



# アマモ場のモニタリング手法における環境DNAの活用について

高山, 百合子  
赤塚, 真依子  
伊藤, 一教  
源, 利文

---

## (Citation)

土木学会論文集. B2, 海岸工学, 74(2):I\_1231-1236

## (Issue Date)

2018

## (Resource Type)

journal article

## (Version)

Version of Record

## (Rights)

© 2018 公益社団法人 土木学会

## (URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/90005806>



# アマモ場のモニタリング手法における 環境DNAの活用について

高山 百合子<sup>1</sup>・赤塚 真依子<sup>2</sup>・伊藤 一教<sup>3</sup>・源 利文<sup>4</sup>

<sup>1</sup>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:yuriko.takayama@sakura.taisei.co.jp

<sup>2</sup>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

<sup>3</sup>フェロー会員 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:kazunori.ito@sakura.taisei.co.jp

<sup>4</sup>神戸大学大学院准教授 人間発達環境学研究科 (〒675-8501 兵庫県神戸市灘区鶴甲3-11)

環境DNAを活用したアマモ場モニタリング手法に向けて「環境DNAが通過する地点の採水・分析により、環境DNA発生地点における海草の成長・減衰等の変化を捉えるモニタリングが可能になる」という仮説を立て、その成立性について粒子追跡計算のケーススタディーにより検討した。現地の環境DNA分析結果に見られた特異的なDNA量の考察を通して、採水タイミングが得られる環境DNA量に影響を及ぼすこと、さらには環境DNA発生量の空間分布が得られる環境DNA量に影響を及ぼすことを示した。そして、採水地点とアマモ場分布に特定の関係がある場合には、環境DNAを活用したアマモ場モニタリングが成立する可能性があることを示した。

**Key Words :** *environmental DNA(eDNA), Seagrass, Zosteraceae, particle calculation, water sampling*

## 1. はじめに

水生生物の調査手法として着目されている環境DNA分析は、採水サンプルのDNA分析により生物種の情報が得られることから<sup>1,2)</sup>、従来の潜水目視によるモニタリングに付随する労力を解消し、より詳細なモニタリングを実現できる可能性がある。

例えば「アマモなどの海草は、魚類のように移動する生物とは異なり環境DNAの発生場所が固定されているため、環境DNAの発生地点と通過地点に特定の相関があるならば、環境DNAの通過地点で採水・分析することにより、環境DNA発生地点における海草の成長・衰退等の変化を捉えるモニタリングが可能になる」という仮説を立てることができる。

本研究ではこの仮説の成立性検討を目的とし、アマモ場を対象とした環境DNAについて、粒子追跡計算を用いた経路予測の有用性と、環境DNAを用いたモニタリング手法の成立性や課題の抽出を議論した。

## 2. 実施内容

三重県英虞湾のアマモ場を対象として、海域11地点に

おける環境DNA分析とアマモの環境DNAを粒子に見立てた粒子追跡計算を実施し、環境DNA分析から得られたDNA量と粒子追跡計算で得られた結果との比較を行った。粒子追跡計算においては、環境DNAが発生する地点、発生量、発生時期（発生タイミング）などが設定条件となる。環境DNAを活用したモニタリング手法に関する研究は緒についたばかりであり、十分な知見の蓄積がない現状では、設定条件を仮定した計算をすることになるため、結果が定性的にならざるを得ないが、ここでは、設定条件を変化させたケーススタディーをすることにより研究目的の達成を試みた。

粒子追跡計算のケーススタディーとして初期の粒子密度や粒子配置位置を変えて、その変化による海域11地点を通過する粒子数の変化について考察した。

## 3. 環境DNA分析の方法

図-1(a)に示す三重県英虞湾において、湾奥から複数の入り江が合流する図-1(b)のエリアを対象に、アマモ場調査および採水を2018年1月15日に行い、採水サンプルの環境DNAを分析した。図-1(b)のエリアは、三重県<sup>3)</sup>や赤塚ら<sup>4)</sup>によりアマモとコアマモの生育が確認されてい

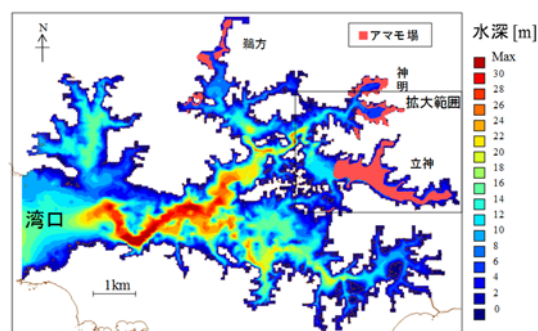
る場所である．採水地点は，図-1 (b)に示すように，アマモ場がある湾奥からアマモ場がない湾口に向かう約3kmのライン上11地点（A～K）を設定した．図-1 (b)には採水点における水深（DL）を示した．

環境DNAは潮汐による移流によって移動すると考えられ，潮汐の一周期を考えると干潮時が湾奥から湾口に向かって移流するタイミングであることから，11地点の採水は，干潮から約1時間以内に行った．採水方法は，バンドン式採水器を用いて表層下0.5 m～1.5 m（1m層）の海水を採取し，1Lずつポリ瓶に入れて実験室に冷蔵輸送した．A点は採水時の水深が1.2 mであったため表層下0.1 m～1.1 m層で採水した．また採水日には，アマモ場の分布範囲を概略把握するために，採水11地点の直下および三重県による藻場調査結果<sup>3)</sup>を参考に選定した数ヶ所の岸沖ラインについてアマモ場の目視観察を行った（赤塚ら<sup>4)</sup>）．図-1(a),(b)に目視観察と上記既往の調査結果を参考に推定した採水日のアマモ場分布を示す．確認したアマモは主に一年生であり，採水地点の直下では，潮間帯であるAと水深が大きいH～Jを除いた点に生育していた．アマモが水深10m程度のGまで生育している理由は英虞湾の透明度が比較的高いためと考えられた．なおコアマモは，A点直下約15m<sup>2</sup>に生育していたが，コアマモが生息する潮感帯を対象とした目視観察は実施しなかったため，対象エリア内のコアマモ分布は不明である．

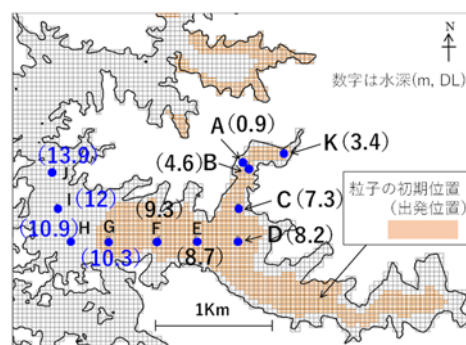
採水サンプルは，各地点につき1サンプルをろ過し，ろ紙上に残った物質から得たDNA抽出液を用いて，植物，アマモ，コアマモをそれぞれ対象として，植物（葉緑体）のDNAに含まれている*rbcL*領域と*matK*領域を用いて定量するリアルタイムPCR解析（Thermo Fisher Scientific製，QuantStudio6，以下qPCRと記す）を行った<sup>5)</sup>．qPCRは，微量のDNAから特定領域のDNAを増幅することにより特定の鋳型DNA量（以下DNA量，単位はcopies/L）を定量する技術である．本研究では，採水地点におけるDNA量の相対的関係を計算値との比較対象とした．なお本研究におけるqPCRの詳細は赤塚ら<sup>4)</sup>を参照されたい．

#### 4. 計算方法

アマモ場から発生し潮流によって海域に移流したDNAの分布を把握するために粒子追跡計算を行った．環境DNA分析は採水をろ過し，ろ紙上に残った物質を対象になされるため，環境DNAを水溶性ではなく極微細な物体と考え粒子追跡計算を採用した．図-1 (a)に示す範囲を計算領域として，まず潮汐を外力とした流動解析を行い<sup>6)</sup>，次に各計算格子の流速成分を2時間間隔で取出し時間的に線形補間した流速を用いて，アマモのDNAを粒子に見立て10秒間隔で粒子の追跡を行った．流速の取出し時間間隔は，2時間と10分について粒子の



(a) 海底地形と推定アマモ場



(b) 調査対象エリアと採水地点，推定アマモ場

図-1 対象海域（英虞湾）

表-1 主な計算条件

項目	内容		
計算領域	東西 10km×南北 8km		
座標系	平面：直交直線座標系      鉛直： $\sigma$ 座標系（均等に10分割）		
	格子数	18,997	格子幅 40m
計算期間と $\Delta t$	2018年1月1日～1月16日（10日間助走計算）、 $\Delta t=3$ 秒		
水深	海図（海上保安庁）より作成		
境界条件（外洋）	潮位	気象庁潮位予測値（尾鷲）	
	水温・塩分	気象庁（津，名古屋）	
粒子の初期位置	分布Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ（図-2(a)～(c)）いずれも同じ，分布Ⅳ（図-2(d)）		
粒子の投入数 （2時間毎に投入）	分布Ⅰ：4424個(4個/格子)，      分布Ⅳ：4120個(4個/格子)		
	分布Ⅱ：5854個(図-2(b) 青部は9個/格子，それ以外は4個/格子)		
	分布Ⅲ：5224個(図-2(c) 青部は9個/格子，それ以外は4個/格子)		

移動範囲が概ね一致していることを確認している．外力としては風の影響も考えられるが，既往研究より<sup>7)</sup>，無風一様流速と風により発生した流速について，採水日時での時間平均風速4m/s程度における，本研究で対象としている表層下0.5 m～1.5 m層を見ると，その差が1～2cm/sであるとの結果から吹送流の影響は小さいと考えてまず潮汐のみを用いた．主な計算条件を表-1に示す．海域におけるアマモの環境DNAは，アマモ場から時々刻々と放出される極微細な草体片と想定し，流れに完全受動な粒子として設定した．

計算の対象期間は，前述した環境DNA分析のための採水を行った2018年1月15日を含む5日間とした．5日間とした理由は，一般に，海域に放出された生物のDNAは紫外線などの影響を徐々に受けて数日程度で劣化し，良好な分析が行えなくなることから，分析値が得られる限界の日数として設定したためである．粒子の初期位置は，図-1 (b)に示したアマモ場分布範囲の底層（10層）

として、その範囲における粒子数の粗密について以下の4タイプを設定した。分布Ⅰは全範囲に均等（1106格子、4個/格子）、分布Ⅱは分布Ⅰのうち、今回の調査において相対的に被度が高いと推定されたエリアについて粒子を増加させ（286格子に9個/格子）、その他は4個/格子とした。分布Ⅲは、分布Ⅰの計算結果から、Fを通過した粒子の出発エリアにおける粒子数を増加させたケースで（160格子に9個/格子）、その他は4個/格子とした。これは、次の5章に示す環境DNAの分析結果（図-3）において、Fが特異的に高い値を示したことから、このことを考察するために設定したケースである。分布Ⅳは、分布Ⅰの範囲よりも浅い領域に分布させたケースとして、粒子数は全範囲に均等（1030格子、4個/格子）とした。以上4タイプの粒子初期分布を図-2に示す。粒子の投入は2時間ごとに計算格子にそれぞれ投入した。計算結果は、採水11地点（A～K）について、各地点を通過した粒子数および通過粒子の出発点を整理した。なお計算上の密度については、4個/格子および1個/格子について、各地点間の通過粒子数における増減傾向が一致していたことを確認しているが、アマモ場被度の差異を表すために必要な密度設定と共に検討を行う予定である。

## 5. 環境DNA分析および計算の結果

### (1) 環境DNAの分析結果

環境DNAのqPCR分析結果を示す（図-3）。図-3は、採水11地点（A～K）における植物、アマモ、コアマモのDNA量である。ここでは採水地点におけるDNA量の増減傾向について比較した。また赤塚ら<sup>4)</sup>が実施した同時に取得した採水サンプルにおける植物の種を識別する次世代シーケンス解析によると、検出された植物の99%はアマモ科の海草であったことから、植物については海草と記した。図-3よりアマモ（緑）は、湾奥から湾口側に向かって減少する傾向となったが、Fが特異的に高い特徴が見られた。これらの特徴は海草（青）と同様な傾向であった。コアマモ（橙）はAで高く、Aのアマモとコアマモを合わせた値（緑+橙）はA周辺のK、Bより高くなり、海草（青）の増減傾向と一致した。海草という区分でDNA分析をした結果とアマモ、コアマモを区別してDNA分析をした結果で、採水11地点間の増減傾向を確認することができた。複数の方法で分析した結果が同一傾向であったことから、DNA分析結果は妥当であると判断し、11地点間の増減傾向について計算結果との比較を行った。なお、Fの環境DNAのように特異的に高くなる理由のひとつとして、Fでの採水に他の地点より大きい草体片（DNA量が多いもの）が偶然含まれていた可能性が考えられる。少なくとも採水をろ過した時点で目視できる草体片のような物体の存在は確認出来なかった

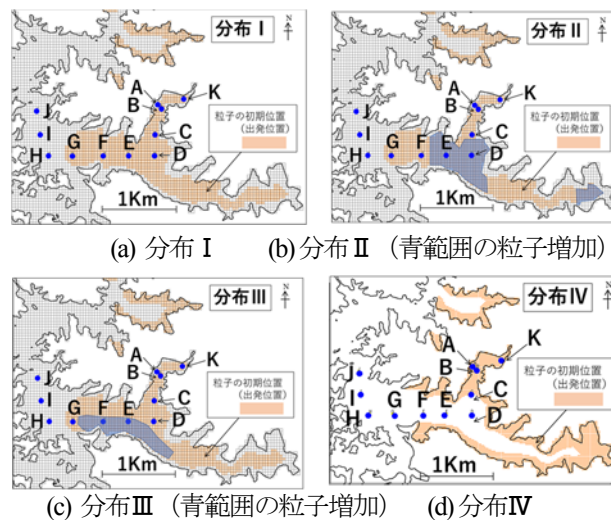


図-2 粒子計算の初期位置

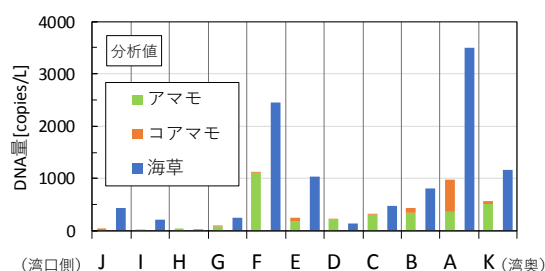
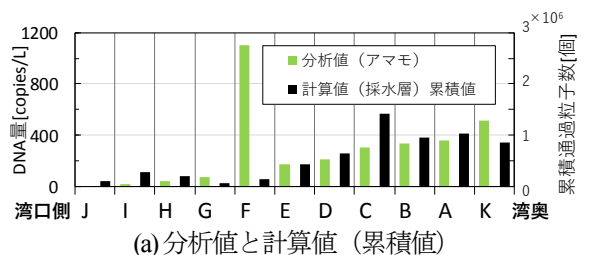
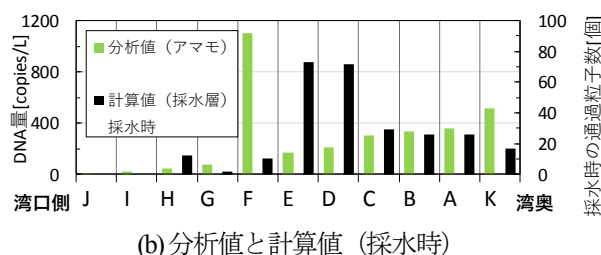


図-3 分析結果（qPCRによるDNA量）



(a) 分析値と計算値（累積値）



(b) 分析値と計算値（採水時）

図-4 分析値（アマモのDNA量）と計算値（通過粒子数）の比較

ことから、ここではDNA量の大きな物体を偶然的に捕獲したことは、FのDNA量が多い原因ではないと仮定してFの特異性の要因について議論を進める。

### (2) 環境DNA分析結果に及ぼす採水タイミングの影響

A～Kの採水層を計算期間（5日間）に通過した粒子数（累積通過粒子数）と分析値（アマモのDNA量）を図-4(a)に示す。環境DNAが発生する地点、発生量は図-2に示す分布Ⅰである。計算における採水層は、実際の採水



層に合わせて表層下0.5 m～1.5 mの1 m層として、水深（LWL）を $\sigma$ 座標により均等分割した鉛直層から対象となる層を選択した。選択した層厚が1 mを超える（または満たない）場合は、層厚が1 mとなる係数を格子および時間間隔ごとに粒子数に乗じて算出に用いた。ただし選択した層厚は、粒子が通過する時刻の水位に合わせて変化には対応させていない。

図-4 (a)より計算値と分析値の傾向を比較すると、湾奥から湾口側に向かって減少する全体的な傾向は一致したがFの傾向は大きく異なった。図-4 (b)は採水時刻に限定して通過粒子数を整理した結果である。図-4 (b)より、特異的に高いFの傾向再現には至らないものの、計算値はCに対してD, Eが高くなる傾向を示した。図-3においても、CよりE, Fの方がDNA量が多い傾向にあることから、累積通過粒子数の図-4 (a)よりも採水時刻における粒子数（図-4 (b)）の方が、A～Jにかけて減少傾向である中でE, Fが高かった分析値の傾向に近い。

図-5 (a)の通過粒子数の時間変化を見ると、各地点とも時間変動が見られ、各地点を通過する粒子数は時間とともに増減している。例えば、図-5 (a)のEに着目すれば採水時刻の通過粒子量は多く横軸が12:30頃には減少している。Fについては採水時刻の通過粒子量は多く横軸が11:45頃には減少している。このことは同一採水地点であっても採水時刻が異なれば獲得できる環境DNA量が異なることを示している。確認のため採水層を0m～1mに変化させて同様に比較したのが図-5 (b)である。図-5 (b)と図-5 (a)では採水層の深度が異なるため各点を通過する粒子数は異なるが、通過する粒子数が時間とともに増減している点は共通しており、採水時刻によって採水に含まれる環境DNA量が異なることを示した。

図-5 (a)と(b)の結果は図-2に示した分布 I の条件下の結果であり、2章で述べたように現地の環境DNAが発生する地点、発生量、発生時期（発生タイミング）などが不確定であるため、分布 I の条件が現地の状況をどの程度反映しているのかに言及できない。しかし、環境DNAが潮流により移流されるとするならば、ある地点を通過する環境DNA量が時間変動することは理解に易く、Fにおける特異的なDNA量が、採水タイミングに依存する可能性があることは一考察として成立するものと考えられる。

### (3) 環境DNA分析結果に及ぼす環境DNA発生場所（空間分布）の影響

次に、環境DNAの発生量が空間的に分布を持つ場合の影響について考察する。図-6は粒子の初期分布密度（投入粒子数）を変化させた分布 II と III について、採水時刻の通過粒子数を示した図である。ここでは比較のために分布 I についても示した。また分布 I ～ III は、投入

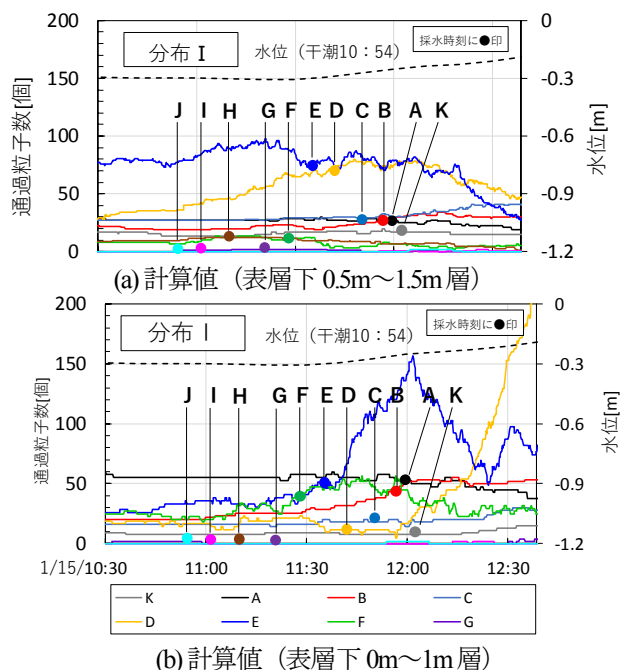


図-5 通過粒子数の時間変化（計算値）

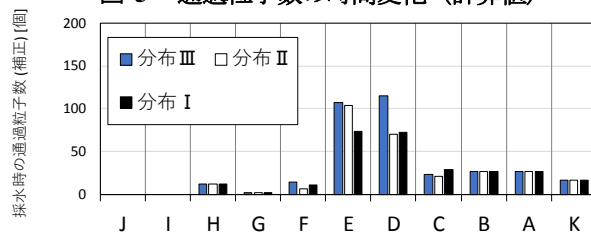


図-6 採水時の通過粒子数（計算値）

粒子数が各ケースで異なるため、次のような補正を行い図-6に示した。補正方法は、各地点（A～K）を通過した粒子の出発範囲をそれぞれ対象に、各地点（A～K）の出発範囲における投入粒子数について、分布 I の投入粒子数を分布 II または分布 III の投入粒子数で除した値を計算結果に乗じた。すなわち、投入粒子数は同じだが投入粒子数の空間密度のみが異なるように補正をした。図-6より、分布 I と同様に分布 II, III においてもD, Eの通過粒子数は他地点より多い結果となった。しかし、Dに着目すると分布 I に比べて分布 II のDはわずかに減少し、Eでは増加した。そして、Fでは減少した。分布 III のケースでは、D, Eともに分布 I より増加し、Fも増加した。H, G, B, A, Kのように投入粒子数を変化させても通過粒子数に変化が現れない地点もある。これは、分布 II や III のように通過粒子数を変えた箇所の粒子が、H, G, B, A, Kには到達しないためである。この結果は、環境DNAが発生する量の空間分布は、採水地点で捕獲されるDNA量に影響することを示唆しており、分布 I を基準に考えると分布 II はDへの影響は少ないが、Eでは捕獲されるDNA量を増加させFでは減少させる影響が現れる。分布 III は、D, E, FともにDNA量が増加する影響がある。

図-7は、EとFを通過する粒子の出発点の分布を示し

た図である。Eを通過する粒子の出発点の分布（図-7(a)：Eの出発点分布）は、Fを通過する粒子の出発点の

分布（図-7(b)：Fの出発点分布）を包括している。Eの出発点分布は湾全体に広がるのに対しFの出発点分布は南側に偏在している特徴があり、それらの分布に明確な差異が認められる。例えば、Eの出発点分布のうち北側部分における繁茂状況が南側に比べて低い、すなわち環境DNA発生量が少ないと仮定するならば、Eで獲得されるDNA量も少なくなる。その結果、Eで獲得される環境DNA量は減少しFで獲得される環境DNA量が相対的に増加することになる。したがって、Fにおける特異的なDNA量は、環境DNA発生量の空間分布に依存する可能性があることも一考察として成立するものと考ええる。

#### (4) 環境DNA分析結果に及ぼす環境DNA発生量の時空間変化の影響

前述のように、Fにおける特異的なDNA量は採水のタイミング、環境DNA発生量の空間分布が要因の一部になりうることを示したので、両者を組み合わせた検討結果を図-8に示す。図-8は図-4(b)と同じ補正を施し、E、Fの粒子通過数に及ぼす分布Ⅰ、Ⅲによる差異を比較した図である。図示した3日間の粒子通過数は、潮汐変化に応じて増減がある。図-8(a)に示したEのケースでは①、②で示した同じ潮汐のタイミングでも通過粒子数は異なる。分布ⅢはEの出発点分布（図-7(a)）の北側から発生する環境DNA量を相対的に減少させたことに相当するため①や②のタイミングでは分布Ⅲの通過粒子数が少なくなった。一方、図-7(b)のFの場合では、分布Ⅰに比べて分布Ⅲの発生量を増加させているものの、Fの出発点分布（図-7(b)）から発生する環境DNA量の総量を変化させたに過ぎないため、正規化してしまえば図-8(b)にあるように差異がない。

以上の考察より、現地の環境DNA分析結果のFにおける特異的なDNA量の原因として、採水のタイミングと環境DNA発生量の空間分布が起因していることを定性的ではあるが示すことができた。

## 6. 環境DNAを活用したアマモ場モニタリングの成立性に関する検討

5章のFの特異性に関する考察の結果、環境DNA量には採水のタイミングと環境DNA発生量の空間分布が影響することが示された。ここでは2つのアマモ場分布（分布Ⅰ、Ⅳ）を対象に粒子追跡解析を行い、アマモ場の特定を可能とする採水点の成立性について検討した。

図-9(a)は、分布Ⅰの条件下で各点を通過する粒子の出発点を示した図である。例えば、E点の出発点の詳細

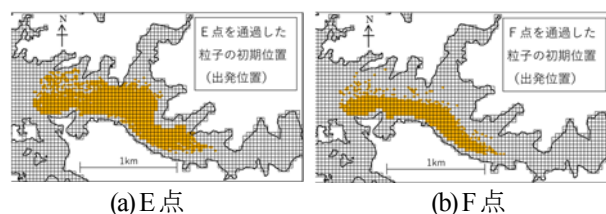


図-7 通過粒子の初期位置（計算値）

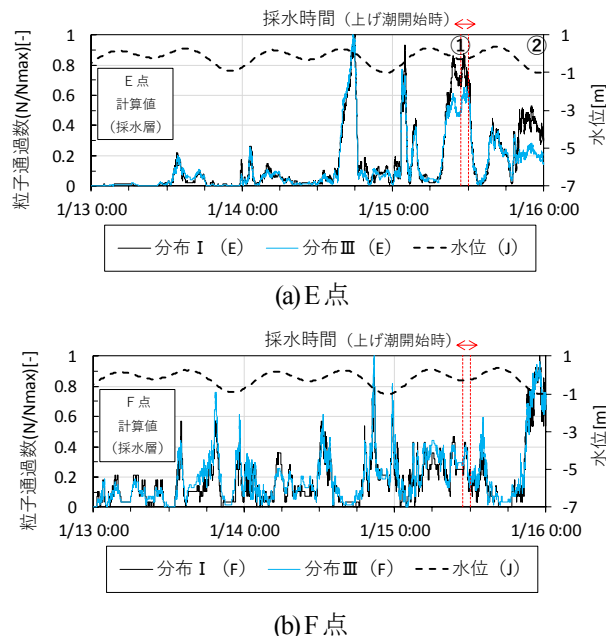


図-8 通過粒子数（正規化）の時間変化（計算値）

分布は、図-7(a)に示す分布である。図-9(a)では図-7(a)に示す分布の北西側に点在する部分も包括するように囲んで示した。F点に関しても同様に図-7(b)の北側に点在する部分も包括して示したため、図-9(a)ではEもFも出発点の範囲は概ねオーバーラップしている。しかし、図-7の詳細分布ではEとFで分布範囲に明確な差異がある。環境DNAを活用するモニタリングを例示すると、以下のようなになる。EとFで環境DNAを継続的に分析したとする。ある時、Eの環境DNA量が明らかに減少し、Fの環境DNA量は従前と同じであったとする。Fの環境DNA量が変化していないことは図-7(b)に示すFの出発点分布のアマモ場は減少していないことを意味する。一方、Eの出発点分布はFのそれを包括しているので、Eの環境DNA量が減少したことは、EとFの出発点分布がオーバーラップしない北側部分のアマモ場が減少したことを意味する。このように採水地点とアマモ場分布に特定の相関がある場合には、環境DNAをモニタリングすることで特定のアマモ場の生長・減衰を把握できる可能性がある。図-9(b)は初期のアマモ場分布を仮想的に浅海部のみに分布させたケースであるが、この場合では各点を通過する粒子の出発点が比較的明瞭になった。すなわちオーバーラップする範囲が減少した。このことは、採水地点とアマモ場分布に特定の相関があるケースにおいては、

環境DNAを活用したモニタリングが成立する可能性があることを示している。

## 6. まとめ

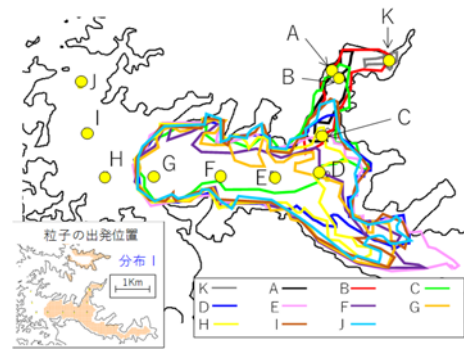
環境DNAを活用したアマモ場モニタリング手法に向けて「環境DNAの通過地点で採水することにより、環境DNA発生地点における海草の衰退等の変化を捉えるモニタリングが可能になる」という仮説を立て、その成立性を粒子計算のケーススタディーを通して検討した。主な結論を以下に示す。

- 1) 粒子計算は、DNA量の時間変化や発生量による分布の変化について再現しうる可能性を示した。
- 2) 粒子計算における通過粒子の時間変化により、同じ地点であっても採水時間により環境DNA量が異なる可能性を示した。DNA量が局所的に高くなるような特異性は、採水タイミングさらには環境DNA発生量の空間分布に依存する可能性が示された。
- 3) 採水地点とアマモ場分布に特定の関係がある場合には、環境DNAを活用したアマモ場モニタリングが成立する可能性があることを示した。

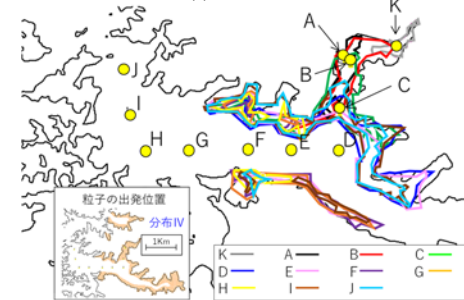
今後は、アマモの環境DNA特性に関する知見を蓄積し、計算精度を向上させてより現実を模擬したケーススタディーに取り組む予定である。

## 参考文献

- 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.
- 2) 高原輝彦, 山中裕樹, 源 利文, 土居秀幸, 内井喜美子: 環境 DNA 分析の手法開発の現状～淡水域の研究事例を中心にして～, 日本生態学会誌, Vol.66, pp.583-599, 2016.
- 3) 三重県: 平成 22 年度藻場・干潟等分布状況マップ作成委託業務報告書, 2011.



(a) 分布□



(b) 分布□

図9 A~K地点を通過した粒子の出発位置

- 4) 赤塚真依子, 高山百合子, 伊藤一教, 森本鉄哲平, 源利文: 海草場を対象とした環境 DNA 検出方法と三次元数値解析の適用性に関する検討, 土木学会論文集 B2 (海岸工学), Vol.74, No.2, 2018 (投稿中) .
- 5) Hamaguchi, M., Shimabukuro, H., Hori, M., Yoshida, G. and Terada, T.: Quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) and droplet digital PCR duplex assays for detecting *Zostera marina* DNA in coastal sediments, *Limnol. Oceanogr.*, pp1-10, 2018.
- 6) Deltares(2011a): Delft3D-FLOW User Manual, 672p.
- 7) 高山百合子, 片倉徳男, 伊藤一教, 住廣隆夫, 廣島英樹: アラビア湾南部の島周辺におけるサンゴ卵・幼生の輸送に関する数値計算によるケーススタディ, 土木学会論文集 B3 (海洋開発), Vol.69, No.2, I - 1102- I -1107, 2013.

(2018.3.15 受付)

## A FEASIBILITY STUDY ON A MONITORING METHOD OF SEAGRASS BED USING ENVIRONMENTAL DNA

Yuriko TAKAYAMA, Maiko AKATSUKA, Kazunori ITO and Toshifumi MINAMOTO

For the Seagrass bed monitoring method using environmental DNA(eDNA), we hypothesized that "by monitoring the point where eDNA passes through, it will be possible to monitor changes in seagrass attenuation at the site of eDNA generation". The feasibility of that was studied by particle calculation. Consideration of the specific amount of DNA found in the results of local eDNA analysis showed that the timing of water sampling has an influence on the amount of the obtained eDNA. Furthermore, it showed that the spatial distribution of eDNA production influences the amount of eDNA obtained. When there is a specific relationship between the water sampling point and the seagrass bed distribution, it has been shown that seagrass bed monitoring using eDNA may be established.