Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-06

藻場を対象とした環境DNAの分布傾向と採水範囲の検討方法について

赤塚，真依子
飯村，浩太郎
高山，百合子
源，利文

(Citation)
土木学会論文集,79(17):23-17158

(Issue Date)
2023

(Resource Type)
journal article

(Version)
Version of Record

(Rights)
© 2023 土木学会

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100489965

土木学会論文集, Vol.79, No.17, 23-17158, 2023.

藻場を対象とした環境DNAの分布傾向と採水範囲の検討方法について

赤塚　真依子[1]・飯村　浩太郎[2]・高山　百合子[2]・源　利文[3]

[1]正会員　大成建設株式会社　技術センター（〒245-0051 神奈川県横浜市戸塚区名瀬町344-1）
E-mail:aktmik00@pub.taisei.co.jp（Corresponding Author）
[2]正会員　大成建設株式会社　技術センター（〒245-0051 神奈川県横浜市戸塚区名瀬町344-1）
[3]神戸大学大学院　人間発達環境学研究科（〒657-8501 神戸市灘区鶴甲3丁目11）

環境DNAを活用した水生生物モニタリングは経時的な生物情報の収集手段として期待されている．他方，海域では流れの変化が大きく，環境DNA量は採水地点や時刻により変わるため，流れの影響を把握してサンプリングすることが重要である．本研究では固着生物であるアマモを対象に，藻場における環境DNAの時空間分布特性の把握を試みた．海域調査では環境DNAの岸沖方向の分布と藻場内の時間変化を捉えることができ，これにより藻場の環境DNAは藻場分布に依存して藻場より数100m広い範囲に分布が形成され，流れによりその分布形状が変化することが示唆された．また環境DNAを物質濃度に模擬した移流拡散計算により時空間分布を定性的に再現し，流れの条件を変えたケーススタディによって最適な採水範囲を選定する方法について提案した．

Key Words : *environmental DNA, seagrass, biological survey, advection diffusion, quantitative PCR*

1.　はじめに

環境DNA分析は，河川や海域，土壌などの環境中における生物組織片（排出物，植物片等）由来のDNA（環境DNA）を分析し生物情報を得る手法であり，河川や湿地の水域を対象とした魚類や両生類，哺乳類などについて適用事例が増えている[1)]．

海域における環境DNA活用に向けた取り組みやその成果の公開も徐々に広まってきており，例えば，港湾空港技術研究所では，Open Data Platformの運用の中で沿岸域生物多様性データベースが公開[2)]が始まり，また，大規模環境DNA観測網として，産学官の各機関による「ANEMONE」[3)]で各地域における分析結果の公開と定期観測が始まっている．このように，環境DNAデータの蓄積や公開が始まりつつあるが，著者らは，これまでに，海域では流れの変化が大きいため，環境DNA含有物質は，採水地点や調査日によって変わることが報告してきた[4),5)]．既報[5)]では，伊勢湾を対象に複数地点の採水・分析と数値計算による分布の説明を試み，藻場から約100m離れた位置で環境DNAが検出されることや流れの影響を受けて岸側や局所的に高くなる地点があるなど，空間分布に関する流れの影響についての知見を得た．しかしながら，満潮および干潮のタイミングによる採水であったため環境DNAの時間変化を説明することに課題が残った．本論文では，環境DNAの空間分布に加え，短い時間間隔での採水・分析を実施することにより環境DNAの時空間分布を捉え，新たな知見を得た．

本研究では，海域において生物量が多く，固着生物である藻場を対象とし，環境DNAの分布や採水範囲の検討を実施した．アマモの環境DNA分析は，採水地点における数日以内のアマモの環境DNA情報が得られることから，目視観察等の従来の藻場モニタリングに対し，時空間的な情報を補完することへの活用が期待される．そこで，アマモ場の環境DNA分布特性を把握することを目的に，アマモ場の環境DNAを岸沖方向の複数地点で取得と1時間毎の経時変化を観察し，数値計算により時空間分布についての説明を試みた．また数値計算を用いて環境DNAを活用したモニタリングに適した採水範囲の選定方法について検討した．

2.　現地調査および分析方法

(1)　藻場調査と採水地点の設定

三重県松阪市松名瀬海岸沖のアマモ場（以下は藻場と称す）を調査海域とした．当該海域では，三重県藻場・

干潟分布調査（平成 22 年度）[6]により，生育範囲の平面分布と被度が公開されおり大規模なアマモ群落が確認されている．本研究では，この藻場のうち櫛田川河口から笹笛川河口までの範囲を対象とした．なお，藻場の生育範囲をソナー探査（GPS 魚群探知機，LOWRANCE 製）と潜水目視により 2021 年 8 月と 2022 年 1 月に調査し，平成 22 年度の藻場分布に対して大きな変化がないことを確認している[5]．

本研究では，2022 年 12 月に対象範囲のアマモ生育状況をソナー探査により確認し，藻場の中央に岸沖方向の調査地点を設けて潜水目視調査を実施した．調査地点は，岸沖方向約 1.4 km に約 100 m 間隔で 15 地点を設定した．調査では，コドラート法により 50×50 cm^2 枠内の被度，草丈のおよその最大値と最小値を計測した．採水地点は，調査地点のうち，岸側から藻場内 2 地点（st.0, st.1），アマモが生育する沖側境界部 1 地点（st.2），藻場外 2 地点（st.3, st.4）の 5 地点を設定した．対象とした藻場の位置図と採水地点を**図-1** に，調査地点における水深，アマモの計測結果と採水地点の対応を**表-1** に示す．なお，藻場の沖側境界の位置について 2022 年 1 月の調査結果[5]と比べたところ，本調査結果（2022 年 12 月）の方が 200 m 程岸側であった．

(2) 流況計測

環境 DNA 分析では，採水試料をろ過し，ろ紙上の残渣物を分析することから，アマモの環境 DNA は極微細な草体片であり，この粒状物質が藻場から放出されて流れにより時空間的に分布していることが推察される．採水地点における流況確認と後述する数値計算の検証のため，st.1～st.3 において海底面上 3 m 地点の流速を電磁流向流速計（INFINITY-EM，JFE アドバンテック製）により計測した．

(3) 環境ＤＮＡサンプリング

環境 DNA サンプリングのための採水は，環境 DNA の空間分布と時間変化を調べるために，空間分布については st.0~st.4 までの 5 地点において 1 時間以内に採水し，時間変化については藻場内である st.1 と藻場境界である st.2 において，12 月 1 日と 12 月 3 日にそれぞれ 1 時間間隔で 4 回の連続採水をした． 1 回の採水（st.1 と st.2 の採水）は 10 分以内に実施した．**表-2** に各地点における採水日時について，採水を行った順序で上から示す．**表-2** には，採水の目的（空間分布調査または時間変化調査）および環境 DNA の分析結果を併記している．

採水は，船上からポンプにより水面下 1 m の位置で，地点ごとに 1 分間の通水をした後，1 地点につき約 20 L を汲み上げた．採水試料は，直射日光を避けて速やかに運搬し，採水日にろ過をして冷凍保管した．ろ過では，850 μm のふるいを通水させて粗大な草体片や浮遊物を取り除いた後，ガラス繊維ろ紙（0.7 μm，Φ90 mm）により 1 枚のろ紙あたり 5 L をろ過した．

(4) 環境DNA分析

環境 DNA 学会の標準法[7]に準拠し，アマモを対象とした定量 PCR 分析を実施した[4]．標準法からの変更点としては，DNA 量が低濃度である試料に対し環境 DNA の回

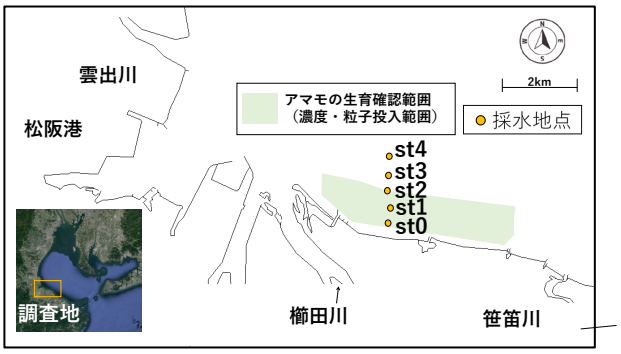


図-1 アマモの生育範囲と被度および採水地点

表-1 アマモの現地調査結果（2022 年 12 月）

St.1からの距離（m）	地点名	水深（m）	アマモ被度（%）	草丈（cm）
（沖）+1000	St.4	11.0	0	-
+900		10.3	0	-
+800	St.3	9.7	0	-
+700		8.5	0	-
+600		5.8	0	-
+500		4.4	5%以下	10-18
+400		3.9	5%以下	15-30
+300	St.2	3.7	20	30-50
+200		3.6	30	40-50
+100		3.2	40	40-60
0	St.1	3.2	40	40-60
-100		2.6	50	40-60
-200		2.4	60	40-60
-300		1.9	80	50-60
（岸）-400	St.0	1.3	90	60-70

表-2 採水日時と環境 DNA 分析値

地点名	採水日時		調査目的		環境DNA量（copies/L）
	月日	時刻	空間	時間	
st.4	2022年12月1日	8:06	●		12
st.3		8:16	●		8
st.2		8:45	●	●	288
st.1		9:01	●	●	292
st.0		9:15	●		5405
st.1		9:32		●	465
st.2		9:47		●	194
st.2		10:34		●	312
st.1		10:42		●	248
st.2		11:33		●	356
st.1		11:42		●	861
st.2	2022年12月3日	7:38		●	170
st.1		7:47		●	205
st.2		8:34		●	177
st.1		8:43		●	370
st.2		9:33		●	285
st.1		9:40		●	698
st.2		10:31		●	283
st.1		10:37		●	539

収・分析の有効性を確認した手法として，ろ紙の大きさ（φ90 mm），ろ過量（5L），溶出液量（従来法の 3 倍量）とし，100 μL の DNA 溶解液を回収した．全試料で分析阻害の影響が確認されたため，磁性ビーズ Agencourt AM Pure XP (BECKMAN COULTER 製)による精製を行い阻害の影響を除去後，qPCR 分析を実施した．

3. 採水地点の流況と環境DNAの分析結果

(1) 採水地点の流況

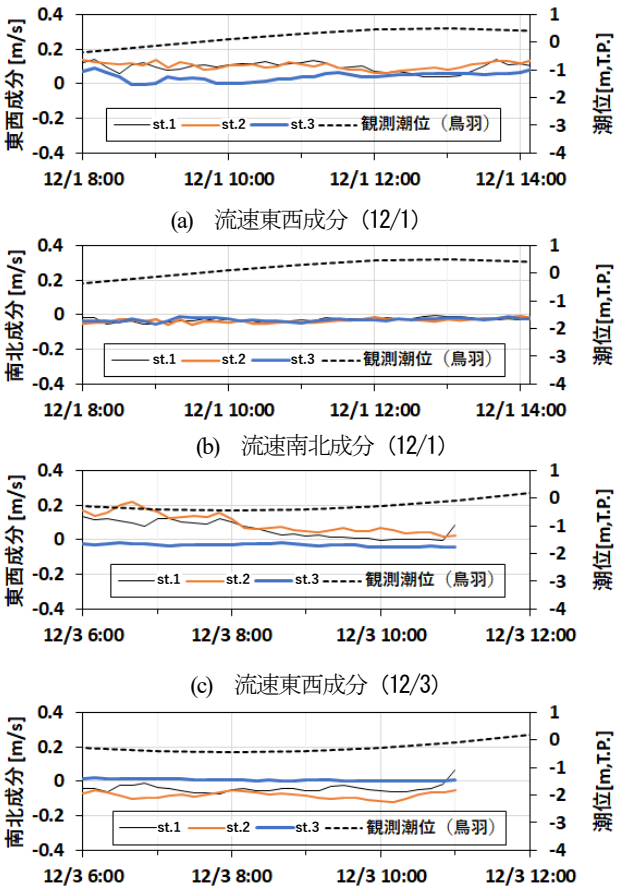
図-2 に採水地点において計測した流速および観測潮位（鳥羽，気象庁）を示す．流速の東西成分は東向きが正，南北成分は北向きが正である．採水日時は，**表-2** に示したように 12/1 は 8:06～11:33，12/3 は 7:47～10:37 である．

図-2 より，東西成分，南北成分ともに，st.1 と st.2 は概ね同程度の大きさと変動であったが，st.3 はやや異なり，流速が若干小さかった．流向に着目すると，東西成分は常に正，南北成分は負となり，採水日時における st.1～st.3 の流れは東～東南東であったと考えられる．

(2) 環境DNA分析結果

環境DNAの分析結果を**表-2**，**図-3**，**図-4**に示す．**図-3** は環境DNAの空間分布を調べた結果であり，藻場の被度を併記した．環境DNAは，5 地点すべてにおいて検出され岸側から沖に向かって低くなる傾向であった．環境DNAの各値は，岸側から，藻場直上のst.0で約6,000 copies/L，藻場中央のst.1，藻場境界のst.2で約300 copies/L，沖側の藻場外（st.3，st.4）で約10 copies/Lであった．岸寄りの藻場直上，藻場中央から藻場沖側境界，藻場外の順序で環境DNAが1オーダーずつ下がっており，明確な分布傾向が得られたと言える．藻場の分布は，**表-1**より，岸側で被度および草丈が最も大きく，st.2とst.3の中間あたりに向かって小さくなることから，環境DNAの空間分布は，藻場の生物量分布に依存した空間分布が，移流拡散によって藻場より広い範囲に拡がっていることが推測される．直下にアマモが生育していないst.3とst.4は藻場から300 m～500 m離れた位置であるが，環境DNAが検出されている．

図-4 は，st.1 と st.2 について環境 DNA の時間変化を調べた結果であり，グラフの下には採水開始時刻を記載した．st.1 と st.2 について計 8 回の採水により得られた環境 DNA の最小値は 170 copies/L，最大値は 698 copies/L であり，オーダーが変わる程の変動は得られなかったが，**図-4** より多少の増減が確認される．また，藻場境界の st.2 に対して藻場内の st.1 の方が概ね高い傾向となった．st.1 と st.2 の変動量が大きくない理由としては，**図-2** に示したように採水日時における st.1 と st.2 の流れは常に東側



(a) 流速東西成分（12/1）

(b) 流速南北成分（12/1）

(c) 流速東西成分（12/3）

(d) 流速南北成分（12/3）

図-2 採水地点の流速と水位

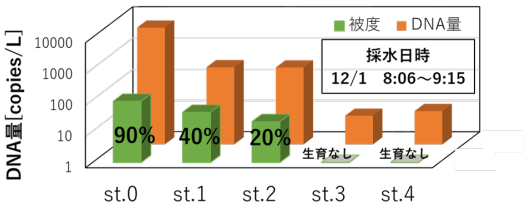
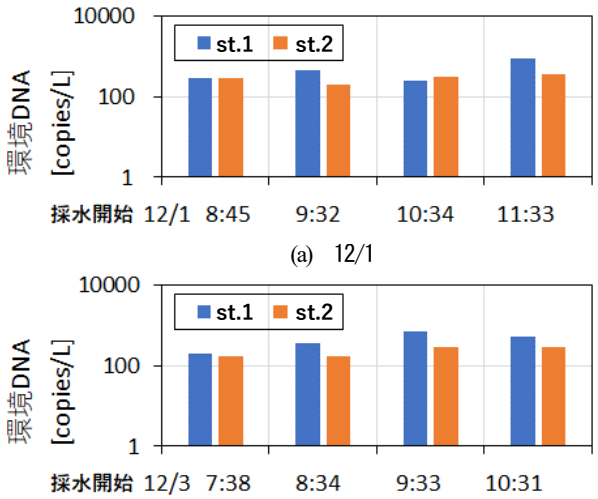


図-3 環境 DNA の空間分布（分析結果）



(a) 12/1

(b) 12/3

図-4 環境 DNA の時間変化（分析結果）

に向かっていること，st.1 と st.2 の東西側で藻場分布の差異が小さいことから，st.1 と st.2 の位置への環境 DNA 含有物質の流入と流出がそれぞれ同程度であったことが想定される．st.1 と st.2 の時間変化は，環境 DNA 含有物質の移流拡散によって生じていると考えられるが，st.1 と st.2 の大小関係が維持されていることから，藻場からの環境 DNA 含有物質の拡散による空間分布が形成されており，流れの影響を受けて分布形状が変化することにより時間変化が生じている可能性が示唆された．

これらのことから，藻場海域の表層1m付近における環境DNAは，藻場の範囲と生育量に依存して空間分布が形成されており，流れは主にその分布形状の変化に影響を与え，これにより同一地点における環境DNAの時間変化が生じていると考えられる．

4. 数値計算方法

3 章より，アマモの環境 DNA の時空間分布は，生育範囲に依存した空間分布が流れによる移流拡散により形成されていることが示唆された．このことから，環境 DNA の時空間分布は物質の濃度として模擬できる現象と考えられる．そこで，伊勢湾全域を対象とした流動解析により対象藻場が位置する松名瀬海岸付近の流れ場を再現し，環境 DNA を仮想物質の濃度として与え，移流拡散計算を実施した．

(1) 流動計算

流動解析モデルは， 3 次元流動解析モデル（Delft3D-FLOW）[8]を用いた．濃度計算では，流動計算と同時に沈降を考慮しない保存物質の移流拡散方程式を解いている．鉛直方向はσ座標系とし，水平拡散項はσ平面に沿った方向で定義した．流動解析の計算領域と海底地形，および環境 DNA を想定した物質濃度の投入箇所を**図-5**に，主な計算条件を**表-3** に示す．計算格子は，外洋側を 243 m とし，伊勢湾内では格子を 3 分割して松名瀬海岸沖で 81 m とした．境界条件は，湾口部に実測潮位（鳥羽，気象庁）と水温・塩分を与えた．また，湾内の流況に影響を与える項目として，伊勢湾主要 8 河川の流量と風向・風速を時系列でに与えた．風向・風速は，気象モデル WRF により求めた対象の藻場付近 1 地点の風況を用い，全領域で一様とした．

(2) 粒子計算と濃度計算の比較

既往の研究では，環境DNAを流れに受動な粒子に見立て粒子追跡計算により環境DNAの挙動特性を検討した[4]．これまでの藻場の環境DNA分析において，局所的にDNAが多くなる地点が存在し，同一地点でも採水時刻によりDNAが大きく増減する場合があり，粒子追跡計算ではその変動が表現できる可能性が示されている[4]．

本節では，環境DNAの移流のみを対象とした既実施の粒子計算結果[4]と，移流と拡散を考慮した濃度計算を比較し，濃度法による計算手法の妥当性について検討する．なお，粒子計算と濃度計算は，計算格子の水平解像度に違いはあるが，対象領域と鉛直分割数，計算期間，環境DNAを模擬した粒子と濃度の投入箇所（**図-5**）は同様とし，アマモの環境DNAの分解日数の試験結果[9]より，粒子，濃度の投入期間は５日間とした．

粒子計算では，藻場範囲の鉛直最下層（5 層目）に，45 m格子に対し81 個の粒子を均等配置し10 分間隔で投入した．濃度計算では，粒子を配置した範囲に濃度を設定し，拡散係数は，1 m^2/sと10 m^2/sの2種類を検討した．**図-5**に示したst.2とst.3の中間地点における濃度および粒子数の計算結果を**図-6**に示す．粒子計算は粒子数の増加が間欠的に発生しているのに対し，濃度計算では濃度変化は緩やかであるが，概ね同様のタイミングで増加傾向にあることが確認できる．この増加は，移流により輸送されるDNAが，拡散により拡がるDNAよりも多いタイミングを示している．また拡散係数が小さい1 m^2/sでは，10 m^2/sに対して変動幅がやや大きくなり粒子計算の挙動に近づく．なお，藤森らの伊勢湾内の現地調査では，拡散係数は最大1 m^2/s程度であったことが報告されている[10]．濃度法を用いる際に，濃度拡散を支配する拡散係数に対する検討として，拡散係数を1 m^2/sとし，環境DNAの分析値と比較することにより拡散係数の妥当性を確認する．

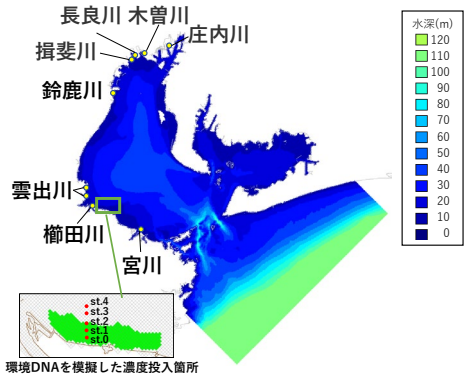


図-5 計算領域と海底地形

表-3 計算条件

項目	内容	
計算領域・座標系 格子条件	伊勢湾全域 平面：直交直線座標系　鉛直：σ座標系（均等に5分割）	
	格子数：67750	格子幅：243m，81m
計算期間とΔt	2022年11月20日～12月5日（10日間助走計算），Δt=15秒	
水深	内閣府南海トラフの巨大地震モデル検討会地形データ	
境界条件（外洋）	潮位	気象庁潮位観測値（鳥羽）
	風	気象モデルWRFにより算出
	水温	伊勢湾環境データベース（中山水道） （※欠測期間は一部補正値を使用）
	塩分	一定値（上層：33.0ppm，下層：33.6ppm） 参考：第四海上保安庁　伊勢湾の水温・塩分・流況情報
境界条件（河川）	主要8河川を考慮（水文・水質データベース）	
水平拡散係数	$1m^2/s$	
DNAの放出・劣化条件	放出：連続，劣化速度：5日（濃度拡散の計算期間を5日間に設定）	

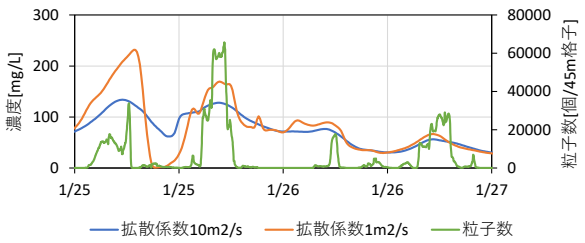


図-6　粒子計算と濃度計算の比較　(2022 年 1 月)

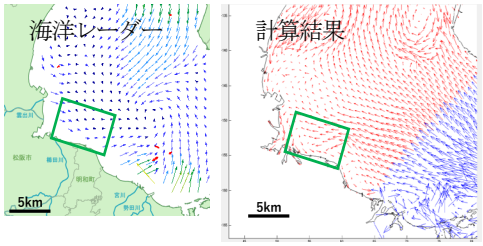


図-7　流速ベクトルの比較（12/1，9:00）

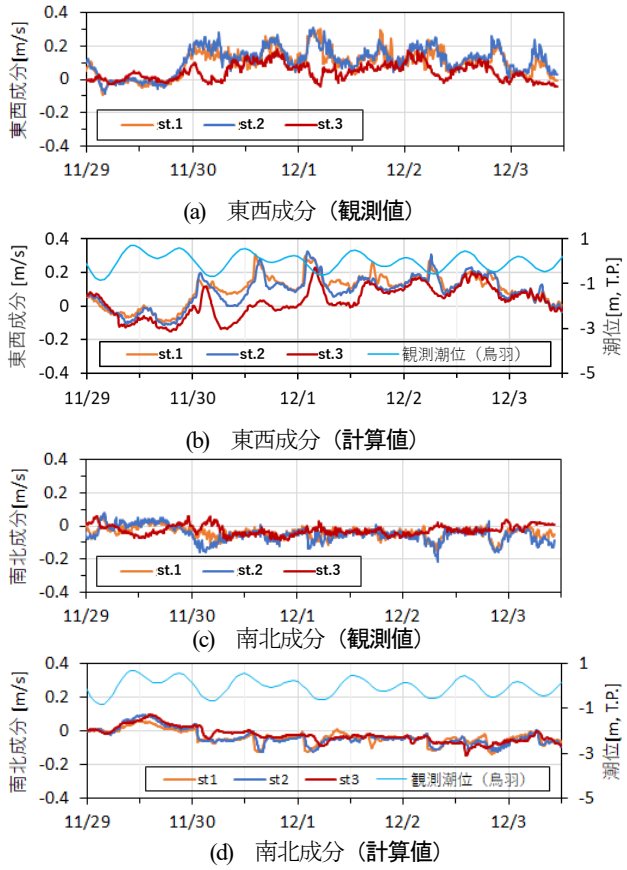


図-8　流速時系列変化の比較

5.　計算結果

(1)　流動計算

流動計算結果は伊勢湾海洋レーダ[11]による表層流速分布図と採水地点で計測した流速により検証した．12/1 の採水タイミングにおける，伊勢湾海洋レーダーによる表層の潮流と，計算結果の表層（1 層目）の流速ベクトルを比較した結果を図-7 に示す．伊勢湾海洋レーダーの観測結果より，上げ潮の採水タイミングにおいても東南西側へ向かう流れが発生していたことを確認した．観測結果と計算結果を比較すると，湾内全体の流況には差異があるものの，採水時刻における松名瀬海岸沖の流向は概ね一致することが確認された．

図-8 に，流速の観測値と計算値の，東西成分と南北成分をそれぞれ示す．図-8 (a)と(b)より，東西方向については，観測値と計算値ともに沖側の st.3 で流速が小さく，岸側の st.1 と st.2 における流速が大きい傾向であった．また，図-8 (c)と(d)より，南北方向すなわち岸沖方向では，流速の変動幅は観測値，計算値ともに，- 0.2 m/s から 0.1 m/s の間にあることが分かる．

以上より流動計算は，松名瀬海岸付近の流れ場の特徴を概ね再現していることを確認した．

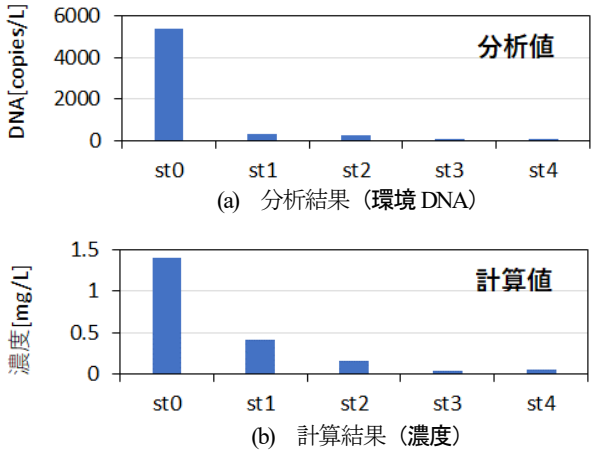


図-9　環境 DNA の空間分布（計算値と分析値）

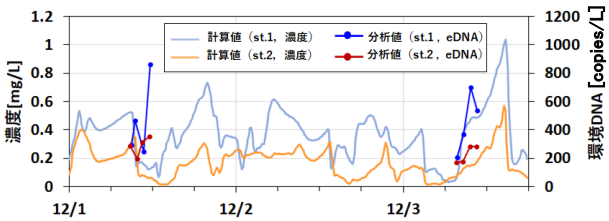


図-10　環境 DNA の時間変化（計算値と分析値）

(2)　環境DNA分析結果との比較

図-9に環境DNAの空間分布を，図-10に時間変化を示す．空間分布（図-9）では，岸に近いst.0において高い値を示し，沖に向かって低下する分析結果の傾向を，数値計算結果においても，再現できている．ただし定量的には，分析結果のほうがより早く低下していることから，流動計算の精度や拡散係数の設定，環境DNAの劣化速度の考慮などの課題があると考えられる．時間変化（図-10）では，環境DNAの分析結果は，12/1と12/3のいずれも時間とともに増加する傾向となり，またst.1に対して沖側のst.2で低い傾向となった．これに対して計算結果では，空間的（岸沖方向）な分布傾向と12/3の時

間的な増加が定性的に一致している．計算結果における濃度の周期的な増加は，主に上げ潮に起因していると考えられる．本手法により環境DNAの岸沖分布と流動により増減する傾向を定性的に示せる可能性が示された．ただし，12/1については環境DNA分析結果と時間変化が合致していない．この一因としては，計算における風の与え方が挙げられ（空間的に均一），検討が必要である．

以上より，本計算手法は，アマモ場の環境DNAの分布傾向について定性的な特徴を示していると言えるが，後述する採水範囲の設定のためには，さらに精度向上を図る必要がある．

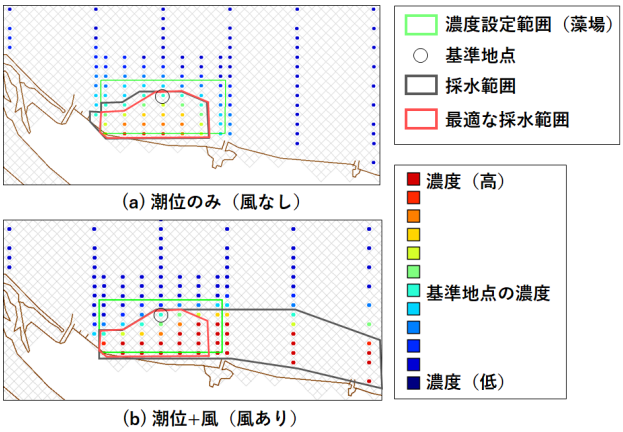


図-11　採水に適した範囲（計算結果）

6.　最適な採水範囲の設定方法の提案

(1)　最適な採水範囲の考え方

環境 DNA を活用した藻場モニタリングを考えた場合，長期の経時的な環境 DNA サンプリングによって藻場の維持や減少を推定することができれば，従来の目視観察の回数を補完する手段として活用できる可能性がある．この場合，同一地点における環境 DNA の時間変化を適切に捉えることが重要であり，そのためには採水に適した範囲を設定する必要がある．採水に適した範囲とは，藻場の増減が環境 DNA の増減として直接捉えられるエリアである．

最適な採水範囲について，5章の環境DNA分析結果と数値計算の比較から，以下のような仮定のもとで設定することを考える．まず，藻場では対象地点に生育する生物量の平面分布に依存した環境 DNA の空間分布が形成されている．そして，この分布は潮流，吹送流，密度流などの流れの影響を受けて形状が変化し，同一地点の環境 DNA が時間的に増減する．そのため，採水範囲は流れにより分布形状が変化しても，環境 DNA の増減幅が小さいことが望ましい．そこで，ある代表基準値点を設定し，基準点と同等以上の環境 DNA の採水が期待できるエリアを採水範囲に選定することを試みる．次項では5章までと同様に藻場の環境DNAを仮想の物質濃度として設定した移流拡散計算を行い，最適な採水範囲の設定についてケーススタディを実施した．

(2)　採水範囲設定のケーススタディ

環境 DNA の拡散について風条件（有無）のみを変えた 2 ケースを実施し，各計算格子点における 3 日間の平均濃度を算出した．**図-11** に，図に示した基準点（○印）の濃度に対する各地点の濃度の大小をカラーで示す．基準点と同等以上の濃度が得られる採水範囲（**図-11** の黒枠，一部赤枠と重なっている）は，風なし(a)と風あり(b)では沿岸方向の拡がりが大きくことなっている．両ケースで共通して基準点と同等以上を満たす範囲（**図-11** の赤枠）は，藻場の内側の岸側となっており，気象条件に依存せず安定して環境 DNA を採取できる範囲は赤枠内に限定されることがわかる．本節では風の有無による違いのみを検討したが，同様の方法で，対象海域ごとに海底地形や流れ等を考慮することにより最適な採水範囲を選定することが可能と考えられる．

7.　まとめ

本研究では，藻場における環境DNAの空間分布と時間変化の把握を目的とした採水・分析と，数値計算による最適な採水範囲の設定方法について検討した．

現地計測の結果から，藻場の表層1m付近における環境DNAの空間分布は，藻場の範囲と生育量に依存するが，藻場より数100m広い範囲に拡がっていることが確認された．また，海域の流れは主にその空間分布形状の変化に影響を与え，これにより同一地点における環境DNAの時間変化が生じていることが推測された．固着生物を対象として，環境DNAを活用したモニタリングを行う場合には，流れの影響を考慮して採水地点を設定することが重要であると考えられる．ただし，今回は採水の回数や地点において限定された条件下の調査であるため，調査を継続して情報を蓄積することが必要である．

数値計算では，環境DNAの分布を濃度拡散計算により再現できることを示したうえで，ケーススタディにより最適な採水範囲を設定する方法について提案した．

以上より，限定した条件ではあるものの，大規模な藻場における環境DNAの時空間的な分布特性を検討し，海域での環境DNAを活用した藻場のモニタリング計画に有用な知見を取得できた．今後も，海域における環境DNA活用の可能性を拡げるため，現地調査結果を蓄積して，環境DNAの時空間分布特性について詳細な検討を継続していく予定である．

REFERENCES

1) 源利文，山本哲史，笠井亮秀，近藤倫生：環境 DNA を用いた沿岸域における魚類モニタリング，沿岸海洋研究，Vol.53，No.2，pp.173-178，2016. [Minamoto, T., Yamamoto, S., Kasai, A. and Kondoh, M. : Coastal fish monitoring using environmental DNA, *Bulletin on Coastal Oceanography*, Vol. 53, No.2, 173-178,2016.]
2) 港湾空港技術研究所：沿岸域生物多様性データベース, https://pari.mpat.go.jp/biodiversity/,（2022-05-22）. [Port and Airport Research Instisute : Coastal biodiversity database]
3) ANEMONE, https://anemone.bio/anemone_ja/,（2022-05-22）.
4) 赤塚真依子，高山百合子，ムチェブエエドウィン，伊藤一教，源利文 :藻場モニタリングのための環境 DNA 分析プロトコル作成に向けた検討, 土木学会論文集 B2（海岸工学），Vol.77，No.2，pp. I_895-I_900, 2021．[Akatsuka, M., Takayama, Y., Muchebe, E., Ito, K. and Minamoto, T. : Study on an environmental DNA analysis protocol for seagrass bed monitoring, *Journal of JSCE*,Vol.77, No.2, pp. I _895- I _900, 2021.]
5) 赤塚真依子，ムチェブエエドウィン，高山百合子，織田幸伸，源利文：環境 DNA を活用した藻場モニタリングにおける流れの影響について, 土木学会論文集 B2（海岸工学），Vol.78，No.2，pp. I_865-I_870, 2022. [Akatsuka, M., Muchebe, E., Takayama, Y., Oda, Y. and Minamoto, T. : Influence of flow in seagrass bed monitoring utilizing enrironmental DNA analysis, *Journal of JSCE*,Vol.78, No.2, pp. I _865- I _870, 2022.]
6) 三重県，藻場・干潟分布調査（平成 22 年度），https://www.pref.mie.lg.jp/common/05/ci500004623.htm.
7) Minamoto, T., Miya, M., Sado, T., Seino, S., Doi, H., Kondoh, M., Nakamura, K., Takahara, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Iwasaki, W., Kasai, A., Masuda, R. and Uchii, K.: An illustrated manual for environmental DNA research: water sampling guidelines and experimental protocols, *Environmental DNA* , Vol.3, pp.8-13, 2021.
8) Deltares : Delft3D-FLOW User Manual, 2023.
9) 赤塚真依子，高山百合子，伊藤一教，渡辺謙太，桑江朝比呂，大澤亮介，森本哲平，源利文：海草場を対象とした環境 DNA の季節変化・日変化・形態変化に関する基礎研究, 土木学会論文集 B2（海岸工学），Vol.75，No.2，pp. I_1075-I_1080, 2019．[Akatsuka, M., Takayama, Y., Ito, K. Watanabe, K., Kuwae, T., Osawa, R., Morimoto, T. and Minamoto, T. : Study on seasonal, daily and morphological change of environmental DNA for seagrass bed, *Journal of JSCE*,Vol.75, No.2, pp. I_1075-I_1080, 2019．]
10) 藤森研一，稲富隆昌，金子俊六：伊勢湾伊勢湾水理模型実験 と現地調査(第 1 報)，第 22 回 海 岸 工 学 講 演 会 論 文 集，pp. 219-225，1975. [Fujimori, K., Inatomi, T. and Kaneko, S. : Hydraulic model experiments and field investigation of Ise bay (Report 1), *Proceedings of Coastal Engineering,* JSCE, Vol.22, pp.219-225, 1975.]
11) 伊 勢 湾 デ ー タ ベ ー ス : https://www.isewan-db.go.jp/others/kiyaku.asp, （ 2022-05-22 ） . [Ise Environmental Database]

(Received March 16, 2023)
(Accepted July 20, 2023)

A STUDY ON THE DISTRIBUTION CHARACTERISTICS OF ENVIRONMENTAL DNA ASSOCIATED WITH SEAGRSS BEDS AND THE SAMPLING AREA SELECTION PROCEDURE

Maiko AKATSUKA, Kotaro IIMURA, Yuriko TAKAYAMA
and Toshifumi MINAMOTO

In water areas, environmental DNA (eDNA) monitoring is expected to be a useful method to collect biological information at single/multiple locations and continuously over the long-term, because it only requires sampling a small amount of water. However, in marine areas, it has been reported that the amount of eDNA varies depending on the sampling area and the sampling timing during a day with the tidal current variation. Therefore, in eDNA sampling, it is important to understand the influence of tidal currents. In this study, sea water samplings were conducted in order to understand the characteristics of the spatial and temporal distribution of eDNA associated with eelgrass beds, which are adherent organisms. The distribution of eDNA along the cross-shore direction were observed and the temporal change in the amount of eDNA were confirmed. The results showed that the distribution range of eDNA was approximately 100m wider than that of the eelgrass beds and the distribution varied with the currents. Additionally, the simulation with advection-diffusion analysis were conducted, where the amount of eDNA was represented with concentration value of virtual substance to qualitatively reproduce the spatial and temporal distribution. The simulations were conducted with the different current conditions, and it is suggested that spatially/temporally-appropriate sampling points can be selected.