

業務仕様書

1. 件名 水産資源研究所産卵調査のノルパックネットサンプル分析業務
2. 業務目的 本業務は、我が国周辺海域における資源評価調査の一環として、黒潮海流域における浮魚類等の卵稚仔の種組成及び発達段階組成を明らかにし、産卵量・卵稚仔分布量を推定するため、産卵調査において改良型ノルパックネットの鉛直曳網によって採集された標本について、卵稚仔の同定、計数、分析を行うものとする。

3. 業務場所 契約締結業者指定場所

4. 予定数量

ノルパックネット標本 520 検体

(口径 45 cm、目合 0.335 mm の改良型ノルパックネットによる水深 150 m から海面までの鉛直曳網で採集された標本)

5. 業務内容

- (1) 標本の送付

当所から請負者に採集標本を送付する。同時に、当所作成のエクセル等、表計算ソフトのワークシートで標本一覧表を送付する。なお、送付にかかる運送費は当所が負担する。

- (2) 標本の確認

請負者は標本を受領してから速やかに標本と標本一覧表を照合し、標本瓶の破損有無、標本の固定状態 (固定不良、ホルマリン入れ忘れ、試料の瓶外への漏れ) 等について確認する。標本と標本一覧表の不一致や輸送中の事故があった場合は、速やかに当所と取り扱いについて協議する。

- (3) 沈殿量の測定

卵・仔稚魚の選別前に沈殿量を測定する。標本から約 10 mm 以上のゼラチン質生物 (サルパ・ウミタル・クラゲ等、但しゾウクラゲは含めない)、長さ約 20 mm 以上の大型生物 (オキアミ類、ヤムシ類、魚類を除く) を別扱いとして分別した後、ゴミ等を取り除く (分別した生物は、後に選別する魚卵・仔稚等と一緒にすることなく別瓶に保存し、湿重量測定作業終了後の選別済みプランクトン標本

とともに返送する)。次に、残ったプランクトン標本を沈殿管またはメスシリンダー等の別容器に移し、24 時間以上静置して完全に沈殿させる。プランクトンが沈殿しにくいようであれば、管壁を軽く指ではじく、ステンレスの針金等で穏やかに回す、抑える等の工夫をすると有効な場合がある。24 時間後になお懸濁している少量のプランクトンは無視する。沈殿後、沈殿量 (ml、小数点 1 桁) を計測する。

(4) 卵・仔稚魚の選別

沈殿量測定後、標本を直径 10 cm 程度のシャーレに少量ずつ入れて、全ての魚類の卵・仔稚魚及び頭足類の卵・幼生を選別する。選別の際には、万能投影機または実体顕微鏡下で選別漏れがないか確認する。スポイトまたは先端の柔らかいステンレス製ピンセットを用いるなど、卵・仔稚魚を破損させることがないように注意する。また、破損した卵・仔稚魚、特に前期仔魚の取り残しに注意する。なお、魚卵あるいは仔稚魚が特別多量の場合は、プランクトン分割器により標本全体を均等に分割する。この場合、魚卵は 200 個体、仔稚魚は 100 個体を下回らぬ程度の分割比とする。分割した場合は、結果報告のワークシートにその旨と分割率を記載し、結果の数値は全体に引き伸ばした値で記入する。

(5) 卵・仔稚魚の同定・計数 (種・発育段階)

卵・仔稚魚・幼生について、別添「太平洋ブロック共通フォーム」に記載した魚種・発育段階ごとに計数する。なお、サバ属卵は以下のように卵径によってマサバとゴマサバを判別するが、サバ属仔魚は種判別をしない。スルメイカはリンコトウチオン幼生のみ対象とする。マアジは仔魚のみでなく卵同定も行う。サバ属卵は 1 標本当たり最多 100 個体まで接眼マイクロメータを用いて 0.025 mm 以上の精度で卵径 (直径) を計測し、1.1 mm 以下をマサバ、1.1 mm 超をゴマサバとして集計する。卵径測定結果は、採集された観測点、発育段階、卵径が個体ごとに判別できるように別シートで記録する。

卵は、発達段階 A (受精後原口閉鎖まで、ただしカタクチイワシでは胚膜が 1/2 に達するまで)、B (尾芽が卵黄から分離するまで)、C (孵化まで) の 3 段階に分けて計数する。ただし、マイワシ卵は Aa~Cb の 8 段階に分けて計数する。発生段階が判別不能の卵は「発生段階不明」として計数する。仔稚魚は、前期仔魚、後期仔魚、稚魚に分けて計数する。マイワシ卵及びサバ属卵については、卵径・油球径等からそれぞれの卵に相当するが内部破損のために確認ができない場合は「類似卵」としてそれぞれの卵とは別に記録する。

特定の種について、卵あるいは仔稚魚が特別多量の場合は、ランダムに抽出した 100 個体以上について発生段階区分を行なう。このように一部分について発生段階区分を行なった場合には、結果シートには全体に引き伸ばした数を四

捨五入した整数値で記録し、分割比を付記する。

(6) プランクトン湿重量の測定

卵・仔稚魚を選別後の残滓プランクトン標本の湿重量 (g、小数点 2 桁) を計測する。ナイロンガーゼ NNX13 (網目幅 0.1 mm) を一端に張った直径約 3 cm の円筒型濾過器で固定液を除去した後、濾紙上に移し、竹ベラ等で塊とし水分を吸い取る。肉眼で見て水分が濾紙上に染み出さなくなった時点で湿重量を測定する。最初に沈殿量を測定した際に除去した大型生物等は、湿重量にも含めない。なお、夜光虫、サルパ、クラゲ等水分の多い生物が多量に含まれて湿重量測定が不可能または困難である場合は、測定を行わず、その旨を報告書に記載する。

(7) 標本の保存

選別した卵・仔稚魚は、測点・魚種別に 5 ml のスクリュウ管等 (内蓋・パッキン等の付いた容器) に保存する。標本が大きい場合は適宜大きいサイズのスクリュウ管等を用いる。稀に採集されるハダカイワシ科魚類等の稚幼魚、ウナギ目レプトセファルス幼生、異体類幼生等大型のものは、上記標本とは別瓶に保存し、その旨報告書に記載する。

保存液は 5%中性ホルマリン溶液とする。保存の際には耐水紙でラベルを作り、容器内に入れる。表記蓋及び耐水紙ラベルには下記の項目を油性マーカーで記入する。なお、サンプル選別時に分割した場合には、分割前の該当数に直した値を同定表の出現個体数欄に記入し、備考欄に分割を行なった旨とその際の分割比および実際に計数した個体数とを明記する。

容器蓋: 航海名 (1005SOYO など)、測点番号、魚種名、発育段階、個体数

ラベル: 航海名、採集年月日、測点番号、ネット種類 (LNP)、魚種名、発育段階、個体数

プランクトン標本は 5%中性ホルマリン溶液で保存する。

基本的に標本は 5%中性ホルマリン溶液での固定とするが、「その他魚類卵」および各「類似魚種卵」等について、担当者から指示があった場合は 99%エタノールで保存する。その際、容器蓋に 99%エタノールと分かるように記載すること。

その他・詳細は、下記 (9) に従う。

(8) 結果・成果物の入力・報告

(1) で当所より送付したファイルに、卵・仔稚魚等の同定、計数、測定結果、その他標本の湿重量、沈殿量、プランクトン優占種等を入力する。また、同定結果表を測点ごとに作成する。

なお、サバ属卵の計数結果は、マサバ卵とゴマサバ卵に卵径測定不可の卵の計数結果を足したものであることに注意する。また、査定・計数を行ったが、出現が無かったものについては必ず「0」を記入し、査定・計数対象でないことを意味する空白のセルと区別する。

結果を入力したファイルは、水産資源研究所横浜庁舎及び塩釜庁舎担当者に電子メール添付で提出する。同定結果表は横浜庁舎に郵送で提出する。

(9) 標本送付

選別された卵・仔稚魚の標本については、スクリー管を専用の箱に整理し、箱の上面と側面に紙ラベルで、研究機関、採集年月、ノルパックサンプルの卵・仔稚魚であることを明記した上で、横浜庁舎に送付する。

卵・仔稚魚選別済みのプランクトン標本については、横浜庁舎へ送付する（ただし、塩釜庁舎による調査分は塩釜庁舎へ送付する）。プランクトン標本は指定のラベルと共に標準サンプル瓶（UM サンプル瓶 50 ml）に入れる。1本の瓶に収容出来ない場合は複数本に分けて収容する。標準サンプル瓶の蓋にはラベル3種を並べて貼付する。貼付するラベルは上からタフスポット（三商 商品コード 9640246）、タフタグ（三商 商品コード 9608496）、タフタグ（三商 商品コード 9608476）の順で、真ん中のラベルに船名、観測点名、目合（335 μ m）、採集器具（ノルパック）、採集層（0-150 m 等）、分割率（1/2 等）等を記載すること。標本瓶は標準のコンテナ（三菱樹脂・ヒシコンテナ S-14 黄色）に58本収納する。また標本瓶蓋の一番上のラベルに1～58までの通し番号を記入する。ただし複数本に分けたサンプルについては全て同じ番号を記入し、そのことを(1)で送付したワークシートに入力する。一つのコンテナに採集した航海や採集月の異なる標本などが混在しても構わない。コンテナの面積の小さい2側面にはラミクロステープを貼付した上で通し番号を記載すること。標本およびコンテナに記載した通し番号を(1)で送付したワークシートに入力する。なお、コンテナの通し番は仮の番号であり、横浜庁舎あるいは塩釜庁舎にて最終的な番号を割り振る。その時点で一番下のラベルにもコンテナの番号を記載する。コンテナには新聞紙等の緩衝材をいれ、さらに三段重ねにした上で最上部のコンテナに蓋（三菱樹脂・ヒシコンテナ S-1 用・黄色）をし、PPバンド（プラスチックバンド）等で結束した上で横浜庁舎あるいは塩釜庁舎へ送付する。なお蓋については再利用するものとし、横浜庁舎あるいは塩釜庁舎から分析業者へ纏めて返送する。元々標本が入っていた瓶は洗浄し、横浜庁舎担当者へ返送する。不明な点は作業についての問い合わせは横浜庁舎あるいは塩釜庁舎にする。なお、標本瓶やコンテナにかかる費用と運送費は請負者が負担する。

6. 業務期限 令和4年3月21日

※ただし、それぞれの調査分は以下の期限までに報告すること。

・6月まで調査分： 令和3年6月28日

7. 担当 水産資源研究所 水産資源研究センター 浮魚資源部 浮魚第
2グループ

8. その他

- (1) 一定数の標本を当所が事前に査定する。
- (2) 査定物及び時期については別途指示するものとする。
- (3) 請負者成果物と当所査定結果が整合した上で完了とし、担当者の検査を受け合格すること。
- (4) その他、詳細については担当者との協議のうえ施行するものとする。

横浜庁舎調査の御前崎ライン調査分と黒潮流動調査分のプランクトン標本の返送先を横浜庁舎にする。ただし、横浜庁舎調査の小型浮魚スルメイカ調査分とサバ調査分のプランクトン標本の返送先はその都度担当に確認すること。横浜庁舎調査の産卵調査分および塩釜庁舎調査の東北サンマ調査分のプランクトン標本の返送先は塩釜庁舎にする。