

## 【別添】

### ○サバ類

川島ほか（2017；水産技術 9：45-51）の手法に従い、サバ類耳石を樹脂包埋し、顕微鏡観察用の耳石切片標本を作製する。また、得られた耳石切片に 1 年に 1 本形成される輪紋の数を計数する。詳細は以下①～⑤の業務を行うこと。

- ① 包埋：使用する耳石の左右について記載し、耳石の長径と短径を測定後、モールドに複数個体のサバ類耳石を不飽和ポリエステル樹脂で包埋。なお、基本的には右側の耳石を使用し、送付した検体に右側の耳石が含まれない場合や、変形している場合には左側の耳石を使用する。また、複数個体同時に包埋することが難しい場合は、1 個体ずつ包埋しても構わない。
- ② 切断：硬組織切断機を用いて、短軸方向に耳石核を中心に厚さ約 0.1mm～0.3mm の切片を明瞭な輪紋が得られるよう複数枚作製し、スライドグラス上にステッキワックスなどで固定する。なお、明瞭な輪紋が得られれば、切片は 1 枚でも構わない。
- ③ 研磨：耳石核及び輪紋が明瞭に視認できるよう耐水研磨紙等にて表面を研磨する。必要により、エッチング処理を行うこと。
- ④ 輪紋計数：明瞭に視認できた耳石切片の画像を 1 個体につき 1 枚デジタル撮影し、1 年に 1 本形成される輪紋数を計数し、さらに、輪紋と判定した位置にマーキングをした画像を残す。縁辺に輪紋が形成されつつある場合はその旨を記録する。輪紋の読み方については、川島ほか（2017）を参考とすること。
- ⑤ 輪紋距離測定：切断面の耳石中心部から縁辺部までの距離、及び中心から 1 本目、中心から 2 本目、中心から n 番目（ $n = \text{輪紋数}$ ）までの距離を測定する。
- ⑥ 輪紋計測技術の確認のため、請負者は事前に耳石横断薄層切片標本 20 検体の輪紋計測を行い、水試担当者との読み合わせを行う。
- ⑦ 輪紋距離の計測には RATOC 社の耳石日輪計測システムを用いてマニュアル（手動）で計測し、復元できるデータ（HDR, IFG, ISC, POL 形式データ）を記録する。あわせて結果データを記録して直ちに提出する。なお、罫表のフォーマットは委託業者が作成する。輪紋画像（輪紋計測時の印も写っていること）を jpg 形式により記録してデジタルファイルにより提出すること。
- ⑧ 計測検査において担当職員の検査を受け合格すること。不合格であった場合には、当所の計測結果（年輪数、輪紋間隔距離、輪紋画像）を参考にして再計測に対応するとともに、新たに耳石横断薄層切片標本 20 個体の追加検査を行い、水試担当者との読み合わせを行う。

### ○マアジ

多賀ほか（2018；水産海洋研究 82(4) 167-175）の手法に従い、マアジ耳石を樹脂包埋し、顕微鏡観察用の耳石切片標本を作製する。また、得られた耳石切片に 1 年に 1 本形成される輪紋の数を計数する。詳細は以下①～⑤の業務を行うこと。

- ① 包埋：使用する耳石の左右について記載し、耳石の長径と短径を測定後、モールドに複数個体のマアジ耳石を不飽和ポリエステル樹脂で包埋する。なお、基本的には右側の耳石を使用し、送付した検体に右側の耳石が含まれない場合や、変形している場合には左側の耳石を使用する。また、複数個体同時に包埋することが難しい場合は、1 個体ずつ包埋しても構わない。
- ② 切断：硬組織切断機を用いて、短軸方向に耳石核を中心に厚さ約 0.1mm～0.3mm の切片を明瞭

な輪紋が得られるよう複数枚作製し、スライドグラス上にステッキワックスなどで固定する。なお、明瞭な輪紋が得られれば、切片は1枚でも構わない。

- ③ 研磨：耳石核及び輪紋が明瞭に視認できるよう耐水研磨紙等にて表面を研磨する。必要により、エッチング処理を行うこと。
- ④ 輪紋計数：明瞭に視認できた耳石切片の画像を1個体につき1枚デジタル撮影する。年輪計測箇所は、中心から外側へ進み見て同心円状に明瞭に出現する不透明帯内側として計測し、さらに、輪紋と判定した位置にマーキングをした画像を残す。縁辺に輪紋が形成されつつある場合はその旨を記録する。輪紋の読み方については、多賀ほか(2018)を参考とすること。
- ⑤ 輪紋距離測定：切断面の耳石中心部から縁辺部までの距離、及び中心から1本目、中心から2本目、中心からn番目（ $n = \text{輪紋数}$ ）までの距離を測定する。
- ⑥ 輪紋距離の計測にはRATOC社の耳石日輪計測システムを用いてマニュアル(手動)で計測し、復元できるデータ(HDR, IFG, ISC, POL形式データ)を記録する。あわせて結果データを記録して直ちに提出する。なお、罫表のフォーマットは委託業者が作成する。輪紋画像(輪紋計測時の印も写っていること)をjpg形式により記録してデジタルファイルにより提出すること。
- ⑦ 計測検査において担当職員の検査を受け合格すること。不合格であった場合には、当所の計測結果(年輪数、輪紋間隔距離、輪紋画像)を参考にして再計測に対応するとともに、新たに耳石横断薄層切片標本20個体の追加検査を行い、水試担当者と読み合わせを行う。

## 〇アユ

標本個体のアユ耳石を樹脂包埋し顕微鏡観察用の耳石標本作製する。また、塚本(1991; 日水誌 57(11): 2013-2022)の手法に従い、得られた耳石標本に1日に1本形成される輪紋の数を計数する。詳細は以下①~④の業務を行うこと。

- ① 計測：標本瓶中の標本個体の体長(mm)を測定する(小数点以下1桁)。
- ② 耳石の摘出・樹脂包埋：測定済みの魚体から左右の耳石を摘出する。摘出した耳石は表面の組織片や汚れを取り除き、左右それぞれをあらかじめスライドグラスに滴下した樹脂内に封入する。耳石摘出後の魚体は廃棄してかまわない。
- ③ 耳石表面研磨・封入：樹脂の硬化を確認した後、耳石核及び輪紋が明瞭に視認できるよう耐水研磨紙等を用いて表面を研磨する。研磨後は耳石封入剤で包埋する。なお、耳石の表面研磨は基本的に右側の耳石使用し、変形している場合には左側の耳石を使用する。また、耳石表面の研磨が必要ないと判断される場合には省略してもかまわない。
- ④ 耳石輪紋計測：明瞭に視認できた耳石の画像を1個体につき1枚デジタル撮影する。1日に1本形成される輪紋数を計数し、さらに、輪紋と判定した位置にマーキングをした画像を残す。
- ⑤ 輪紋距離測定：耳石中心部から縁辺部までの距離及び中心から1本目、中心から2本目、中心からn番目（ $n = \text{輪紋数}$ ）までの距離を測定する。
- ⑥ 輪紋計測技術の確認のため、請負者は事前に耳石標本20検体の輪紋計測を行い、当所と読み合わせを行う。
- ⑦ 輪紋距離の計測にはRATOC社の耳石日輪計測システムを用いてマニュアル(手動)で計測し、復元できるデータ(HDR, IFG, ISC, POL形式データ)を記録する。あわせて結果データを記録して直ちに提出する。なお、罫表のフォーマットは委託業者が作成する。輪紋画像(輪

紋計測時の印も写っていること)をjpg形式により記録してデジタルファイルにより提出すること。

- ⑧ 計測検査において担当職員の検査を受け合格すること。不合格であった場合には、当所の計測結果(年輪数、輪紋間隔距離、輪紋画像)を参考にして再計測に対応するとともに、新たに耳石標本20個体の追加検査を行い、当所と読み合わせを行う。