	
3) Growth of cyst-zygote (>90 d)	25	20–80	

록 높은 생장을 나타냈다(Fig. 4A). 5°C는 다른 온도에 비해 생장이 늦어 평균 직경 0.02~0.03 μm d^{-1}를 나타냈고, 10°C, 15°C, 20°C는 평균 0.06~0.08 μm d^{-1}의 생장을 나타냈다. 반면, 25°C에서는 평균 0.4 μm d^{-1} 이상의 뚜렷한 생장이 관찰됐으며 90일간 배양했을 때 직경 약 50 μm 이상으로 다른 온도에 비해 2배 이상 빠른 생장을 나타냈다(Fig. 4B).

결과적으로 매생이의 유성생식 구상체를 활용한 인공종자 생산은 다른 환경 조건들보다 온도에 가장 큰 영향을 받았다. 매생이의 유성생식을 활용한 구상체 생성 단계는 1) 배우자낭 및 접합자 형성, 2) 구상체의 발달, 3) 구상체의 생장 단계로 구분될 수 있으며 각 온도와 광도를 조절하여 효과적인 배양관리와 인공종자로서의 활용이 가능할 것으로 판단된다(Table 1).

적 요

녹조류 매생이(*Capsosiphon fulvescens*)는 국내 양식되는 해조류 중 생산량 대비 생산금액이 가장 높은 고부가가치 품목이지만 자연채묘에 의존하고 있어 매해 생산량 변동이 심하다. 본 연구는 매생이의 생활사 단계 중 인공종자로 활용할 수 있는 구상체의 생성 조건을 규명하고자 하였다. 매생이 배우자낭의 발달과 접합자의 생성은 15°C 이상의 환경조건에서 높게 나타났으며, 7일간 배양에서 최대 약 35%의 배우자낭 발달을 나타냈다. 접합자의 구상체로의 형성은 5~25°C의 모든 온도 조건에서 7일 이내 유도되었지만, 30일간 배양했을 때 20°C 이상의 조건에서는 엽체로 발아하는 특성을 보였고 15°C에서 가장 안정적으로 형성 및 유지되었다. 15°C에서 형성된 구상체는 25°C 조건으로 옮겼을 때 높은 생장률을 나타냈으며 세포 내부에 유주자가 성숙하였다. 구상체의 생성에는 수온의 영향이 가장 컸으며 특히 구상체의 형성과 생장에 단계적인 온도 상승이 필요한 것으로 나타났다. 본 연구 결과로 얻어진 구상체 생성 조건은 인공종자 생산에 활용될 수 있으며, 매생이의 효과적인 양식을 위한 인공채묘 및 완전양식 기술의 기반자료로 활용될 것이다.

CRediT authorship contribution statement

JW Lee: Investigation, Visualization, Writing-Original draft, Writing-Review & editing. **HI Yoo:** Conceptualization, Resources, Investigation. **EK Hwang:** Methodology, Resources, Writing-Review & editing. **SO Kim:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Writing-Review & editing.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflicts of interest.

사 사

본 연구는 국립수산과학원의 연구비 지원(R2024026)으로 수행되었습니다.

REFERENCES

Chihara M. 1967. Developmental morphology and systematics of *Capsosiphon fulvescens* as found in Izu, Japan. Jpn. Bull. Nat. Sci. Mus. 10:163–170.

Hanic LA and SC Lindstrom. 2008. Life history and systematic studies of *Pseudothrix borealis* gen. et sp. nov. (= North Pacific *Capsosiphon groenlandicus*, Ulotrichaceae, Chlorophyta). Algae 23:119–133. https://doi.org/10.4490/algae.2008.23.2.119

 ©2024. Korean Society of Environmental Biology.

Horinouchi Y and T Togashi. 2023. Unicellular and multicellular developmental variations in algal zygotes produce sporophytes. Biol. Lett. 19:20230313. https://doi.org/10.1098/rsbl.2023.0313

Horinouchi Y, M Yamaguchi, H Chibana and T Togashi. 2019. Nuclear behavior and roles indicate that Codiolum phase is a sporophyte in *Monostroma angicava* (Ulotrichales, Ulvophyceae). J. Phycol. 55:534–542. https://doi.org/10.1111/jpy.12841

Hwang EK, H Amano and CS Park. 2008b. Assessment of the nutritional value of *Capsosiphon fulvescens* (Chlorophyta): developing a new species of marine macroalgae for cultivation in Korea. J. Appl. Phycol. 20:147–151. https://doi.org/10.1007/s10811-007-9198-z

Hwang EK, YH Yi, WJ Shin and CH Sohn. 2003. Growth and maturation of a green alga, *Capsosiphon fulvescens*, as a new candidate for seaweed cultivation in Korea. In: Proceedings of the 17th International Seaweed Symposium (Champman RO, RJ Anderson, VJ Vreeland and IR Davison, eds.). Oxford University Press. Oxford, UK. pp. 59–64.

Hwang HJ, MJ Kwon, IH Kim and TJ Nam. 2008a. The effect of polysaccharide extracted from the marine alga *Capsosiphon fulvescens* on ethanol administration. Food Chem. Toxicol. 46:2653–2657. https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.027

KOSIS. 2024. Fishery Production Survey. Korean Statistical Information Service. Statistics Korea. Daejeon, Korea.

Lee YH. 2001. Seed production and cultivation of a green alga, *Capsosiphon fulvescens*. Ph.D. dissertation. Pukyong National University. Busan, Korea.

Migita S. 1967. Life cycle of *Capsosiphon fulvescens* (C. Agardh) Setchell and Gardner. Bull. Fac. Fish. Nagasaki Univ. 22:21–31.

Moreira A, S Cruz, R Marques and P Cartaxana. 2022. The underexplored potential of green macroalgae in aquaculture. Rev. Aquac. 14:5–26. https://doi.org/10.1111/raq.12580

Ohno M. 1995. Cultivation of *Monostroma nitidum* (Chlorophyta) in a river estuary, southern Japan. J. Appl. Phycol. 7:207–213. https://doi.org/10.1007/BF00693069

Ohno M and VD Triet. 1997. Artificial seeding of the green seaweed *Monostroma* for cultivation. J. Appl. Phycol. 9:417-423. https://doi.org/10.1023/A:1007935110688

O'Kelly CJ, B Wysor and WK Bellows. 2004. *Collinsiella* (Ulvophyceae, Chlorophyta) and other ulotrichalean taxa with shell-boring sporophytes form a monophyletic clade. Phycologia 43:41–49. https://doi.org/10.2216/i0031-8884-43-1-41.1

Provasoli L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. pp. 63-75. In: Cultures and Collections of Algae, Proceedings of US Japan Conference. Japanese Society of Plant Physiology.

Schindelin J, I Arganda-Carreras, E Frise, V Kaynig, M Longair, T Pietzsch, S Preibisch, C Rueden, S Saalfeld, B Schmid, JY Tinevez, DJ White, V Hartenstein, K Eliceiri, P Tomancak and A Cardona. 2012. Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. Nat. Methods 9:676–682. https://doi.org/10.1038/nmeth.2019

Shin WJ. 2002. Viability gamete release of a green alga, *Capsosiphon fulvescens* by short-term freeze-preservation. M.S. thesis. Pukyong National University. Busan, Korea.

Sohn CH 1998. The seaweed resources of Korea. pp. 15–33. In: Seaweed Resources of the World (Critchley AT and M Ohno, eds.). Japan International Cooperation Agency. Yokosuka, Japan.

Sun SM, SH Yang, KS Golokhvast, B Le and G Chung. 2016. Reconstructing the phylogeny of *Capsosiphon fulvescens* (Ulotrichales, Chlorophyta) from Korea based on *rbc*L and 18S rDNA sequences. BioMed Res. Int. 2016:1462916. https://doi.org/10.1155/2016/1462916

Tatewaki M. 1969. Culture studies on the life history of some species of the genus Monostroma. Sci. Pap. Inst. Algol. Res., Fac. Sci., Hokkaido Univ. 6:1–56.

Van den Hoek C, DG Mann and HM Jahns. 1995. Algae: An Introduction to Phycology. Cambridge University Press. Cambridge, UK.

Vesty EF, RW Kessler, T Wichard and JC Coates. 2015. Regulation of gametogenesis and zoosporogenesis in *Ulva linza* (Chlorophyta): Comparison with *Ulva mutabilis* and potential for laboratory culture. Front. Plant Sci. 6:15. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00015

Yoshida K 1970. Studies on germling development and life-history in Ulvaceae and Monostromaceae. Part I. Publ. Seto Mar. Biol. Lab. 17:403–428.