

沢の上流域の水生生物等の生息状況の調査や、 その結果を踏まえた重要種の確定と 指標種の選定について

<本資料に記載の項目>

「今後の主な対話項目」（2024年2月5日 静岡県）抜粋

II 生物多様性編

1 沢の水生生物等への影響

- (2) 沢の上流域の水生生物等の生息状況の調査や、その結果を踏まえた重要種の確定と指標種の選定

希少種保護の観点から、希少種の生息・生育箇所に関わる情報等は非公開としております。

令和7年2月
東海旅客鉄道株式会社

目 次

(1) 沢の上流域の水生生物等の生息状況の調査や、その結果を踏まえた重要種の確定と指標種の選定について	1
1) 上流域調査の対象とする沢について	1
2) 上流域調査の方法について	3
3) 上流域調査を踏まえた重要種の確定と指標種の選定について	7
4) 当面のスケジュールについて	12
(2) 沢の上流域の水生生物等の生息・生育状況の調査について	13
1) 蛇抜沢について	14
2) 悪沢について	16
3) スリバチ沢について	18

(1) 沢の上流域の水生生物等の生息状況の調査や、その結果を踏まえた重要種¹の確定と指標種²の選定について

1) 上流域調査³の対象とする沢について

- ・ 沢の水生生物等の生息状況の調査は、これまで全体 33 の沢で可能な限り遡上し、作業の安全性等を考慮した上で調査範囲を設定し、調査を実施してきました。
- ・ 今回、静岡県から新たに上流域へのアクセスルートの情報提供があったため、より上流域での調査を実施できる可能性のある沢を対象に上流域調査を実施することを考えています。
- ・ 上流域調査の当面の対象地点は、表 1、図 1 に記載の 15 の沢です。

表 1 沢の上流域調査の当面の対象地点

沢01	内無沢	沢13	ジャガ沢
沢02	魚無沢	沢14	流沢
沢03	瀬戸沢	沢15	二軒小屋南西の沢
沢04	上岳沢	沢16	上スリバチ沢
沢05	西小石沢	沢17	スリバチ沢
沢07	蛇抜沢	沢29	蛇沢
沢09	悪沢	沢33	北俣・中俣合流部付近
沢12	曲輪沢		

凡例

 : 水収支解析⁴の結果、流量減少が予測される沢

¹ 「文化財保護法」(昭和 25 年、法律第 214 号)、「環境省第 4 次レッドリスト」(令和 2 年、環境省)、「まもりたい静岡県の野生生物—県版レッドデータブック—動物編 2019、植物編 2020」(令和 2 年、静岡県)等の基準に該当するもの。

² 底生動物：流速や水深の変化に敏感な流水中の表在性底生動物(底質に潜っておらず、岩や礫などの表面で生息が確認される底生動物)

高等植物：生育環境が河川水辺と関係のある種

³ 当社が継続して実施してきている既存の調査地点より上流側での調査

⁴ 上流域モデルによる解析結果。上流域モデルとは、国土交通省 リニア中央新幹線静岡工区有識者会議(環境保全)において、大井川上流域の沢の影響分析という目的のもと、新たに作成した GETFLOWS による解析モデル。

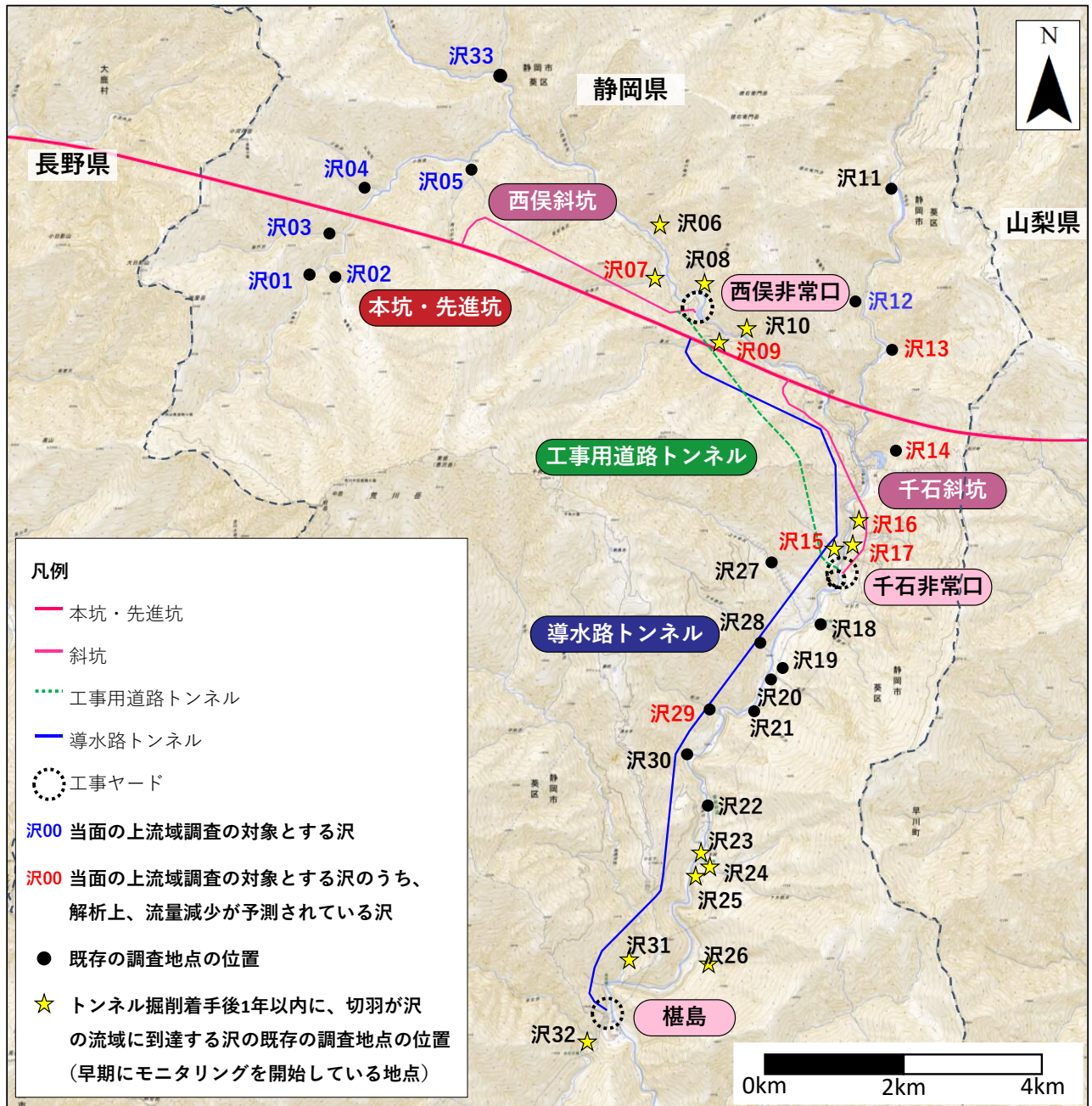


図 1 既存の調査地点と当面の上流域調査の対象とする沢

2) 上流域調査の方法について

- ・まず安全性を考慮した上で実施可能な調査手法の検討のための現地踏査を実施します。
- ・上述の現地踏査の結果を踏まえて、当該沢の上流域調査の方針を以下の①から③の順に検討します。

《上流域調査の方針》

方針①：捕獲を中心とした現地調査と環境DNA分析による調査の両方を実施（現地踏査を行い調査の安全性等を検討した結果、捕獲を中心とした現地調査と環境DNA分析による調査の両方を実施可能な場合）

方針②：環境DNA分析による調査のみ実施（現地踏査を行い調査の安全性等を検討した結果、捕獲を中心とした現地調査の実施が困難であり、環境DNA分析による調査のみ実施可能な場合）

方針③：上流域の調査は実施不可（現地踏査を行い調査の安全性等を検討した結果、捕獲を中心とした現地調査と環境DNA分析による調査がともに実施困難な場合）

- ・捕獲を中心とした現地調査および環境DNA分析による調査の調査項目と調査方法を、表 2 および表 4 に示します。調査の対象とする生物種については、今後、県専門部会委員のご意見を踏まえて検討します。
- ・具体的な調査地点については、先述の現地踏査の結果や、解析上の流量減少予測箇所、衛星写真から判読した現況の沢の生息場（滝、淵等）等を参考に決定します。
- ・環境DNA分析による調査結果が重要種の確定と指標種の選定に使用可能かどうかについては、同じ沢の捕獲を中心とした現地調査の結果と比較し、捕獲を中心とした現地調査で確認された重要種や指標種が確認されているかどうかを確認した上で、判断します。
- ・また、環境DNA分析による調査については、上流域における捕獲を中心とした現地調査を下流域での環境DNA分析による調査で代替可能か否かを検討することを考えています。
- ・検討にあたっては、上流域と下流域における環境DNA分析による調査の結果を比較します。比較の結果、確認された種の構成が上流域と下流域で異なる場合は、上流域における調査範囲よりも下流側において環境DNA分析による調査を複数箇所で実施することで、環境DNAの反映距離を確認し、検討します。

表 2 捕獲を中心とした現地調査の方法（上流域）

調査項目		調査方法				
捕獲等調査 (重要種(案))	魚類	調査範囲内において、電気ショッカー、釣り、投網、手網等を用いて、任意に魚類を採集				
	底生動物	調査範囲内において、タモ網等を用いて、任意に底生動物を採集（小滝、早瀬、平瀬、淵での採集を考えているが、現地踏査の結果を踏まえ、決定する）				
			両生類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録		
	高等植物	調査範囲内を任意に踏査し、確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録				
					底生動物	調査範囲内において、タモ網等を用いて、任意に底生動物を採集（小滝、早瀬、平瀬、淵での採集を考えているが、現地踏査の結果を踏まえ、決定する）
	捕獲等調査 (指標種)	底生動物			調査範囲内において、タモ網等を用いて、任意に底生動物を採集（小滝、早瀬、平瀬、淵での採集を考えているが、現地踏査の結果を踏まえ、決定する）	
		高等植物			調査範囲内を任意に踏査し、確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録	

表 3 捕獲を中心とした現地調査の方法（下流域）

調査項目		調査方法
捕獲等調査	魚類	標識再捕獲法による採集（電気ショッカー、釣り、投網、手網等による）
	底生動物	<ul style="list-style-type: none"> ・調査範囲内において、タモ網等を用いて、任意に底生動物を採集 ・調査範囲内に設定した地点において、コドラート付サーバーネット等を用いて、一定面積内に生息する底生動物を採集
	両生類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	哺乳類	<ul style="list-style-type: none"> ・調査範囲内を任意に踏査し、哺乳類の生息の根拠となる足跡、糞、食痕等のフィールドサインを確認 ・XXXXXXXXXXを対象に、調査範囲内で河川水を採水し、採水したサンプルを基に種特異的解析を実施
	鳥類	調査範囲内を任意に踏査し、双眼鏡等を用いて周辺に出現する鳥類を姿または鳴き声によって確認
	爬虫類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	昆虫類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察で確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	高等植物	<ul style="list-style-type: none"> ・調査範囲内を任意に踏査し、確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録 ・調査範囲内で確認された指標種の生育箇所周辺にコドラートを設定して、植生の状況を確認
生息生育場 環境調査	流況	目視観察等により、河川形態、流量（川幅、水深、流速）、瀬・淵の状況等を確認
	水温・水質	「水質汚濁に係る環境について」に定める測定方法に準拠

表 4 環境DNA分析による調査の方法

調査項目※1	調査方法
魚類	<p>《検出方法》 網羅的解析法</p> <p>《使用するプライマー》 ・魚類：M i F I s h - U ・底生動物：M t I n s e c t s - 1 6 S ・両生類：A m p h _ 1 6 s</p>
底生動物	<p>《採水方法※2》 容器による直接採水を考えている。具体的には、「環境DNA分析技術を用いた調査手法の手引き（淡水魚類・両生類）第1版」（2024年5月、環境省自然環境局生物多様性センター）のP.39～P.42を基本とする。</p> <p>《採水場所》 ・採水は3箇所（流心、右岸、左岸）を基本とする（現地状況等を踏まえて採水箇所数は検討する）。 ・伏流区間を通過することにより環境DNAが濾されてしまう可能性があるため、崖錐堆積物等により局所的に伏流している箇所のすぐ下流は避けるようにする。</p>
両生類	<p>《採水するタイミング》 降雨の影響によって、環境DNA分析により検出される種の結果が異なる可能性があるため、可能な限り、降雨時やその直後を避けるようにする。</p>
	<p>《検出方法》 種特異的検出法</p> <p>《採水方法・採水場所・採水するタイミング》 網羅的解析法と同様</p>

※1：高等植物や魚類のうち [] については、環境DNA分析による調査で生息状況を確認することが可能か、専門家等へ確認を行っている。

※2：巻末資料を参照

3) 上流域調査を踏まえた重要種の確定と指標種の選定について

- これまで実施している沢の下流域での調査結果に加え、上流域での調査結果を踏まえ、重要種の確定と指標種の選定を行います。
- 具体的には、以下ならびに図 2 のとおりを考えています。
 - －上流域調査を実施した沢については、当該沢の上流域と下流域の調査結果に基づき、重要種の確定と指標種の選定を行います。
 - －当面の上流域調査の対象とした沢のうち、現地踏査の結果、上流域の調査は実施不可と判断した沢と、当面の上流域調査の対象としていない沢については、PCA（主成分分析）を用いた沢の地形と水環境による序列化とクラスター分析による沢の類型化の結果や流れ、地形条件等が同様の沢における上流域調査の結果を外挿することで、重要種の確定と指標種の選定を行うことを考えています。なお、調査結果に応じて、必要により追加調査を行うことも検討します。

○重要種の確定と指標種の選定に使用する調査結果

上流域調査の方針①の沢 (捕獲調査 + 環境DNA分析が可能な沢)			上流域調査の方針②の沢 (環境DNA分析のみが可能な沢)		
範囲	使用する調査結果		範囲	使用する調査結果	
上流	捕獲を中心とした 現地調査の結果	環境DNA分析に よる調査の結果※	上流	—	環境DNA分析に よる調査の結果※
下流	捕獲を中心とした 現地調査の結果	環境DNA分析に よる調査の結果※	下流	捕獲を中心とした 現地調査の結果	環境DNA分析に よる調査の結果※

上流域調査の方針③の沢 (上流域での調査が実施困難な沢)			上流域調査の対象としない沢		
範囲	使用する調査結果		範囲	使用する調査結果	
上流	沢の類型化の結果や流程、地形条件等が 同様の沢の上流域の調査結果を外挿		上流	沢の類型化の結果や流程、地形条件等が 同様の沢の上流域の調査結果を外挿	
下流	捕獲を中心とした 現地調査の結果	環境DNA分析に よる調査の結果※	下流	捕獲を中心とした 現地調査の結果	環境DNA分析に よる調査の結果※

図 2 重要種の確定と指標種の選定に使用する調査結果

※環境DNA分析による調査結果が重要種の確定と指標種の選定に使用可能かどうかについては、同じ沢の捕獲を中心とした現地調査の結果と比較し、捕獲を中心とした現地調査で確認された重要種や指標種が確認されているかどうかを確認した上で、判断します。

OPCA（主成分分析）を用いた沢の地形と水環境による序列化とクラスター分析による沢の類型化について

- 国土交通省のリニア中央新幹線静岡工区有識者会議（環境保全有識者会議）において、PCAを用いた地形と水環境による序列化の結果を図 3、表 5にお示しします。
- 序列化にあたっては、標高、最低水温、流路勾配、伏流区間の割合（渇水期）、最低流量の計5項目のデータ⁵を使用しました。
- 各調査地点のPCA1軸、PCA2軸の値を2次元平面にプロットし、クラスター分析（ウォード法）⁶により類型化しました。その結果、3つの類型に分類されました（デンドログラム⁷は図 4参照）。
- 各主成分の主成分負荷量⁸を見てみると、第1主成分は流路勾配、伏流区間の割合（渇水期）、最低水温が正の方向、最低流量が負の方向で高い値となっているため、図 3の平面図上で右側に位置する地点ほど、流路勾配が急で、最低水温が高く、渇水期の伏流区間の割合が高く、最低流量が少ない沢といえます。また、第2主成分は標高が正の方向で特に高い値となっているため、平面図上で上側に位置する地点ほど標高が高い沢といえます。
- 今回、図 4のデンドログラムに基づき、更に詳細に類型化した結果、図 5のとおり、5つに類型化しました。

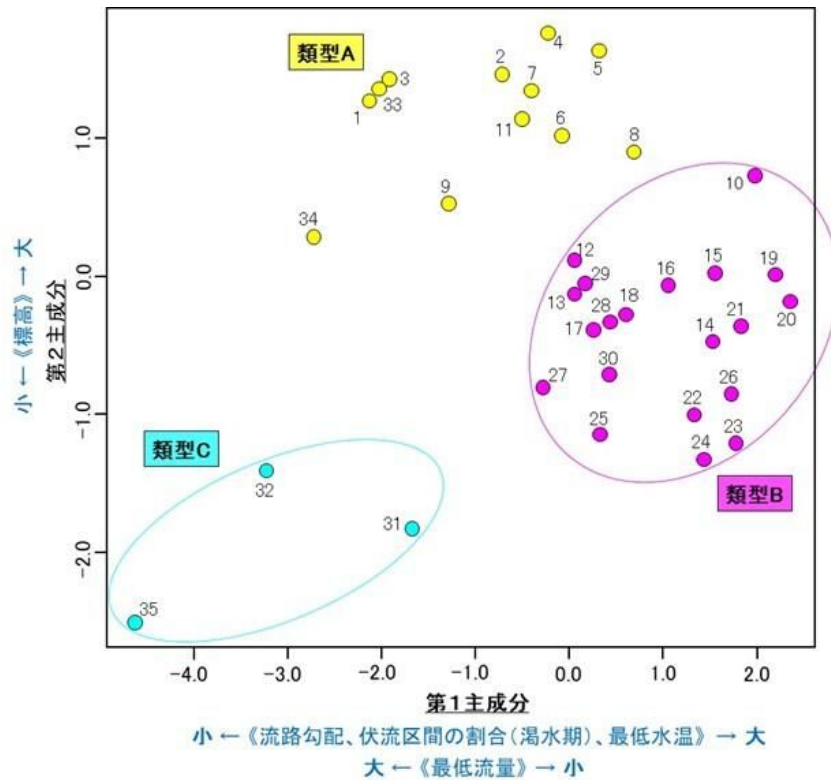
⁵ 国交省のリニア中央新幹線静岡工区有識者会議（環境保全有識者会議）では、地形・水環境に着目したPCAによる沢の類型化と、移動性が少なく確認された場所の特徴を示す指標になるとされている底生動物の定量調査結果を用いたNMDSによる沢の類型化を行いました。そして、両類型化の結果を活用し、地形・水環境、生物の生息・生育状況の観点からの沢の類型化を行いました。

NMDSでは、生物の群集組成の違いと相関性の高い変数を分析することができ、分析の結果、標高、最低水温、流路勾配、伏流区間の割合（渇水期）、最低流量が相関性が高かったため、PCAではこれら5項目を使用した分析を行いました。

⁶ クラスター分析（ウォード法）：クラスター分析は個々のデータから最も似ているものを順次集めてクラスター（集団）をつくっていく方法である。このクラスター分析の手法の一つであるウォード法は、クラスター内での分散が最も小さくなるようなクラスターから統合していく手法であり、一般的に分類の感度が高いとされている。

⁷ デンドログラム：クラスター分析におけるクラスタリングの過程を樹形図として表したものである。

⁸ 主成分負荷量：各主成分に対して各変数がどれだけ反映されているかを示す指標。-1～+1の値をとり、絶対値が大きいほど主成分に強く寄与している変数とされる。一般的に0.4程度以上の変数は主成分をよく反映しているとされる。



区分	地形・水環境の特徴
類型A	標高が高く、流路勾配や最低流量等は類型B、類型Cの中間的な特徴を示す。
類型B	流路勾配が急で、最低水温が高く、湧水期の伏流区間の割合が高く、最低流量が少ない。標高は類型A、類型Cの中間的な特徴を示す。
類型C	標高が低く、流路勾配が緩やかで、最低水温や湧水期の伏流区間の割合が低くて最低流量が多い特徴を示す。

図 3 PCA による分析結果

表 5 各主成分の固有値、寄与率、主成分負荷量

項目		第 1 主成分	第 2 主成分
固有値 ⁹		2.72	1.15
寄与率 ¹⁰ (%)		54.32%	22.96%
累積寄与率 (%)		54.32%	77.28%
主成分負荷量	標高	-0.12	0.87
	最低水温	0.42	-0.36
	流路勾配	0.55	0.07
	伏流区間の割合 (湧水期)	0.48	0.12
	最低流量	-0.52	-0.30

注：主成分負荷量が 0.40 以上の変数は橙色、-0.40 以下の変数は青色で塗りつぶしている。

⁹ 固有値：各主成分の分散（バラツキ具合）を示す指標であり、この値が大きいほど多くの情報を集約していることを表す。一般的に 1 以上の場合に主成分として採用される。

¹⁰ 寄与率：各主成分の固有値をその総和で割ったものであり、主成分が全情報のうちのどの程度の情報を説明できているかを示す指標。値が大きいほど相対的に説明力が高い主成分であることを表す。

Dendrogram

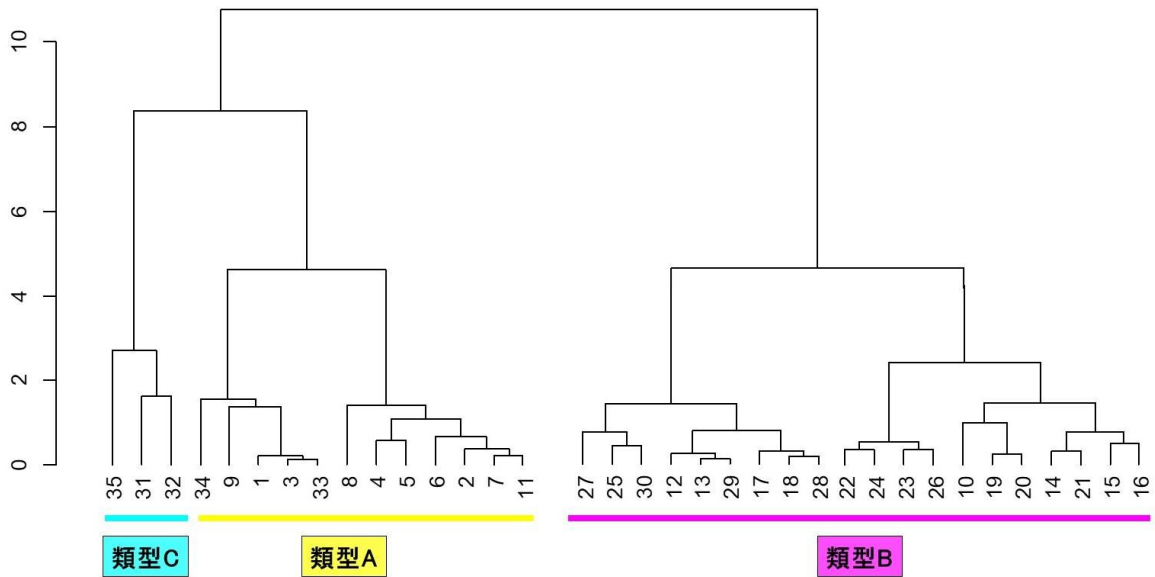
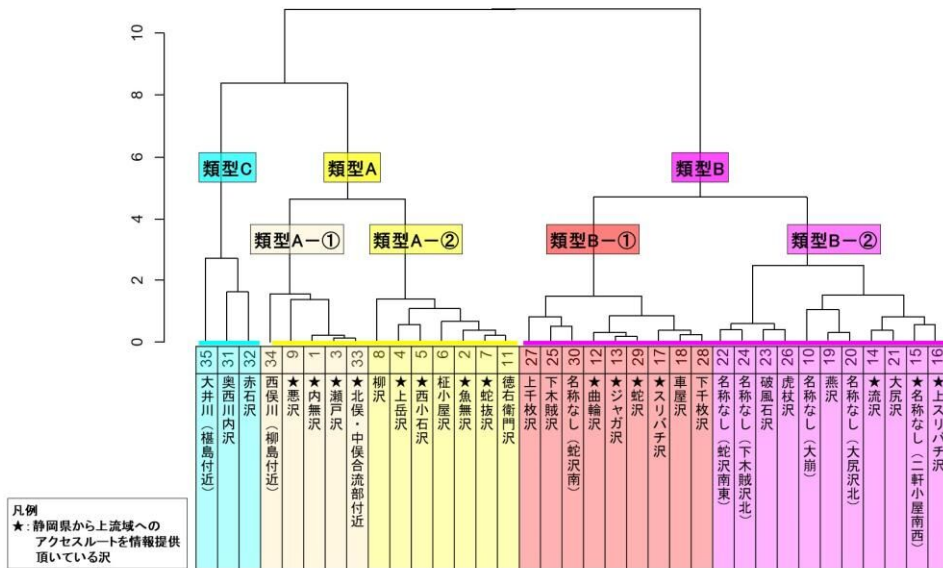


図 4 デンドログラム (PCA)

Dendrogram



○各類型の特徴

	類型C	類型A-①	類型A-②	類型B-①	類型B-②
標高	低	高		中	
流路勾配	緩	中 (Aの中ではより緩)	中 (Aの中ではより急)	急 (Bの中ではより緩)	急 (Bの中ではより急)
最低水温	低	中	中	高 (Bの中ではより低)	高 (Bの中ではより高)
伏流区間割合	低	中 (Aの中ではより低)	中 (Aの中ではより高)	高 (Bの中ではより低)	高 (Bの中ではより高)
最低流量	多	中 (Aの中ではより多)	中 (Aの中ではより少)	少 (Bの中ではより多)	少 (Bの中ではより少)

図 5 デンドログラム (PCA) 【詳細版】

4) 今後の進め方について

- ・航空写真や既存の調査結果を活用し、現況の沢における、生息場・環境条件と生物群集の対応関係を整理します。
- ・全体 33 の沢のうち、静岡県から上流域へのアクセスルートの情報提供があり、より上流域での調査を実施できる可能性のある沢において、令和 7 年度春季～夏季にかけて、上流域における安全を確保したうえでの調査方法の検討のための現地踏査を、静岡県同行の下、実施します。現地踏査に向けて、調査の内容や安全確保に係る専門知識を有する技術者の確保について、上流域以外で実施する必要のある生物の生息・生育状況調査の計画も考慮しながら、計画的に進めています。
- ・現地踏査の結果を踏まえた調査方法を検討し、具体的な調査計画を県専門部会委員にご確認いただくことを考えています。その上で、具体的な調査計画に基づき、令和 7 年度秋季に上流域調査を実施します。なお、具体的な調査地点については、先述の現地踏査の結果や、解析上の流量減少予測箇所、衛星写真から判読した現況の沢の生息場（滝、淵等）等を参考に決定します。
- ・これまで実施している沢の下流域での調査結果に加え、上流域調査の結果を踏まえ、各沢の重要種の確定と指標種の選定を行います。
- ・また、上流域調査を踏まえた重要種の確定と指標種の選定に関する全体的な進め方については、水収支解析の結果、流量減少が予測される沢や、流量減少が予測される沢での実際の影響確認の対照とするため、流量減少が予測される沢と同じ類型に属する流量減少が予測されない沢を優先的に進めていくことを考えています。
- ・なお、沢の上流域に生息・生育する生物へのトンネル掘削に伴う影響確認の方法についても、今後具体的に検討していきます。
- ・現時点ではトンネル掘削前後の衛星写真による流況変化の確認に加え、捕獲を中心とした現地調査や環境 DNA 分析による調査を活用した上流域の生物の生息・生育状況の確認を実施することを考えています。

(2) 沢の上流域の水生生物等の生息・生育状況の調査について

- ・当面の上流域調査の対象としている沢のうち、令和6年度に既存調査地点（下流側）と追加調査地点（上流側）で実施した調査の概要をご報告いたします。

表 6 令和6年度秋季に実施した調査内容

調査地点	既存調査地点（下流側）		追加調査地点（上流側）	
	捕獲を中心とした現地調査	環境DNA分析による調査	捕獲を中心とした現地調査	環境DNA分析による調査
蛇抜沢	工事前のモニタリングとして実施済	追加調査を実施済	—	追加調査を実施済
悪沢	工事前のモニタリングとして実施済	追加調査を実施済	—	追加調査を実施済
スリバチ沢	工事前のモニタリングとして実施済	追加調査を実施済	工事前のモニタリングとして実施済	追加調査を実施済

1) 蛇抜沢について

- ・蛇抜沢について、図 6 地点において、表 7 および表 8 に示す調査を実施しました。
- ・調査結果については、取りまとめ次第、ご報告いたします。

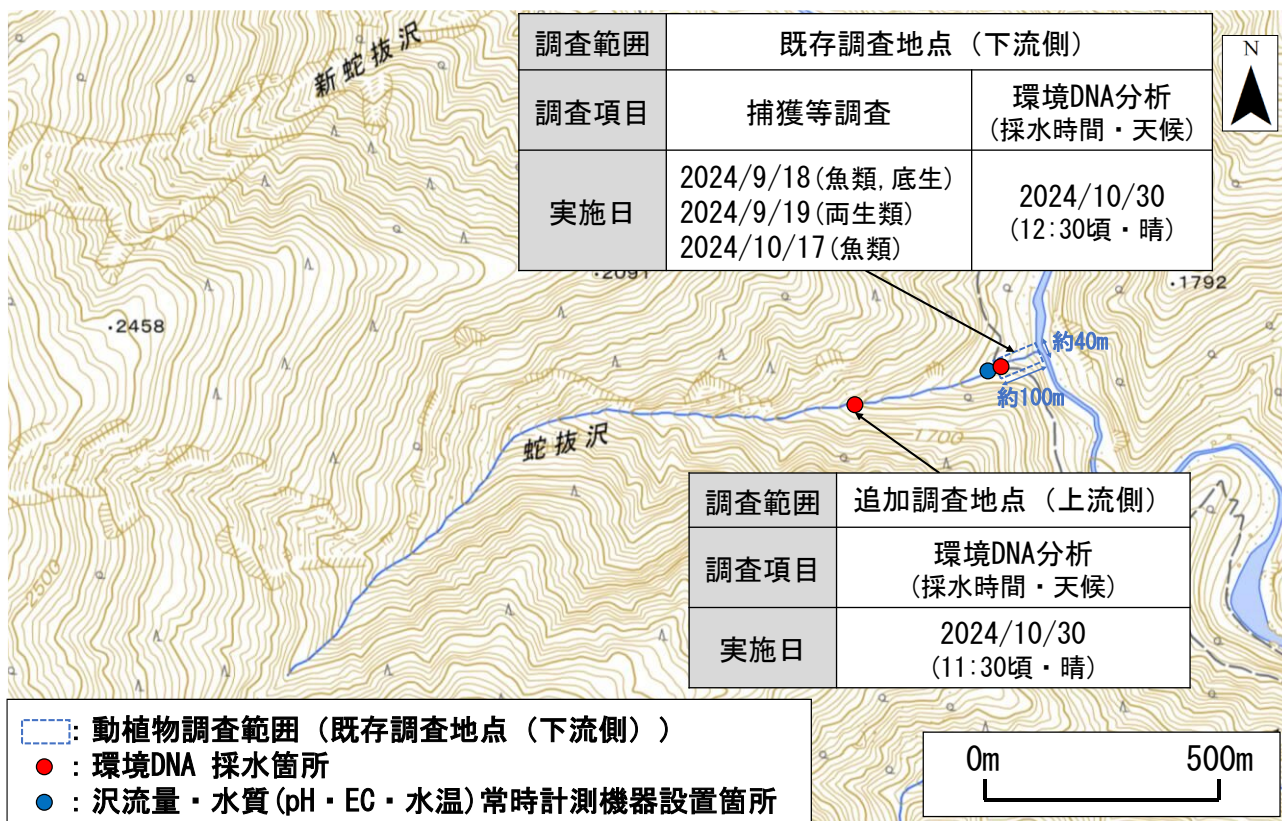


図 6 調査地点位置図



図 7 調査範囲の流況写真（写真撮影日：2024年10月30日）

表 7 既存調査地点（下流側）で実施した調査内容

調査項目		調査方法
捕獲等調査	魚類	標識再捕獲法による採集（電気ショッカー、釣り、投網等による）
	底生動物	・調査範囲内において、タモ網等を用いて、任意に底生動物を採集 ・調査範囲内に設定した地点において、コドラート付サーバーネット等を用いて、一定面積内に生息する底生動物を採集
	両生類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	哺乳類	・調査範囲内を任意に踏査し、哺乳類の生息の根拠となる足跡、糞、食痕等のフィールドサインを確認 ・ XXXXXXXXXX を対象に、調査範囲内で河川水を採水し、採水したサンプルを基に種特異的解析を分析会社にて実施
	鳥類	調査範囲内を任意に踏査し、双眼鏡等を用いて周辺に出現する鳥類を姿または鳴き声によって確認
	爬虫類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	昆虫類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察で確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	高等植物	・調査範囲内を任意に踏査し、確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録 ・調査範囲内で確認された指標種の生育箇所周辺にコドラートを設定して、植生の状況を確認
環境 DNA 分析	魚類	調査範囲内で河川水を採水し、採水したサンプルを基に網羅的解析を分析会社にて実施
	底生動物	
	両生類	
生息生育場環境調査	流況	目視観察等により、河川形態、川幅、水深、流速、瀬・淵の状況等を確認
	水温・水質	「水質汚濁に係る環境について」に定める測定方法に準拠
沢の水量、水温、水質		常時計測機器等にて状況を確認

表 8 追加調査地点（上流側）で実施した調査内容

調査項目		調査方法
環境 DNA 分析	魚類	・調査範囲内で河川水を採水し、採取したサンプルを基に網羅的解析を分析会社にて実施
	底生動物	
	両生類	

2) 悪沢について

- ・悪沢について、図 8 の地点において、表 9 および表 10 に示す調査を実施しました。
- ・調査結果については、取りまとめ次第、ご報告いたします。

希少種保護のため非公開

図 8 調査地点位置図



図 9 調査範囲の流況写真 (撮影日: 2024 年 10 月 31 日)

表 9 既存調査地点（下流側）で実施した秋季調査内容

調査項目		調査方法
捕獲等調査	魚類	標識再捕獲法による採集（電気ショッカー、釣り、投網等による）
	底生動物	・調査範囲内において、タモ網等を用いて、任意に底生動物を採集 ・調査範囲内に設定した地点において、コドラート付サーバーネット等を用いて、一定面積内に生息する底生動物を採集
	両生類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	哺乳類	・調査範囲内を任意に踏査し、哺乳類の生息の根拠となる足跡、糞、食痕等のフィールドサインを確認 ・ XXXXXXXXXX を対象に、調査範囲内で河川水を採水し、採水したサンプルを基に種特異的解析を分析会社にて実施
	鳥類	調査範囲内を任意に踏査し、双眼鏡等を用いて周辺に出現する鳥類を姿または鳴き声によって確認
	爬虫類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	昆虫類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察で確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	高等植物	・調査範囲内を任意に踏査し、確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録 ・調査範囲内で確認された指標種の生育箇所周辺にコドラートを設定して、植生の状況を確認
環境 DNA 分析	魚類	調査範囲内で河川水を採水し、採水したサンプルを基に網羅的解析を分析会社にて実施
	底生動物	
	両生類	
生息生育場環境調査	流況	目視観察等により、河川形態、川幅、水深、流速、瀬・淵の状況等を確認
	水温・水質	「水質汚濁に係る環境について」に定める測定方法に準拠
沢の水量、水温、水質		常時計測機器等にて状況を確認

表 10 追加調査地点（上流側）で実施した調査内容

調査項目		調査方法
環境 DNA 分析	魚類	調査範囲内で河川水を採水し、採取したサンプルを基に網羅的解析を分析会社にて実施
	底生動物	
	両生類	
捕獲等調査	高等植物 (XXXXXXXXXX)	調査範囲内を踏査し、確認された XXXXXXXXXX の個体数、確認位置等を記録

※XXXXXXXXXXの生育状況調査は、確認適期を踏まえて夏季に1回実施しました。

3) スリバチ沢について

- ・スリバチ沢について、図 10 の地点において、表 11～表 12 に示す調査を実施しました。
- ・調査結果については、取りまとめ次第、ご報告いたします。

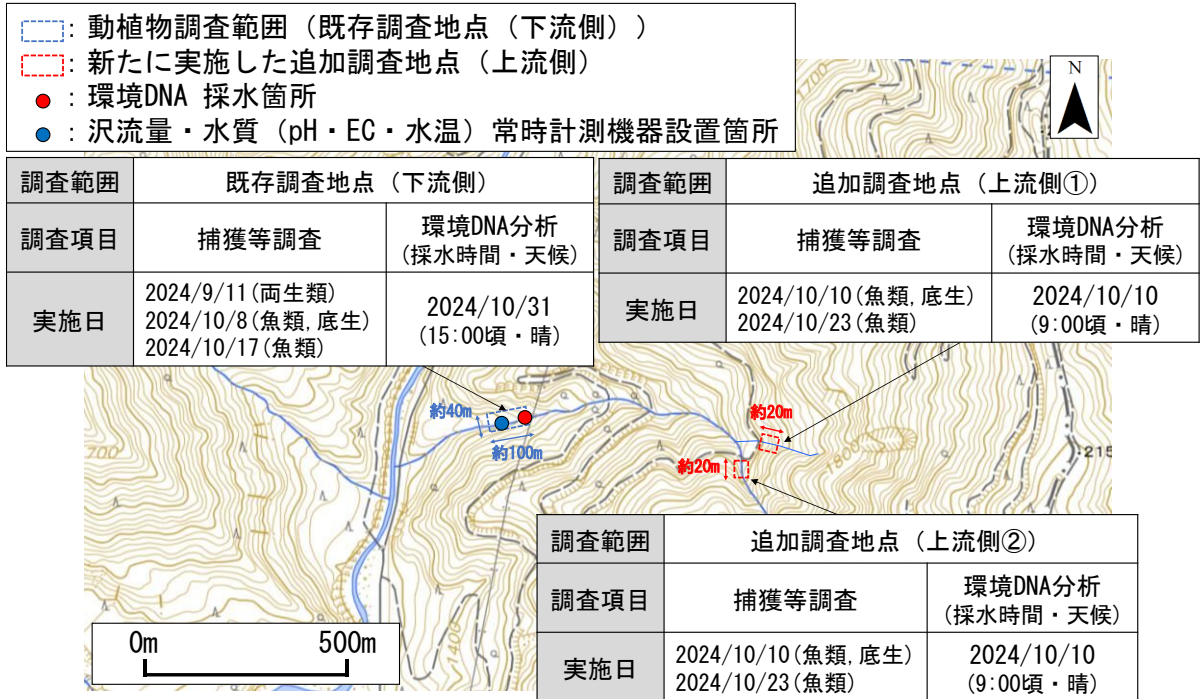


図 10 調査地点位置図

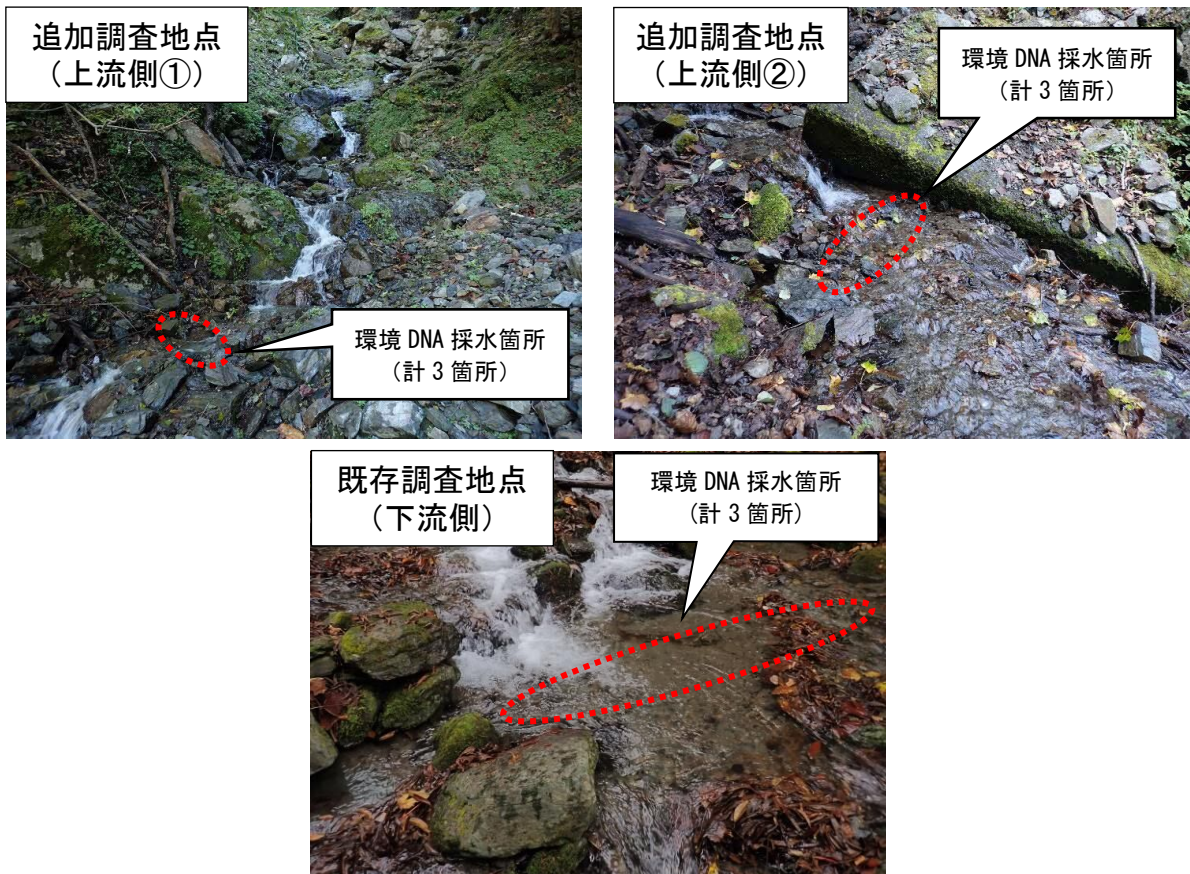


図 11 調査範囲の流況写真(撮影日:2024年10月10日(上流側)、10月30日(下流側))

表 1 1 既存調査地点（下流側）で実施した調査内容


調査項目		調査方法
捕獲等調査	魚類	標識再捕獲法による採集（電気ショッカー、釣り、投網等による）
	底生動物	・調査範囲内において、タモ網等を用いて、任意に底生動物を採集 ・調査範囲内に設定した地点において、コドラート付サーバーネット等を用いて、一定面積内に生息する底生動物を採集
	両生類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	哺乳類	・調査範囲内を任意に踏査し、哺乳類の生息の根拠となる足跡、糞、食痕等のフィールドサインを確認 ・ XXXXXXXXXX を対象に、調査範囲内で河川水を採水し、採水したサンプルを基に種特異的解析を分析会社にて実施
	鳥類	調査範囲内を任意に踏査し、双眼鏡等を用いて周辺に出現する鳥類を姿または鳴き声によって確認
	爬虫類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察及び捕獲、鳴き声等により確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	昆虫類	調査範囲内を任意に踏査し、目視観察で確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録
	高等植物	・調査範囲内を任意に踏査し、確認された種の種名、個体数、確認位置等を記録 ・調査範囲内で確認された指標種の生育箇所周辺にコドラートを設定して、植生の状況を確認
環境 DNA 分析	魚類	調査範囲内で河川水を採水し、採水したサンプルを基に網羅的解析を分析会社にて実施
	底生動物	
	両生類	
	哺乳類	
	鳥類	
	昆虫類	
生息生育場環境調査	流況	目視観察等により、河川形態、川幅、水深、流速、瀬・淵の状況等を確認
	水温・水質	「水質汚濁に係る環境について」に定める測定方法に準拠
沢の水量、水温、水質		常時計測機器等にて状況を確認

表 1 2 追加調査地点（上流側）で実施した調査内容

調査項目		調査方法
捕獲等調査	魚類	調査範囲内において、タモ網等を用いて任意に魚類を捕獲。捕獲した個体の体長、体重、発達した卵巣及び精巣の有無を確認
	底生動物	・調査範囲内において、タモ網等を用いて任意に底生動物を採集 ・調査範囲内に設定した地点において、コドラート付サーバーネット等を用いて、一定面積内に生息する底生動物を採集
環境 DNA 分析	魚類	調査範囲内で河川水を採水し、採取したサンプルを基に網羅的解析を分析会社にて実施
	底生動物	
	両生類	
	哺乳類	
	鳥類	
	昆虫類	

卷末資料

- ・環境DNA分析技術を用いた調査手法の手引き（淡水魚類・両生類）
第1版（2024年5月、環境省自然環境局生物多様性センター）より抜粋



環境 DNA 分析技術を用いた 調査手法の手引き (淡水魚類・両生類)

はじめて環境 DNA 分析を利用するみなさまへ

第 1 版

環境省自然環境局
生物多様性センター

4-2 環境 DNA サンプルの採水手順

現地においては、以下の手順により採水・周辺環境の記録を行います。なお、現地調査の詳細については、「環境 DNA 調査・実験マニュアル ver. 2. 2」(2020年4月3日発行)の「3. 採水および濾過」(p. 12~32)を参考にしてください⁵⁾。

4-2-1 採水地点での確認事項

- ・ 予定した採水地点において、工事等による特異的な濁り、釣り人(特に撒き餌)、特定の種が集団で産卵している場合、対象種の死がいがある場合等、環境 DNA 分析に影響が生じる可能性がある事象が確認された場合には、場所を変更する。
- ・ 採水地点に立ち入る前に周辺の外観写真を撮っておく。採水地点の植生・護岸や水路の状況が把握できるようアングルを変えて複数枚撮影する。

4-2-2 採水準備

- ・ 護岸上や橋の上など、安全に採水可能な陸上から採水する。
- ・ 作業時には使い捨てゴム手袋をはめる。

4-2-3 採水および塩化ベンザルコニウム液の添加

採水地点において、容器に採水を行い、塩化ベンザルコニウム液(劣化防止剤)を添加することで、DNAの劣化を防止することができます。ただし、塩化ベンザルコニウム液をサンプルに添加する処理方法は特許が取得されているので、この処理方法を利用する場合には配慮が必要となります。必要に応じて、事前に分析業者等に使用可能かを確認しましょう。

また、塩化ベンザルコニウムを添加しないより簡便な方法としては、採水サンプルをクーラーボックスに収容し、十分な量の保冷材や袋入り氷等でよく冷やしながら輸送する方法もあります。

※本手引きでは、採水方法として、「容器による直接採水」、「バケツを用いた採水」、「採水器を用いた直接採水」の3つの方法について紹介します。各採水方法は次ページ以降に、各採水方法の特徴と適した調査は、表 4-1 に記載しています。

4-2-4 フィールドデータの記録

- ・ コンタミネーションを回避するため、周辺環境の記録はサンプル採水後に行う。
- ・ 水深、水温等を観測し、表 4-2 に示すフィールドデータを記録する。

4-2-5 保管・輸送

- ・ 採水したポリ瓶はクーラーボックスに入れ、保冷剤等で保冷して実験室へ輸送する。
- ・ 宅配便を使用する場合はクール便(4℃)とする。
- ・ 宅配便が実験室に到着するまで2日以上を要する場合は、現場でサンプルを濾過する。(濾過方法については分析担当者と協議して決定する。)

a. 直接採水の手順

- ①ライフジャケットを着用した上で水際にアクセスし、水面の浮遊物等を避けるよう、滅菌ポリ瓶に 1L より少し多めの水を直接採取する。
※採水時には、底泥の巻上げによる濁りが生じないように留意する。
※滅菌ポリ瓶の共洗いは不要。



- ②ポリ瓶に 1.2mL の 10%塩化ベンザルコニウム液を添加し、密栓して、よく混和する。
※数時間以内に分析施設へ輸送して濾過処理が可能な場合は、塩化ベンザルコニウムを添加せずに、保冷材等で十分に冷やすだけの簡易な方法も選べます。



- ③調査日時、地点等を記入する。



- ④瓶の周囲をペーパータオルで拭き取り、地点ごとにファスナー付きのポリ袋へ入れ、保冷して運搬する。



b. バケツを用いた採水の手順

①バケツの内部とバケツにくくりつけたロープ先端部を泡状の塩素系漂白剤で除染する。漂白剤はペーパータオルできれいに拭き取る。



②現地の水でバケツ内の共洗いを 2~3 回以上（塩素臭がしない程度）行う。
※共洗い後の水は陸地や下流側等、調査地点に影響がない場所に捨てる。



③バケツを投入し、ロープをたぐり寄せて分析用の水を採水する。
※バケツ投入時には、底泥の巻上げによる濁りが生じないように留意する。



④バケツ内の水を滅菌ポリ瓶に 1L より少し多めに移す。
※滅菌ポリ瓶の共洗いは不要。
※使い捨てプラスチックカップ等を使って移し替えてもよい。



⑤ポリ瓶に 1.2mL の 10%塩化ベンザルコニウム液を添加し、密栓して、よく混和する。
ポリ瓶に、調査日時、地点等を記入する。



⑥瓶の周囲をペーパータオルで拭き取り、地点ごとにファスナー付きのポリ袋へ入れ、保冷して運搬する。



c. 採水器を用いた直接採水の手順

①採水器の金属部分を泡状の塩素系漂白剤で除染する。漂白剤はペーパータオルできれいに拭き取る。



②採水器に紐を結ぶ(紐は地点ごとに取り替える)。採水器に滅菌ポリ瓶を取り付ける。蝶ナットの紛失に注意。



③開栓して採水器を投入する。水面の浮遊物等を避けるよう、水面下に降ろし、1Lより少し多めに採水する。



④ポリ瓶を採水器から外して予め1.2mLに分注した10%塩化ベンザルコニウム液を添加し、密栓して、よく混和する。



⑤調査日時、地点等を記入する。



⑥瓶の周囲をペーパータオルで拭き取り、地点ごとにファスナー付きのポリ袋へ入れ、保冷して運搬する。

