





## 業 務 仕 様 書

1. 件 名 メロ類耳石の切片作製及び年齢査定業務
2. 業務目的 本業務は、2種のメロ類（マジェランアイナメ *Dissostichus eleginoides* とライギョダマシ：*Dissostichus mawsoni*）の耳石処理・年齢査定を行う。このうち、ライギョダマシは耳石の形状・特性から耳石標本処理・年齢査定に高度な熟練を要する。したがって、本業務の実施に当たり、南極海域のインド洋区・南東大西洋区で採集されたライギョダマシの耳石薄片処理・年齢査定において CCAMLR（南極海洋生物資源保存委員会）基準を満たす技能を持つ熟練した外部の分析専門機関に委託し、合計 800 検体の耳石について切片の作製及び輪紋の計数、画像化とマーキングを行い、同海域における体長一年齢関係の解析に用いることを目的とする。
3. 予定数量 

1) マジェランアイナメ（切片標本作製、輪紋計数、画像化）	200 検体
2) ライギョダマシ（切片標本作製、輪紋計数、画像化）	600 検体
4. 納 期 令和4年 3月10日
5. 成果物 神奈川県横浜市金沢区福浦 2-12-4  
提出先 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産資源研究所
6. 業務内容
  - 1) 試料の送付  
水産資源研究所（以下「当所」という。）が、本業務に用いる耳石標本及び標本一覧表を請負者に送付する。なお、送付にかかる運送費は当所が負担する。試料の発送は、契約締結後速やかに行う予定である。
  - 2) 耳石切片の作成  
以下の手順は、マジェランアイナメとライギョダマシで共通となる。
    - 2 - 1) 各耳石標本を標本一覧表と照合し、破損や欠損の確認を行った後、0.1mg の単位まで重量を測定する。破損があった場合、重量測定時にその旨を指定欄に記録し、耳石中心部を通る短軸切片が作れる場合にはそのまま加工標本作製する。
    - 2 - 2) 耳石中心部に印を付け、1 標本ずつ 1cm ほどの大きさの型枠に入れ透明樹脂で包埋する。
    - 2 - 3) 樹脂包埋した耳石は電動切断機と研磨機を使用し、耳石中心部に付けた印を挟んで 0.2mm 程度の切片になるように短軸方向に切断・研磨する。
    - 2 - 4) 薄層切片とした耳石標本は実体顕微鏡で輪紋を観察しながら、輪紋が見やすい状態になるまで研磨作業を行う。研磨紙#1500-2000 を使用し表面を整えスライドガラスに貼り付けて、スライド標本作製する。
  - 3) 輪紋計数
    - 3 - 1) 上記で作成したスライド標本を実体顕微鏡によりパソコン画面上にデジタル画像として取り込み、客観的に見て等間隔に明瞭に現れる

輪紋を年齢とみなし、耳石解析装置を用いて輪紋を計数する。

- 3-2) 輪紋の状況は「非常に見やすい」「見やすい」「普通」「見にくい」「読めない」の5段階で評価する。
- 3-3) 原則として、輪紋の計数方向は Ventral 側の Sulcus に沿って現れる輪紋を計数するようにする。ただし、Dorsal 側で輪紋の見やすい個体はその方向へ輪紋計数する。
- 3-4) 上記 3-1) ~3-3) を独立して 2 度実施する (以下、輪紋計数 A・B)。2 名以上で実施する場合は、輪紋計数 A と B で担当者が異なるようにする。単一の担当者が輪紋計数を行う場合は、輪紋計数 A と B の間に十分な期間をあける (2 週間以上)。
- 3-5) 輪紋計数結果をエクセルファイルに入力する。輪紋計数 A と B は指定された様式に入力する。また、各輪紋計数の担当者を明記する。

#### 4) 耳石の輪紋のマーキング

各検体について、輪紋計数の際に各輪紋に赤印でマーキングを行い、赤印入り切片画像を作成・保存する。輪紋計 A・B の作業において、独立して赤印入り切片画像を作成する。

### 7. 成果物

業務完了後は、以下の成果物を速やかに送付、納入すること。なお、送付にかかる経費は請負者が負担する。

- 1) 耳石切片のプレパラート標本 (業務内容 2-4 で作成)
- 2) 下記を保存した電子媒体 (DVD-ROM 等) 2 枚
  - ・耳石切片スライド標本を顕微鏡で撮影した画像 (業務内容 3-1 で作成)
  - ・輪紋計数結果を入力したエクセルファイル (業務内容 3-5 で作成)
  - ・赤印入り切片画像 (業務内容 4 で作成)

各成果は、スライドガラスや画像ファイル名などに標本番号を明記されており、成果物間で各耳石標本 (魚体) の対応関係が明確となっていることを確認する。また、薄片切片を作製しなかった耳石標本がある場合は、成果物と共に送付する。

### 8. その他

- 1) 詳細については担当職員の指示に従う。
- 2) 両魚種について 40 個体の年齢査定を実施した段階で、途中報告として当所担当者に各 40 個体分の上記成果物を提出する。提出された成果物が CCAMLR により定められている評価基準を満たしているかについて、当所担当者が途中評価を行う。途中評価の結果 CCAMLR 基準を満たさない場合は、担当者が別途指示する研修を受けるものとする。研修の際の経費は請負者が負担する。
- 3) 提出された成果物が CCAMLR により定められている評価基準を満たしているかについて、当所担当者が事後評価を行う。また、必要に応じて外部の専門家に年齢査定を依頼し、CCAMLR 基準を満たしているか事後評価する。
- 4) 成果物の評価は、i) 各担当者の読み取り精度、及び ii) 担当者間の読み取り誤差、の 2 点を評価するために用いられる。i) の基準は CV 値 10%以下とする。ii) の基準は担当者間で査定結果の 90%以上が  $\pm 2$  以内、かつ特定の担当者の査定結果において全体的に査定年齢が低いなどの傾向がな

いものとする。これらの基準は CCAMLR で定められているものである。

- 5) 成果物の評価は、統計ソフトウェア R と CCAMLR 事務局より提供される "AgeCompare" パッケージを用いる。
- 6) 事後評価の結果により成果物が CCAMLR 基準を満たしていないと判断された場合は、請負者が再度年齢査定業務を行うものとする。