コスタリカ国 ICE ACG

コスタリカ国 グアナカステ地熱開発セクターロー ンにかかる案件実施支援調査 (生態系への影響を中心とした環境 モニタリング支援) (SAPI) 業務完了報告書

平成 29 年 5 月 (2017)

独立行政法人 国際協力機構(JICA)

イー・アール・エム日本株式会社

環境 JR 17-069

# グアナカステ地熱開発セクターローンにかかる案件実施支援調査 (生態系への影響を中心とした環境モニタリング支援) (SAPI)

# 業務完了報告書

# 要旨

# 1. 調査概要

# 1.1 調査の背景

JICA は、2013年11月にコスタリカ政府および ICE との間で円借款「グアナカステ地熱開発セクターローン」にかかる協力協定書(Cooperation Agreement: C/A)に調印し、2014年8月には同セクターローン最初のラス・パイラス II 地熱開発事業にかかる借款契約(Loan Agreement: L/A)に調印した。

一方で、生物多様性のホットスポットとして知られるコスタリカでは、地熱エネルギーの開発候補地は、国立公園等の保護区に隣接した地域であることが多く、地熱開発を推進のためには生態系への影響を最小限に留めることが重要であり、EIA手法の精度向上が求められている。

上記円借款にかかる法的な EIA 手続きは完了しているが、EIA の精度向上を目的として、案件実施支援調査(SAPI) により、現行案件の中で調査手法の改良のための実証調査、評価検証等について本調査にて支援を行った。

#### 1.2 調査の目的

本調査は、コスタリカの地熱開発における EIA とその調査手法について、実証調査を通じて生態系への影響評価の精度向上による調査手法の改良可能性を検討することを目的とした。

なお、また、本調査の内容や手法についてのワークショップを実施することで、コスタリカの関係者や関係機関の理解や知識の強化を図った。

#### 2. 調査の実施方法

本調査では、飛翔性昆虫を対象とした DNA バーコーディング手法を試験的に導入した結果を従来型の調査方法と比較し、調査方法の妥当性や可能性につき技術的及び経済的な面より検証し、EIA 手法の改善を検討した。

また、EIA 手法の改善の検討に関する協議を行う場として、カウンターパート機関 (ICE、ACG) による協議の場 (コミッションミーティング) の設立を支援し、本調査の調査計画や進捗、調査結果については、随時本コミッションミーティングで報告し、コスタリカにおける EIA 手法の改良についての議論を促進した。

本調査は、2015年 12 月~2017年 5 月の期間に実施し、コミッションミーティング計 5 回、ワークショップ計 2 回を含む計 7 回の現地作業を行った。業務概要は下記のとおりである。

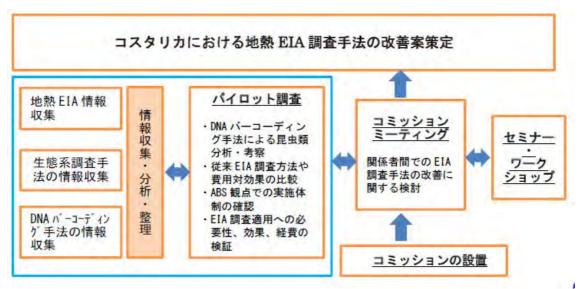


図1 業務概要

# 3. プロジェクトエリア

コスタリカは、その独自の自然環境から世界の「生物多様性ホットスポット」として 重要な国として位置づけられている。

本調査エリア(PL12)は、首都サン・ホセから北西に約240kmの位置のグアナカステ(Guanacaste)州リベリア(Liberia)郡のクルバンディ(Curubandé)地区の北東に位置し、コスタリカ国内11ヶ所の保全地区のうち、グアナカステ保全地域(ACG)内に存在する。また、世界遺産として1999年UNESCOに登録されたACG保護区域(ユネスコ自然登録地)から約50mの場所に位置する。ACG保護区域は比較的狭い区域内において多様な環境(海洋生態系、乾燥林生態系、雨林帯生態系、雲霧林帯生態系)が存在し、豊かな生物多様性を誇る地域である。



出典: JICA Preparatory Survey for Guanacaste Geothermal Project, Costa Rica 図 2 Las Pailas 地熱地域の位置 (赤線区域:プロジェクト対象エリア)

# 4. パイロットプロジェクトにおける調査結果(DNA 分析及び分析概要)

昆虫類を用いた DNA バーコーディングの調査手法の効果を検討するため、PL12 開発エリア周辺に設置したマレーズトラップで採集された昆虫をサンプルとして、DNA 分析を実施した。

DNA 分析の対象としたサンプルは、PL12 周辺の 7 つトラップにおいて、、PL12 における工事開始直後の 2013 年 11 月下旬(雨季 終盤)から工事がほぼ終了した 2014 年 11 月中旬までの約 1 年間に採集された昆虫をサンプルとした。7 つのトラップで周毎に回収された 52 週分のサンプルを DNA 分析した。全地点で採集されたサンプルの個体数は、144,994個体であり、そのうち DNA のシークエンス(塩基配列を読むこと)に成功したサンプルは134,828 個体であった。134,828 個体のうち BIN が付与されたものは 131,184 個体であった。

当該エリアの森林及び昆虫類の生態に精通している専門家による DNA 分析結果の考察によると、伐採による直接的な影響を除き、開発地区より 150m 森林内部に位置しているエリアで昆虫相が掘削活動の影響を受けたことを示すような変動はみられなかった。

ただし、昆虫類は季節変動が1年を通して大きいことから、季節的変動を含めてベースラインを確認するために少なくとも追加で2年分のデータを分析することが推奨された。

# 5. パイロットプロジェクトにおける地熱 EIA 評価手法検討結果

EIA における生態系影響評価手法精度の向上について、DNA バーコーディング手法の有効性を検討するため、パイロットプロジェクトで分析した昆虫類 DNA バーコーディング 結果を用い、PL12 の地熱開発に対する短期的な影響分析を実施した。

昆虫類 DNA バーコーディングの結果を活用した客観的な評価となるよう、目レベルの分析から始め、1年間の経時的な個体数や種数、生物多様性指標の変化から、影響の可能性のある地点、目(もく)を抽出した上で、抽出された目の中で検討が可能な科について、さらに詳細に影響の分析を行った。

分析の結果、粉じん、騒音等の車両の走行に伴う影響を受けやすいアクセス道路脇の No.7 において、植物依存性が高いハエ目タマバエ科 (Cecidomyiidae) に、他のトラップ設 置箇所では確認できた期間後半の個体数の顕著な増加がみられないことが確認された。

# 6. 地熱 EIA 調査における改善案検討結果

### 6.1 結果

本調査の結果、DNAバーコーディング手法により、昆虫類の種構成(種数及び個体数)の推移について定量データが得られ、PL12による影響はACG保護区域には到達していない可能性が示唆された。ただし、開発の影響との因果関係を検討する際には、季節変動との区別が必要であり、昆虫類の種数、個体数の安定性について今後も確認する必要があると考えられた。

# 6.2 今後の実施体制

パイロット調査の方法・手法及び分析結果の検討は、地熱開発事業者(ICE)、グアナカステ保全地域局(ACG)及び当該エリアの生態系に精通している専門家等の様々なステークホルダーが関与して継続的に建設的な議論が行われており、地熱開発の持続可能な開発という観点からも、引き続き同様の体制を構築していくことが望ましいと考えられる。一方、これまでは GDFCF が自主的に昆虫採集を実施してきたが、地熱開発事業者である ICE が主導的な立場で昆虫調査を実施し、ACG 及び専門家のサポートを得ながら進めることが望ましい。 DNA バーコーディング手法を用いた昆虫調査を継続する場合に必要と思われる体制を以下に示す。

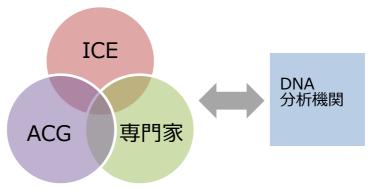


図3 想定される実施体制

#### 6.3 課題

コスタリカでは地熱開発事業に対して EIA の実施が法令で義務づけられているが、地熱開発地域を絞り込むための上位計画の段階において戦略的環境アセスメント(SEA)の制度は有しておらず、自然公園内の地熱開発の進め方について整理されていない。

また、コスタリカには、EIAの調査範囲や方法を決めるスコーピング段階において、ステークホルダーの意見を求める制度もなく、地熱開発初期段階における環境配慮の進め方が課題となっている。

地熱開発はプラットフォームやパイプラインを複数個所で開発していく必要があり、また、ACG保護区域周辺では、ボリンケンなど、将来的にはさらに地熱掘削サイトが増える可能性があり、累積的影響という観点からは景観の観点も入れつつ、公園周辺の地熱開発を総合的、長期的視点から検討していくことが求められる。

今回パイロット調査で実施した手法を用いて継続的に昆虫相の構成要素の変化を分析することで、ACG 保護区等のセンシティブなエリアにおける地熱開発全体による影響について評価できる可能性があり、将来的には許容される地熱関連サイトの総数の規制を含むガイドラインの作成にも役立つ可能性がある。さらに本手法はコスタリカのみならず、その他の国や地域でも適用することが可能な汎用的な仕組みであり、国際的に広く活用される可能性を有している。

#### 6.4 提言

今回の調査では DNA バーコーディング手法の活用可能性が示唆されたが、より精度の高い情報を得るためには、今後、ICE、ACG などの関連機関が協働して調査を継続することが望ましい。

このような調査が継続され、情報が蓄積されれば、地熱開発の累積的影響評価が可能となり、上位計画段階における自然環境と調和した地熱開発を実施するための環境配慮事項の検討を行うことが可能となる。

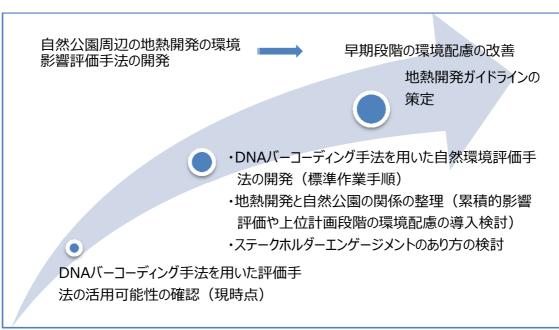


図4 今後推奨される基本的な考え

# 目 次

第1章	調査の概要1
1. 1	調査の背景および目的1
(1)	調査の背景1
(2)	プロジェクトの目的1
1.2	プロジェクト実施地域、関係機関2
(1)	プロジェクト実施地域2
(2)	現地関係官庁・機関3
1.3	プロジェクトの実施方針3
(1)	DNA バーコーディング手法による EIA 手法の改善の検討3
(2)	現地コミッションメンバーを通じた関係者との情報共有4
1.4	業務の概要 4
1.5	業務の実施内容6
(1)	コミッションの設置およびコミッションメンバーの選定6
(2)	コミッションミーティング7
(3)	ワークショップ14
(4)	ゲルフ大学への訪問15
第2章	コスタリカの自然環境ベースライン16
2. 1	コスタリカの自然環境16
(1)	概 要 16
(2)	森 林17
(3)	保護区等 19
(4)	貴重種・保全種20
2.2	プロジェクトエリアの自然環境20
(1)	プロジェクトエリア 20
(2)	気 象 21
(3)	プロジェクトエリア周辺の保護区域22
(4)	プロジェクトエリア周辺の動植物24
第3章	コスタリカ及び諸外国の EIA 制度27
3. 1	コスタリカの EIA 制度27
(1)	コスタリカの環境法制度と行政27

		(2)	コスタリカの EIA プロセス	27
		(3)	生態系調査手法(ラス・パイラス I)	29
	3.	2	諸外国の EIA 制度	31
		(1)	EIA 制度	31
		(2)	生態系調査手法	33
	3.	3	コスタリカ及び諸外国の EIA 制度の分析	39
第	4	章	DNA バーコディング手法による生態系調査	42
	4.	1	DNA バーコーディング	42
	4.	2	EIA の生態系調査における DNA バーコーディング	42
		(1) 調查	カナダの New Gold 鉱山閉山プログラムにおける生態系影響評価のパイロット 42	
		(2)	カナダの国立公園のマレーズプログラム	43
	4.	3	マレーズトラップ概要	43
第	5	章	パイロットプロジェクトにおける DNA 分析及び分析結果概要	46
	5.	1	調查目的	46
	5.	2	調查方法	46
		(1)	調査対象地	46
		(2)	DNA バーコーディング分析対象サンプルの選定	49
	5.	3	開発スケジュール等	51
	5.	4	調查結果	54
		(1)	DNA バーコーディング分析結果	54
		(2)	地点間の比較:森林内部の No.1, 6 及びNo.9	56
		(3)	地点間の比較: No. No.3 , 4 及びNo.7	58
		(4)	No.3 とその他6 地点の比較	59
		(5)	ラインごとの比較 (No. 1-3, No. 4-6, No. 7-9)	60
	5.	5	生態系専門家による所感及び今後の提案	61
		(1)	所感	61
		(2)	提言	62
第	6	章	パイロットプロジェクトにおける地熱開発の影響評価分析手法の検討	63
	6.	1	想定される環境影響	63
	6.	2	影響分析手法	64
		(1)	影響分析手法の概要	64

	(2)	評価項目別の手法の概要	65
	(3)	評価にあたっての留意点	66
6	5. 3	評価結果	66
	(1)	環境への影響分析に用いた DNA バーコーディングデータの概要	66
	(2)	目レベルでの分析結果	71
	(3)	科レベルでの分析結果	90
第	7章	地熱 EIA 調査における改善案の検討	102
7	7. 1	調査結果の整理	102
7	7.2	調査結果に基づく検討	104
7	7. 2. 1	飛翔性昆虫の代表性	104
7	7. 2. 2	DNA バーコーディング手法を用いた EIA 調査手法の検討	104
7	7. 2. 3	採集方法、採集頻度等の検討	106
	(1)	昆虫類の採集方法	106
	(2)	採集方法の比較検討	106
	(3)	DNA 分析対象のサンプル数を減らした場合のデータの変化	110
7	7. 2. 4	解析・評価手法の確立についての検討	112
7	7. 2. 5	従来の生物相調査と物理化学的調査との比較検証	113
	(1)	従来の生物相調査と DNA バーコーディング分析手法の比較	113
	(2)	物理化学調査と DNA バーコーディング手法との比較	114
7	7. 2. 6	費用対効果の比較検証	114
	(1)	DNA バーコーディング手法に必要な費用	114
	(2)	一般的な昆虫類調査との費用の比較	117
7	7. 2. 7	調査を継続的に行うための実施体制	117
	(1)	サンプリング計画	118
	(2)	サンプリングの実施及び保管	118
	(3)	サンプルの輸送及び DNA バーコーディング分析	119
	(4)	影響の分析	119
7	7. 2. 8	ABS の観点による留意点	119
7	7. 3	今後の課題及び提案	120
7	7. 3. 1	今後の課題	120
	(1)	環境影響評価制度	120
	(2)	FIAの生物調査毛法の改善についての課題	120

# コスタリカ国 グアナカステ地熱開発セクターローンにかかる案件実施支援調査 (生態系への影響を中心とした環境モニタリング支援) (SAPI) 業務完了報告書

7. 3. 2	提言	122
(1)	地熱開発と自然環境保全の両立のための改善策	122

# 添付資料

添付資料 1: コミッションミーティング議事録 添付資料 2: コミッションに関する合意文書

添付資料 3:第2回コミッションミーティングの MOU 添付資料 4:秘密保持及び著作権に関する合意文書

添付資料 5: ワークショップ議事録 添付資料 6: ワークショップ資料

添付資料7:ゲルフ大学訪問の際のメモ

添付資料8:コスタリカにおける貴重種リスト

添付資料 9:パイロット調査に関するファイナルレポート (GDFCF)

# 略語表

プロジェクト関係組織・機関					
ACG	Area de Conservation Guanacaste	グアナカステ保全地域ま たはグアナカステ保全地 域局			
AEE	Assessment of Environmental Effect	ニュージーランドにおける環境影響評価			
BIN	Barcode Index Number	-			
BIO	Biodiversity Institute of Ontario	_			
C/A	Cooperation Agreement	協力協定書			
CDFW	California Department of Fish & Wildlife	カリフォルニア州の水産 野生動物局			
CNDDB	The California Natural Diversity Database	カリフォルニア州生物多 様性データベース			
DNA	Deoxyribonucleic Acid	デオキシリボ核酸			
EIA	Environmental Impact Assessment	環境影響評価			
EIS	Environmental Impact Statement	米国の環境影響評価			
ICE	Instituto Costarricense deElectricidad	コスタリカ電力公社			
JICA	Japanese International Cooperation Agency	国際協力機構			
JPY	Japanese Yen	日本円			
L/A	Loan Agreement	借款契約			
MINAE	Ministry of Environmental and Energy	環境エネルギー省			
WS	Work Shop	ワークショップ			
SEA	Strategic Environmental Assessment	戦略的環境アセスメント			
SEMARNAT	Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales	環境天然資源省 (メキシコ)			
SETENA	Secretaría Técnica Nacional Ambiental	国家環境技術局			
SINAC	Sistema Nacional de Areas de Conservacion	国家保全地域庁			
USFWS	U.S. Fish & Wildlife Service	国家水産野生動物局			

# 第1章 調査の概要

### 1.1 調査の背景および目的

# (1) 調査の背景

コスタリカ共和国(以下、コスタリカ)は「国家開発計画(2015-2018)」において 2021年までに二酸化炭素排出量と吸収量を相殺する「カーボン・ニュートラル」を達成することを掲げている。これを受けてコスタリカ政府による「国家エネルギー政策(2012-2030)」およびコスタリカ電力公社(Instituto Costarricense de Electricidad: ICE)による「電力拡張計画(2014-2035)」では再生可能エネルギーの開発(特に水力および地熱)を優先するとされている。

 $2010^22015$ 年のコスタリカの平均 GDP 成長率は 4.2% となることが予測されており、これを受けて電力需要量は  $3^4\%$ の増加が見込まれている。経済的かつ安定的で、温室効果ガス排出削減への貢献も期待される地熱資源の開発は、同国における気候変動対策と持続可能なエネルギーを確保するための最も重要な課題の一つとなっている。

このような状況のもと、JICA は、同国の地熱エネルギーによる電力供給量の増強を支援すべく、2013 年 11 月にコスタリカ政府および ICE との間で円借款「グアナカステ地熱開発セクターローン」にかかる協力協定書(Cooperation Agreement : C/A) に調印し、2014年8月には同セクターローン最初のラス・パイラス II 地熱開発事業にかかる借款契約 (Loan Agreement : L/A) に調印した。

一方で、生物多様性のホットスポットとして知られるコスタリカは、51,100km²程の国土面積に、地球上の生物種の約4%が生息するとされ、単位面積当たりの生物多様性が地球上で最も高い国の1つとされている。コスタリカは生物多様性保全を国の重点と位置づけ、積極的な取り組みを実施しているところであるが、地熱エネルギーの開発を推進するにあたり、残された地熱開発適地(候補地)は国立公園等の保護区に隣接した地域であることが多い。今後、同国が地熱開発を推進していくためには、生態系に対する悪影響を最小限にとどめることが重要であり、現行環境影響評価(EIA)手法の精度向上が求められている。

上記円借款にかかる法的な EIA 手続きは既に完了しているが、昨今の地熱開発にかかる環境保全への国際的な世論の高まりを受けて、EIA の精度向上を目的として、案件実施支援調査(SAPI) により、現行案件の中で調査手法の改良のための実証調査、評価検証等について支援を行うものである(本調査)。

#### (2) プロジェクトの目的

本業務は、コスタリカの地熱開発における EIA とその調査手法について、実証調査を通じて生態系への影響評価の精度向上による調査手法の改良可能性を検討することを目的とする。なお、改良調査手法が経済的に継続的実施が可能かについても併せて検証した。

また、本調査の内容や手法についてのセミナーやワークショップ等を実施することで、 コスタリカの関係者や関係機関の理解や知識の強化を図った。

# 1.2 プロジェクト実施地域、関係機関

# (1) プロジェクト実施地域

本調査エリアは、首都サン・ホセから北西に約 240km の位置のグアナカステ (Guanacaste) 州リベリア (Liberia) 郡のクルバンディ (Curubandé) 地区の北東に位し、コスタリカ国内の 11 ヶ所の保全地区のうち、グアナカステ保全地域 (Area de Conservación Guanacaste: ACG) 内にある自然保護区 (Area Silvestre Protegido: ASP) より 50m の場所に位置するラス・パイラス 地熱地域である。なお、ACG は、国際連合教育科学文化機関 (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization: UNESCO) の世界自然遺産に登録されている。 (本プロジェクトサイトまたはラス・パイラス  $\Pi$  サイト)。



図1.1 本調査実施地域(広域)

#### (2) 現地関係官庁・機関

本業務のカウンターパート機関は下記のとおりである。

	27 - 7 - 7 - 7 - 7 - 7 - 7				
No.	協力機関名	略称	名称		
1	コスタリカ電力公社	ICE	Instituto Costarricense deElectricidad		
2	グアナカステ保全地域局	ACG	Area de Conservation Guanacaste		

表 1.1 カウンターパート機関

# 1.3 プロジェクトの実施方針

#### (1) DNA バーコーディング手法による EIA 手法の改善の検討

現在コスタリカの地熱開発の際に実施されている EIA のうち、生態系への影響に関する調査は、危惧種の同定を目的として、植物、陸生動物(哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類)、水生動物(魚類、甲殻類)に限定されている場合が多い。これまでは、昆虫類は種数が多く、正確な分類が困難で時間がかかるため、生態系への影響調査の対象として用いることは一般的ではなかったが、グアナカステ保全地域の一部で DNA バーコーディング手法を用いた昆虫の同定やマレーズトラップによる生態系モニタリング調査が NGO や ACG により進められている。コスタリカの関係機関(ICE)は、昆虫を用いた DNA バーコーディングの調査手法を確立することができれば、より簡易な方法として従来の手法を代替したり、従来の調査に追加して実施したりすることで評価の精度を向上できる可能性があるとして、マレーズトラップの結果分析における DNA バーコーディング手法の有効性の確認を行いたいとしている。

EIA における典型的な陸上生態系の評価は、哺乳類や鳥類、樹木などの生態系の上位種や貴重な種を評価することで短期的に実施されていたが、昆虫類は種数や個体数が多いことを利用して昆虫類の多様性を評価する手法を用いて生態系への影響を定量評価することも可能とされている。昆虫類は生物の中でも多様性が非常に高い生物相として知られており、その総数は 2,000 万種を超え、既知の全生物群の 90%以上を占めると言われている。昆虫の中でも、その少なくとも 90%以上が飛翔性であることから、飛翔性昆虫を調査対象の種とし地熱エネルギーの開発に伴う生物相への変化を定量的に評価することが適当と考え、対象種として絞り込んだ。

一般に、昆虫類の調査においては、熱帯性の昆虫を同定できる専門家の数に非常に限りがあり、また、非常に時間のかかる作業であることから、開発が及ぼす環境影響調査の一環として、昆虫の生物相の変化を定量的に調べることは論理的ではあるものの、2003年にDNAバーコーディング手法が可能になるまで技術的には現実性の低い調査だと考えられていた。本調査では、最新のDNAバーコーディング法を適用することで、DNA解析により短期間で大量の昆虫を種レベルで同定することが可能となり、これまでの課題に対応し、開発(撹乱)に伴ってどのように昆虫の種構成が変化するかを定量的に計ることが可能となる。そのため、原生林の小規模伐採(例えば 2 ha)のような撹乱が引き起こす実際の影響

を定量的に評価することは、これまでは困難であったが、DNA バーコーディング手法を適用し、その影響を昆虫類の変動をもとに正確に評価することが、今後の地熱開発デザインの参考となり、場合によっては森林伐採に対する補償の根拠ともなることが期待された。

本調査では、飛翔性昆虫を対象とした DNA バーコーディング手法を試験的に導入した結果を従来型の調査方法と比較し、調査方法の妥当性や可能性につき技術的及び経済的な面より検証し、EIA 手法の改善を検討した。

#### (2) 現地コミッションメンバーを通じた関係者との情報共有

EIA 手法の改善の検討に関する協議を行う場として、カウンターパート機関(ICE、ACG)による協議の場(コミッションミーティング)の設立を支援した。本業務の調査計画や進捗、調査結果については、随時本コミッションミーティングで報告し、コスタリカにおける EIA 手法の改良についての議論を促進した。

# 1.4 業務の概要

本業務は、コスタリカにおける地熱 EIA 調査手法の改善を目的として実施するものであり、以下に示した内容で実施した。

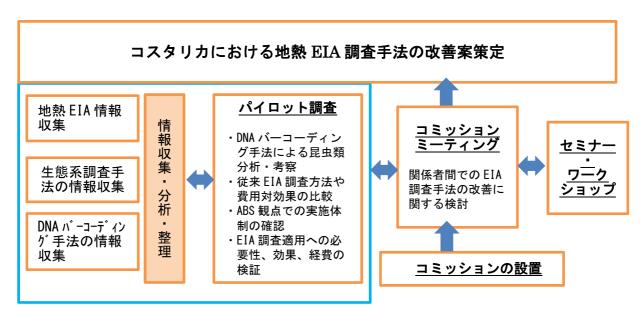


図 1.2 業務概要

- 1) 本業務のカウンターパート機関 (ICE 及び ACG) と現地派遣期間中の業務工程、業務方針の概要について合意を得て、EIA 調査手法の改良について協議を行う場として、コミッションの設置を支援する。コミッションメンバーにより、業務の進め方、議論の内容、スケジュール等を決定した。
- 2) コスタリカにおける地熱開発に関する EIA の改善の検討に対して、以下の情報を収集し、分析・整理した。
  - → コスタリカ及び諸外国における地熱に関する EIA (法律・基準、実施体制、 調査方法等)
  - ▶ プロジェクトエリア周辺における生態系に関する情報の収集・整理
  - ▶ DNAバーコーディング手法を用いた飛翔性昆虫類の調査に関する情報の 収集・整理
- 3) EIA における生態系への影響評価の精度の向上について、DNA バーコーディング手 法の有効性を評価するため、ラス・パイラスⅡサイトにおいてパイロット調査を実 施した。パイロット調査内容は下記のとおり。
  - ▶ 昆虫の調査について、形態学的分類を行うとともに、代替手法の1つの候補として飛翔性昆虫を用いた DNA バーコーディング手法も併用する。 DNA バーコーディング手法による調査を実施する際には、採集試料数を低減した場合の分析精度の比較、適切なトラップ数や採集頻度についても検討を行う。
  - ➤ 形態学的分類法と DNA バーコーディング手法による調査の費用対効果の比較検討を行う。
  - ➤ ABS¹の観点からみた分析試料の国外持ち出しとデータ管理等、DNA バーコー ディング手法実施の際の留意点について確認する。
  - ▶ 昆虫調査を継続的に実施する場合の実施体制の確認を行う。
  - ▶ 昆虫調査と従来の生物相調査および物理化学的調査(大気、水質、土壌等) との比較検証を行う。(昆虫を指標に加えたり一部を代替する可能性を検討 する。
  - ▶ パイロット調査結果を基に、昆虫調査を追加実施することの必要性および 期待される効果、必要経費の検証を行う。

#### \*DNA バーコーディング手法の対象分析サンプル

DNA バーコーディング分析の対象はプロジェクト開始以前の1年間(2013.10

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Access and Benefit-Sharing:

遺伝子資源へのアクセスとその利用から生じる利益の公正・衡平な配分。

~2014.10)に採集・保管された昆虫類。採集地点はラス・パイラス  $\Pi$  サイトの地熱プラットフォーム(以後、PL12)周辺の 6 ヶ所。マレーズトラップを設置し1週間に1回の頻度で回収されたもの。

- 5) 上記活動を踏まえ、コスタリカの EIA 手法の改良に向けた提言をとりまとめ、コミッションメンバーに報告し、協議する。
- 6) 現行の EIA 手法の改良につながる新たな手法や、本業務で実施した調査の結果等に 関して、コスタリカ側関係機関の理解を深めるためのセミナー、ワークショップ等 をプラットフォーム構成機関以外の EIA に関連する機関を対象に実施する (20~30 人程度を対象に 2 回程度)。
- 7) 地熱開発に係る EIA を補強する場合に必要となる既存法制度改定の必要性と手順、 制度改定後の実施体制、び改定案に関する関係機関の見解に関する調査を行い、制 度改定に向けた今後の対応策について検討し、コミッションメンバーに対して提言 を行う。
- 8) 上記の各調査結果を取りまとめた調査報告書案を作成し、コミッションメンバーに 提出してコメントを求める。

#### 1.5 業務の実施内容

#### (1) コミッションの設置およびコミッションメンバーの選定

本業務を進めるにあたり、カウンターパートである ICE 及び ACG と 2016 年 1 月 18 日 にサンタロサ国立公園内の事務室において協議を行った。ここでは、本業務の概要を示したワークプランの説明・確認を行い、本業務の目的である EIA 手法の改善を検討する協議の場の設置について議論し、以下のコミッションを構築することに合意した。

項目	合意内容
協議の場の名称	コミッション (Commission)
参加メンバー (コミッションメンバー)	ICE ACG JICA 調査チーム (ERM 日本)

表 1.2 カウンターパート機関

### (2) コミッションミーティング

本業務を通じて、以下の通りコミッションメンバーによるコミッションミーティングを実施した。コミッションミーティング議事録は添付資料に示す。 添付資料1:コミッションミーティング議事録

表 1.3 コミッションミーティングの実施結果

No.	開催日	場所
第1回	2016年1月18日	サンタロサ国立公園内事務所
第2回	2016年3月4日	ラス・パイラスⅡ ICE 事務所
第3回	2016年8月29日	ラス・パイラスⅡ ICE 事務所
第4回	2016年10月27日	サンタロサ国立公園内事務所
第5回	2017年2月22日	リベリア ACG 事務所

# 第1回コミッションミーティング

第1回コミッションミーティングを2016年1月18日(土)にコミッションメンバーで実施し、調査概要・背景・目的、本調査の実施計画・スケジュールについて相互に確認した。

また、コミッションミーティングにおいて検討する内容及びスケジュールを以下とおり合意した。合意文書は添付資料に示す。 添付資料2:コミッションに関する合意文書

#### 【コミッションミーティングで検討する内容】

本調査の中で生物多様性評価のための方法論の検討を実施する 地熱 EIA について、日本、アメリカ、ニュージーランド等とコスタリカの方法を比較し、ラス・パイラスⅡ及び周辺における生物多様性について、環境調査の方法を含めて検討する。

# ▶ 本調査の中でパイロット調査を実施する

通常のEIAでは、事業の影響評価のために哺乳類や鳥類等のアンブレラ種、樹木が対象とされるが、本プロジェクトのパイロット調査では、ラス・パイラスⅡのプラットホーム周辺の昆虫類相を対象とする。評価対象となる昆虫類は、2015年5月18日のICE、ACG、JICA間で取り決められたサンプルとする。

#### 【スケジュール】

▶ コミッションミーティングのスケジュールは下記のとおりとした。このスケジュールは暫定として、業務の進捗により適宜調整することで合意した。

No	開催予定月日	目的		
$1^{\mathrm{st}}$	2016年1月	本調査についての合意及びパイロット調査についての検討		
$2^{\mathrm{nd}}$	2016年3月	パイロット調査の確認、検討		
$3^{\rm rd}$	2016年7月	第1回プログレスレポートの確認、検討		
$4^{ m th}$	2016年11月	第2回プログレスレポートの確認、検討		
$5^{\mathrm{th}}$	2017年3月	第3回プログレスレポートの確認、検討		

表 1.4 コミッションミーティングのスケジュール

# 【その他】

# ▶ ワークショップの開催

コミッションミーティングのほか、本プロジェクト終了までに2回のワークショップを開催し、他の関係者(SETENA、SINAC、関連NGOなど)との間で、新たなEIA調査方法について意見交換を行うことを確認した。



第1回コミッションミーティングの様子



ジャンゼン教授による昆虫サンプルについ ての説明

# 第2回コミッションミーティング

第 2 回コミッションミーティングは 2016 年 3 月 4 日 (金) にラス・パイラス  $\Pi$  の ICE 事務所にて実施した。

第2回コミッションミーティングでは、現地再委託契約で実施するパイロット調査の作業計画、本業務で取り扱う情報の秘密保持及び著作権等について協議し、パイロット調査計画の内容、最終報告書の結果の承認プロセス、第3回コミッションミーティングの開催等について、文書(MOU: 添付資料3:第2回コミッションミーティングのMOU)にて、ICE、ACG、JICA 調査チームの3者合意を得た。

### 【パイロット調査】

### ▶ パイロット調査の業務内容

- ・採集済みの昆虫サンプル (9ヶ所のマレーズトラップから1週間ごとに採集し、7ヶ所を分析)を分類し、DNA バーコーディング手法により採集した各昆虫サンプルに Barcode Index Number (BIN) 2を割り当てる。
- ・分析対象の昆虫類は、GDFCF が P12 周辺および PL12 へのアクセス道路周辺 (3 ライン各 3 ヶ所) において、2013 年 9 月から 1 年間設置したマレーズトラップで週ごに採集したサンプルとする。
- ・上記結果から、PL12 における事業が森林生態系に与えた影響を分析する
- ・上記結果から、EIAにおける生態系評価の改善策について考察する
- ・EIA 手法の改善の提案
- ・コミッションミーティングおよびワークショップにおけるプレゼンテーション

### ➤ ABS 確認

サンプルはジャンゼン教授および GDFCF に発行された適切なコスタリカ国内の研究許可証、コスタリカ政府 (ACG) が発行した輸出許可証、環境省 (CONAGEBIO; Comision Nacional para la Gestion de la Biodiversidad, MINAE.) の調査許可証を添付し出荷されるものとし、ERM はこれら許可証の写しで ABS の妥当性を確認する。

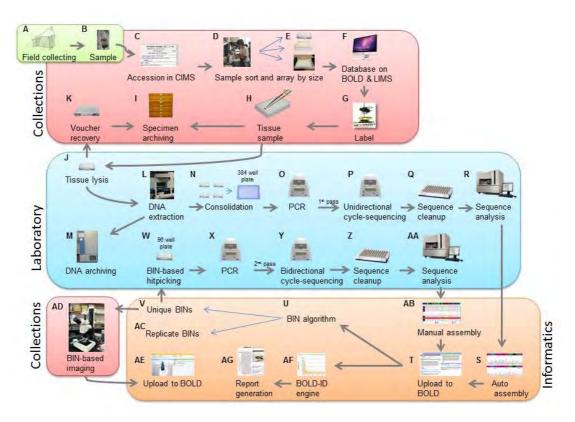
#### ▶ 分析機関への送付

6ヶ所のマレーズトラップにおいて採集したサンプルは、2016年3月半ばにカナダの Guelph 大学 BIO (Biodiversity Institute of Ontario) の ゲノミクス多様性センター (Centre for Biodiversity Genomics) に送付し、DNA 分析を進める。

#### ➤ DNA 分析

BIO での DNA 分析は、下図に示されたプロセスで実施する。計 52 週の 6 ヶ所のサンプルの DNA 分析に 6 ヶ月を必要とする。

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> BIN のシステムについては「A DNA-Based Registry for All Animal Species: The Barcode Index Number (BIN) System Sujeevan Ratnasingham ,Paul D. N. Hebert」参照。



DNA バーコーディング分析プロセス

#### 【秘密保持および著作権】

本プロジェクトの成果に課される秘密保持および著作権については、Confidentiality and copy right agreement にて ICE、ACG、GDFCF、JICA、ERM の 5 者間で合意した。 秘密保持及び著作権に関する合意文書:添付資料 4

#### ▶ DNA バーコードの著作権

本調査で得られた DNA バーコードの情報は、採集日、採集場所、採集者、分類、写真とともに、BIO のゲノミクス多様性センターにおける BOLD システム上で公共の利用に供するものとする。

#### ▶ レポートの著作権

本調査における全てのレポートの著作権は ERM が既得する。ただし、内容については最終提出前にコミッションにて合意を得る必要がある。

なお、この著作権は、GDFCF の科学論文誌への寄稿を妨げるものではない。ただし、GDFCF はラス・パイラスⅡプロジェクトに関連する科学論文を公表する場合、ICE からの書面による承認を得なければならないものとする。

また、ERM から JICA へ提出されたファイナルレポートの著作権は JICA が有する。

#### ▶ DNA バーコードおよび関連情報の守秘義務

本プロジェクトに関わる DNA バーコードおよび関連情報(採集日、採集場所、採採集者、分類、写真)への公共アクセスは、データ入力がされた日から最大1年間の間パスワードで制限されるものとする。

# ▶ レポートの守秘義務

GDFCF が ERM に提出するレポートは、ICE が内容を承認するまで機密性が保たれる ものとする。また、JICA に提出されるファイナルテクニカルレポートについては、 ICE および ACG の同意を得た後に一般公開されるものとする。



第2回コミッションミーティングの様子



再委託契約への署名の様子

# 第3回コミッションミーティング

第 3 回コミッションミーティングは、2016 年 8 月 29 日(月)にラス・パイラス II の ICE 事務所にて実施した。

第3回コミッションミーティングでは、以下の内容について協議を行った。

- ▶ パイロット調査の進捗
- ▶ EIA 手法の改善に向けたアプローチ
  - ✓ 各国における地熱開発に関する EIA 制度の比較分析
  - ✔ 国際的に認識されているベストプラクティス
  - ✓ 費用分析、DNA バーコードのデータベース、評価手法
- 第4回コミッションミーティングおよびワークショップの準備

#### 【パイロット調査の進捗】

- ▶ GDFCF によりパイロット調査の進捗に関して説明があり、DNA 分析がほぼ完了したことが報告された。9月中旬までには、BIN コードの割り当て作業が完了し、その後詳細な分析を進めることが説明された。
- ➤ プラットフォームに隣接したトラップ 3 において採集された昆虫の数が、他地点と大きく異なっていた。これは、開発の程度に加え、マレーズトラップの設置する向きで光の影響の受け方が異なることが理由であると想定された。これは想定外の結果であったため、分析の精度を上げ開発による影響を分析するために、当初は分析を実施しないと判断した中間地点のトラップのうちトラップ No. 2 で採集された 1

年間分の昆虫サンプルを追加で分析することをコミッションメンバーの合意のもと 決定した。

▶ サンプル数は、雨季及び乾季の影響を受けていると考えられ、雨季が開始する5月頃に採集される種の数が増加する傾向が全てのトラップでみられた。

# 【EIA 手法の改善に向けたアプローチ】

海外の EIA 制度の事例、国際的に認識されているプラクティス(IFC パフォーマンススタンダード等)、DNA バーコーディング手法を EIA に使用する際の課題(費用分析、評価手法等)について JICA 調査団より説明が行われた。主な協議内容は以下の通りである。

表 1.5 協議内容

質問またはコメント	回答
海外の EIA 制度の事例	
他国の EIA 制度は文化的、経済的、社会的、	他国の EIA 制度をそのままコスタリカに
生物学的背景が異なり、先進国の事例を比較	導入することが考えていない。例えば、
することは意味がなく、プロジェクトエリア	今回の他国の事例において、日本や米国
や生態系、社会の特徴に応じて、対応するこ	では、EIA 調査の手法を検討する段階で、
とが重要である。 (ジャンゼン氏)	ACG や ICE が行っているように地元の専門
	家を含むステークホルダーの意見を取り
	入れる制度となっている。このような事
	例は参考になると考えている。(JICA 調査
	団)
ACG や GDFCF は 2004 年からモニタリングを実	了承(JICA 調査団)
施しており、これまではスコーピング段階	
で、ACG や GDFCF 以外の他のステークホルダ	
一の意見を聞くことはなかった。よりよい事	
業にするためには、スコーピングの改善は必	
要であると考える。それにより、より調査に	
具体性を持たせることができる。(ICE)	フ과 (TICA 細太国)
どのプロジェクトにも当てはまるような解決 策はないと考えている。今回の SAPI では、	了承(JICA 調査団)
Rはないと考えている。今回の SAPI では、 EIA ガイドラインの作成のようなことは考え	
ておらず、SAPI の結果をどのように今後の計	
画に応用できそうか、より現実的な提案など	
を期待している。(ICE)	
ICE は EIA の経験は豊富であり、これまでに	了承(JICA 調査団)
は様々な調査を実施してきている。一方、	1 /tr (1101 hulfilatia)
Zoningといった戦略的な評価は改善が必要で	
あると認識している。SEA の事例などには興	
味がある。 (ACG)	
DNA バーコードのデータベース	
本調査エリアでは、以前から DNA バーコーデ	各昆虫は、BINコードが割り当てられるた
ィング手法により昆虫の DNA のデータベース	め、データベースの構築の有無に係ら
が構築されており、2003年より活用実績があ	ず、同様の分析は可能であり、BINコード
る。そのため、今回の調査で DNA 分析された	から様々な目的に沿った昆虫の同定が可

質問またはコメント	回答
昆虫はこのデータベースと比較することが可	能である。(ジャンゼン氏)
能である。これまで DNA バーコーディングに	
よる調査が実施されたことがないエリアで、	
そのエリアに生息する昆虫の DNA のデータベ	
ースが構築されていない場合でも同様の分析	
が可能であるか。(JICA 調査団)	
評価手法	
評価手法 多様性を評価する公式はこれまでに多数開発	SAPI では、DNA バーコードのデータを使
10 miles   10 miles	SAPI では、DNA バーコードのデータを使 用して EIA 手法の改善を検討することが
多様性を評価する公式はこれまでに多数開発	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •
多様性を評価する公式はこれまでに多数開発 され活用されてきた。例えば、Shannon の式	用して EIA 手法の改善を検討することが
多様性を評価する公式はこれまでに多数開発 され活用されてきた。例えば、Shannonの式 などは、数十年前からあるが、現在は学術レ	用して EIA 手法の改善を検討することが 目的であり、まずはコミッションのメン

# 第4回コミッションミーティング

第4回コミッションミーティングは、2016年10月27日(木)にサンタロサ国立公園内事務所にて、以下の内容について協議を行った。

ョン会合及びワークショップで議論を深

めていきたい。(JICA調査団)

- ▶ パイロット調査の進捗
- ▶ EIA 手法の改善に向けたアプローチ
  - ✓ DNA バーコーディング手法を用いた評価手法の検討
  - ✔ 国際的に認識されているベストプラクティス
- ▶ 第5回コミッションミーティングおよびワークショップの準備

#### 【パイロット調査の進捗】

- ➤ GDFCF よりパイロット調査の進捗の説明があり、追加で分析を実施した No. 2 は 現在分析を実施しており 12 月頃までに完了することが説明された。
- ➤ 分析データの精査では、150m 地点に設置してあるトラップ (No. 1, 6, 9) に関しては、特に事業による影響は見られていないことが報告されたが、1年目のみのデータでは結論は出せないため、2年目及び3年目以降のサンプルのデータも分析する必要性が説明された。

#### 【EIA 手法の改善に向けたアプローチ】

第3回コミッションミーティングに引き続き、EIA評価手法の改善に関する協議が行われた。

# 第5回コミッションミーティング

第5回コミッションミーティングは、2017年2月22日(水)にリベリアのACG事務所にて、以下の内容について協議を行った。

- ▶ パイロット調査の結果に基づく GDFCF の検討結果
- ▶ パイロット調査の結果に基づく JICA 調査団の検討結果
- ▶ 検討結果に基づく EIA 手法の改善に向けた協議

パイロット調査結果に基づき、GDFCF 及び JICA 調査団より検討結果が説明された。 GDFCF からは当該エリアの生態系に精通している専門家の視点による考察、一方、JICA 調査団からは一般的な EIA 調査の考え方に基づく検討を行った。これら両方の視点を踏 まえて、コミッションメンバーで EIA 手法の改善に関する議論を行った。



第5回コミッションミーティングへ参加したメンバー

# (3) ワークショップ

コミッションミーティングにおける合意に基づき、パイロット調査に対して各ステークホルダーより意見を求めることを目的として、以下のスケジュール及び参加者でワークショップを開催した。 (添付資料 5: ワークショップ議事録、添付資料 6: ワークショップ資料)

表 1.6 ワークショップの実
-----------------

ワークショップ				
第1回				
日時	2016年11月1日			
場所	リンコン・デ・ビエラ国立公園内の事務所			
参加者	ACG , EARTH, ERM 日本, GDFCF, ICE , JICA, Museum、National			
	SETENA, SINAC			

実施内容	パイロット調査のプロジェクトサイト (PL12) への現地踏査 ICE、ACG 及び GDFCF による地熱開発活動の概要、プロジェクトエリアの生態系、マレーズトラップを利用した昆虫採集手法の説明パイロット調査の目的、活動内容、進捗に関してプレゼンテーションによる紹介 質疑応答		
第2回			
日時	2017年2月23日		
場所	Best Western Elsitio ホテル (リベリア)		
参加者	ACG , BioFin, CONAGEBIo, CORAC, EARTH, ERM 日本, GDFCF, ICE , JICA, Museum、National SETENA、SINAC, Universit of Costa Rica		
実施内容	パイロット調査の成果の説明 質疑応答		



第1回ワークショップにおける現地踏査 (ジャンセン先生によるマレーズトラップ 第2回ワークショップの様子 に関する説明)



# (4) ゲルフ大学への訪問

現地再委託を通じて、DNA 分析を実施しているカナダの Guelph 大学 (Biodiversity Institute of Ontario (BIO)) のゲノミクス多様性センターを訪問し、分析機器、分 析状況、分析環境、データベース、専門性などを確認した。訪問時の確認内容は、添付 資料 (添付資料7:ゲルフ大学訪問の際のメモ) の通りである。

# 第2章 コスタリカの自然環境ベースライン

# 2.1 コスタリカの自然環境

# (1) 概要

コスタリカは、面積約5万1,000km²の国で、南北アメリカ大陸を結ぶ地峡地帯に位置する。国土の約半分は海抜500m以上の高地で、北からグアナカステ火山脈、ティララン火山脈、中央火山脈、タラマンカ山脈が連なり、南部に向かうにつれて高度を増している。北部のグアナカステ地方と南部のゴルフィード地方を除いて、太平洋側は山脈が海岸まで伸びており、低地がほとんどないが、カリブ海側は海抜400mまでの低地が広がっている。

コスタリカの気候は、海岸地帯が熱帯性気候で年平均気温 26 度、中央山岳地帯が標高 1,200m 前後で年平均  $16\sim20$  度、標高 3,000m 前後で年平均 6-10 度と気温差が著しい。季節は大きく乾季(夏:12月~5月)と雨季(冬:5月~12月)に分かれ、年平均降水量は南西部のグアナカステ地域では 1,000~1,500mm、海岸地帯では 4,000mm 前後(カリブ海側では 7,467mm に達する地域もある)あり、多様な環境を生み出している。独自の自然環境から、コスタリカは世界の「生物多様性ホットスポット」として重要な国として位置づけられており、地球全体の陸地面積の 0.03%にあたる国土に、現在世界で確認されている生物種の 4%にあたる 50 万~60 万種が存在している3。



図 2.1 コスタリカの地形図

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> República de Costa Rica, *Primera Comunicación Nacional* (2000)

### (2) 森林

コスタリカは、国土の約 54%(約 276 万 ha (GlobalFRA2015) が森林と高い森林率を持つ国である。コスタリカの森林面積変化の変遷は 2 つの時期に分けられる。まず 1960~1985 年にかけて、農業や家畜飼育活動等の経済開発により森林率(国土面積に占める森林面積の割合)は約 77%から約 32%へと減少した $^4$ 。その後 1976~1996 年のコスタリカ国独自の森林クレジット認証スキーム、1997 年からの環境サービスプログラムに対する支払い(Programa de Pago de Servicios Ambientales : PSA)の政策等により、2015年には約 54% (276 万 ha)まで森林率が回復した。

コスタリカ国は、2000 年~2005 年の 5 年間に約 21 万~29 万 ha の森林が再生する一方で、14 万~22 万 ha の森林減少が発生していることから、"コスタリカの森林は再生しつつあるものの、森林減少自体は依然として続いている"と指摘した(2011 年)5。森林減少が発生する要因としては、森林以外の土地利用の収益の大きさが挙げられており、所有者が森林により収益が上げられていないことが一因となっている。

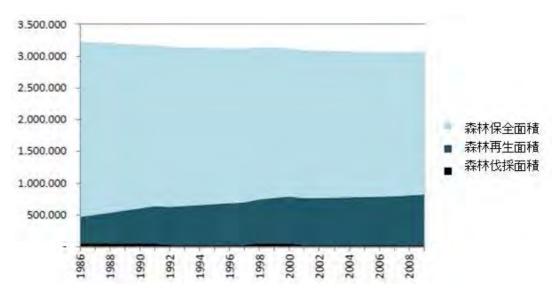


図 2.2 森林保全、再生、伐採別森林面積変化(出典:コスタリカ国 REL レポート)

森林のうち、大半は原生林(約 65.8%) が占め、二次林は約 33.5%、植林が約 0.6%である(GlobalFRA2015)。森林区分は、標高、地形、気温、降水量等の差異によって多くの林型が見られ、現在 12 林型(熱帯低地乾燥林、熱帯低地湿潤林、熱帯低地多雨林、熱帯準山岳湿潤林、熱帯準山岳湿潤林、熱帯進山岳雲霧林、熱帯低山岳湿潤林、熱帯低山岳多雨林、熱帯低山岳湿霧林、熱帯低山岳湿潤林、熱帯低山岳多雨林、熱帯低山岳雲霧林、熱帯低山岳雲霧林、熱帯低山岳雪霧林、熱帯低山岳雪霧林、熱帯低山岳雪霧林、熱帯低山岳雪霧林、熱帯山岳雪霧林、熱帯山岳雪霧林、熱亜高山パラモ林)に細分されている。

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Republic of Costa Rica (2010) Readiness Preparation Proposal (R-PP) for Costa Rica

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Costa Rica (2011) Readiness Preparation Proposal (R-PP) Costa Rica R-PP.

土地利用区分	細区分	Area (ha)
林地※	原生林(Primary Forest)	2, 215, 543
(FORESTLAND)	二次林	918, 483
耕作地	永年耕作地	277, 263
(CROPLAND)	1年生耕作地(annual)	251, 874
草原 (Grassland)	1, 190, 835	
居住地(Settlemen	46, 999	
湿原地帯	自然湿原地帯	24, 485
(Wetlands)	人口湿原地带	382. 32
その他(OTHER LAN	188, 076	
	TOTAL	5, 113, 940

表 2.1 コスタリカ国の土地利用区分6



出典 コスタリカ REL, 2016

図 2.3 コスタリカ国の土地利用区分

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> MINAE Costa Rica(2016), Forest reference emission level/forest reference level

### (3) 保護区等

コスタリカでは、1970年に国立公園制度が誕生し、サンタ・ロサ (Santa Rosa) 国立公園 (現 ACG サンタ・ロサ区) は、最初に策定された国立公園のうちの一つである。国立公園の管轄機関は、環境エネルギー省 (MINAE) の監督のもとにある国家保全地域庁 (SINAC) である。SINAC は、独自の法人格を有する組織であり、28 の国立公園以外に、生物保護区 (Reservas Biologicas)、保護区 (Zonas Protectoras)、野生生物保護区 (Refugios de Vida Silvestre)、森林保護区(Reservas Forestales)、湿地 (Humedales) 及び国定文化財 (Mounmento Nacional) を含む、コスタリカ全土の約 25%を占める合計約 160 の指定区域を管轄している (図 2.4)。

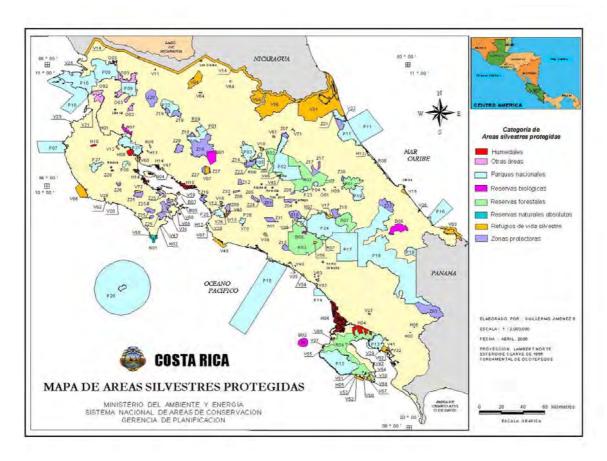


図 2.4 SINAC が管轄する保護区及び保全区等

また、SINAC は、非中央集権化システムでコスタリカ全土を管轄するシステムを導入しており、全国を11の「保全地域」と呼ばれる自然資源管理のための行政区に分けており(図 2.5)、各保全地域における保護区管理や森林資源の管理は各保全地域事務所が主体的に行うことになっている。更に、保全地域の運営には、その地域の地元住民組織、プライベートセクター及び研究機関等の代表から構成される「地域評議会」を組織して行うことが定められている。



図 2.5 コスタリカにおける 11 の保全地域

#### (4) **貴重種・保全種**

コスタリカにおいては、野生動物保全法 (MINAE No. 26435) において保護・保全種、自然保護区が指定されている。また、「個体数が限定的な種」と「絶滅に瀕している種」のリストが作成されている。

「個体数が限定的な種」では、鳥類 (83種)、哺乳類 (14種)、両生類 (81種)及び爬虫類 (28種)が指定され、「絶滅に瀕している種」には、鳥類 (16種)、哺乳類 (13種)、両生類 (2種)及び爬虫類 (8種)が指定されている。野生動物保全法におけるリストには、昆虫類は含まれていない。

IUCN のレッドリストに指定されている種として、哺乳類(42 種)、鳥類(37 種)、爬虫類(10 種)、両生類(1 種)、昆虫類(10 種)がコスタリカに生息する種として指定されている $^7$ 。昆虫類の内訳としては、チョウ目(1 種)及びトンボ目(9 種)である(貴重種のリストは、添付資料 8: コスタリカにおける貴重種リストを参照)。

#### 2.2 プロジェクトエリアの自然環境

(1) プロジェクトエリア

 $<sup>^{7}</sup>$  The World Conservation Monitoring Centre

本調査エリアは、首都サン・ホセから北西に約240kmの位置のグアナカステ (Guanacaste)州リベイラ (Liberia) 郡のクルバンディ (Curubandé) 地区の北東に位し、コスタリカ国内の11ヶ所の保全地区のうち、グアナカステ保全地域 (ACG) 内に存在する。また、本調査エリアは、UNESCOに世界遺産として1999年に登録された保護区域から約50mの場所に位置している。



出典: JICA Preparatory Survey for Guanacaste Geothermal Project, Costa Rica

図 2.6 Las Pailas 地熱地域の位置(赤線区域:プロジェクト対象エリア)

# (2) 気象

本調査エリアの気象は雨季乾季の 2 期があり、雨季は  $5\sim12$  月、乾季は  $12\sim5$  月、気温、降雨量等は下表に示すとおりである。

年平均気温は 23.7 度で、年平均最高気温は 28.6 度、最低気温は 20 度であり、気温の年間変化は小さい。月降雨量は  $50\sim575.5$  mm の範囲にあり、乾季の 3 月は最も少なく、雨季の  $9\sim10$  月は最も多く、年間降雨量は 2782 mm である。月平均湿度は雨季が 90%と高く、乾季が 70%程度で低くなり、雨季は乾季よりも 20%高い。

月平均風速は 1.7~5.5 m/s、年平均風速は 3.1 m/s であり、卓越風向は大西洋側から太平洋側に吹く北東風向の貿易風である。

最多風向	NE	NE	NE	NE	NNE	ENE	ENE	ENE	NNE	ENE	NNE	NE	NE
風速(m/s)	5	5.5	4.7	3.5	2.3	1.9	2.3	2.2	1.8	1.7	2.5	3.5	3.1
相対湿度(%)	73	69	68	69	84	91	88	89	93	95	87	78	82
降雨量(mm)	214.4	136.1	52	80.2	328.2	333.2	165.5	244.7	361.5	575.5	189	102	2782
最低気温(°C)	19.9	19.2	20.3	20	20.6	20.3	20.5	20.3	19.8	20	19.8	19.8	20
平均気温(°C)	23.5	23.7	24.8	25	24.2	23.5	23.7	23.6	23.2	22.8	23.1	23.4	23.7
最高気温(°C)	27.9	28.9	30.1	30.8	29.5	28.3	28.3	28.4	28.1	27.2	27.6	27.6	28.6
項目/月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	年平均*

表 2.2 Las Pailas 地熱地域における気象観測結果 (ICE、2002~2010 年)

# (3) プロジェクトエリア周辺の保護区域

#### 1) ACG 保護区域の自然保護区

上述の通り、本調査サイトは UNESCO に登録されている保護区域(ACG 保護区域)及び国立公園に隣接している。ACG 保護区域は、コスタリカ北西部、ニカラグア国境に近い保護地域を含む 168,000 ha の土地及び海域から構成される地域であり、リンコン・デ・ラ・ビエハ国立公園、サンタ・ロサ国立公園等の複数の国立公園・保護区が含まれており、区域ごとに管理されている(図 2.7 及び図 2.8)。

ACG 保護区域は、西側の海洋性生態系から東に向かい標高差と多様かつ広大な地勢が 生み出す様々な生態系で構成されていることが特徴であり、豊かな生物多様性を誇る地 域として知られており<sup>8</sup>、下表の4つの代表的な生態系に区分される。

ACG 保護区域は比較的狭い区域内において多様な環境が存在し、コスタリカで記録されている種の3分の2が存在しているとされている。ACG 保護区域内には、900種以上の脊椎動物が確認されており、その中には絶滅危惧種の哺乳類、鳥類、ウミガメを含む爬虫類が含まれる。また、無脊椎動物は甲虫類20,000種、アリ類及びハチ類13,000種、チョウ類及びガ類16,000種等が確認されており、微生物以外で合計375,000種となる。

	生態系区分	面積(ha)
1	海洋性生態系 (Marine Ecosystem)	43, 000
2	乾燥林生態系 (Dry Forrest Ecosystem)	80,000
3	雨林帯生態系(Rain Forest Ecosystem)	32, 000
4	雲霧林帯生態系 (Cloud Forest Ecosystem)	13, 000

表 2.3 ACG 保護区域の生態系区分

22

<sup>\*:</sup>降雨量を除く

 $<sup>^{8}</sup>$  UNESCO  $\,$  http://whc.unesco.org/en/list/928

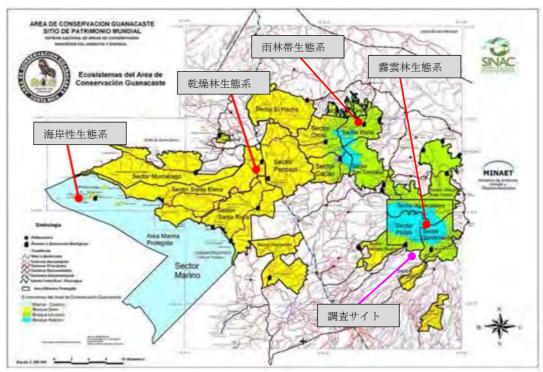


図 2.7 ACG 保護区域の自然保護区の生態系区分図



図 2.8 ACG 保護区域の自然保護区

# 2) リンコン・デ・ラ・ビエハ (Rincón de la Vieja) 国立公園

本調査サイトの北部には、リンコン・デ・ラ・ビエハ国立公園があり、パイラス区、サンタマリア区、アグアカタレス区が位置している。

リンコン・デ・ラ・ビエハ国立公園は、法令5398号(1974 年1月)に基づき、自然資源保護を目的として設定された公園である。公園内には2つの火山(El Rincón de la Vieja と Santa María等)、30 以上の河川及び滝、ラグーン、火山口等が存在する。また、動植物の多様性が高く、標高の違いや降雨、火山噴火の影響とスロープの種類により多様な動植物が生育、生息する。法令5398号 第3 条により、リンコン・デ・ラ・ビエハ

国立公園内では以下の行為がを含む、公園内の自然環境や資源に影響を及ぼすあらゆる行 為が厳しく禁止されている。

- ▶ 樹木の伐採は及びあらゆる種類の森林物の移動や搬出
- ▶ 野生動物の狩猟、捕獲または収集、動物肉や内臓の移動、搬出
- ▶ 地質学的な価値がある場所の岩石、鉱物等におけるあらゆる種類の損傷を引き起こす行為及びこれらの場所の岩、鉱物の移動や搬出
- ▶ 歴史的、考古学的価値がある物体の収集及び移動や搬出
- ➤ 公園の自然及び歴史資源に有害である商業、農業、工業(政府が実施する観光、水源開発等は除く)及びその他のあらゆる種類の製品の開発製造及びコンセッションの譲渡

# 3) 鳥類重要生態系保全区(AICA): Tilaran Highlands AICA

グアナカステ火山山脈の標高500m以上の1,766km<sup>2</sup>の範囲が、Tilaran Highlands鳥類重要生態系保全区 (AICA) として指定されており (Birdlife International)、本プロジェクトサイトはこのAICAに含まれている。このAICAに確認されている唯一の絶滅危惧種は、太平洋の限られた地域とカリブ海に生息する種であるカザリドリ科の仲間 (Cephalopterus glabricollis) である。



図3.9 Tilaran Highlands AICA

## 4) ジャガーのグアナカステ保全ユニット

ジャガー・グアナカステ保全ユニット (UCJG) は、ジャガーを保全する目的に1999年に設定された本プロジェクトエリアを含む5,323km²のエリアである。the Wildlife Conservation Society (WCS)によると、UCJGは、ジャガーの生息に適切した環境において、少なくも50頭以上の繁殖能力があるジャガーが生息している。

## (4) プロジェクトエリア周辺の動植物

1) 植物相

本調査エリアは、標高差が大きい地峡地帯において太平洋及びカリブ海の海域の気候や乾燥地帯、山岳地帯など多様な環境が存在することが特徴的な地域内にある、標高 640m~860m の熱帯/亜熱帯降雨-雲霧林を持つ低地-落葉広葉樹林地域に位置する。 本調査エリアの植生は、植林、草原、森林で構成されている。本調査エリアにおいては、植物の保護種は確認されていない。

- ▶ 草原:草原には樹木が点在しており、Chan (Hyptis suaveolens), flower (Baltimore line), fox's tail(Stachytarpheta jamaisensis), garlic (Mansoa hymenaea), Jaragua (Hyparrhenia rufa) star grass africana (Cynodon nlemfuensis), pig's broom (Sida acuta) 等の草本植物に支配されている。
- 森林(パイラスI及びII):森林には、拠水林、二次林及び自然林の異なる種類の森林が存在している。森林の植生は、パイラス区の自然林に類似しており、jorco (Garcinia intermedia)、 pochote (Pochota fendleri)、matapulgas (Thounidium decandrum)、canelo (Ocotea veraguensis), caregre (Lippia oxyphillaria), manteco (Trichilia martiana)、guarumo (Cecropia peltata), cucaracho (Billia rosea)等 100種以上が含まれる。

# 2) 動物相

本調査エリア周辺でこれまでに実施されている調査(ICE, 2004)によると、哺乳類(39種)、鳥類(182種)爬虫類(40種)、両生類(7種)、魚類(7種)及び数千の昆虫類が確認されている。パイラス区に接する森林において、哺乳類の多様性が高く、パイラス IIに近い動物相となっている(パイラス I では多様性は相対的に少ない)。野生生物保護規制(DecreeNo. 26 435-MINAE)における保護種及び IUCN のレッドリ

ストに登録されている貴重種として、以下が確認されている。

# 表 2.4 野生生物保護規制及び IUCN レッドリストの種

X 1. 1 3 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1					
Class (網) Family(科)		学名	Common Name (現地での一般名)	Decree No. 26 435-MINAE	IUCN
哺乳	ネコ	Herpailurus yaguaround	Jaguarundi	0	LC
類		Leopardus pardalis	Manigordo Ocelote	0	LC
		Panthera onca	Jaguar	0	NT
		Leopardus weidii	Caucel	0	_
		Puma concolor	Puma	0	LC
	バク	Tapirus bairdii	Baird's Tapir	0	EN
爬虫	ヘビ	Boa constrictor	Boa, bécquer	0	_
類 両 生	プレセドン Bolitoglossa subpalmata.	La Palma Salamander		EN	
類	アマガエル	Duellmanohyla uranochroa	Costa Rica Brook Frog		EN
	アマガエル Craugastor andi Atlantic Robber Frog				CR
	アマガエル	Craugastor angelicus	Angel Robber Frog		CR
	アマガエル	Craugastor ranoides	_		CR
鳥類	鳥類 ジャノメドリ Eurypyga helias		Sunbittern	0	LC
	カザリドリ	Cephalopterus glabricollis	Bare-necked Umbrellabird		EN

# 第3章 コスタリカ及び諸外国の EIA 制度

## 3.1 コスタリカの EIA 制度

## (1) コスタリカの環境法制度と行政

コスタリカにおける環境制度は、1995年10月に施行された環境法(Ley Organica del Ambiente)を基本法としており、その他、生物多様性法(Ley de Biodiversidad)等がある。環境制度を所管しているのは環境エネルギー省(MINAE)である。環境法は、環境は国民全員の共有財産であり、国家・国民は環境保護に参加し、持続可能な活用を行う必要があるという理念に基づいて制定されている。その他、以下の環境関連法が整備されている。

- ▶ 森林法 (Ley Forestal) (1996施行、2010年改正)
- ➤ 生物多様性法 (Ley de Biodiversidad) (1998年施行)
- ▶ 国立公園法 (Ley de Parques Nacionales, 1977年施行)
- ▶ 野生生物保護法 (Ley de Conservacion de la Vida Silvestre、1998年施行)

コスタリカが批准している環境関連の国際条約は、以下の通りである。

- ▶ ラムサール条約
- ▶ ワシントン条約
- ▶ 生物多様性条約
- 気候変動枠組み条約

コスタリカでは、上記の環境法に基づいて、環境に影響を与える開発事業に対しては環境影響評価を実施することが規定されており、EIA制度の基本原則はDecreto No. 31849 - MINAE -S- MOPT - MAG - MEIC、及びその追加修正令No. 34688-MINAE-S-MOPT-MAG-MEIC (EIA法令) で定められている。Decreto No. 31849により、SETENA (Secretaria Tecnica Nacional Ambiental) がEIA制度の管轄機関となることが規定されている。コスタリカでは、以下に示す通り地熱発電事業はEIAの対象事業となっている。

## (2) コスタリカの EIA プロセス

コスタリカでは、EIA法令によりEIAの対象事業のリストが定められており、対象事業の 事業種、事業規模、潜在的環境影響によりプロジェクトが分類されている。地熱事業に 関しては、発電規模により以下のように分類されている。

表3.1	コスタリ	カEIA法令におけ	る地熱事業分類
------	------	-----------	---------

分類	分類内容	地熱発電容量
A	潜在的な環境影響が大きい	2000kW以上
B1	潜在的な環境影響が中程度(高い)	1000kW以上2000 k W未満
B2	潜在的な環境影響が中程度(低い)	100kW以上1000 k W未満
С	環境影響の程度は低い	100kW未満

各カテゴリーにおけるEIAプロセスは、以下の通りである。

# カテゴリ分類Aの事業の手続き

- ▶ 事業者による初期環境影響評価書D1の作成
- ▶ SETENSAによる環境アセスメント報告書(EsIA)のTOR作成
- ▶ 事業者によるEIA実施
- ▶ 事業者による環境遵守宣言(DICA)
- ➤ SETENAによるEsIAの検討
- ➤ SETANAによる環境ライセンスの発行
- ▶ 環境モニタリングの定期報告

# カテゴリ分類B1の事業の手続き

- ▶ 事業者による初期環境影響評価書D1の作成
- ➤ SETENAによる環境管理計画 (P-PGA) のTOR作成
- ➤ 実施者によるP-PGA実施
- ▶ 事業者による環境遵守宣言(DJCA)
- ➤ SETENAによるP-PGAの検討
- ➤ SETANAによる環境ライセンスの発行
- ▶ 環境モニタリングの定期報告

### カテゴリ分類B2の事業の手続き\*

- ▶ 事業者による初期環境影響評価書D1の作成
- ▶ 事業者による環境遵守宣言(DJCA)
- ▶ SETANAによる環境ライセンスの発行
- 環境モニタリングの実施

\*事業者の環境管理がSETENAにより承認された機関が実施している場所と分類された場合は、カテゴリ分類Cと同様の手続きとなる。

## カテゴリ分類Cの事業の手続き

- ▶ 事業者による初期環境影響評価書D2の作成
- ➤ SETANAによる環境ライセンスの発行

EIAの実施方法は、以下のEIAガイドラインにより規定されている。

EIAガイドラインは4パートに分かれており、主に環境影響評価(カテゴリーA~C)の作成方法に関するものと、カテゴリーBに分類される事業に求められる環境管理計画(P-PGA)の作成方法を規定したものに分けられる。

地熱発電に特化したセクターごとのガイドラインは存在しておらず、また、カテゴリー Aの事業で実施することが求められるEsIAの実施方法を定めたガイドラインは作成されていない。通常、EsIAは、SETENAが作成するTORに従い実施することになるが、TOR作成段階においてその他ステークホルダーより調査手法等に対して意見を受け付ける手続きはない。ドラフトEIAの段階では、SETENAは、必要に応じて他の関連機関や専門家にEIA報告書の内容のついて意見を求める場合がある。

また、SETENAは地熱発電に特化したセクターガイドラインの導入を現在検討している。

# ▶ EIAガイドライン パート1 (法令 No .32079, 2004年)

カテゴリーC及びB2またはD2 が求められる事業に対する初期環境影響評価の手法に 関するガイドライン

- ➤ EIAガイドライン パート2 (法令No.32712, 2005年) カテゴリーA, B1 及びB2またはD1が求められる事業に対する初期環境影響評価の 手法に関するガイドライン
- ➤ EIAガイドライン パート3 (法令No . 32967, 2006年) 都市計画との関係に関するガイドライン
- ➤ EIAガイドライン パート4 (法令 No . 32966, 2006年)

環境管理計画 (P-PGA) の実施に関するガイドライン。このガイドラインにおいて、影響を受ける生態系に関しては、影響を受ける植物相および動物相の種類の特定、影響を受ける樹木の数の算出、指標種の特定、国または国際条約で指定されている保護種・保全種の特定、脆弱性が高い生態系の特定、を実施することが求められている。

また、SEA(Strategic Environmental Impact Assessment: 戦略的環境影響評価) は、個別事業の計画・実施に枠組みを与える事業の計画段階等における上位計画の段階を対象とした環境アセスメントであり、後述するとおり、米国やニュージーランドでは、地熱事業に対するSEAが計画段階において実施され、環境及び社会面を考慮し地熱開発の実施可能なエリアが設定されている。コスタリカにおいては、地熱事業の上位計画に対するSEA制度は存在しておらず、長期的な視点での事業地や事業規模の決定、森林保全への配慮といった仕組みは確立されていない。

## (3) 生熊系調査手法(ラス・パイラス I)

EIAにおける生態系調査は、EIAガイドライン パート4 (法令 No .32966, 2006年) に従い実施される。参考にラス・パイラス Iの事例を以下に整理する。

ラス・パイラス I のEIAで2002年~2004年にかけて実施された生態系調査では、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類及び昆虫を対象として、以下の調査手法で実施している。

次U.2 Las lalias IV/LIM(C4OI) O工版外側直 1 位				
調査対象	調査手法			
哺乳類	目撃法、フィールドサイン法、自動撮影、トラップ法(ネズミ類)			
鳥類	目撃法(昼間及び夜間)			
爬虫類	目撃法(昼間及び夜間)			
両生類	目撃法(昼間及び夜間)			
魚類	サンプリング調査			
昆虫類	<ul> <li>スウィーピング法(直径35cmの網を使用する採集する方法)</li> <li>ベイトトラップ法(エサを入れたコップなどを地表に口が開くよう埋め、そこに落下する昆虫類を採集する方法)</li> <li>ライトトラップ法(夜間に照明を灯し、集まった昆虫を採採集する方法)</li> </ul>			

表3.2 Las Pailas IのEIAにおける生態系調査手法

昆虫類調査では、膜翅目(Hymenoptera)、双翅目(Diptera)、鱗翅目(Lepidopterous)及び甲虫類(Coleopterous)を対象としている。これらを対象とした理由としては、採集の容易さだけでなく、生態系において重要な役割を担っている一方で、バーコード手法がないと同定が難しいため、と記載されている。

昆虫類調査では、合計215種が特定された。分析の結果、二次林で多様性が高く多くの種が確認され、蝶については二次林のほかに草原でも多様性が高い結果となっていた。ただし、採取された昆虫類に関しては、以下のような分析が報告書でなされている。

"特定された215種は、コスタリカ北部で認識されている4371種の4.92%、または、コスタリカ全土で特定されている種(1998年までにINBioにより特定されている種)の0.34%にも満たない。また、調査対象は、膜翅目、双翅目、鱗翅目及び甲虫類のみに限定され、採集に使用した手法は、昆虫類が生息するエリアの一部分のみしかカバーできないため、本プロジェクトエリア全体の昆虫の生物多様性を示しているものではない"。

環境管理計画において、モニタリング対象項目として、自然環境項目では土壌、植物相 及び動物相(哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類及び水生生物類)が選定されている。昆虫類 はモニタリングの対象には含まれていない。モニタリング手法の内容を表3.3に整理する。

モニタリング項目	モニタリング内容	モニタリング頻度	
土壌	pH、カルシウム、マグネシウム、カリ	操業開始前から操業開始後	
	ウム、金属類等の土壌分析。	10年まで。	
植物相	病気の植物の有無、樹木の生長、植生 の構成等 調査対象地の5%を選出し、そこの植	建設段階及び操業段階	
	生の構成(高さ等)のモニタリング		
動物相			
哺乳類	目視による確認 (昼及び夜)		
鳥類	目視による確認 (昼及び夜)	月1回実施する。	
爬虫類	目視による確認 (昼及び夜)	モニタリング頻度は、必要	
両生類	目視による確認 (昼及び夜)	に応じて変更する。	
水牛牛物類	毎類 底性生物のサンプリング		

表3.3 モニタリング手法

## 3.2 諸外国の EIA 制度

コスタリカにおけるEIA制度の向上の検討に向けて、地熱資源開発案件が豊富でありEIA制度が一般的に先進的であると考えられる米国及びニュージーランドのEIAにおける生態系の影響評価手法に関して、以下に整理した。

## (1) EIA 制度

# 1) 日本

日本では、地熱発電事業は環境影響評価法の対象となり、環境影響評価を実施することが求められている。環境アセスメントは、対象事業を実施する事業者が実施する。 EIAプロセスには、計画段階の環境配慮、スクリーニング、スコーピング、ドラフトEIAの作成、所管官庁の審査が含まれており、EIAプロセスの計画段階の環境配慮、スコーピング、ドラフトEIAの各段階において、周辺住民や行政機関の意見を求めるプロセスがある。

スコーピング段階においては、事業者が環境影響評価の調査方法を整理した方法書 (スコーピングレポート)を作成し、方法書への意見を求めるために公開される。事業 者は、住民、専門家、行政及び環境省等の意見を踏まえて調査方法を決定することにな る。

また、2012年の環境影響評価法の改正により、事業の早期段階における環境配慮を可能にするために、事業の位置、規模等に関する複数案の検討を行うととに、対象事業の実施が想定される地域の生活環境、自然環境などに与える影響について、周辺住民等のステークホルダーの意見を取り入れることを目的として、計画段階の環境配慮のプロセスが新たに導入された。ただし、地熱開発事業の候補エリアを上位計画で検討する制度はなく、後述する米国やニュージーランドで導入されている戦略的環境アセスメント

(Strategic Environmental Assessment : SEA) の制度は導入されていない。

## 2) 米 国

National Environmental Policy Act (NEPA) では、連邦政府の機関が実施する事業、連邦政府から資金援助を受ける事業、連邦政府の送電網を使う事業、連邦政府に売電する事業、連邦政府からの許可とライセンスを得て実施される地熱事業全て(掘削から発電設備や送電線の建設に至るまで)について、環境影響評価の実施が求められている。

NEPA のプロセスではリース権を得ることから始まる。この段階で、連邦政府の所轄官庁 (BLM またはUSFS) は環境評価 (Environmental Assessment、EA) を行い、事業が環境影響評価 (EIS: Environmental Impact Statement) の必要なし (Finding of No Significant Impact、FONSI) か、環境影響評価の必要ありか (Need Environmental Impact Statement) を決定する。地熱開発事業に関しては、ほとんどのケースでEIS を準備する必要がある。

環境影響評価のプロセスは、スコーピング、ドラフトEISの作成、関連機関によるEISの確認、EISの承認が含まれる。米国のEIA制度では、各分野の関連機関が調査手法や審査に大きく関与し、生態系に関しては、国家水産野生動物局(U.S. Fish & Wildlife Service: USFWS)等の関連機関が関与し、調査スコープや方法にアドバイスを与えている。米国では、スコーピング及びドラフトEISの段階において、住民や関連機関の意見を聴く手続きが設定されている。

また、地熱開発の上位計画制度として、米国では、プログラム型EIRとして政府機関により地熱開発のSEAが実施されており、ゾーニングにより地熱開発事業の実施可能な区域を定めている。プログラム型EIRでは、景観、農業資源、大気環境、生態系資源、文化遺産、地質、温暖化効果ガス、有害物質、水理及び水質、土地利用計画、騒音、人口及び住居、社会インフラ、リクレーション、交通等が含まれており、プログラム型EIRでは想定される影響に対して事業レベルで検討すべき内容及び対策が記載されている。また、プログラム型EIRの作成に際して、スコーピング段階及びドラフト段階においてステークホルダーが意見を述べる機会があり、ステークホルダーの意見を反映し、最終化する。

### 3) ニュージーランド

ニュージーランドにおける地熱開発は、自然及び物理的資源の持続可能な管理を総括する法律である資源管理法 (Resource Management Act ) に基づき管理される。

資源開発許可申請プロセスは、資源管理法(2009年に改定)に基づいて規定されており、環境影響評価はAEE(Assessment of Environmental Effect)と呼ばれ、Resource Consentと呼ばれる開発許可申請書の一部として組み込まれている。環境影響評価は、資源開発許可申請の一部として広域自治体に提出され、地方政策(Regional Policy Statements)と地方計画(Regional Plan)によってその項目や方法が明確に規定されており、広域自治体により異なる。

資源管理法に基づき、広域自治体は、SEAを実施し地方政策と地方計画を制定しており、そのフレームワーク内において資源開発許可の決定を下す責任を有している。資源管理法の4項にAEEに対するガイドラインが規定されているが、地方政策や地方計画によ

り追加要求事項が加えられる場合がある。AEEにおいて実施すべき環境影響評価の方法 及び内容を決定するスコーピング作業は法的には規定されておらず、プロジェクトごと に広域自治体との協議により決定することになる。事業者は、広域自治体と確認した事 項に基づき必要な情報を収集・調査を実施してAEEを作成する。

環境影響評価の結果は、資源開発許可申請の一部として広域自治体に提出される。項目や規定は、地方政策と地方計画により明確に規定されている。また、環境影響に関する運用(調査方法の設定やモニタリングの項目など)は、広域自治体によりフレキシブルにされており、例えば、地熱発電所が運営を始めた後にも定期的なモニタリングとその結果を報告する義務を課すことで開発権を得ることが、環境保全の責任を伴うシステムとなっている。

# 4) メキシコ

メキシコにおける発電事業は、「環境影響評価に関する規則」(Reglamento de la Ley General del EquilibrioEcologico y la Proteccion al Ambiente en Materia de Evaluacion del Impacto Ambiental)に基づき、環境影響評価の実施が求められる。メキシコのEIA制度では、スクリーニング段階として、対象事業の内容や開発予定地の生態学的特徴に基づき、1)予防報告書(Preventive Report:影響が重大ではないと見込まれる事業)、2)地域EIA(EIA Regional:比較的広域に影響が見込まれる事業(高速道路、鉄道、ダム等)や累積的影響が大きいと見込まれる事業など)、または3)個別EIA(EIA Particular)のどれに該当するか決定する。地熱発電事業は、地域EIAの実施が必要となるセクターには該当しないが、当該事業の生態的な影響等により地域EIAの実施が必要となる場合がある。

メキシコのEIA制度においては、正式なスコーピング手続きは存在していないが、通常は、EIAのTORは、EIAの所管官庁であるSEMARNATの下部組織である国立生態研究所 (National Institute of Ecology: INE) が関連する省庁から環境影響に関する情報を入手し作成する。TORに基づき事業者が作成したEIAレポートは、SEMARNATに提出され、INEにより審査される。

また、メキシコにおけるパブリックコンサルテーションは、一般市民からのリクエストベースで開催することが可能となっているが、EIA制度においてはパブリックコンサルテーションは義務付けられていない。

また、SEA制度に関しては、SEMARNATは持続可能なツールとして重要な要素であることを認識し導入を検討しているものの、導入については未定である。

## (2) 生態系調査手法

#### 1) 日本

\_

日本では、発電所の環境影響評価の調査手法に関するガイドラインは経済産業省により作成されており<sup>9</sup>、生態系調査として、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、昆虫類、魚類を対象とし、以下を含む調査手法が提案されている。ただし、調査手法は、必要に応じ

<sup>9</sup> 改訂・発電所に係る環境影響評価の手引 第4章 環境影響評価の項目及び手法の選定

て専門家の助言を得るものとしている。

表3.4 日本の生態系調査手法のガイドラインに記載されている調査方法

	1100000000000000000000000000000000000
項目	調査方法
哺乳類	<ul><li>フィールドサイン調査(足跡、糞、巣などを確認し、種を同定)</li><li>捕獲調査(トラップなどを仕掛ける)</li><li>自動撮影調査</li><li>直接観察調査</li></ul>
鳥類	<ul><li>ラインセンサス法</li><li>ポイントセンサス法</li><li>任意観察調査</li></ul>
爬虫類	直接観察調査
両生類	直接観察調査
昆虫類	<ul><li>スウィーピング法</li><li>ビーティング法</li><li>直接観察</li><li>ベイトトラップ法</li><li>ライトトラップ法</li></ul>

上述の通り、日本ではEIA ガイドラインにおいて昆虫類調査を実施することが求められている。昆虫採集の調査手法は、対象とするエリアの特性や昆虫により異なるが、一般的なものを以下に整理する。調査期間としては、現地調査は四季及び昆虫類活動時期に併せて年3回以上実施することが一般的である。

日本の EIA 調査は主に重要種の生息確認を目的に行われるため、マレーズトラップではなく重要種の確認に適した他の方法が使用されている。

表 3.5 日本国内における昆虫調査手法の概要

調査手	法	適用場面/調査概要	主な対象昆虫	EIA で の使用
目撃法		陸上昆虫類等を肉眼で見つけて捕まえる方法。特に捕虫ネットの届かない高所を飛ぶチョウ類や、高い木の幹にとまっているセミ類は、双眼鏡等を用いて確認が可能	トンボ類、大型の チョウ類、バッタ 類等大型で目立つ 種や鳴き声を出す 種に適する	0
任意採取法 ※調査範囲 内を任意に 踏査しなが	スウィ クピン グ法 ビィン アケグ	樹林地、低木林、草原で用いられる方法で、捕虫ネットを振り、草や木の枝の先端等をなぎ払うようにしてすくいとることで、木や草上等に静止している昆虫類等を捕まえる方法 木の枝、草等を叩き棒で叩いて、下に落ちた陸上昆虫類等を白いネット)等で受けとって採集する方	主に、小型のハエ 類、ハチ類、ガ 類、コウチュウ 類、カメムシ類、 ヨコバイ類等の操集 上昆虫類等の に適する	0
踏査しなから、捕虫網を使って方法 捕する方法	法石おこし採集法	法 石、倒木やゴミを起こして、そこ に生息している陸上 昆虫類等を採集する方法	特に、河原におい てゴミムシ類、コ メツキムシ類、ハ サミムシ類等を採 集するのに適した 方法	0
ライトトラ ップ ※実施にあ たっては、	カーテ ン式	外部からの光が入らない森林内等 に設置する。日没後に3時間程 度、白い布をブラックライト等で ライトアップして集まる昆虫類を 採集する。		
満月の強いの日はいのでは、明の強いの日はいいののは、明のでは、明のでは、明がででいる。	ボック ス式	光源の下に、大型ロート部及び昆虫収納用ボックス部からなる捕虫器を設置し、光源をめがけて集まった陸上昆虫類が大型ロート部に落ちたものを、捕虫器に収納し採集する方法	夜行性の走光性昆 虫類	○ ※どち らか
ベイトトラップ	同上	地面と同じレベルに口がくるように、プラスチックコップ等を埋めてその中に餌(ベイト)を入れ、一晩程度放置した後に餌に誘引されて落下した陸上昆虫類等を回収する方法	コウチュウ目などの地表徘徊性甲虫類	0
ピットホールトラップ		地面と同じレベルに口がくるよう に、プラスチックコップ等を埋 め、一晩程度放置した後に偶発的 に落下した陸上昆虫類等を回収す	同上	Δ

調査手法    適用場面/調査概要		主な対象昆虫	EIA で の使用
	る方法		
バナナトラップ	薄い布に入れた熟したバナナを餌 とし、樹液や熟れた果物を好む夜 行性の昆虫類を収集する方法	カブトムシなどの コウチュウ目、腐 食性のチョウ類	Δ
マレーズトラップ	設置したトラップのネット部分に 衝突し上部の瓶に落下した昆虫類 を採集する方法	<ul><li>飛翔性のハエ、カ</li><li>等のハエ目、ハチ</li><li>目</li></ul>	×

また、プロジェクトエリアの状況により特定の昆虫類(概ね国内もしくは県内の絶滅危惧種)に焦点を当てて調査を実施することがある。その例として、以下の昆虫類調査などが含まれる。

- ▶ ホタル調査:餌生物の確認、生息環境の確認、夜間のラインセンサスによる確認
- ▶ゼフィルス (ミドリシジミチョウの仲間) 調査:夕方等、活動時間帯を狙った目 視調査
- ▶トンボ類の調査:目撃法、任意採集法のほか、対象水域周辺のラインセンサスによる調査等
- ▶水生昆虫(成虫)の調査:目撃法、任意採集法のほか、水域で使用する網を用いて採集する

日本では昆虫を専門とする者による調査が多く、EIA調査でも、研究所や組織に所属 しない彼らが調査することがほとんどである(大学の研究者等、社会的地位のある専門 家はEIA実地調査にはあまり加わらない)。彼らはフリーであるか、小規模な会社のメ ンバーであり、人件費は比較的安価である。

予測・評価方法としては、重要な種及び注目すべき生息地への影響の種類(死傷、逃避、生息、繁殖阻害、生息域の減少等)を推測することとしている。影響の種類に応じて、環境影響の量的又は質的な変化の程度を推定するものとし、具体的には、文献その他の資料による類似事例の引用又は解析により行い、必要に応じ専門家等の助言を得ることとしている。その結果、重要な種及び注目すべき生息地に係る環境影響が、実行可能な範囲内で回避または低減されているかを検討し、環境保全についての配慮が適正にされているかを検討することとしている。

### 2) 米 国

多くの地熱発電サイトは郊外に位置しており、通常、土地利用許可の発行及び環境保全の観点から、例えば、カリフォルニア州における地熱開発の場合は、国家水産野生動物局 (U.S. Fish & Wildlife Service: USFWS)及びカリフォルニア州の水産野生動物局 (California Department of Fish & Wildlife: CDFW)の要求を満たすよう、生態系調査

が求められる。調査対象項目には、自然植生、国や州で指定されている湿地、国や州で 指定されている保護種・保全種、野生動物が含まれている。

生態系調査は、関係機関との協議により設定した内容及び時期で実施し、まず最初に確認する内容は、貴重な動植物の位置や状況を把握することになり、カリフォルニア州ではCNDDB(The California Natural Diversity Database)と呼ばれるインベントリーデータベースが構築されている。CNDDBには、重要種や絶滅危惧種のリスト、調査ガイドライン及び各生物種の写真が含まれる。生態系調査は、CNDDBのレビュー及び必要に応じて現地調査を実施して、生息・生育する種、繁殖地の有無等を確認することになる。

一般的に、生態系調査の調査範囲は、1マイル(1.6km)圏内で実施されており、調査対象は、哺乳類、両生類、爬虫類、鳥類、植物等である。

生態系の影響評価方法は、州毎などにガイドラインが作成されとり、カリフォルニアでは、CEQA (California Environmental Quality Agency) のガイドラインに記載されている以下の基準を基に実施されている。

- ▶ 国や州で指定されている保護種・保全種に著しい悪影響を与えないか。
- ▶ 国や州で指定されておる湿地生態系やその他センシティブな生態系に著しい悪影響を与えないか。
- ▶ 固有種の魚、回遊魚、野生動物の移動経路を阻害しないか
- ▶ 樹木保全ポリシーなどの生物資源保護に関する政策と対立しないか
- ▶ 生態保全計画、自然コミュニティ保全計画等の計画と対立しないか

影響評価の参考事例として、「CASA DIABLO IV geothermal development Project」のアセスメント報告書では、生態系の項で以下のような評価がされている。

- ▶ ヘビ類、トカゲ類、その他小規模哺乳類といった移動性が低い野生動物が、一時的または永久的に生息環境が消失するが、これら重要度の低い(センシティブではない)種は、プロジェクトエリア周辺に広く生息し、種数も豊富なため、地域的な視点でみた場合にこれらの生態系は回復することが見込まれるため、影響は著しくないと評価している。
- ▶ 保護種・保全種の影響に関しては、生息環境の消失、人間活動による間接的な影響、 生息環境の変化による影響が見込まれ、地域個体群としてこれまでの開発等の累積 的な影響を受けるため、影響は著しいと評価されている。対策としては、鳥類の営 巣時期の工事を回避、特定された貴重な魚類のモニタリングなどが推奨されている。
- ▶ 昆虫類は、評価対象には含まれていない。

#### 3) ニュージーランド

生態系調査の実施を規定する法令やガイドラインはないが、通常、事業者のベースライン調査結果の提出が自治体より求められる。また、通常、陸上の無脊椎動物及びコウモリ類の現地調査は実施されず、文献による調査で代替される。

参考として、「The Ngawha geothermal project」の環境アセスメントの事例では、

既に過去の生態系に関するデータが蓄積されているため、机上調査を基本にベースラインデータが整理されている。影響評価は主に植生への影響に焦点を当てて整理されており、動物相では貴重な鳥類への影響が議論されている。植物相への影響に関しては、プロジェクトエリアに特有な植生群(Gumland¹º)32.8haが消失するため、再生可能エネルギーに関する国家政策¹¹に基づき、将来の開発から保護するために新たに120haのGunland植生郡をオフセットすることが提案されている。

昆虫類は、評価対象には含まれていない。

## 4) メキシコ

メキシコでは、具体的な生態系調査手法を規定したガイドラインは存在しない。 Cerro Piero V Projectの例では、哺乳類、鳥類、爬虫類及び魚類に関して調査が実施され、机上調査に加えて、現地調査が実施されている。現地調査では、センサス調査、足跡の確認、排泄物の確認、巣穴の確認及びその他目視確認による調査が実施され、その結果により、優占種、繁殖域、回遊性、経済的価値のある種、貴重種の観点より生態系への影響評価が行われているが、昆虫類は評価対象には含まれていない。また、対策として、Cerro Piero V Projectでは、環境省が指定する種(絶滅危惧種等)への影響に着目し、保護プログラムが作成されている。

<sup>10</sup> ニュージーランドの北部の特有の土壌性状を有するエリアに生息する低木群

<sup>&</sup>lt;sup>11</sup> "National Policy Statement for Renewable Electricity Generation 2011"の Policy C2 において、 環境影響が避けられない場合は地域の環境及びコミュニティの利益に結びつくようなオフセット対策ま たは補償を実施することが定められている。

# 3.3 コスタリカ及び諸外国の EIA 制度の分析

コスタリカ及び諸外国(米国及びニュージーランド)における地熱開発に関するEIA制度の主な比較を以下に整理する。

表3.6 EIA制度の比較分析

	表5.6 Employ 2010人为例				
項目	コスタリカ	日本	米国	ニュージーランド	メキシコ
EIA制度	地熱事業は、EIA法令に基 づきEIAの実施が求められ ている。	地熱事業は、EIA法令に基 づきEIAの実施が求められ ている。	地熱事業は、EIA法令に基づき EIAの実施が求められている。	地熱事業、資源開発許可申 請プロセスの一環として、 EIAの実施が求められる。	地熱事業は、EIA法令に基 づきEIAの実施が求められ ている。
SEA制度	なし	なし	有り	有り	なし
スコーピング	EIA調査のTORはSETENAが 作成し、調査手法に関し てステークホルダーの意 見を求める制度はない。	EIA調査のTORは、関連機 関やステークホルダーの 意見を反映して確定す る。	EIA調査のTORは、関連機関やステークホルダーの意見を反映して確定する。生態系調査手法に関しては、生態系に関係する機関(USFWS等)が調査手法にアドバイスを与える。	EIA制度を管轄している広域 自治体が、EIAの調査内容を 決定する。調査内容は、戦 略的環境アセスメントの結 果などを考慮してフレキシ ブルに設定される。	EIA調査のTORはSEMARNAT のINEが、関連機関の意見を反映して確定する。ステークホルダーの意見を求める制度はない。
生態系の調査手法	生態系調査手法を規定した法令やガイドラインはない。 地熱EIAでは、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、色類及び昆虫類を対象としている。調査方法は、ICEの専門家の判断で決定している(Las Pailas1)。	生態系手法を規定したガイドラインがある。 哺乳類、鳥類、爬虫類、 両生類、昆虫類、魚類を 対象とすることとしており、調査方法が規定され ている。	関係機関(USFWS等との協議により、調査内容や調査時期を決定する。調査は、机上調査(生態系データベースのレビュー)及び必要に応じて現地調査を実施する。 地熱EIAでは、哺乳類、両生類、爬虫類、鳥類及び鳥類が含まれている(CASA DIABLO IV Project)。	調査手法を規定した法令や ガイドラインはなく、広域 自治体との協議で決定す る。	調査手法を規定した法令 やガイドラインはない。 地熱EIAでは、哺乳類、鳥 類、爬虫類及び魚類を対 象として、机上長さ及び 現地調査 (センサス調査 等)を実施している。 (Cerro Pietro V Project)

# コスタリカ国 グアナカステ地熱開発セクターローンにかかる案件実施支援調査 (生態系への影響を中心とした環境モニタリング支援) (SAPI) 業務完了報告書

項目	コスタリカ	日本	米国	ニュージーランド	メキシコ
生態系の評価手法	EIAガイドラインにおいて、影響を受ける植物相および動物相の種類の特定、影響を受ける樹木の数の算出、指標種の特定、国または国際条約で指定されている保護種・保全種の特定、脆弱性が高い生態系の特定を実施することが求めらている。	ガイドラインにおいて、 予測・評価手法が記載されている。 重要な種及び注目すべき 生息地への影響に関して、量的・質的な変化の程度を推定し、影響が実 行可能な範囲内で回避または低減されているかな 検討することが求められている。	州政府が作成しているガイドラインに基づき評価している。評価内容は、以下が含まれる。 ・保護種や保全種への影響 ・湿地やセンシティブな生態系への影響 ・生物の移動経路への影響 ・その他関係する政策・計画との対立	影響評価は主に植生及び鳥 類への影響に焦点が当てら れている (Ngawha Project) 。	絶滅危惧種等の貴重種、 生息地への影響を評価 し、影響が考えられる場 合は種の保護のプログラ ムを実施する。特に、環 境当局が指定する種への 影響について焦点があて られる(Cerro Pietro V Project)。
昆虫類の調査	現地調査を含めて、昆虫 類調査が実施されている (Las Pailas1)。 ただし、昆虫類調査結果 は、エリアの一部のみカ バーしておりエリア全体 の昆虫の多様性を示して いるものではないと結論 づけられている。	ガイドラインにおいて、 昆虫類を調査対象とし、 調査方法についても記載 がある。	昆虫類調査は実施されていない (CASA DIABLO IV Project)。	昆虫類調査は実施されていない(Ngawha Project)。	昆虫類調査は実施されて いない (Cerro Pietro V Project) 。
モニタリング	土壌、植物相及び動物相 (哺乳類、鳥類、爬虫 類、両生類及び魚類)が モニタリング項目として 含まれているが、甲虫類 は対象とはなっていな い。(Las Pailas1)	影響が見込まれる場合 は、モニタリングの実施 が求められる。	貴重な魚類がモニタリングの対象となっている(CASA DIABLO IV Project。	モニタリングに関する記述 はなし(Ngawha Project)。	モニタリングに関する記 述はなし (Cerro Pietro V Project) 。

コスタリカやその他諸外国を含み、地熱開発事業に対してはEIAの実施が法令で義務づけられており、環境調査を実施、予測評価及び対策の提案を行うことが求められている。一方で、米国やニュージーランドでは地熱開発推進地域を絞り込むために上位計画の段階において戦略的環境アセスメント(SEA)が実施されているが、コスタリカ、メキシコ及び日本ではSEAの制度は存在していない(ただし、日本では、EIA制度において、事業の早期段階における環境配慮として、計画段階の環境配慮プロセスが含まれている)。

EIA制度に関しては、EIAの調査範囲や方法を決めるスコーピング段階においては、米国や日本では、EIAの調査方法に対して住民、専門家及び関係機関等のステークホルダーより意見を求める制度となっており、調査方法はステークホルダーの意見が反映されるが、コスタリカでは関係機関や地元住民の意見を求める制度がなく、EIAの調査方法はSETENAが作成するTORに基づき決定されている。また、TORは、各事業に共通したものであり、対象事業の性質や対象事業地の自然環境特性などを考慮して作成されているものではない。

生態系の調査手法及び評価に関しては、全般的に、植生、哺乳類、鳥類、両生類及び 爬虫類が調査の主な対象種として選定されており、コスタリカ及び日本のみで昆虫類が 調査対象に含まれていた。日本では、生態系調査のガイドラインにおいて、昆虫類の調 査手法についても明記されている。評価方法としては、重要な種や注目すべき生息地へ の影響を評価指標としていることが一般的であり、生物相や生物多様性の変化を定量的 に評価する方法が地熱開発のEIAで採用されているケースは確認されていない。

# 第4章 DNA バーコディング手法による生態系調査

# 4.1 DNA バーコーディング

DNAバーコーディングは、生物種の特定の遺伝子に着目して、塩基配列を分析することで生物種を特定する手法であり、これまでは特に研究分野において活用されてきている。生物種の識別には、外部形態をもとに形態学的分類が用いられてきたが、バクテリアやウィルスなどの微生物や微小な生物では分類が不可能であるため、DNAの塩基配列を読み取り識別する手法が普及してきた。近年では、生物の多様性をより正確に把握できるため動植物に対してもDNAバーコーディングを使用する動きが広がっている。DNAバーコードを使用した研究や調査には、特定のエリアの生物多様性の研究、特定の種に焦点を当てた研究(日本のコメツキムシ、ゾウムシ等)、病害虫の研究など様々なものがある。また、水域生態系に関する生態系調査に関しては、水中に遊離しているDNA断片を分析する環境DNA手法による調査やモニタリングなどにもDNAバーコーディングが利用されている。

## 4.2 EIA の生態系調査における DNA バーコーディング

EIAにおける一般的な生態系調査手法は、生態系全体を把握する調査手法の確立が困難であることより、哺乳類や鳥類などの生態系の上位種や希少種など、特定の種に着目して調査・評価が実施されている。そのため、既に生態系における役割や機能が解明されている種やリスト化されている種(国の保護種リストやIUCNのレッドブックに記載されている種)が対象であり、種の同定は専門家により行われている。DNAバーコーディングは、遺伝子を分析することで正確に種を同定することが可能な手法であるものの、DNAバーコーディング手法を利用する生態系調査はEIA手法としてはまだ発展途上の段階であり、EIAにおける調査手法として採用されている事例は確認されていない。

一方、生態系の変化をモニタリングする目的で、DNAバーコーディング手法を用いた 生態系調査を実施している事例(EIAの調査外)が以下のとおり報告されている。

# (1) カナダの New Gold 鉱山閉山プログラムにおける生態系影響評価のパイロット調査

カナダのブリティッシュコロンビア州にあるNew Gold鉱山の閉山後の復旧 (Restoration) の効果を検証することを目的として、DNAバーコーディング手法を用いて生態系調査を実施した例<sup>12</sup>がある。この事例では、閉山後のサイトにおいて、鉱山開発を行った後に復旧したサイト2箇所とベースラインとなる未開発サイト2箇所の合計4 箇所において、マレーズトラップにより昆虫を採集し、採集した昆虫をDNA分析を実施

 $<sup>^{12}</sup>$  Expediting Impact Assessments with DNA Barcoding: Pilot Study at New Gold's New Afton Site, Biodiversity Institute of Ontario

## し比較検討を行った。

各トラップで2013年6月~9月においてマレーズトラップで採集したサンプルを週1回の頻度で回収した。そのうち、隔週のサンプルを選出し、合計32サンプル (8サンプル/トラップ x 4トラップ) をDNA分析した。トラップで採集された合計51,264固体の86.9%にあたる44,528固体のDNAのシークエンスに成功し、そのうち42,063固体に対してBINが付与されている。このDNAの分析データを基に、トラップ間における種の重複度合い(Species overlap)、トラップにおける種の豊かさ(Species richness)を数値化することで、地点間の比較検討が行われた。考察では、鉱山開発後に復旧したサイトとベースラインのサイトの種の豊かさが同レベルになっていたことより、復旧対策が成功したものと評価している。なお、ここで種の豊かさ(Species Richness)とは種数のことを意味する。

## (2) カナダの国立公園のマレーズプログラム

陸上生態系の群集構造を解析することを目的としたDNAバーコーディング手法を使用した代表的なプロジェクトとして、「カナダの国立公園のマレーズプログラム」<sup>13</sup>がある。このプロジェクトの目的は、カナダの国立公園に生息する昆虫の生物多様性をマッピングし、長期の変化における昆虫への影響を分析するのに必要なベースラインデータを構築することであり、2012~2015年にかけて、カナダ政府の基金によりGuelph大学により実施された。本プロジェクトでは、カナダの国立公園43箇所においてマレーズトラップを使用して合計725,000個体以上をサンプルとして採集し、619,000個体以上のDNAの分析を実施してる。このプロジェクトの結果として、カナダの各国立公園における昆虫の生物多様性のベースラインが構築され、今後の国立公園内の生態系の管理プログラムの構築に貢献できるものであるとされている。なお、本プロジェクトはGlobal Malaise Program<sup>14</sup>同様、Guelph大学主導のプロジェクトの一環である。

## 4.3 マレーズトラップ概要

マレーズトラップには、図4.1に示すテント型、全方向型などがあるが、一般的な性質は表4.1のとおりである<sup>15</sup>。「環境変化により採集効率が大きく影響を受ける」点は、採集方法としてはデメリットだが、言い換えれば、開発などの環境変化の推移の観察に適しているといえる。なお、環境変化が採集効率に影響を及ぼすことは、ほとんどのトラップに共通の性質であるが、「大きく影響を受ける」点がマレーズトラップの特筆すべき点である。

<sup>13</sup> http://biodiversitygenomics.net/projects/cnp/

http://biodiversitygenomics.net/projects/gmp/

 $<sup>^{15}</sup>$  Inventory and monitoring toolbox: invertebrates, Department of Conservation, Te Papa Actawhai, New Zealand

また、マレーズトラップでは、トラップのネット部分に衝突した昆虫類が、最終的に上部の1つの瓶に落下してそこでアルコール固定され採集されるという構造のため、大量に採集された場合は、積み重なった昆虫同士が圧縮されるなどで標本が損傷しやすい面もある。このことは、人による同定を困難にする点でデメリットに挙げられるが、DNAバーコーディング手法を用いた同定では特にデメリットとならない。

マレーズトラップは、対象分類群に合わせて設置場所を決定する必要がある。通常は 多くの昆虫が移動する林縁や川べりの空き地、山道の脇などに設置する。森林の薄暗い 場所や風が強い場所では採集効率が下がるとされる。

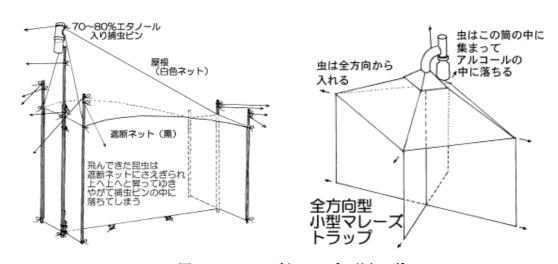


図4.1 マレーズトラップの仕組み16

## 表 4.1 マレーズトラップの性質(メリット・デメリット)

表 4.1 マレーストラックの性質(メリット・アメリット)				
メリット	デメリット			
<ul><li>・設置が簡易であり、継続的に使用することができる。</li><li>・昆虫の季節的な変化を定量的に計ることができる。</li><li>・多様で大量の飛翔性昆虫を採集できる。</li></ul>	・環境変化により採集効率が大きく影響を受ける。 ・主に微小~小型の飛翔性昆虫類を無作為に大量に採集する仕組みのトラップのため、特定の種や保全すべき種などを対象する調査には向かない(微小な昆虫類は研究途上で種名も付いておらず、保全すべき種にしていれるほど生態が明らかになっていないものが多い)。 ・テント型のため、開けた場所では強風の影響を受けやすい(転倒の危険)。			

<sup>16</sup> 山岸健三 (2006) . 昆虫採集と標本整理

http://www-agr.meijo-u.ac.jp/labs/nn006/entomol/manufacture-specimen.pdf



最上部の採集瓶

マレーズトラップは、簡易かつ効率的に多様で大量の飛翔性昆虫類を採集でき、これらの種構成、個体数の増減の変化を定量的に測る手法として有効と考えられる。ただし、設置場所や設置向きにより、採集率は大きく異なるので設置の際は留意が必要である。開発の影響を追うためには、トラップ位置は固定される必要があり開発エリア拡大などで移動されることのないよう、あらかじめ開発計画を確認する必要がある、。

なお、マレーズトラップで採集される昆虫類は、トラップ周辺を飛翔する際に、トラップのネット部に衝突し、その後上部の瓶に捕集されるハエ類やハチ類などの小型の種が主であり、寄生バエ類やキノコバエ類、寄生バチ類など、生態が解明されておらず種名もついていない未知のグループに属する種も多い。パイロット調査結果でも、そのような未知の種が採集個体の多くを占めた。昆虫類の研究は大型の生物に比べて未知の部分が多いが、マレーズトラップで採集されるような小型のハエ類、ハチ類などは、特に研究者があまりおらず、微小で分かりにくいものが多いことから、特に研究は途上段階であり、貴重種や保全種に選定されるような種が採集されることは少ないと考えられる。

IUCNのコスタリカにおけるレッドリスト指定種<sup>17</sup>では、昆虫類では、チョウ目及びトンボ目等が選定されているが、ハエ目及びハチ目は指定されていない。

45

<sup>17</sup> IUCN: http://www.iucnredlist.org/search

# 第 5 章 <u>パイロットプロジェクトにおける DNA 分析及び分析結果概</u> <u>要</u>

## 5.1 調査目的

EIAにおける生態系への影響評価の精度の向上について、昆虫を用いた DNA バーコーディングの調査手法を確立することができれば、より簡易な方法として従来の手法を代替したり、従来の調査に追加して実施したりすることで評価の精度を向上できる可能性がある。このため、DNA バーコーディング手法の有効性の確認を行うことを目的として、ラス・パイラス II サイトにおいてパイロットプロジェクトを実施した。

なお、この調査は、GDFCF に委託することにより実施したものである。GDFCF が作成したパイロット調査報告書は、添付資料9:パイロット調査に関するファイナルレポートの通りである。

## 5.2 調査方法

## (1) 調査対象地

パイロットプロジェクトは、ラス・パイラス II 地熱開発地区の PL12 プラットフォーム (以下、PL12) を対象として実施し、ACG 及び GDFCF が 2013 年 9 月より PL12 周辺 9 地 点にマレーズトラップを設置して採集し保管された昆虫類を DNA バーコーディング分析の対象サンプルとした。なお、DNA バーコーディング分析は、この 9 ヶ所のうち、No.5 及びNo.8 を除く 7 ヶ所で採集された昆虫類を対象に実施した。

PL12 周辺は、周辺を成長段階の熱帯乾燥林に囲まれた森林環境である。マレーズトラップ設置時期は PL12 の工事前の 2013 年 9 月、採集開始は工事開始直後の 2013 年 11 月下旬(雨季 終盤) $^{18}$ から、PL12 における工事がほぼ終了した 2014 年 11 月中旬までの約 1 年間である(工事期間中の調査)。

P112 の位置、PL12 周辺の様子を図 5.1~図 5.3 に示す。

<sup>18</sup> 実際は各トラップの設置時期は多少異なり、一部のトラップでは 2013 年 10 月よりサンプルを採集をしているが、全てのトラップにおいて採集可能となったのは 2013 年 11 月 21 日の週である。

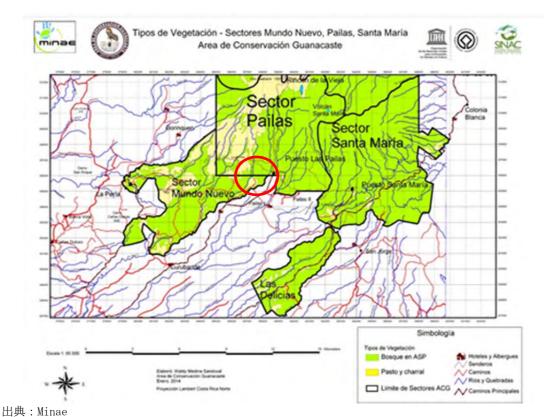


図 5.1 ラスパイラス II 地熱開発地区の位置図 (赤枠)



図 5.2 PL12 周辺環境



図 5.3 ラスパイラス II, PL12 周辺の様子

写真:Luciano Capelli

# (2) DNA バーコーディング分析対象サンプルの選定

## マレーズトラップの設置位置

PL12 周辺に設置したマレーズトラップは、PL12 における開発活動(掘削等)やアクセス道路の建設による影響を把握するため、改変されるエリアの端を基準点 (0m) として、森林内部に 50m、150mに入った地点に 2 点を設置し、この 3 点を 1 セットとして、合計 3 セットのラインとした。

マレーズトラップを設置した9地点は、図5.4及び表5.1の通りである。



出典: Google earth に加筆

## 設置環境

No.1、6、9: PL12 から 150m 離れた森林深部環境 (ベースラインデータとして用いる)

No.2、5、7: PL12 から 50m 離れた森林環境

No.3: PL12 に隣接する林縁 (PL12 よりやや高い場所。付近に貯水池)

No.4: PL12 に隣接する林縁 (PL12 より高い場所)

No.7:アクセス道路から10m程度の森林環境

マレーズトラップ設置位置の変更

PL12 サイト拡張に伴い、No.4 の位置が移動した。

## 分析対象

DNA バーコーディング分析は、9 ヶ所のうち、No.5 及びNo.8 を除く 7 ヶ所で採集された 昆虫類を対象に実施した。

図 5.4 マレーズトラップの配置 (No.1~No.9)

次 5.1 マレーハトノラノ 飲色					
		マレーズトラップの番号			
	ライン	0m (基準点)	50m	150m	
No. 1-3	PL12 に隣接する林縁から森林 深部へ伸びるライン	No. 3	No. 2	No. 1	
No. 4-6	PL12 に隣接する林縁から森林 深部へ伸びるライン	No. 4	No. 5	No. 6	
No. 7—9	PL12 へ続くアクセス道路に隣 接する林縁から森林深部へ伸び るライン	No. 7	No. 8	No. 9	

表 5.1 マレーズトラップ設置

PL12 周辺に設置された 9 地点のマレーズトラップのうち、表 5.2 の黄色ハッチ部分 (No.5 及び No.8 を除く 7 ヶ所) で採集された昆虫類を DNA バーコーディング分析対象 とした。

※本調査当初は、各ラインの 0mと 150mの計 6 地点を分析対象として設定していたが、途中、中間地点の影響を把握する必要があるとされたため、No. 2 を追加した。



出典: GDFCF

図 5.5 2014 年 4 月における PL12 の状況及びマレーズトラップNo.3、No.4 設置位置



出典: GDFCF

2013年9月26日におけるトラップ設置の様子

# サンプル対象期間及びサンプル数

DNA バーコーディングの対象となる昆虫は、2013 年 11 月 21 日~2014 年 11 月 21 日の間に PL12 の 7 つのトラップで週ごとに回収された 52 週分のサンプル(7x 52 = 364)とした。実際は各トラップの設置時期は多少異なり、一部のトラップでは 2013 年 10 月よりサンプルを採集をしているが、全てのトラップにおいて採集可能となったのは 2013 年 11 月 21 日の週であった。そのため、2013 年 11 月 21 日の週以前に採集されたサンプルについては、参考として DNA 分析を実施しているものの、データ分析の観点では考慮されていない。

## サンプルの分析機関

昆虫サンプルは、カナダの Guelph 大学の BIO (Biodiversity Institute of Ontario) に送付し、DNA 分析を実施した。

## 5.3 開発スケジュール等

マレーズトラップ設置時期は、各トラップで多少異なるが、PL12の工事前の2013年9月より11月にかけて設置した。パイロットプロジェクトにおいて分析対象としたサンプルは工事開始直後の2013年11月下旬(雨季終盤)から、PL12における工事がほぼ終了した2014年11月中旬までの約1年間に採集されたサンプルである。PL12における

地熱開発は、2014年に下記方法で掘削井戸(#72)1つを掘削したものである。開発の 状況は表 5.2 に示すとおりである。

- -2014年2月3日~25日: PL12 における作業員による掘削装置や補助装置の設置
- -2014年2月25日~6月31日: PGPII-72の穿孔
- -2014 年 8 月 1 日~14 日: PL12 における解体作業および PL13 への装置の移動

表 5.2 2014-2016 年における建設活動及び調査状況

年	月	主な建設活動	パイロットプロジェクトにおけ る採集期間(矢印)		
2013年	9月		トラップ設置(1 部)		
	10 月	10/23 PL12 の伐採/整地			
	11 月	PL12 の伐採/整地	11/21:全てのトラップ を設置・採集開始		
	12月				
2014年	1月	1/21 PL12の整地			
	2月	2/3~25 PL12 における作業員による 掘削装置や補助装置の設置			
	2月~7月	2/25~7/31 PGPII-72 の穿孔			
	8月	8/1~14 PL12 における解体作業およ び PL13 への装置の移動			
	9月	PGP-72 の生産テスト: 9/19 (21 時間連続)			
	10 月	PGP-72 のテスト: 10/28 (少なくとも 11 日間連続)			
※浦结1 /	11月		11/13 本 SAPI 分採集終了		

※連続した開発、採集は行われているが、本 SAPI に関連するスケジュールのみ記載した。



2013年10月7日のPL12アクセス道路伐採



2013年11月13日のPL12の状況







2013年12月12日のPL12の状況

# 5.4 調査結果

# (1) DNA バーコーディング分析結果

DNAバーコーディングの対象となる昆虫として、2013年11月21日~2014年11月21日の間にPL12の7つのトラップで週毎に回収された52週分のサンプリングボトルに採集された昆虫のサンプル(7x 52 =364)のDNAバーコード分析の結果を表5.3に示す。

全地点で採集されたサンプルの個体数は144,994個体であり、そのうちDNAのシークエンス(塩基配列を読むこと)に成功した昆虫のサンプルは134,828個体であった。134,828個体のうちBIN (Barcode Index Number)<sup>19</sup>が付与されたものは131,184個体であった。DNA分析では、昆虫サンプルの塩基配列が解析されてその塩基配列のパターン毎にBINが付与されるため、BINはDNA分析レベルにおいて塩基配列に基づき分類される種を意味するものとしている(異なる塩基配列を有していることは遺伝子レベルで異なる種として考えられるため)。そのため、BINの数=種の数、とみなすこととする。

DNA分析の結果、全サンプル数においてBIN数(種数)の合計は11,385であった。DNA分析の過程でサンプルが混じるなどしてコンタミを起した数は、全部で1581サンプルであった。

なお、参考情報として、DNAバーコーディングのデータベースを管理している BOLD (Barcode of Life Data System)  $^{20}$ において登録されていない新たなBIN数 (ユニークBIN) は6,244であった。これは、本調査でDNA分析を実施したサンプルの中には、これまでDNAバーコーディングのデータベースに登録されていない新たな種が6,244種いたことを意味している。

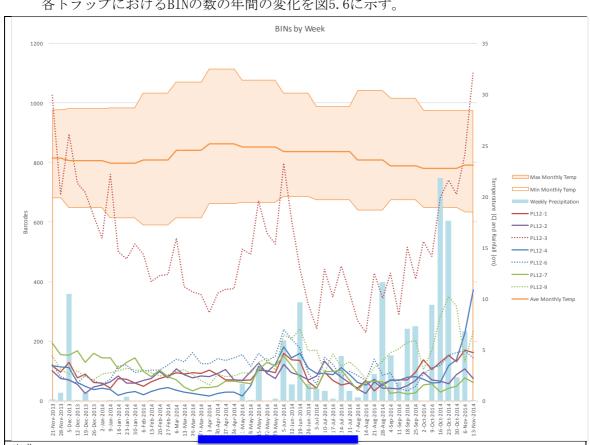
<sup>&</sup>lt;sup>19</sup> BIN は種名とは別にバーコード塩基配列から認識されたクラスターに一意な番号をつけ、暫定的な分類情報として用いられている。多くの種の配列は1つのBINと合致する(短いもの、コンタミしたものは含まず)。

<sup>20</sup> http://www.barcodinglife.org/

			o. o Dimi	7 1 4 7 73 VI 12 WHOLK			
地点番号	個体数		BIN が付与 された個体 <sup>1</sup>	全個体数 /BIN(%)	BINの数 <sup>2</sup>	ユニーク BIN³	コンタミ
PL12-1	9,829	9, 172	8,898	90. 5	1,836	225	108
PL12-2	8, 488	7, 724	7, 535	88.8	1, 556	145	42
PL12-3	80, 124	74, 520	72, 394	90.4	8,650	3, 286	900
PL12-4	7,868	7, 251	7, 112	90.4	1,856	253	78
PL12-6	13, 145	12, 314	12, 044	91.6	2, 186	282	106
PL12-7	9,825	9, 291	9, 110	92. 7	1,698	181	113
PL12-9	15, 715	14, 556	14, 091	89. 7	2, 523	466	234
合計	144, 994	134, 828	131, 184	90. 5	11, 385	6, 244	1, 581

表 5.3 DNA バーコーディング分析の結果

<sup>4</sup> 他の DNA サンプルが混入したり、昆虫のサンプル自体に他の昆虫の DNA が混じっていたりしたもの



各トラップにおけるBINの数の年間の変化を図5.6に示す。

出典: GDFCF Report

図 5.6 各トラップにおける BIN の変化(図下の青色のバーは、PL12 における掘削活動の 実施期間を示している)

<sup>「</sup>サンプルの DNA 分析が成功し、塩基配列が解析され、その塩基配列をもとに BIN が付与された個体 <sup>2</sup>DNA 分析の結果、同じ塩基配列を有するサンプルは同じ BIN が付与される。BIN の数は、塩基配列のパタ ーンの数と同じとなり、また、DNA 分析レベルでは種数を意味する。

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>DNA バーコーディングのデータベースを管理している BOLD において登録されていない新たな BIN(これ まで DNA のデータベースにはない新たな種と同じ意味)

## (2) 地点間の比較:森林内部の No. 1, 6 及びNo.9

PL12のプラットフォーム及びアクセス道路から森林内部 150mに設置した No. 1、6 及び 9 の 3 つのトラップに関して、地点間での比較を整理した。この 150m地点は、プラットフォーム開発及びアクセス道路による影響を受けないベースラインとなる地点として設定されたものである。

各地点における週ごとの BIN の数の変化を図 5.7 に示す。 掘削活動が実施された 2 月~8 月においても特有の変化は示されておらず、プラットフォーム及びアクセス道路 による影響はあまり受けていないとみられる。また、年間を通して、乾季(1 月~5 月)の BIN の数はほぼ同じレベルで、雨季が始まる 5 月に増加しており、通常の昆虫の季節変化が反映されていることが確認できた。また、参考として、影響が大きいと思われる 伐採作業は、11 月中旬までにはほぼ完了したため伐採時期に採集されたサンプルのデータはグラフには入っていないが、No.1 及び No.6 のみ伐採時期と重なる 10 月 13 日の週からサンプルが採集されている。そのデータでは伐採時期に No.1 及び No,6 が影響を受けていることを示すような変動は見られていない。

当該エリアの森林及び昆虫の生態に精通している GDFCF の Dr. Janzen 氏の考察によると、パイロット調査における分析結果からは、季節変動のみを示したことから、開発地区から 150m 離れた距離においては開発による影響を受けていないことが示唆された。

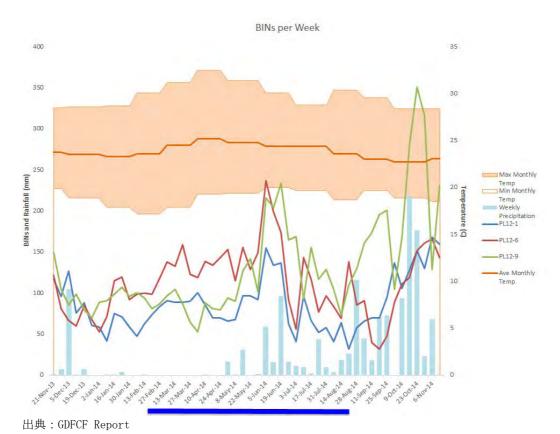
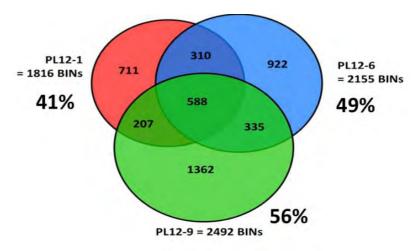


図 5.7 №1, 6 及び 9 における BIN の変化 (図下の青色のバーは、PL12 における掘削活動の実施期間を示している)

また、調査範囲全体に生息する昆虫類種のどの程度が採集できているのか確認するため、各地点間におけるBIN (種)の重複度合いを示した。図 5.8 が重複度合いを示した図である。No.1,6及び9地点で特定された種数、1816(No,1),2155 (No.6)及び2492 (No.9)のうち、588 種 (13%) が全 3 地点において共通する種であることが確認された。



出典:GDFCF Report

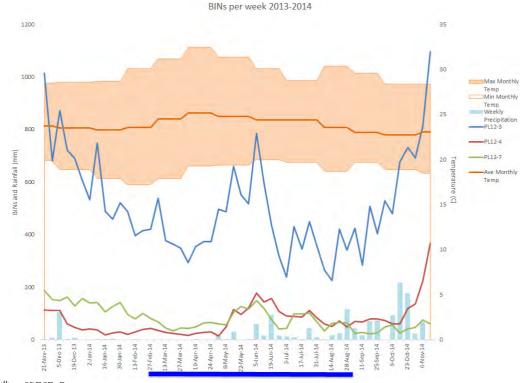
図 5.8 No.1, 6 及び 9 における BIN の重複度合い

# (3) 地点間の比較: No. No. 3, 4 及びNo.7

次に、PL12のプラットフォーム及びアクセス道路の林縁部分(基準点:0m、10m)に設置したNo.3、4及び7の3つのトラップに関して、地点間での比較を整理した。

各地点における週ごとの BIN の数の変化を図 5.9 に示す。この結果より、No.3 のみが全期間を通してその他の地点と比較して採集された昆虫の個体数が非常に多くなっていることが確認された。共にプラットフォームの林縁部分に設置されているにも関らずNo.3 及び 4 の結果が大きく異なった理由としては、No.4 のマレーズトラップの設置方向が異なっていたことであると考えられる。マレーズトラップは、テント状に張ったネットの上部に設置されたボトルに昆虫を呼び込み捕獲する仕組みとなっており、No.3 のマレーズトラップは、通常通り昆虫回収ボトルが太陽の光が入り易い方向に設置されており昆虫が集まりやすかったが、No.4 のボトルは林内の日陰の方向に設置されていたため昆虫が入りにくかったと考えられる。

No.7は、アクセス道路脇に設置されたトラップであるが、No.4と同様にNo.3のような大きな変化はみられず、林内のNo.1,6及び9と類似の変化となった。No.7は工事車両による粉じんにより、周辺の植物の葉が影響を受けており(葉上に粉塵が蓄積)、トラップは樹冠下の日陰になる場所に設置されていた。道路粉じんにより植物食の昆虫類(foliage feeding insects)は大きく影響は受けたものの、その他の飛翔性昆虫は引き続きトラップに入ってきたものと考えられる。



出典:GDFCF Report

# 図 5.9 No. 3, 4 及び 7 における BIN の変化(図下の青色のバーは、PL12 における掘削活動の実施期間を示す。)

また、各地点間 (No. 3、4 及び7) における種 (BIN) の重複度合いについて確認した。 図 5.10 が重複度合いを示した図である。No. 4 で採集された種数の約 72%、No. 7 で確認された種数の約 61%が No. 3 で確認されている。全体の約半数が Singleton BIN であることを考えると、重なりは大きいと考えられる。

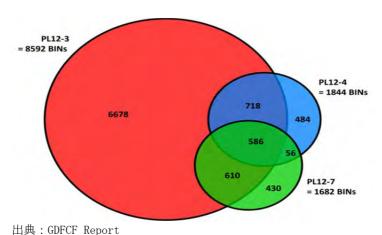
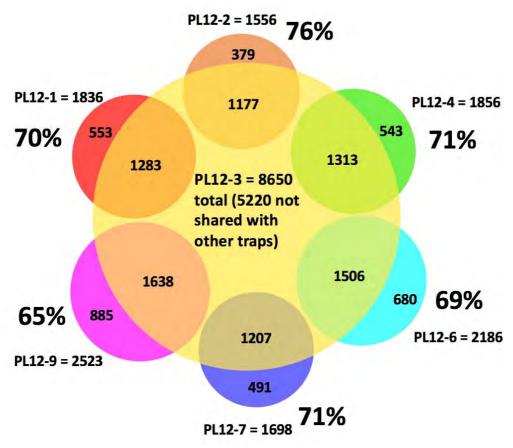


図 5.10 No.3, 4 及び 7 における BIN の重複度合い

#### (4) No.3 とその他 6 地点の比較

次に、採集種数及び採集個体数が膨大な結果となった No. 3 とその他 6 地点のトラップを比較するため、図 5.11 により重複度合いを確認した。6 地点で採集された昆虫の約70%は No. 3 で確認されていたが、No. 3 で採集された 5,220 種については他のトラップでは確認されていない種であった。

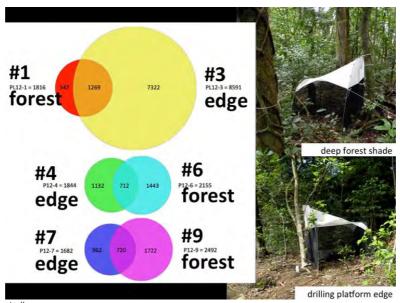


出典:GDFCF Report

図 5.11 No.1, 2, 3, 4, 7 及び 9 における BIN の重複度合い

#### (5) ラインごとの比較 (No. 1-3, No. 4-6, No. 7-9)

No. 1-3, No. 4-6 及び No. 7-9 のラインごとについて比較を行った(図 5. 12)。 No. 4 及び No. 7 は種の構成及び各週における BIN の数が林内(No. 6, 9)と同様の結果 となった。No. 3 は前述のとおりである。



出典: GDFCF Report

図 5.12 各ラインにおける BIN の重複度合い

#### 5.5 生態系専門家による所感及び今後の提案

本調査エリアの生態系に精通し、マレーズトラップを用いた昆虫採集の経験を豊富に有するパイロット調査の現地再委託先である GDFCF による本調査の所感及び提言は以下の通りである。

#### (1) 所感

- 1. 非常に多様性に富んだ熱帯昆虫群に対し、マレーズトラップを用いたバイオモニタ リングシステムを適用することで、地熱開発に伴う昆虫相の多様性の影響を把握し、 生物多様性への影響の指標として活用することが可能となる。
- 2. マレーズトラップを用いて多くの飛翔性昆虫を採集することで、地熱開発の影響を 受けやすい生態系をモニタリングできる。DNA バーコーディング手法によって採集 された種の識別が迅速・安価・正確に可能となる。
- 3. DNA バーコーディング手法を用いた生態系モニタリングの技術に関して、現場技術者や地熱発電関係者が理解することにより、採集された昆虫類の分析が技術的に問題なく行うことができる。
- 4. 道路や橋の建設や従来の EIA における評価と同様、コストはかかるものの、DNA バーコーディング手法による評価、分析は、地熱発電プロジェクトにおける有用なコンポーネントとなりうる。
- 5. 土木工事が開始される少なくとも 1 年前にはマレーズトラップを用いベースライン データを入手することが望ましい。季節による昆虫群集の変動を考慮するために 1 年間は必要となる。しかし、本プロジェクトの場合、事前のバイオモニタリングを

- 1 年間実施することができなかったため、プロジェクトサイトから最も離れている マレーズトラップの分析結果を開発前のベースラインとして考えられる。
- 6. 技術者や計画者といった地熱開発の関係者が生態学者や生物学者と協働することで、 地熱開発の影響を最小化することができる。包括的なバイオモニタリングを通じて、 生物多様性や生態系、景観への影響等を把握できる。
- 7. 政府機関の ACG、電力セクターの ICE、環境保護 NGO の GDFCF が緊密に協力することで、長期にわたるバイオモニタリングの新しい手法を模索することができる。
- 8. ICE と ACG、GDFCF という異なる機関が、長期的なプロジェクトを通じ必要な調整を加えながらも協働し成果を挙げることができた。
- 9. 2013 年 10 月から 2014 年 10 月に地熱プラットフォーム (面積 1.5ha) が建設された ものの、PL12 におけるマレーズトラップを用いたバイオモニタリングの結果では、 地熱開発に伴う伐採による影響を除き、地熱開発の活動により周辺の昆虫類が影響 を受けていることは示唆されなかった。
- 10. 個々の森林によって状況は異なるが、重要で影響を受けやすい森林に対して、どの 程度の規模でどの程度離れた地熱プラットフォームが許容可能なのか、を考えてい く必要がある。

#### (2) 提言

- A. PL12におけるバイオモニタリングを少なくとも2年間継続する必要がある(3年が1サイクルと考えられるため)。No.1からNo.3のマレーズトラップも長期的にモニタリングを継続することで、地熱開発による生物多様性への影響を把握するべきである。これにより、ハリケーンや気候変動等の予期しない影響への準備を行うことにもつながる。昆虫類のモニタリング(マレーズトラップを用いたDNAバーコーディング手法)には費用がかかるが、年々費用は安価になってきている。
- B. 将来的に地熱開発を行う場所(ボリンケン等)も含め、ベースラインデータを可能な限り早急に把握する必要がある。掘削が始まる前に、年間のベースデータを入手することが望ましい。
- C. 地熱開発に係る悪影響を防ぐためのガイドラインを策定、普及する必要がある。それにより、本プロジェクトの関係者の知見も活用し、再生可能エネルギーを推進する。コスタリカに限らず中央アメリカへも利益をもたらすことができ、名古屋議定書やパリ協定にも沿った形で公正な利益分配を行うべきである。

# 第6章 <u>パイロットプロジェクトにおける地熱開発の影響評価分析</u> 手法の検討

EIA における生態系への影響評価の精度の向上について、DNA バーコーディング手法の 有効性を検討するため、パイロットプロジェクトで実施した昆虫類の DNA バーコーディン グ分析結果を用いて、PL12 の地熱開発に対する短期的な影響分析を実施した。

地熱開発の影響評価分析手法の検討にあたっては、「種の多様性比較のための指数の問題点」(生物科学、2002 年第 53 巻 4 号、伊藤ら)や、「Biological Diveristy frontiers in measurement and assessment」(Oxford University Press, Anne E. Magurran ら、2013)等の国内外の文献に示される手法を参考とした。

#### 6.1 想定される環境影響

一般的に、地熱開発で懸念される環境影響は水質、大気質(硫化水素)や騒音等を含めて様々であるが、今回はアクセス道路及びプラットフォームの建設に伴う影響の分析を行う。PL12のような国立公園にも近い森林環境における地熱開発では、特に下記のような影響が想定される。表 6.1 に環境影響の概要を示すとともに、マレーズトラップを設置した地点別に、想定される影響の大小等を整理した。

PI 12 PL12 PL12 PI 12 PI 12 PL12 -4 -3 道路脇 影響 影響の概要 **森林深部** 林緑 (PL12から150m) (PL12から0m) (約3m) 森林伐採による入射量の増加による昆虫への影響。 \* 林縁(0m)は特に変化が大きいと考えられる。 短期的 日照 小一中 大 夜間照明 夜間照明による影響。 無 中 無一小 \* 各トラップの設置場所は照明が設置されるプラット ームより高く、影響は多少軽減されていると考え 伐採で風通しがよくなり以前より乾燥した環境へ変化 することによる昆虫への影響。 乾燥(風) 無 大 中 粉雕 丁事活動・車両の移動により発生する粉魔による昆 無 1/1 中一大 \* 道路脇(PL12-7)の影響が特に大きいと考えられる。 掘削活動(噴気試験)により発生する可能性のある H2S 不明 不明 不明 H2Sの大気放出による昆虫への影響。 \*本調査期間における風向き情報は不明 空気振動 掘削活動(噴気試験)及び車両の移動等により発生 中 713 大 する振動による昆虫への影響。特に掘削活動時期の 騒音が大きい。 土壌汚染 油の漏洩や掘削くず等による土壌汚染による間接的 無 無 濁水 掘削活動により発生する濁水の影響。 無 無 長中期的 植生 日射、乾燥による植生変化による影響。 無 大 大 伐採等により安定した環境が変化し新たに異なる生態の昆虫(外来種・移入種含む)が侵入する影響。 外来種 無 大 大 貯水池(PL12-3東側)新設による影響。 貯水池 無 小一中 無 無 (水域環境を好む昆虫類相へ変化する可能性)

表 6.1 想定される影響の概要

※EIA における一般的な環境影響を示したもの。

#### 6.2 影響分析手法

#### (1) 影響分析手法の概要

昆虫の影響分析は、雨季・乾季等の自然条件を勘案して1年程度行い、これを1サイクルとするのが一般的である。そのため、影響の分析には複数年を要するが、ここでは、今回の調査期間である1年間(52週間)の各週のデータを用いて短期間の影響を対象とした。この影響分析は、昆虫類 DNA バーコーディングの結果を活用した客観的な評価となるように、目レベルの分析から始め、1年の経時的な個体数や種数、生物多様性指標の変化から、影響の可能性のある地点、目を抽出した上で、抽出された目の中で検討が可能な科について、さらに詳細に影響の分析を行ったものである。影響分析のフローは図 6.1 に示すとおりである。

#### 1. 全データの整理(目レベル)

- ・全データの種数・個体数、種数・個体数の累積数の整理
- ・ 目別の種数・個体数の整理
- ・週別の種数・個体数の整理
- ・ 希薄化曲線の作成

# 2. 地点別のデータ整理(目レベル)

- ・ 地点別の個体数・種数、多様度指数、種数の累積数の整理
- ・ 地点別・目別・週別の個体数・種数の整理
- ・ 希薄化曲線の作成
- ・ 相対種密度ランク曲線の作成



# 3. 地熱開発プラットフォーム建設の影響の可能性の検討(目レベル)

- ・ 各地点の多様性に関する指標の推移から、変化の傾向の確認
- ・ 影響の可能性のある地点の抽出
- ・ 抽出した地点につき、影響の可能性のある目の抽出



#### 4. 地熱開発プラットフォーム建設の影響の可能性の検討(科レベル)

- ・対象とする地点で抽出された目のうち、総個体数 100 以上の科の抽出
- ・全地点につき、抽出した科の種数、週別の個体数・種数の整理
- ・抽出した科の特徴の整理
- ・上記を踏まえ、事業の影響の可能性の検討

#### 図 6.1 影響分析のフロー

#### (2) 評価項目別の手法の概要

全体・地点別の個体数・種数、生物多様性指数、各種グラフ等のデータ整理はエクセルを利用して集計した。ここで、分析の対象としたのは、DNA バーコーディング分析により BIN が付与されたものとした。

生物多様性指数としては、シャノン・ウィナー (Shannon-Wiener、以下「H'」という) 及びシンプソン (Simpson、以下「D」という) の多様度指数を用いた。

H'は、群集の中の種の数(Richness)と各種の均等性(Evenness)とを結合した指標であり、全ての種が同じ個体数である場合に最大となり、最大値は底(Base)を 2 とした場合には、 $\log_2$ S(S は種の数)で表される。D の値は、種の遭遇する確率を意味し、多様性が大きいほど、小さい値をとるため、ここでは 1 - D の値を用いた。H'はサンプル数への依存性があり、D についてはそれが小さいことが知られている。

H'及びDの算出式は以下に示すとおりである。

[シャノン・ウィナーの式(H')]

$$H' = -\sum_{i=1}^{s} Pi \log_2 Pi = -\sum_{i=1}^{s} \frac{ni}{N} \log_2 \frac{ni}{N}$$
  $0 \le H'$ 

S. 種数: ni,i番目の種の個体数: N. 全個体数

[シンプソンの式]

1- D = 1 - 
$$\sum_{i=1}^{S} Pi^2 = 1 - \sum_{i=1}^{S} \left(\frac{ni}{N}\right)^2$$
  $0 \le 1 - \lambda < 1$ 

S. 種数: ni.i番目の種の個体数: N. 全個体数

希薄化曲線 (rarefaction curve) については、個体数 (サンプル数) と種数の関係 から作成した。

相対種密度ランク曲線 (Species Rank in abundance- Relative Species Abundanceの関係) は、x 軸に順位 (出現数の多い順)、y 軸に出現数をプロットして作成した。

種数は、専門的には種密度 (Species density) が用いられれ、単位面積やトラップ あたりの種数を表すが、ここでは平易に種数 (Number of Species)と表記する。

また、個体数はAbundanceとも表現される場合もあるが、ここでは個体数 (Number of BINs や Number of Samples) 等と表記する。

#### (3) 評価にあたっての留意点

一般に影響の分析を行う場合、ベースラインデータ(1年)を含む複数年の結果を利用されているが、今回はベースラインデータが得られていないため、開発初期の1年を対象として、52週間の生物多様性指標(種数、個体数、その他の指標)の推移を検討することで影響の分析を実施している。このため、後述するように今後十分な検証が必要である。

マレーズトラップは、飛翔性の、特に小型の飛翔性昆虫類を採集するためのトラップである。EIA調査で使用するには、開発による変化を把握できるように設置する必要があるため設置方法が多少異なる可能性もあるが、一般的には、飛翔性昆虫類を採集しやすいよう、昆虫類の移動経路に設置し、方向は、三角型では捕虫部分(一番高い方)を真南に向けて設置するのが原則である。これは、ネットに衝突してトラップ内に入った昆虫は明るい上部を目指して移動するため、トラップを下から見た時に、捕虫器が太陽光の方向になるように設置すると、最上に仕掛けた採集瓶への落下を導きやすいためである。森林内でマレーズトラップを設置する場合は、昆虫の飛翔経路になるような、比較的明るく風通しが良いところを選ぶ。また、下草が生えている場所では、森林、草地に関わらず、広範囲に下草の刈り取りが必要である。

このため、EIA において DNA バーコーディング手法と組み合わせて使用し、DNA 分析 結果を解析する際は、採集される昆虫類は基本的に小型の飛翔性昆虫類である点、マレーズトラップが設置環境や光の向きに影響されやすい点を理解しておくことが必要である。

特に開発事業の環境への影響を分析する場合、開発前後で光の射す向きが変化する可能性やマレーズトラップが極端に劣化する可能性があることへの留意が必要となる。

#### 6.3 評価結果

今回の DNA バーコーディング分析結果を用いた、環境への影響分析を実施した結果は以下に示すとおりである。

# (1) 環境への影響分析に用いた DNA バーコーディングデータの概要

全サンプル数は 136,506 であり、BIN が付与された種数は 11,216、個体数は 123,377 である。エラー率は約 $7\sim10\%$ であり、地点間に大きな違いはない。

図 6.2 に示すように、マレーズトラップで採集され DNA バーコーディング分析で同定された昆虫類は、6 章でも記載したとおり、ハエ目、ハチ目、コウチュウ目、チョウ目、カメムシ目が、種数及び個体数の両方で優占した。このような優占率は、これら目がマレーズトラップが対象とする昆虫類の属する目だからであり、マレーズトラップの採集結果として一般的である。

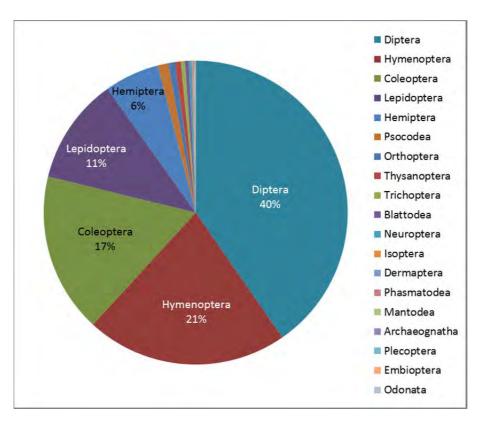


図 6.2(1) 年間の目別種構成

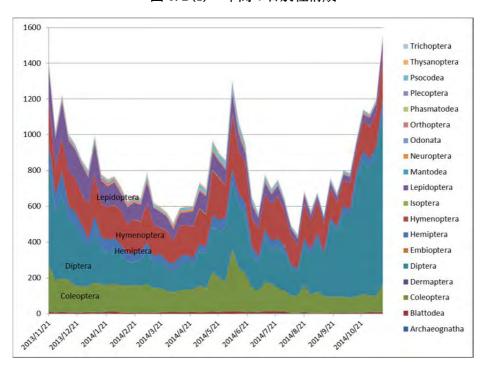


図 6.2(2) 年間の目別種構成の推移

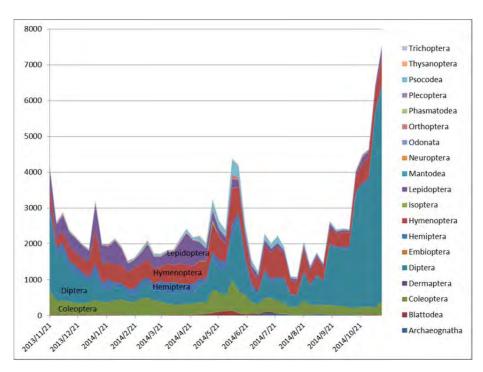


図 6.2(3) 年間の目別個体数の推移

表 6.2 に、環境別(森林深部、林縁、アクセス道路脇)にまとめた地点ごとの目別種数、個体数を示す。

昆虫類は、生息場所によって、森林性、草地性、水域性、地表性、都市性などに区分される。採集された昆虫類について目別の情報から簡単な考察を行った結果、水域に生息する昆虫類(カゲロウ目、トンボ目、カワゲラ目、ヘビトンボ目、アミメカゲロウ目、トビケラ目<sup>21</sup>)<sup>22</sup>はわずかであり、森林性(林縁を利用する種も含む)と考えられる昆虫類(目)を多く含む種構成となった。ただ、No.3 については、ほかの地点と比べてカワゲラ目、トビケラ目といった水域性の昆虫類が多少多かった。これは付近に貯水池が造成されたことが関連するものと考えられる(No.9 のトンボ目1種はトンボ類は飛翔性が高いこともあり偶発的採集と思われる)。

なお、飛翔性昆虫を採集するためのマレーズトラップに、無翅で飛べないイシノミ目の数種も採集されたのは、歩行でネットを上がった個体が捕集されたためと考えられる。 光源で走光性のある昆虫類を誘引するライトトラップにも、飛翔性の種だけでなく、 地表徘徊性の種が自らの歩行により採集されることが報告されている。<sup>23</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>21</sup> その他、バッタ目、カメムシ目(タガメ類等)コウチュウ目(ゲンゴロウ類等)、ハチ目(ミズバチ等)、チョウ目(ミズメイガ等)ハエ目(ブユ、ユスリカ等)にも水生昆虫が含まれるが、ここでは殆どを水性昆虫で占める代表的な目を挙げた。なお、地球上に生息する31目の昆虫類のうち、約半数の12目に水生昆虫の仲間が含まれるが、水生昆虫の種数は全昆虫種数のうちわずか3%といわれる。

<sup>&</sup>lt;sup>22</sup> 参照文献 丸山博紀・高井幹夫(2016). 原色川虫図鑑 幼虫編

<sup>21</sup> 

<sup>&</sup>lt;sup>23</sup> 弘中 満太郎・針山 孝彦(2014). 昆虫が光に集まる多様なメカニズム. 日本応用動物昆虫学会誌. 第 58 巻 第2号: 93-109 <a href="http://odokon.org/">http://odokon.org/</a>

表 6.2(1) 地点ごとの目別種数

次 0.2(1) 2011年 1-11年 1-11年 1-11年 1-11年 1-11年 1-11年 1-11年 1-11年 1-111年 1-1111年 1-111年 1-1111年 1-1111年 1-1111年 1-1111年 1-111年 1-111年 1-111年 1-111年 1-1								
区分	区分目名		PL12	PL12	PL12	PL12	PL12	PL12
			-1	-3	-4	-6	-7	-9
無変態	イシノミ目	Archaeognatha	4	2	2	3	2	2
71112 3721	シミ目	Thysanura						
	カゲロウ目	Ephemeroptera						
	トンボ目	Odonata						1
	カワゲラ目	Plecoptera		2				
	シロアリモドキ 目	Embioptera	1	1	2	1	1	
	ナナフシ目	Phasmatodea	3	2		2		2
	バッタ目	Orthoptera	31	48	23	26	20	25
	マントファスマ							
	目(カカトアルキ	Mantophasmatodea						
不完全	目)							
変態	ジュズヒゲムシ 目	Zoraptera						
	ゴキブリ目	Blattodea	26	26	20	21	17	23
	ハサミムシ目	Dermaptera	6	6	5	1	1	3
	ガロアムシ目	Grylloblattodea						
	カジリムシ目	Psocodea	52	83	41	66	47	47
	アザミウマ目	Thysanoptera	9	46	11	16	3	18
	カマキリ目	Mantodea		7				2
	カメムシ目	Hemiptera	134	485	96	146	151	150
	シロアリ目	Isoptera	4	11	1	3	2	4
	ヘビトンボ目	Megaloptera						
	ラクダムシ目	Raphidiidae						
	アミメカゲロウ 目	Neuroptera	11	19	8	12	17	10
	コウチュウ目	Coleoptera	437	1200	358	541	501	577
完全	ネジレバネ目	Strepsiptera						
変態	ハチ目	Hymenoptera	263	1952	232	413	214	527
	ハエ目	Diptera	662	3763	797	641	431	898
	シリアゲムシ目	Mecoptera						
	ノミ目	Siphonaptera						
	トビケラ目	Trichoptera		38		1	10	3
	チョウ目	Lepidoptera	195	966	265	293	283	236
		1838	8657	1861	2186	1700	2528	

<sup>※</sup>シロアリ目、アリ目は、通常は地表性昆虫類に区分されるが婚姻飛行の時期に翅の生えた個体が、発生し飛行する ※赤字:種数・個体数の上位5位を示す。

表 6.2(2) 地点ごとの目別個体数

区分	目名		PL12-	PL12-	PL12-	PL12-	PL12-	PL12-
<b>上</b> 分	H41			3	4	6	7	9
無変態	イシノミ目	Archaeognatha	216	26	7	66	22	67
無多思	シミ目	Thysanura						
	カゲロウ目	Ephemeroptera						
	トンボ目	Odonata						1
	カワゲラ目	Plecoptera		3				
	シロアリモドキ目	Embioptera	5	9	6	6	1	
	ナナフシ目	Phasmatodea	4	2		2		2
	バッタ目	Orthoptera	87	478	86	59	72	114
不完全	マントファスマ目 (カカトアルキ目)	Mantophasmatodea						
変態	ジュズヒゲムシ目	Zoraptera						
<b></b>	ゴキブリ目	Blattodea	172	323	206	184	96	212
	ハサミムシ目	Dermaptera	13	16	10	1	2	11
	ガロアムシ目	Grylloblattodea						
	カジリムシ目	Psocodea	332	1407	378	509	411	524
	アザミウマ目	Thysanoptera	31	215	22	84	3	123
	カマキリ目	Mantodea		22				22
	カメムシ目	Hemiptera	1256	2801	202	1127	637	1045
	シロアリ目	Isoptera	13	62	2	35	2	15
	ヘビトンボ目	Megaloptera						
	ラクダムシ目	Raphidiidae						
	アミメカゲロウ目	Neuroptera	19	138	18	37	33	27
	コウチュウ目	Coleoptera	1451	6520	1135	3080	1659	3182
完全	ネジレバネ目	Strepsiptera						
変態	ハチ目	Hymenoptera	1475	14788	1710	1702	2898	2919
変	ハエ目	Diptera	3096	37945	2729	3411	1316	4506
	シリアゲムシ目	Mecoptera						
	ノミ目	Siphonaptera						
	トビケラ目	Trichoptera		54		1	12	4
	チョウ目	Lepidoptera	731	7659	616	1751	1958	1330
<b>*</b> シロア    [	ヨーア 11 日け 通常け州志	8901	72468	7127	12055	9122	14104	

※シロアリ目、アリ目は、通常は地表性昆虫類に区分されるが婚姻飛行の時期に翅の生えた個体が、発生し飛 行する ※<mark>赤字</mark>:種数・個体数の上位5位を示す。

# (2) 目レベルでの分析結果

①目レベルでの分析(地点別・週別・目別のデータ解析等)

ベースライン地点 (No.1, 7, 9) 及び開発の影響が強いと思われる地点 (No.3, 4 及びNo.7) の年間種数の推移を図 6.3 に、年間個体数の推移を図 6.4 に示す。ベースライン地点と比較して、PL12 林縁のNo.3 では全体的に種数、個体数が多い。これは、閉じた森林環境に伐採で光が入り、単一な森林環境が多様化したため、林縁や明るい林、幼木を好む昆虫類等が増加したためと考えられる。同様に PL12 林縁に設置されたNo.4 に影響が顕著でないのは、トラップが光と逆向きに設置されたためと推測される。

地点ごとの種数及び個体数の推移を図 6.5 に示す。No.3 では膨大な種数、個体数が採集されたため、ここでは除外した。なお、No.4 についてはトラップが逆向きに設置されていたことにも留意が必要である。

種数、個体数ともに全ての地点で季節変化<sup>24</sup>と思われる類似した波形がみられ、雨季初期の5月下旬から6月下旬にかけては、種数、個体数ともに増加のピークがみられた。ただし、他4地点が約1年後に種数、個体数ともに増加(回復)傾向がみられたのに比べ、作業道脇のNo.7では、開発の影響が最も大きいと思われる開発スタート時期(2013年11月下旬)から時間が経過しているのにも関わらず、回復の程度が小さかった。これは、PL12 林縁のNo.3 及びNo.4 に影響する工事活動が掘削終了をピークに小さくなるのに対し、アクセス道路脇にあるNo.7では、工事車両が継続して通行するため、粉塵等の累積が影響しているものと推測される。なお、No.3 及び No.4 は PL12 よりも高い位置にあるため、粉塵の影響は受けにくく、更に No.4 はマレーズトラップが逆向きに設置されているため、捕集効率はより低下したと考えられる。

一時的で小規模な環境の撹乱は、それまでの環境に加え多様な環境が成立(単一の成熟林を切り開いた際、開放環境、林縁環境が発生し、これら環境を好む種が増加する)するため、一時的に生物多様性が向上することが知られており、調査初期は乾季で一般的に昆虫類が減少する時期であるに関わらず、No. 3, 4, 7 が初期に種数が多いのはこのような影響を受けていることも考えられる。

<sup>&</sup>lt;sup>24</sup> コスタリカでは、12月~4月が乾季、5月~11月が雨季に該当する。コスタリカ大学の昆虫学者へのヒアリングでは、昆虫類は雨季に増加するとのこと。



図 6.3 (1) ベースライン地点の種数の推移



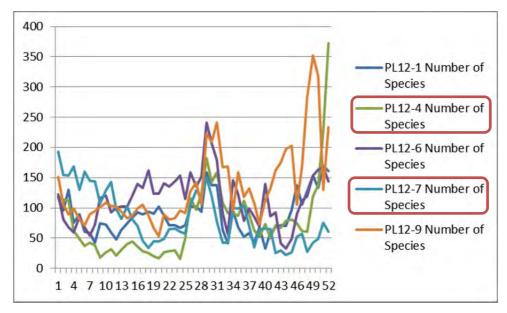
図 6.3 (2) 開発地付近の地点の種数の推移



図 6.4(1) ベースライン地点の個体数の推移

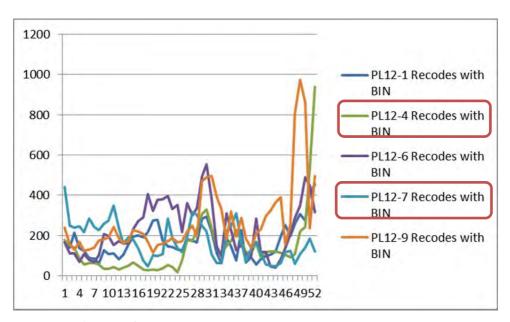


図 6.4 (2) 開発地付近の地点の個体数の推移



※□は開発地付近の地点

図 6.5(1) 地点別の種数の推移(No,3を除く)

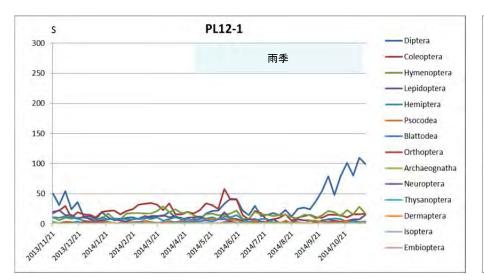


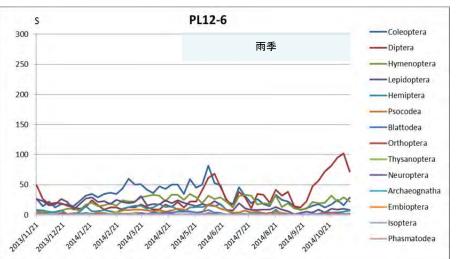
※□は開発地付近の地点

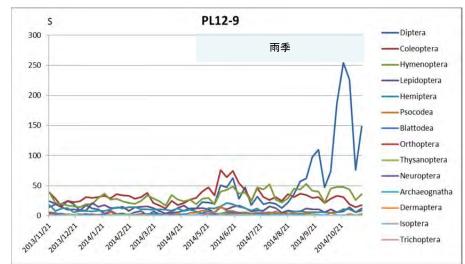
図 6.5(2) 地点別の個体数の推移 (No,3を除く)

また、地点ごとの目別種数 (S) の推移を図 6.6(1) に、目別個体数 (N) の推移を図 6.6(2) に整理した。なお、比較のため縦軸(種数 (S) あるいは個体数 (N))は揃えたが、膨大な種数、個体数が確認されたNo.3 の縦軸はこの限りではない。

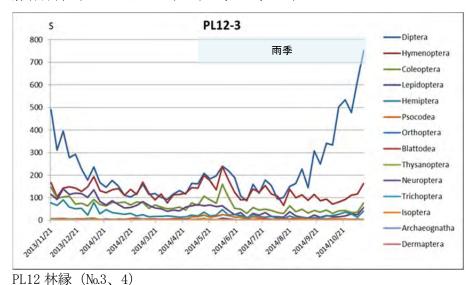
目別種数では、ほとんどの地点でハエ目が最も多い結果であったが、No.6、No.7 はコウチュウ目が優占した。調査期間終盤にはほとんどの地点でハエ目の種数が増加しているが、No.7 にそのような傾向がみられないことは注目すべき点である。

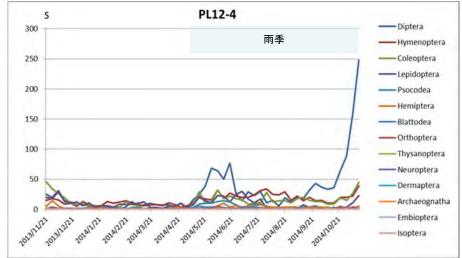


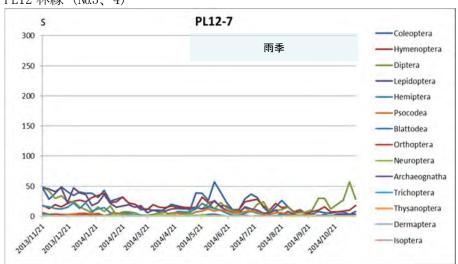




森林深部 (PL12より150m) (No.1、No.6、No.9)







PL12 作業道沿い (№.7)

図 6.6(1) 地点ごとの種数の推移(年間合計の種数が多かった順に凡例を表示)

PL12-9

雨季

- Diptera

----Coleoptera

---- Hymenoptera

----Lepidoptera

---- Hemiptera

---- Psocodea

---- Blattodea

--- Thysanoptera

--- Orthoptera

Neuroptera

-- Mantodea

----Isoptera

--- Dermaptera

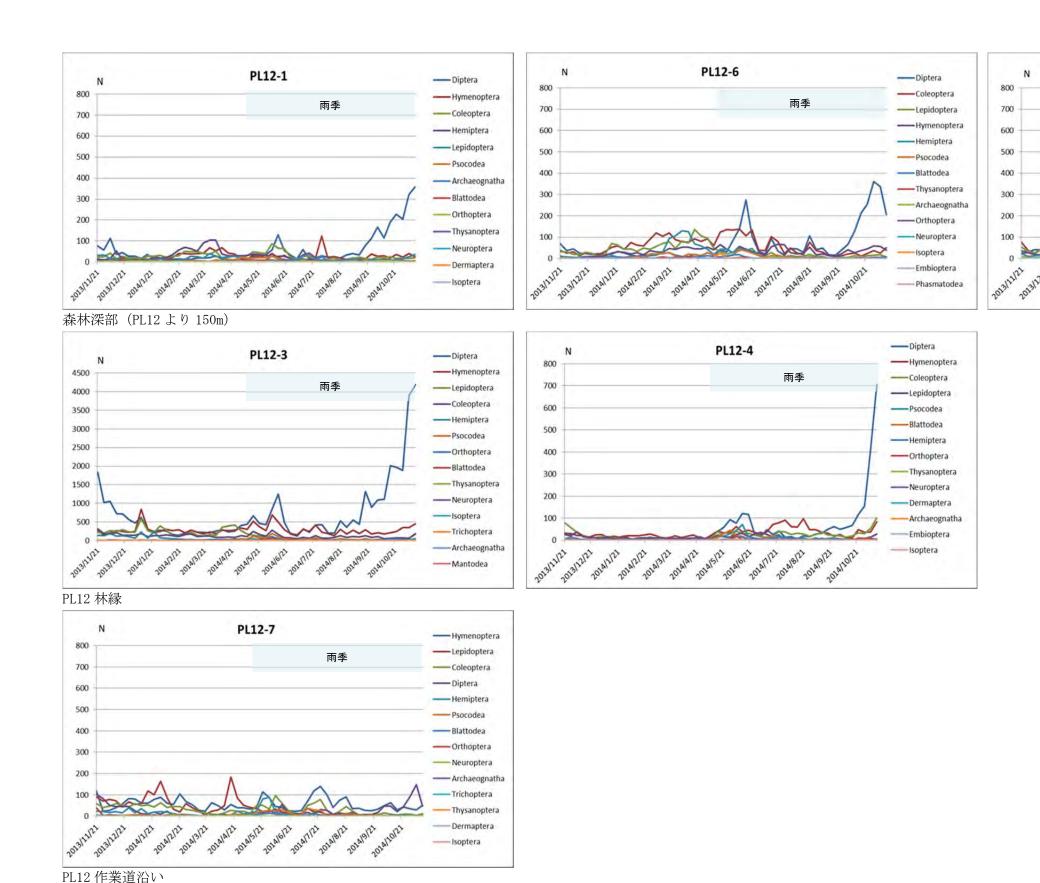


図 6.6(1) 地点ごとの個体数の推移(年間合計の個体数の多かった順に凡例を表示)

#### ②生物多様性指数

シャノン・ウィナー及びシンプソンの多様度指数を用いた、週別のグラフを以下に示す。これらのグラフからも、No,7では調査期間後半における生物多様性指数の低下がみられる。シンプソンのグラフにおける 22 週目の指数の低下は、Lepidoptera(チョウ目)の Tineidae 科(ヒロズコガ科) $^{25}$ の一時的な増加によるものである。また、No.3 についても H'の緩やかな低下傾向がみられる。開発初期にこれら地点が影響を受けていた可能性も考えられる。

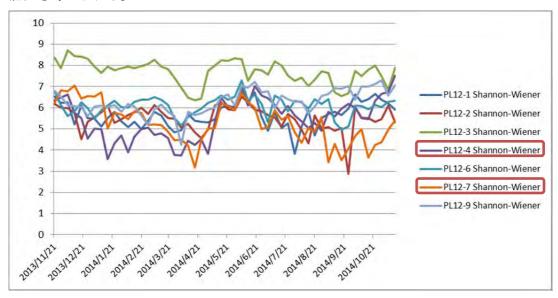


図 6.7 生物多様性指数の推移(シャノン・ウィナー(H'))

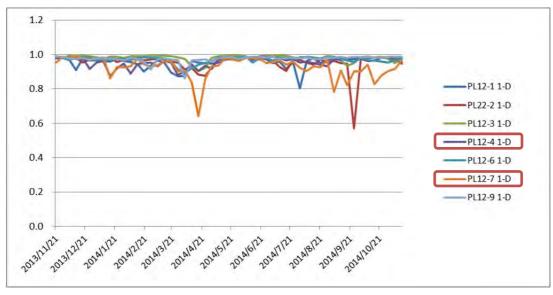


図 6.7 生物多様性指数の推移 (シンプソン (1-D))

<sup>&</sup>lt;sup>25</sup> ヒロズコガ科:小型のガの一種。幼虫は生きた種子植物ではなく乾燥植物質、キノコ、蘚苔類、地衣類、 朽木などを食べる種が多い。

# ③希薄化曲線 (rarefaction curve)

全データ及び各地点のデータを用いて作成した希薄化曲線は以下に示すとおりである。 全体と No. 3 では飽和に近づく傾向がみられるが、その他の地点では、サンプル数の増加 により、全体のプールの種数に近づいていくと考えられる。

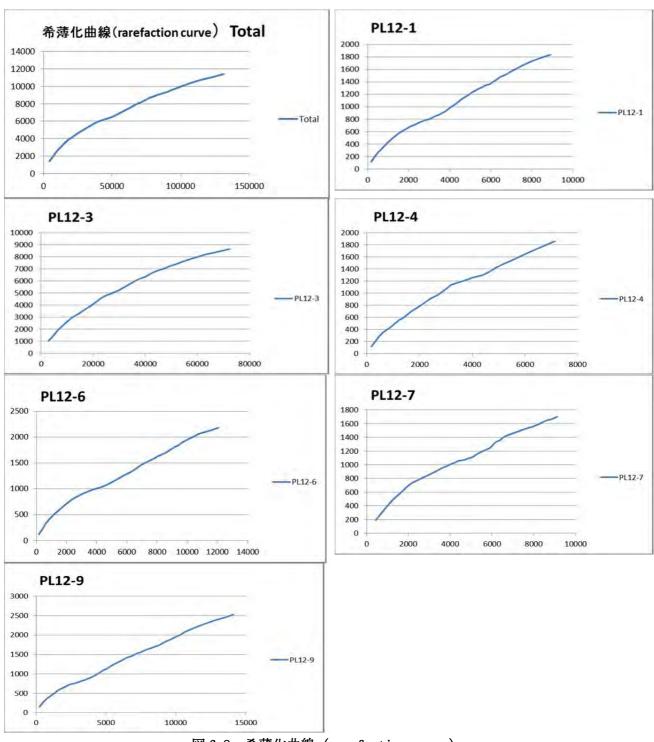


図 6.8 希薄化曲線 (rarefaction curve)

# ④相対種密度ランク曲線 (Relative-Species - Rank Abundance)

伊藤ら<sup>26</sup>によれば、X 軸に個体数の多い方からの順位、縦軸にそれぞれの個体数(ここでは%)としたグラフを作成し、相対種密度ランク曲線を作成することにより、そのグラフの形状から、級数則との関係を把握することができるとされている。

本法によりグラフを作成した結果、下図が得られた。これらは、 $\log(N) = a\log(n) + C$  で近似される関係にあることを示唆している。ここで N は個体数、n は順位、a 及び C は定数であり、a はマイナスの値となる。

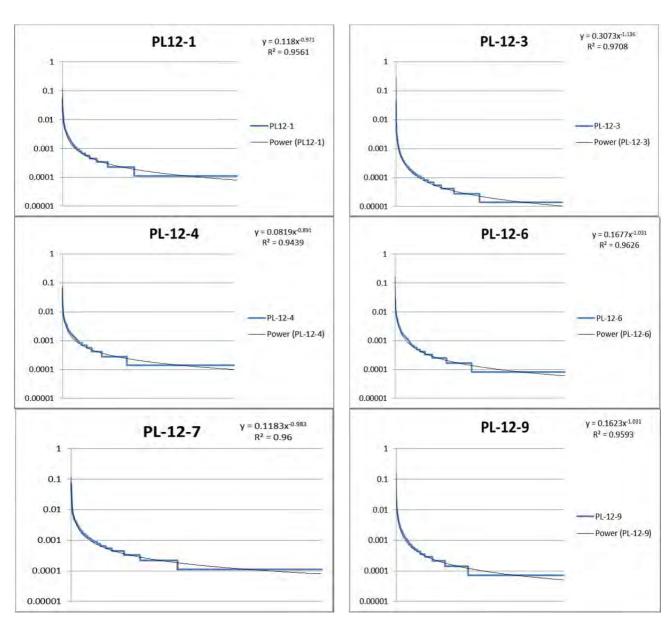


図 6.9 相対種密度ランク曲線 (Relative-Species - Rank Abundance)

<sup>26 「</sup>種の多様性比較のための指数の問題点」(生物科学、2002年第53巻4号、伊藤ら)

#### ⑤ 目レベルの分析結果についての考察

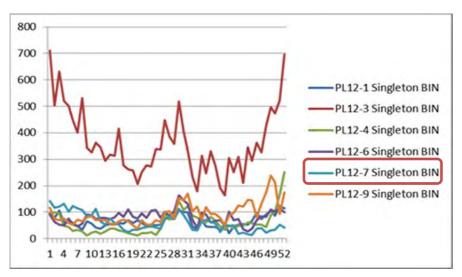
全地点の解析の結果、アクセス道路脇のNo.7 地点は、他 4 地点が約 1 年後に種数、個体数ともに増加(回復)傾向がみられたのに比べ、回復の程度が小さいことが分かった。図 6.10 に示すように Singleton  $BIN^{27}$ の値に注目しても、No.7 以外の地点では値が回復(上昇)したのに比べ、No.7 ではあまり回復していないように見受けられた。なお、ここで示す Singleton BIN の数は、全ての目・科を含むものである。

目レベルでの解析の結果、No. 7 の種数・個体数の推移、生物多様性指標は、開発の影響を受けている可能性を示唆しており、詳細な検討が必要と考えられる。ここで、特に影響のみられた、ハエ目、チョウ目、コウチュウ目、カメムシ目の 4 つの目について着目し、図 6.11~14 にNo.3 を除く他地点と併せたこれら目の種数及び個体数の推移を示した。その他の地点については明確な影響はみられなかった。

なお、ハエ目とコウチュウ目については、特にさまざまな生態の科・種を含むため、 開発が及ぼす影響を考えるのは難しい。

環境	地点	Singleton BIN値
	No.1	1081
森林深部	No.6	1201
	No.9	1442
PL12 林縁	No.3	4315
FL12 / 个形象	No.4	1163
PL12 アクセス道路	No.7	977

表 6.3 各地点の Singleton BIN の値 (1年間の総計)



※No. 7 では1年後の43 週目以降でも回復がみられない

図 6.10 地点ごとの Singleton BIN 値推移

81

<sup>&</sup>lt;sup>27</sup> Singleton BIN: 今回の採集期間(約1年間)において採集回数が1回の種

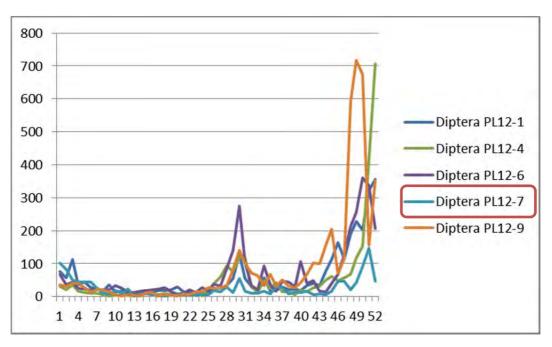


図 6.11(1) ハエ目の個体数の推移

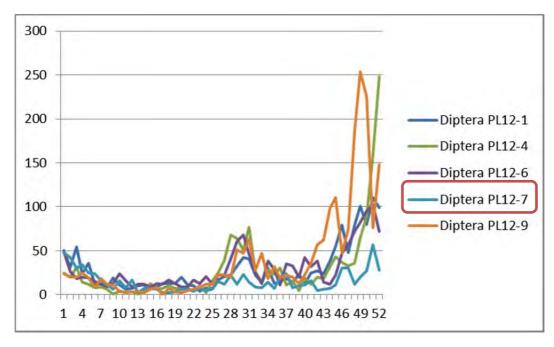


図 6.11(2) ハエ目の種数の推移

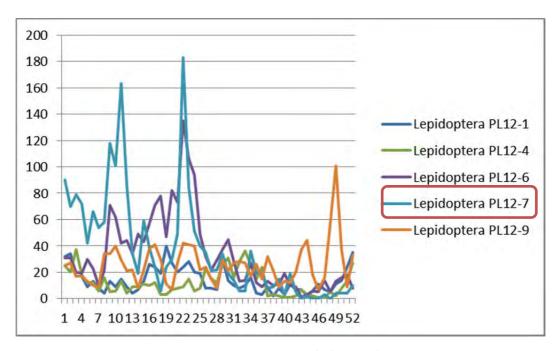


図 6.12(1) チョウ目の個体数の推移

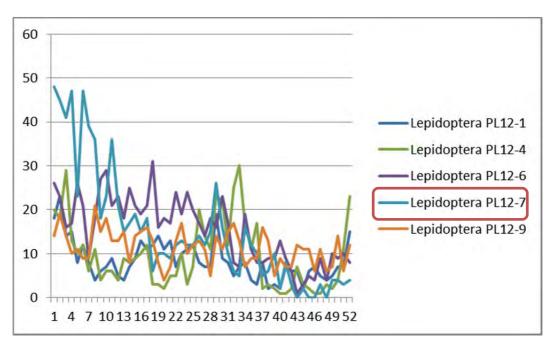


図 6.12(2) チョウ目の種数の推移

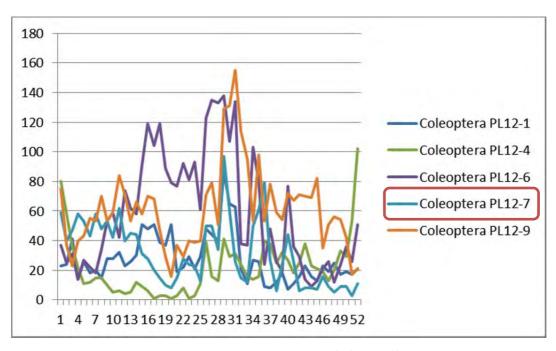


図 6.13(1) コウチュウ目の個体数の推移

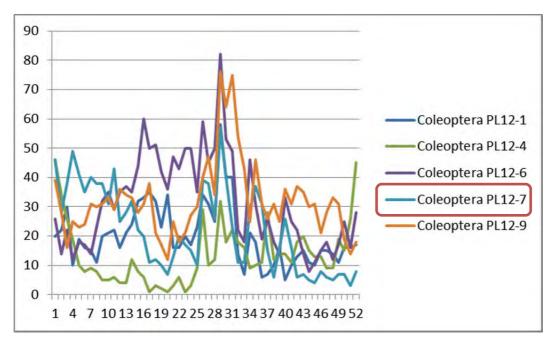


図 6.13(2) コウチュウ目の種数の推移

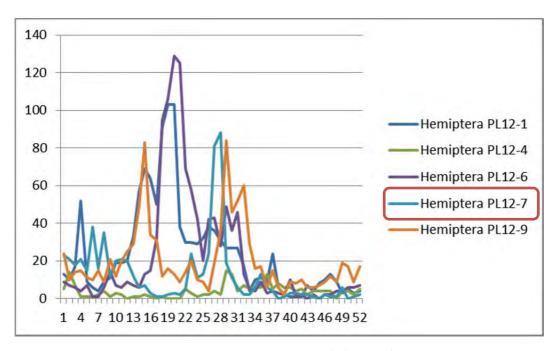


図 6.14(1) カメムシ目の個体数の推移

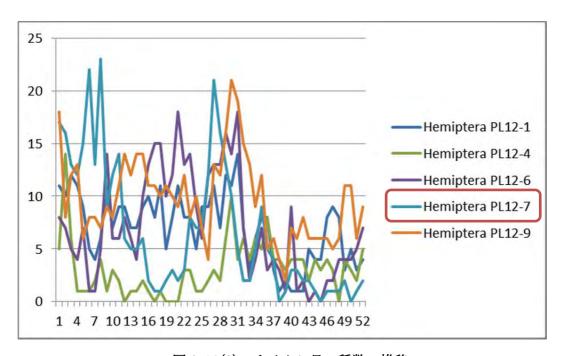


図 6.14(2) カメムシ目の種数の推移

#### ⑥科レベルでの検討の対象の選定

前項の結果を受けて、ハエ目、チョウ目、コウチュウ目、カメムシ目の種数・個体数の整理を行った。この際、種数・個体数の推移を確認するために一定程度のサンプルが必要であることを考慮し、No. 7 地点において 100 個体以上が採集された科を目安として科の選定を行い、選択した科について各地点のデータを集計し表 6.4 に整理した。

選択した科の種数、個体数は No. 7 全体の約 45%を占めた。選定した科の特徴は表 6.5 に示すとおりである。

表 6.4(1) 選択した科別の種数

0rder	Family	PL12-7	PL12-1	PL12-3	PL12-4	P112-6	PL12-9
Total		1700	1838	8657	1861	2186	2528
Lepidoptera	Total	283	195	966	265	293	236
チョウ目	Cosmopterigidae	16	11	50	9	11	11
	Depressariidae	44	10	91	30	29	16
	Gelechiidae	55	36	141	51	49	38
	Tineidae	38	22	86	18	35	25
	other	130	116	598	157	169	146
Diptera	Total	431	662	3763	797	641	898
ハエ目	Chironomidae	36	53	197	43	53	76
	Psychodidae	20	24	105	34	29	22
	Sciaridae	49	89	242	55	75	88
	Cecidomyiidae	220	308	1509	517	293	365
	Other	106	188	1710	148	191	347
Coleoptera	Total	501	437	1200	358	541	577
コウチュウ目	Chrysomelidae	39	43	119	42	56	58
	Cleridae	21	17	27	4	20	31
	Curculionidae	74	48	183	57	65	91
	Elateridae	23	26	37	13	29	23
	Mordellidae	33	38	70	18	52	38
	Throscidae	10	11	15	11	16	13
	0ther	301	254	749	213	303	323
Hemiptera	Total	151	134	485	96	146	150
カメムシ目	Cicadellidae	51	31	160	23	41	39
	Rhyparochromidae	23	4	29	4	12	10
	0ther	77	99	296	69	93	101
Total number of Selected Familiy		752	771	3061	929	865	944
Selected families/Total(%)		44. 2%	41. 9%	35. 4%	49. 9%	39. 6%	37.3%

表 6.4(2) 選択した科別の個体数

表 0.4(2) 医状じた付加の個体数							
		PL12-7	PL12-1	PL12-3	PL12-4	PL12-6	PL12-9
Total		9, 122	8, 901	72, 468	7, 127	12, 055	14, 104
Lepidoptera	Total	1, 958	731	7, 659	616	1, 751	1, 330
チョウ目	Cosmopterigidae	450	68	880	19	175	86
	Depressariidae	158	19	356	41	64	32
ļ.	Gelechiidae	358	173	1, 171	164	408	607
	Tineidae	683	237	2, 161	97	557	278
	other	309	234	3, 091	295	547	327
Diptera	Total	1, 316	3, 096	37, 945	2, 729	3, 411	4, 506
ハエ目	Chironomidae	140	462	2, 825	277	675	1, 182
	Psychodidae	106	182	1, 382	116	164	88
	Sciaridae	479	1, 167	10, 989	612	1, 089	817
	Cecidomyiidae	374	787	9, 588	1, 276	915	1, 457
	Other	217	498	13, 161	448	568	962
Coleoptera	Total	1, 659	1, 451	6, 520	1, 135	3, 080	3, 182
コウチュウ目	Chrysomelidae	215	175	1,009	170	386	562
	Cleridae	114	120	168	13	241	256
	Curculionidae	141	93	473	137	177	212
	Elateridae	117	157	320	81	115	101
	Mordellidae	122	120	422	38	119	166
	Throscidae	120	80	274	161	24	359
	Other	830	706	3, 854	535	2,018	1, 526
Hemiptera	Total	637	1, 256	2,801	202	1, 127	1, 045
カメムシ目	Cicadellidae	253	636	1, 059	31	771	150
	Rhyparochromidae	200	17	643	8	62	27
Other		184	603	1, 099	163	294	868
Total number of Selected Familiy		4, 030	4, 493	33, 720	3, 241	5, 942	6, 380
Selected families/Total(%)		44. 2%	50. 5%	46. 5%	45. 5%	49.3%	45. 2%

表 6.5 選択した科の概要

目名	科名		概要
Lepidoptera チョウ目	Cosmopterigidae	カザリバガ科	世界で約 1500 種が知られる。オーストラリアと太平洋地区では 780 種と多様。小さなガ類で、幼虫は宿主植物の葉、茎などの内部で成長し虫瘤(Gall) を作る。
	Depressariidae	ヒラタマルハ キバガ科	ほとんど夜行性で、灯火に飛来する。 幼虫のなかには、農林業上きわめて著 名な害虫があり、なかでもジャガイモ キバガ(ジャガイモのほかナス科の害 虫)、バクガ(イネ、ムギ、トウモロ コシの害虫)、ワタアカミムシガ(ワ タのほかオクラなどアオイ科の害虫) などは、世界的にみても著名な害虫 で、熱帯圏を中心に広がっている。
	Gelechiidae	キバガ科	頭部の一部がキバ状にみえる小型のガ 類を含む科。
	Tineidae	ヒロズコガ科	小型のガの一種。幼虫は生きた種子植物ではなく乾燥植物質、キノコ、蘚苔類、地衣類、朽木などを食べる種が多い。
Diptera ハエ目	Chironomidae	ユスリカ科	大部分の種は幼虫が水生で、川、池などほとんどあらゆる淡水域に棲んでいる。他には海の潮間帯に棲むものや陸生のもの、水辺の朽木の中や土壌中などに棲む半水生的なものなども少数ある。
	Sciaridae	クロバネキノ コバエ科	世界で約2400種が記録されているが、 未記載種を含めると5000-10000種になると考えられており、新北区や亜熱帯 地域にも未知の種が多くいることが推 測されている。大部分が5mm程度の小 型のハエであり、植物の死骸や朽木、 菌類などを餌として利用する。
	Cecidomyiidae	タマバエ科	世界で約4600種以上が記録されている。多くは外部寄生性であり、幼虫がハチ目の昆虫や植物などに寄生して生活していることが知られている。植物を利用する種は虫瘤(Gall)を形成する事が多い。分類学上はとカ類に近い。
	Psychodidae	チョウバエ科	分類上はハエよりユスリカやカなどに 近い。外見がガに似ているため、チョ ウバエと呼ばれる。下水などで発生す る。多くの種の幼虫は湿地や池沼など

目名	科名		概要			
			の水際で藻類やデトリタスを摂取して 育つ。			
Coleoptera コウチュウ目	Chrysomelidae	ハムシ科	世界では約40000種が知られており、 多くは葉虫の名のとおり、生きた植物 を食べる。多くは体長1cm未満と小 型。大半のハムシ類は飛翔が得意でよ く飛ぶ。			
	Cleridae	カッコウムシ 科	体長は数 mm 程度の小型の甲虫。成虫も 幼虫も肉食で、幼虫の多くは朽木に穿 孔し、朽木内部の他の甲虫の幼虫を捕 食し、成虫の多くは、朽木、花、キノ コなどで他の昆虫を捕食する。			
	Curculionidae	ゾウムシ科	全世界では約 60000 種が生息しているともいわれ、甲虫類の中でも特に大きなグループである。数 mm から数 cm くらいの小型の甲虫であり、幼虫・成虫全ての種が植物性で、虫瘤(gall)をつくる種もある。			
	Elateridae	コメツキムシ 科	世界で 10000 種が知られる 1~8cm 程の 甲虫類。石の下等地表性の種もいる が、草や低木の上に生息する種が多 い。幼虫の多くは土壌性で、腐食質 や、他の虫を食べる。			
	Throscidae	ヒゲブトコメ ツキ科	世界のほとんどの地域に分布する 1~6mm 程度の小型の甲虫類。主に低中地の森林環境に生息し、朽木			
	Mordellidae	ハナノミ科	世界各地に分布している 1.5~15mm 程度の微小な甲虫類。少なくとも世界で 1000 種以上が知られる。昼行性で花の 蜜に集まる種が多く、花上や葉上によくみられるが、枯れ木や倒木に集まり、幼虫が枯木中に生息する種もいる。			
Hemiptera カメムシ目	Cicadellidae	ヨコバイ科	セミ類に近い一群で、セミを微小にしたような姿をしている。大部分の種が数 mm 程度。幼虫、成虫とも植物の液汁を吸う生活をしているためしばしば害虫とみなされる。セミと同様に発音機能があり、オスがメスを呼ぶためのコミュニケーション手段として用いられる。			
	Rhyparochromidae	ナガカメムシ 上科	カメムシ亜目に属する科で、植物性の 種が多い。			

# (3) 科レベルでの分析結果

① 科レベルでの分析(地点別・目・科別推移)

選定した目・科の推移は図 6.15~図 6.18 に示すとおりである。以下に目別の分析結果を記す。

#### 「チョウ目]

No, 7 のチョウ目の推移には、カザリバガ科 (Cosmopteigidae) 及びヒロズコガ科 (Tineidae) の 2 つの科のピークがみられる。これらのピーク時期は No. 3、No, 7、 No. 6、No. 9 と同時期であるが、No. 1 や No. 4 ではやや不明瞭である。

No,7の種数は1年を通して低下している。この傾向はNo.3でも認められるが、No.3 では調査期間後半に回復する傾向を示している。No.7のチョウ目の各科は、調査期間後半の種数や個体数が調査開始当初のレベルまで回復していく兆候はなく、単調減少している。。

#### [ハエ目]

No,7の個体数・種数の推移をみると、他地点と比較して1年を通して少ない。 個体数は調査期間後半にわずかに、クロバネキノコバエ科 (Sciaridae) や、タマバエ 科 (Cecidomyiidae) の上昇がみられる。タマバエは、他の地点では選定科の中でも種数 が最も多くなっているが、No.7では少ない。

#### 「コウチュウ目]

No.7の個体数の推移をみると、コメツキムシ科(Elateridae)及びハナノミ科(Mordellidae)のピークがみられるが、調査期間後半には個体数は減少している。こららのピーク時期は、地点間で一様ではない。

No. 7 の種数については、調査期間の後半低下し、調査地点のうち最低となっている。

## [カメムシ目]

No.7の個体数の推移をみると、ナガカメムシ上科 (Rhyparochromidae) のピークがみられるが調査期間後半には低下している。

種数については、ナガカメムシ上科のピークに加え、調査期間当初から 10 週目程度までヒメヨコバイ科 (Cicadellidae) の増加がみられる。

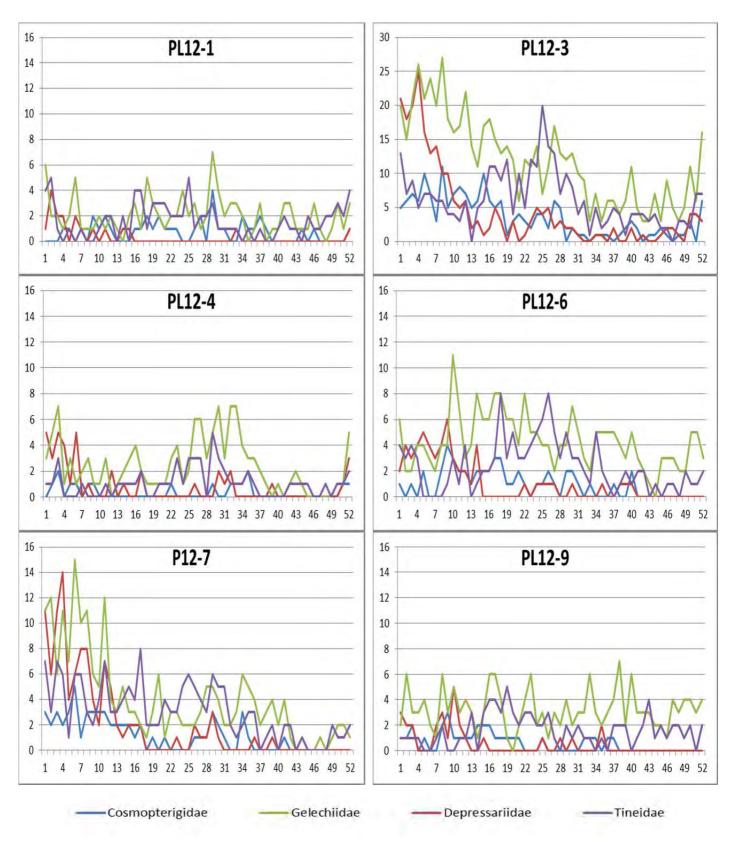


図 6.15(1) チョウ目(Lepidoptera)の選定科の種数の地点別推移

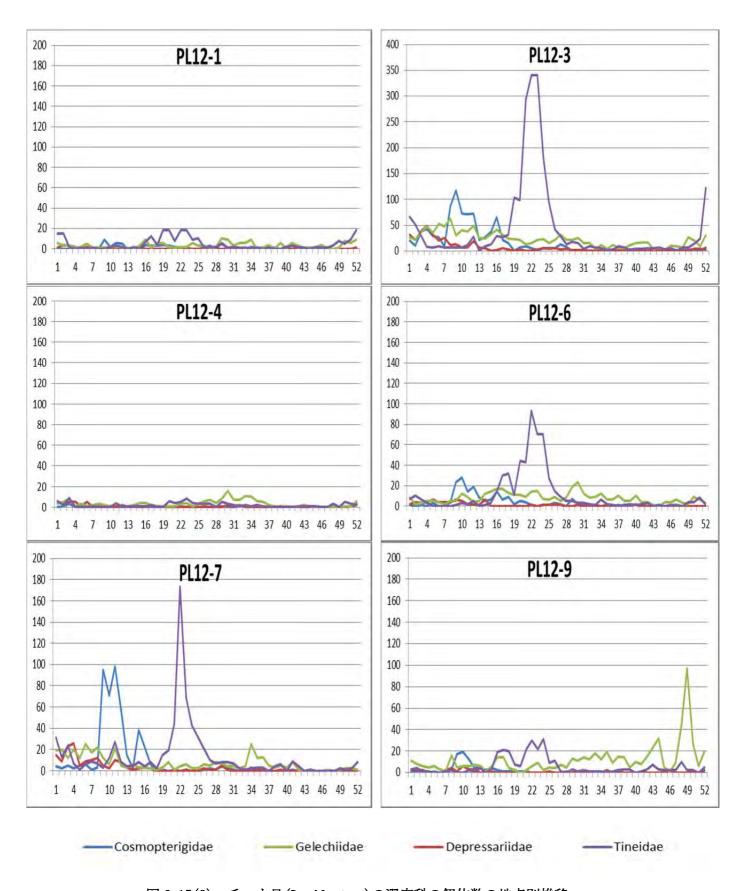


図 6.15(2) チョウ目 (Lepidoptera) の選定科の個体数の地点別推移

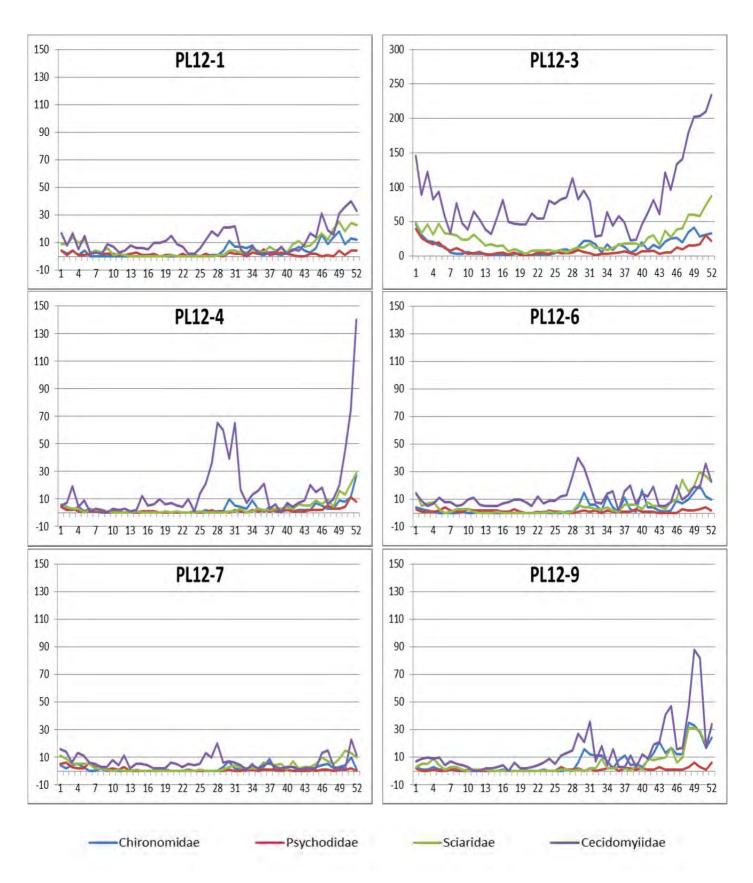


図 6.16(1) ハエ目(Diptera)の選定科の種数の地点別推移

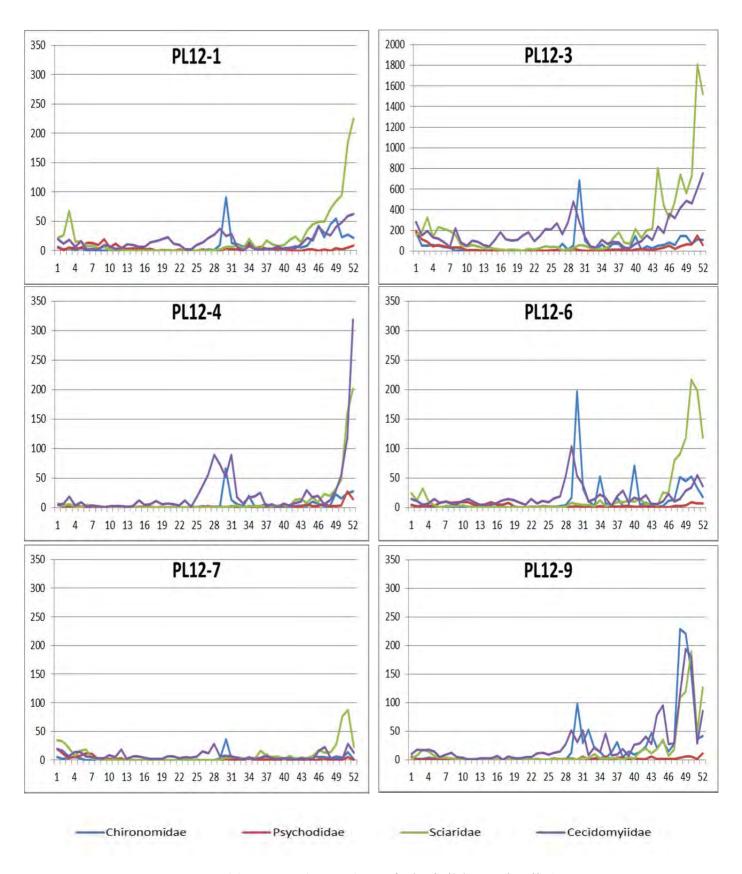


図 6.16(2) ハエ目(Diptera)の選定科の個体数の地点別推移

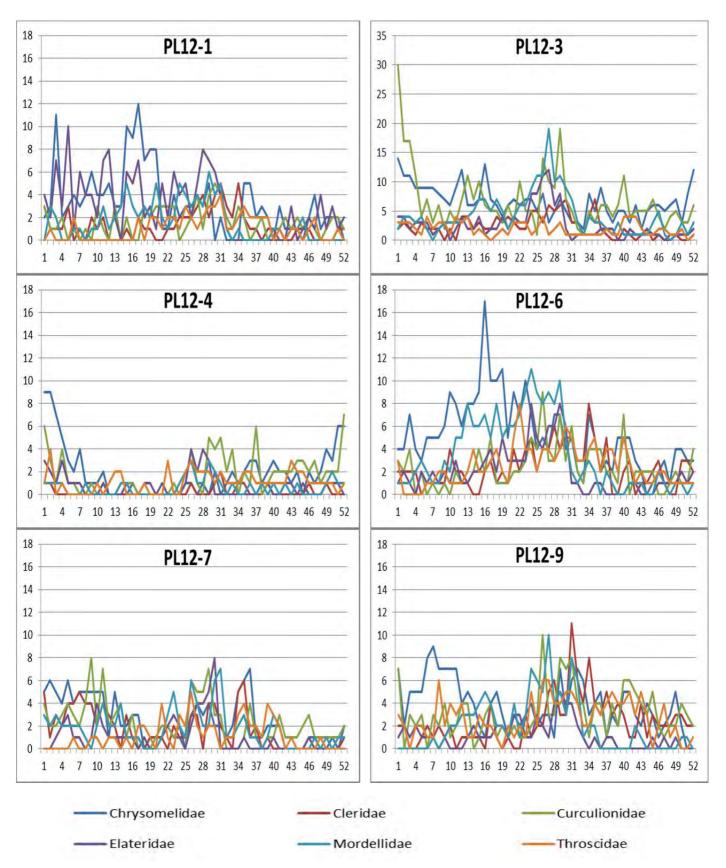


図 6.17(1) コウチュウ目 (Coleoptera) の選定科の種数の地点別推移

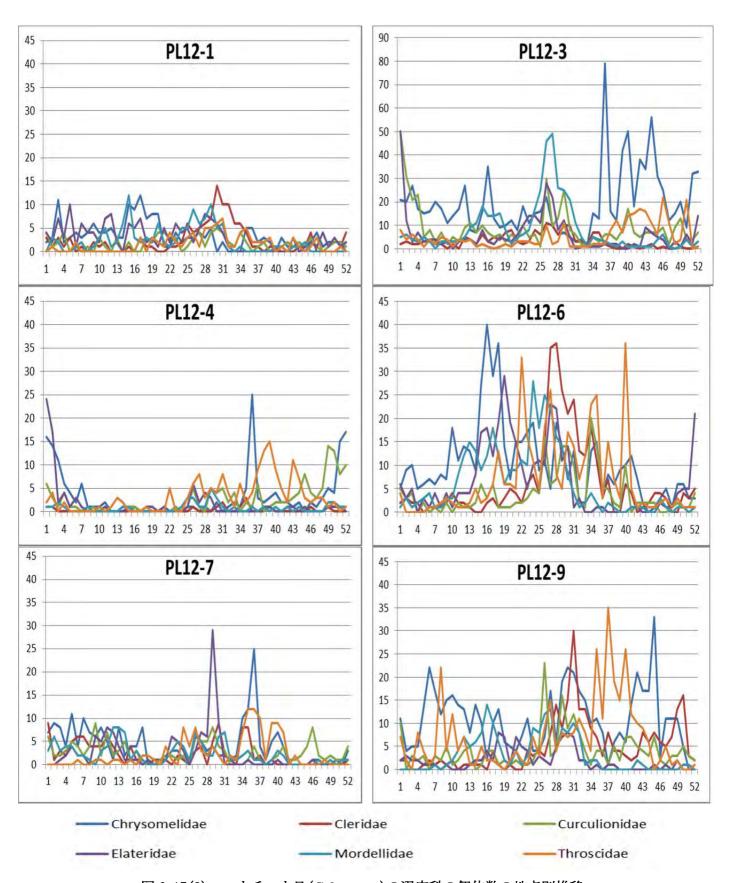


図 6.17(2) コウチュウ目(Coleoptera)の選定科の個体数の地点別推移

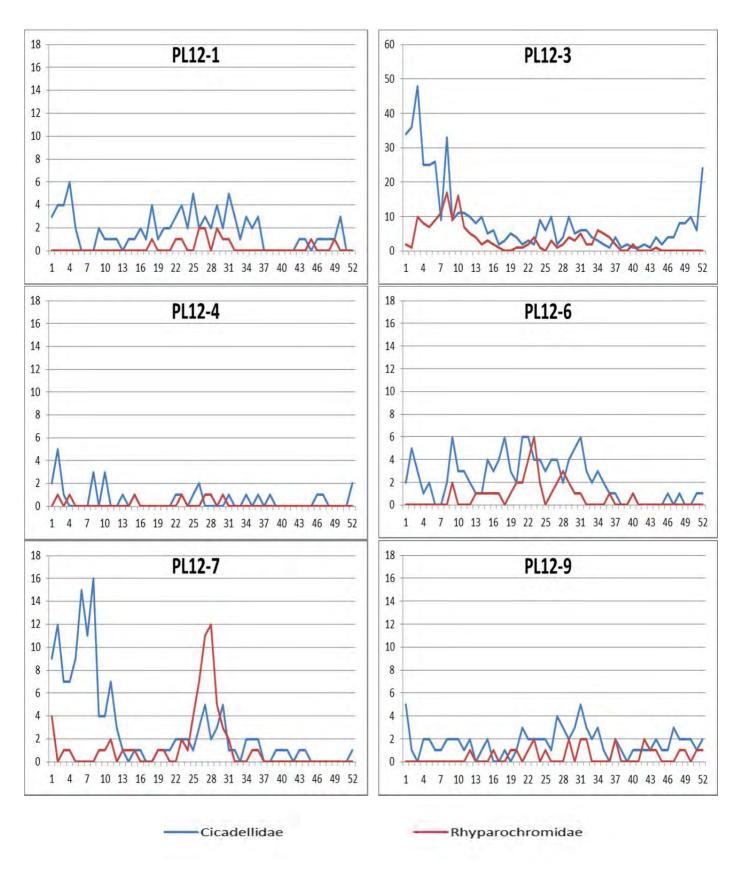


図 6.18(1) カメムシ目 (Hemiptera) の選定科の種数の地点別推移

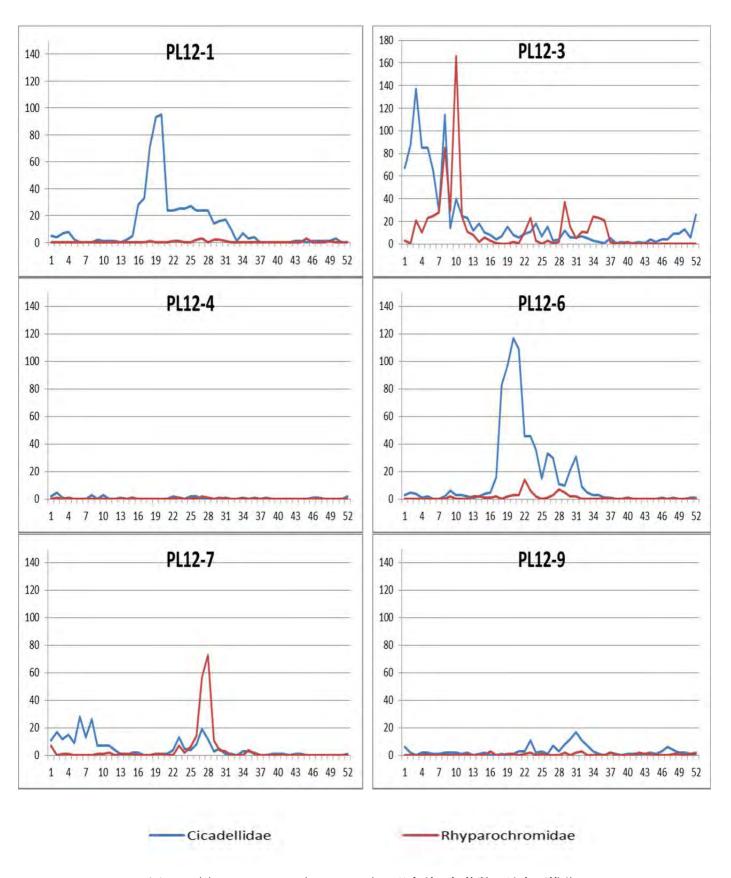


図 6.18(2) カメムシ目 (Hemiptera) の選定科の個体数の地点別推移

## ② 科レベルでの分析結果の考察(影響の分析)

No.7 はアクセス道路脇に位置し、粉じん、騒音、車両の照明、物理的な衝突等、車両の走行に伴う影響を受けやすい場所に位置している。また、調査地点周辺に車両が駐車することで、トラップ周辺に作業員が立ち入る機会も他地点に比べて多いと考えられる。さらに、アクセス道路の建設で森林が分断されたため、以前よりも風通しが良くなり、乾燥しやすい環境になっていると考えられる。

開発の影響について、他地点との比較も踏まえて検討した結果、調査期間後半において、特にチョウ目の種数が低下し、ハエ目の顕著な増加がみられないこと等が判明した。No.3やNo.7は開発の影響で一時的に調査期間初期にチョウ目等の個体数が増えたため、その後、種数や個体数が低減したと考えられるが、No.7の地点については期間後半になっても他地点でみられるような種数や個体数の増加傾向はみられないため、何らかの事業の影響を受け続けている可能性がある。

影響を受けたと考えられる科のうち、ハエ目タマバエ科(Cecidomyiidae)、コウチュウ目ゾウムシ科(Curculionidae)は、幼虫が特定の植物の葉や枝、花芽などに寄生し、塩塩塩 (Gall)を作ることが特徴的である。種により、寄生相手の植物(宿主)がある程度限定されるため、植物依存性が高い。また、コウチュウ目のハムシ科

(Chrysomelidae) は主に葉を食するため、これらも植物依存性が高いといえる。このうち、特にタマバエ科を含むいくつかのハエ目は、1年の中で、複数の生活史を持つことが知られており(図 6.19)、環境の変化が現れやすい。このような特徴をもつ科の減少がみられたことから、開発による植物への影響(植物への粉塵の蓄積等)により、昆虫の多様性が低下した可能性が示唆された。

また、チョウバエ科のように湿った環境に生息する種類の減少も確認され、No.7 が切り開かれ乾燥したことによる影響が示唆された。

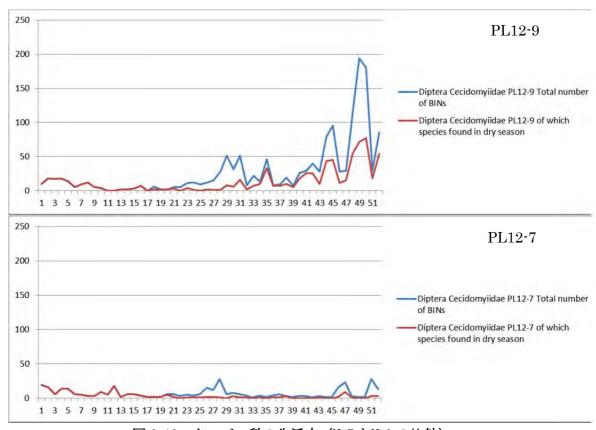


図 6.19 タマバエ科の生活史(No.7 とNo.9 の比較)

マレーズトラップの捕集率(Catch Rate)は、太陽光の射す向きや強度により変動する。トラップの汚れ等による捕集率の低下が生じている可能性も否定できない。さらに本調査は各1回の雨季・乾季を含む約1年のみの結果であること、道路沿道の地点は1箇所だけであったことから、十分な検証が行えているとはいえない。このため、今後継続的な観察を行い、翌年以降もこのような傾向がみられるか確認していくことが望ましい





2016年1月19日におけるPL7周辺状況(粉塵の蓄積)

# 第7章 地熱 EIA 調査における改善案の検討

### 7.1 調査結果の整理

本調査は、生物多様性保全を国の重点として位置づけているコスタリカにおいて、国立公園等のセンシティブなエリア周辺等が開発適地となることが多い地熱開発を推進していくため、地熱開発により生態系に対する悪影響を最小限にとどめために EIA の調査手法を改善する可能性を検討したものである。これまでの調査結果の整理として、本調査で確認した内容を以下に示す。

### 第2章:自然環境ベースライン

- コスタリカは、その独自の自然環境から世界の「生物多様性ホットスポット」として重要な国として位置づけられている。
- 本プロジェクトエリア (PL12) は、ACG 保護区域(ユネスコ自然登録地)から約 50m の場所に位置している。
- ACG 保護区域は比較的狭い区域内において多様な環境(海洋生態系、乾燥林生態系、 雨林帯生態系、雲霧林帯生態系)が存在し、豊かな生物多様性を誇る地域である。

### 第3章:コスタリカ及び諸外国の EIA 制度

- コスタリカ及び諸外国において、地熱開発事業に対しては EIA の実施が法令で義務づけられている。ただし、コスタリカでは、米国及びニュージーランドで実施しているような地熱開発地域を絞り込むための上位段階における戦略的環境アセスメント(SEA)は存在しない。
- コスタリカには、EIAの調査範囲や方法を決めるスコーピング段階においては、ステークホルダーの意見を求める制度はない。他国には存在している。
- 生態系の調査及び評価に関しては、、植生、哺乳類、鳥類、両生類及び爬虫類を対象として、重要な種や注目すべき生息地への影響を評価指標(上位性、典型性、機能性、特殊性)としていることが一般的でであり、生物相や生物多様性の変化を定量的に評価する方法が地熱開発の EIA で採用されているケースは確認されていない。

## 第4章:DNA バーコーディング手法による生態系調査

- 本調査において利用する DNA バーコーディング手法は、生物種の特定の遺伝子に着目して、塩基配列を分析することで生物種を特定する手法であるが、同手法を利用する生態系調査は EIA 手法としてはまだ発展途上の段階である。
- カナダにおける事例では、鉱山閉山プログラムにおける生態系影響評価のパイロット調査において、マレーズトラップで採集したサンプルの DNA 分析を実施することで復旧対策の効果を評価している事例があった。

# 第5章:パイロットプロジェクトにおける DNA 分析及び分析概要

- 昆虫を用いた DNA バーコーディングの調査手法の効果を検討するため、PL12 開発エリア周辺に設置したマレーズトラップで採集された昆虫をサンプルとして、DNA 分析を実施した。
- DNA 分析の対象としたサンプルは、PL12 周辺の 7 つトラップにおいて、工事開始直後の 2013 年 11 月下旬(雨季 終盤)から、PL12 における工事がほぼ終了した 2014年 11 月中旬までの約 1 年間に採集されたサンプルとした。7 つのトラップで周毎に回収された 52 週分のサンプルを DNA 分析した。
- 全地点で採集されたサンプルの個体数は、144,994 個体であり、そのうち DNA のシークエンス(塩基配列を読むこと)に成功したサンプルは 134,828 個体であった。 134,828 個体のうち BIN が付与されたものは 131,184 個体であった。
- 当該エリアの森林及び昆虫類の生態に精通している専門家による DNA 分析結果の考察によると、伐採による直接的な影響を除き、開発地区より 150m 森林内部に位置しているエリアで昆虫相が掘削活動の影響を受けたことを示すような変動は見られなかった。
- ただし、昆虫類は季節変動が1年を通して大きいことから、季節的変動を含めてベースラインを確認するために少なくとも追加で2年分のデータを分析することが推奨された。

### 第6章:パイロットプロジェクトにおける地熱開発の影響評価分析手法の検討

- EIAにおける生態系への影響評価の精度の向上について、DNAバーコーディング手 法の有効性を検討するため、パイロットプロジェクトで実施した昆虫類のDNAバー コーディング分析結果を用いて、PL12の地熱開発に対する短期的な影響分析を実施 した。
- 昆虫類 DNA バーコーディングの結果を活用した客観的な評価となるように、目レベルの分析から始め、1年間の経時的な個体数や種数、生物多様性指標の変化から、影響の可能性のある地点、目を抽出した上で、抽出された目の中で検討が可能な科について、さらに詳細に影響の分析を行った。
- 分析の結果、粉じん、騒音等の車両の走行に伴う影響を受けやすいアクセス道路脇の No.7 において、植物依存性が高いハエ目タマバエ科 (Cecidomyiidae) に、他のトラップでみられるような期間後半の個体数の顕著な増加がみられないことが確認された。

## 7.2 調査結果に基づく検討

上記で整理した通り、本調査では、EIA 調査の改善に関する検討の観点より、マレーズトラップにより採集した昆虫類を DNA バーコーディング手法にて分析し、開発の環境影響が昆虫類相に現れるかを確認した。その結果、1年という限定的な期間ではあったが、DNA バーコーディング手法により、昆虫類の種構成(種数及び個体数)の推移について定量データが得られ、PL12 による影響は ACG 保護区域には到達していない可能性が示唆された。ただし、開発の影響との因果関係を検討する際には、季節変動との区別が必要であり、本調査では雨季・乾季に伴った推移がみられたが、長期的な変動が生じる可能性もあるため、昆虫類の種数、個体数の安定性について今後も確認する必要がある。本手法の EIA 調査の適用可能性を確認するため、以下の観点により地熱 EIA 調査の改善に関して検討した結果を示す。

# 7.2.1 飛翔性昆虫の代表性

昆虫類は生物の中でも多様性が非常に高い生物相として知られており、その総数は 2,000 万種を超え、既知の全生物群の 90%以上を占めると言われている。昆虫の中でも、その少なくとも 90%以上が飛翔性である。従って、本調査では、飛翔性昆虫を調査対象の種とし地熱エネルギーの開発に伴う生物相への変化を定量的に評価することが適当と考え、パイロット調査を実施した。その結果、環境の変化に敏感と考えられる昆虫を含む多くの種が多数確認され、飛翔性昆虫を用いた環境影響の分析が可能であることが示唆された。従って、地熱開発による環境影響を把握する上で、飛翔性昆虫は代表性を有していると考えられる。

#### 7.2.2 DNA バーコーディング手法を用いた EIA 調査手法の検討

DNA バーコーディング手法は、生物種の特定の遺伝子に着目して塩基配列を分析することで生物種を特定する手法であり、遺伝子レベルで正確に種を同定することが可能な手法である。この手法を用いることで、昆虫の研究が進んでいないエリアの昆虫相においても活用ができる手法であるため、影響分析に利用するデータの精度の高さという観点より、非常に有効な手法である。

一方、DNA 分析により塩基配列を基に各種に対して BIN という ID が割り当てられるが、この BIN の情報で学名まで把握できる種の数はまだ限られている。今回の調査で採集された昆虫のうち、DNA バーコード分析の結果、自動的に、科、亜科、属及び種レベルにおいて学名まで判明できた(BOLD データに照合し、既存の塩基配列データと合致した)サンプルの数は表 7.1 のとおりである。全 11,385 個体のうち科レベルで特定できたものは全体の 99.93%にあたる 11,377 であったが、種レベルでは全体の 4%にあたる 459 種数であった。この 459 種数は、BOLD のデータベースに既に登録されている BIN のうち、種レベルで学名まで判明している種の数である。ここで、特定できなかった種というのは、その種に

対する形態学的分類がこれまで進んでおらず、学名などが与えられていないような種である。

今後、DNA バーコーディングが普及すれば BOLD のデータベースが更に蓄積され、昆虫の分類・研究が進むことで学名が付けられる種が多くなると考えられる。そのため、DNA 分析を実施するだけで、簡単にその種の学名や特徴に関する情報が得られることができ、影響評価の更なる改善につながる期待がある。

目	種数	科レベルの	亜科レベルの	属レベルの	種レベルの
P	俚奴	特定	特定	特定	特定
Diptera	4,601	4,601	362	330	73
Hymenoptera	2, 443	2, 439	1,013	544	134
Coleoptera	1,936	1, 936	622	142	57
Lepidoptera	1, 290	1, 290	596	498	137
Hemiptera	656	654	66	64	32
Psocodea	128	128	10	15	5
Orthoptera	80	79	6	6	2
Thysanoptera	72	71	11	10	3
Blattodea	48	48	3	2	2
Trichoptera	48	48	17	17	11
Neuroptera	36	36			
Isoptera	13	13	4	8	2
Dermaptera	10	10			
Mantodea	7	7	5	3	
Phasmatodea	7	7	3	3	1
Archaeognatha	5	5			
Embioptera	2	2			
Plecoptera	2	2	1	1	
Odonata	1	1	1	1	
合計数	11385	11377	2720	1644	459
		99. 93%	23. 89%	14.44%	4. 03%

表 7.1 目別の種数及び種名の特定状況

今回の調査ではSingleton BIN が多く出現しているが、これは、マレーズトラップでの採集に限るものではない。未知の種が多く、生物多様性の高い環境で DNA バーコーディング分析による同定を行えば、このような結果は一般的に想定されるものである。通常、サンプルを多く採集することで対象環境における全ての生息昆虫類は徐々に把握されるものである。本調査では、No.3の採集効率が非常に高く多くの種が採集されたことから、対象環境全体のプールが飽和に近づく傾向がみられた。したがって、同様の調査を 1~2 年継続することで、昆虫種数は飽和するものと考えられる。

なお、全ての生息種が判明している状態は環境を把握する上で望ましいが、そのようなことは困難で、例えば、日本の EIA 調査結果も全種把握されてはいない。EIA 調査としては、事業開始前・開始後の開発の影響による変化を確認できればよく、必ずしも生息種全種(100%)の把握は必要ではない。

### 7.2.3 採集方法、採集頻度等の検討

## (1) 昆虫類の採集方法

昆虫類を採集しようとする場合、採集対象とする昆虫の種類(微小なハエ類なのか、 大型のチョウ類なのか、水生昆虫なのか、など)、採集データの使用目的(環境の変化 による影響をみるのか、分類の研究を行うのか、季節変動の推移を把握するのか、コレ クションのために行うのか、など)によって方法が異なる。

日本のEIAにおける昆虫類調査では、開発の影響が及ぶと予測される範囲の昆虫相の 把握を目的として、年4回程度(春季・初夏・晩夏・秋季)の現地調査を行うが、影響 評価は主に絶滅危惧種や環境指標となる種に対して行われるため、あらかじめ、生息可 能性のあるそれら種の確認を逃すことがないよう、詳細な調査時期、調査頻度、採集方 法が決定される<sup>28</sup>。日本のEIAでよく利用されるのは、任意採取法(スィーピング法、ビ ーティング法、石起こし法など)、ベイトトラップ、ライトトラップ(カーテン型、ボ ックス型)である。日本のEIAでは絶滅危惧種等への調査圧の懸念もあり、絶滅危惧種 の確認用にトラップが使用されることはほとんどなく、トラップを用いる場合にも、頻 繁な見回りなどを行い、昆虫が捕殺されないようにする場合に限られる。

一方、本調査では、一般的なEIA調査では実施されていないDNAバーコーディング手法を使用し、昆虫相の種構成(種数及び個体数)の推移について定量データを得るため、必要な昆虫類を、可能な限り無作為に、大量に採集するためのサンプリング手法について検討する。

# (2) 採集方法の比較検討

採集される昆虫の個体数や種数は方法によって大きく異なる。DNAバーコーディング 手法を用いた昆虫調査を実施したカナダのプロジェクト<sup>29</sup>では、以下6つの異なる方法で 昆虫を採取し比較している。

各方法の概要を表7.2に整理した。

#### ▶ 十壤動物採集取装置 (Berlese Funnel)

<sup>&</sup>lt;sup>28</sup>例えば、湿地を指標するミドリシジミ類を確認したいのであれば、多くの個体が飛翔する初夏の早朝の 目視調査、水辺を指標するトンボ類、ホタル類などを確認したいのであれば初夏から夏季の目視調査、 希少なゴミムシ類を確認したいのであれば河川敷へのピットフォールトラップの設置、といったように、 対象により確認・採集方法が異なる。

<sup>&</sup>lt;sup>29</sup>Expeding Impact Assessments with DNA Barcoding: A pilot study at New Gold's New Afron Site

- ▶ スウィーピング法:植生の上をさらうように網を振って採集する方法
- ▶ ピットホールトラップ:地面にコップなどを埋めて落ちた昆虫を採集する方法
- ♪ パントラップ法:皿状のうつわに水と中性洗剤を入れて採集する方法
- ▶ インターセプトトラップ:透明なガラス板を使用し、衝突して落下した昆虫を採集する方法
- ▶ マレーズトラップ:テント型の網を張り、ネット部に衝突した昆虫類を採集する 方法

表 7.2 昆虫調査手法の概要

昆虫調査手法	主な対象昆虫類	概要			
土壌動物採集装置 (ツルグレン法)	土壌生物	採取した林床の土壌や落葉を 自熱灯の熱で乾燥させること により土壌中の小動物を装置 下部に追い落として採集する 方法。 微細な土壌生物を対象として			
スウィーピング法	昆虫類全般	おり、一般的な陸上昆虫類の 採集方法ではない。 捕虫ネットを振り、草や木の			
	氏·马积·王//(X	枝の先端等をなぎ払うように してすくいることで、木牧 草上等に静止している昆虫類の 等を捕まえる人の昆虫類を揺 等を捕まえるの見虫類を採 集できるが、昆虫の生態が 集できる程度の事門知広の 要。また、 場合は多くの人力を 必要。			
ピットホールトラップ	アリやゴミムシの仲間など 地上を歩く昆虫類(徘徊性 昆虫)	地面と同じレベルに口がくる ように、プラスチックコップ 等を埋め、一晩程度放置した 後に偶発的に落下した陸上昆 虫類等を回収する方法。陸上 昆虫類のうち徘徊性昆虫のみ が対象。			
パントラップ法 (水盤トラップ法)	主に移動経路として地表面付近を利用する昆虫類	地面に置いた平たい容器に水 を張り、徘徊性の陸上昆虫類 やハエ等を採集する方法。 陸上昆虫類のうち主に地表面 付近を飛翔するか歩いている 昆虫類を採集する方法。			

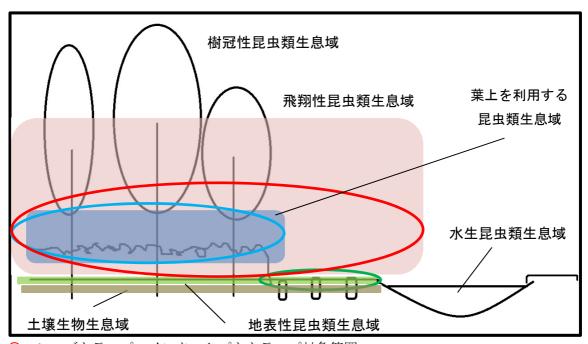
昆虫調査手法	主な対象昆虫類	概要
インターセプトトラップ	飛翔性昆虫類。特に小型甲 虫類。	陸上昆虫類のうち地表近くを 飛行する小型昆虫を衝突墜落 させて採集する方法。
マレーズトラップ	飛翔性昆虫。特にハエ目 (双翅目)、ハチ類(膜翅 目)	陸上昆虫類のうち飛翔性昆虫 類を対象とし、ネット部に衝 突した昆虫類を上部の瓶で採 集する方法。 他のトラップは 1 日後などに 回収する必要があるが、毒ビ ンに昼夜を問わず採集でき る。回収頻度も週 1 回程度の ため簡易である。

※樹冠部 (樹木最上部) に生息する飛翔性昆虫類は、インターセプトトラップやマレーズトラップでも採集困難。

このカナダのプロジェクトでは、前述の6つの方法で採集した全ての昆虫3,980種のうち、マレーズトラップでは全体の43%にあたる1,731種が採集でき、6つの方法中、最も多い種を採集できたと述べている。

前述のように、これら6つの採集方法は、それぞれ採集環境、採集可能範囲、対象昆虫類といった採集条件が異なる(図7.1参照)。マレーズトラップで採集された昆虫類は、最も種数や個体数が多い飛翔性昆虫類を採集した結果として、総数の43%となるのであり、調査範囲の昆虫相の43%がマレーズトラップで採集されたわけではない。マレーズトラップでは採集できず、別のトラップで採集される昆虫類が存在する点にも注意が必要である。

ただし、このプロジェクトの結果から、本調査のように、乾燥熱帯林内の<u>多くの飛翔</u>性昆虫種を採集する必要がある場合、パイロット調査で採用したマレーズトラップは妥当な採集方法であることが示唆される(7.2.1)。



○マレーズトラップ・インターセプトトラップ対象範囲、○ツルグレン・ピットホールトラップ・パントラップ対象範囲、○スィーピング対象範囲図7.1 昆虫類生息域と採集方法(各採集方法の採集限界)

マレーズトラップは、大型の昆虫類や樹冠部に生息する昆虫類、水中に生息する昆虫類の採取には向かないが、DNAバーコーディング分析に必要な多種・大量の昆虫類サンプルを省力的にに採集できる点が他の採集方法に勝る。

マレーズトラップで採集できる飛翔性昆虫類には、環境影響変化を見る上で必要となる 環境依存性の高い種も含まれる。本調査でも事業の影響を受けたと考えられた科のうち、 ゾウムシ科の一部、タマバエ科は、幼虫が特定の植物の葉や枝、花芽(かが)などに寄生し、 虫瘤(ちゅうえい)(Gall)を作る植物依存性の高いグループである。また、同様に影響を 受けたと考えられるコウチュウ目のハムシ科は葉を食し、こちらも植物依存性が高い。事 業の影響を受けたと考えられた科にはチョウバエ科のように湿った環境を指標する種も含 まれ、乾燥による影響も示唆された。また、貯水池造成の影響と思われる水生昆虫類の科 も確認された。

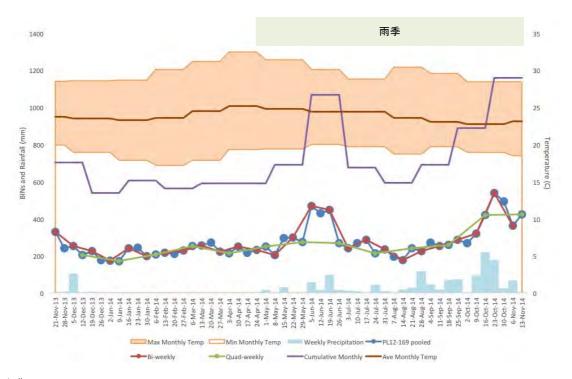
このような特定の環境に依存する科が選択的に影響を受けたことが確認されれば、開発 の影響をみることが可能と考えられる。このためには、種構成や出現の有無・変化を、生 物多様性評価のための指標(種数・個体数、その他の指標)を用いて確認していくことに なる。

データ分析や考察の際は、マレーズトラップの特性(小・中型の飛翔性昆虫類を主な対象としている・光の射す向きや強度の変化で採集効率が変化する)について考慮することが求められる。また、影響の分析のための調査地点の選定方法を検討することが求められるとともに、影響の分析の際には、地点間の単純な比較は困難であることに留意する。

# (3) DNA 分析対象のサンプル数を減らした場合のデータの変化

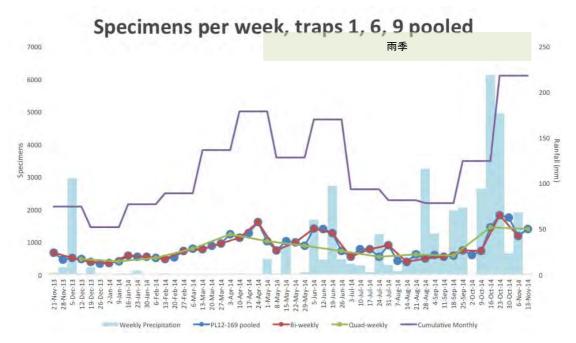
DNA 分析対象のサンプル数を減らした場合のデータの変化を検証するために、No. 1, 6 及び 9 のサンプルのデータを対象とし、週ごとに回収されたサンプリングボトルの中から、DNA 分析に送るサンプルを①毎週、②2 週間に一度、③月に一度、と変え、種数(図 7. 2)及び個体数(図 7. 3)について比較した。

図から読み取れるとおり、2週間に一度の頻度であれば、概ね毎週のデータと同様の 推移を示すが、月一度の頻度のデータでは、雨季開始直後(6月頃)の大きな増加が反 映されなくなるなど、種数及び個体数の変化が把握できない場合があった。



出典: GDFCF Report

図 7.2 サンプル数を減少させた場合の種数の変化



出典:GDFCF Report

図 7.3 サンプル数を減少させた場合の個体数の変化

# 7.2.4 解析・評価手法の確立についての検討

生物の調査により環境を評価する方法は、大きく分けて以下の2つがある。

- ▶ 指標種に着目した評価手法
- ▶ 群集生態学を解析する評価手法

現在、EIAにおける生態系の評価手法は、開発が及ぼす生態系への影響を網羅できる評価手法の確立は困難であるため、調査で確認された特定の種に注目して生態系への影響を把握する手法で行われている(指標種に着目した評価手法)。特定の種として、下記などについて、生態系内での役割に基づいて選定し、調査・評価することが一般的である。また、絶滅の危機にある保全及び保護すべき希少種などが確認されている場合は、これらも評価対象に含まれる。

- ▶ 上位性の種:生態系ピラミッドの上位に位置し生態系に対する影響力や波及効果が大きい上位種(肉食のライオンなどの哺乳類やワシ類など大型猛禽類など)
- ▶ 典型性の種:対象地域の生態系の中で重要な機能的役割を有する種(湿地環境を 代表するカエル類など)
- ▶ 特殊性の種:特殊な環境等を指標とする種など(湿地に生息するホタル類、洞窟性のコウモリ類、樹洞性生物など)
- ➤ 絶滅危惧種:絶滅の危機に瀕した種。国際的な生息生育状況に関してはIUCNが、 各国の状況に関してはそれぞれの国の法令等で指定される。上記の上位性の種や 特殊性の種が指定されることが多い。

しかし、生態系(ecosystem)は多種多様な生物で構成された生物群集(菌、植物、動物など)と、これらの生息・生育環境である物理的環境(大気、水、地質など)の非生物的環境)が複雑な関係で成り立っているダイナミックで複雑な系である。特定の種にのみ注目した評価手法では、開発が及ぼす生態系への影響を適正に評価することに限界があり、アセスメントにおける課題とされている。これを解決するために検討されているのが、生物群集の構造を解析する評価手法である(群集生態学を解析する評価手法)。これは、現在使用されている特定の種に注目する手法とは異なり、解析対象の種を等価に扱い、群集内の種数と個体数による客観的な定量データから、群集構造や種多様性をさまざまな指数を使って評価する手法である。本調査では、DNAバーコーディング手法を使用し、遺伝子レベルで多数の種の正確な特定を比較的容易に行うことで、定量的な評価を実施することが可能となり、アセスメントにおける生物群集の調査と解析を基にした評価を行うことができる可能性が示唆された。特に、コスタリカのように種数が多く、同定が困難な国では、本手法の適用により、影響の分析が比較的容易に行えることが確認された。

表7.3に、DNAバーコーディング手法で得られるデータで実施可能と考えられる評価手法及びメリット・デメリットを整理した。なお、DNAバーコーディング分析の結果は膨大で様々な活用方法が可能であり、活用方法は組み合わせて利用することができる。なお、本調査では試行的に1年分のデータを分析したが、継続して本調査を行う場合、今回は実施できなかった経年変化の推移確認の方法についても、2年目には検討する必要がある。また、その結果で長期的な調査のポイントなどを再考することも必要である。また、今後の評価方法の確立に向けて、第6章に掲げた「影響分析のフロー」(図6.1)の手順を考え方の一つの軸としながら、分析結果を踏まえて専門家による分析手法の更なる検討が必要となる。

## 7.2.5 従来の生物相調査と物理化学的調査との比較検証

## (1) 従来の生物相調査と DNA バーコーディング分析手法の比較

表 7.3 に示すように、通常は、大型哺乳類など生物相の上位種や環境を代表する種に 焦点を当てた影響評価がなされるが、DNA バーコーディング手法では多くの微小~中型 の飛翔性昆虫類を定量的にサンプリングすることで定量的に狭い領域の環境の変化を追 えることが期待される。それぞれの方法にメリット・デメリットが存在し、一般的な方 法では、保全対策を検討しやすいメリットがある反面、コスタリカのように生態学的知 見が未整備のエリアでは指標種の選定自体が困難であるといったのデメリットがある。 一方、DNA バーコーディング手法を用いた評価手法では、分析機器にかけることで同定 が簡易で正確である反面、個々の種の重要性等の特性は考慮されないため、環境の大き な変化を見過ごす恐れも否めない、現在のところコストが高い等のデメリットがある。

本調査では、パイロットプロジェクトの結果、伐採による影響(太陽光の増加等)の 範囲が示唆された。より精度の高い結果を得るためには今後2年目、3年目の結果を確 認する必要がある。

また、昆虫類の同定は専門家の資質により、得意とするグループに偏りがあるため、専門家の専門性、レベルによっては、特定のグループ(たとえばコウチュウ目等)は同定ができ十分なリストが作成されるが、別のグループに苦手があると(たとえばハエ目は同定できないなど)リストの充実にばらつきがでることもある。苦手な分類分野によっては、同定違いが発生する可能性も否定できない。本調査で検討した DNA バーコーディングによる調査では、手順どうりに分析し、DNA ライブラリに蓄積されたデータと一致すれば同定ができ、専門家によるバラつき、ミスはない。

なお、コスタリカに生息する昆虫類は研究途上の種が多く、一般的な場合よりも人の手による確認は困難である。調査期間・頻度が異なるため単純な比較はできないが、ICEによる一般的な昆虫類調査(目視等)で確認された昆虫類は約210種、本パイロット調査によるDNAバーコーディング手法で確認された昆虫類はは10,000種以上であった。

## (2) 物理化学調査と DNA バーコーディング手法との比較

本調査で提案したように、地点ごとに、目ごと、科ごとの推移を詳細に追うと、アクセス道路脇のトラップNo.7 などで昆虫類への影響と思われる推移が確認できる可能性を示すことができた(ただし、季節変動の確認には通常数年を要し、1年で判定するのは危険である。今後継続的な確認が必要である。)。

今回は、粉じんや騒音、硫化水素濃度等の量について比較データがないため、直接的な比較はできないものの、自然環境への直接的な影響を把握できるという面では、物理化学的調査より優れていると考えられる。

### 7.2.6 費用対効果の比較検証

# (1) DNA バーコーディング手法に必要な費用

マレーズトラップによる採集とDNAバーコーディング手法を組み合わせた調査手法では、主に以下の費用が必要となる。

- ▶ マレーズトラップ設置前の検討、設置に関わる人件費
- ▶ サンプル回収に必要な人件費
- ▶ サンプルの保管及び輸送費
- ➤ 採集されたサンプルのDNA分析費用

# 表7.3 一般的なEIAにおける評価手法及びDNAバーコーディング手法で得られるデータを用いた評価手法

	評価手法	評価手法の概要	評価の難易	効率性	費用・期間	その他メリット	その他デメリット	
—;	一般的なEIAにおける評価手法							
1	特定の種に着目し評価する	生態系における上位性、機能性または特殊性などに着目し、指標種を設定してその種への影響を通し生態系全体を評価する方法。	△ 対象種の生態学的知見と 調査者の専門的知識が必 要であるが、評価方法は 比較的明確である。 専門家のアドバイスが必 要である。	〇 指標となる種に焦点を 当てて、効率的に調査 を実施することができ る。	〇 専門家の人件費(採集及び 同定作業)	<ul><li>・ 保全対策を検討しやすい</li><li>・ 評価・予測が感覚的に分かり やすい</li></ul>	<ul> <li>対象地域の生態学的知見が整備されていないと指標種を選定するのが困難</li> <li>生態系を指標する特定の種のみに注目するため、その他の種への影響が適切に評価されない。</li> <li>分析結果の検討には専門家のアドバイスを受けることが必要である。</li> <li>サンプルが多い場合には同定に時間と費用がかかる。</li> <li>サンプルの同定の不確かさが大きい。</li> <li>一般に、連続した調査は行われないため、調査時期に結果が左右されやすい。</li> </ul>	
DN	Aバーコーディングをf	<b>使用した評価手法</b>						
1	定量的データを 指数に換算し評 価する	Shannon-Wiener指数やSimpson多様度 指数など指数を用いて評価する。 群集内の種数と個体数による客観的な 定量データを基に群集構造や種多様性 を指数を使って表現する	O 個々の種についての知見 を必要とせず、指数化す ることで数字で評価でき る。	△ 評価のためにある程度 の昆虫を採集する必要 があるが、マレーズトラップの利用により効率化は図られる。	<ul> <li>▲</li> <li>作業員の人件費(トラップの設置、サンプルの回収・保存)</li> <li>・ DNA分析費用</li> <li>・ 特に長期的なモニタリングでは調査頻度を検討することで、コストの低減を図ることが可能</li> <li>・ 特に長期的なモニター</li> </ul>	・ 同定結果の信頼性は高い。 ・ 生息する昆虫群集の複雑さを 客観的な数値で評価できる。 ・ 経時的な環境変化を表現できる。 ・ 複数地域の環境の比較ができる ・ 令後のより詳細な分析や、そ の他の分野でのデータ活用の 可能性がある。	<ul> <li>種の重要性や希少性などの特性は考慮されず、環境の大きな変化を見逃す危険性がある。</li> <li>個々の種の保全対策に繋げにくい。</li> <li>数値が群集構造の何を意味しているのかが分かりにくい</li> <li>分析結果の検討には専門家のアドバイスを受けることが望ましい。</li> <li>どのような種が影響を受けたのかについては別途検討が必要</li> </ul>	
2	定量的データを分析し、定性的に評価する	分析結果のデータを解析し、定性的に評価する。 例. サンプル全体の種数で結果をみるのではなく、ある分類群への絞込みを行い、データを分析する。 例. 標準的な分析手法を適用する。	△ 現状ではせいぜい科レベルまでの同定しかできないため、特殊な専門性はそれほど求められないが、考察には専門家のアドバイスが必要である。また、分析手法の習得は必要である。		リングでは調査地点を絞ることでコストの低減が可能。	・ 同定結果の信頼性は高い。 ・ 定量的なデータを基に、合理 的な手法による評価が可能で ある。 ・ 今後のより詳細な分析や、そ の他の分野でのデータ活用の 可能性がある。 ・ 様々な切り口での分析が可能	<ul><li>・ 合理的な手法を採用することにより、客観的な評価は可能である。</li><li>・ 分析結果の検討には専門家のアドバイスが必要である。</li></ul>	
3		生態系における上位性、典型性または 特殊性などに着目して、指標種を設定 してその種への影響を評価する。	△ 対象種の生態学的知見と 専門的知識を有する専門 家によるアドバイスが必 要である。			<ul> <li>・ 同定結果の信頼性は高い。</li> <li>・ 指標となる種に焦点を当てて、その種の変化を定量的に評価することができる。(例、外来種等)</li> <li>・ 今後のより詳細な分析や、その他の分野でのデータ活用の可能性がある。</li> </ul>	<ul> <li>対象地域の生態学知見が乏しい場合は、指標種を選定することが困難となる可能性がある。</li> <li>分析結果の検討には専門家のアドバイスを受けることが必要。</li> <li>上位種を対象として、DNAバーコーディングを利用して餌となる動植物を確認する手法は確立されているとは言えない。</li> </ul>	

2011 22X 7 X C X / 1					
No.	必要な費用	概要			
1	マレーズトラップ設置前の 検討、設置に関わる人件費	ある程度、昆虫類に知識がある者による設置場 所の選択、設置。設置監督			
2	回収に必要な人件費	サンプル回収に必要な人件費。サンプルの回収 頻度及び調査期間による。			
3	サンプルの保管及び輸送費	ガラス瓶、エタノール、冷蔵庫の管理費用、保 管作業にかかる人権費、輸送費用			
4	DNA分析費用	<ul><li>10米ドル/サンプル</li><li>大量のサンプルの場合は、ケースバイケースで異なる。パイロット調査における費用は、60,000米ドル/トラップ、約2米ドル/サンプル</li></ul>			

表7.4 必要事項と費用

# トラップの設置

トラップ設置にかかる費用としては、対象地域の自然環境に精通した専門家による設置場所の検討、設置指導が必要である。必要な人件費は、専門家による事前踏査(1日程度)、専門家及び作業員の設置作業(1日程度)程度となる。トラップ設置時に周辺環境について写真で記録することが望ましい。

# <サンプルの回収

本パイロット調査で実施したケースでは、1年間に週1回の頻度でサンプルを回収しており、この作業に必要な人件費が必要となる。1回の回収作業は、移動を含めると約半日程度となる。

## 保管·輸送

サンプルの保管・輸送にかかる費用としては、ガラス瓶、エタノール、冷蔵庫の管理 費用、保管作業にかかる人権費、輸送費用が必要となる。

# DNA分析

本調査で採用したマレーズトラップを利用した場合、大量の昆虫(ハエ、ハチ等)がマレーズトラップで採集され、これらの個体を一つずつ分析する必要がある。パイロットプロジェクトで DNA バーコーディングを実施しているカナダのゲルフ大学では、スタンダートの分析費用を 10 米ドル/サンプルと設定しているが、大量のサンプルの DNA 分析を依頼する場合は、分析の対象となる個体数は事前には正確に把握できないため、類似の調査での経験を基に 1 トラップで採取される大まかな個体数を想定して、ケースバイケースでトラップ毎に分析費用等を設定している。パイロットプロジェクトでは、これまでの周辺エリアでの経験を基に、1 年間分のサンプルの DNA 分析費用として 60,000

米ドル/トラップと設定された。今回は、最初に6地点分のサンプルの分析、途中追加された1地点のため、合計7地点のトラップで採集されたサンプルを分析し、DNA分析費用総額は420,000米ドルであった。また、DNA分析費用を全個体数を割った最終的な単価費用は、約2米ドル/サンプルとなった。

手法の検討のため、本調査でのサンプル採取頻度や地点数は多いが、特に長期的な影響を把握していく場合には、サンプルの採集頻度や地点数を減らすことで、費用削減は 可能と考えられる。

また、DNA分析費用を抑える方法として、ポータブルのポケットサイズのDNA分析装置 や採取された大量のサンプルを一度に分析することが可能な手法(Next generation DNA sequencing)の開発が進められている。ただし、これらの手法は実用段階ではない ため、今後の実用化の可能性や実用化した場合のDNAバーコーディング手法への利用方 法について検討する必要がある。

## (2) 一般的な昆虫類調査との費用の比較

EIA調査における一般的な昆虫類調査に必要な費用は、主に調査する専門家の現地調査と分類にかかる人件費である。一般的な種の場合は、専門家により容易に特定できるが、そうでない場合は特定に時間及び費用がかかる場合がある。

### 7.2.7 調査を継続的に行うための実施体制

パイロット調査の方法・手法及び分析結果の検討は、地熱開発事業者(ICE)、グアナカステ保全地域局(ACG)及び当該エリアの生態系に精通している専門家等の様々なステークホルダーが関与して継続的に建設的な議論が行われており、地熱開発の持続可能な開発という観点からも、引き続き同様の体制を構築していくことが望ましいと考えられる。一方、これまではGDFCFが自主的に昆虫採集を実施してきたが、地熱開発事業者であるICEが主導的な立場で昆虫調査を実施し、ACG及び専門家のサポートを得ながら進めることが望ましい。DNAバーコーディング手法を用いた昆虫調査を継続する場合に必要と思われる体制を以下に示す。

	双口:						
No	機関	役割					
1	ICE	地熱開発事業者として、昆虫調査を主導的に実施する役割を担う。主な役割は、以下となる。					
		■ サンプリングをDNA分析実施機関に送付する。送付に必要な手続き(ABSの手続き)をACG及び専門家と協力して実施する。					

表7.4 実施体制

No	機関	役割
		■ 専門家と協力して分析結果を解析する。
2	ACG	■ 資金の確保 グアナカステ保全地域の管理機関として、地域の生態系保全の観点よ
2	ACG	り地熱開発事業者に働きかける。
3	専門家	地域の生態系や影響評価に精通している専門家により専門的なアドバイスを提供する。  対象地域の生態系に精通した専門家が関与することが望ましい。  環境影響評価の観点から、マレーズトラップの設置場所、分析データの解析及び評価手法の方向性を検討することができる専門家が関与することが重要である。
4	DNA分析機 関	サンプリングのDNAを分析する機関。

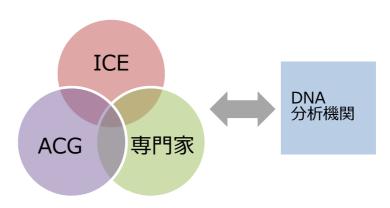


図7.4 想定される実施体制図

### (1) サンプリング計画

サンプリングに先立ち、サンプリング計画を立案する必要がある。サンプリング計画は、ICEが ACG 及び専門家と協議をして策定する必要がある。また、DNA 分析機関を特定し、実施スケジュールや分析費用、必要な手続きを確認する。サンプリング計画策定時には特に以下の点について留意する必要がある。

- ▶ 今回の調査地点の配置を参考にして効率的で効果的な地点を設定する。
- ▶ サンプルを回収する人員の確保(サンプルの回収頻度は週1回程度)
- > DNA 分析機関との事前の分析費用の交渉
- ▶ サンプルの保管方法の確認及び保管場所の確保

# (2) サンプリングの実施及び保管

サンプリング計画に基づき、マレーズトラップの設置、サンプルの回収、保管を行う。 この際にはサンプリングチームが必要となる。サンプリングチームのメンバーには、サ ンプルの取り扱い(保管・輸送を含む)に精通した者を含む必要がある。特に以下の点に留意する必要がある。

- ➤ ICE の地熱開発チームと連携係して、可能な限り将来起こりうるプラットフォームの拡張やアクセス道路の建設計画を確認してマレーズトラップの設置場所を検討する。
- ▶ マレーズトラップを設置する際は、専門家に同行してもらい、設置向き及び設置 場所を確認することが望ましい。

# (3) サンプルの輸送及び DNA バーコーディング分析

保管したサンプルを DNA 分析実施機関に輸送する手続きを行い、サンプルを輸送して DNA 分析を依頼する。輸送する際には、ABS の観点より CONAGEBio に事前に承認を得る 必要があるため ACG 及び専門家の協力を得ながら進める必要がある。

## (4) 影響の分析

DNAバーコーディング分析の結果を整理して、各種検討を行う。影響の分析手法は、 現時点では確立されておらず今後も検討を重ねる必要があるため、以下の専門性を有す る専門家が関与する必要がある。

▶ 対象地域の生態系に精通した専門家 環境影響評価の観点から、マレーズトラップの設置場所、分析データの解析及び評価手法の方向性を検討することができる専門家

# 7.2.8 ABS の観点による留意点

コスタリカでは、1998年に制定された生物多様性法(法令第7788号)において、遺伝子的構成要素及び生化学物質へのアクセスの保護に関して規定される。同法では、遺伝子的構成要素及び生化学物質へのアクセスを管轄する機関をMINAEの下部組織にあたるCONAGEBio(生物多様性管理委員会)とし、アクセスに関する承認の権利を与えている。同法に基づき、生物の遺伝子を分析する際には、事前にCONAGEBioに申請し、承認を得る必要がある。

アクセスの許可手続きは、遺伝子構成要素及び生化学物質へのアクセスに関する基準に関する法律(法令第31号、514番 MINAE)で規定される。許可には、基礎研究、生物資源探査及び商業利用の3種類があり、本調査で実施するDNAバーコーディング調査は基礎研究が適用される。許認可の申請には、関係者の氏名、目的、対象地の位置、土地所有権の証明書、サンプルの採取方法、生態系保護の寄与の方法等を記載する。また、調査が完了した後には、調査結果を提出が求められる。

### 7.3 今後の課題及び提案

## 7.3.1 今後の課題

# (1) 環境影響評価制度

米国やニュージーランドでは地熱開発地域を絞り込むための上位計画が策定されているとともに、日本では「国立・国定公園内における地熱開発の取扱いについて(平成27年10月2日 環境省自然環境局長通知)」により、自然公園内における地熱開発の進め方が整理されている。

コスタリカでは地熱開発事業に対してはEIAの実施が法令で義務づけられている。しかしながら、地熱開発地域を絞り込むための上位計画の段階において戦略的環境アセスメント (SEA)の制度は有しておらず、自然公園内の地熱開発の進め方について整理されていない。また、コスタリカには、EIAの調査範囲や方法を決めるスコーピング段階において、ステークホルダーの意見を求める制度もなく、地熱開発初期段階における環境配慮の進め方が課題となっている。

地熱開発はプラットフォームやパイプラインを複数個所で開発していく必要があり、また、ACG保護区域周辺では、ボリンケンなど、将来的にはさらに地熱掘削サイトが増える可能性があることから、累積的影響という観点から、日本、米国やニュージーランドで導入されている景観の観点も入れつつ、公園周辺の地熱開発を総合的、長期的視点から検討していくことが求められている。この際、今回パイロット調査で実施した手法を用いて継続的に昆虫相の構成要素の変化を分析することで、ACG保護区等のセンシティブなエリアにおける地熱開発全体による影響について評価できる可能性があり、将来的には許容される地熱関連サイトの総数の規制を含むガイドラインの作成にも役立つ可能性がある。さらに本手法はコスタリカのみならず、その他の国や地域でも適用することが可能な汎用的な仕組みであり、国際的に広く活用される可能性を有している。

# (2) EIA の生物調査手法の改善についての課題

EIAにおける生物調査の一般的な目的は、重要種の保全対策のための状況把握、生物相への事業の影響を予測・評価することである。今回のパイロット調査からは、昆虫類と事業の影響の関係についての一定の知見が得られた。これは大量の個体数・種数が得られたことで、特定の目や科への選択的な影響についての分析が可能となったことが大きい。マレーズトラップによる昆虫類の採集、採集された昆虫類のDNAバーコーディング手法を組み合わせた本調査手法は、省力的に昆虫類を採集することができ、特に微小な環境における昆虫類を指標とする環境モニタリング調査手法として有効と考えられる。しかし、実用化のためには、環境指標となり得る科や種の生態、生息環境要因などをある程度整理した上で、影響評価の手法を確立する必要がある。

EIA における生物調査の一般的な目的は、重要種の保全対策のための状況把握、生物相への事業の影響を予測・評価することであり、生態系の調査及び評価に関しては、植生、哺乳類、鳥類、両生類及び爬虫類を対象として、重要な種や注目すべき生息地への影響を評価指標(上位性、典型性、機能性、特殊性)としていることが一般的でである。今回の分析結果は、PL12 の開発による様々な活動による環境変化が昆虫類相に及ぼす影響の可能性がアクセス道路沿いの地点で認められ、飛翔性昆虫類の個体数・種構成の推移による生態系への影響評価について EIA での活用の可能性が示唆された。

マレーズトラップによる昆虫類の採集、採集された昆虫類の DNA バーコーディング手法を組み合わせた本調査手法は、省力的に昆虫類を採集することができ、特に微小な環境における昆虫類を指標とする環境モニタリング調査手法として有効と考えられる。本プロジェクトサイトも ACG 保護区域(ユネスコ自然登録地)から 50m の場所に位置しているなど、地熱開発は、国立公園やユネスコ自然登録地など自然環境豊かな地域で実施されることが多いことから、他地域よりもより詳細で適切な環境配慮が求められる。本調査で適用した手法は、長・短期にわたり、きめ細やかなモニタリングが可能であることと考えられ、国立公園等のセンシティブなエリア等における環境配慮手法としての活用の有効性が示唆された(図 7.5 参照)。

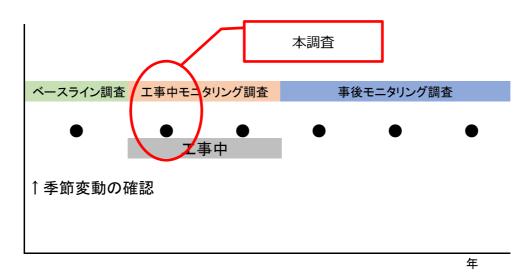
一方、本調査では本来の EIA 調査の手法と異なり、工事と同時期に調査が行われているため、厳密には工事前のベースラインデータが欠け、工事前後の影響の分析が不十分である。また、雨季・乾季の季節変化を1回含む1サイクル分のデータであるため、昆虫類相の推移が季節変動によるものなのか、開発によるものなのかの判断を行うことが容易ではない。また、生物相の推移の把握には通常複数年要する。本調査で影響が示唆されたNo.7の影響確認や、50m 森林内部に位置しているトラップ(本調査では、3 つのうち1 つのトラップのみ DNA 分析の対象としたの地点における影響確認、全体の長期的な影響確認、手法の有効性の確認のためには、複数年の継続した調査が必要であり、事後 3~5 年程度の調査の検討が必要と考えられる(図 7.6 参照)。

影響の分析については、全体の種数、個体数の変化について、目レベル、科レベルでの 検討を行い、絞込む手法を用いたが、これは一定レベル以上の環境影響を確認するための 手法とも言え、細かな種に対する変化を確認するための方法ではない。

今後、複数年のデータが得られる場合には、環境影響の解析という観点から、どの程度 のレベルでの分析を行う必要があるのかについて検討していく必要がある。

	評価手法	具体的な評価方法	特徴
一般的なエリア	一般的な EIA に おける評価手法	生態系(哺乳類、鳥類、魚類、魚類、植物)における上位性、機能性、特殊性などに着目し、種への影響を通し生態系全体を評価	環境の 大きな変化を 捉える
センシティブ なエリア	DNA バーコーディ ング手法を用いた 評価手法	昆虫類の種構成推移に ついて定量データに基づ き評価	詳細な影響 を把握するこ とが可能

図7.5 EIAにおける一般的な生物調査及び本調査位置づけ



※●: EIA における一般的な生物調査実施

図 7.6 EIA における一般的な生物調査及び本調査位置づけ

## 7.3.2 提言

今後の課題を踏まえて、推奨事項について下記のとおり提案する。

# (1) 地熱開発と自然環境保全の両立のための改善策

コスタリカにおける地熱開発と自然環境保全の両立のためには、制度面、技術面において地熱開発事業者 (ICE) と自然環境保全を担う機関 (ACG) が積極的に協力していく必要がある。今回の調査では DNA バーコーディング手法の活用可能性が示唆されたが、より精度の高い情報を得るためには、今後、ICE、ACG などの関連機関が協働して調査を継続することが望ましい。このような調査が継続され、情報が蓄積されれば、地熱開発の累積的影響評価が可能となり、上位計画段階における自然環境と調和した地熱開発を

実施するための環境配慮事項の検討を行うことが可能となる。このような調査を通じ、 地熱開発と自然公園との関係の整理を行うことにより、自然公園等の自然環境保全が重 要な地域において地熱開発を実施する際の環境配慮に係る方針を策定することが望まし い。この際、ステークホルダーエンゲージメントのあり方についても検討していく必要 があるとともに、適切な予算の手当も求められる。ICE は開発事業者であることから、 ガイドライン策定にあたっては、国家環境技術局(SETENA)の協力が必要となることに 留意が必要である。基本的な考えは図7.7に示すとおりである。

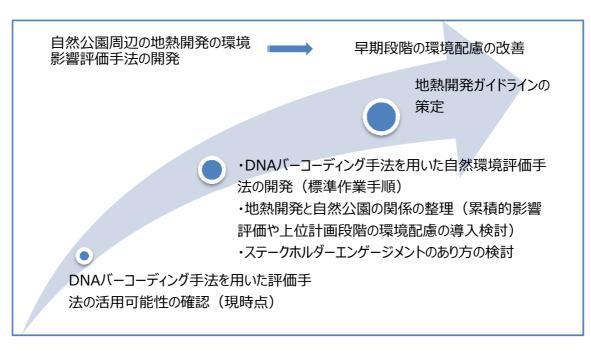


図7.7 推奨される改善策の概要

自然公園等の自然環境保全が重要な地域において地熱開発を実施する際の環境配慮に係る方針を策定する場合、大きく以下の2つの活動を行うことが必要となる。

- ・DNA バーコーディング手法を用いた自然環境評価手法の開発(標準作業手順)
- ・地熱開発の累積的影響評価や上位計画段階における自然環境と調和した地熱開発を実施するための環境配慮事項の検討

また、方針検討にあたっては、他国の事例も参考にして実施ことが望ましい。

DNA バーコーディング手法を用いた自然環境評価手法の開発(標準作業手順)を行う場合の活動内容案を表 7.5 に示す。2017 年 2 月時点で、PL12 からの蒸気供給は開始されていないが、蒸気供給が開始された際には、No.7 地点近傍のセパレーターからの蒸気の影響も発生すると考えられる。硫化水素の影響を把握する上で気象観測データの取得が望まれる。このように周辺の開発も含め、事業活動は刻々と変化しているため、長期にわたる影響を把握するためには 5 年以上のデータも必要と考えられる。ラスパイラス II の EIA の

モニタリングデータに加え、DNA バーコーディング手法を用いたデータの蓄積・解析・検討によって、センシティブなエリアにおける地熱開発全体による影響についての評価手法構築の可能性があり、将来的には許容される地熱関連サイトの総数の規制を含むガイドラインの作成にもつながるものと考えられる。

表7.5 活動内容1:DNAバーコーディング手法を用いた自然環境評価手法の開発

表7.5 活動内容1:DNAバーコーディング手法を用いた自然環境評価手法の開発					
必要 事項	案1	案2(案1+追加調査)	案3(案1を簡素化)		
活動	・文献調査 ・マレーズトラップによる 採集 ・DNAバーコーディング分析による種同定 ・植生調査 ・気象調査 ・採取法検討調査 ・分析結果の解析・考察 ・手順書類の検討・作成 ・学会発表	<ul> <li>・文献調査</li> <li>・マレーズトラップによる 採集</li> <li>・DNAバーコーディング分析による種同定</li> <li>・植生調査</li> <li>・分析結果の解析・考察</li> <li>・手順書類の検討・作成</li> <li>・学会発表</li> </ul>	・マレーズトラップによる 採集 ・DNAバーコーディング分 析による種同定 ・分析結果の解析・考察		
得られる 成果	<ul><li>・地熱開発モニタリング結果(飛翔性昆虫類)</li><li>・自然環境評価手法の検討結果</li><li>・自然環境評価手法手順書</li></ul>	<ul><li>・地熱開発モニタリング結果(飛翔性昆虫類)</li><li>・自然環境評価手法の検討結果</li><li>・自然環境評価手法手順書</li></ul>	<ul><li>・地熱開発モニタリング結果(飛翔性昆虫類)</li><li>・自然環境評価手法の簡易的な検討</li><li>・自然環境評価手法手順書</li></ul>		
技術	・植物・植生に関する知識 ・昆虫の生態に関する知 識、昆虫採集の技能 ・DNAバーコーディング分 析手法に関する技術 ・気象観測に関する技術 ・分析結果解析・考察の技 術	・植物・植生等に関する知識 ・昆虫の生態に関する知識、昆虫採集の技能 ・DNAバーコーディング分析手法に関する技能 ・分析結果解析・考察の技術	・昆虫の生態に関する知識、昆虫採集の技能 ・DNAバーコーディング分析手法に関する技能 ・分析結果解析・考察の技術		
機材	・植生調査等に必要な道具 ・気象観測に必要な機材 (雨量計、温湿度計、風 向・風速計) ・必要数のマレーズトラッ プ(その他用品含む) ・サンプル保管用冷蔵庫 ・DNAバーコーディング分 析機器 ・データ解析環境等	<ul><li>・植生調査等に必要な道具</li><li>・必要数のマレーズトラップ(その他用品含む)</li><li>・サンプル保管用冷蔵庫</li><li>・DNAバーコーディング分析機器</li><li>・データ解析環境等</li></ul>	・必要数のマレーズトラップ(その他用品含む) ・サンプル保管用冷蔵庫 ・DNAバーコーディング分析機器 ・データ解析環境等		
体制	本章「7.2.7」参照				
予算	表7.6及び表7.7参照。				
地点数	PL12周辺 9地点×3年分 5地点×2年分 2地点×1年分 ・植生調査9地点 ・気象調査1地点 ・採取法検討調査6地点	PL12周辺 9地点×3年分 5地点×2年分 ・植生調査9地点 ・採取法検討調査6地点	PL12周辺 9地点×3年分		

必要 事項	案 1	案2(案1+追加調査)	案 3 (案 1 を簡素化)
実施 期間*	・工事中及び工事後のモニタリング調査5年分 ・影響の分析手法の検討は毎年度6ヶ月程度。 ・手順書等の作成は1年目から開始	・工事中及び工事後のモニタリング調査3年 ・影響の分析手法の検討は毎年度6ヶ月程度 ・手順書等の作成は1年目から開始	・工事中及び工事後のモニタリング調査2年 ・影響の分析手法の検討は 毎年度6ヶ月程度

<sup>※</sup>工事後モニタリング調査は、長期にわたる場合、状況にあわせて数年おきに設定することも可能である (隔年ごと、3年ごと、5年ごとなどがよく使われる)。

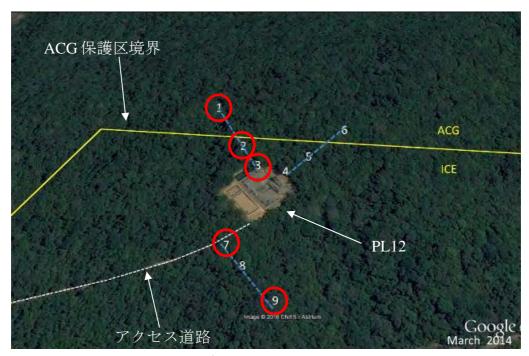
# 表 7.6 各調査の概要と費用

	N · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·					
調査	目的と概要	調査内容	費用 (コン サルタント のコストを 除く)			
パイロ ツト で 続	1年間のみの本調査結果では、季節変動との関係性など検討すべき事項が残った。自然環境の状況の確認には、3~5年間程度の調査が必要とされる。そのため、昆虫の DNA 分析を継続して実施し、その結果をもとにEIA 調査手法の改善を引き続き検討する。	<ul> <li>No. 1~9で採集している昆虫サンプルの分析。</li> <li>1~3年目のサンプリングは、No. 1~9の全地点で実施し、4~5年目は、No. 1,2,3,7,9を対象とする(表7.6及び図7.6参照)自然環境評価手法の検討</li> </ul>	表 7.7 参照			
植生調査	マレーズトラップはトラップ周辺の 植物相の影響を受けやすい。また、 開発の影響による植生変化が想定さ れるため、事前に植生を把握するこ とは重要と考えられる。	■ 各マレーズトラップ周辺 (半径約 20m 程度)の植生 調査(年 2 回実施)し、植 生の変化を観察	150 万円			
採取法検討調査	マレーズトラップの特性を詳細に把握する。	■ マレーズトラップを様々な環境、条件下、設置方向で設置し、採集された昆虫類について同様の形態学的分類を行う。 ■ 実施期間は、昆虫の活性が高まる雨季の1ヶ月程度	100 万円			
気象調査	今回、データ解析に用いられた気象 データはやや離れた地区のものであ り、特に天気の変化の激しい山間部 の実情とは必ずしも一致しない可能 性がある。このため、気象観測所の 設置が望まれる。また、硫化水素の 影響把握のためのデータを取得す る。	■ 気象観測所を PL12 周辺に 設置し、風向・風速、雨 量、気温、湿度等の気象デ ータを記録する。	~1000 万円			

左曲	DMA (A4E do 7 11 ) 100 1	現地再委託費用(USD)			
年度	DNA 分析するサンプル	分析費用	分析結果の 解析等	合計2	
2017	1年目(2013) <sup>1</sup> の残りのNo.5及び 8、2年目(2014)のNo.1-9	440,000	50, 000	490,000 (5.488 万円)	
2018	3年目(2015)の No. 1-9	360, 000	50,000	410,000 (4,512 万円)	
2019	4年目(2016)及び5年目(2017)の No. 1, 2, 3, 7, 9	300,000	50,000	350,000 (3,920 万円)	
	6年目(2018)の7,9	120,000		(1,344万)	

表 7.7 追加パイロット調査の調査内容及び費用

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>日本円への換算レートは、1USD=112円を使用。



赤丸の番号は、4年目及び5年目の調査対象トラップを示す。

図 7.6 パイロット調査のトラップ設置箇所

 $<sup>^1</sup>$ 1 年目とは、2013 年 11 月~2014 年 11 月に採取したサンプル、2 年目とは 2014 年 11 月~2015 年 11 月に採取されたサンプルを指す。3 年目以降も同様。

添付資料 1: コミッションミーティング議事録

# JICA コスタリカ案件 第1回現地業務議事録

2016年1月18日(月)16:00~17:20 サンタロセ国立公園会議室

JICA (3名) 大澤、長谷川、本田

ERM 日本(3名)坂口、鈴木、猪狩

ICE (7名)

セルヒオ・ベルムデス\*(電気部署/ICE 本部窓口)、ハルトマン\*(SAPI 担当コーディネーター/ICE グアナカステ窓口)、エディ・サンチェス (Director)、バレリー (地熱部署)、アレハンドラ、ジョハン、ランダル

ACG (3名) アレハンドロ・マシス (Director)、ルイス・ガリータ、ロヘ・ブロンコ \* 現地コーディネータパーソン

### <MOU 合意>

- ・コンタクトパーソンは、ICE はハルトマン氏、ACG はアレハンドラ氏。
- ・コミッションで DNA バーコーディングについて話し合う必要があれば、それについても 記載が必要。
- ・DNA 分析には 6 ヶ月かかる。3 月から始まると時間がない(9 月まで分析しなければならない)。サンプルを減らしても、費用、分析期間は変わらない。その後、先生が解析するために 3 ヶ月かかる(12 月まで解析しなければならない)。
- ・バーコーディングの細かい契約も重要。ICE としては分析の詳細も知りたい。(ICE ハルトマン)
- ・ジャンゼン教授のデータが明らかになった後、EIA 向上に資するか確認するのが重要な 目的と理解している。(ICE エディ)
- ・このような大がかりな分析を実施できるのはカナダの大学のみ(ACG ロヘ・ブロンコ)。
- ・昨年 SETENA で EIA に関するディスカッションがあった。プロジェクトに活かせる情報が今年発表されるかもしれんない (ICE セルヒオ)。
- ・この期間で行うべきものなのか? (ICE バレリー) -> YES
- ・サイナーは ICE エディさん、ACG アレハンドロさん、JICA 分は受託者の ERM がサインする (SAPI 監理者として)。原本にサイン後、次の人にスキャンして送る形式で MOUを完成させる。
- ・SETENA はコミッションメンバーではなく、ワークショップに参加。(ICE セルヒオ) —>EIA プロセスは SETENA 管轄なのでそれでよいか。(JICA 長谷川)

### 調査方法

- ・費用の面から 6 地点に減らしたが全部行ったほうがよい。(ACG ロヘ・ブロンコ)
- ・6 地点 (100m を除く地点) で 360,000USD。2013.9-2014.9 (1year) のサンプル。詳細は明日 1/19 にジャンゼン博士に確認してほしい。(ACG ロへ)
- ・追加調査(4-1月)は誰が実施?どのような方法で?何を比較するのか?意味がないのでは?ロードと PL 設置の影響を理解したい。これから新しい地点を設置するのか。準備できない。(ACG ロへ)
- ・金額が決まったらシェアしてほしい。また、調査方法は比較できるものを選ぶこと。(ICE エディ)
- ・USD400,000 を全て使う旨がジャンゼン博士との合意となっている。(ICE セルヒオ)
- ・SAPI では EIA 向上、DNA 研究の 2 点が記載されているが、金額のことは ICE はしらなかった。(セルヒオ)
- ・ICE と ACG と 2 者の 11 月合意によりどんどん DNA バーコーディングのサンプル数が減っており、現在 6 つ。36 万ドル。金額は決まっていない。これ以上減らされては協力できない。ただし、分析に必要なサンプル数はジャンゼン先生と調整して欲しい。(ACGロへ)

1

- ・追加調査しないで既存資料調査で比較できるのであれば、それでも可。(JICA 長谷川)
- ・既存データは INBio¹からデータをもらうのがよい。昆虫の研究に実績があるので「形態学的分析をする際の費用、人数」を見積もってもらえばよい。(ACG ロヘ・ブロンコ)
  - -> INBio の情報を引用する件 OK (ICE エディ)
- ・11月ミーティングの際、JICAに費用、目的を伝えている。(ICE セルヒオ)
  - -> 大澤さん、JICA 通訳シルビアさん OK
- ・ICE は SAPI の目的が達せられること、つまり、①現在の EIA 方法自体が適切であるのかどうか、②EIA 向上の新しいツールとしてバーコーディングが適してるかの検討が最重要。これらを達成してもらえればよい。(ICE セルヒオ)

以上

2

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> INBio <u>http://www.inbio.ac.cr/</u>

Commission Meeting, Friday, March the 4th, 2016. 9am.

Representatives of ICE, JICA and ERM are present.

Suzuki [ERM]: Introduction about the members of the commission and the pilot project. The TOR for Dr. Janzen is ready for the subcontract. Since the SAPI project is between ICE and JICA, it is important to ask questions or share any doubts. The Pilot Plan that was prepared with Dr. Janzen, was shared and he will explain in detail during the meeting the contents, but first it will be explained easily. It was agreed that the DNA of 6 traps near PL12 will be analyzed; the Pilot Plan is based on this, also using the services of the University of Guelph in Canada, with which Dr. Janzen has an agreement. Doubts about the university?

Hartman [ICE]: There is a previous experience with the university and the analysis can be conducted there, so there are no problems with it.

Suzuki [ERM]: The next point is about benefit sharing which will be explained afterwards, doubts? Point 3 it about the Malaise traps. They are from 2 years ago, 52 sampled of 52 weeks and it is proposed to send them all at once. Since the samples are from 2 years ago, that the DNA analysis might be affected is a concern but, the samples where checked and the possibility that a problem might arise is low.

Hartman [ICE]: Sergio has been investigating about this and depending on the alcohol that it is used for the samples, they can be conserved for 10 years, so no high risk is involved.

Suzuki [ERM]: The investigation from the ICE about this is very much appreciated. Still, the possibility had to be discussed, since, at the beginning, only the samples of 2 traps were going to be send, but after consulting with Dr. Janzen, it was agreed that all the samples from the 6 traps should be send. According to the agreement of the university with Dr. Janzen, if a problem arises, it would be communicated immediately. Does ICE agree with this?

Hartman [ICE]: Yes.

Suzuki [ERM]: About the DNA analysis, Dr. Janzen will explain in detail. The procedure is, a leg from each insect from each of the Malaise traps is taken, put on a plate and analyzed. The people in charge are professionals with equally professional techniques. The DNA results will be very specific. On point 2, about the impact caused by PL12, Dr. Janzen will explain in detail, but to put it simply, traps 1, 6 and 9 aren't supposed to have any impact. Then, traps 3 and 4, near the platform, will be analyzed, and then compare traps 3, 4 and 7 near the road. 1 and 3, 7 and 9 should show the impact of the development area and the on an area where no impact is expected. Another analysis point will be the frequency. First each week will be compared, then each 2 weeks, each month. Also, samples will be analyzed for each week. This data can be compared to other data of samples taken in other areas of ACG and determine characteristics of the project area taking into account the properties showed by the insect community. The next point, according to the structure of insect community, other relationships with other animals can be seen, for example the tendency of birds and mammals who

feed on the insects, and others. Other technique for collecting insects will be compared. Doubts about the methodology?

Hartman [ICE]: The methodology is understood and also how the analysis will proceed, but how can all that be related to the other biological part and how can it be used to measure the impact of the project in biodiversity.

Suzuki [ERM]: Until the analysis is performed, there is not much to be said, but in points 3 and 2 it is explained that the 95% of living land individuals are insects therefore they occupy most of the ecosystem, and through their analysis, biodiversity can be examined.

Hartman [ICE]: The previous statement cannot be confirmed yet, correct?

Suzuki [ERM]: Yes, it is not certain. The project it's based on analyze the methodology of using insects as indicators. It was discussed that it was to investigate the impact of a 2ha geothermic project, but since said project is next to a conservation area, the inquiry must be more specific.

Hartman [ICE]: It was consulted with Dr. Janzen to see if there was a method to determine if the environment is healthy or not, so, how to determine or measure using insects?

Suzuki [ERM]: Information about this will be presented, if there is a standard. The area in general must be surveyed.

Hartman [ICE]: Only using insects?

Suzuki [ERM]: Hypothetic possibility.

Eddy [ICE]: The conceptual framework talks not only about insects, but they want to verify the impact. During the monitoring phase, there we moments when the construction was ongoing, moments where there was a pause, so they want to verify how long it takes to recover to the initial state.

Suzuki [ERM]: Yes, it is important, but until no data is obtained and analyzed, nothing can be said. The answers will be shared during the commission meetings and workshops.

Eddy [ICE]: If they can go to the conceptual framework, they want to verify if there was really an impact. As an example, at the beginning all the mosquitoes were killed, but they came back after 2 hours. The general atmosphere during projects and development groups refers to speculation between temperamental people, and this is the reason a good mechanism wants to be created. For example, a sample is taken from the construction place and a different area, an impact is reflected but by the next week everything is back to normal. Taking into account this example, the conceptual approach of the scoping of the project, must be very clear so that in the future there is no data manipulation or errors.

Suzuki [ERM]: Definition of the goal, very important but difficult. There is a concern about the sharing of information, so an agreement must be elaborated and shared.

Hasegawa [JICA]: There are two important points. In the experience so far, the EIA for geothermal developments in small areas of 2 or 3 ha has shown that the impact to the environment is very little. If the project was a big project such as a damn, then the impact would be big, but in this case we are talking of something small, so to measure the impact is difficult and an appropriate methodology is being pursued, as it is the case with the insect community and the possible changes in its structure. In the past, this method was impossible, but now with the DNA barcoding, there is the possibility to analyze thousands of insects and investigate the changes in them. This is why Dr. Janzen said that there was no standard and this is taken as a challenge to combine the practical and the academic side, so this turns out to be an ambitious project. In the SAPI project the measure of the impact cannot be expected, but to prove the most suitable methodology.

Eddy [ICE]: In the case of insects?

Hasegawa [JICA]: Yes. If we can really measure the impact, a year before, samples are taken, and also during the project construction. Then the reversibility can be determined.

Eddy [ICE]: In his experience, in the tropics is faster.

Hasegawa [JICA]: Yes, but there are no data. This is why, when the project is over...

Eddy [ICE]: There are monitoring phases, before, during and after, so it can be analyzed.

Hasegawa [JICA]: It would be interesting to analyze them with a different method.

Eddy [ICE]: The samples requested to Dr. Janzen fulfill those requirements, but the analysis that the Dr. must do is not related to the impact.

Hasegawa [JICA]: For the ongoing investigation, and going back to reversibility, since there is no available data, the (geothermal) project is still developing, so, in order for the investigation to be complete, new data must be obtained afterwards.

Eddy [ICE]: As the current project (SAPI) is understood, a valid methodology is seek and its improvement, and also know the reach of the investigation with insects but not only the insects but also to know the impact through them. The idea is to verify if this methodology is valid for using it in other parts of the country and the world. If the impact seen in the insects results to be very low, is it really a good idea to spend thousands of dollars for this?

Hasegawa [JICA]: We don't know yet, so we are going to investigate.

Eddy [ICE]: Yes. But all this must be stated clearly in the scoping. This was agreed in the letter between ICE and JICA.

Randall [ICE]: Results about the impact will be known through the results of the insects?

Suzuki [ERM]: In this SAPI, they are not trying to determine the impact but to verify a valid methodology for this kind of (geothermal) project. And Dr. Janzen is the most knowledgeable person in the area, so taking into account the data, the results will be presented in the commission meetings. During those spaces, the ICE will have the chance to present doubts. It is a bit late, so the information about the information control will be shared by email to discuss about it.

Hartman [ICE]: Let's call the rest of the guest.

(Sometime after 10 am, representatives of ACG and GDFCF join the meeting.)

Suzuki [ERM]: Welcome to all. In this SAPI, the methodology wants to be improved. First, the background of the project and the proposed survey will be discussed. Then, the copyright and the confidentiality agreement, and if there is time, the International Guidelines will also be debated. Since there are several points to talk about, the meeting might be long but the important issue is to get a final agreement. It is important to define the objective of the SAPI in order for the project to advance; to better the EIA methodology and share different opinions. As background, we have the MOU that was signed in January of the present year, and it was agreed the Examination Methodology for Biodiversity and the Pilot Study. The main topic for today's commission is the Pilot Study. ERM discussed with Dr. Janzen the methodology and several agreements were made. The details will be explained by Dr. Janzen.

Janzen [GDFCF]: First, a comment. To improve is to add more tools to the existing ones. The barcoding procedure is explained according to what is written in the document along with the procedure. The laboratory in Canada has, already, done 4000 analysis; the process has been used and proved before. All the proper investigation and exportation permits are in order. Also, the CONAGEBIO permit will be ready next week. Those three documents are shipped with the samples to Canada. They are sent via DHL and four days after arrive in the lab. From glass bottles, the samples are transferred to plastic bottles without the alcohol and when they arrive in Canada, fresh alcohol is put into the samples. There is one person per trap, who makes a preliminary identification, takes the leg from the insect, puts it in the plate, and the analysis takes place. The samples belong to Costa Rica, but the laboratory defrays the cost. Currently, there are twenty thousand of users employing the laboratory at the University of Guelph for this analysis. It takes six months since the 6 traps are analyzed at the same time. The barcoding can be accessed with a password that has no cost from the University. During the analysis, if an error is found, it can still be corrected. For the morphological classification, the type of insect can be identified at the beginning and then verified with the DNA. If there is doubt, it can be verified with the insect since they have it there in the laboratory. There is the possibility of contamination, a scale might get stuck on the robot or something like that, but since they are working with 20 thousand species, that there is one error, is not going to influence much the final results. The data will be analyzed once the barcoding is complete. Dr. Janzen is not charging anything for all this; the \$ 35 thousand go directly to the project. His salary comes directly from his university, and he is interested in the investigation and in supporting ACG. 3 traps were installed at different distances of the platform. Depending on the information they show, they can know which species and their

quantities around the area. The traps are like a weather station. They can contrast the one that is inside the forest with the one that is next to the platform, there is going to be a differentiation. Questions that can be asked to the data: weather data near PL12, temperature and rain, how was the situation when the perforation started, during and after it. All this questions can be asked and investigate the influence in the insect community. The traps started with the first day of the (geothermal) project. It is anticipated that the traps at 150 m of distance won't show any influence, and those at 50 m of the platform will have some influence, but the data concrete data is necessary. With the data, the impact can be measured. They can compare samples each week, or each two weeks, or each month. With the samples they have, the analysis can be done. In ACG, they already have 400 thousand barcoded insects and that quantity only gives them an idea of can be found in the area. They can say it is the same that can be found at Cacao Volcano. So, they can compare similarities and differences, to see if the area around the project is special or not. This is very important in conservation terms, to determine if there is a primary forest or if there are endemic species. But the time and the money required to observe birds, for example, is too much. But with Malaise traps, they can be installed and that's it. They can verify if there is a change in the species or in the behavior. The light traps, on the other hand, attract a minimum of species compared to Malaise traps. Parataxonomist have been working for two years collecting larvae, and they might have only around 30 species compared to the 20 thousand that can be recollected in the Malaise traps. The benefit-cost is very different, if one compares the \$100 that costs to identify one insect by a professional in contrast to the proposed methodology where \$360 000 are for so many species during six months. Insects represent the biodiversity because of their great quantities in comparison to mammals or birds. There will be an advance report each 3 months, and then bigger ones on August and October. By the end of February, they will have the final report and workshops. The payments must be done a month after the samples arrive, then after the first report, and at the end; each payment of \$120 000. The schedule is checked.

Hallwachs [GDFCF]: The labeling is done very carefully and errors are avoided.

Janzen [GDFCF]: The same person has been recollecting the samples from the Malaise traps, so they have the certainty that there are no errors.

Suzuki [ERM]: Does everyone agree with the contents of the Pilot Plan and this schedule? Everything is arranged with the University of Guelph. The samples will be sent, the analysis will take place and 6 months after, we will have results. But, after the first 3 months, they will have the first report. Some species can be seen and their quantities.

Janzen [GDFCF]: Those reports will consist mostly in numbers; the analysis will be obtained at the end.

Suzuki [ERM]: By the end of August, they will a more complete report and commission will take place to discuss it. On the next commission meeting, they will be able to talk about the crude data from the DNA analysis and to consider the improvement of the methodology. The data of the DNA barcoding will be ready around the beginning of September and by the end of October, the analysis. By this moment, there will be a commission meeting and a workshop where they plan to ask SETENA and other interested groups to participate. In February they will have the final report, the last commission

meeting will be held. That is the proposed schedule. If agreed, then, they can send the samples to the University of Guelph.

Janzen [GDFCF]: The University has accepted to afford the cost in case there are more samples than those expected.

Suzuki [ERM]: Several comparisons can be made, between the samples near the platform and those near the road, comparisons each week or each two weeks, and so on. They can also compare with other information in the ACG to see how unique the forest near the project is. At the moment they cannot know the analysis they will be able to do, but there is the possibility of questioning correlations in the ecosystem.

Randall [ICE]: About point H, the comparison between the ACG information and the new data, is there some previous study to compare to?

Suzuki [ERM]: The information from other areas in ACG do not have the same conditions, so taking into account the hypothetical traps that have affectation, they can be compared to other ones in ACG that don't have.

Janzen [GDFCF]: Actually, they do have information from other areas in ACG with affectation.

Suzuki [ERM]: With a 2 ha platform, the impact is low, but since it is near a sensitive area, the situation changes. In big scale EIAs, they take into account plants and representative species, but for this case the scale is very small so a change in methodology is needed, and in this case the measurement with insects is more specific since insects are at the base of the food pyramid and with them the impact is more evident. Opinions?

Alejandro [ACG]: Agrees. Historically speaking, more visible species where taken into account. Collecting insects was difficult, but now they have the proper technology that allows doing proper research.

Randall [ICE]: The area is a sensitive one, so they need to perform a more profound analysis. As public functionaries, they have a responsibility to the environment. They want to demonstrate that their development projects do not have such a strong impact.

Suzuki [ERM]: Other comments from ACG or ICE?

Roger [ACG]: Agreed.

Sergio [ICE]: As Dr. Janzen said, they want new tools to improve the EIA.

Suzuki [ERM]: Then, everyone agrees with the Pilot Plan?

ACG and ICE: Agree.

Suzuki [ERM]: About the results, they will first have the results of the DNA barcoding and afterwards the report about it. They cannot know the results, but it is important to agree on the use of the

reports. The barcoding data and copyright will be in the BOLD system. Is there a problem with this?

Randall [ICE]: No problem.

Suzuki [ERM]: About the copyright of the reports, GDFCF will prepare the intermediate and final reports and will submit them to ERM, and they will be discussed in the commission meetings to reach an agreement. The copyright of these reports would belong to ERM. The last report that is prepared

by ERM for JICA, its copyright belongs to JICA. The confidentiality of the barcodes...

Sergio [ICE]: In the point 2.2, the cooperation is between ICE and JICA since it is a loan from ICE to JICA,

so the copyright should be shared with ICE.

Hasegawa [JICA]: Both?

Sergio [ICE]: Yes.

Hasegawa [JICA]: JICA and ERM work through a relation with a contract, so ERM hands over the

copyright to JICA.

Suzuki [ERM]: The barcoding information will have a password for a year and then it will be public information. The confidentiality of the reports that the GDFCF gives to ERM and its contents will be discussed in the commission meetings. The final report is delivered to JICA and it has public access. Dr.

Janzen has any suggestion?

Janzen [GDFCF]: In order to understand the barcode information, they all have a proper date, place,

name, who collected the Malaise trap, a picture of the insect; all this information is part of the data in

the barcode.

Suzuki [ERM]: Agreed?

In general: Yes.

7

Suzuki [ERM]: About the copyright of the reports, that not only ERM holds the copyright, but also JICA. Dr. Janzen?

Janzen [GDFCF]: It is like ICE suggested, so he added that part about JICA.

Suzuki [ERM]: According to the contract between JICA and ERM, the final report's copyright will be JICA's, not so with the internal reports. In point 1.1 explains that there is no problem if GDFCF wants to write other scientific papers.

Janzen [GDFCD]: Wanted to clarify this so that in the future the can write scientific papers and there are no problems about the copyright. ICE's participation can be recognized in said papers.

Hartman [ICE]: If those papers refer to the ICE's project, they would need to check them first.

Alejandro [ACG]: ICE could be co-author.

Hartman [ICE]: Yes, but as it is written, they, the papers, could be written without the ICE checking them

Suzuki [ERM]: It is important to clarify the results of barcoding will be in the BOLD system, they will be public.

Hartman [ICE]: That means the raw data?

Suzuki [ERM]: Yes. The information is received from GDFCF, it is shared during the commission meetings and the copyright belongs to ERM. If during the meeting an agreement is not reached, there is no report. Therefore, the data in the BOLD system is public and anyone can use them, so there is no need for the suggested phrase.

Janzen [GDFCF]: If ICE wants to check, there is no problem that they do so.

Roger [ACG]: The papers that might be written can be 100% scientific papers related to ACG or the ICE project.

Janzen [GDFCF]: Yes, yes, then anything that is related to ICE, they should check it.

Suzuki [ERM]: Then the phrase can be removed?

Janzen [GDFCF]: It is better that the phrase stays in case anyone else want to use the information.

Alejandro [ACG]: Maybe they should add more.

Hartman [ICE]: Then they should specify, if they write about ICE the person must have the ICE's approval.

(Text with specifics is added to the reviewed document)

Suzuki [ERM]: Agreed?

In general: Yes.

Suzuki [ERM]: About confidentiality, Dr. Janzen proposed that after two years, the report that GDFCF will submit to ERM becomes public.

Hartman [ICE]: Depends on the contents of the report.

Alejandro [ACG]: They are internal reports.

Hartman [ICE]: Still, depends on the information in the reports.

Eddy [ICE]: Is it necessary to stablish a date?

(Complicated issue, lunch break)

1:45 pm onwards

Hartman [ICE]: Even if they are internal reports, there could be sensitive information for ICE. In that moment, the commission won't exist anymore. Instead of writing two years, let ICE decide the opportune moment.

Suzuki [ERM]: Just to confirm, the information is different. One relates to the confidentiality of DNA and other to the reports.

Janzen [GDFCF]: Worries that ERM has the last saying in the matter, it should be ICE that has the last saying.

9

Hartman [ICE]: After two years ICE decides if they make the information public.

Hasegawa [JICA]: Those reports between GDFCF and ERM belong in the category of subcontract, so ICE is not related to them, logically and in theory, but a commission they can let ICE decide.

Eddy [ICE]: Yes, that is good. What should be included in the document, then?

Hasegawa [JICA]: In this section of the document?

Hartman [ICE]: Yes. After two years ICE decides.

Hasegawa [JICA]: This is about the reports between GDFCF and ERM that ICE decides about them?

Hartman [ICE]: Yes.

Hasegawa [JICA]: Ok, let's write that.

Suzuki [ERM]: What about the final report of the SAPI project?

Hartman [ICE]: The same?

Hasegawa [JICA]: Because of the contract, that cannot be done.

Hartman [ICE]: Then that it becomes confidential?

Hasegawa [JICA]: That report comes to the JICA library, it becomes public.

Sergio [ICE]: But the commission is going to check it, anyway.

Suzuki [ERM]: Then the two years phrase can be eliminated?

Janzen [GDFCF]: Yes.

Eddy [ICE]: What about the last report?

Hasegawa [JICA]: The last report is in Japanese, according to the contract between JICA and ERM, so they do not expect to share them.

Sergio [ICE]: But ICE and JICA have an agreement.

Hasegawa [JICA]: The last report is not related to it.

Sergio [ICE]: It makes no sense that during a cooperation one of the parties cannot decide at the end. The improvement for methodologies is the goal and ICE is also providing information. So, there makes NO sense that ICE has no interference in the final result.

Hasegawa [JICA]: But it is understood that during the whole process the agreements between the commissions are the ones that will be reflected.

Eddy [ICE]: Where is that written?

Hasegawa [JICA]: The contents shouldn't have any contradictions.

Eddy [ICE]: But when can we see the draft of the final report? In the discussion, the information that will be examined will be partial.

Hasegawa [JICA]: During the commission meetings...

Suzuki [ERM]: During the commission meetings, all the information will be discussed, including all the content of the report that ERM will give to JICA.

Eddy [ICE]: But, the information that they are seeing right now includes mostly the data about the insects and the University in Canada. But there are other topics to discuss like the EIA methods which we do not see here, in this schedule.

Suzuki [ERM]: It is included. In the MOU it is specified that they will discuss the methodology also.

Eddy [ICE]: Not in the schedule.

Suzuki [ERM]: Because it is included in the data analysis.

Eddy [ICE]: We have the original agreement between ICE and JICA. Maybe can we see it?

(Technical problems, discussion)

Sergio [ICE]: So, ICE has no interference in this final document

Hasegawa [JICA]: There are two different situations, the SAPI and Pilot Project.

Eddy [ICE]: But everything is part of the same result.

Hasegawa [JICA]: Then let's check the schedule.

Eddy [ICE]: Yes, because we have the same thing but they have two parts.

Suzuki [ERM]: According to the previous agreement, when the schedule was presented, in the 4<sup>th</sup> stage, this discussion is included.

(Discussion between ICE members)

It is understood that the last schedule is from the Pilot Plan. And they request that they can also interfere in the last report of that plan.

Suzuki [ERM] and Hasegawa [JICA]: But all the information will be discussed in the commission meetings, there won't be anything new in the final report.

Eddy [ICE]: Even if it is discussed, they need to check the last technical report, see it. The final cooperation report must be checked by ICE. The Pilot Plan shouldn't have a final report since it is part of all the technical cooperation. Actually, there should only be ONE LAST final report.

Hasegawa [JICA]: GDFCF submits the report to ERM, which is related to the Pilot Plan and that information is going to be discussed during the commission meetings and workshops, reviewing the documents, last reports in December. In February, the last report from ERM will be submitted, including comments about the content from the commission members.

Eddy [ICE]: Is that the final report?

Hasegawa [JICA]: That is the final report from the ERM consultancy, including pictures and administrative information.

Eddy [ICE]: And the technical information?

Hasegawa [JICA]: It includes all of the above, and the technical information will be discussed.

Hartman [ICE]: It will be public no matter the content in it?

Hasegawa [JICA]: The report will have all the comments.

Hartman [ICE]: Even if it is discussed and commented on, that report might not be approved.

Hasegawa [JICA]: If it doesn't have the approval from ICE, it won't be published.

Hartman [ICE]: Then it should be written somewhere that that sections that ICE doesn't approve, won't be published.

Suzuki [ERM]: Please remember point 1.1. The information will be discussed between all members.

Hasegawa [JICA]: It must have the commission approval and that the commission approves, is what will be published.

Eddy [ICE]: What about the report between ICE and JICA, can it be reviewed by ICE?

Hasegawa [JICA]: The final report between JICA and ERM is in Japanese.

Eddy [ICE]: But ICE wants to understand the last report between JICA and ICE.

Hasegawa [JICA]: The drafting or translation seems to be wrong. This refers to the investigation report.

Eddy [ICE]: That is an interpretation of the document. We need to clarify to which report they are referring to.

Hasegawa [JICA]: JICA as an institution does not prepare a "final report".

Sergio [ICE]: Then, which one does JICA publish?

Hasegawa [JICA]: The last, last one where all the information is approved and it is in Japanese.

(Big discussion between the different parties about the interpretation of names and language problems)

Hasegawa [JICA]: It is the report that includes administrative information. They have to publish it since they are using public founding.

Eddy [ICE]: So, let's use a proper name for the respective reports so that we do not need to interpret the meaning.

(Names are decided: Informe tecnico final (Final technical report) for the report submitted from GDFCF to ERM with the technical information, and Informe administrative final (Final administrative report) for the final report in Japanese that ERM submits to JICA)

Sergio [ICE]: The SAPI is between ICE and JICA, but in the commission ERM represents JICA, and JICA is just an observer while ICE participates actively. So legally, JICA and ICE should be the ones approving ERM final report because it is a technical cooperation between these two and they should approve that final report considering if it satisfies the SAPI.

Hasegawa [JICA]: The Final technical report will be approved by ICE and by JICA through ERM. Of course, JICA will try to always participate in the commission, but if it is not the current members, someone from the Costa Rica office will be present.

Suzuki [ERM]: In the minutes, we want to include three important points. First, the Pilot Plan was agreed. Then, the topics that will be discussed in the commission meetings. The draft will be written now, and the other issue is the reports. The Final technical report will be analyzed and approved.

Hartman [ICE]: It needs to be clarified that the Final technical reports refers to the so-called final report that appears in the document between JICA and ICE.

Suzuki [ERM]: The minutes, it is written as follows, it is ok? About the confidentiality of reports, those from GDFCF to ERM will be public until ICE approves, and the one that is submitted to JICA regarding the SAPI will be public after ICE and ACG agree.

ICE, ACG and GDFCF: All agree.

Suzuki [ERM]: Please check the Minutes of Commission, so that we can print it and sign. The pilot plan is comprehended and approved. Also, about the Final technical report, it refers to the final report between ICE and JICA. Also, please verify that the 3<sup>rd</sup> commission will take place in at the end of August and that the internal report about the DNA analysis and the improvement of the EIA, will be deliberated. Something else? If we all agree on these, we will print the minutes and the respective agreements that need to be signed. Now, we can ask to Dr. Janzen to send the samples.

(Sudden end with a round of applause)

Third Commission Meeting, Monday, August 29th, 2016. 1:30pm.

Representatives of ICE, JICA, ERM and GDFCF are present.

Suzuki [ERM]: Starts explaining the visit to PL12 on the morning. Today, the advances on the project will be discussed. There are 3 main topics in this proyect: EIA in geothermal development, ecosystem and DNA. In order to attaint he final objective, the betterment of EIA methodology, the barcoding of insects has been utilized. On future commissions and coming workshops, the data and results of that methodology applied to EIA will be discussed. The First Interim Report is presented and a resume of it will be shown in the PP presentation. The progress so far is explained by Dr. Janzen.

Dr. Janzen [GDFCF]: Picture of 2014 and the traps location at the time, are shown, along with the progress so far of the project. Trap No.3 has a larger quantity of specimens in comparison with the other ones inside the forest. 130 thousand specimens were analyzed in a \$400 thousand machine. The barcoding shows the mitochondrial genome, which turns out to be a "word" of 650 letters. A trap a year can capture 3859 specimens. The "genetic family trees" are explained using Coleoptera as an example. When a group of specimens has the same code, a BIN is assigned. With a small difference, it is new species. In this project, 136507 specimens were found with 124198 sequences and 1014 contaminated. The barcoding process has ended; the assignment of BINs is 90% complete. If scientific names were to be assigned, the specimen should be given a taxonomist who names it. Also, there could be compared with the ACG existing data base to verify if they already have a proper scientific name. It was noted that rainfall decreased during 2014 and 2015, therefore the need of a Meteorological Station in Pailas II. The traps were first placed in October, 2013. Peaks can be seen depending on the rainfall, temperature and other variables; taking this into account, the need for a Meteorological Station is stated again. Even if a huge difference in quantity can be seen in a specific trap, statistically, the traps might be similar. Flies represent the big portion of the sample, and they are very difficult to identify by sight. During the first six months of the year, adult insects fly and get caught, but the next six months, most of the insects are young, flightless period. Two of the three initial lines of traps were altered, so as a recommendation for the end of the SAPI, to continue the monitoring the one that is still intact should be the one to use. An example of a specific species of mouse is presented as to why it is not a good idea to utilize such an animal for the monitoring. In the example, it is shown that through the years, the mouse population fluctuates a lot naturally, so it is not practical for a biomonitoring study. Taking this into account, the following preliminary comments were presented:

- Malaise-trapped insects can be a ruler for perturbation to the ecosystem; this goal does not relate to whether they are "threatened" or in danger of extinction.
- A. Details of trap positioning are important.
- B. Seasonality affects results.
- C. BIO/CBDG laboratory analyses will be completed by the first week of September (6 traps).
- D. Draft conclusions before the end of October would be premature.
- E. My hope is the data for trap #2 (intermediate) are available to us in January.
- F. I will recommend that in the end that biomonitoring with Malaise traps is viable, feasible, and desirable for a project in a valuable ecosystem, this affects the line of traps #1, #2, #3.

ICE agrees that trap No.2 can be send for analysis, but there are 45 thousand available when 60 thousand are needed. Some key aspects to take into account:

- 1. Assessment in EIA is not monitoring or biomonitoring.
- 2. Identification costs will decrease with time.
- 3. It is possible for anyone to stablish the biomonitoring part on the field when there is a Centre for Biodiversity to receive and perform laboratory analysis (and engineering)
- 4. Eventually the samples will be analyzed in a bundle with NGS (Next Generation Sequencing) instead of one by one with Sanger Sequencing.
- 5. Stablishing a CBG in Costa Rica makes no sense since the cost to stablish it and maintain it, is extremely high.
- 6. The most developed bar coding library, the most international and the most useful for all goals is the BOLD system, which is the basic storage and analysis.
- 7. Just as an industrial project in a sensible area (all?) has a high machinery capacity, operations, conclusions, planning, etc.; that same project must have a portion automatically dedicated to the environment and its biomonitoring at the beginning and over the years. The Dr. wants to thank all the different organizations that make this possible: ACG, SINAC, MINAE, ICE, GDFCF, ERM, JICA, University of Pennsylvania, BIO/Centre for Biodiversity Genomics.

Suzuki [ERM]: Thanks to Dr. Janzen. The main objective is to improve the EIA methodology. So far, the EIA objectives can be resumed in predict, prevent and mitigation. If the EIA of CR is compared to other countries, there are some were the SEA is utilized, and its difference with the regular EIA is that the SEA is applied in policies, plans related to authorities and such; while the EIA is applied to individual projects. Brief EIA explanation is given. The SAPI project pretends to improve the EIA methodology. The methodology in CR is presented, and even when SEA is not used, ICE is trying to do something similar. There are no guidelines for geothermal development research.

Dr. Janzen [GDFCF]: It is important to remember that Pailas I was agroscape while Pailas II is very different. The EIA in CR has different characteristics depending on the place that is realized.

Suzuki [ERM]: For Pailas I, ICE included insect survey. Any specific reason?

Randall [ICE]: As an indicator and because of the lights that were used. They already had experience with how lights attract more insects and their depredators, so they needed to do something about it.

Suzuki: For the EIA description in CR, the improvements that ICE made in Pailas I were included. About other countries, a brief explanation follows since the details are in the Interim Report. In Japan the EIA is a requirement for geothermal development but there aren't many in that country. The SEA is not used in Japan. Stakeholders are involved for the TOR. There are specific guidelines for the research for key animals, including insects with several methods. In the U.S.A. the EIA is a must in development projects; the SEA is used for the zoning, stakeholders also involved, the methodology is decided by a certain government agency, insects are not included; the monitoring is done with fish. In New Zealand the EIA is also a most, the SEA is also used for the zoning and as part as the stakeholders the indigenous population is taken into account; the one who gives authorization for projects is the local

municipality; there are no specific guidelines and insects are not included. ICE asked for the case of Mexico to be explained, this will be done in the near future.

Randall [ICE]: In other countries, when the TOR are decided, what kind of experts participate?

Suzuki [ERM]: In the First Interim Report it is explained a little more in detail, specially Japan.

Dr. Janzen [GDFCF]: Observations. The countries presented have nothing in common with CR, the society, culture and biology is very different. It is an error to try to tell CR how to do their EIA since the same rules can't be applied everywhere. In order to improve things in CR, you need to ask people of CR, like ICE, what they believe need to be improved and then analyze the impediments that might exist for that improvement. In CR there are a lot of capable people and important knowledge that cannot be applied always due to economic restrain and other limiting circumstances.

Suzuki [ERM]: The objective is to initiate discussion about the improvement of EIA by presenting the examples of other countries, no to say that it should be done in a certain way or like is done in other countries. There is a possibility to improve the participation of local stakeholders with local knowledge. Are there any comments from ICE or ACG?

Randall [ICE]: To improve such participation and include local knowledge seems like a good step for improvement. It would give the ICE projects credibility and solidity.

Roger [ACG]: ICE has a lot of experience in big development projects, but at the regional level, when it comes to taking decisions and planning strategies, it becomes a difficult situation. There are a lot of unorganized politics involved that don't allow a strategic plan. Even when there is a law about strategic EIA, at the institutional level and at the local institution level there is a lot of work to be done.

Suzuki [ERM]: All these topics and the use of SEA seem to be very important even if they are not part of the SAPI. This is why SETENA will be invited to the workshops and the topic can be introduced.

Eddy [ICE]: Since this is not covered in the SAPI scoping, would this be a discussion for geothermal projects or a political discussion?

Sergio [ICE]: Can be presented as a suggestion. Not deepen too much in the topic since it alien to the scoping of the SAPI. After all, this consultancy is been done in order to hear the opinion of a third impartial party to see if what is being done in CR is adequate, that may present examples of other countries and to identify the points that can be improved.

Eddy [ICE]: There are no perfect recipes or guides, and they don't need this, but adequate results. The developer attitude affects the EIA results, so they are looking to think beyond of the known recipes.

Hartman [ICE]: In the objective of the SAPI it was understood that the EIA done by ICE would be analyzed since ICE is the only one in the country with geothermal developments. The opinion of a third

impartial party was to verify if ICE is working properly or not; and then, to attest if the biomonitoring using insects is useful or not. This is the reason the first meetings were complicated, ICE wanted a third party analyzing their methodology.

Eddy [ICE]: If the work done in CR is legitimated, CR can be an example for other nearby countries and JICA might be able to provide funding to them.

Suzuki [ERM]: Thank you for the comments. Such a discussion is very important for the project. The EIA criteria of the International Financial Corporation are explained, and then UNESCO criteria for the Outstanding Universal Value and that ACG gained this since 1999.

Sakaguchi [ERM]: The procedures in UNESCO request a public consultation, and in the EIA process, UNESCO also asks the advice of experts.

Suzuki [ERM]: About the different methodologies to take insects samples, the research done in the 43 National Parks in Canada is briefly explained. The Malaise trap was recognized as the most effective one.

Dr. Janzen [GDFCF]: Each tool has its purpose.

Dr. Winnie Hallwachs [GDFCF]: Each trap is designed for a certain type of insect.

Dr. Janzen [GDFCF]: There are around 100 kinds of traps.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: The use of the Malaise trap is the most widespread method.

Dr. Janzen [GDFCF]: Depending on what you want to catch, you choose the trap.

Sakaguchi [ERM]: Since they are looking at biodiversity, it may be proved that the Malaise trap is the most effective one.

Suzuki [ERM]: About the cost, usually one specimen cost \$10 for the barcoding. A comparison between the traditional method and barcoding wants to be done.

Dr. Janzen [GDFCF]: That's impossible since in the traditional method you can analyze the DNA.

Suzuki [ERM]: DNA is an added value. The purpose is to have information about the different costs of different methods for reference, but we are aware of the difficulty of comparison. If the DNA barcoding methodology continues to be used, the costs should try to be reduced, and its practicality in EIA proven.

Roger [ACG]: The best way to reduce costs is to continue a direct relation with institutions such as Guelph University and to wait for the technology.

Dr. Janzen [GDFCF]: There is no need to come up or to impose a new protocol, what needs to be done is to work together to minimize the impact and the costs, and this is not written in any protocol.

Sergio [ICE]: ACG, GDFCF and ICE are able to get to an agreement after having the environmental license.

Sakaguchi [ERM]: The license is given before or after EIA?

Sergio [ICE]: In the case of Pailas I, the dialogues were done after having the environmental permit; they negotiate how they can improve the project before the project starts the development step. They have a developer, a conservation organization and a NGO who sit to negotiate.

Hartman [ICE]: Pailas II and Borinquen were the same.

Eddy [ICE]: It is recommendable to build such a trust relations.

Dr. Janzen [GDFCF]: The Central Government has been trying that just one formula is accepted while ACG, in their 35 year, has been trying to prove differently. But the Central Government wants just one protocol that can be applied anywhere without much thinking and complication.

Sakaguchi [ERM]: What about the local protocols of the local government?

Dr. Janzen [GDFCF]: If people like ICE personnel in Guanacaste, who are in the middle of the central and local government, triumph in their projects, the Central government can see an example of progress at the local level.

Suzuki [ERM]: How to use the results of the barcoding? Since it is the first time that is done, the information needs to be gathered and discussed. Also, for the sake of the project's objective, it is necessary to understand what Biodiversity is.

Dr. Janzen [GDFCF]: Yes, he used it as an acronym of Biological Diversity in a symposium and a famous colleague stole it.

Suzuki [ERM]: Can Dr. Janzen explain a bit of Biodiversity?

Dr. Janzen [GDFCF]: Just as it is written in the presentation and brief example of what is written.

Suzuki [ERM]: Explanation about the importance of insects in biodiversity. For the biodiversity to be researched in an EIA, Assessment Methodology is put into place, this is explained, also the specific species or community possibilities and finally some indexes of biodiversity are presented as a possibility to analyze the biodiversity that might be found in the barcoding results.

Dr. Janzen [GDFCF]: Those Indexes were used 25 years ago but in reality they don't work.

Sakaguchi [ERM]: But they are still been used?

Dr. Janzen [GDFCF]: By tradition, yes, but they are no functional.

Suzuki [ERM]: What is the most appropriate methodology to analyze the DNA results?

Dr. Janzen [GDFCF]: Depends what you ask to the data. Depends on your goal when you analyze the insects.

Suzuki [ERM]: Example of Shannon Wieder Index presented.

Dr. Janzen [GDFCF]: This precise example shows that it doesn't work.

Eddy [ICE]: Not an expert about biodiversity, but is the same for the geothermal variables to be monitored during a project. Some are already identified at the beginning, some are identified during the development of the project, and depending on the chemical reality, a decision is taken on what to monitor. It all depends on the context where you are working. There are certain formulas but they must be considered carefully.

Suzuki [ERM]: It was an example to see what is done in other countries.

Sakaguchi [ERM]: The important thing is not the quantity, which are presented in the example, but the quality of the results and analysis.

Suzuki [ERM]: Are there any opinions about methodologies for the DNA analysis?

Dr. Hallwachs [GDFCF]: There is really no point in discussing this now since we don't have the results yet. Once we have the results and the analysis from Dr. Janzen, who will think something new, it will be different.

Roger [ACG]: The ACG wants to benefit from this unique project, the knowledge and technology used in it, also the interpretations that will be given by Dr. Janzen and Dr. Hallwachs who have years of experience, and their practical conclusions for ICE and ACG.

Sakaguchi [ERM]: As consultors, we need to give results and present general data.

Suzuki [ERM]: Does ICE agrees to discuss this topic about DNA analysis in October?

ICE: Yes.

Eddy [ICE]: This investigation opens a lot of possibilities, and depending on the questions asked, ICE and ACG will have a lot of different answers that will help them in their own practical way, so the project itself is not being taken as a conclusive project.

Suzuki [ERM]: Dates for next commission meeting and first workshop. The meeting is decided for the 27<sup>th</sup> of October in Santa Rosa. What about the workshop? The original plan was to do it in San Jose.

Eddy [ERM]: If the workshop is done in Guanacaste, the participants can visit the project site and be shown what is being done in the area.

Suzuki [ERM]: Possible participants include SETENA, SINAC, MINAE, CONAGEBIO, National Museum, INBio and University of Costa Rica.

Dr. Janzen [GDFCF]: If the University of CR is invited, then the National University should be invited too.

It is decided that the Commission Meeting will be held on the 27<sup>th</sup> of October, in Santa Rosa from 8 am, where comparative techniques for DNA analysis will be discussed and also the agenda of the workshop. The workshop will be realized on the 1<sup>st</sup> of November in the Rincon de la Vieja new facilities. Chairs and tables must be rented, equipment and food for the day coordinated. A list of the participant institutions and their respective contacts was sent to ICE and ACG on September the 2<sup>nd</sup>. About the analysis of trap 2: An addendum for the contract with ICE, where the new sample needs to be included, needs to be prepared, a permit from CONAGEBIO has to be asked, signatures from ICE asked, a letter signed by Dr. Janzen prepared, and other several steps taken. It is agreed that the procedures will start immediately.

Fourth Commission Meeting, Thursday, October 27th, 2016. Santa Rosa National Park, Guanacaste, Costa Rica 10 am Representatives of ICE, JICA, ACG, ERM and GDFCF are present.

Suzuki [ERM]: Morning. This is the fourth Commission Meeting; we are close to the end. Agenda for today includes the progress of pilot study, the betterment of EIA and discussion for complementary analysis. Then lunch and discussion for the agenda for the fifth Commission Meeting and the agenda of the coming workshop. Explanation of the graph that shows the proposal for the betterment of EIA study. The goals for today are understanding the meaning of the barcoding, the purpose of EIA and the possibilities and constrains of the use of the data of DNA barcoding for EIA data survey. This last is the most important issue today since refers to the betterment of EIA through this barcoding technique. If this last point cannot be understood, its usefulness would be lost. Dr. Jansen will be explaining the progress of the pilot study.

Dr. Janzen [GDFCF]: The last goal or question, barcoding is something to identify, like binoculars that are used to identify something from afar. Barcoding should not be a process, not the inventory itself which refers to the process after. This presentation has its proper report, which is written in English for ERM. If necessary, I can translate it to Spanish. This is my third report about the analysis progress. Remember the place where we are focusing, this geographical spot was the first place ever bought as a National Park, which is the land directly North of Pailas II, so its historical importance is huge. When we speak about EIA, there are two things that come to mind. With monitoring, a static list is elaborated, but that is not biomonitoring, since this last means that it continues, it is not just a static list. A problem related to the use of mammals or birds, refers to the instability of the populations. Explanation of an example of a specific mammal, a rodent, that has been monitored for 33 years in Santa Rosa. The important issue here is that when we work with one species, these variables are important to take into account. Explanation of the first placement of the first 9 traps. The line of traps 7, 8 and 9 is destroyed due to the new road construction but during the first two years, proper samples were taken. The line of traps 4, 5 and 6 was also destroyed to the extension of the platform. Certain traps were chosen, and then 2 was added. You can see the platform from the perspective of trap 2. Now, about the barcoding progress, 136 507 specimens, with 11 135 species were identified. This kind of research and identification are not possible with the traditional method. "5 230 unique" refers that just one individual per species was trapped. \$2.64 per insect, this was the cost today of the barcoding work done in Canada. This is the "market cost", subsidized by the Canada government, where qualified students help with the whole process and the costs are reduced. Supplies and machinery are expensive, to pay a specialist with a PhD degree is expensive. But the process is becoming cheaper. 60 000USD per trap.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: The is experience in Canada with the use of traps in schools and other places, but there almost no data for the Tropics due to the great biodiversity.

Dr. Jansen [GDFCF]: Here we are showing that the binoculars work. Meaning, that this process does work for proper identification. It can be used for plants or other animals. The staff in Canada search

for different ways to make the process cheaper. Data per week is shown with the total of species. The species is completely mechanized using the S5 HTS sequencer machine. But, still, there is no way to identify the species unless there is a reference library to compare the information to. Since ACG has already send samples, they already had the information for identification. About the results, a graph with 6 lines corresponding to 6 traps, is shown. For tramp 3, which is at the hedge of the platform at the northwest corner, the number of species per week is shown. Then, the moment of the perforation activity is shown. Taking into account the data on the insects, there is no evidence of the perforation activity. This is a very healthy result for ICE. We cannot say anything about the coming years, but we can see the instant impact of the perforation activity. On the other hand, the beginning of the rainy season is pretty obvious, since a natural change can be perceived. If the second year of samples is analyzed, it is probable that a similar change could be seen. When the effect of the platform wants to be detected, the natural changes must be taken into account too. With the BIN data, the ecosystem can be mapped. The temperature and rain averages are presented. There is no meteorological station in Pailas II, so since the terrain is a little more elevated, Pailas II is going to be colder and it has more rain that Pailas I, and this is very important data. The line representing the trap at the edge of the road is shown, the line of the first year. It would be good to have data of the second year to compare. A graph of species per week is shown. Next graph shows how the number of species grows as time passes. This increase is due to a combination of species from the forest and the agroscape. These lines do not change when the rain begins. During summer, a lot of species have a small population.

Suzuki [ERM]: Species disappear in certain times of the year?

Dr. Jansen [GDFCF]: No, there are lees in summer time, but do not completely disappear.

Sakaguchi [ERM]: And if the analysis started on a different time of year?

Dr. Hallwachs [GDFCF]: Several species hatch in rainy season, so the species increase. The information would be exactly the same but with a different time period.

Dr. Jansen [GDFCF]: The BIN is explained and the species tree. Each group gets a BIN, which is a unique number assigned to the group.

Sergio [ICE]: At the beginning some specimens might look like they belong to the same species, but using the barcode process, they can be identified as a different species...

Dr. Jansen [GDFCF]: Yes, exactly.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: Barcoding helps to identify them in a more specific way.

Dr. Jansen with occasional help of Dr. Hallwachs [GDFCF]: With barcoding, they can check each specimen to check their respective species. An example is presented, where one of the best taxonomist ever known, who already passes away, studied during all his career, a certain group of insects and identified them all as belonging to the same species, but turns out they are different

species. If one has no BIN is because their barcode was too short and the machine was not able to assign a BIN. If someone in other country puts their data, they can identify the specimen thanks to the information in the data base, without needing to perform a detailed taxonomy. Species from the dry and from the rainy forest. There was a list of tasks to be analyzed. Contrasting the traps inside the forest, we need to remember that Pailas was never a primary forest but was perturbed a long, long time ago by a volcanic explosion. This traps inside the forest, the beginning of rainy season is very visible. The ecologist use the term "old growth", which means that has years and years without perturbation, since the use of the word primary is no accurate. Climax would be sort of original state, and this term comes from sites of the world where they have only few species, especially on the northern side of the word, so it is no useful to be used in tropical environments. Back to the slide, if these data change during time, during several years, we might be able to properly asses the influence of the platform, but if we also take into account the weather data, it might turn out that the changes are related to the climate change and not the platform. Circular graph showing the tree traps inside the forest show the convergence percentage. As time passes by, all will converge. The composition of the traps has a big percentage of flies, which most put eggs in stems in plants and that forms a tumor in the plant. Each specific species of fly uses a specific species of plant, so it can be a measurement for plants diversity. These flies, during their adult life, they don't eat anything and live just for some days, while in their larva stage, they can live up to several months or even years. The flies (Cecidiomyiidae family) are most common group, followed by ants, parasitic wasps, weevils, and then other kinds of parasitic flies and wasps. That is the mix that was found in traps 1, 6 and 9. The first step, to get a baseline of the undergrowth, was successful. Now, we can ask to the data of the other years if there has been change. Trap 3 was placed since 2013. All traps were synchronized at least a whole year. After 2015, there were changes due to the new road and the extension of the platform. It was necessary to move the trap a couple of meters inside because it was destroyed when the fence was put into place, so a week of samples was lost. Trap 4 was also moved, trap 6 and 1 remain inside the park. Trap 3 in contrast to traps 4 and 7, this last at the edge of the road. At the edge of the road the vegetation is as if it is inside a greenhouse since thanks to the dust, there are no larva eating the vegetation, so it in very good shape. When you compare all the analyzed traps, half of all the species were found in trap 3, which is not part of the undergrowth. The round diagram, it shows the overlap between all traps and it can be seen that half corresponds to trap 3. The yellow color in the diagram represents trap 3 and the place that is only in yellow represent the unique species of trap 3. The unique colors in the diagram that do not connect to other traps, represent the unique species that fell in each trap, and the biggest one is trap 3. When the lines connect between traps in this diagram, the fattest line corresponds to the yellow one, to trap 3. When species increased in trap 3, the most common family was not the one that increased, but something else. The depredators were that ones that increased, meaning parasitic flies and wasps. Inside the forest, they are very few. But in the platforms, the depredators and parasites are found in great numbers. When the platform was created, when an open space was created, the conditions of the agroscape were brought to that area. The canopy also was changed. Open spaces like the agroscape crate a rain of insects that falls in the forest and there, they die. But the platform has the environment of a paddock were those insects from the agroscape survive. The platform becomes a refuge for those insects and they do not die.

Sergio [ICE]: Are there studies about what happens when a clear space in the forest is opened?

Dr. Jansen [GDFCF]: Only at a minor level.

Alejandro [ACG]: Depredators and prey, both fall?

Dr. Jansen [GDFCF]: The prey, yes, but not in such great numbers. The third important change source was the road which was thought to be a way for the "paddock". There is no way to discriminate between the insects that come through the road and those that fall into the forest. The plants in this sector are not plants from the undergrowth, but from the paddock environment, so it has become a small paddock like environment. According to those who research birds, this kind of environment is chosen by birds to put their nest in places like this to feed on the insects, but also, predators that feed on the birds' nets, increases. About traps 4 and 5, the situation is known, the placement and the results were an accident. As far as they can tell and see by bare eye, trap 5 is very similar to trap 3. The edge of the road in 2013 didn't have much vegetation, but now it has recovered and looks the same as inside the forest.

Sergio [ICE]: How much influence does the outline of the road has?

Dr. Jansen [GDFCF]: Partially, is similar to trap 3.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: Traps have their respective walls, the traps are not funnels, and they also have different orientations that affect the light, which in turn is important

Dr. Jansen [GDFCF]: About cutting costs, what happens if we reduce the samples and instead of taking one per week, we take one each other week? The data line remains the same. Then, a sample per month is almost the same too. But, if instead of taking the first week of the month, like in the previous example, we take the third week of the month, the line looks even, with no changes, with no indication of the beginning of the rainy season. The cheapest way is not to use less samples, but the reality is that the technology is becoming cheaper. If samples are taken away, a lot of important information is lost. Same question, but this time with number of specimens and not species. The same thing happens; the line looks even. Now, about the contrast between Santa Rosa and Pailas, the overlap occurs with 209 species with the tree traps in Pailas and one in Santa Rosa, meaning that it is less than 1%. There is no way to ask how unique the forest in Pailas is, since the site where PL12 is located is a big intersection between dry forest and rainy forest, meaning that PL12 is in the middle of the two ecosystems. If ACG is taken as a whole block, the overlap is 11%. The investigation of ants in ACG has identified 527 species and in the PL 12 site alone, 136 of those can be found. About other kinds of traps, the yellow trap that is filled with soapy water is other option, but requires a lot more work since it has to be changed every day, whereas the Mailase trap can be changed just once a week. The intersection trap is a plastic that is like a window where the insects crash and fall into a recipient; this one works mostly for beetles. Also, to put Malaise traps in the forest canopy could be interesting to contrast with those in the ground. Then, using pig feces with a cup on the ground, other insects can be caught. This last method is being used all around ACG with also rotten fruits and others to attract what is known as buzzard insects. All these traps could be used at the same time as the Mailase trap, and would be the ideal situation if the resources and time were at hand. There are also samples taken from leaf trash that were taken during 3 years. To finalize, the analysis of a year of the samples equals to take a picture of the situation of the site. In order to measure the impact of the project, the biomonitoring and the sample analysis must continue. An example of the use is the barcoding of the jaguars' feces, and thank to this, 3 species of jaguars have been discovered from the north of Mexico to Colombia.

Suzuki [ERM]: Maybe this was a difficult talk, but questions or comments are welcome.

Randall [ICE]: To complement the analysis, what could be gained from traps put into the forest canopy?

Dr. Jansen [GDFCF]: Two different environments can be sampled, the ground and the canopy, and different changes or contamination can be measured.

Randall [ICE]: For example, the vapor plume...

Dr. Jansen [GDFCF]: Exactly, different ubications give different data.

Roger [ACG]: In an ideal world, if we could start from zero, the best option would be to use the Malaise traps on the ground and on the canopy, and the leaf trash.

Dr. Jansen [GDFCF]: In an ideal world, yes. I would add the yellow trap.

Roger [ACG]: In the future, if we think about a project in a National Park, we could use all that to have better measurements, since we already saw that the vapor in PL12 did affect the surrounding vegetation.

Dr. Jansen [GDFCF]: Yes, also taking into account that in the future to cost per sample will keep down.

Suzuki [ERM]: More comments? Quickly showing the raw data of DNA barcoding.

Dr. Jansen [GDFCF]: Remember that here, there are two specimens with the same BIN, but in the other column, each insect of the 140 thousand, has its own code. This number is a scientific number, and a taxonomist in the future can know that there are 5 specimens that describe the species. Then, there is also information about the trap and the date.

Suzuki [ERM]: That is the result of the investigation in the university in Canada.

Dr. Jansen [GDFCF]: The 2.64USD are the cost of the process in the university.

Suzuki [ERM]: We need to review the information of this morning, but first lunch.

### Afternoon session, 1 pm

Suzuki [ERM]: Comments or expectations about any of the topics so far?

Randall [ICE]: The advance of the project so far has let us know how can the barcoding can be used, that it is an instrument not an end. The way the information is being used is interesting, since I'm not a biologist, I didn't know what kind of data could be obtained, but now we do.

Roger [ACG]: The future of the integration of new technologies, such as barcoding, in very complex place such as a tropical forest, can be seen. This is more than just a project, since it includes science, biodiversity and conservation, and this is very important.

Alejandro [ACG]: It adds another level of understanding the ecology and complements the base line that SETENA has. Ecology and understanding of the system is added.

Eddy [ICE]: Interesting and clear the explanation, the graphs were great help. It is understood that this refers to a methodological range, so now the challenge is to focus the application of the methodology according to needs at hand. How can we value the methodology in reality? This is going to be the essence, in order to understand our processes in the future, is going to be an important step for future investigations.

Sergio [ICE]: Even though they are preliminary data, we can see the perturbation effect and we can see how far the perturbation reaches. We can already see a mark of the platform in the forest and the interaction between them.

Suzuki [ERM]: Still need to examine more in detail how this technique can be used and what it is about. We need to look in detail the data and how it can be used in the system. We need to look for the answer, there are so any points that would like to be shared, so please share comments or thoughts. The afternoon will be divided in two phases: first, the work of ERM since the last Commission Meeting, and then discuss the agenda of the workshop and the next meeting. A review of the SEA and the EIA application. SEA not in Japan, but applied in the USA. During the scoping phase, the survey would be designed and decide the kind of EIA. Comments from the public are received relating these documents.

Eddy [ICE]: Different rules here, meaning that the comments are received in a different moment.

Suzuki [ERM]: The process from several countries were explained, and Mexico was included. EIA is a requirement, no SEA, for the scoping stage, the TOR and other documents are prepared by competent authorities. No guidelines for ecological survey, for the assessment methodology they use important species, sensitive areas and migratory routes. No insect survey and no monitoring. Japan is the country that recollects information about insects. A review of the comparison between countries. Assessment Methodology. EIA purpose mentioned, planning stage phases, construction phase, monitoring during the construction/operation stage. In this process we are trying to implement the DNA barcoding. It is important that in the monitoring part, we need to know what are we going to monitor, otherwise, it would be meaningless

Eddy [ICE]: That is one of the problems, because even if a methodology is implemented, we need to know the real needs.

Suzuki [ERM]: Purpose and subject for monitoring. Challenge of the project is the effectiveness of the methodology for EIA. Biodiversity review. How can we assess the impact of biology? Technical assessment? In the EIA there are usually two ways for the biological assessment. The one that focuses in specific species, and then the one that takes community as a whole. The one that is normally conducted in EIA is the one related to specific species, some might use the one that analyses the community. If a species is endangered or is the indicator for a specific kind of environment, it is an indicator species. The monitoring program must be designed accordingly to the chosen species.

Sakaguchi [ERM]: The idea is that the umbrella species covers those other species under it.

Suzuki [ERM]: It is an efficient method; it is cheaper, easier to understand. But, the ecosystem is not fully understood and other species are ignored. The insects are not taken into account for this methodology for several reasons. About the use of the DNA data, comments?

Eddy [ICE]: It has a practical use. Registration and monitoring is different.

Suzuki [ERM]: With the DNA barcoding several samples can be identified. Comparison of methodologies of regular EIA assessment and with the use of barcoding. Advantages of the conventional method are explained. Then advantages of the DNA barcoding are explained.

Dr. Jansen [GDFCF]: To catch and to separate insects manually is a waste of time, the Malaise traps are more efficient. Other indexes measure how many species are and the relative abundance, these two things are combined and a valor is given. It is a number, seems to be very scientific, but it is not practical. It is bad policy for the public since a lot of numbers and scientific phrases are used. If it is an index that uses real values, not formulas, then they could be useful, but not the known ones that tend to be very confusing. A project like Pailas II needs to be located in its own context without comparing it to other places. ICE, in their projects, needs to have a team of people that can prepare the adjustments that the projects might need, biologist who really know what the ICE needs and who really comprehend the situation of the place where the project takes place.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: A lot of the monitoring methods come from the north, where the ecosystems are very different than the ecosystems in the tropics. Most of methodologies are biased since they were created in a very different place.

Sakaguchi [ERM]: As part of our job, we need to confirm and explain all the different possibilities.

Suzuki [ERM]: Asses a change. Measure the change of the community? If next year there is change, how do we measure it?

Dr. Jansen [GDFCF]: With next year numbers and data. A Shannon-Wiener is not going to help here. We can talk with this data with number of species. You look the ones that are related and those that aren't. With the data we can see the species and numbers. If something changes next year, then we can detect a problem. Calculating an index, is not going to give you any useful data...

Discussion about methodologies and indexes continues for a moment.

Eddy [ICE]: We understand the discussion, but what is the point of it?

Suzuki [ERM]: The assessment methodology is not decided yet.

Eddy [ICE]: Of course, we know that since there are several points of view.

Several people talking at the same time about the method.

Alejandro [ACG]: The discussion is not about to choose one or another method.

Suzuki [ERM]: The point is of the meaning of the DNA barcoding data, and how to use it, and that we all need to agree on that.

Dr. Jansen [GDFCF]: The first thing was to show if there was impact during the first year, and now we can see that there is no impact. Then, to check with the data of other years what is happening. The intention is not to analyze just one year, this is why the monitoring continued for several years

Eddy [ICE]: This is a tool and it can be used in a lot of ways, correct and incorrect ways. There is not a bad or dangerous method, the bad thing is to not understand the scope and where it is used. When a monitoring program is put together, different variables to monitor are chosen, and these variables are chosen from an environment that is already pre-established.

Suzuki [ERM]: The reason we discuss this, is that there are several ways to analyze the data of the barcode, and also advantages and disadvantages.

Randall [ICE]: This methodology can be used in more complex contexts that require more information.

Sergio [ICE]: The point is not to use or not to use barcoding, but to decide if we use insects. The relevance of the use can change. What we need to make clear is if the use of insects is going to improve the EIA.

Dr. Jansen [GDFCF]: The barcoding is like a thermometer, the point is how we use the thermometer, and as of today, ICE can say, according to the numeric data, that they are not disturbing a Heritage Site, 50 meters from their project. And, just as a thermometer, if they just measure once, there is not a lot to tell, but if they measure several times, they would be able to say a lot.

Sergio [ICE]: Now we could talk about a buffer zone regarding the Heritage Zone.

Dr. Jansen [GDFCF]: The "buffer zone" is a word that conservationists like to use; we are talking about the biological scope of the site.

Suzuki [ERM]: No conclusion yet about DNA barcoding, to be researched. Agenda for the workshop. 8 am to visit PL 12.

Sergio [ICE]: Meet up in the National Park.

Suzuki [ERM]: Ok, meet there and then go to the project site.

Dr. Jansen [GDFCF]: The schedule is different from the invitation sent. The visit to the project site is the most important part. For JICA and ERM is to overreach to tell ICE how to improve things. We are offering options, other methodologies. There is no relation for Mexico or other countries. In the agenda, it is better to dedicate the time to the process and explanation of what is being done.

Discussion of the agenda and the contents to be shared in the workshop follows, and some changes are made.

Hartman [ICE]: Recommendation: Not to share information of other countries, but about Japan and the insect survey there.

Sergio [ICE]: Recommendation: people who already know the site to remain in Rincon de la Vieja while those who are not familiar with the site, go to the Pailas project.

# Coffee break

Suzuki [ERM]: Confirmation for this and next workshop agendas.

Hartman [ICE]: There is no point discussing the agenda with all the participants since they are not related. If it is ready, sent it through email before that day.

Suzuki [ERM]: A proposal will be send. Total of participants is 45 of several institutions. Next commission meeting at the end of February?

Dr. Jansen [GDFCF]: Have it on the 20<sup>th</sup> or 21<sup>st</sup> because afterwards would be difficult.

Discussion about the availability of Dr. Jansen for commission meeting and workshop. 20<sup>th</sup> for the commission meeting and workshop on the 23<sup>rd</sup> on Guanacaste.

Suzuki [ERM]: Goals for the day, if we did understand the data of DNA barcoding, understand the purpose of EIA survey and what kind of survey/assessment is normally conducted, understand the possibility and constrain of use of the data of DNA barcoding for EIA survey.

Yes, understood.

終わり

Fifth Commission Meeting, Wednesday, February 22nd, 2017. ACG Liberia Office, Guanacaste, Costa Rica 9:45 am Representatives of ICE, JICA, ACG, ERM and GDFCF are present.

Suzuki [ERM]: Morning. Final Commission Meeting. Thanks for all the collaboration. Discuss final findings, some which are very interesting from the pilot study. Potential for the improvement for EIA methodology. Today's agenda. History of the project so far related to Commission Meetings and Workshops. Presentation by Dr. Janzen.

Dr. Janzen [GDFCF]: Spanish or English?

# Spanish

Dr. Janzen [GDFCF]: This presentation is the one that I will be using tomorrow in the workshop so any comments are welcome. For GDFCF, this is the topic: Biomonitoring with insects to perceive the impact of geothermal development in the margin of an UNESCO Natural Site of World Heritage in Costa Rica. Not as members of the government or consulters. Even when Costa Rica is small in territory, it has 4% of biodiversity worldwide, which represents all North America. ACG has 65% percent of biodiversity of Costa Rica, and 2.6% in the world. ACG covers 1,650 km2. 150 people working for biodevelopment, the geothermal project is another one of many. Is the only National Park that has development (biodevelopment) in the entrance. ACG and GDFCF has a protocol to know and measure the impact of the geothermal platform and its road, in a tropical sensible and protected forest. ICE and JICA have helped with this, with ERM. The start that marks the place of PL 12 in the map, is right south to the first plot of land bought for conservation. The life zone where PL12 is, relates to the coffee sites, much of them without forest anymore. The geothermal resource is hundreds of megawatts, 2-3km under ACG. In the future, the park might not be protected, so now that we have conscience to protect, we need to act. So, the question is how to extract with minimum impact, then how to measure the collateral impact, and how to mitigate it and compensate. The forest that was there before the platform was used for timber. Map of the platform and the traps, and the change nowadays. Traps 1 and 6 are inside the park. People say that the forest next to PL12 is Dry Forest, which is incorrect, because it is actually an intersection between Dry and Rainy. Insects represent thousands of species and we can use that biodiversity, put it to work. Of course, we can use big mammals, but is impossible to interpret the impact with the behavior of these animals. The same occurs with small mammals. Two important but very different questions: what is the impact of the clearing, and what is the impact of the perforation. People are concerned about not having data before the clearing started. The Malaise trap is the equivalent to a meteorological station, with the difference that each insect is different. Explanation of other kind traps is given and a question rose, which is more useful? Each different trap is used for some specific kind of insects, the sample is not representative. There are other samples from 3 years ago, where samples were taken from the leaves litter. Back to the Malaise traps, the taken samples are shown, the process to send and analyze them, etc. When the insect is diminutive, instead of using just a leg, they use the whole insect. 144,994 insects and 11,385 species. The DNA barcode is a word of 600 letters that has only 4 different letters. Of 15 thousand species, only 3 insects of different species share the same barcode. BIN assignment, done by the machine. When there is s relation between certain insects, like parasites, that information is also found in the data base. DNA Barcoding Part of UN Biodiversity Strategic Plan. Decision ratified Dec.

19, 2016 international support for DNA barcoding the Barcode of Life Network, the Global Taxonomy Initiative and other DNA barcoding applications. From 7 traps, the total of insects was 144,994, with 11,385 species, 7,400 just in one trap, 91% successfully IDed. Relation between the rains and the insects, and then between their life cycle; to understand the quantity of insects. This is a normal cycle, we also see it in the traps inside ACG. We are trying to find the patterns from the data collected. Other way to look at the data, is the accumulation of species during the year, which increases as time progresses. Rain starts and the increment is more visible, then in the increment curve stabilizes again, rain increment, the curve peaks. Meteorological station only in Pailas I, not Pailas II, so that data regarding the change of weather, is from Pailas I. About the data before the project, it might be assumed that a base line data cannot be made, but then the traps inside in the forest (150m from platform) can be used to create one since the data between them is very similar. About the time of perforation, the data shows that there was not impact during that time. About trap 2, 50m from platform, is the same as the ones 150m from the platform. So, if we assume that those at 150m distance are the base line, then everything is "normal" at 50m. It would be best to analyze the other ones at 50m distance. Now, is PL12 special in some way? PL12 has 11,385 species, the rainy forest has 7,032, the dry forest has 5,668. Only 131 shared between rainy and dry, and 199 shared between PL12, dry, and rainy. 1462 shared between dry forest and PL12, 897 shared between rainy forest and PL12. The 199 in common is mostly composed by flies. Another comparison, 527 of ants in ACG, and 279 in PL12, in common 136, 142 not known were found in PL12, so there is something special about PL12. Now, about trap 3, there is an enormous difference in comparison to the others. Perforation is not evident in trap 3, even when it is in the margin. At least half of the species found in the other traps was found in trap 3, and more than 5,000 were only found in PL12. So, which are those species? Parasites and scavengers. These kind of insects, in the inside traps were around two. Explanation of Malaise Trap. Insect is also searching the light. Trap 4 was moved next to trap 5, but trap 4 was directed to the shadow, while 5 was directed to the light. In resume, trap 4 became a trap with similar conditions of the traps inside the forest. The margin turned out to have different conditions depending on the light. The margin present the same conditions as paddocks for insects and plants, so several parasites and scavengers that are not found in the forest but in paddock environments, are now found in the margins of PL12 brought by the wind. Other insects such as the Blackfly (Simuliidae) were also found, 6 species. They sting not only humans but other animals and birds, this was found since it was asked to Guelph University to barcode the contents of the stomach of the specimens of the found Blackflies. To study species, it is necessary to not only go inside the forest, but also the margin that becomes a microecosystem. The road and the platform is a footprint that can be controlled. How can the hole be sealed? To isolate the platform, to plant certain trees in the margin, like mangos, which produce a very good shadow similar to the one inside the forest, can be a good way to seal the footprint. ICE and ACG agree that they need to work together, a process that is being developed. To extract, to measure, to know, to compensate; not to fight with the industry and developers but to think together and be partners. Invitation to the ICE biologist to improve this relationship and knowledge. Regarding the results, the important thing is the collaboration between different government, public and private institutions. Several recommendations given. Final estimate of 1 187 300USD for two years for continuing the monitoring.

Sakaguchi [ERM]: The overlap species. Many species, some might be found only in a specific area, correct?

Dr. Janzen [GDFCF]: Some of them are, but we are dealing with thousands.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: Some are.

Sakaguchi [ERM]: Since there are specific species, should there be a record of DNA data?

Dr. Hallwachs [GDFCF]: Ideally, but it is not possible.

Dr. Janzen [GDFCF]: Sometimes there could be a peak of certain species, but that doesn't mean that it is special to that place.

Hasegawa [JICA]: Traps used for base line inside the forest, and then number 2 with no impact. What about trap 3?

Dr. Janzen [GDFCF]: PL12 is attractive for other insects that are not usually in the forest, so there is a mix. Trap 4 was turned around. When platform was moved, trap 5 started to behave like trap 3.

Hasegawa [JICA]: We don't know if the impact really doesn't go to 50m?

Dr. Janzen [GDFCF]: There are other two traps there waiting for the analysis.

Hasegawa [JICA]: How long to get some sort of template?

Dr. Janzen [GDFCF]: Three years.

Hasegawa [JICA]: Documents about this?

Dr. Janzen [GDFCF]: No, nobody has done this before.

Hasegawa [JICA]: If we could have a template dynamics to compare for the purpose of EIA or others.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: Three years is a possibility.

Dr. Janzen [GDFCF]: Explanation of trap 7.

### Coffee Break

### 11:55 am

Suzuki [ERM]: Presentation of the analysis done by ERM, focusing in EIA. Impacts on insects from the Geothermal Development. A matrix of expected impact on the insect community was created, that include, sun light, night light, dust, noise and others. Expected impact in the different traps is explained. The approach for the assessment was: data organization at order level, data organization for each trap (order level), analysis on potential impact (family level). Step 1: data organization at order level, the dominant orders were Diptera, Hymenoptera, Coleoptera, Lepidoptera and Hemiptera. Step 2: data organization at each trap, where change in the insect community is shown by order by trap. Step 3: analysis on potential impact, the change in number of

species throughout the year is shown. Traps at 0m and at 150m are shown in a graph, then by number of species and number of specimens, except trap 3. Trap 7 shows a slower change than other traps. The rainy season is clearly seen in the other traps, but not in trap 7. In trap 7 the number of Diptera didn't increase when the rainy season starts, while they did increase in the other traps; same in the number in specimens. Shannon-Weiner Index and Simpson Index were used to detect the change in the insect community. Graphs with more specific information on the Shannon-Wiener results are shown. Graphs focusing in Diptera, highlighting trap 7, same Coleoptera and Hemiptera. Step 4: analysis on potential impact, where changes in families by selected orders are shown. More than 100 BINs during a year to choose that particular family.

Sakaguchi [ERM]: Diptera, it can be seen that in trap 7, the numbers are smaller than other traps.

Suzuki [ERM]: Graphs of Diptera with changes in species and specimens are shown, pointing out that trap 7 recovers very slowly.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: Pretty graphs, but, *Sciridae* are scavengers so they come late in rainy season, and *Cecidomyiae* come in early rainy season searching flowers and others.

Suzuki [ERM]: *Cecidomyiidae*, examples from traps 7 and 9. These insects have a very short life cycle, one month, but they are found all year around, and increases during rainy season, shown in trap 9, but this doesn't occur in trap 7. These insects depend on leaves to put their eggs and they remain in the same area. Graphs for Coleoptera and Hemiptera. The access road seems to have environmental effects in Diptera, and since they have known life cycles, they could help to understand the effects during a year. *Cecidomyiidae* and others' samples are smaller in trap 7 than other traps. Dust could be affecting these and other insects, so it is recommended to analysis 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> year data.

Dr. Janzen [GDFCF]: Trap 7 is located in an ecosystem that was half destroyed by a road, specifically.

Roger [ACG]: Then, how can the impact of the road be reduced?

Dr. Janzen [GDFCF]: It helps if the road is very narrow.

Roger [ACG]: And to asphalt the road.

Alejandro [ACG]: The year of the sample was very dry, so in a normal year there might be no impact.

Suzuki [ERM]: Comments?

Randall [ICE]: If dust is the problem, measures can be taken.

Dr. Janzen [GDFCF]: A certain picture should be removed since it doesn't show truthfully the environment.

Sakaguchi [ERM]: Picture taken yesterday.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: It is not accurate.

Randall [ICE]: Using this study, what are the impacts globally and what can be done to repair the damage done?

Suzuki [ERM]: More information needed, right now only speculation.

Randall [ICE]: Impact mitigation.

Roger [ACG]: Plans can be made having the proper data.

Eddy [ICE]: About the road, what does is mean to asphalt a road? It has been proven that in our environment (Costa Rica environment) it is not useful to have ballast roads, so from the beginning such an investment can be justified. We can optimize processes integrating needs of different areas.

Randall [ICE]: Taking into account the sensibility of the area.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: You could emphasize that only trap 7 is the one affected by the dust from all the area.

Yes.

Suzuki [ERM]: Findings show that using flying insects can be used for impact analysis since 90% of insects are flying insects, it has representativeness. Using Malaise Traps and DNA barcoding, species and specimens can be effectively and precisely identified, and even some species could be used as indicator species, especially if they depend on certain environment or plant.

Dr. Janzen [GDFCF]: A perfect example of specific habitat can be seen in this project since we have been able to identify species that depend on certain conditions.

Randall [ICE]: Before the insects on the ground were a concern, but since 90% are flying insects, is ok.

Suzuki [ERM]: By using these tools, an assessment can be made, the insect community can be used as a quantitate method. In the case of the Malaise Trap, the position is very important. Can an impact indicator be identified? Composition of insect community or specific orders/families/species. Seasonal change of insect community must also be taken into account.

Roger [ACG]: Not only the changes in the insect community, but also climate changes.

Dr. Janzen [GDFCF]: The influence regarding the position of the traps was true at the beginning, now we know about it and are more careful. Do not agree that we do not know kind or how much impact, since we didn't see any change in the traps inside the forest. We don't need to invent an impact indicator since we already have it, is change, change in the insect community. Instead of necessity of more analysis, we should consider the desirability of the analysis. Unknown/rare species is incorrect, since 95% of insects don't have scientific name, and then we don't know what is rare. "For the purpose of

EIA, it may not be necessary to try to collect all species" We are not doing that, anyway. To do monitoring, you catch what you catch.

Dr. Hallwachs with help of Dr. Janzen [GDFCF]: For Singleton BIN, most of the time we don't know anything, but some other times we do know and we get very valuable information. In the case of aquatic insects, they have a long tradition as entomologist and they do have indicator species since they have collected a lot of insects to know if the rivers are clean or not. The indicator is a list of the species, of the composition of the community of insects.

Randall [ICE]: It could be and indicator regarding the base line environmental quality before the project. The monitoring could continue and changes could be detected, and then the project itself could be updated depending on the changes seen.

Miguel [ICE]: When you refer to the impact indicator, are you talking about an umbrella species that could be used to find other species under it that could show environmental impact?

Suzuki [ERM]: No, the advantage of using this tool is that it can measure very sensitive change.

Eddy [ICE]: This part that we are discussing, does it have any sense? As Dr. Janzen said, the impact of the project was seen during this study. So, what sense do the final propositions have?

Suzuki [ERM]: Since we are trying to improve EIA methodology, we need to define a clear approach to measure the impact. To know what to look in the data and what kind of change is there.

Dr. Janzen [GDFCF]: Do not agree. Outside the platform, we didn't see change, but we did in the margin, so we need to do something about the margin, we need to stop the increase of the paddock like environment, that is represented by the platform.

Eddy [ICE]: Then, if we can identify the impact as some kind of paddock we can also measure the affectation. If we determine what kind of impact and how much impact, decisions can be made and that is the final meaning of this project.

Dr. Janzen [GDFCF]: To understand how the edge expands into the forest, let's think that a tree falls next to the platform and the insects, seeds and others move to that open space, and the process continues until the forest is a paddock.

Eddy [ICE]: One of the reasons for this nonrefundable technical assistance is to know if the activities have a very small or a lot of impact. There is a lot of speculation around the site, so it is very important to have as much information as possible, so we need all the variables to determinate the affectation and to mitigate it.

Suzuki [ERM]: We have one year data, so do we have seasonal change, or impact from the project, what is the base line condition and how many catchable species are there? We need at least a couple more years to answer those questions.

Dr. Janzen [GDFCF]: That was exactly the plan when we started in 2013.

Hasegawa [JICA]: We are not doing ordinary impact assessment. In this geothermal development, I don't see any impact. Instead of analyze impact, we are trying to learn ecological responses from the geothermal project, and these are very dynamic. This is why we were talking about indicators, and the insect community can be one as an ecological response. We normally cannot have ecological responses from regular developments, but this development is located in a very important ecological area in Costa Rica. If we continue this biomonitoring, we can measure the recovery of the environment.

Dr. Janzen [GDFCF]: Right now, we are not doing nothing to contain the paddock and its organisms. I do not know of something that can be done fast, any kind of natural shade is going to take time. Don't want to suggest, but we need to be ready for it since someone is going to suggest it. Why not use pesticide in the margin? The samples for the other 2 years are ready in the freezer of what happened when we were doing nothing. By the third year we might find that some of the insects that were in the margin are inside (150m).

Miguel [ICE]: The suggestion to create a shadow in the margin could be implemented in a section of it and then see what happens with the different species.

Dr. Janzen [GDFCF]: The problem is to find the appropriate species (of tree) that can adapt to the place and give the desirable shadow.

Suzuki [ERM]: Let's continue the discussion after lunch.

#### Afternoon session, 2pm

Suzuki [ERM]: The pilot study show potential for quantitative assessment, to detect sensitive impact (sensitive areas) and to show impact boundaries. The challenges relate that the site is a protected area, a World Heritage from UNESCO, Strategic Environmental Impact Assessment and consultation with stakeholder. Comments?

Dr. Janzen [GDFCF]: Margin of a Protected Area. Then, some day in the future, the government might allow the developers to go inside the Protected Areas, and now we are prepared for that with this study, which is interesting, but we can now say what might happen.

Suzuki [ERM]: Comments from ICE?

Miguel [ICE]: What Dr. Janzen commented.

Randall [ICE]: This kind of study influence in the rate that is set, the cost of transmission, and people usually don't know and just complain.

Dr. Janzen [GDFCF]: Not just consultation, but also collaboration with stakeholders.

Miguel [ICE]: The proper word to use is participation, consultation is a form of participation.

Dr. Janzen [GDFCF]: We are focused to measure something already done, but one component should be where to put the platform because that is an easy way to avoid damage, it is something that can be used for the future.

Miguel [ICE]: Regarding the last comment, the decisions and studies about where to put a platform are already included in some sort of way, but it is important to put this forth.

Dr. Janzen [GDFCF]: Yes, and also to include in the decisions engineers and biological experts (of the area of interest)

Miguel [ICE]: Environmental, social, biological, legal restrictions, all of that is analyzed and indicates where the project can be placed.

Roger [ACG]: All those studies are made, but we are in a new phase where the model can be better adjusted.

Eddy [ICE]: When we integrate this as part of our developments, it can be a model for other developers (public or private).

Dr. Janzen [GDFCF]: When a patient needs a procedure to be done, the doctor wonders where to cut that causes the less damage and complications. The project (Pailas II, PL12) is the patient and you are the doctors.

Eddy [ICE]: We want to create a new level of conscience.

Miguel [ICE]: The first phase of any project is the identification, the second one the clearing and outlines of the project to have the best options.

Suzuki [ERM]: The use of these tools can also help determine where to put other platforms. Options for next steps in short, medium and long term.

Dr. Janzen [GDFCF]: Next step for SAPI?

Suzuki [ERM]: Mostly recommendations for ICE in their Geothermal Developments.

Dr. Janzen [GDFCF]: But then ICE is the one who decides.

Sakaguchi [ERM]: We must put a suggestion in the report.

Dr. Janzen [GDFCF]: Want to understand who is going to do what in the future.

Suzuki [ERM]: A proposal is presented to move forward and not waste the results.

Dr. Janzen [GDFCF]: But who is paying for all that? (proposal, suggestions, etc.)

Suzuki [ERM]: Don't know.

Sakaguchi [ERM]: Maybe is better that ICE decides all this.

Dr. Janzen [GDFCF]: What about the budget?

Suzuki [ERM]: This is just a proposal of what can be done with the results of the SAPI.

Dr. Janzen [GDFCF]: The database can be done anywhere, because it is in the internet, the country disappears, so there is no need to suggest management of it.

Sakaguchi [ERM]: ICE might want to be have their own data base for their own studies and their own management.

Dr. Janzen [GDFCF]: But is available in the internet.

Alejandro [ACG]: Maybe the question is not about management but who uses it and if there are knowledgeable people to use the data. Whatever data you have in BOLD, is public for everybody, the question is how to used it.

Sakaguchi [ERM]: In the future, you might have other projects and data and you might want to manage that yourselves.

Alejandro [ACG]: What for? The country has different links to different kinds of information.

Dr. Janzen [GDFCF]: Use the data, not manage because nobody owns the data. It was agreed that it will be public.

Suzuki [ERM]: For this SAPI project yes, but in the future, something might change.

Alejandro [ACG]: So, should we have a copy of the data?

[ERM] No, but in the future, something might change with other projects, and the availability of the data might change.

Suzuki [ERM]: Comments from ICE?

Eddy [ICE]: This is proposal for the future that might be evaluated.

Miguel [ICE]: If we already have a data base, we can create links to it, no need to create and manage another data base.

Dr. Janzen [GDFCF]: An important point is that BOLD doesn't accept data if you do not agree that it will be public.

Suzuki [ERM]: Now, about ,edium term possible steps. Any final comments? Ideas for mitigation plan for Pailas and Borinquen?

Eddy [ICE]: Focusing in the results of this SAPI?

Suzuki [ERM]: In general.

Sergio [ICE]: There is a whole reforestation plan that already began in Pailas I, and to further plan that, they would use what have been done in Miravalles.

Eddy [ICE]: All the efforts to work environmentally responsible, is a process that is not finished yet. The compromise of continue improvement is not about following a set of rules, but is a compromise related to environmental conservation. This is why the scoping (of this particular project) was proposed to JICA. This study has given us a better knowledge about future projects, is a process in development.

[ERM] Do you believe that DNA barcoding would be useful?

Eddy [ICE]: The more technologies are used in the business, the more information we get. DNA barcoding is another tool alongside the insects. With the little information that we have so far, we can see new elements which allows us to take decisions, it is a tool that helps us to achieve an objective.

Roger [ACG]: As an experience, the barcoding has been something new for ICE's biologist along with the use of insects. As an example, we can see that the barcoding of the blood of a fly that stings several animals, can tells us which animals can be found in the whole area, and that is a sub product of the whole process.

Dr. Janzen [GDFCF]: The Malaise Trap shouldn't be a target. If there is money, other traps can be used.

Suzuki [ERM]: This is like a shopping list to try to decide what is going to be used.

Dr. Janzen [GDFCF]: This list is not realistic. About the seasonal change of the insect community, this is not done using indicator species. Indicator species for Geothermal Project makes no sense, just like species dependent of specific condition, you want to search for a community not just species.

Eddy [ICE]: We did this SAPI because the socioenvironmental variable is stopping development projects in Latin America and the Caribbean. We have financing for projects, but this variable is a problem with a lot of speculation. Entering a scientific frame of investigation helps to avoid the speculation around the variable.

Suzuki [ERM]: Find a common point of discussion. Proposed plan options shown. Scientific research, practical (EIA), simplified.

Dr. Janzen [GDFCF]: There is no scientific research here, but a combination of specific knowledge with technical knowledge.

Roger [ACG]: Applied science.

Dr. Janzen [GDFCF]: The time here is not five years, 3 years for 9 traps, and 5 years for 3. 1 million changes to 1.2 million. Several other changes made to the plan regarding time and costs. 40 thousand, and then 30 thousand. Used to be 60 thousand. Changes according to years. Year one done except traps 5 and 8. The years should be the pilot project, while the 5 years is to continue the monitoring.

Discussion about cost and other variables with Dr. Janzen.

No comments from ICE.

Suzuki [ERM]: Proposed agenda for the workshop tomorrow, from 9am.

Sergio [ICE]: The presentation from ICE will include how the SAPI started, then about the Geothermal Projects in general and then about Pailas II.

Dr. Janzen [GDFCF]: Move the Q&A after lunch and give 45 minutes to ERM, 60 minutes to Dr. Janzen. Ask SETENA for a reaction.

Suzuki [ERM]: Insect Survey: Malaise trap, seasonal change, survey methodology.

Dr. Janzen [GDFCF]: We are not doing a survey or an inventory, we are using the insects to make a measurement. The use of the word "survey" is incorrect. We are not doing a list of how many insects are out there.

Suzuki [ERM]: But SETENA uses different surveys in their EIA.

Dr. Janzen [GDFCF]: We are using insects to measure perturbation, there is no need to use the same words that they use, you have to do it better.

Suzuki [ERM]: Impact monitoring: Malaise Trap, Measuring Change, Monitoring Methodology. Use of DNA Database: ABS, Organization, Financial Resource. EIA process: EIA for Geothermal Development, Scope of Survey, Monitoring Plan. Let the participants decide the priority of the topics. Now, a comment from each participant as is the last commission meeting.

Randall [ICE]: At the beginning I really didn't understand how could all this be applied, but then I understood better the methodology and now I see a practical and technical use, specially thinking future possibilities in geothermal development.

Eddy [ICE]: There is a continuity of all the efforts of the different organizations involved in the SAPI and we have products (results) of common interest. There are a lot of tools but they are not used, they are just tools, so we are giving them an integral use. Nevertheless, there is still a lot more work to be done.

Miguel [ICE]: Three things need to be mentioned. First, worth highlighting the triangular relation that was created which includes private sector, public sector and a cooperative sector. Then, the integration of criteria with great levels of professionalism, with some troubles, maybe the language barrier, but in the end we might be able to produce a document that satisfies everyone. Finally, the possibility to develop these kind of tools not only for knowledge, but to be able to do our jobs better from the environmental point of view, to be able to insert ourselves in complicated placer, environmentally and socially speaking.

Sergio [ICE]: A vision for the future. We don't know what is going to happen, but if we have the information for future projects and we know what is going to happen, then there is a gain.

Alejandro [ACG]: This has been a process were the institutions have been growing, the SAPI has been very beneficial. Also, to thank JICA, since as a country, is a first step to take SETENA a little further. For some projects, SETENA stays short, so this is a huge step to take it further.

Roger [ACG]: This trip still doesn't, is another step, in order for a more harmonious development.

Honda [JICA]: I was little worried about the SAPI, but we have been able to do great things. A common error is to expect things to be easy, but we are almost done in this study.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: I want to thank ICE, since it is very nice to properly discuss with the engineers. Thank you to ERM since this is a study out of the box, and JICA for the support. Also, what Eddy said, this is not a regular EIA, since we are looking at this platform in a more ecological way with a lot potential and I'm eager to get more results.

Hasegawa [JICA]: Sincere appreciation for everyone. It has been really challenging and at the beginning there was a lot of uneasiness. Today, I'm happy to see how the SAPI is ending and thinking how to continue the support, and how to grow the partnership between JICA and Costa Rica, and the involved institutions, ICE, ACG, GDFCF.

Dr. Janzen [GDFCF]: I had some results but won't read everything, just some. First, an NGO, and two different government institutions have been able to work together. We are not the same than a year ago. Thanks to JICA for helping with the relationship. An industrial project can be biomonitored, and finally, as a scientist, the quantity of information is outstanding and opens a lot of doors.

Suzuki [ERM]: Thank you very much for the patience and participation.

Sakaguchi [ERM]: Thank you everyone, very nice opportunity. We still have work to do, so let's keep going.

終わり

添付資料 2:コミッションに関する合意文書

## Memorandum of Understanding

#### Between

# INSITUTO COSTARRICENSE DE ELECTRICIDAD (ICE), AREA DE CONSERVACION GUANACASTE (ACG) and

#### JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY (JICA) STUDY TEAM

"Special Assistance for Project Implementation (SAPI) for Guanacaste Geothermal Development Sector Loan: Study on Improvement of Environmental Monitoring methodologies for Geothermal Development in Costa Rica" (hereinafter referred to as the "SAPI") was launched in December 2015 in connection with the development of Las Pailas 2 Geothermal Project to which JICA signed the first loan agreement with ICE on August 18, 2014. In the recognition of the importance of biodiversity in Costa Rica, ICE, ACG and JICA agreed to establish a commission for the improvement of EIA methodology through the implementation of pilot study under the SAPI.

The subject for the commission will cover mainly following two components

# 1) Examination of methodology for Biodiversity

This will include the comparison of EIA practice in between Costa Rica and other countries, such as Japan, US and New Zealand. Also, a status of biodiversity in and around the Las Pailas 2 area that should be taken account specific to Geothermal Project shall be discussed, together with a review of environmental monitoring study conducted at the area.

#### 2) Pilot Study

In general, umbrella species such as mammals or birds would be subject species for biodiversity assessment, however, the pilot study will mainly focus on insects around a platform, and the impacts on Biodiversity by a Geothermal Project will be examined by the use of number of specific insect species and samples as key index in line with the minutes of discussion on May 18 2015 between ICE and JICA.

The commission will be organized and managed by ICE. JICA study team will report the progress of the study and propose EIA methodologies and ACG will make comments and give advice on the study.

Detailed activities for the Commission will be discussed and agreed among ICE, ACG and JICA study team in the commission meetings and implemented as scheduled below.

[Commission Meetings]

No	Date	Objective
1 <sup>st</sup>	January 2016	Agree on the direction of the survey and discuss about survey
		program
2 <sup>nd</sup>	March 2016	Share and discuss about the proposed survey program
3 <sup>rd</sup>	July 2016	Share and discus about the 1 <sup>st</sup> progress report
4 <sup>th</sup>	November 2016	Share and discus about the 2 <sup>nd</sup> progress report
5 <sup>th</sup>	March 2017	Share and discus about the draft final report

Venue: Guanacaste

Beside the commission meetings, the commission will organize and hold two workshops towards the end of SAPI to share and exchange opinions about the new EIA methodologies among other stakeholders such as SETENA, SINAC and NGOs.

This MOU is at-will and may be modified by mutual consent from ICE, ACG and JICA study team. This MOU shall become effective upon signature by ICE, ACG and JICA study team and will remain in effect until modified or terminated by any one of the partners by mutual consent. In the absence of mutual agreement by the authorized officials from this MOU shall end on March 31, 2017.

## Contact Information

Partner name: ICE

Partner representative: Hartman Guido

Sequeira

Position: Geothermal Resource Service

Center, Coordinator Telephone: 2673-3469

E-mail: HGuido@ice.go.cr

Partner name: ACG

Partner representative: Alejandro Masis

Position: Director Telephone: 8345-2249

E-mail: amasis@acguanacaste.ac.cr

Partner name: JICA study team

Partner representative: Yohei Suzuki

Position: Senior Consultant Telephone:8722-6885

E-mail:yohei.suzuki@erm.com

(Partner signature)

CORG Partner name: ICE

Partner representative: Eddy Some to ?

Position:

Date: Jan 2 1.2066

(Partner signature)

Date: Tau. 18. 2016

Partner name: JICA Study Team

Partner representative: MANABU SAKAGUCH !

Position: Partuer

(Partner signature)

Partner representative: Algandro Masis

Date:

Position: Directo-

添付資料 3:第2回コミッションミーティングの MOU

# Minutes of Meeting

#### Between

# INSITUTO COSTARRICENSE DE ELECTRICIDAD (ICE), AREA DE CONSERVACION GUANACASTE (ACG) and JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY (JICA) Study Team

March 4, 2016

During  $2^{\text{nd}}$  commission meeting held on March  $4^{\text{th}}$  2016 under "Special Assistance for Project Implementation (SAPI) for Guanacaste Geothermal Development Sector Loan: Study on Improvement of Environmental Monitoring methodologies for Geothermal Development in Costa Rica" (hereinafter referred to as the "SAPI"). The summary of the 2<sup>nd</sup> commission meeting is as follows.

- The commission members have discussed about the proposed pilot project plan as appendix A, and understood and agreed on the content of the pilot project plan.
- The commission members agreed that final technical report will consist of the result of discussion in the commission meetings and will be agreed on by the commission members. The final technical report means "final report" referred in the Minutes of Discussion agreed between ICE and JICA dated on May 18, 2015.
- The commission members agreed to organize 3<sup>rd</sup> commission meeting on late August 2016. The agenda of 3<sup>rd</sup> commission meeting shall include following:
  - Discussion based on the 1st interim report which includes progress of DNA barcoding and major finding from the result of analysis.
  - Discussion and examination for the approach of improvement of EIA methodology.



Date:

(Partner signature)
Partner name: ICE
Eddy Sánchez Rivera
Position: Director

Date:

(Partner signature)
Partner name: ACG
Alejandro Masís
Position: Director

JICA study team

(Partner signature)

Partner name: JICA Study Team

Manabu Sakaguchi Position: Partner

#### Annex A

#### Pilot Project Plan for

Study on Improvement of Environmental Monitoring methodologies for Geothermal Development in Costa Rica

Pilot Project Plan is developed to show the approach for scope of work described in Annex A of Sub contractor agreement for *Study on Improvement of Environmental Monitoring methodologies for Geothermal Development in Costa Rica*.

- ☐ Identification of the insects already collected every week for 1 year from 6

  Malaise traps beginning September 2013, by DNA barcoding individually these insects and assigning a unique code (BIN) to each species and specimen (Task 3.2)
- Selection of Laboratory for DNA barcoding:
   Sole Source Justification for Analytical Services Provided by the Canadian Centre for DNA Barcoding (CCDB)

The CCDB, an analytical division within the Centre for Biodiversity Genomics at the Biodiversity Institute of Ontario of the University of Guelph, Guelph, Canada, is the global leader in the provision of DNA barcoding services. It pioneered the use of DNA barcoding for species identification and has a decade-long history in the delivery of species identifications through DNA barcode analysis for the international research community. Research infrastructure and staff at the CCDB generated one million barcode records in 2015, more than 20X higher production than any other facility. Over the past decade, it has generated 73% of the global pool of sequences to the Barcode of Life Data Systems (www.boldsystems.org). See also <a href="https://www.boldsystems.org">www.biodiversitygenomics.net</a>

The analytical services provided by the CCDB have supported biodiversity assessments led by private sector firms, governmental agencies, and universities researchers in more than 20 nations (see for example, <a href="http://biodiversitygenomics.net/projects/cnp/">http://biodiversitygenomics.net/projects/cnp/</a>). Because of these collaborations, the CCDB has well-developed workflows to allow the efficient analysis of

ms for

invertebrate samples collected through Malaise traps. Aside from this expertise, the CCDB is the only facility with the capacity to carry out this study for GDFCF and ACG because project timelines require that several hundred thousand specimens must be processed through the full DNA barcode analytical chain within six months.

#### 2) Clarification about ABS

The samples being shipped will be accompanied by the appropriate national research permit issued to Janzen and Hallwachs (GDFCF), and by the export permit issued by the government of Costa Rica (ACG), and the CONAGEBIO research permit; .pdf copies of all three will be submitted to ERM. CONAGEBIO is Comision Nacional para la Gestion de la Biodiversidad, MINAE.

#### 3) Shipping

By mid March 2016, 52 samples from each of the six Malaise traps will be sent as one shipment by DHL to BIO at the University of Guelph. In order to send them, the shipment will have the ACG research permit issued to Dr. Daniel Janzen to conduct this research, an Export Permit issued by ACG, and a CONAGEBIO biodiversity processing permit issued by the government, a permit that allows this DNA study to take place. To get this CONAGEBIO permit, ICE has to give its permission for its samples to be DNA barcoded. At the moment of packing for shipping, each individual weekly sample will have its old alcohol poured off so that the bottle itself contains only alcohol fumes and a few milligrams of alcohol. This is done on the same day of shipping and when the samples arrive at BIO four days later they are immediately refreshed with new 95% clean ethanol and then stored again at -20°C. This protocol has worked without fail for with thousands of insects from Malaise trap samples from ACG in the past

#### 4) DNA analysis

At BIO, the samples from each one of the traps will be placed under the supervision of one person, who will then work with a small team of people to process the insects from their trap week by week. Each intact insect is treated as a separate specimen and one leg is taken for the actual DNA sequencing, but the specimen is retained (see protocol outlined in Fig. 1). 6 months is required to process the 52 weekly samples from a trap, and all 6 traps are processed concurrently.

Mig AM

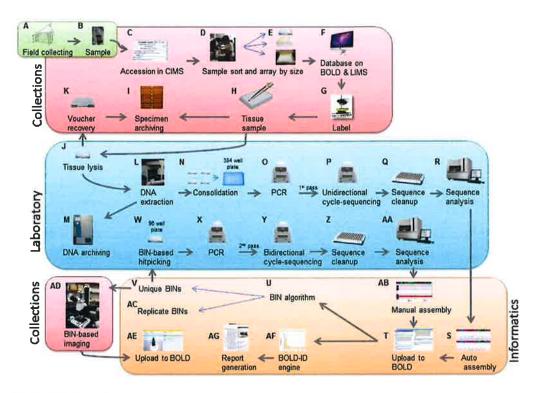


Fig1: DNA analysis process

At BIO, each specimen sampled follows the appropriate path for identification by means of genetic sequencing to obtain its DNA barcode (Fig. 1), followed by confirmation through traditional taxonomy (morphology) to some taxonomic level, by the use of a digital image, appearance, and information contained in the DNA barcode itself. The DNA barcode is unique for each species but not for each specimen within a species. The entire process of DNA barcoding will be overseen by Dr. Paul Hebert, the Scientific Director of the Centre for Biodiversity Genomics, Biodiversity Institute of Ontario.

#### 5) Morphological classification

Morphological classification to Order, and sometimes to family, is achieved by visual inspection of the specimens at the time that they are individually selected for DNA barcode treatment. This is done by the sorting personnel who have sufficient experience for morphological classification. This Order-level classification is then confirmed by the information content in the DNA barcode,

M.S. AMC ESR through where the specimen clusters in an NJ tree or other machine-based process.

□ Analysis of Data obtained from the Malaise trapping and subsequent DNA barcoding analysis to evaluate the impact on the forest ecosystem that has been caused by the development of PL12 (Task 3.3).

#### 1) Justification

In most brief terms, the comparative community composition of insects as trapped by Malaise traps is being developed as a measure of perturbation of the ecosystem around a small (2 ha) drilling platform and access road in sensitive forest because:

- a) There are tens of thousands of flying insects in these tropical forests, so the changes in the composition of their community becomes a fine-scale "thermometer" for perturbation,
- b) Malaise traps capture tens of thousands of individuals of many thousand species without entomological intervention or knowledge, and therefore the traps can be very cheaply serviced by unsophisticated personnel,
- c) It is now known and well proof-of-concepted how to obtain and machine-identify with DNA barcodes (eDNA) and data manage the entire set of information contained in the Malaise trap samples, for the very cheap cost of a few dollars per specimen and based on ten years of experience,
- d) The traps can be strategically placed at different distances from the primary and crude perturbation, and with respect to different micro-types of perturbation (road, drilling platform, etc.),
- e) Malaise traps themselves are commercially available and long tested in their capture abilities by the entomological community of researchers and taxonomists,
- f) Area de Conservacion Guanacaste has a very large reference collection already of 400,000+ DNA barcodes that will be compared with the biomonitoring results to add value to the Malaise trap information,
- g) Malaise traps collect data 24 hours a day (nocturnal as well as diurnal species), and in any and all kinds of weather in an extremely consistent manner,
- h) At the time of initiation of the geothermal project in September 2013, fortuitously 9 Malaise traps and alcohol were available in ACG, along with the expertise as to how to use them, and year-round paratataxonomist

MIS. AM

- personnel who could establish and service them on a weekly basis, and

  This project establishes a baseline that can be used to measure the influence of the perturbation on this forest over decades to come, and if set up correctly for comparison with other traps further from the site, can even distinguish between changes through climate change and changes from the
- 2) Analysis of Impact caused by the development of PL12Following steps (a) j) )will be followed to analysis the impact related with PL12.

geothermal engineering itself.

a) A direct comparison of the three samples from deep inside the forest (#1, 6, 9) with each other to document to what degree each one of them says the same thing about species composition, taxonomic composition (are the same species being captured by each trap?), seasonal change, and change since the beginning of monitoring to the end of the first year in this a relatively undisturbed ecosystem. This will be done by extracting the information directly from BOLD and comparing it amongst the three traps. The results will directly address the question of how many traps for how long are required to create the ground zero baseline community image against which all others are compared.



MS. AMC

- b) A direct comparison of the two platform edge traps (#3 and #4) with each other to ask the same question as in a) above.
- c) A direct comparison of the two platform edge traps (#3 and #4) with the single trap (#7) along the margin of the access road. Here, as in all cases, the analysis will be sensitive to the beginning and ending of the rainy season as well as how long the perturbation has been in place after its first week. This will begin to address the question as to whether the edge of the platform and the edge of the road are effectively the same habitat and are equally impacted by the initial disturbance and the subsequent year of disturbance.
- d) A direct contrast of trap #1 with trap #3, trap #6 with trap #4, and trap #9 with trap #7. In the first two cases we anticipate dramatic differences owing to the result of open, sunny, full rain exposure, wind exposure, and diurnal drying at the edge of the platform, in comparison with deep inside the forest. We also expect to see an increase in the impact as the year progresses. In the case of trap #9 versus trap #7, we expect the opposite effect, owing to the extreme build up of road dust on the vegetation in the general vicinity of trap #7. However, all of these and other effects remain to be seen and what can be stated about their impact on the ecosystem, once the species and higher taxon composition of the samples is revealed by the barcoding. There will be surprises. And the evaluation of these surprises will require asking whether they are peculiar to PL12 or are of a nature to be expected in any deep forest perturbation.
- e) Next, the same array of questions will be asked of the traps using only the data from every other week. This will be done twice for each comparison, using the odd-numbered weeks one time and the even-numbered weeks the other time. The results will help to understand in what ways can this trapping effort be reduced, and still show the same effects.
- f) Next, the same array of questions will be asked of the traps as in e) but using only one week per month. Clearly the question becomes to what degree can we get similar results by reducing the number of weekly trap samples analyzed.



- g) Next, we will pool the BINs into biweekly intervals and ask when the results would have been the same. Obviously in this case the number of BINS analyzed will be the same but the question becomes whether all the individuals need to have been analyzed within the trap samples, and for which answers to emerge.
- h) Next, we will compare the entire array of BINS from all six traps against the nearly 15,000 bins already identified for ACG insects over the past 10 years and stored in BOLD. This will be an effort to ask the question of "to what degree is this particular forest unique among the different forests in ACG, and where there are similarities, which ACG forest is the most similar to PL12?" Needless to say this is a way of flushing out the question of whether a particular intact forest is only of significance because it is intact, or because it is both intact and unique in its species composition, as measured both by the actual list of species present and by the community structure of those species. Answers will address questions of whether an ICE even needs to give any thought to whether the perturbation to a particular forest even matters, and to what structure of the ecosystem. It may also shed some light on the question as to how a drilling platform and an access road may influence different kinds of forests in different elevations and rainfall regimes, some of which are currently being Malaise-trapped in ACG.
- i) Next, depending on the composition and higher taxa levels of the samples from the traps, we will also ask some questions as to whether any or all of the above analyses reflect differences in the insect community structure with respect to questions like proportions of parasites, proportions of carnivores, proportions of leaf-eating insects, and proportions of wood-boring and wood-eating insects. The degree to which these differences can be related to the foraging behavior of bats, birds, spiders, and even perhaps some mammals, lizards, and frogs, will depend on the details of what we find and cannot be predicted in a reasonable way at this time.
- j) Next, we will compare, in a general and logical manner, the Malaise trap results with the kinds of data expected by other kinds of sampling schemes (regular observations, light traps, net collecting, baits, etc.), all of which have been used in ACG to census or collect particular taxa, by Janzen and other biodiversity researchers (e.g., Janzen et al 2009).

M.G. AMC

#### 3) Cost Benefit Analysis of DNA barcoding

For large and complex (species-rich) tropical insect communities, in which easily 90% of the species are undescribed, the only way to identify (= give a unique species-level identifier to any specimen) is through DNA barcoding. Area de Conservacion Guanacaste has 11 years of demonstrating this with tens of thousands of species of insects. If one wishes to later do classical descriptions and taxonomy with these specimens, the standard costs today are \$100/specimen for identification, and \$500-\$5,000/species descriptions by a qualified taxonomist, coupled with delays of 1-15 years per species; DNA barcoding, for the purposes of biomontoring, does the same job in 6 months for \$2-5/specimen, thereby allowing both real time biomonitoring and budgets that can be included within any industrial engineering project. This particular project in PL12 would cost easily \$5-\$10 m for standard taxonomic treatment of the estimated 20,000 species (in just one year) being used as biomonitoring thermometers and a ten-year time window, as compared with a budget of \$395,000 and an actual analysis now. Through this study, we will examine the cost benefit analysis based on above idea.

Analysis of Data obtained from the Malaise trapping and subsequent DNA barcoding analysis to improve Biodiversity Assessment of industrial perturbation on an ecosystem (Task 3.4).

#### 1) Minimum number of samples for DNA analysis in EIA.

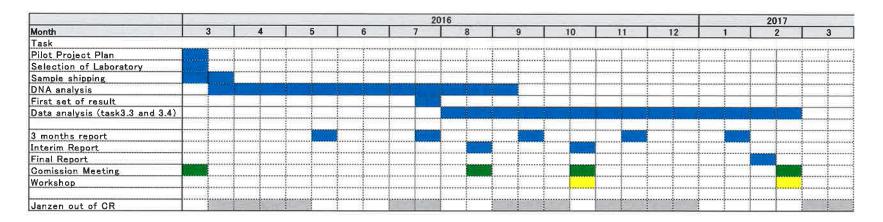
Through analysis of task ② above, the minimum number of samples, and their method of analysis, that will eventually be deemed to be useful for an EIA will be examined.

# 2) Representativeness of flying Insects as index communities for EIA.

In fact, 95% of all terrestrial non-nemtatode, non-mite, species are insects. Therefore knowing the insect community would provide a hint of condition of biodiversity as whole. Through this study, it will be examined if there is a representativeness of flying insects which could be a potential indicator for perturbations of biodiversity in the area.

MIS. AM

Table 1: Proposed schedule





添付資料 3:第2回コミッションミーティングの MOU

### Agreement

#### Between

# INSITUTO COSTARRICENSE DE ELECTRICIDAD (ICE), AREA DE CONSERVACION GUANACASTE (ACG), JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY (JICA), ERM JAPAN LTD. (ERM) AND GUANACASTE DRY FOREST CONSERVATION FUND (GDFCF)

THIS AGREEMENT is made on the 4 March 2016.

#### **BACKGROUND:**

- A. JICA(ERM's Client) has engaged ERM as its consultant to provide professional services for "Special Assistance for Project Implementation (SAPI) for Guanacaste Geothermal Development Sector Loan: Study on Improvement of Environmental Monitoring methodologies for Geothermal Development in Costa Rica" (hereinafter referred to as the "SAPI Project")
- B. In connection with ERM's engagement by JICA, ERM wishes to engage the GDFCF to supply certain services as set out in Annex A (TOR).
- C. The Commission was established by ICE, ACG and ERM and MOU was signed by ICE, ACG and ERM.

#### AGREEMENT:

- 1. Copyright of DNA barcodes
- 1.1 JICA, ICE, ACG, GDFCF and ERM agree that all the DNA barcodes and their traditional collateral information (date, collection location, collector, taxonomy, image) obtained in SAPI project will be registered in the BOLD system for public use.
- 2. Copyright of Reports
- 2.1 GDFCF acknowledges that the copyright of all of the reports submitted by GDFCF to ERM under SAPI project shall be vested with ERM . Those reports

Ya De AND

shall be discussed and agreed in the Commission under SAPI project before the final submission. This copyright in no way restricts or impedes GDFCF from writing scientific papers in scientific journals scientifically analysing the content of the traps. GDFCF shall obtain a written approval from ICE in case GDFCF will publish scientific papers related to the Pailas II project.

- 2.2 JICA will hold the copyright of the final report <u>submitted</u> by ERM.
- 3. Confidentiality of DNA Barcodes and relevant information
- 3.1 JICA, ICE, ACG, GDFCF and ERM agreed that public access to the DNA barcode data identified in SAPI Project, including those related to the sampling location and date of collection, shall be regulated with a password in the BOLD system for the maximum of one year after the date of data entry.
- 4. Confidentiality of Reports
- 4.1 The confidentiality of reports submitted from GDFCF to ERM shall be kept until ICE agrees to make it open to the public.
- 4.2 The Final Technical Report submitted to JICA under SAPI Project will be open to the public upon the concurrence by ICE and ACG.

n.s. And

Date: 4 March 2016 Date: (Signature) (Signature) **ICE JICA** Representative: Representative: Position: Position: Date: Date: (Signature) (Signature) ACG **ERM** Representative: Representative: Position: Position:

Date: 4 MU 20/6

(Signature) GDFCF

Representative: Daniel H. Janzen

Position: President, GDFCF

添付資料 5: ワークショップ議事録

First Workshop, Tuesday, November the 1<sup>st</sup>, 2016. Rincon de la Vieja National Park, Guanacaste, Costa Rica 8 am

Representatives of ICE, JICA, ACG, ERM, GDFCF, SETENA, National Museum and EARTH are present.

Sergio [ICE]: Greetings. Quick presentation about the workshop today. Suzuki [ERM]: Greetings. Summary about the workshop today. Agenda explanation. Attendance.

Mobilization to Pailas II to explain the details *in situ* Back to Rincon de la Vieja

Alejandro [ACG]: Small inauguration of the room for a formal activity.

Suzuki [ERM]: The agenda changed a little. Project structure, which is supported by JICA. Its purpose is to examine a new methodology for EIA system. Explanation of project structure, which includes the installation of a commission, a pilot study, and so on. Examination of a new technique, DNA barcoding, to be implemented in EIA. The purpose of the workshop is to share the information of the project and to get comments about it. Key words: DNA barcoding, Malaise trap, insect community, monitoring, geothermal, new challenge! Explanation of 9 traps in Pailas II site and the coming analysis.

Eddy [ICE]: Presentation about the geotermal projects in the country. Important points that were explained included that each country has their own energy matrix and in the case of Costa Rica, this matrix is founded upon alternative energies. 99.3% of the Costa Rican territory has electrical energy, and it is considered a service, not a business. Most the energy is generated by the hydroelectrically, but this generation is affected by climate changes, same for the wind generation. Therefore, geothermal energy comes to compensate somehow the demand instead of thermic generation. In 1961, a law where the investigation, exploration and exploration of geothermal energy was declared of public interest, was passed. Even though the initial inversion for geothermal energy is higher than other alternatives energies, once it is operational, it is cheaper than the others. The success percentage for exploration and exploitation of geothermal energy in CR is higher than the one worldwide (50%, while ICE is 85%) Being able to work with ACG and GDFCF has helped to improve several important points of view about the geothermal generation and the environment.

Question: Are these projects big or small from the point of view of Costa Rica as a country? What about the international point of view, big or small?

Eddy [ICE]: The energy generation is stable according the country's demands. 110 megavatts of geothermal energy is big, but not all the projects have to be that big. According to demand and several variables, as population growth, the fields are constructed.

Small discussion about transportation and the use of electrical transportation, the policies behind and their advantages, follows.

Question related to the future of the energy production and the plans for the country.

Eddy [ICE]: Future feasibility is being researched, and for 2018 and 2020, there will be new studies that take into account future needs in the country, and other environmental and social factors. Geothermal energy is an effective and efficient energy that is not affected by climate change. Also, it can coexist with agriculture, animal husbandry, tourism, and it is compatible with environmental conservation and recuperation.

Roger [ACG]: Presentation about Guanacaste Conservation Area, ACG, which is located on the northern side of the country, covers 163 000 hectares and has 4 ecosystems: maritime-cost, dry forest, rainy forest and cloudy forest. Since 1999 was nominated as Natural Heritage by UNESCO, giving it Exceptional Universal Value. Several projects take place, which include investigation and education to the surrounding community, which is one of the characteristics of ACG that they work with society. By 2000 the geothermal potential was discovered and negotiations with ICE began. Discussions in the media about the geothermal development and protection of the environment continued. If in the future, there is a need to come into a protected area to develop the geothermal resource, they still have time to properly prepare, and progress has been made with the accords between ICE and ACG, which represents an important step for the country. This agreement has led to presentations in other countries about the work being done by ICE and ACG together. Also, JICA has shown interest in preparing a protocol about good practices that could be implemented in a sensitive area.

Suzuki [ERM]: Lunch, be back by 1:20. [12:32]

Dr. Jansen [GDFCF]: Self introduction and for Dr. Winnie Hallwachs. Dr. J. has been in Costa Rica since 1963 and D. H. since 1968. In 1972 he wanted to do research, not conservation, but then he turned to conservation. In 1985, in the Corcovado National Park, he understood that in order to conserve an important site, it must be integrated with their community. So, coming back to Santa Rosa, they involved in the administration and elaboration of a National Park. From there, the para-taxonomy was introduced and it started in the national park. Then, it was clear that in order for the park to strive, the people surrounding it must be happy, either with agricultural activities or paddocks. No tourism or the like. ICE came with their project and the chance for an experiment occurred, doing the biomonitoring there, in the ICE site, would be similar to doing it inside the park in case there was ever a project like that inside a conservation park. So, talks with ICE began to propose his idea of investigation and ICE opened their doors. 9 Malaise traps were placed and it was decided to use the insects as a thermometer for the ecosystem. It is a pilot project to bio-monitor a platform for geothermal extraction. ACG is around 2% of CR territory and 65% of biodiversity of the country happens here. It has 4 ecosystems. Millions of years ago, Nicaragua lake came all the way to Liberia and this huge volcano exploded and formed a sort of valley, that surfaced and the tops are the current volcanoes. ACG is managed with around 150 people in their staff. ACG is the only park that includes "development". The northern part of Pailas II was the first terrain ever bought for conservation in the country. Maps, context of Pailas II and the park are shown; then a map of the geothermal resource that goes beyond the limit of the park. Future governments probably will want to take that resource, and hopefully, to take it out without destroying the park. In 2014, the road was there but the construction and destruction was minimal. The laws and regular thinking ways refer that the site must be evaluated, which means to create a list, to take a picture of the site in one specific moment, and if some richness

is found, maybe the project wouldn't be done. But, according to this way of thinking, if the natural richness is found the latter, the project wouldn't be cancelled. But, the problem with taking mammals and birds and such for the traditional evaluation is that their population changes a lot so they are an unreliable thermometer. Map of PL 12 with their location of the traps. This is not the classic EIA, which ICE has done, but they are doing more by using insects. In November 2013, the traps were placed. Ideally, the traps should be placed a year before. When the fence was put into place, one of the traps was destroyed, so it was moved a couple of meters inside. The bottle of the Mailase trap can hold 1500 with several hundred species. Each trap sample is collected each Thursday for 3 years, put into a freezer and send to Canada for the analysis. The professor in Canada specializes in barcoding. His goal is to barcode all the world's biodiversity. So far they have around 5 million species. From Costa Rica, mostly from ACG, they have an important proportion. 135 500 specimens were analyzed, with 11 000 species. The crude estimation for that forest is of a hundred thousand species. Explanation of the DNA barcoding analysis follows. 90% of the sample was successfully barcoded, with a cost of 2.64 USD. The regular price is around 10 USD. Question: looking at the insects in the traps can we detect the presence of the platform and can we detect the moment of the perforation? Graph that represents the number of species per week is shown; the one that comes into attention is trap 3. The curve of species accumulation? The curve increases, but trap 3 is the steepest. Coming back to the impact, during the time of the perforation, there is no indication of it. Then, the traps inside the forest, 150 meters away from the platform. When the line peaks, it refers to the start of rainy season, a lot more insects are in the environment. Then it decreases because the insects are in their pupa state, and peaks again with more rain. We can see the change of stations, not the perforation. These tree traps demonstrate that the platform is not perturbing ACG at 150 meters away from the platform. But we still need to research the other traps, like the ones 50 meters away. 588 species which fell into the 3 traps, the overlap quantities change and the individual, but there is a big package that overlaps between the 3. All this data was generated by machine, you, of course need to think what you are going to ask the data, but you don't need years and years of taxonomic work. The 3 traps were similar in their content, mostly flies. Then wasps, ants, butterflies, thumbtack. The flies put an egg in a specific plant, produces a tumor, and we have an idea of the diversity of plants and insects. Comparison between 3 and 4, this last that had to be moved due to the extension of the platform. The difference is huge. Both in the edge, but their orientation is different. Their total numbers are very different, and 5000 happened only in trap 3, with 1513 of species. Proportionally, they are all the same, but then what was that was increased. Wasps, flies, of the parasitic and depredator kind. Thinking about the biology of the package, we could propose three sources for them. First, a clearing is opened, light, rain, air, dryness, all those conditions of the canopy come to the ground including some things that used to live there, like the parasites. Usually, a trap in the shadow might produce 5 parasitic specimens during a year, while the traps at the edge had more than a hundred species. Second, there is a lot of food in an open space. Third, the agroscape is an important resource of insects that die when they fall into the forest, but when they fall into the open space of the platform, they strive. Today, traps 5 and 4 are in the same place due to the extension of the platform. Their orientation is completely different, which tells us that the positioning of the trap has a strong influence. Trap 5, towards the light, trap 4, towards the shadow. About the road, next to it there is forest, it was left intact, so the trap is oriented to the woods. Those plants look like greenhouse plants, no insects eating it, and this is because of the dust of the road that acts as a pesticide. Comparison of traps is explained. 350 are in common between Pailas II and the forest. But there is also little overlap between dry forest and rainy forest. Pailas II is in the

middle of those two ecosystems. The species that fly are the ones that show the overlap of the 3 ecosystems (Pailas, dry and rainy). Finally, there are 527 species of ants in all ACG, in PL 12 there are 279, 179 are new to ACG. Honestly, the park next to PL12 has not been researched, but thanks to the project we are inventorying the forest in that part while we measure the impact. About other traps, there is NO trap that can get all the insects. Yellow trap, plastic window were insects follow into the recipient, funnel trap, then with pig feces and a cup, the insects fall into the cup. So, each different trap gets different kind of insects. To conclude, utilizing cameras and binoculars, you can create a list of animals, but this just takes a photograph of that moment, so it is impossible to get a proper measurement of the ecosystem with just a photograph. The fact that these results show no impact is really good. Also, to expose the work between energy development and conservation is very important and that is why is going to be presented in an international convention later this year.

Question: The strongest impact is in the roads? Comparing the road and the platform.

Dr. Janzen [GDFCF]: No, the impact is minimal. The platform area is other ecosystem with other impact, and we still need to check were does the impact reaches. At 150m there seems to be no impact, but we need to check the data of the other years

Question: What about the traps that are 50m away?

Dr. Janzen [GDFCF]: We are doing the analysis right now, but we predict that we might find some degree of alteration, a mix.

Question: Taking into account these results so far, do you believe that we would see the same results in a place with a platform but no perforation?

Dr. Janzen [GDFCF]: No, they have an immediate effect where the activity is being done, but not further inside (the forest). The environment at the edge would be affected.

Question: So, these results so far show that there is certain impact between the open space, the platform, and the environment at the edge.

Dr. Janzen [GDFCF]: Yes, trees at the edge will die because of the exposure, and the open space might expand. Only years of monitoring might tell us exactly how much. In an intact forest, a big tree falls, and creates an open space. This hole, if it is inside the forest, will be filled with things from the forest, while if it is at the margin, the agroscape is going to be the one to fill that hole. So, how to prevent that the platform doesn't expand into the forest, we do not know yet what to do.

Question: The idea here seems to generate an instrument to detect environmental impacts. As it is, ICE would be the only economically capable of doing this. Is there another methodology that you would suggest?

Dr. Janzen [GDFCF]: We hope that ICE will be capable to do this by themselves, just as they do the traditional fauna monitoring. Budget for this is missing, but costs for this method gets cheaper as time progresses.

Comment: The comment was mostly about budget. ICE has different accords which supply them with money, but other projects might not have money for this.

Dr. Janzen [GDFCF]: Yes, but it is getting cheaper. In a few years it won't be so difficult to get it done.

Comment: About the buffer zone, if we can determine the buffer zone of the Project, we may be able to ask for a certain buffer zone for the project, and maybe even that the buffer zone itself has certain extension.

Comment by ICE: Maybe there economic resources are not available, but the experience to apply the technique is valuable. Also, with this experience, we can see beyond electric projects, but also other private projects that could also need some kind of buffer zone. Preventive conditions can be extrapolated. Also, it was commented in former meetings that other animals should be taken into account, not just insects, but we have seen a great advance with insects. So, thank you for the invitation and the advance so far.

Comment by Dunya Porras, SETENA: All this about the insects is interesting, but we are also talking about EIA. We need to take into account that there are several stages for the study of environmental impact. In the prefeasibility stage, most projects don't even have an approved budget to work with. Several years gone by before the proper permits are given and the construction of a project begins. So we can't ask in the TOR for this [insect monitoring with DNA], only if we asked that it was part of the monitoring phase to measure the impact in the small fauna and such. We must not mix this project that we are discussing with the EIA, since this too expensive to include it and this project is just being constructed. So we really need to understand in which phase of the EIA this process might be included.

Dr. J [GDFCF]: When plans are made for certain projects there are several things that can predicted, like building bridges, or platforms. Costs for these predictable things can be lowered.

Comment: At least you can see the ecological affectation with insects.

Comment by SETENA: There are several projects being developed in the country, not just ICE, and a tool to create a proper base line is needed. When a Project comes to SETENA, they can't ask that a study such as this one to be performed since they have no budget. But the need to use insects as another indicator is clear.

Dr. Janzen [GDFCF]: We need to consider also if we are in a sensitive area like a National Park.

Roger [ACG]: We can use the insects as indicator of the ecology, and if they were identified by the traditional method, it would take years and millions of dollars, while in this project, thousands of dollars were used, so this tool can be taken into account not just for EIA, but it can have other uses.

Alejandro [ACG]: If the law changes in the future, we could have very specific techniques for that moment.

Suzuki [ERM]: We will have a section for questions and such. And we also want to discuss if the study of insects can help to determine the impact in EIA studies and also if insects can only be studied with DNA barcoding. Example of EIA example in Japan using insects.

Sakaguchi [ERM]: Thanks Dr. Janzen and Winnie. My presentation will be based in Japan, a country very far away from Costa Rica. The location of Japan on the northern side is cold, but the country has several ecosystems, like mangrove, elevated mountains, paddy fields; we have a lot of insects in Japan. We have some with complete metamorphosis, incomplete metamorphosis and no metamorphosis. The firefly is one of the most well known insects in Japan. Firefly's life circle explanation. They live only in very clean water, so they are an indicator of clean water, and in some prefectures, they are endangered because of contaminated water. Fireflies attract tourism and are used for education in When there is project that might affect them, and EIA must be done. There are 39 endangered insect species, and also each prefecture has their designated species. These 39 species are protected by Japanese law. One of them is the Great Diver, which is a species that lives in the water. Explanation of the insect cycle follows. The numbers were reduced to probable less than 2000 due to several circumstances. This is one of the very famous cases in Japan. About some tips of EIA in Japan; in order to protect a species, the environment where that insect lives must be protected. In the case of fireflies, they need clean water and a specific kind of shell to feed. Also, the monitoring gives a lot of information on different species and the comparison before and after the project are supposed to measure the change, but the results depend on the timing, the experts involved, and so on. Sometimes, in Japan, fireflies are loose in areas to attract tourism but this is not a good practice since it can affect the biodiversity at the gene level. The avoidance in Japan relates to start thinking about this in the early stages, like the design stage. They trace lines that might determine the impact. In the example, the dragonflies were affected and several changes were put into place.

Suzuki [ERM]: To wrap up the discussion, remember what we saw in the traps, and then, about the presentations, the importance of geothermal energy and about ACG. What is the constrain of geothermal development in CR?

SETENA: Protection vs development.

Suzuki [ERM]: Yes, since it is near a conservation area. In the EIA some specific species are used, traditionally. But we are using the community of the insects to determine the impact, and this is a new idea here since insects are not included in EIA. But using the DNA barcoding, the insect community can be identified. But the cost is elevated and the evaluation must be considered. Next workshop for the 23<sup>rd</sup> of February of 2017. This is it for today. Questions or comments?

Alejandro [ACG]: Thank you for the assistance and remember that these projects will continue, so we need tools for the future developments, so thank you everyone.

Sergio [ICE]: Thank you ACG for the installations and everyone for the assistance.

終わり。

Second Workshop, Thursday, February, 23<sup>rd</sup>, 2017. Best Western Hotel El Sitio, Liberia, Guanacaste, Costa Rica 9:30 am

Representatives of ICE, JICA, ACG, ERM, GDFCF, SETENA, National Museum and SINAC are present.

Suzuki [ERM]: Greetings. Thank you for coming to the workshop for the Improvement of EIA for Geothermal Development in Costa Rica. Agenda presented.

Sergio [ICE]: Greetings. Quick presentation about the workshop is given, which is the final one in the scope of this study. Hopefully the results will be very useful and we expect comments during the afternoon about what will be presented.

Suzuki [ERM]: Structure of the improvement for EIA. There were several meetings. In this workshop, we would like to have comments about this pilot study. This is the second workshop. In the first workshop, we shared information about the geothermal project, DNA barcoding and an example of using insects. We would like to have a discussion regarding the findings. Now, ICE will make some small presentation about the Geothermal Resource.

Eddy [ICE]: Explain a bit the necessity of this study. Characteristics of traditional energies, such as thermic and nuclear. Characteristics of energies known as renewables, such as wind, solar and hydro. These renewables energies sometimes are not enough and the need of traditional energies comes into hand, but Costa Rica uses alternative energies, and here comes the Geothermal Energy. Characteristics of Geothermal Energy. Explanation of energetic matrix during the XXI Century and its importance; Costa Rica's energy matrix is shown: 99.3% of Costa Rica has electricity and more than 90% is based in alternative energies. In order to take advantage of the geothermal resources, the process has to be an integral process taking into account every step of the development. The idea of a geothermal field is to lengthen the resource as much as possible. Explanation of the exploitation and use of the geothermal resource. Most of the geothermal resource is inside protected areas and in the future, we will be able to take a proper path to use those resources. Example of the Miravalles reforestation project is shown. For the Pailas project, ICE was able to work with ACG and GDFCF. With the collaboration of these institutions, and JICA, better technologies and techniques have been possible. Borinquen explanation. This project is a first step to take advantage of a tool for the future.

Suzuki [ERM]: Comments, questions? Then, we will continue with the presentation by Dr. Janzen.

Dr. Jansen [GDFCF]: In 2013, we started this project along with ICE, and we didn't imagine that we would have this interaction between ACG and ICE, facilitated by JICA. As scientists, we have been trying to use applied science instead of pure science. The topic: Biomonitoring with insects to perceive the impact of geothermal development in the margin of an UNESCO Natural Site of World Heritage in Costa Rica. Not as members of the government or consulters. Even when Costa Rica is small in territory, it has the 4% of biodiversity, which is the same as North America. Costa Rica has 600 thousand of crops, ACG is 375 thousand species. ACG has 65% percent of biodiversity of CR, and 2.6% in the world. ACG covers 1,650 km2. 150 people working in ACG. Is the only National Park that has development (biodevelopment) in the entrance. ACG and GDFCF philosophy is to develop a protocol to know and measure the impact of the geothermal platform and its road, in a tropical sensible and

protected forest, using insects to measure it. ICE and JICA have helped with this, with ERM. The idea is to have an additional tool for measurement of sensible areas. The start that marks the place of PL 12 in the map is right south to the first plot of land bought for conservation, which is part of Rincon de la Vieja National Park. The life zone where PL12 is, relates to the coffee sites, much of them without forest anymore. The geothermal resource is hundreds of megawatts, 2-3km under ACG. The fact that is under the park is very important since it is not exactly inside. So, the question is how to extract with minimum impact, then how to measure the impact, how to mitigate it and compensate it. Map of the site is shown before the project, the platform and the traps, and the change nowadays. Traps 1 and 6 are inside the park. People say that the forest next to PL12 is Dry Forest, which is incorrect, because it is actually an intersection between Dry Forest and Rainy Forest. Insects represent thousands of species and we can use that biodiversity. Of course, we can use big mammals, but to interpret the impact with the behavior of these animals, is impossible. The same occurs with small mammals. ICE permits them to go to the site at the beginning, take pictures and investigate; two important questions rise: what is the impact of the platform, and what is the impact of the perforation. The Malaise Traps are collocated at the beginning and starts measuring. Explanation of the Malaise Trap. The Malaise trap is the equivalent to a meteorological station. All this explanation and data is a combination of efforts between different institutions. Explanation of other traps, which is more useful? Each different trap is used for some specific kind of insects, the sample is not representative. Back to the Malaise traps, the taken samples are shown, the process to send and analyze them in Canada, in the University of Guelph, etc. Each species has their own barcode. The DNA barcode is a word of 600 letters that has only 4 different letters. With this information, we can ask several questions, like identifying species. A normal taxonomist would have to invest years in order to identify species. The BIN assignment is done by the machine. When there is a relation between certain insects, like parasites, that information is also found in the data base. DNA Barcoding Part of UN Biodiversity Strategic Plan. Decision ratified Dec. 19, 2016 international support for DNA barcoding the Barcode of Life Network, the Global Taxonomy Initiative and other DNA barcoding applications. From 7 traps, the total of insects was 144,994, with 11,385 species, 7,400 just in one trap, 91% successfully IDed, with a cost of 3.4USD per insect. Graph of the different traps and the relation between the rains and the insects, and then between their life cycle; to understand the quantity of insects. Other way to look at the data, is the accumulation of species during the year, which increases as time progresses. Rain starts and the increment is more visible, then in the increment curve stabilizes again, rain increment, the curve peaks. The traps inside in the forest (150m from platform) have very similar data between them, they are the undisturbed forest and they say that the project is not impacting the forest. UNESCO was very worried if the project was damaging the park, but we see that it doesn't. The composition of these traps is shown and we have our base line. About trap 2, 50m from platform, is the same as the ones 150m from the platform. About the time of perforation, the data shows that there was not impact during that time. The composition of trap 2 is the same that those taken for the base line. Now, about trap 3, there is an enormous difference in comparison to the others. At least half of the species found in the other traps was found in trap 3, and 5,220 species were found only in PL12. So, which are those species? Parasites and scavengers. Explanation of Malaise Trap according to their position in relation to the light. Insect is searching the light. Trap 4 was moved next to trap 5, but trap 4 was directed to the shadow, while 5 was directed to the light. In resume, trap 4 became a trap with similar conditions of the traps inside the forest. The margin turned out to have different conditions depending on the light. The margin present the same conditions as paddocks for insects and plants, so several parasites and scavengers that are not found in the forest but in paddock environments, are now found in the margins of PL12 brought by the wind or fall from the canopy. Now, is PL12 special in some way? PL12 has 11,385 species, the rainy forest has 7,032, the

dry forest has 5,668. Only 131 shared between rainy and dry, and 199 shared between PL12, dry, and rainy. 1462 shared between dry forest and PL12, 897 shared between rainy forest and PL12. The 199 in common is mostly composed by flies. Another concrete example, 527 of ants in ACG, and 279 in PL12, in common 136, 142 not known were found in PL12, so there is something special about PL12. So, can we maybe see the platform as a landslide? To study species, it is necessary to not only go inside the forest, but also the margin that becomes a microecosystem. The road and the platform is a footprint that can be controlled. How can the hole be sealed? To isolate the platform, to plant certain trees in the margin, like mangos, which produce a very good shadow similar to the one inside the forest, can be a good way to seal the footprint. So, this could be an alternative to think about. ICE and ACG agree that they need to work together, a process that is being developed. To extract, to measure, to know, to compensate; not to fight with the industry and developers but to think together and be partners. Invitation to the ICE biologist to improve this relationship and knowledge. Regarding the results, the important thing is the collaboration between different government, public and private institutions, and to continue this collaboration.

Suzuki [ERM]: Comments, questions? Otherwise, please enjoy a coffee break.

Reporter from Nacion newspaper question: The great quantity of insects in the traps near the platform is it because new kinds of insects are being attracted, or is there another reason?

Dr. Janzen [GDFCF]: A combination of the insects of the forest canopy and those who come from the agroscape who found a little island in the open space. Then, regarding the plants, the seeds are brought by the feces or fur in animals that go that agroscape.

Question from ICE: What is your opinion about the function of the perturbation as a modifier of biodiversity?

Dr. Janzen [GDFCF]: I am taking advantage of the biodiversity, as an entomologist. The platform is a sort of soccer field and the insects in the forest show no change so far. Now, we need to ask ourselves how many and where can we place other soccer fields. We can now think about distances and sizes for this "soccer fields". With a year data and analysis, the insects have shown no perturbation. Now, we hope that we can continue with the analysis of other samples that are already waiting in the freezer. For a year, JICA invested 450 thousand USD, next year it might be 350 thousand since the cost is going down. In ten years it will be even cheaper. Years ago, this would have costed millions of dollars, now we are in the thousands.

Suzuki [ERM]: Another question? You can also ask during the Q&A after lunch, so please last question for the moment.

SETENA: Thank you for this investigation which has very valuable information with very positive results, but the main question is not answered yet. The insects are being used to determine the environmental impact of a geothermal project. Taking this into account, I would like to know several things. The position of the traps was decided based on what? The part regarding the open space is clear, but from the methodological point of view, a geothermal project is analyzed based on the variables that might generate impact, like noise and so on. One the important variables is related to the gas release

where there wasn't any. Taking this into account is there impact or not? Are insects a species that could answer the questions directly related to the variables related to a geothermal project?

Dr. Janzen [GDFCF]: To properly answer we need to clarify that we are focusing on one platform and one access road. The different variables are taken into account when we analyze the great quantity of insects and they do not react to them. We need to keep analyzing and verify to what the insects react\* gases, rain or others. And all this have a cost. We need to take advantage of the proportional information that the insects can give.

Suzuki [ERM]: Thank you. Some of the questions might be answered in the next presentation which will be about the impact in geothermal projects using insects. Coffee break and restart at 12 o'clock. [11:38 am]

#### 12:04 pm

Suzuki [ERM]: Presentation of the results done by ERM, focusing in EIA. EIA process explained: Screening, Scoping, etc., and the possibility to use insects during the process as indicators for the impact for the Geothermal Development. PL12 Development: platform, access road, and others. What could impact the insect community?

Several answers: illumination of the platform, noise from machinery, dust, gases, changes on the local weather.

Suzuki [ERM]: That last one is not from the project, but yes. We can see some dust and gases in the roads because of the vehicles. A matrix of expected impact on the insect community was created, that include, sun light, night light, dust, noise and others. Expected impacts in the different traps is explained. The approach for the assessment was in two stages: information arrangement and data analysis. Information arrangement was very important because there is a lot of data of insects collected in the Malaise Traps. In the first stage, there was data organization at order level and data organization for each trap (order level); on the second stage, there was analysis on potential impact (order level) and analysis on potential impact (family level). Step 1: data organization at order level, the dominant orders were Diptera, Hymenoptera, Coleoptera, Lepidoptera and Hemiptera. Step 2: data organization at each trap, where change insect community is shown by order by trap, number of species and number of specimen. Step 3: analysis on potential impact, the change in number of species and specimens throughout the year is shown. At the beginning of the rainy season, there is an increase. Trap 7 shows a slower change than other traps. The rainy season is clearly seen in the other traps, but not in trap 7. Traps at 0m and at 150m are shown in a graph, by number of species, and then by number of specimens, except trap 3. In trap 7 the number of Diptera didn't increase when the rainy season starts, while they did increase in the other traps; same in the number in specimens. Shannon-Weiner Index and Simpson Index were used to detect the change in the insect community. In the graphs, we can see that trap 7 had almost not change and the use of the indexes helped to find changes in the insect community. Graphs focusing in Diptera, highlighting trap 7, same Lepidoptera, Coleoptera and Hemiptera. Step 4: analysis on potential impact, where changes in families by selected orders are shown. More than 100 BINs during a year to choose that particular family. Graphs of Diptera with changes in certain families by number of specimen, are shown, and there is a difference in trap 7. Sciaridae and Cecidomyiidae explained. Cecidomyiidae, examples from traps 7, next to the access road and 9, at 150m from the platform. Two types, one common during dry season, other during rainy season. The one found during

dry season was found all year around, and increases during rainy season, shown in trap 9, but this doesn't occur in trap 7. We found this by analyzing by order level and then by family level, and then wondered why there is a difference. These insects have a very short life cycle and depend on certain kind of leaves to put their eggs and they remain in the same area. The access road seems to have environmental effects in Diptera, the dust could be affecting the Cecidomyiidae since the leaves used by them are covered in dust. We have data and analysis of only a year, so more analysis might be necessary to know affects for the long term. Findings show that using Malaise Traps and DNA barcoding with flying insects can be used for impact analysis since 90% of insects are flying insects, it has representativeness. Using Malaise Traps and DNA barcoding, species and specimens can be effectively and precisely identified, and even some species could be used as indicator species, especially if they depend on certain environment or plants. These tools can be used as impact indicators, an assessment can be made, the insect community can be used as a quantitate method. Also, in the case of the Malaise Trap, the position is very important. Also, what kind and how much of the impact can be detected? The seasonal change of insect community must be taken into account. There were also several Singleton BIN, and it is not clear how to use it, also there is no need to collect all the species, but for EIA it is important to consider for how the monitoring must continue. Wrap up. A couple of questions, and the afternoon will be dedicated to discussion.

Question from National Museum: How it is that the results from Dr. Janzen about trap 3, which was very different from other traps, do not coincide with was presented, when he doesn't mention anything about trap 7? In the presentation just finished, emphasis is given to trap 7 when in Dr. Janzen presentation, emphasis was given to trap 3. The data is the same but what was presented was very different.

Suzuki [ERM]: Impact on trap number 3 is too obvious because of the quantity of sample, so we excluded it from the assessment.

Sakaguchi [ERM]: Trap 3 is different because of the placement and collected a lot of samples, while the others were inside the forest.

Question from SINAC: Mentioned that we need to know how long the Malaise traps must stay in the field. Taking into account that they might be used for EIA, the time needs to be set, so what is the recommendation for ICE to know how long they have to keep the traps and to reduce costs?

Sakaguchi [ERM]: Still need to find out and continue study to find out, Dr. Janzen can explain more.

Dr. Janzen [GDFCF]: The traps around PL12 have been around 3 years, samples already collected, they are in the freezer. We analyzed 1 year, the other 2 waiting to be analyzed. After that, only 3 traps, 1, 2 and 3, should remain for 5 years, another 2 years, and then it should be continuous, since the cost is reducing. If you compare the cost of the project, to continue this would be less than 2% of the total of Pailas II project.

Comment from SETENA: The EIA is a preventive tool, so we are getting this kind of data because we are comparing data before the project is fully functional. Now, in Costa Rica, the EIA is done before the project exists, so the kind of data we have now is complicated to get. Another thing mentionad by Dr. Janzen is that we are talking about monitoring, and the monitoring has to be constant, and from there on

it can be decided the methodology of sampling and so on. Also, it is important to compare not only the margin of the platform but other sectors since we do not know if the insects' behavior might be the same. During the presentation, maybe the information wanted to be resumed, but the different borders have different charactheristics (internal or external), so we are combining different sectors. 2 and 5 are in the middle and were not analyzed, why?

Suzuki [ERM]: Answer will be given after lunch, when we will begin the Q& A section. Please be back by 2:15 pm [1:20 pm]

2:21 pm

Suzuki [ERM]: Discussion of two topics. The first one is Impact Monitoring, and then EIA process. Let's start with the first one, feel free to raise comments or questions.

SINAC comment: Interesting to consider combining Malaise trap with other methods, barcoding is the most expensive. Some insects that have a very important ecological side might prove useful. It is an option to complement the analysis of insects without increasing the cost.

SINAC comment: About the indexes used. Shannon-Wiener and Simpson are more focused on biodiversity and there are others that are more useful for what is been done, so I cannot see how can they apply in EIA or this kind of research. These Indexes have been much questioned and are almost not used anymore and do not take into account insect characteristics.

ICE comment: Study shows that there is change in the ecosystem. It would be interesting to compare them to environmental measures, so that we can know the effectiveness of the measures. Help the organization to have a more benefic-cost.

SETENA comment: We saw some effect in point seven, and that might have been measured with the dust production. So, proposals are being presented regarding the dust, and the influence in the Diptera was shown. What we are interested in is not to only improve but also to have some solutions.

Comment by National Museum: Malaise traps and their position, affect what has been captured, and we need to consider the position so that it doesn't have a negative effect. Is should be more standardized.

Suzuki [ERM]: Dr. Janzen?

Dr. Janzen [GDFCF]: To comment about the previous comments, regarding the dust, we perceived at the beginning that it was some sort of pesticide not as venom but because the insects very thin layer of wax gets dried due to the dust. At the beginning, we talked with ICE and they said they could anticipate the impact, but I don't know how it is progressing. The budgets are planned with many years ahead and when suddenly something appears, time is needed. Regarding the use of different traps for insects, if you have the budget, please do so, but it has its cost. With malaise, you do not need to be specialized like with other traps, the costs are also different. We are using the most practical choice. Which was the other one?

National Museum question: How can you solve the problem regarding the position of the Malaise Trap?

Dr. Janzen [GDFCF]: If the trap is inside the forest, or in an open space, there is no problem about position, you just place it. When we are in a margin, if the budget is available, traps should be placed with two orientations, also more traps that are less distanced from each other. We need to emphasize that we are doing an inventory of the species but we are using the insect activity to identify if there is any impact. To maintain the traps, is has a cost like maintaining a bridge or the like, but the costs are going down, in 2003 it was 20USD per trap, and now it is a 3USD.

Dr. Hallwachs [GDFCF]: Not only the costs of the traps are getting cheaper, but also the barcoding. This project has helped a lot to have more data about the tropical zone and to add that data to the existing data base that is open for the public. Dr. Janzen received a request to help with this data base in order to understand better the insects. The budget, as Eddy mentioned, when ICE talks about integral analysis, it is very important to analyze the budget beforehand and in seasonal zones it is not functional to have a ballast road which turns out to be more expensive than using good material.

Dr. Janzen [GDFCF]: Let's remember that we have 3 years of data waiting in the freezer, 3 years that shows us what is happening in PL12 and help us answer several questions. If there is any effect, it is there in freezer waiting.

Eddy [ICE]: Other important aspect is that we are not using just one variable, but from the integral point of view, this is another element, another helping step for the process. I didn't see any contradiction, in trap 3, the focus was in the paddock like environment, ERM focused on trap 7 on the margin of the road where the dust effect was expected. All this information is complementary and from on we will have more information, but how we see it and use it, the results will change. We are not using recipes from other places, we are innovating. Now then, Pailas II will be asphalted for its final stage, but now we can see that from initial stages the asphalt is important, like we are doing now in Borinquen and like we will do with Mundo Nuevo. But this is just fragment, there were several analysis that allowed them to work in those forest sites, like for example to find the adequate lamps that allowed them to work during the night but didn't attract so many insects, and with the help of ACG they were able to get the appropriate lamps could let the staff work safely. And safety is relative here since there was a moment when there there was a bedbug migration and all of us had burns all over. So, considering all this, with the support of the government and the help of JICA, since we do need to do applied research in order to innovate, changes have been made. Another example is the thin cables used that are next to the canopy and with them accidents with animals can be avoided. Water that was discarded after the perforation was finished, is now used as a reservoir that can be used when forest fires appear. All this is part of the integral work been done that shows the vision that we have four our job, and it shows that we can improve the conditions if we maintain that vision.

Sakaguchi [ERM]; About Shannon-Wiener, we know that its use is problematic. We used it to detect some kind of change, the weakness is that it depends on the quantity of samples. On the other hand, with Simpson the result was stable, and both indexes gave the same results. Since Dr. Janzen gave a lot of samples, they didn't have problems using them so they decided to use them.

CONAGEBIO questions: There is an effect in the margin that doesn't go 50m into the forest. What are the practical and technical recommendations for ICE for better management in Pailas? And then, what

are the plans for the future to decide how many footprints I want in my garden, how separate they have to be and the effect they will have?

Dr. Janzen [GDFCF]: First, trap 3 and trap 4 say that the platform has an impact on the margin. {{Unintelligible}} The important thing is where ca I cross the garden. Second, how many to have, depends on your ubication in the forest if they are random or are very carefully placed, since the hole can expand very easily we need to seal the existing one. A tree falls at 50m from the platform, the insects living in the margin go to that hole, and the hole expands, and so on. If the world wants to pay for the analysis, ACG and we can put our energy in this. It is so very interesting from several points of view. The intellectual resource is there, but the problem is the budget. So, at least there must be an analysis for 3 years, and then continue, like maintaining a road, a bridge. If there is a natural disaster, ICE would have a measure to be able to recover. We are still learning.

Suzuki [ERM]: Since a lot need to go back to San Jose, I would like to move along. Let's continue with EIA process.

Comment by Dunya Porras, SETENA: First, thank you very much for the invitation since the beginning when a genuine interest in the EIA process in the country was shown, and then the invitation to the first workshop, especially because we are interested in the investigation been done particularly if they are related to biological studies that sometimes are very complicated to understand. Firstly, I want to clarify that there is a difference between an environmental impact evaluation and an environmental impact study. The environmental impact evaluation starts from the very beginning of the project and extends to the very end of the project, it can last 50 years or more. The environmental impact studies, which are documents that are presented to SETENA to check the viability of the project, are done as a predictive measure, when there is no project yet. In this case we already have the platform, and when SETENA gets the studies, none of the project exists yet. The biologist need to have a base line as complete as possible to be able to determine if there is impact or not, and based on that SETENA decides to give the viability. Remember that biology is just one of the components that are analyzed in an environmental impact study. We have the social component, the geological component, the geothermal component, etc. The base line is asked for this and to make impact comparisons. In this case, we are analyzing one part of a geothermal project, which not only has platforms but also a machine house, wells, pipping, and others. We are worried because these platforms are in a damping zone of a National Park. The rest of the project is located in private properties and ICE decides the characteristics given to those properties. The plant is going to be far away and there we can see the most severe impacts. Eddy forgot to mention that in the platform we do not get gases product of the geothermal process. The important thing is the proximity to the protected area. I am very satisfied with this study since it breaks paradigms from many years ago in Costa Rica. The first one is the fear, and the second one is to work as a team, because in the past, fear wouldn't let us work as a team, and now ICE and ACG are working together. And now, in a predictive phase we can have a very accurate base line since we have ACG's and ICE's experience to improve results. When paradigms are broken, in SETENA we can say that development and environment are harmonized, and this study is allowing us to say just that. We are removing the fears that we cannot touch something, that we think we cannot meet, that something doesn't corresponds. Alliances bring good results, especially when they are as intelligent as this one. As SETENA we want to see this relationship of developer and inspector of the environment. SETENA is at peace since ICE's development is being crystalized by the forest administration of the state (country). And the agreements between them belong to them and SETENA is sure that things are been done correctly. Developer and inspector are in a relationship that can last many years. If they decide that it will be 5 years, then 5 years it is, or whatever they decide. It is a great opportunity. Thank you for the invitation.

Roger [ACG]; Thank you for your words. That has been the philosophy that has been promoted between ICE, ACG and GDFCF, and also SINAC. We have been working with biologist, in January there was a workshop where several topics were raised and also this project has also been discussed at length. There are several colleagues, present here, who are in the field that monitor what is happening in Pailas and Borinquen to improve what we are doing. Inside ICE itself they have strict environmental monitoring, which is something very positive. We are also developing other processes where we want to involve the academy, since ICE is producing a information that has great value, but they don't have the tie to share it all, so we want to get students that want to make their thesis to generate products with all this information, and this is something extra from all the efforts. It is true, we need to clear away our fears and JICA is very interested since this is not happening in any other part of the world, and we want to capitalize positive experiences and to put them in protocols to be able to use them in other parts of the world and the country. Thank you and we keep moving forward.

SETENA: Advise. Do not be afraid to have a negative result, since all the investigation process is actually very important. Something negative is also a success. Another thing is that with this kind of studies, especially if they are for institutions such as SETENA, it is very important to include recommendations to your results, technical recommendations, regarding mitigation, etc.; since they are very important tools for us and that we can really harmonize the development with the environment. The information itself is valuable but we need to have concrete recommendations included in the professional technical study.

SINAC comment: Considering the scoping of the topic, I would like to especially invite JICA, if they haven't done it yet, to invite representatives of the Central American Bank for Economic Integration, of the Inter-American Development Bank, of The World Bank, and other institutions that finance geothermal projects in the region, so that they can now about the process. Firstly, to sensitize them that this can have good results, and then for them to join as cooperatives, since this entire enterprise has a cost, and with their financing, we could get more data in less time.

SINAC comment: Regarding ACG and other two sites in Costa Rica that are World Heritage, is important to understand that the responsibility is greater than a National Park and we are obligated to comply with the World Heritage Convention rules and practices, and it includes environmental evaluations, which divides in three: environmental impact studies, environmental strategic evaluations and accumulative impact evaluations. Each World Heritage Site is obligated to have this evaluations before the development of any project or activity, and in Costa Rica we do not have much experience with environmental strategic evaluations, almost none, and accumulative effects, just a few, and neither in environmental evaluations since in Costa Rica what we do are environmental impact studies mostly. SO, this is experience is a very important first approach no only to comply with the country's laws but also to comply with international commitments. Right now UNESCO is watching ACG to know what they are doing in Pailas II and inside ACG, it is possible that a mission will come to evaluate them soon. All than can be done to improve and to learn is very important, not only as a a simple reply for a project but also a an answer from the country to world regarding the acquired commitments.

Suzuki [ERM]: Project is located near sensitive area, so another study or evaluation might be required to evaluate the impact of the geothermal project. For general EIA, we normally look for some visible impact, but we are trying to find a way to measure sensitive impact. With the insect community, we might find some sensitive response from the impact of the project. This is study shows another useful tool and hope that it continues. Thank you for coming today, one last comment from ICE and ACG.

Roger [ACG]: Again, thank you for all the work done. We are just beginning. The SAPI project that has been supported by JICA will finish with the final analysis and report, but we are working to continue.

Sergio [ICE]: Thank you all, GDFCF, JICA and ACG, to ERM for their professional job and traveling all the way from Japan. To the coworkers in geothermal resources. Just like Dunya said, this implies a change in paradigm, to not believe that the academy is far away and that we can have a relationship, that we can have applied science with development, and at the same time we are generating a lot of knowledge. Numbers show that we have a lot more species that we imagined, and probably if we move forward with the samples in the freezer, we will discover other things. The Dr. showed us how to know what kind of species can be found in a site through the blood that insects suck, thanks to barcoding. This shows us that we can get a lot more information using a technique such as barcoding and that we can find species that might just be registered in trap cameras. But then, using just a little insect, we know of a lot more species. Roger said it, this project is just beginning, it is there frozen, important for the geothermal development which is our interest as institution, to understand the species that we have and been able to understand that interaction between development and conservation. Thank you very much.

Suzuki [ERM]: Thank you very much. This is the end of the workshop, go back safely. Coffee.

Sergio [ICE]: When the final reports are ready, you can write to us and we can send them to you.

終わり。

添付資料 6: ワークショップ資料

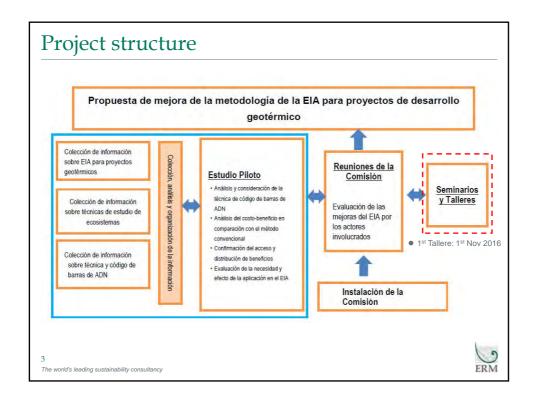


# Agenda

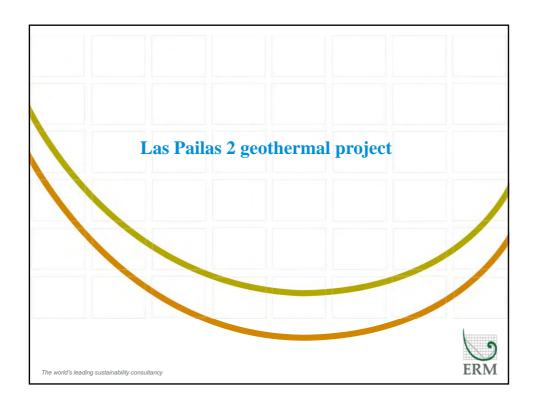
Time	Agenda
8:00 - 10:00	Site visit
11:00 – 11:30	Las Pailas 2 geothermal project
11:30 - 12:00	Presentation about ACG
12:00 - 13:00	(Lunch)
13:00 - 14:20	Implementing DNA Barcoding by insect
14:20 - 14:40	Insect survey for EIA system in Japan
14:40 - 14:50	Next step for this project
14:50 - 15:00	Q&A

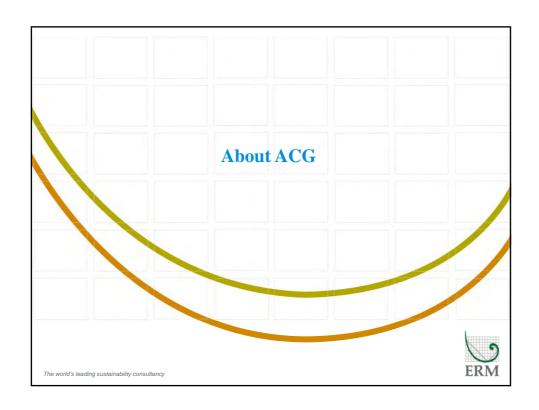
The world's leading sustainability consultance

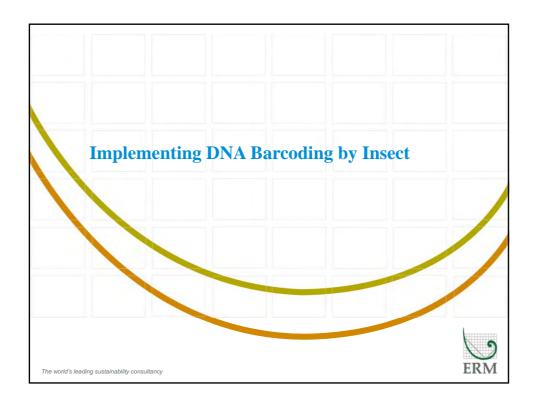


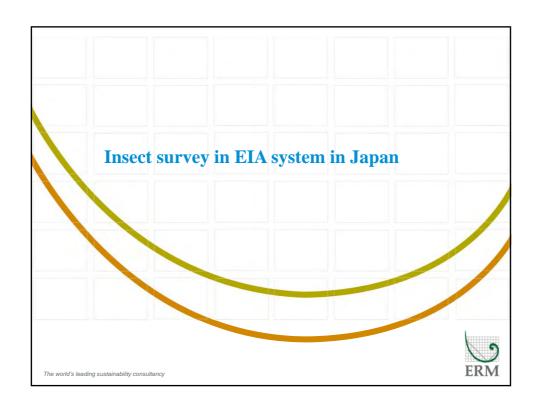


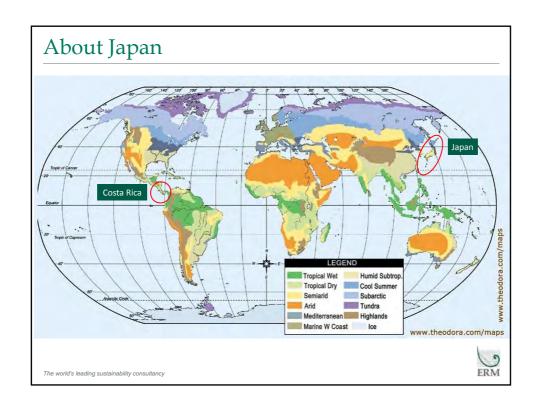


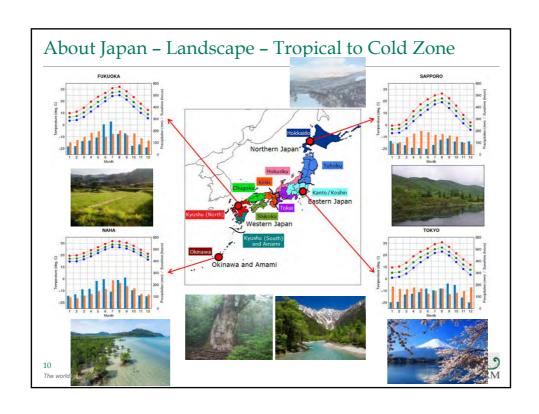


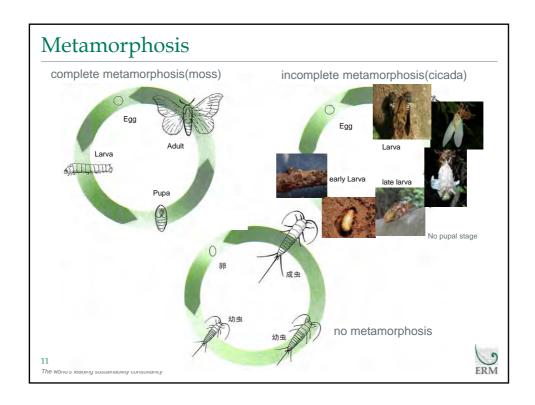






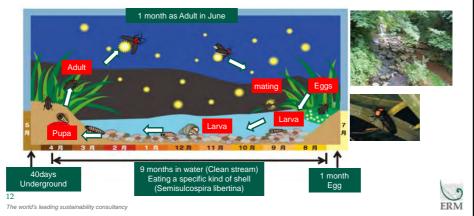








- Fireflies live in clean water and often they are seen as index species for clean water. They are designated as endangered by some prefectures in Japan.
- Fireflies attract people and contribute to tourism.
- Fireflies are used for education at school in Japan.
- When a project is likely to affect a habitat of fireflies, EIA needs to address it.



#### About Japan - Endangered Insects

(1)Characteristics:

Designated National Endangered Insects: 39 (Each Prefecture also designates Endangered Insects.)











than 2,000. (4) Threat: Loss of habitat due to water pollution and/or Alternation of land use including loss of landing spots, Collection by business or collectors, Preyed by an alien

③Population: Several hundreds to thousands, but only less

Length28~33mm. Habitats are natural ponds with spring or Wetland. Breeding period is from October to April. In March or April, they lay eggs inside some specific aquatic plants and birth comes within 2 weeks. Larvae move on to land after a month and pupate in the soil close to the pond/wetland to develop to the adult from May to July. They live in water for 1 to 3 years. They eat small insects(Asellota) and other

species,"Red swamp crawfish",and Indirect impacts caused by loss of aquatic plants and food.

②Range: Honshu (Extinct in Kansai region)

# About Japan - Information about Insects

Maculinea teleius kazamoto (Scarce large blue)

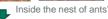














1) Characteristics:

Length:18-24mm. Eggs are laid in July, August on the spike of Sanguisorba officinalis (great burnet). Larvae eat great burnet and grow for 4 years, then they move down to the ground to be transported by ants(Myrmica) to their nest. In the ants' nest larvae eat eggs and/or larvae of ants' to pupate in the nest. (The larvae have special smell that attract ants and intoxicate in a sense.)

They develop to the adult one year after transported to the ants' nest.

2 Range: Eurasian Continent and Japan

3Threat: Reduced habitats due to the land use change in the rural area. Human pressure that affects plant(Sanguisorba officinalis (great burnet)) and ants(Myrmica).

The world's leading sustainability consultancy



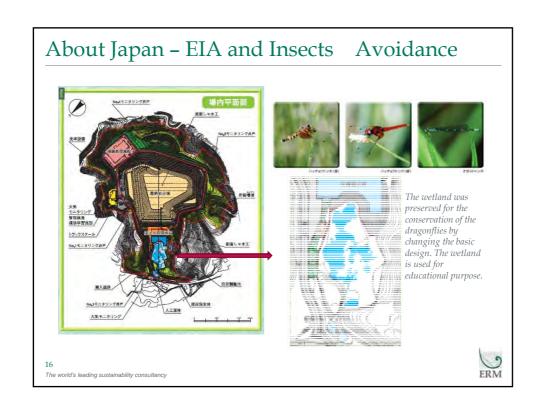
## Some tips about Insects and EIA in Japan

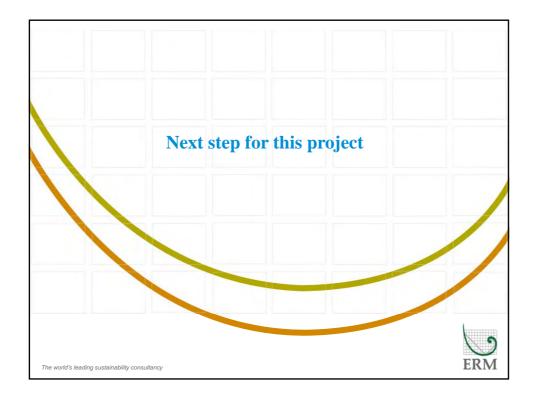
- Conservation of a specific type of insects means conservation of such environment. Fireflies need clean stream and specific type of shell, and some insects depend on specific plants and/or other insects, and so on.
- Insect Monitoring provides information of how many species are found. Comparison before and after the project is usually made to understand the change, but sometimes it depends on the experts involved and/or timing of survey, and not necessarily give the stable results.
- Now ,in Japan, fireflies are released to attract people, but it is not considered a good practice to introduce insects of the same kinds from other regions since that may result in the reduction of biodiversity at the gene level.

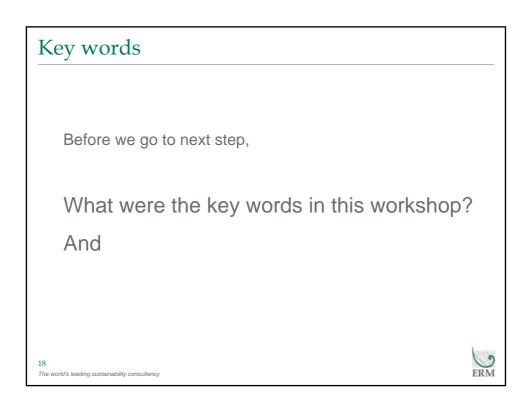


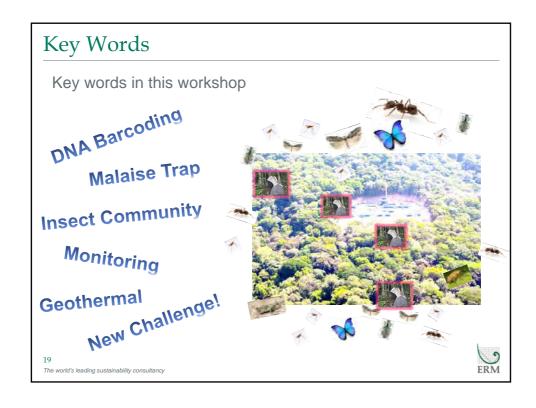
ERM

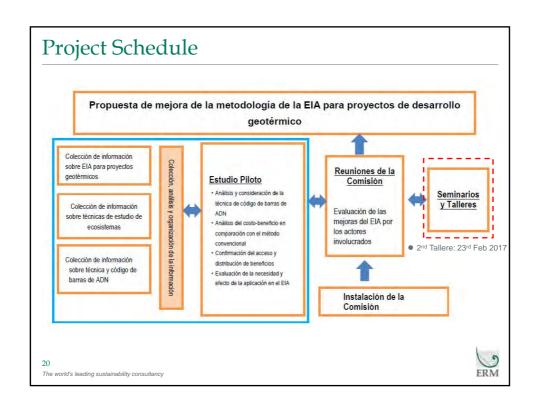
The world's leading sustainability consultance





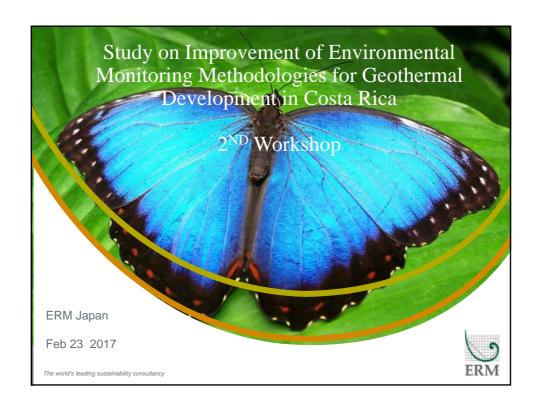


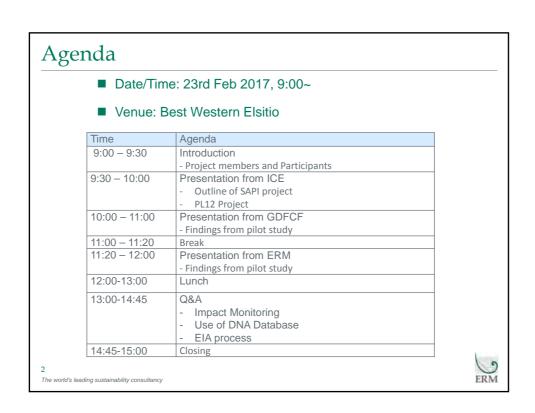




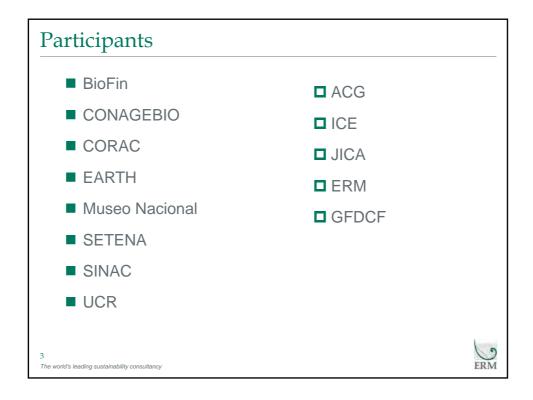
Questions?	
21	9
The world's leading sustainability consultancy	ERM

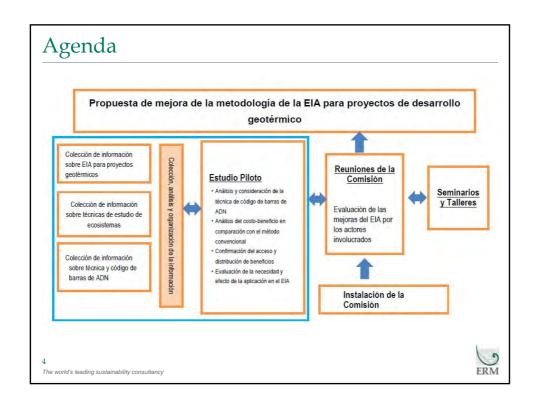






1





## 1st Workshop

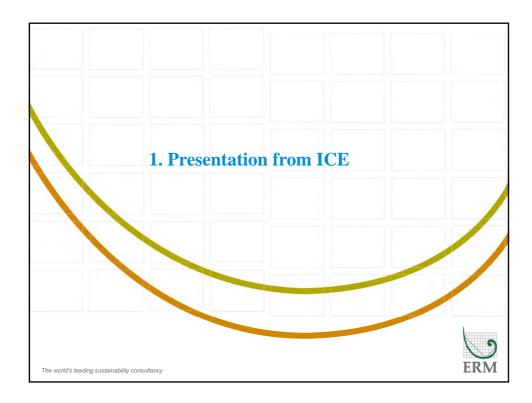
In the 1st Workshop held on Nov 2016, we shared;

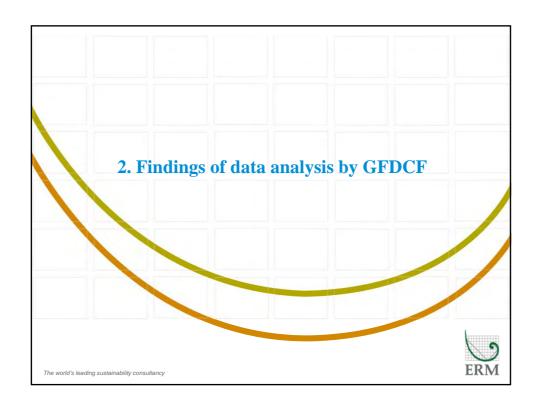
- Geothermal Project
- ACG
- DNA Barcoding
- Case study of EIA study in Japan (using insect)

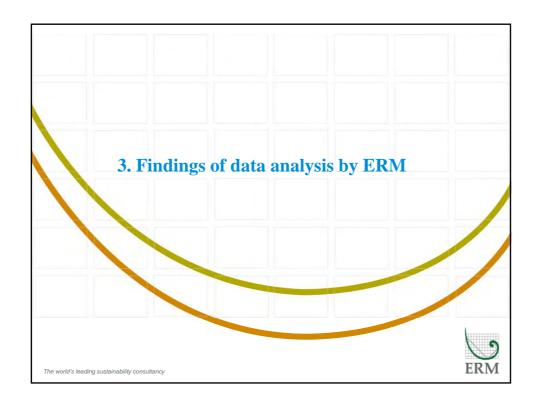
5

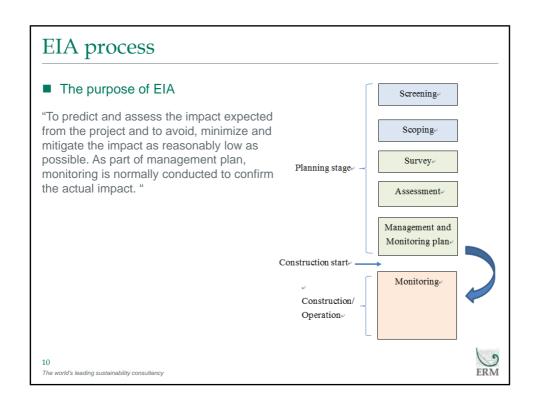








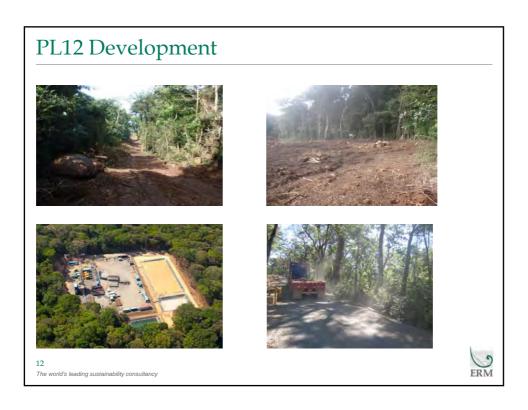




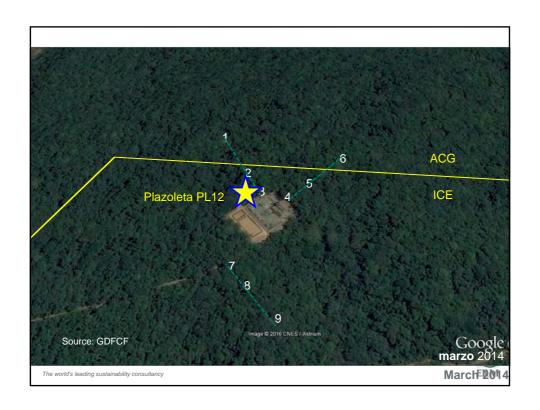
What would impacts on insect from Geothermal Development?

11

The world's leading sustainability consultancy

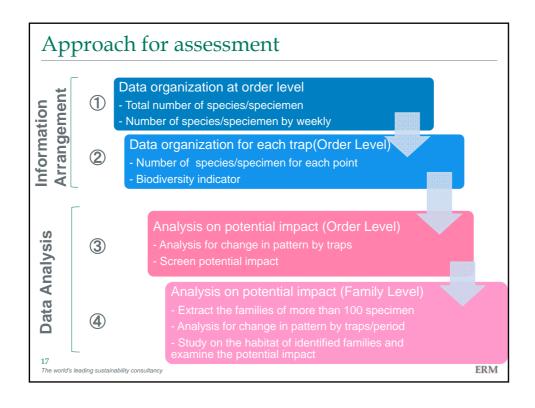


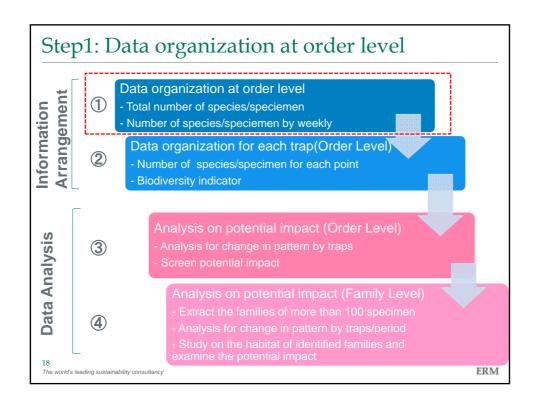


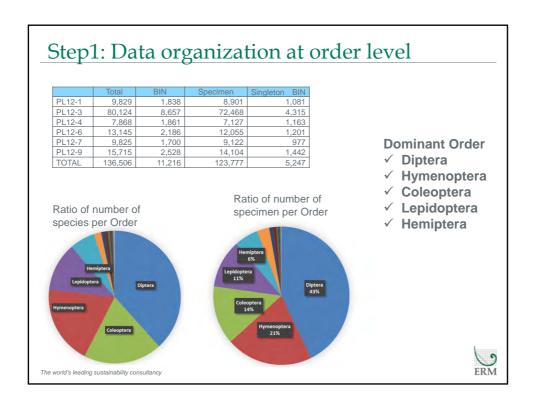


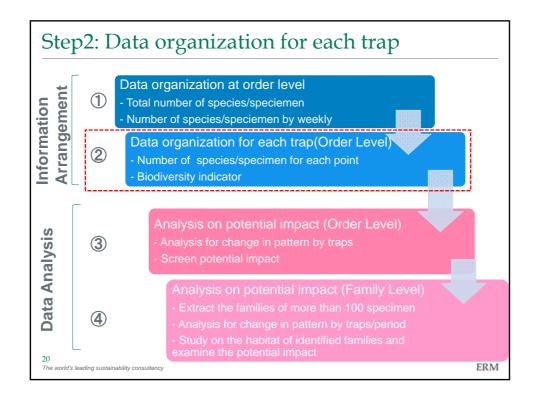


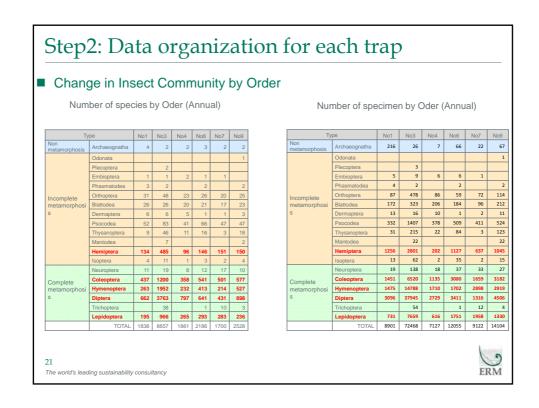
Impact Item		150m deep forest		0m			
		No1	No6	No9	No.3	No.4	No.7
Short	Increase of Sun light	N	o impa	ct	Large		S-M
Term	Night Light	No impact		Medium		No-S	
	Dry (by Clearance)	No impact		Large		Medium	
	Dust	No impact		Small		M-L	
	H2S	Unknown		Unknown		Unknowr	
	Noise	Small		Large		Medium	
	Soil Contamination	No impact		No impact		No impac	
	Water pollution	N	o impa	ct	No impact Large		No impac
	Change in vegetation (sun/dry)	N	o impa	ct			Large
Long Term	Invasive species	No impact		Large		Large	
	Water storage	N	o impa	ct	Small	No	No impac

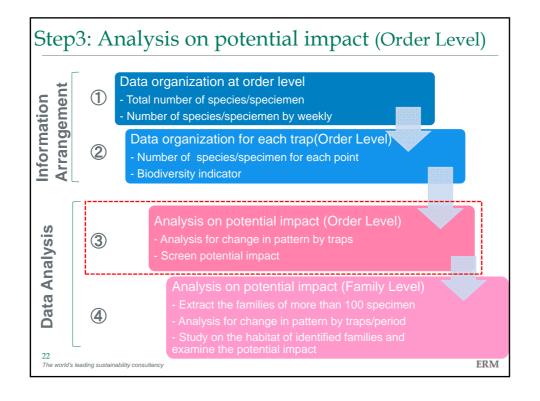


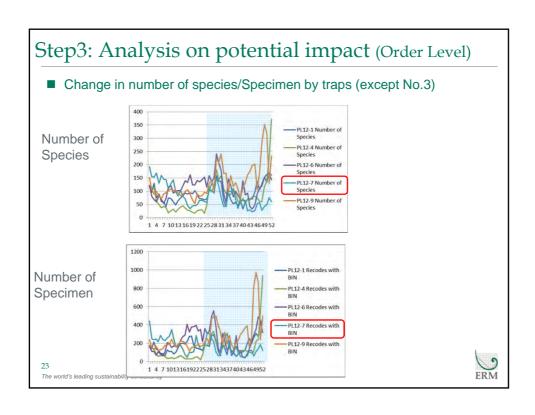


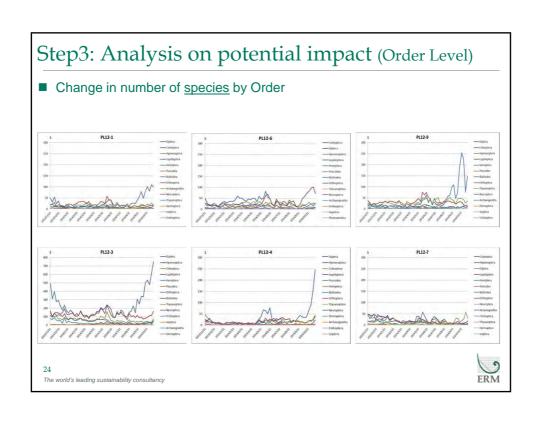


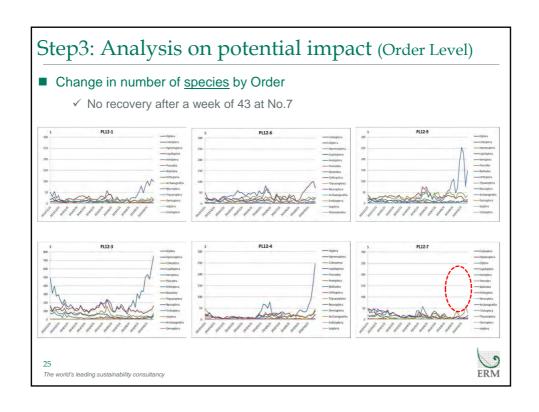


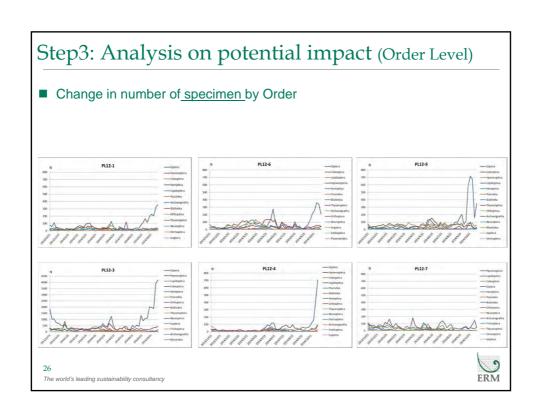


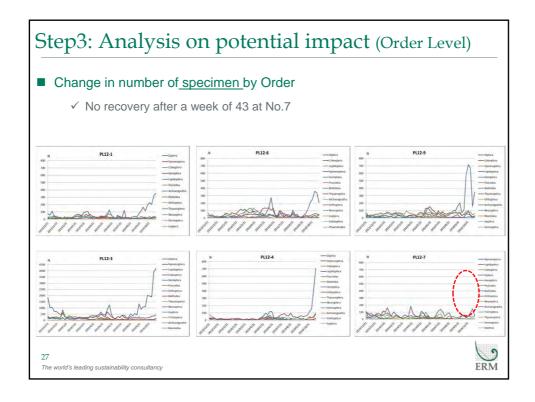


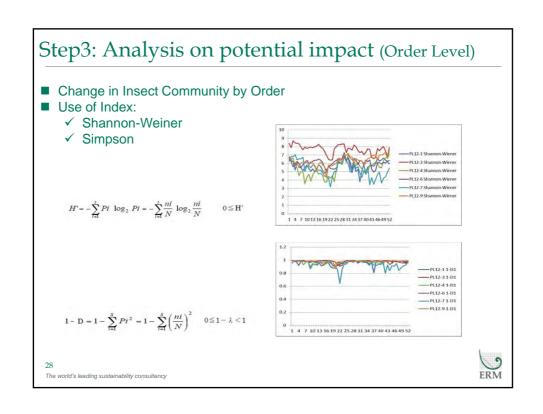


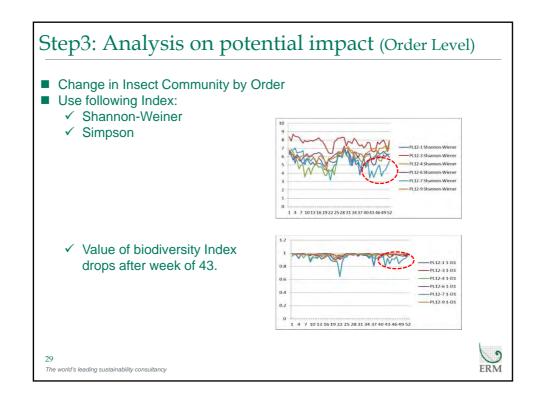


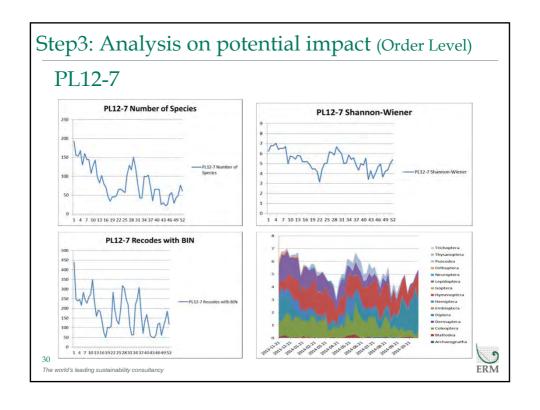


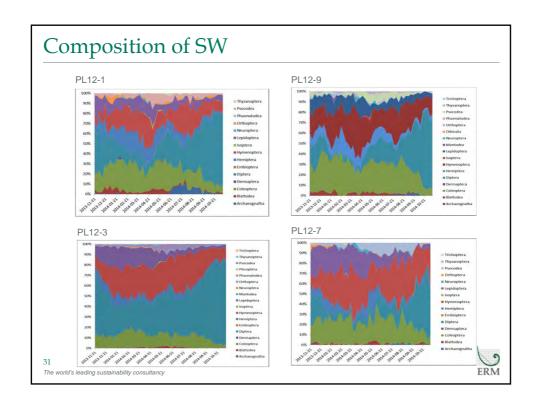


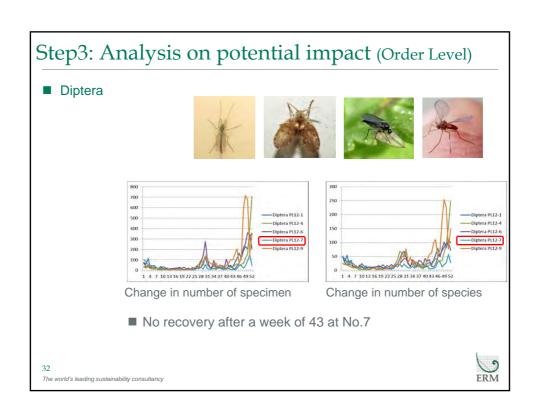


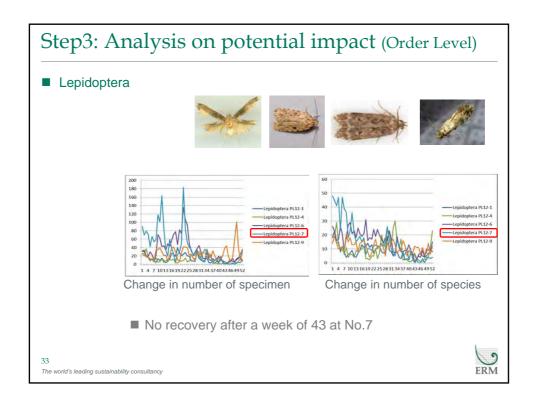


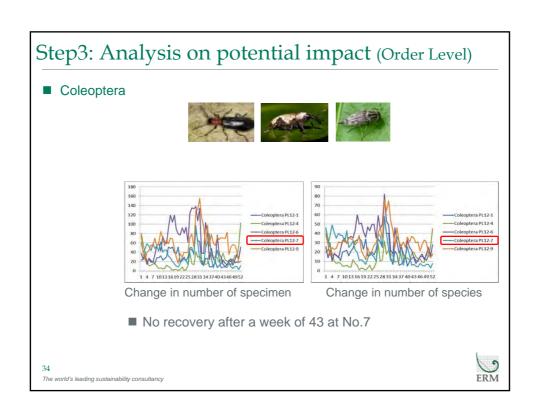


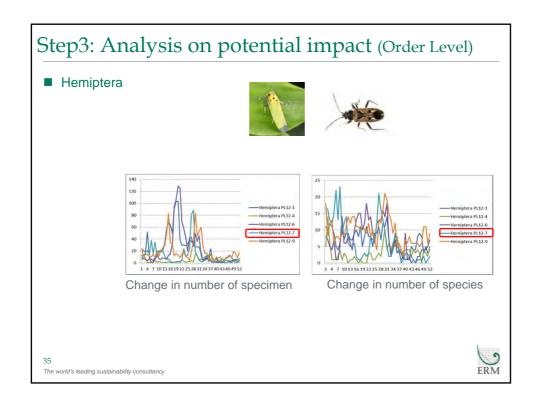


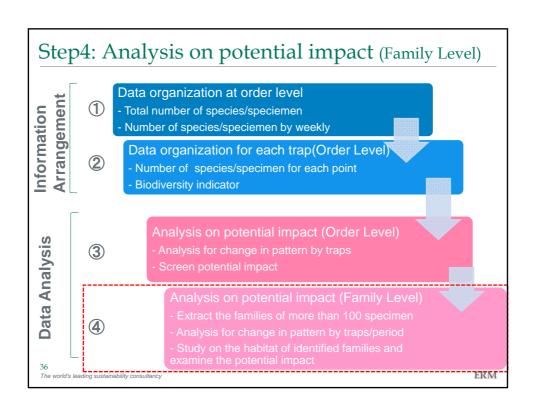


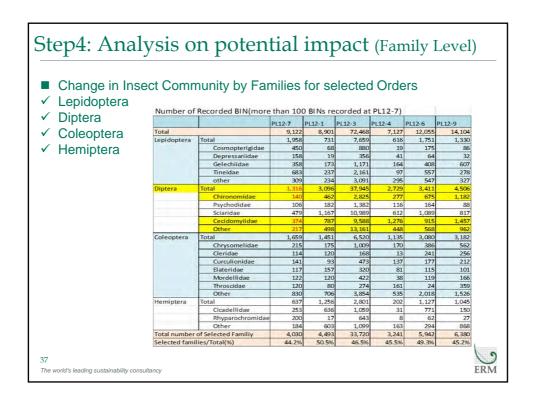


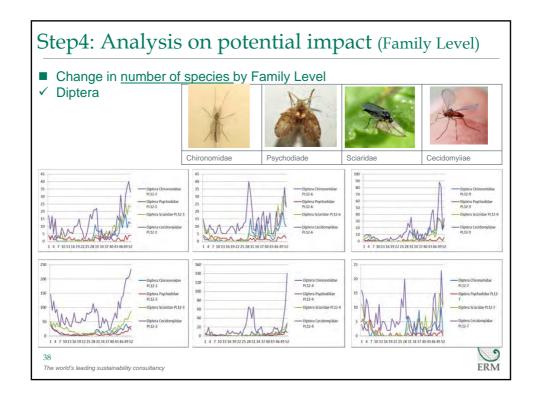


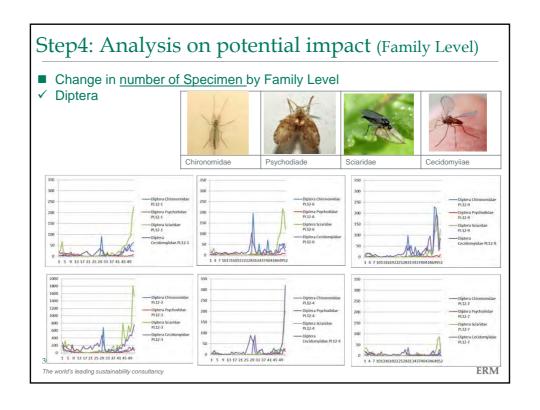


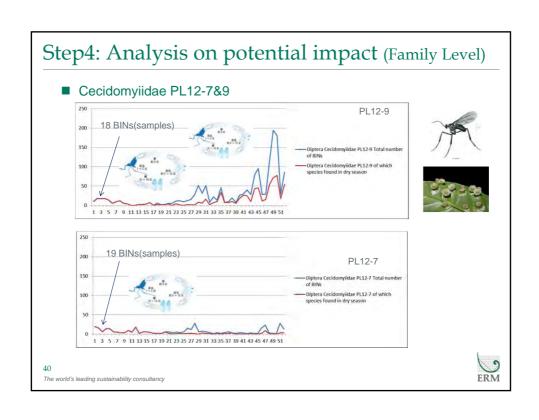


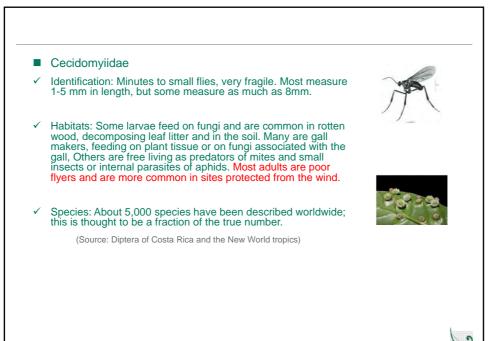




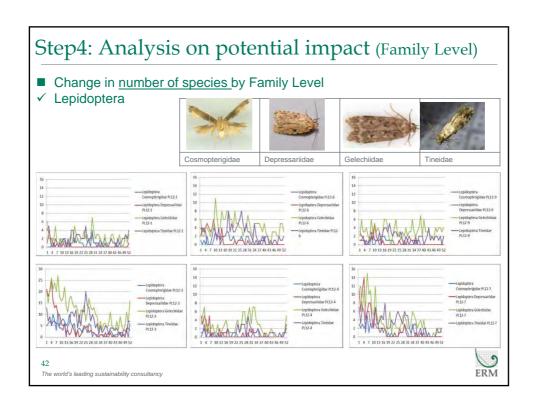


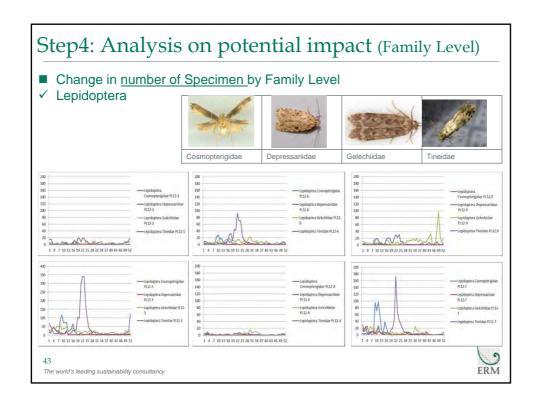


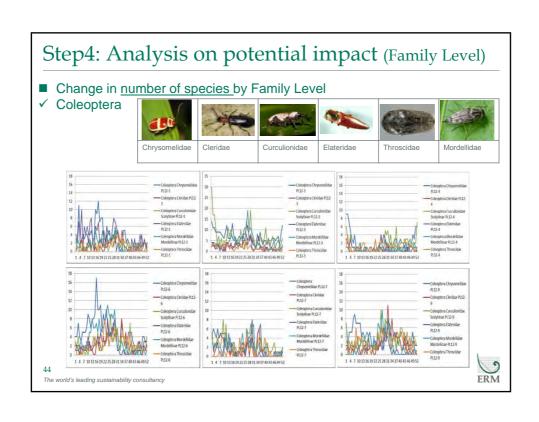


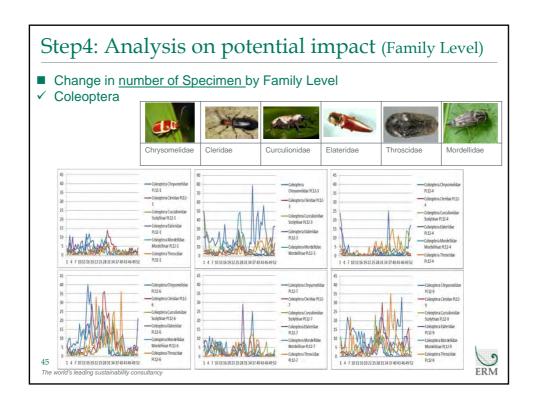


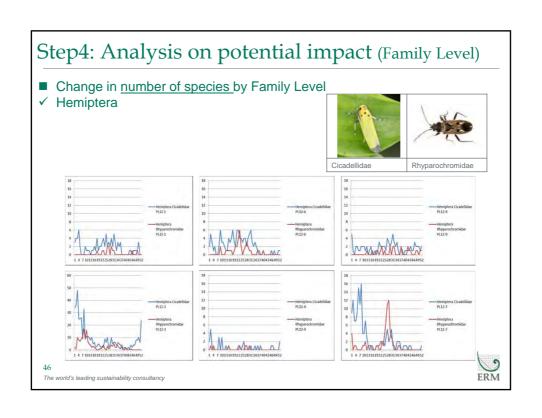
The world's leading sustainability consultancy

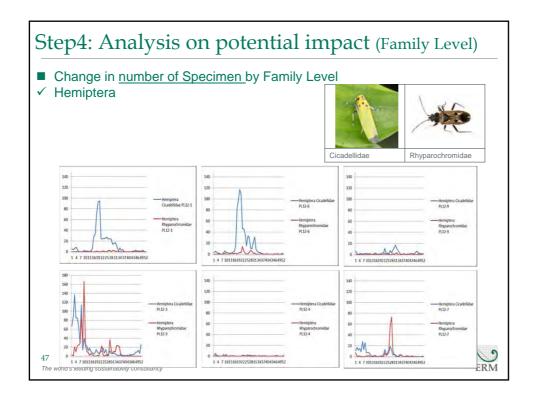


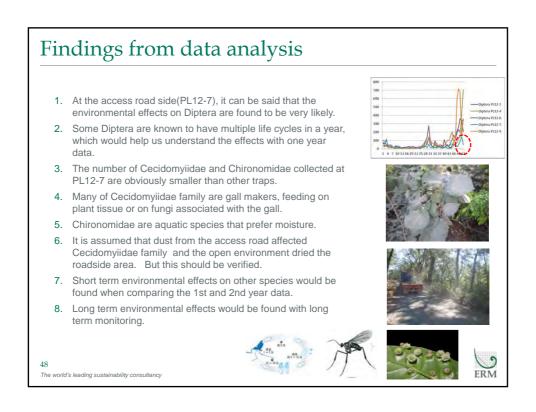












# Findings for EIA improvement

### Use of flying insect as impact analysis

- ✓ More than 90% of insect is flying insect→Representativeness
- ✓ Can be used for quantitative assessment

### ■ Usefulness of Malaise Trap + DNA Barcoding

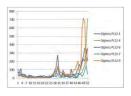
- ✓ Be able to catch many species/specimen effectively and identify precisely including species that could be an impact indicator such as
  - Species that are highly dependent of specific environmental conditions
  - Species that are highly dependent of specific plant: species with gall inducing fly (Cecidomyiidae)
  - > Short life cycle species
  - Low cost

### ■ Tool as impact indicator

- New impact assessment methodology as quantitative assessment (Composition of insect community)
- Be able to catch a change in a composition of insect community throughout year;
  - > Change in species level

The world's leading sustainability consultancy









# Findings from pilot study

### Malaise Trap

✓ Need to consider the location and position of the trap carefully.

### Tool as impact indicator

- It is yet unknown what kind of and how much of the impact from the project can be detected.
- ✓ Need to examine if any impact indicator can be identified
  - Composition of insect community
  - > Specific order/family/species
- $\checkmark$  It is important to consider <u>seasonal change of insect community</u>

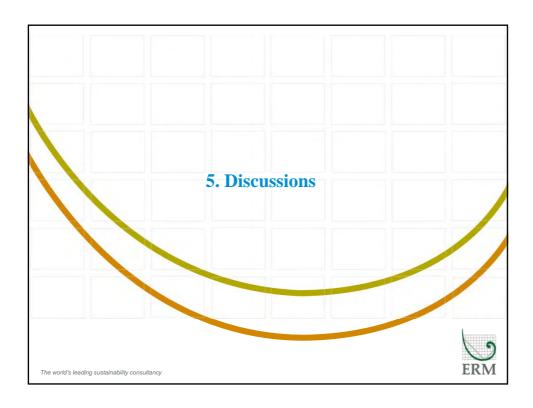
### Singleton BIN

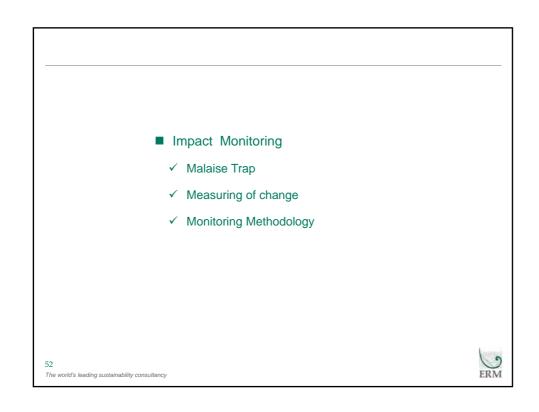
- ✓ There are so many unknown/rare species
- ✓ For the purpose of EIA, it may not necessary to try to collect all species.

50

The world's leading sustainability consultancy







■ EIA process	
✓ EIA for Geothermal Development	
✓ Scope of Survey	
✓ Monitoring Plan	
53 The world's leading sustainability consultancy	ERM



添付資料 7 : ゲルフ大学訪問の際のメモ

添付資料 8: コスタリカにおける貴重種リスト

# LISTA OFICIAL DE LA REPÚBLICA DE COSTA RICA

"Lista de Especies de Fauna Silvestre con Poblaciones Reducidas y en Peligro de Extinción para Costa Rica"

### Decreto N° 26435-MINAE

Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE)

#### Publicado en La Gaceta el 3 de diciembre de 1997

#### LISTA DE FAUNA CON POBLACIONES REDUCIDAS

Se consideran especies de fauna con poblaciones reducidas o amenazadas las incluidas en los siguientes taxones, así como aquellas especies que posteriormente se declaren como tales:

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES *
	ANTHOZOA	
Orden ANTIPATHARIA Orden SCLERACTINIA	corales negro corales negro	II II
	HYDROZOA	
Orden MELLEPORINA Familia MILLEPORIDAE Orden STYLASERINA Familia STYLASTERIDAE	Coral rojo Coral blando	II
	ARACHNIDA	
Orden ARANEAE Familia THERAPOSIDAE Brachypelma spp	Tarántula	II
	AVES	
Orden TINAMIFORMES Familia TINAMIDAE Tinamus major Crypturellus boucardi Orden CICONnFORMES Familia ARDEIDAE Botaurus pinnatus Ixobrychus exilis Agamia agami	gongolona gongolona puncus mirasol garza pechicastaña	

<sup>&#</sup>x27; El listado oficial no contempla esta columna. La información fue suministrada a través de la autoridad científic CITES de Costa Rica

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES *
Familia THRESKIORNITHIDAE		
Mesembriníbis cayennensis Familia CATHARTIDAE	coco negro	
Sarcoramphus papel	rey de zopilotes	II
Orden ANSERIFORMES Familia ANATIDAE		
Cairina moschata	pato real	
Nomonyx dominicus	pato real	
Orden FALCONIFORMES Familia ACOPITRIDAE	pato crimascarado	
Cbondrohierax uncinatus	gavilán piquiganchudo	l II
Rostrbctmus sociabilis	gavilán caracolero	l ii
Accipiter superciliosus	gavilán canaleón	l ii
Bufeo albicaudatus	gavilan tic -sabana	
Leucoptemis semiplumbea	gavilan tic -sabaha gavilán uorsiplomiso	
Busarellus nigricollis	gavilán de ciénaga	
Buteoganits urubitinga	gavilán silvero	
Spizastur melanoleucus	aguilucho	
Spizastur meianoleucus Spizaetus ornatus	aguilucho	
Spizaetus ornatus Spizaetus tyrfmnus	aguilucho	
Geranospiza caerrulescens		
Familia FALCONIDAE	gavilán ranero	
Micrastur semitorquatus	halcón collarejo de monte	II
Micrastur mirandollei	halcón dor-sigris de monte	II .
Falco peregrinus	halcón peregrino	I
Falco rufiguluris Orden GALLIFORMES	halcón caza murciélago	
Familia CRACIDAE		
Crax rubra	pavón	
Penelope purpurascens Familia ODONTOPHORIDAE	pava granadera	
Odontophorus gujamensis	corcovado	
Odontophorus erythrops Orden GRUIFORMES	chirrascuá	
Familia RALLIDAE Aramides axillaris Familia EURYPYGIDAE	rascón cuellirrufo	
Eurypyga helias Orden COLUMBIFORMES	sol y luna	
Familia COLUMBIDAE		
	toroozo	
Columba speciosa Claravis mondetoura	torcaza tortolita serranera	
Gvotrygon violacea	paloma o perdiz violácea	
Orden PSIITACIFORMES Familia PSITTACIDAE	paioma o perdiz violacea	
Amazona autumnalis	lora copete rojo	l II
Amazona farinosa	ora copete rojo	
Amazona albifrons	cotorra frentiblanca	
Amazona auropalliata	lora nuca amarilla	
Pionopsitta haematotis		
Pionus senilis	cotorra cabeciparda	
Pionas menstruus	cotorra coroniblanca	
FIUNAS MENSUUUS	cotorra cabeciazul	II

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES *
Arctings conjectorie	perios frantilonaraniada	II
Aratinga canicularis	perico frentilanaranjado	
Aratinga finschi	perico frentirrojo	II
Aratinga nana	perico barbiolivaceo	l II
Touit costaricensis	periquito alirrojo	
Brotogeris juguluris	perico barbianaranjado	II
Boiborhynchus lineola	periquito listado	I
Pyrrhura hoffmtfimi	periquito aliazufrado	II
Orden CUCUUFORMES		
Familia CUCULIDAE		
Coccyzus ferrugineus	cuclillo de la Isla del Coco	
Orden STRIGIFORMES		
Familia STRIGIDAE		
Otus guatemalae	estucurú	II
Lophostrix cristata	lechuza	II
Bubo virginitiflus	buho grande	II
Orden APODIFORMES		
Familia TROCHILIDAE		
Luphomis helenae	colibrí crcstinegro	ll ll
Amuzilia boucardi	colibrí manglcro	
Orden TROGONIFORMES	a community of the comm	
Familia TROGONIDAE		
Trogon clathratus	trogón ojiblanco	
Trogon aurantiirentris	trogón vientrianaranjado	
Orden CORACÜFORMES	a a gara transmentan garas	
Familia ALCEDINIDAE		
Cbloruceryie inda	martín pescador	
Familia MOMOTIDAE	marin possausi	
Hylomanes momotula	momoto enano	
Electron carinatum	momoto picoquilla	
Orden PICIFORMES	momento proceduma	
Famüia GALBUUDAE		
jaccnnerops aurea	gorrión de montaña	
Familia BUCCONIDAE	gomen de mentana	
Nothrachus tectus	buco pinto	
Familia PICIDAE	baco pinto	
Melanerpes chrysauchen	carpintero nuquidorado	
Orden PASSERIFORMES	Carpiniero nuquidorado	
Familia DENDROCOLAPTIDAE		
Deconychura longicauda	tranadar dalgada	
	trepador delgado	
Campylorhdmphus pusillus	trepador pico de hoz	
Xiphocolaptes promeropirhyncbus	trepador gigante	
Familia PIPRIDAE		
Chiravipbia lanceolata	saltarín coludo	
Piprítes griseiceps	saltarín cabccigris	
Familia COTINGIDAE		
Cotinga ridgwayi	cotinga turquesa	
Cotinga amabilis	cotinga linda	
Carpodectes antoniae	cotinga pechiamarillo	
Cephalopterus glabricollis	pájaro paraguas	
Procnias tricarunculata	calandria o pájaro campana	
Laniocera rufescens	plañidera moteada	I

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES *
Familia TYRANNIDAE Nesotriccus ridgwayi Aphanotriccus capitalis Familia CORVIDAE	mosquerito de la Isla del Coco mosquerito pechitconada	
Cyanocorax affinis Familia VIREONIDAE	urraca pechincgra	
Vireo pallens Familia ICTERIDAE	vireo de manglar	
Icterus pectoralis Familia THRAI IPIDAE Lanio leucothorcix	bolsero pcchimanchada tangara piquiganchuda	
Heterospingus rubrifrons	lángara lomiaxufrada	
Rhodinocichict rosea Familia EMBERI2IDAE	tangara pcchirosada	
Pinaroloxias momata	pinzón de la Isla del Coco	
Aimophilü hotterii Emberizoides berbicola	sabanero pechianteado sabanero coludo	
LITIDETIZOIDES DEIDICOIA	MAMÍFEROS (MAMMALIA)	
Orden XENARTHRA Familia BRADYPODIDAE		
Choloepus hoffmcmni	perezoso de dos dedos	
Familia DASYPODIDAE Cabassous centralis	armadilla zapilata	
Orden CHIROPTERA	armadillo zopilote	
Familia PHYLLOSTOMIDAE		
Vampyrun spectrum Orden PRIMATES	falso vampiro	
Familia CEBIDAE		
Cebus capttdmts Orden CARNÍVORA	mono carablanca	
Familia PROCYONIDAE		
Bassaricyon gabbii	olingo	
Bassariscus sumicbrasti Familia MUSTEUDAE	ostoche	
Gallictis vittata	grisón	
Lutra longícaudis Orden RODENTIA	nutria, perro de agua	
Familia SCIURIDAE		
Syntheosciurus poasencis	ardilla del Poás ardilla	
Sciurus deppei Familia GEOMYDAE	ardilla	
Orthogeomys underwoodi	taltuza	
Familia CRICETIDAE Oryzomys capito	ratón arrocero	
Oryzomys aphrastus	ratón arrocero	
ReithrocÍontomys gracilis	ratón arrocero	

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES *
	ANFIBIOS (AMPHIBIA)	
Orden ANURA		
Familia LEPTODACTYUDAE		
Eleutherodactylus altan	ranas	
Eleutherodactylus andi	ranas	
Eleutherodactylus angelicus	ranas	
Eleutherodactylus biporcatus	ranas	
Eleutherodactylus cuáquero	ranas	
Eleutherodactylus escoces	ranas	
Eleutherodactylus fleischamanni	ranas	
Eleutherodactylus gaigeí	ranas	
Eleutherodactylus gollmeri	ranas	
Eleutberodííclylus melunostictus	ranas	
Eleutherodactylus mimus	ranas	
Eleutherodactylus moro	ranas	
Eleutherodactylus noblei	ranas	
Eleutherodactylus pardalis	ranas	
Eleutherodactylus podiciferus	ranas	
Eleutherodactylus punctariolus	ranas	
Eleutherodactylus rayo	ranas	
Eleutherodactylus rugulosus	ranas	
Eteutherodactylus taurus	ranas	
Physalaemus pustulosus	sapito	
Familia BUFONIDAE	Sapilo	
Atelopus chiriquiensis	sapitos venenosos	
Atelopus senex	sapitos veneriosos	
Bufo holdridgei	sapo de holdridgei	
Bufo luetkenii	Sapo de Holdridgei	
Bufo melanochioris		
Crepidophryne epiotica	ranas	
Familia HYUDAE	lalias	
Agtilychnis annae	ranas arborícolas	
Agalychnis calcarifer	ranas arboricolas	
Agalychnis saltator	ranas arboricolas	
Agalychnis saltator Agalychnis spurrelli	ranas arborícolas	
Anotheca spinosa	_	
Gastrotheca comuta	rana coronada	
Hyla colymba	rana cornuda rana arborícola	
Hyla debilis	rana arboricola	
Hyla fimbrimembra	rana arborícola	
Hyla lythrodes	rana arboricola	
	rana arboricola	
Hyla microcephala	rana arboricola	
Hyla miliaria Hyla picadoi	rana arboricola	
	rana arborícola	
Hyla zotoki	rana arboricola rana arboricela	
Hyla zeteki Phyllomedusa lémur	rana arboriceia rana arboricola	
Familia DENDROBATIDAE	Tana arbuncula	
Colostet hus nubicola	capitos	
Colostethus talamancas	sapitos	
Dendrobatos auratus	sapitos	l II
	sapito venenoso	
Dendrobatos granuliferus Dendrobatos pumilio	sapito o rana dardo sapito venenoso	

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES
Phyllobates lugubris	sapitos venenosos	lii e
Phyllobates ritattus	sapitos venenosos	l ii
Familia CENTROLENIDAE	dapitos verteriosos	
Hyalinobatrachium chirripoi	ranas de vidrio	
Cochranella euknemos	ranas de vidrio	
Centrolene ilex	ranas de vidrio	
Centrolene spinosa	ranas de vidrio	
Hyalinobatrcichium vireovittata Familia RANIDAE	ranas de vidrio	
Rana ribicaria		
Orden CAUDATA		
Familia CAECILIDAE		
Dermophis mexicanus	salamandras	
Dermohis parriceps	salamandras	
Gymnnopis multiplicata	salamandras	
Oscaecilia osae	salamandras	
Familia PLETHODONTIDAE		
Bolitoglossa alvaradoi	salamandras	
Bolitoglossa arborescandens	salamandras	
Bolitoglossci cerroensis	salamandras	
Bolitoglossa colonnea	salamandras	
Bolitoglossa diminuta	salamandras	
Bolitoglossa marmórea	salamandras	
Bolitoglossa minutula	salamandras	
Bolitoglossa nigrescens	salamandras	
Bolitoglossa robusta	salamandras	
Bolitoglossa schizodactyla	salamandras	
Bolitoglossa sooyorum	salamandras	
Nototriton picadoi	salamandras	
Nototriton rihardi	salamandras	
Oedípina alfaroi	salamandras	
Oedipina altura	salamandras	
Oedipina carablanca	salamandras	
Oedipina calabiarica Oedipina collaris	salamandras	
Oedipina complex	salamandras	
Oedipina cyclocauda	salamandras	
Oedipina granais	salamandras	
Oedipina paucidentata	salamandras	
Oedipina parvipes	salamandras	
	REPTILES (REPTILIA)	
Orden CROCODYLIA		
Familia ALLIGATORIDAE		
Caiman crocodilos	Caimán o guajipal	l II
Orden SAURIA	- Jaman o guajipai	"
Familia GEKKONIDAE		
Coleonyx mitratiis		
Tecadactylus rapicaudus		
Familia POLYCHRIDAE		
Dactyloa chocorum		
Dactyloa frenatus		
Dactyloa insignis		
Dactyloa microtus		

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES
Norops altae		
Norops carpenteri		
Norops fungosus		
Norops lemurinus		
Norops pentaprion		
Norops sericeus		
Norops wciferans		
Polychrus gutturosus		
Familia CYMNOPHTALMIDAE		
Bachia blairi		
Nensticurus apodenlas		
Familia SCINCIDAE		
Eumeces managuae		
Familia ANGUIDAE		
Celestas cyanochioris		
Coloptychon rhombifer		
Orden SERPENTES		
Familia B0IDAE		
Comllus annulatus	coral	II
Corallus hortulanus	coral	II
Epicrates cenchrici	serpiente	
Familia TROPIDOPHIIDAE	a a mai a mata	
Ungaliophis panamensis Familia COLUBRIDAE	serpiente	
Oelia clelict	corpionto	l II
Familia ANILIIDAE	serpiente	11
Llixocemus bicolor	serpiente	
Orden TESTUDINES	Scipiente	
Familia CHELYDRIDAE		
Cbelydra serpentina	tortuga lagarto	
Familia KINOSTERNIDAE	lo. taga tagarto	
Kinostemon angustipons	tortuga candado	
<b>.</b>	•	•

# LISTA DE FAUNA CON POBLACIÓN EN PELIGRO DE EXTINCION

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES *
	AVES OJO	
Orden CICONIIFORMES Familia CICONIIDAE Jabiru mycteria Familia THRESKIORNITHIOAE Ajaia ajaia Orden ANSERIFORMES Familia ANATIDAE Dendrocygna bicolor Dendrocygna viduata Orden FALCONIFORMES Familia ACCIPITRIDAE Harpia harpyja Harpyhaliaetus solitarius Morphnus guianensis Familia FALCONIDAF Daptrius americanus falco deiroleucus Orden GRUIFORMES Familia EURYPYGIDAE Eurypyga helias Familia HEUORNITHIDAE Heliomis fulica Orden PSITTACIFORMES Familia PSITTACIDAE Ara ambigua Ara macuo Orden PASSERIFORMES Familia TROGLODYTIDAE Cistothorus platensis Familia THRAUP1ÜAE Habia atrimaxilaris Familia ICTERIDAE Icterus mesamelas	galan sin ventura espatula rosada piche canelo piche careto aguila harpia aguila solitaria aguila crestada cacao halcon pechirrufo garza sol pato cantil lapa verde lapa roja guachipclin tangara hormiguera bolsero coliamarillo, chorcha	
	MAMÍFEROS (MAMMALIA)	
Orden XENTARTHRA Familia MYRMECOPHAGIDAE Mynnecophaga triaactyla Orden PRIMATES Familia CEBIDAE Saimirí oerstedií oerstedii Áteles geoffroyi Alouatta palliata Orden CARNÍVORA Familia FELIDAE Panthera onca Puma concolor	gran oso hormiguero, oso caballo mono ardilla mono cülorauo mono congo  jaguar puma	

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES *
Leopardus pardalis Leopardus tigrinus Leopardos wiedii Herpailurus yaguarondi Orden SIRENIA Familia TRICHECHIDAE	manigordo caucel caucel león breñero	
Trichechus manatiis  Orden PERISSODACTYLA  Familia TAPIRIDAE	manatí	I
Tcipirus bairdii <b>Orden ARTIODACTYLA</b> Familia TAYASSUIDAE	danta	I
Tayassu pecari	cariblanco	II
	ANFIBIOS (AMPHIBIA)	
Orden ANURA Familia BUFONIDAE Bufo periglenes Alelopus varius	sapo dorado sapitos venenosos	I I
	REPTILES (REPTILIA)	
Orden CROCODYLIA Familia ALLIGATORIDAE Crocodylus acutus Orden SERPENTES Familia BOIDAE	cocodrilo, lagarto	I
Boa constrictor Orden TESTUDINES Familia CHELONIIDAE	boa o bécquer	I
Caretta carvtta Chelonia agassizii Chelonia mydas	tortuga cabezona o caguama tortuga negra tortuga verde	1
Eretmochelys imbricata Lepidochelys olivacea Familia DERMOCHELYIDAE	tortuga de carey tortuga lora	1
Dennocbeiys coriacea	tortuga baula	

## ESPECIES ANIMALES INCLUIDAS EN EL APENDICE III DE CITES POR COSTA RICA

Choloepus hoffmanni	perezoso
Sciurus deppei	ardilla del Poás
Cabassous centralis	armadillo zopilote
Bassaricyan gabbii	olingo
Bassarioyon sumichrasti	cacomistie
Galictis vittata	grisón
Crax rubra	pavón

## LISTA ROJA GLOBAL PARA COSTA RICA

Fuente : The World Conservation Monitoring Centre Se utilizaron las categorías de la UICN para clasificar a cada especie. (Anexo # 2 y # 3 del artículo: Importancia de las listas Rojas para Centroamérica y México)

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CATEGORIA
	MAMMALIA	
Orden DIDELPHIMORPHIA		
Familia DIDELPHIDAE		
Caluromys derbianus		Vulnerable/A1c
Cbironectes minimus		Menor riesgo : casi amenazada
Micoureus aistuni		Menor riesgo : casi amenazada
Orden XENARTHRA		3
Familia MEGALONYCHIDAE		
Choloepus hoffmcmni		Datos insuficientes
Familia DASYPODIDAE		
Cahassous centralis	Armadillo zopilote	Datos insuficientes
Familia MYRMECOPHAG1DAE		
Myrmecophaga tridactyla	Gran oso hormiguero, oso caballo	Vulnerable/A1cd
Orden INSECTÍVORA	9.00.0, 200 2.00.0	
Familia SORICIUAE		
Cryptotis gracilis		Vulnerable/B1+2c
Orden CHmOPTERA		
Familia EMBALLONURIDAE		
Cyttarops alecto		Menor riesgo : casi amenazada
Familia PHYLLOSTOMIDAE		
Choeroniscus godmani		Menor riesgo : casi amenazada
Dipbylla ecaudata		Menor riesgo : casi amenazada
Micronycterís daviesi		Menor riesgo : casi amenazada
Micronycteris sylvestris		Menor riesgo : casi amenazada
Stumira mordax		Menor riesgo : casi amenazada
Vampyrum spectrum	Falso vampiro	Menor riesgo : casi amenazada
Familia VESPERTIUONIDAE		
Antrozous dubiaquercus		Vulnerable/A2c, D2
Lasiurus castaneus		Vulncrable/D2
Familia MOLOSSIDAE		
Molossus coibensis		Menor riesgo : casi amenazada
Tadarida brasiliensis		Menor riesgo : casi amenazada
Orden PRIMATES		
Familia CEBIDAE		
Aotus lemurinus		
Aotus lemurinus lemurinus		Vulnerable/B1+2c
Ateles geoffroyi frontatus	Mono colorado	Vulnerable/B1+2c, C2a
Ateles geoffroyi omatus	Mono colorado	Vulnerable/A1c, B1+2c
Aleles geoffroyi panamensis	Mono colorado	Vulnerable/A1c, B1+2c
Saimiri oerstedi citrinellus		En peligro/B1+2abcde,C2a
Saimiri oerstedii oerstedii	Mono ardilla	En peligro erítico/B1+2abcde, C2a
Saimiri oerstedii		En peligro/B1+2abcde,C2a
Orden CARNÍVORA		En peligro/B1+2abcde, C2a
familia FEUDAE		
leopardus trigrinus	Caucel	
Panthera onca	Jaguar	Menor riesgo : casi amenazada
	I	Menor riesgo : casi amenazada

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES
	MAMMALIA	
Familia PROCYONIDAE		
Bassaricyon gabii	Olingo	Menor riesgo : casi amenazao
Bassaricyon lasius	Ğ	En peligro/D1
Bassariscus sumícbrastt	Ostoche	Menor riesgo : casi amenazao
Orden SIRENIA		
Familia TRICHECHIDAE		
Trichechus manatus	Manatí	Vulnerable/A2d
Trichechus manatus manatus	Wallati	Vulnerable/A1cd,C2a
Orden PERISSODACTYLA		valificiable//trod,02a
Familia TAPIRIDAE		
Tapirus bairdii	Danta	Vulnerable/A 1abcd+2bce, C2
Orden RODENTIA	Dania	Vuillerable/A Tabcu+2bce, C2
Familia SCIURIDAE		
Syntheosciurus brochas		Menor riesgo : casi amenazao
Familia GEOMYDAE		Manandana
Orthogeomys cherriei		Menor riesgo : casi amenazao
Orthogeomys heterodus		Vulnerable/B1+2ac
Familia HETEROMYIDAE		
Heteromys oresterus		Menor riesgo : casi amenazao
Familia MURIDAE		
Refthrodontomys paradoxus		Menor riesgo : casi amenazao
Reithrodontomys rodriguezi		Vulnerable/B1+2c
Sigmodontomys aphrastus		En peligro critico/B1+2c
Orden LAGOMORPHA		
Familia LEPORIDAE		
Sylvilagus dicei		En peligro/A1c+2bc, B2c+3c
	AVES	
Orden PROCELLARIIFORMES		
Familia PROCELLARIIDAE		
Pterodroma phaeopygia		En peligro cri tico/A 1ace+2ce
Puffinus creatopus		Vulnerable/D2
Orden PELECANIFORMES		7 4
Familia SULIDAE		
Papasula abbotti		Vulnerable/C2b, D2
Orden CICONIBFORMES		Validable/OZD, DZ
Familia ARDEIDAE		
	Garza pochicastaño	Monor riosgo : ossi omoro-sa
Agamia agami	Garza pechicastaña	Menor riesgo : casi amenazao
Tigrisoma fasciatum  Orden FALCONIFORMES		Menor riesgo : casi amenazao
Familia ACCIPITRIDAE	Á ausila da a arra da	Managara
Harpia harpyja	Águila harpía	Menor riesgo : casi amenazao
Harpyhaliaetus solitarius	Águila solitaria	Menor riesgo : casi amenazao
Leucoptemis plumbea		Menor riesgo : casi amenazao
Leucoptemis semiplumbea	Ģavilán dorsiplomiso	Menor riesgo : casi amenazao
Morphnus guianensis	Águila crestada	Menor riesgo : casi amenazao
Spizastur melanoleucus	Aguilucho	Menor riesgo: casi amenazao
Familia FALCONIDAE		
Falco deiroleucus	Halcón pechirrufo	Menor riesgo : casi amenazao
Orden GALUFORMES	· ·	3
Familia CRACIDAE		
Chamaepetes unicolor		Menor riesgo : casi amenazao
Familia ODONTOPHORIDAE		Monor noogo . oasi ameriazac
	1	
Odontopborus leucolaemus		Menor riesgo : casi amenazao

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	CITES
Orden PSITTACIFORMES		
Familia PSITTACIDAE		
Ara militaris		
Touit costaricensis		Vulnerable/A1c, C2a
Orden CUCULIFORMES	Periquito alirrojo	Menor riesgo : casi amenazada
Familia CUCULIDAE	. ,	
Coccyzus ferrugineus	Cuclillo de la Isla del Coco	Vulnerable/D2
Orden STRIGIFORMES		
Familia STRIGIDAE		
Aegolitts ridgwayi		Menor riesgo : casi amenazada
Orden APODIFORMES		
FamiliaTROCHILIDAE		
Amazilia boucardi	Colibrí manglero	Vulnerable/B1+2c, C2
Philodice bryantae	ŭ	Menor riesgo : casi amenazada
Orden TROGONIFORMES		
Familia TROGONIDAE		
Pharomachrus mocinno		Menor riesgo : casi amenazada
Tragon bairdii		Menor riesgo : casi amenazada
Orden CORACDFORMES		
Famüia MOMOTIDAE		
Electron carinatum	Momoto picoquilla	Menor riesgo : casi amenazada
Orden PICIFORMES	memete proequiia	a_aas
Familia BUCCONIDAE		
Micromonacba lanceolata		Menor riesgo : casi amenazada
Orden PASSERIFORMES		Wichor heago . casi amenazada
Familia COTINGIDAE		
Carpodectes antoniae	Cotinga pechiamarillo	Vulnerable/A1c+2c; C1+2a
Cephalopterus glabricollis	Pájaro paraguas	Vulnerable/A1c+2c, C1+2a
Cotinga ridgwayi	Cotinga turquesa	Vulnerable/C2b
Procnias tricarunculata	Calandria o Pájaro campana	Vulnerable/A1c+2c
Familia PIPRIDAE	Calandha o Fajaro Campana	Vullierable/ATC+2C
	Saltarín cabecigris	Monor riosgo : oosi amanazada
Piprites griseiceps Familia TYRANNIDAE	Saliann cabecigns	Menor riesgo : casi amenazada
	Manguarita paghilagnada	Manar rianga : agai amanazada
Aphanotriccus capitalis	Mosquerito pechileonada	Menor riesgo : casi amenazada
Contopus ocbraceus	Managements de la lala del Cana	Menor riesgo : casi amenazada
Nesotriccus ridgwayi	Mosquerito de la Isla del Coco	Vulnerable/D2
Familia EMBERIZIDAE		
Acanthidops bairdii		
Pinarolaxias inornata	Diomán do lo lala dal Cara	Valo analdo /DC
Pinarolaxias inornata	Pinzón de la Isla del Coco	Vulnerable/D2
Familia THRAUPIDAE		Menor riesgo : casi amenazada
Bangsia arcaei		Menor riesgo : casi amenazada
Habia atrimaxillaris		Vulnerable/B1+2c, C1+2b
Familia ICTERIDAE		
Quiscalus nicaraguensis	DEDTUA	Menor riesgo : casi amenazada
	REPTIUA	
Orden CROCODYLIA		
Familia CROCODYLIDAE		
	Cooodrilo logorto	Vulnorable/A1 as
Crocodylus acutus	Cocodrilo, lagarto	Vulnerable/A1 ac
Orden TESTUDINES		
Familia CHELONIIDAE	Tantuna aabassa sa sa sa sa	Formalisma /Adalast
Caretta caretta	Tortuga cabezona o caguama	En peligro/A1abd
Chelonía mydas	Tortuga verde	En peligro/A1abd

	NOMBRE COMÚN	CITES
Eretmochelys imbricala	Tortuga de carey	En peligro crítico/A1abd+2bcd
Lepidochetys olivacea	Tortuga Iora	En peligro/A 1abd
Familia DERMOCHELYIDAE Dermochelys coriacea	Tortuga baula	En peligro/A 1abd
Familia EMYDIDAE	Tortuga badia	En pengro/A rabu
Rhinoclemmys annulata		Menor riesgo : casi amenaz
Rhinoclemmys funerea		Menor riesgo : casi amenaz
Trachemys scripta		Menor riesgo : casi amenazada
Familia KINOSTERNIDAE		N. I. 124 6
Kinostemon angustipons	Tortuga candado	Vulnerable/B1+2c
	AMPHIBIA	
Orden ANURA		
Familia BUFONIDAE		
Bufo periglens	Sapo dorado	En peligro crítĺco/B1+2ce+3b
	INSECTA	
Only LEDIDODTEDA		
Orden LEPIDOPTERA Familia HESPERIIDAE		
Dalla octomaculata		Datos insuficientes
Orden ODONATA		Dates insulicientes
Familia GOMPHIDAE		
Diaphelbia pallidistylus		En peligro/A1c
Epigomphus camelus		En peligro/A1c
Epigomphus subsimilis		En peligro/A1c
Epigomphus verticomis Familia MEGAPODAGRIONIDAE		En peligro/A1c
Thaumatoneura inopinata		En peligro/A1c
Familia PLATYSTICTIDAE		En pengro/Are
Palaemnema chiriquita		En peligro/A1c
Palaemnema gigantula		En peligro/A1c
Palaemnema melanota		En peligro/A1c
Palaemnema reventazoni		En peligro/A1c
	GASTROPODA	
Orden STYLOMMATOPHORA		
Familia OLEACINIDAE		
Streptostyla turgidula		Datos insuficientes
Familia SUBULINIDAE		Sato modification
i aililla SUBULINIDAL		