ホンダワラ類の組織培養による増養殖用種苗生産技術開発*

田 中 俊 充 ・ 木 村 創

ホンダワラ類は沿岸域において「ガラモ場」と呼ばれる海藻群落（藻場）を形成し，魚介類の再生産や環境保全の場として重要な役割を果たしている．したがって，藻場の衰退する「磯焼け」は漁業資源に大きな影響を及ぼすことが予想され，藻場造成手法の開発が緊急な課題である．ホンダワラ類については，一般に成熟した母藻から卵を採取して種苗を生産し，これらを移植する方法により藻場の回復が図られているが，成熟期間が他の海藻類に比べて短いことや卵の放出が間歇的であるため安定した種苗生産は難しいのが現状である．

近年，海藻学の分野ではバイオテクノロジーの技法を用いることにより正規の繁殖法（胞子，配偶子による繁殖，栄養繁殖など）を経由することなく，個体を増殖させることが可能となり，新しい育種法として期待されている．ホンダワラ類については，植物の外植片（組織片）を培養することにより，1985年にMooneyとStadenが初めて*Sargassum heterophyllum*で初期葉の形成に成功[1]して以降，ヒジキ[2-5]，アカモク[4, 5]，トゲモク[4-8]，ノコギリモク[6-10]，オオバモク[6-10]，フタスジモク[11]などで組織培養が行なわれており，出芽した幼芽がカルス細胞（不定形の組織塊）などを経ずに直接初期葉に分化することから，組織培養が人工採苗に代わる新しい技術として注目されている．

そこで，本事業ではホンダワラ類の組織培養による種苗生産技術を開発し，天然海域への移植方法について検討する．

1．組織培養実験

目 的

ホンダワラ類の組織培養については，藻体の大きさや部位，培養条件（温度，照度，光周期）が検討され，仮根部や茎状部の組織を使用し，培養条件を温度15～25℃，照度3,000～5,000lx，光周期12L：12Dに設定することで，周年を通して種苗生産ができるようになった[4-8]．しかし，組織片からの出芽率は母藻による個体差が大きく，藻場造成に使用できるほどの安定した技術には至っていない．この原因は組織培養での使用部位や培養条件についてはある程度の知見が得られたものの，それ以外の情報が不足しているためと考えられる．たとえば，カジメやクロメを用いた組織培養では，海藻の採取時期によってカルス細胞の形成率が異なることが知られている[11, 12]．ホンダワラ類についても，生長が水温や日長時間などの環境要因と密接に関係していることが報告されており[13]，主枝の伸長・流出や成熟などの生理状況が組織片からの出芽に大きく関与していると考えられる．

そこで，昨年度に引き続き，海藻の採取時期と出芽率の関係を明らかにするとともに，出芽率の向上を目的として母藻の処理方法や静置培養における植物ホルモン添加，さらに静置培養での培養期間について検討した．

材料および方法

材料は昨年度と同様にオオバモク*Sargassum coreanum*とノコギリモク*Sargassum macrocarpum*の幼体から若体（茎径はオオバモクでは1.7～4.1mm，ノコギリモクでは1.9～5.0mm）を使用した．

1）静置培養における季節別出芽率の比較

実験は2001年7月より2002年5月まで約2ヶ月に

*地域先端技術共同研究開発促進事業費による

１回，天然海域よりそれぞれ８本の材料海藻を採取し行った．採取した海藻は１～３日間研究所内の屋外コンクリート水槽において流水で管理し，他の藻類や動物を除去した後，仮根に近い茎の部位より１藻体当たり12個の組織片を切り出した．組織片の切り出し方法は木村[4, 5]に準じた．培養は温度20℃，照度6,000lx，光周期12L：12Dに設定した人工気象器内で行い，週に２回の割合で３ヶ月間出芽状況を観察した．

２）母藻処理による出芽率への影響

培養液は無処理海水（砂ろ過海水を10μmネットでろ過したもの），栄養塩添加海水（無処理海水に市販の藻類培養液を添加したもの），および植物ホルモン添加海水（無処理海水にオーキシンの2.4-ジクロロフェノキシ酢酸（以下2.4-D）を10.0mg/ℓ，サイトカイニンの６-ベンジルアミノプリン（以下BAP）を1.0mg/ℓになるように添加したもの）とし，30ℓパンライト水槽に25ℓずつ入れた．その中に，2002年３月に採取したノコギリモクを５本ずつ浸漬し，週に１回換水しながら１ヶ月間培養した．培養は温度20℃，照度1,700lx，光周期12L：12Dに設定した恒温室で行った．その後，実験１）と同様の方法により静置培養を行った．培養条件および出芽状況の観察は実験１）に従った．

３）出芽に及ぼす植物ホルモンの影響

両種の母藻数本からそれぞれ192個の組織片を切り出した．その後，2.4-Dを0，0.1，1.0，10.0mg/ℓ，BAPを0，0.01mg/ℓになるよう培養液に添加し，それぞれを組み合わせた８通り（各試験区24個の組織片）で静置培養を行った．実験は春季（５～６月）と秋季（９月）に採取した藻体を用いた．培養条件および出芽状況の観察は実験１）に従った．

４）静置培養期間が通気培養に与える影響

出芽したノコギリモクの組織片は新たな培養液に移し，静置培養と同じ条件で培養を続けた．その後，２ヶ月ごとに12ヶ月目まで４個ずつ組織片を取り出し，通気培養に移した．通気培養は栄養塩添加海水（PESI培地）を使用し，週に２回換水しながら１ヶ月間培養した．培養は温度20℃，照度6,000lx，光周期12L：12Dに設定した人工気象器内で500mℓサンプル瓶を用いて行なった．測定は１週間ごとに実施した．

結果および考察

１）静置培養における季節別出芽率の比較

海藻採取時の水温と日長時間を表１に示す．水温は実験を開始した2001年７月は上昇期で９月に最も高くなったが，その後は下降して2002年１～３月に最も低下し，2002年５月は再び上昇期となった．日長時間は2001年７月は長日条件（約14時間日長）で，以後は日長時間が減少し，９月がほぼ半日条件（約12時間日長），11～12月が短日条件（約10時間日長）であった．その後，日長時間は増加し，３月はほぼ半日条件（約12時間日長），５月は長日条件（約14時間日長）となった．

表１　海藻採取時の水温と日長時間

藻体	採取年月日	水温(℃)	日長時間
オオバモク	2001. 7.16	23.1↑	14時間13分↓
	2001. 9.18	26.2↓	12時間16分↓
	2001.12. 6	17.5↓	9時間58分↓
	2002. 1.30	10.2↓	10時間29分↑
	2002. 3. 4	12.7↑	11時間36分↑
	2002. 5.10	18.6↑	13時間48分↑
ノコギリモク	2001. 7.18	24.1↑	14時間11分↓
	2001. 9.30	25.0↓	11時間53分↓
	2001.11. 6	23.3↓	10時間39分↓
	2002. 1. 8	15.2↓	10時間　1分↑
	2002. 3.18	13.7↑	12時間　2分↑
	2002. 5.13	18.9↑	13時間52分↑

↑:上昇または増加期，↓:下降または減少期

採取月別の出芽率を図１に示す．年間を通した出芽率はオオバモクが5.2～57.3%，ノコギリモクが20.8～79.2%であり，ノコギリモクの方が高く推移した．季節別の出芽率は両種ともに夏季（７月）に採取した藻体で低く，秋季（９月）以降に高まる傾向が見られた．最も高い出芽率が得られた月は，オオバモクが水温上昇期の５月で57.3%(8.3～100%)，ノコギリモクでは低水温期の１，３月でそれぞれ70.8%（25.0～100%），79.2%（58.3～100%）で

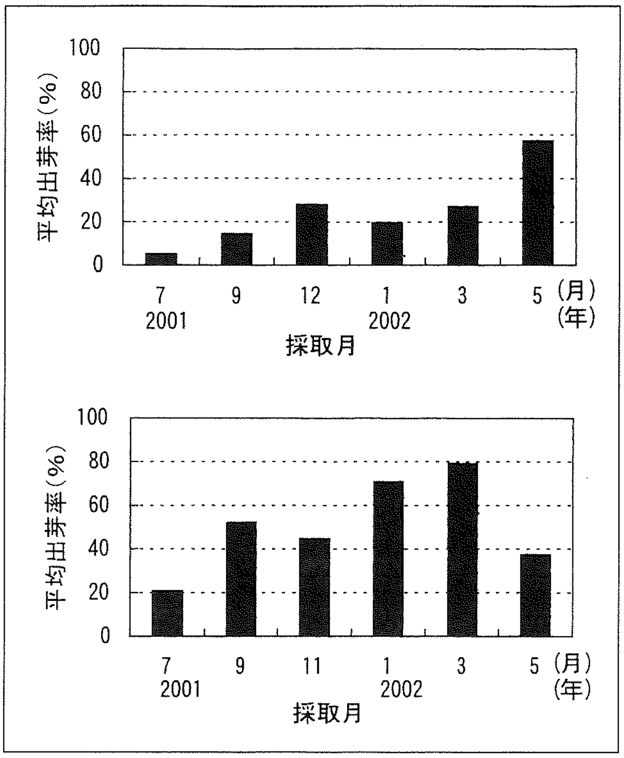

図1　採取月別の出芽率
上段：オオバモク，下段：ノコギリモク

あった．天然のオオバモクは4月中旬から5月中旬に主枝が伸長し，ノコギリモク幼体は低水温期に伸長することが知られている[14, 15]．今回の高い出芽率が得られた時期は両種ともに藻体の伸長期に当たっており，この時期は藻体内で細胞分裂が盛んに行われているために出芽しやすいものと考えられる．

採取月別の出芽日数を表2に示す．出芽はオオバモクで実験開始後14日目，ノコギリモクで10日目から確認された．しかし，出芽に要した日数は採取時期による大きな違いはなく，両種とも31～45日目をピークに16～60日目に最も多く出芽した．

2）母藻処理による出芽率への影響

母藻処理別のノコギリモクの出芽率を図2に示す．平均出芽率は無処理区76.7%（50.0～100%），栄養塩添加区73.3%（41.7～100%），植物ホルモン添加区88.3%（58.3～100%）であり，3試験区で大きな差は見られなかった．

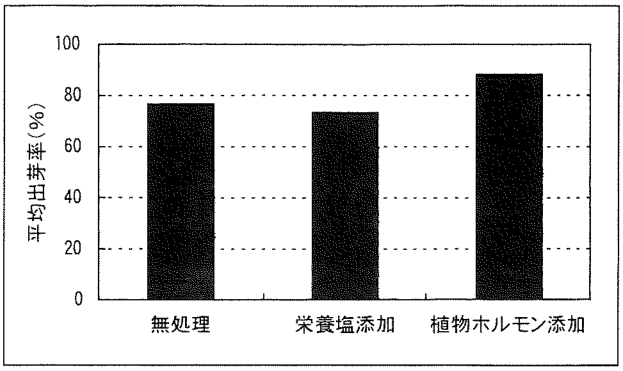

図2　母藻処理別のノコギリモクの出芽率

母藻処理別のノコギリモクの出芽日数を図3に示す．出芽に要した日数をみると，出芽は無処理区では16～30日目と31～45日目に最も多く，全体の80%近くを占めたのに対して，栄養塩添加区では0～15日目と16～30日目に全体の90%近くであり，日数が短縮される傾向が見られた．

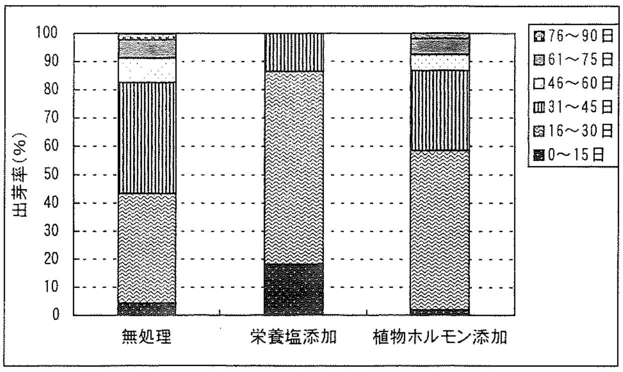

図3　母藻処理別のノコギリモクの出芽日数

表2　採取月別の出芽日数

	オオバモク						ノコギリモク					
培養日数	7月	9月	12月	1月	3月	5月	7月	9月	11月	1月	3月	5月
0～15	0	0	0	2	0	1	0	4	0	0	0	0
16～30	1*	8	6	7	11	31	7	7	15	15	20	13
31～45	3	2	9	8	9	13	6	15	15	26	31	10
46～60	1	0	2	0	6	4	6	17	5	15	7	7
61～75	0	0	7	2	0	2	1	6	3	7	13	2
76～90	0	4	3	0	0	4	0	1	5	5	5	4

＊出芽した組織片の数

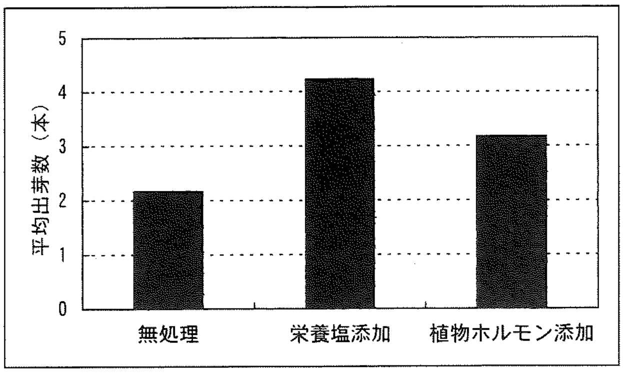

図４　母藻処理別のノコギリモクの平均出芽数

母藻処理別のノコギリモクの平均出芽数を図４に示す．平均出芽数は栄養塩添加区では無処理区に比べて出芽数が増加する傾向にあり，１組織片あたりの平均出芽数は無処理区の2.17本に対して，栄養塩添加区で4.23本，植物ホルモン添加区で3.17本と１～２本近い差が見られた．これらのことから，組織培養を行なう場合，採取した母藻は栄養塩添加海水や植物ホルモン添加海水に１ヶ月ほど浸漬し活性化させることで出芽日数の短縮や出芽数の増加を図ることができると思われる．

３）出芽に及ぼす植物ホルモンの影響

植物ホルモン添加区別の出芽率を図５に示す．最も高い出芽率が得られた試験区はオオバモクが６月採取の藻体で2.4-D 0.1mg/ℓ-BAP 0.01mg/ℓ添加区，９月採取の藻体で2.4-D 0 mg/ℓ-BAP 0.01mg/ℓ添加区，ノコギリモクが５月採取の藻体で2.4-D 0～1.0mg/ℓ-BAP 0 mg/ℓ添加区，９月採取の藻体で2.4-D 0 mg/ℓ-BAP 0 mg/ℓ添加区と2.4-D 10.0 mg/ℓ-BAP 0.01mg/ℓ添加区であった．両種ともに２回の試験結果は異なっていたが，オオバモクではオーキシンである2.4-Dを培養液に0.1～1.0mg/ℓ添

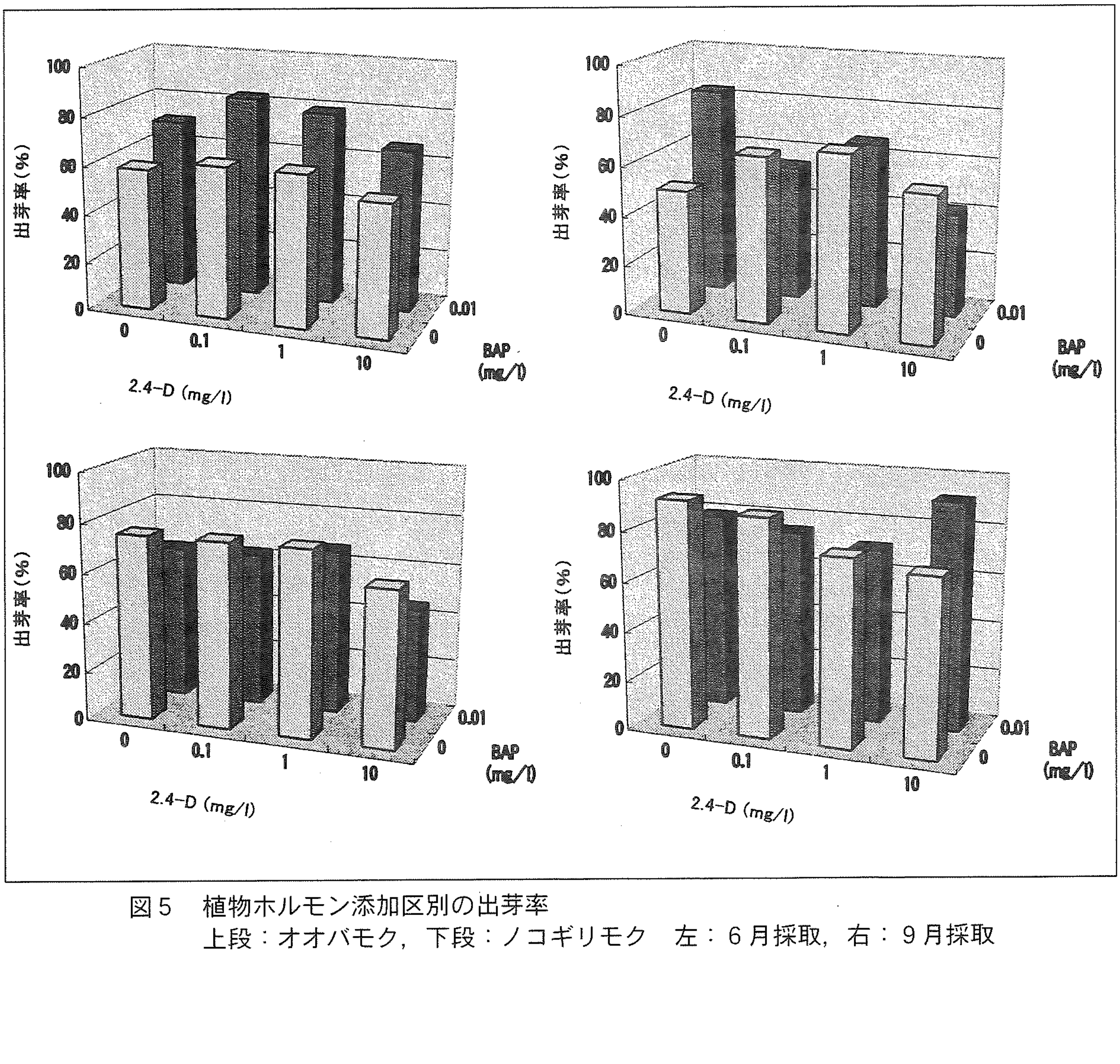

図５　植物ホルモン添加区別の出芽率
上段：オオバモク，下段：ノコギリモク　左：６月採取，右：９月採取

加した区で出芽率が若干高まる傾向が見られた．一方，ノコギリモクでは培養液にこれらを添加すると出芽率が低下する傾向が見られ，同じホンダワラ類であっても種類によって植物ホルモンの効果が異なることが示唆された．これらのことから，植物ホルモンの使用は海藻の種類によっては出芽率を向上させる効果が見られるものの，その効果は無添加区と比較して小さく，また植物ホルモンは非常に高価であることを考えると，静置培養における植物ホルモンの使用は実用的ではないと考えられる．

4）静置培養期間が通気培養に与える影響

出芽した組織片の生存率は出芽後６ヵ月目で75％，８ヵ月目で50％，10ヵ月目で25％となり，12ヵ月目は０％であった．

静置培養期間別の通気培養における初期葉長の変化を図６に示す．出芽直後の組織片は４週間で葉長約10mmに達して最も生長が良く，出芽後２ヶ月目と4ヶ月目でも出芽直後に比べて若干生長は劣るものの，４週間で約８mmに達した．しかし，６ヶ月目以降では４週間で葉長は４～６mmであり，出芽直後に比べて半分程度しか生長しなかった．これらのことから，静置培養で出芽した組織片は速やかに通気培養に移す必要があり，静置培養では最長でも４ヶ月程度しか保存できないことが明らかとなった．組織培養では，従来の生殖細胞に代わり体細胞を使用するため，常に藻体を入手できる多年生種は周年にわたって種苗を生産することができる．しかし，１年

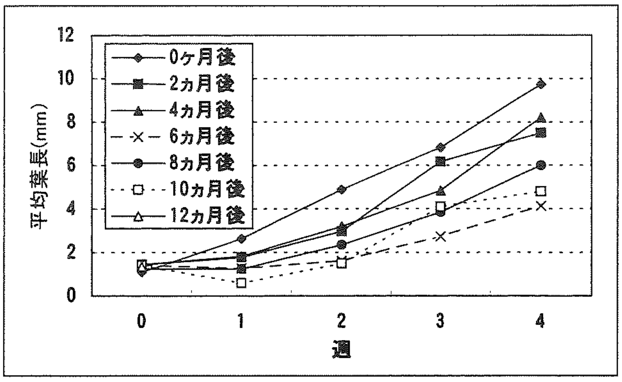

図６　静置培養期間別の通気培養における初期葉長の変化（ノコギリモク）

で枯死する単年生種では，藻体の消失期は種苗を生産することができず，この時期に移植を行なう場合には出芽した組織片を保存して用いる必要がある．今後は出芽した組織片の静置培養条件（温度，照度，培養液の換水条件など）を検討し，少なくても１年程度は組織片を保存する技術を開発する必要がある．

2．人工藻場造成試験

目　的

組織培養では種苗が本来の成熟期間に限られず，年間を通して生産できる．したがって，藻場造成を行なう際，生物的な阻害要因（他藻類や藻食性動物など）や物理的な要因（波浪など）が少ない時期に種苗を集中して移植することができる．そこで，本年度は昨年度に引き続き，年間を通して種苗を磯焼け海域に移植し，その後の消長から最適な移植時期について検討した．また，天然海域への移植方法については，組織培養した種苗が沖出し後15日～２ヶ月ほどで仮根を形成し基質に着生することが昨年度の試験により明らかとなった[9]．そこで，本年度は基質への着生率の向上を図るために，着生に適した種苗の大きさについて検討した．

材料および方法

組織培養において出芽したオオバモクとノコギリモクの組織片を通気培養に移し，１～数ヶ月間培養した．その後，葉数が４～５枚になるよう解剖用メスで組織片から切り離し実験用の種苗とした．

1）移植藻体の追跡観察

試験実施場所を図７に示す．試験は日高町比井崎地先海域の「中磯」（磯焼け海域）で実施した．2001年８月に葉長約１cmに生長した種苗をそれぞれ５本ずつ移植した．移植方法は種苗をクレモナ撚糸に挟み込み，移植床（目合３cmのトリカルネット）にステンレス針金で固定した．これを海底に打ち込

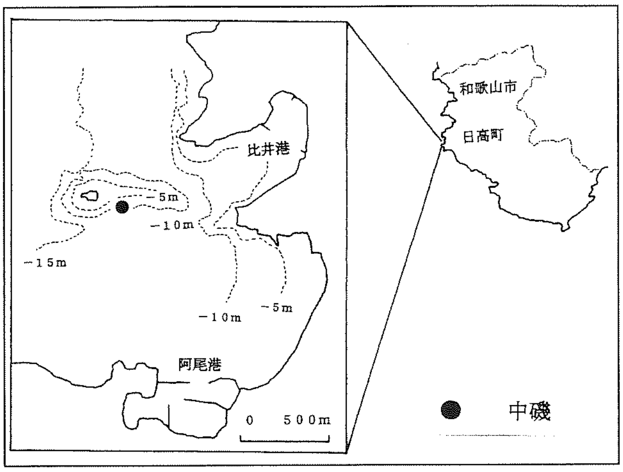

図７　試験実施場所

んだ移植台（鉄筋製）に結束バンド（ナイロン製）で固定した後，大型藻食性動物による食害を防止するため漁網（テグス網14号８節）を被せた．その後，ほぼ１ヵ月ごとに１年間にわたって経過を観察し，最大葉長，葉数，主枝長または茎長を計測した．

２）最適移植時期の検討

2001年８月より2002年６月まで約２ヶ月に１回，葉長約１cmに生長した種苗を比井崎地先海域にそれぞれ５本ずつ移植した．その後，１ヵ月ごとに３ヶ月にわたって残存本数，最大葉長，葉数を計測した．試験場所や移植方法は実験１）に従った．

３）仮根形成条件の検討

葉長が0.7～14.7cmに生長したオオバモクの種苗113個と0.6～6.5cmに生長したノコギリモクの種苗183個を屋外水槽に設置したコンクリートブロック上に静置し，微流水により２ヶ月間飼育した．その間，約15日ごとに基質への着生状況を確認し，着生した種苗については最大葉長を測定した．飼育水は当所の砂ろ過海水を用い，試験は水温が室内培養条件である20℃とほぼ一致するようになった2002年５月28日から行った．

結果および考察

１）移植藻体の追跡観察

移植した種苗のうち，１年後まで残存したものは両種ともに１本ずつであった．

組織培養種苗の移植後１年間の生長を図８に示す．種苗は両種とも順調に生長し，オオバモクでは

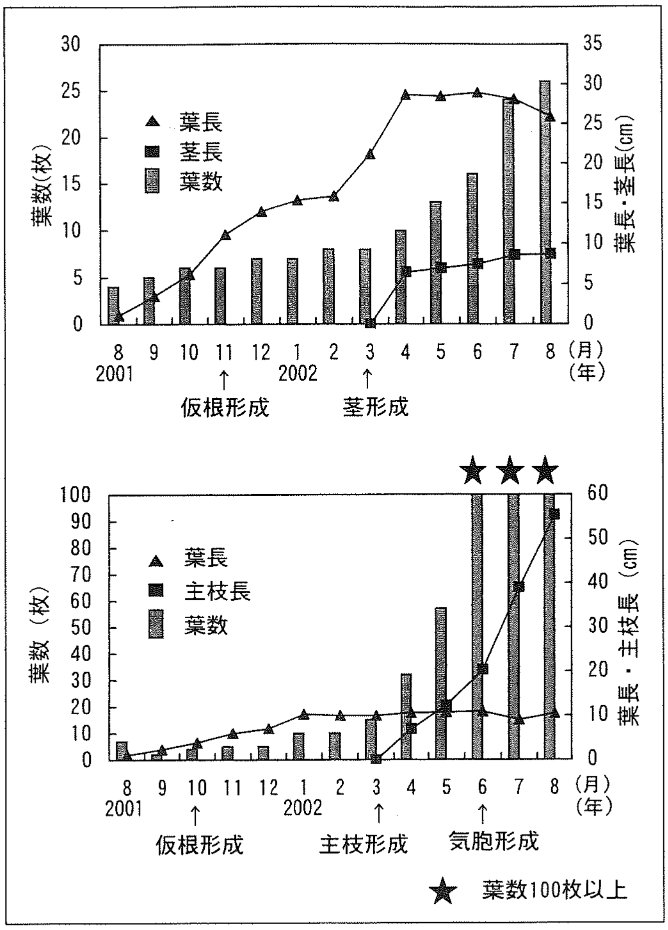

図８　組織培養種苗の移植後１年間の成長
上段：オオバモク，下段：ノコギリモク

移植後３ヶ月（11月），ノコギリモクでは２ヶ月（10月）で仮根を形成し基質に着生した．その後，オオバモクでは１～２月の低水温期に生長が鈍くなったものの，水温が上昇しはじめた３月以降は再び急速な生長が見られ，茎を形成し，１年で葉長25.9cm，葉数26枚，茎長8.7cmとなった（写真１）．ノコギリモクについても，１～２月の低水温期は生長が停滞したが，３月以降は主枝を形成し，再び急速に生長した．その後も主枝の伸長とともに葉数が急増し，移植後10ヶ月目（６月）には主枝部で気胞が形成され，１年で葉長10.5cm，葉数100枚以上，主枝長55.4cmの大型藻体となった（写真１）．また，ノコギリモクでは2002年11月の調査時（移植後15ヶ

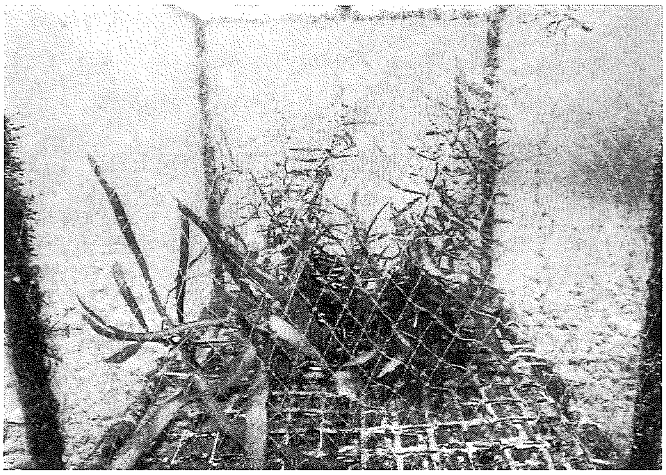

写真１　移植後約１年の組織培養種苗
（左：オオバモク，右：ノコギリモク）

写真２　組織培養したノコギリモクの主枝部で形成された生殖器床（移植後15ヶ月）↓：生殖器床

月）に伸長した主枝部において多数の生殖器床が観察された（写真２）．ノコギリモクの生長を天然藻体と比較した場合，生殖細胞から発生した種苗は非常に生長が遅く，葉長２～４㎜の発芽体を天然海域に移植すると，全長は１年で1.1cm，１年10ヶ月で7.5cm，２年３ヶ月で15.0cmの小型藻体になり，成熟には生長の早い藻体で２年以上，一般には３年以上かかることが報告されている[15]．一方，今回移植した種苗は約１年で全長60cmほどに生長し成熟に至った．このことは，組織培養した種苗が生殖細胞から発生した種苗に比べて非常に生長が早いことを示唆している．オオバモクやノコギリモクなどの多年生ホンダワラ類は生長は遅いものの寿命が長く，オオバモクでは５～６年，ノコギリモクでは９年ほど生きるといわれている[15,16]．このような海藻で構成される藻場は，多年級群で構成されるため遷移が起こりにくく，長期にわたり安定して群落が維持される．また，ノコギリモクなどいくつかのホンダワラ類は藻食性動物に食されにくいことが報告されており[17]，磯焼け海域での藻場造成の対象種として有用である．したがって，これらの種類を用いて藻場造成を行う場合，生長の早い種苗を作ることができる組織培養は非常に有効な手法になることが期待できる．

２）最適移植時期の検討

2001年８月から2002年６月に移植した種苗の３ヶ月間の残存本数，最大葉長，葉数の推移を図９に示す．３ヶ月後の残存本数は両種ともに４月に移植した種苗が０本，６月が１本となり，年間を通して最も残存率が低かった．これは夏季から秋季に発生した台風のうねりで仮根形成前もしくは形成直後の種苗が流失したためと考えられる．８月に移植した種苗は比較的高い残存率を示したが，2001年は試験場所に接近した台風が極端に少なかったため流失を免れたものと考えられ，春季から夏季に移植する場合には波浪等物理的な力による流出が大きな減耗要因となることが推測される．特に，組織培養した種苗は付着部に対して大きな葉状部を持つため弱い海水流動で流失しやすいと思われる．したがって，この時期に移植を行う場合，移植前に種苗の付着器を充分に発達させるか，又は移植場所を波浪が穏やかな場所にする等の検討が必要である．一方，12月に移植した種苗の残存本数はともに４本，２月はオオバモクで３本，ノコギリモクで４本となり，年間を通して最も残存率が高かった．３ヶ月後の平均葉長は２月に移植した種苗がともに最も生長が良く，次いで10月，８月，６月の順に12月が最も悪い結果となった．３ヶ月後の平均葉数についても平均葉長と同様に，２月に移植した種苗でともに最も枚数が増

加し，10月がこれに次いだ．実験１）の結果でも，移植した組織培養種苗は水温上昇期に当たる３月以降に急生長しており，今回の結果と一致した．今回の試験は単年であったため，当時の現場海域の状況や移植した種苗の質などの影響も考慮に入れる必要があるが，種苗の移植時期としては波浪等物理的な力による影響の少ない水温上昇前に当たる３月以降が最も適していると思われる．

３）仮根形成条件の検討

実験終了時の着生率はオオバモクが11.5%，ノコギリモクが30.1%であり，昨年度のオオバモク63.3%，ノコギリモク36.7%と比較すると，オオバ

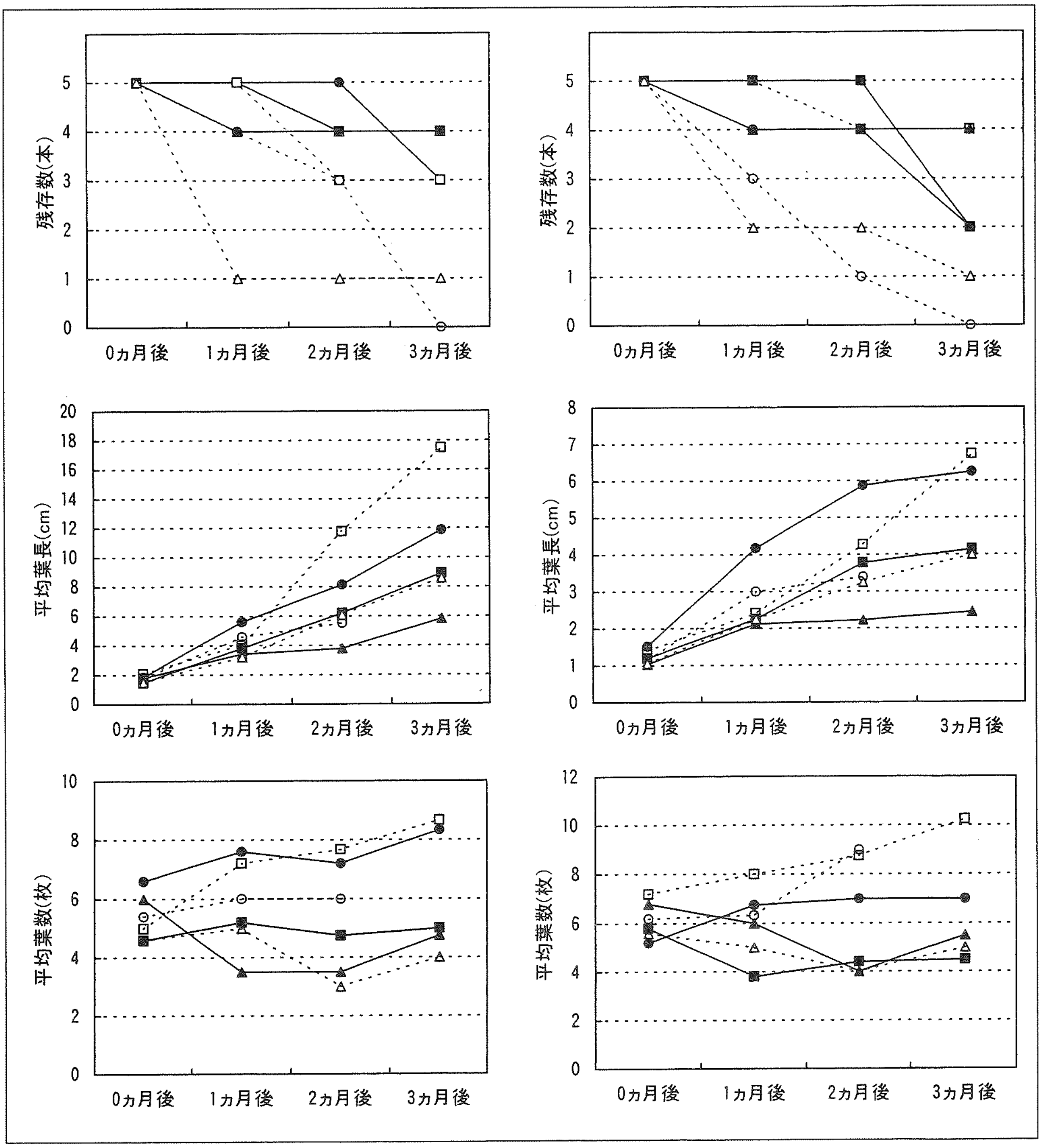

図９　移植した種苗の３ヶ月間の残存本数，最大葉長，葉数の推移
左：オオバモク，右：ノコギリモク
■８月，●10月，▲12月，□２月，○４月，△６月

モクで非常に低くなった．ホンダワラ類の仮根形成については，ヒジキ，アカモク，タマハハキモク，エゾノネジモクで温度や塩分の影響が調べられており，エゾノネジモクでは15℃[18]，ヒジキとアカモクでは15～20℃[19, 20]，タマハハキモクでは20～25℃[21]と，それぞれ好適な温度域があることが知られている．今回の実験では開始時の水温は昨年と同様に20℃程度であったものの，終了時には30℃近くに達しており，オオバモクの好適温度域から大きく外れていたことが考えられる．

種苗の大きさ別着生数を図10に示す．オオバモクでは着生数が少なかったものの，葉長3.1～6.0cmの種苗が最も多く着生し，1.0cm未満と9.1cm以上では全く着生しなかった．ノコギリモクでは，葉長1.1～2.0cmの種苗で最も多く着生が見られ，大きくなるにしたがって減少し，1.0cm未満と5.1cm以上では全く着生しなかった．着生に要した日数についても，両種ともに着生数が多かった葉長の種苗は短い日数で着生しており，葉長が大きくなるにつれて着生に要する日数は増加した．これらのことから，組織培養した種苗には着生に適した大きさがあり，葉長がオオバモクで3.1～6.0cm，ノコギリモクで1.1～2.0cmの種苗が最も着生しやすいものと考えられる．

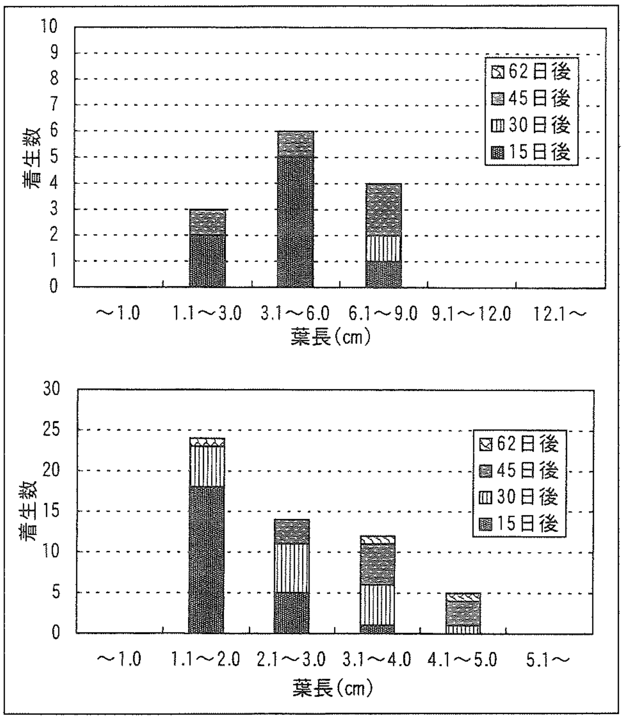

図10　種苗の大きさ別着生数
上段：オオバモク，下段：ノコギリモク

文　献

1．Pauline A・Mooney・J. van Saden (1985)：In vitro plantlet formation and multiple shoot induction in *Sargassum heterophyllum*. S-Afr. Tydskr. Plantk., 51(1), 41-44.

2．Eun Kyoung Hwang・Chang Hoon Kim・Chul Hyun Sohn (1994)：Callus-like Formation and Differentiation in *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura. The Korean Journal of Phycology., 9(1), 77-88.

3．諸見里聡 (2000)：ヒジキの組織培養による種苗生産技術開発．平成12年度沖縄県水産試験場事業報告書，137-138.

4．木村 創(1996)：ホンダワラ類２種とヒジキの組織培養．平成7年度和歌山県水産増殖試験場事業報告，22-27.

5．能登谷正浩(1997)：水産学シリーズ113 有用海藻のバイオテクノロジー．恒星社厚生閣，東京，pp. 21-31.

6．樫山晃晴(1999)：ホンダワラ類の組織培養による増養殖用種苗生産技術開発．平成10年度和歌山県農林水産総合技術センター水産増殖試験場報告, 31, 52-70.

7．樫山晃晴(2001)：ホンダワラ類の組織培養による増養殖用種苗生産技術開発．平成11年度和歌山県農林水産総合技術センター水産増殖試験場報告, 32, 52-70.

8．樫山晃晴(2002)：ホンダワラ類の組織培養による増養殖用種苗生産技術開発．平成12年度和歌山県農林水産総合技術センター水産増殖試験場報告, 33, 53-78.

9．田中俊充 (2002)：ホンダワラ類の組織培養による増養殖用種苗生産技術開発．平成13年度先端技

術等地域実用化研究促進事業報告書.
10. 藤井義一・桐原慎二(1996)：褐藻フタスジモクの組織培養. 日本海ブロック試験研究収録, 33, 57-61.
11. Y. Kawashima・H. Tokuda (1990)：Callus formation in *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta) Hydrobiologia, 204/205, 375-380.
12. 木村 創・能登谷正浩(1996)：褐藻クロメの組織培養. 日本水産学会誌, 62 (4), 638-641.
13. 吉田吾郎(2000)：生活史と環境要因. 日本水産学会誌, 66 (4), 746-747.
14. 寺脇利信・後藤 弘 (1986) ：三浦半島小田和湾におけるオオバモクの生長と成熟. 水産増殖, 34 (3), 141-146.
15. 村瀬 昇(2001)：褐藻ノコギリモク*Sargassum macrocarpum* C. Agardhの生態学的研究. 水産大学校研究報告, 49 (4), 201.
16. 吉田忠生 (1998) ：新日本海藻誌. 内田老鶴圃, 東京, pp. 401-402.
17. 桐山隆哉・藤井明彦・吉村 拓・清本節夫・四井敏雄 (1999) ：長崎県下で1998年秋に発生したアラメ類の葉状部欠損現象. 水産増殖, 47 (3), 319-323.
18. 小河久朗・金谷夏広・木内悦子 (1995) ：エゾネジモクの仮根形成に及ぼす温度と塩分の影響. 水産増殖, 43 (4), 445-448.
19. 小河久朗・金谷夏広・木内悦子 (1996) ：褐藻ヒジキの仮根形成に及ぼす温度と塩分の影響. 水産増殖, 44 (4), 407-411.
20. 小河久朗 (1986) ：海藻の初期発生におよぼす温度と塩分の影響Ⅱ. アカモクの仮根形成. 藻類, 34 (2), 137-141.
21. 小河久朗 (1994) ：タマハハキモクの仮根形成に及ぼす温度と塩分の影響. 水産増殖, 42 (1), 25-31.