

## 再生痕を利用したガザミ種苗外部標識の検討 ～背甲後端切込標識を中心に～

鈴木 洋行

### Marking method for juvenile swimming crabs using malformed regeneration

～Mainly on the treatment to cut the mid-brachial region of the carapace～

Hiroyuki Suzuki

In order to develop the marking method for juvenile swimming crabs *Portunus trituberculatus* in evaluating the stocking effectiveness, third stage crabs were treated with three methods to make malformed regeneration in some body parts; breaking an eye, cutting off the outer portion of dactylus of the fifth pereopod, and cutting the mid-brachial region of the carapace. Treated and non-treated (control) crabs were individually reared, and survival rate and regenerated body parts were examined. In addition, vulnerability of treated and control crabs to predatory fish was investigated. Further, external morphology of the wild swimming crabs was observed to examine the malformed regeneration in natural population. As a result, crabs which mid branchial region of the carapace was cut diagonally showed high rate of malformed regeneration of the carapace which is easily recognized. Further, these crabs showed similar survival, growth and predation rates compared with control crabs. Malformations similar to the regenerated morphology of the mid-brachial treated crabs were not observed in the wild crabs. Consequently, it is suggested that the appropriate treatment to induce the malformed regeneration for making juvenile swimming crabs is cutting the mid-brachial region of the carapace.

Key words : Swimming Crab, *Portunus trituberculatus*, marking, juvenile , carapace

### 緒 言

ガザミ *Portunus trituberculatus* は、函館以南の日本海及び太平洋沿岸から東シナ海にかけて分布する大型のカニ類で、沿岸甲殻類の主要な漁獲対象種となっている<sup>1)</sup>。本種は1960年代から栽培漁業の対象種に取り上げられ、近年では全国で3000万尾前後の種苗が放流されている<sup>2)</sup>。

しかし、その定量的な放流効果の把握や最適放流

手法の検討についてはほとんど行われていない。その原因として、ガザミを含む甲殻類は脱皮して成長するため、アリザリン・コンプレクソン等の既存の魚類用標識では対応できないことが挙げられる。ガザミ類では、これまでにも様々な標識方法が試みられてきた。例えば、長さ0.5～1.6mm、直径0.25mmの数値等のコードが刻まれているステンレス製ワイヤーを体内へ埋め込む Coded Wire Tag 標識による手法も一部で行われていた<sup>3,4)</sup>が、食の安全に対す

る配慮から近年は使用が難しくなっている。Coded Wire Tag 標識に類似した構造で22金性ワイヤーを使用した金線標識による手法についても、標識検出には軟X線装置が必要でコスト面に課題を残している<sup>5)</sup>。同じガザミ類のトゲノコギリガザミではミトコンドリア DNA 標識手法による放流効果の検討も行われている<sup>6)</sup>が、外観で標識が確認されるものではないため、買取費用やその解析に多額の費用が必要で対応が難しい。しかし近年、同じ甲殻類のクルマエビで切った尾肢の再生痕を利用した簡便な外部標識方法が開発され<sup>7-10)</sup>、各地で放流エビの移動や成長、定量的な放流効果の把握、放流手法の検討が可能となってきた<sup>11-15)</sup>。また、日本栽培漁業協会や山口らはクルマエビで開発された手法をそれぞれアミメノコギリガザミとガザミへ適用し、扁平な遊泳脚指節にハサミで切れ込みを入れたところ、脱皮後の再生指節に奇形が発現し、再生痕として認識可能であったことを報告している<sup>16,17)</sup>。しかし、両報告とも通常の放流種苗より大型サイズによる標識であり、遊泳脚指節以外の部位でその有効性を確認した研究報告はない。そこで現在、放流種苗の主体である第3齢稚ガニを対象に、切除あるいは切れ込みを入れる部位

として、眼球、背甲の中鰓域中央後端（以下、背甲後端とする）及び遊泳脚を選定し、標識処理後の生残率、成長及び標識としての認識可能な再生痕の発現率（以下、標識率とする）を調査した。さらに標識処理が放流後の生残率に及ぼす影響を把握する基礎として、各標識処理を施した種苗に対し魚類による被食試験を行った。併せて各標識の再生痕に類似した外部形態をもつガザミの出現状況を把握するため奇形個体出現状況を調査したので、概要を報告する。

## 材料と方法

### 標識試験

標識試験は2回実施した。標識部位として試験Ⅰでは眼球、背甲後端および遊泳脚指節について検討し、試験Ⅱでは試験Ⅰで有効性が認められた背甲後端について、切れ込みの方向を検討した。

（試験Ⅰ）各部位への標識処理は以下のように行った（Fig. 1）。

眼球切除標識：小型ルーターとピンセットにより眼球内部組織をかき出した。

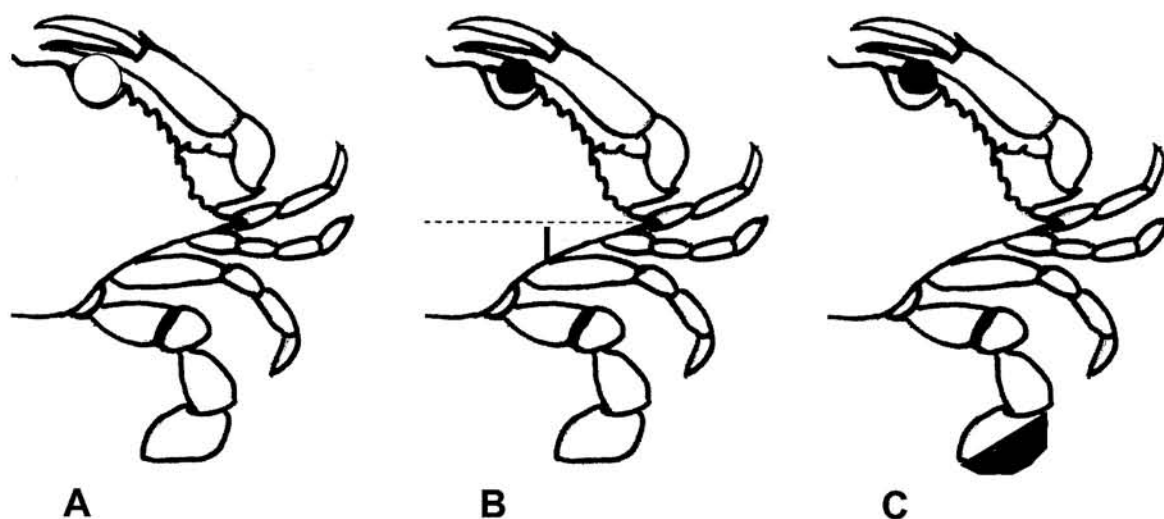


Fig. 1. Treatments for making juveniles of the swimming crabs in experiment I.

A, breaking eye; B, cutting mid-branchial region of the carapace; C, cutting off outer portion of dactylus of the fifth pereopod.

背甲後端切込標識：マイクロ剪刀 LW631400 を用い、背甲後端中心部から前側縁の左右最後方鋸歯を直線で結んだ部分のやや手前まで直角に切れ込みを入れた。

遊泳脚半切除標識：スタンド型ルーペ下で、マイクロ剪刀を用い遊泳脚指節外側半分を切除した。

材料は長崎市水産センターで生産された第3 齢稚ガニを用いた。標識処理は平成16年6月21日に水温15℃海水を入れたシャーレに1尾ずつ稚ガニを入れ、標識時間を測定しながら実施した。標識処理後は各標識区及び対照区50尾ずつをデジタルマイクロスコープ VH-6300 (KEYENCE 社製) で全甲幅長を測定した。その後、共食いによるへい死を防ぐため、直径12.5cm高さ16cmの塩ビ管にトリカルネットをつけた個別飼育容器に入れ、流水(1時間1回転)による飼育を開始した。餌料は冷凍アミ又は冷凍殻付きアサリを毎日与え、翌日残餌を取り上げた。併せて脱皮殻とへい死を個別に毎日確認した。給餌等の作業は原則として毎日、午前9~11時の間に行った。

飼育開始2週間後、5週間後、9週間後に個別に全甲幅長測定及び標識処理を施した部位の再生状況を

を観察した。

(試験Ⅱ) 各標識処理は以下のように行った(Fig. 2)。

横切り標識：マイクロ剪刀を用い、背甲後端中心部から前側縁の左右最後方鋸歯を直線で結んだ線と水平に眼球より下ろした垂線に達する程度に切れ込みを入れた。

縦切り標識：マイクロ剪刀を用い、背甲後端中心部から前側縁の左右最後方鋸歯を直線で結んだ線に達するまで切れ込みをいれた。

斜め切り標識：マイクロ剪刀を用い、背甲後端中心部から額域に向かって前側縁の左右最後方鋸歯を直線で結んだ線に達するまで切れ込みをいれた。

材料は長崎市水産センターで生産された第3 齢稚ガニを用いた。標識処理は平成16年9月3日に海水を入れたシャーレに1尾ずつ稚ガニを入れ、標識時間を測定しながら実施した。標識処理後は各標識区及び対照区40尾ずつをデジタルマイクロスコープで全甲幅長を測定した。その後の飼育方法については試験Ⅰ同様に実施した。

飼育開始2週間後、5週間後、9週間後に個別に全甲幅長測定及び標識処理を施した部位の再生状況を観察した。

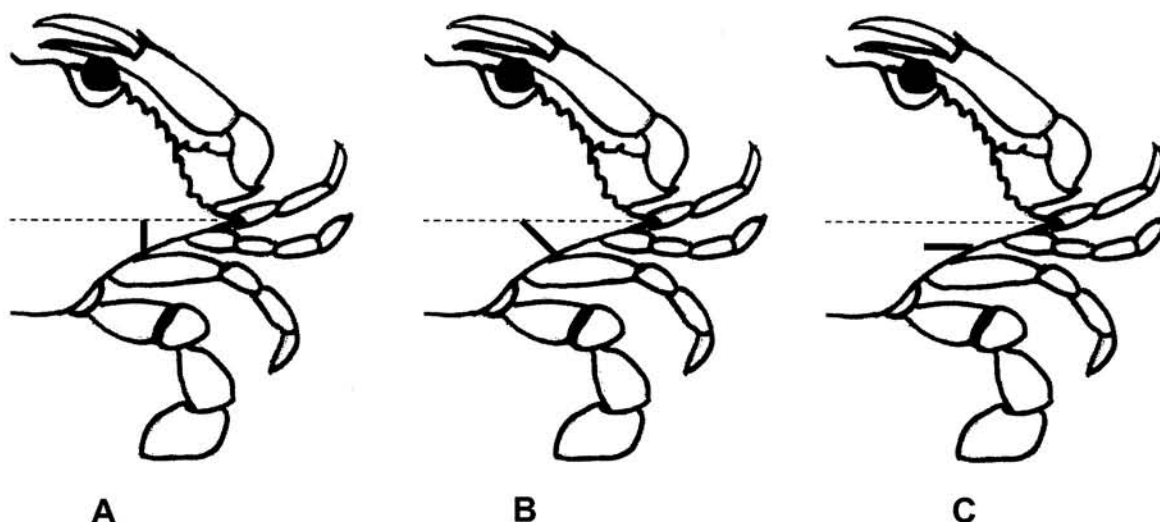


Fig. 2. Treatments for cutting mid-branchial region of the carapace of juvenile swimming crabs in experiment II.

A, vertically; B, diagonally; C, horizontally.

被食試験

長崎市水産センターで生産された第3齢稚ガニ300尾を用いて、平成16年6月22日より被食試験を行った。背甲後端切れ込み、眼柄切除、遊泳脚半分切除の各標識毎に標識処理した個体50尾と未処理の個体50尾を60×90×25cmのバットに入れ、捕食魚としてオニオコゼ(全長約14cm)1尾を入れ流水飼育した。バットには周辺にトリカルネットを張り、砂を深さ5cm敷き、シェルターとして1m人工海藻2本を入れた。餌料は冷凍殻付きアサリを残餌が残る程度に毎日与え、翌日残餌を取り上げた。試験開始2週間後及び5週間後に、全数を取り上げ全甲幅長測定し、標識として認識可能な再生痕の有無毎の生残尾数を確認した。

天然漁獲ガザミの外部形態調査

試験Iの結果を参考に、天然で漁獲されるガザミについて標識の再生痕と誤認されるような外部形態を持つガザミが存在するかを確認するため、平成16年8月6日、12日に戸石漁協、島原漁協及び有明町

漁協に集荷されたガザミ1,102尾について外部形態の状況を観察した。

結 果

標識試験

(試験I) 1尾あたりの標識作業にかかる時間及び飼育開始時、2、5、9週間後の全甲幅長、標識率をTable 1に、試験期間中の生残率をFig. 3に脱皮殻確認個体数をFig. 4に示した。

標識作業にかかる時間は、背甲後端切込、遊泳脚半分切除、眼球切除標識の順で作業時間が短い結果となった。成長については各区とも飼育期間が長くなるに従い、個体間の全甲幅長のばらつきが大きくなったが、各区で大きな差は見られなかった。試験期間中の脱皮時期、脱皮回数は各標識区および対照区と変わらない脱皮状況であった。

生残率については眼球切除標識は標識後数日間のうちに2割程度減耗したが、他の標識では標識直後の大きな減耗は見られなかった。標識2週間目以降、

Table 1. Times required for treatments for making, growth and mark retention rate in juveniles of swimming crabs in experiment I.

| Treatment | Times (sec) | total carapace width (mm) |              |              |              | Retention rate(%) |              |              |
|-----------|-------------|---------------------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|--------------|--------------|
|           |             | initial                   | after 2weeks | after 5weeks | after 9weeks | after 2weeks      | after 5weeks | after 9weeks |
| A         | 35.0±4.4    | 11.15±0.46                | 16.26±2.59   | 23.05±4.60   | 33.62±5.85   | 100.0             | 100.0        | 100.0        |
| B         | 15.6±2.6    | 11.03±0.71                | 17.30±3.05   | 21.20±4.52   | 31.49±8.30   | 76.6              | 55.3         | 35.4         |
| C         | 29.6±5.2    | 10.94±0.61                | 17.21±2.83   | 19.39±3.17   | 29.56±5.97   | 42.6              | 21.3         | 14.2         |
| control   | -           | 11.15±0.63                | 17.31±2.96   | 22.51±3.50   | 29.41±5.00   | -                 | -            | -            |

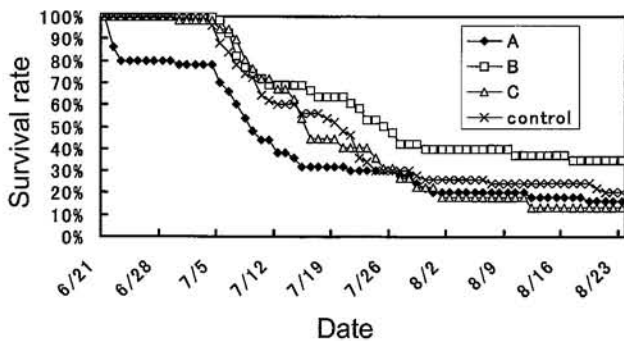


Fig. 3. Changes of survival rates of juveniles swimming crabs after marking treatments in experiment I.

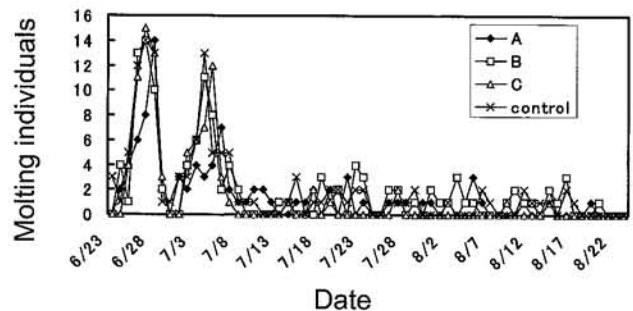


Fig. 4. Changes of number of molted juveniles of swimming crabs after marking treatments in experiment I.



対照区も含む全ての区で急激に原因不明のへい死が見られた。眼球切除標識は期間を通して全数明確に標識として視認された。背甲後端切込及び遊泳脚半切除は標識2週間後には標識として認識できる再生痕がない個体が見られ、標識率は背甲後端切込のほうが遊泳脚半切除より高かった。標識の再生痕については、眼柄切除標識は眼球が全く再生しない

個体や再生しても通常の眼球と比較し明らかに小型の眼柄が再生した個体が見られた (Fig. 5)。背甲後端切込標識は、背甲後端域に明確に凹みがある個体や歪みがある個体が見られた (Fig. 6)。遊泳脚半切除標識は、遊泳脚指節が窪みや細く再生する等の個体が見られた (Fig. 7)。

(試験Ⅱ) 1尾あたりの標識作業にかかる時間及び

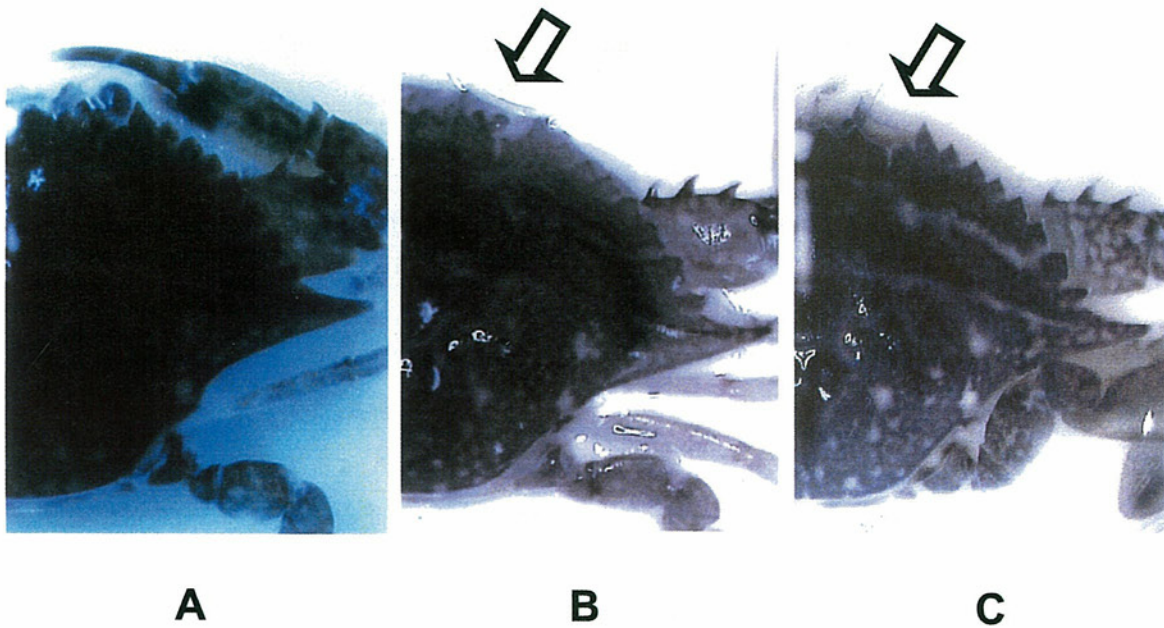


Fig. 5. Eyes of molted swimming crabs after treatment. A) Control, B) small-regenerated type, C) Unregenerated type.

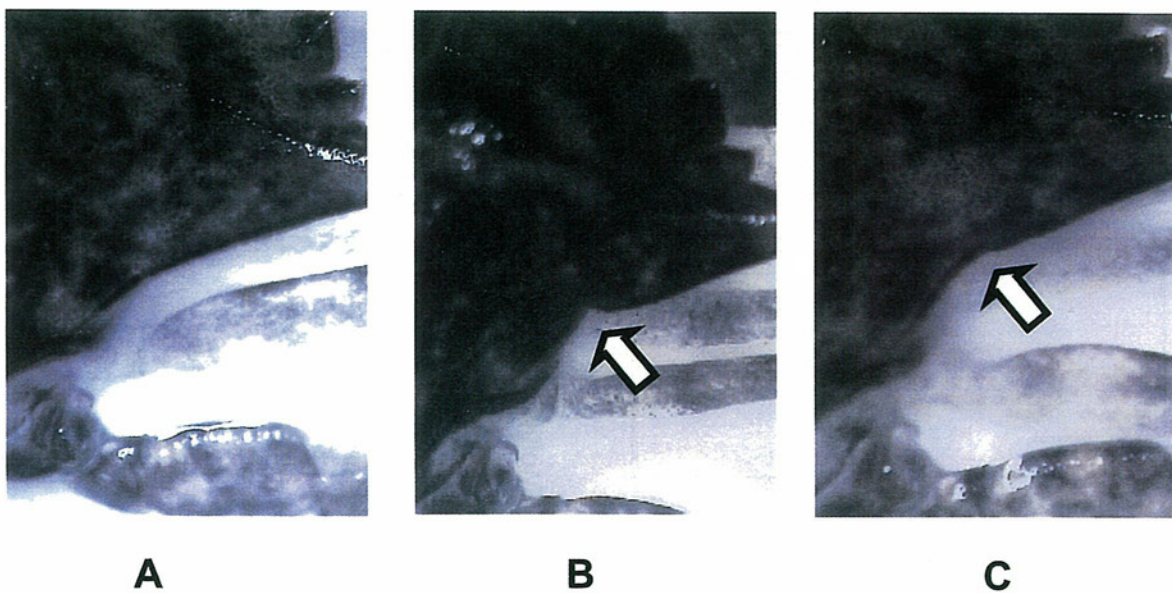


Fig. 6. Mid-branchial region of the molted swimming crabs after treatment. A) Control, B) Hollow type, C) Distortion type.



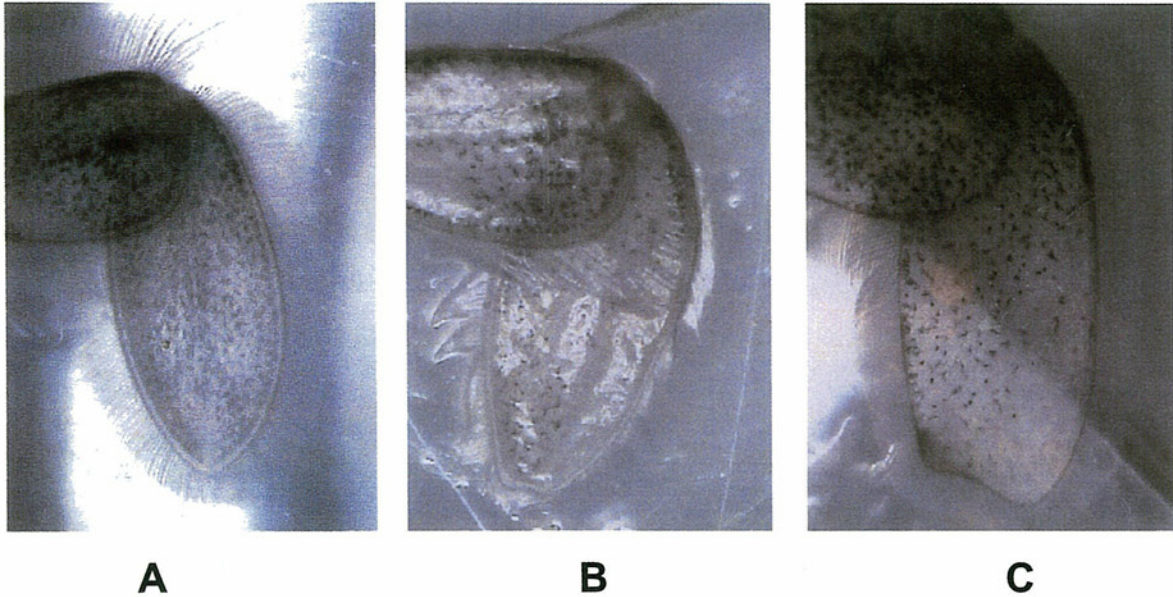


Fig. 7. Dactylus of the fifth pereopod of the molted swimming crabs after treatment. A) Control, B) Narrow type, C) Hollow type.

飼育開始当初，2，5，9週間後の全甲幅長，標識率を Table 2 に，試験期間中の生残率を Fig. 8 に脱皮殻確認個体数を Fig. 9 に示した。成長については各標識区毎に大きな違いはなく9週間後までに全甲幅長約40mmまで成長した。標識率は横切り標識，縦切り標識，斜め切り標識の順で高く，斜め切り標

識は9週後の標識率が88%であった。各標識区ともに対照区と生残率に大きな違いはなく，順調に推移した。脱皮状況は各標識区とも対照区と大きく変わらず，試験期間中に約5回の脱皮殻確認個体の多い時期が見られた。

Table 2. Times required for treatments for making, growth and mark retention rate in juveniles of swimming crabs in experiment II.

| Treatment | Times (sec) | total carapace width (mm) |              |              |              | Retention rate(%) |              |              |
|-----------|-------------|---------------------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|--------------|--------------|
|           |             | initial                   | after 2weeks | after 5weeks | after 9weeks | after 2weeks      | after 5weeks | after 9weeks |
| A         | 11.8±1.0    | 10.98±0.85                | 20.59±2.01   | 30.16±3.40   | 39.52±5.69   | 60.5              | 36.3         | 28.7         |
| B         | 10.2±0.6    | 11.20±0.90                | 20.98±1.80   | 31.70±3.27   | 41.04±5.14   | 86.1              | 70.7         | 60.6         |
| C         | 11.0±0.8    | 11.08±0.69                | 20.70±1.58   | 31.73±3.25   | 41.42±4.73   | 97.3              | 94.4         | 88.2         |
| control   | -           | 10.92±0.69                | 20.45±1.70   | 30.85±4.31   | 40.28±5.71   | -                 | -            | -            |

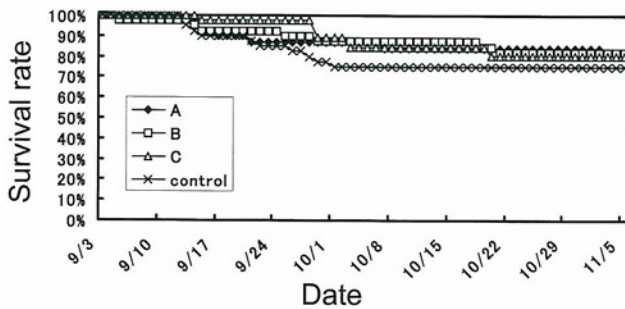


Fig. 8. Changes of survival rates of juveniles swimming crabs after marking treatments in experiment II.

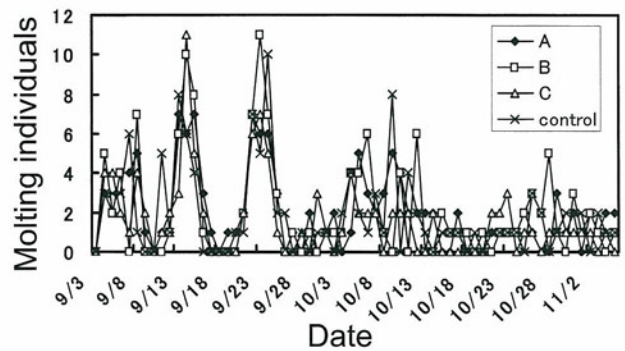


Fig. 9. Changes of number of molted juveniles of swimming crabs after marking treatments in experiment II.

Table 3. Changes of number of survived juveniles of the swimming crabs in the predation experiment.

A, B, and C indicate the making treatment. See Fig.1 for marking treatment.

|              | A    |         | B    |         | C    |         |
|--------------|------|---------|------|---------|------|---------|
|              | mark | no mark | mark | no mark | mark | no mark |
| initial      | 50   | 50      | 50   | 50      | 50   | 50      |
| after 2weeks | 18   | 19      | 15   | 12      | 11   | 25      |
| after 5weeks | 1    | 5       | 2    | 2       | 3    | 6       |

## 被食試験

試験結果を Table 3 に示した。(標識試験 I) の結果から、背甲後端切込標識と遊泳脚半切除標識は標識率が低下することから、標識が確認できない個体が必ずしも標識未処理個体ではないと考えられる。そこで(標識試験 I)の結果を参考に標識個体と無標識個体の生残尾数を推定した。背甲後端切込標識の標識個体と無標識個体は2週間後がそれぞれ15尾、12尾、5週間後2尾、2尾を観察したが、(標識試験 I)の結果より、2、5週間後までの標識率は77%、55%であったことから、標識個体と無標識個体の生残尾数は2週間後がそれぞれ17.8尾、9.2尾、5週間後2.9尾、1.1尾と推定した。また遊泳脚半切除標識の標識個体と無標識個体は2週間後がそれぞれ11尾、25尾、5週間後3尾、6尾を観察したが、(標識試験 I)の結果より、2、5週間後までの標識率は43%、21%であったことから、2週間後は25.3尾、10.8尾、5週間後7.7尾、1.3尾と推定した。

## 天然漁獲ガザミの外部形態調査

今回の調査では背甲後端切込や眼球切除による標識と誤認されそうな痕跡のあるガザミは確認されなかった。遊泳脚半切除については、遊泳脚そのものが欠損しているもの、指節が変形・欠損しているもの等が見られ、左右いずれかの遊泳脚に何らかの問題があるものが5.9%存在した。

## 考 察

今回、外部標識方法として、眼球切除標識、背甲後端切込標識、遊泳脚半切除標識の可能性を検討した。眼球切除標識は標識試験の結果では標識直後の斃死が2割程度見られた。また、被食試験では他の2標識区の標識個体の生残が無標識個体の生残を大きく上回ったと推定されており、試験方法、推定方法に問題があった可能性もあるが、眼球切除標識は他の2標識区と比較して、標識個体の生残が悪く、生残率に問題があると判断した。トヤマエビでは眼球破壊による標識は生残への影響は少ないとされ、標識放流が実施されている<sup>16)</sup>。この違いはガザミは眼球が背甲の内側に入り込むため、ルーターを使って内側から掻き出す際に他の器官を傷つけている可能性があるのに対し、トヤマエビは眼球が背甲の外へ飛び出しているため、他の器官を傷つけることなく眼球を破壊できることが考えられる。遊泳脚を利用した標識の知見としては日本栽培漁業協会が第5齢稚ガニの遊泳脚指節縦方向に半分の深さになるよう切れ込みを入れた場合、40日間飼育し3回の脱皮後も100%の標識率であったと報告し<sup>16)</sup>、山口らが実施した遊泳脚指節部分の約7割の深さに切れ込みを入れた事例では20日後の標識率が26%であった<sup>17)</sup>と報告している。今回の試験では第3齢稚ガニと他の報告事例より小型で遊泳脚指節が非常に小さいため切れ込みを入れることが難しく、今回は遊泳脚指節の半分を切除する方法で行った。標識処理の方法や標

識処理サイズが異なっており、一概に比較できないが、標識率は今回の試験では山口らの結果に近い値が示され、それに示された標識処理後の再生痕と今回の半切除標識による再生痕は類似していた。天然漁獲ガザミの外部形態調査では標識処理後の再生痕と類似した遊泳脚をもつ漁獲物が確認された。佐賀県では平成15年より遊泳脚切れ込み標識による放流を行っており<sup>17)</sup>、佐賀県が標識放流した種苗が外部形態調査に一部含まれていたことも考えられるが、漁獲時に付いたと思われる遊泳脚の損傷の中に遊泳脚半切除標識と同様の状態になっているものも観察された。また遊泳脚そのものが脱落した個体も観察されている。ニホンザリガニでは生活空間の広狭で鋏脚の欠損頻度が変化する<sup>18)</sup>とされておりガザミの遊泳脚についても同様の変化が考えられる。そのため遊泳脚半切除標識による標識放流を実施した場合は、放流後の密度によっても、その後の遊泳脚欠損状況が変化する心配がある。これらのことから遊泳脚半切除標識は標識率、放流後の標識誤認について問題が残った。以上から、背甲後端切込標識がやや標識率に問題があるものの、今回比較した3手法の中ではもっとも有効な外部標識方法と考えられた。

また、背甲後端切込標識の切れ込み角度について、背甲後端の縁辺部の中心から前側縁の左右最後方鋸歯を直線で結んだ線に対して、垂直、斜め、平行に切る3手法の比較を行った結果、斜めに切れ込みを入れる手法がもっとも標識の残存状況が高いことが分かった。しかし、今回の試験では、斜めに入れる切れ込みの深さの違いによる生残、標識残存等の検討は行っていない。切れ込みをより深く入れることにより標識の残存が高くなるとも考えられるが、ガザミの内部形態<sup>20)</sup>を考慮に入れると切り込みを深く入れることは鰓に著しく損傷を与え、生残にも影響を与えると考えられるため、今後検討していく必要がある。

今回の結果は個別飼育試験の結果であり、その飼育による成長は平均全甲幅長が10mm程度の第3齢稚ガニから9週間飼育し、5回程度の脱皮が確認されたにもかかわらず、飼育終了後の平均全甲幅長は35~40mm程度にとどまっており、これまでの知見と比較してかなり小さい結果となった<sup>21)</sup>。今回の試験では共食いによる生残への影響を除するため、個別飼育による試験を行った。しかし低成長であったことが原因となって標識となる再生痕が残存したとも考えられる。今後は天然海域での大量標識放流による追跡を行い、標識としての有効性を確認していく必要がある。

## 謝 辞

本論文を御校閲下さった東京海洋大学助教授浜崎活幸博士に深く感謝申し上げます。また、本研究を遂行するにあたり種苗の提供等の御協力頂いた長崎市水産センターの皆様にも厚く御礼申し上げます。なお、本研究は水産庁栽培資源ブランド・ニッポン推進事業環境調和型（甲殻類グループ）栽培漁業技術開発事業の一環として実施した。ここに記して感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 三宅貞祥. 「原色日本大型甲殻類図鑑 (II)」 保育社, 大阪. 1983; 82-83.
- 2) 水産庁, 水産総合研究センター, 全国豊かな海づくり推進協会: 平成15年度栽培漁業種苗生産, 入手・放流実績 (全国) ~資料編~, 2005; 223-269.
- 3) 岡本一利. Coded Wire Tag で標識されたガザミ種苗の生残, 成長と標識残存率. 日水誌 1999; 65: 703-708.



- 4) Kazutoshi Okamoto. Juvenile Release and Market Size Recapture of the Swimming Crab *Portunus Trituberculatus* (Miers) Marked with coded Wire Tag. In: K M Leber, S Kitada, H L Blankenship, T Svasand (eds) *Stock Enhancement and Sea Ranching developments pitfalls and opportunities SECOND EDITION*, Blackwell Publishing, Oxford. 2004; 181-186.
- 5) 有山啓之, 片山直, 松田八束, 濱野米一, 高垣祐, 浦谷文博, 大山博. ガザミの標識法についてⅡ. 小型個体への標識法. 大阪水試研報 2001; 13: 29-43 .
- 6) Hideyuki Imai, Yasuhiro Obata, Sachio Sekiya, Tomohito Shimizu, Ken-ichi Numachi. Mitochondrial DNA Markers Confirm Successful Stocking of Mud Crab Juveniles, (*Scylla paramamosain*) into a natural Population, *Suisan Zosyoku*. 2002; 50: 149-156.
- 7) 宮嶋俊明, 豊田幸詞, 浜中雄一, 小牧博信. クルマエビ標識放流における尾肢切除法の有効性について. 栽培技研1996; 25(1): 41-46.
- 8) 豊田幸詞, 宮嶋俊明, 上家利文, 松田裕二, 大槻直也. クルマエビ標識放流における尾肢切除法の有効性について－Ⅱ 切除部位別の再生状況. 栽培技研 1997; 25(2): 95-100.
- 9) 豊田幸詞, 宮嶋俊明, 吉田啓一, 藤田義彦, 境谷季之. クルマエビ標識放流における尾肢切除法の有効性について－Ⅲ 切除時の体長から検討した標識としての有効性. 栽培技研 1998: 26(2): 85-90.
- 10) Toshiaki Miyajima, Yuichi Hamanaka and Koji Toyota. A marking method for kuruma prawn *Panaeus japonicus*. *Fisheries Sci.* 1999; 65: 31-35.
- 11) 伊東史郎, 江口泰蔵, 中島則久, 北田修一. 有明海湾奥部におけるクルマエビ人工種苗の放流効果の検討. 栽培技研 2001; 29: 35-43.
- 12) 森川晃, 村瀬慎司. 有明海島原半島沿岸域におけるクルマエビ人工種苗の放流効果の検討. 長崎水試研報 2001; 27: 9-15.
- 13) 森川晃, 伊藤史郎, 山口忠則, 金澤孝弘, 内川純一, 皆川恵, 北田修一. 有明海におけるクルマエビの放流効果. 栽培技研 2003; 30: 61-73.
- 14) 谷田圭亮, 池脇義弘, 青山英一郎, 奥山芳生, 野坂元道, 藤原宗弘. 瀬戸内海東部海域における放流クルマエビの移動と成長. 栽培技研 2003; 31(1): 25-30.
- 15) 谷田圭亮, 池脇義弘, 青山英一郎, 奥山芳生, 野坂元道, 藤原宗弘. 瀬戸内海東部海域におけるクルマエビの放流効果. 栽培技研 2003; 31(1): 31-34.
- 16) 平成13年度日本栽培漁業協会事業年報. 日本栽培漁業協会, 東京. 2002; 197-437.
- 17) 山口忠則, 野田和文, 浜崎活幸, 伊藤史郎. ガザミ放流種苗における遊泳脚切り込み標識の有効性. 佐有水研報 2004; 22: 65-67.
- 18) 富山県. 平成10年度特定海域新魚種定着促進技術開発事業報告書, 2000; 富山県. 1-14.
- 19) 川井唯史, 浜野龍夫, 松浦修平. 北海道におけるニホンザリガニ, *Cambaroides japonicus* の鋏脚欠損状況, 水産増殖 1994; 42: 215-220.
- 20) 金子虎寿. 「水産動物図説」成山堂書店, 東京. 1992; 166-167.
- 21) ガザミ種苗生産研究会. 「水産増養殖叢書32 ガザミ種苗の量産技術」日本水産資源保護協会, 東京. 1983; 31-33.