



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

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

(Citation)

土木学会論文集B2(海岸工学), 75(2):I_1075-I_1080

(Issue Date)

2019

(Resource Type)

journal article

(Version)

Version of Record

(Rights)

© 2019 公益社団法人 土木学会

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/90007010>



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

赤塚 真依子¹・高山 百合子²・伊藤 一教³・渡辺 謙太⁴・桑江 朝比呂⁵
大澤 亮介⁶・森本 哲平⁶・源 利文⁶

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

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)

⁴港湾空港技術研究所 沿岸環境研究グループ (〒239-0826 神奈川県横須賀市長瀬3-1-1)

⁵正会員 港湾空港技術研究所 沿岸環境研究グループ (〒239-0826 神奈川県横須賀市長瀬3-1-1)

⁶神戸大学大学院 大学院人間発達環境学研究所 (〒657-8501 神戸市灘区鶴甲3丁目11)

環境DNAを活用した海草場のモニタリング手法の開発に向けて、海草から放出される環境DNAに関する基礎的特性を把握することを目的に、定期的に海水を交換している水槽に生育するアマモを対象として8か月間、週2日の採水とDNA分析を行った。アマモは、夏場に枯死期となり生物量(草丈、密度)が減少し、冬場の発芽期以降に生長するが、環境DNA分析においても枯死期にDNA量が減少し、発芽期以降にDNA量が増加した。また、実海域における調査では、1年前のアマモ場調査と生育状況(草丈、密度)が異なり生育の遅れを確認し、環境DNA分析結果において低いDNA量となり1年前との差が得られた。eDNAを活用した海草場モニタリングによる広範囲の海草場の経過観察によって、海草の消失や分布変化等の速やかな情報入手を実現できる可能性が明らかとなった。

Key Words : *environmental DNA, Seagrass, Zosteraceae, PCR inhibitor, Seasonal*

1. はじめに

近年、1 L 程度の環境水をろ過し、ろ紙に回収した残渣物を分析することで水域中の生物情報を得る環境DNA(以下、eDNA)分析が注目されている。活用先の一つとして、eDNA をトレーサーとした海草場モニタリング手法が提案され、数値計算での検証が試みられている¹²⁾。海草の eDNA に関しては検出方法³⁾等が報告されているが、海水中の海草の eDNA に関する与条件の不確定性や経時変化(季節、日変化)、形態(溶存態または粒子)等、未解明な部分が多い。海草は季節によって草体の状態が変化するため、放出する eDNA 特性が異なる可能性も考えられる。流れや気象の影響がある広域な実海域において経過時間変化や形態などの詳細な差異の検討は、上記のことが同時に起きていることから要因の把握は困難である。本研究では、季節変化を伴う期間の eDNA 特性を確認することを目的に、運転条件等を制御でき、海草が生育するメソコスム実験水槽を用いて、
(1) 8 ヶ月間の採水・eDNA を定期的に分析する水槽実験、
(2) 海草 eDNA の形態等を検討する室内試験を実施した。また、実海域における eDNA 調査として、

(3) eDNA 空間分布調査(三重県英虞湾)を2017年度および2018年度の夏季と冬季に実施した。

2. 実験水槽および対象海域

水槽実験と室内試験は、アマモが生育している潮汐や海水交換率などの物理条件が制御可能なメソコスム実験水槽(図-1, 3m×2m×平均水深0.75m, 潮汐振幅0.5m, 12.4h周期)を対象とした。2004年2月からアマモ場を想定したメソコスム実験が継続されており、アマモの生物量が自然のアマモと同様に季節変動を示しながら増減することが確認されている⁴⁾。水槽内は、平日の上潮時に地先の海水と一潮汐当たり約24%交換している。eDNA 空間分布調査の対象海域は、湾奥にアマモ、コアマモの生育が確認されている三重県英虞湾である。図-2 (1)に、対象海域の海底地形を示す。英虞湾は顕著なりアス式海岸であり、湾中央に大小の島々が位置する閉鎖性の強い湾である。2010年度の調査⁹⁾によると、アマモは、立神、神明、鵜方の入り江奥から海岸線に沿って水深の浅い領域に主に分布している。3つの入り江のうち広範囲に生育が確認されている立神を調査対象とした。

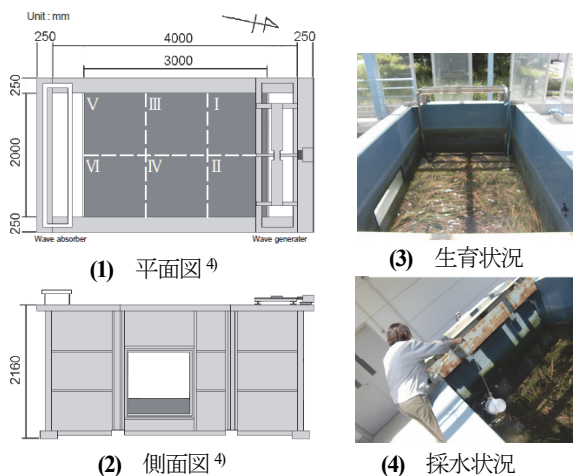


図-1 メソコスム実験水槽

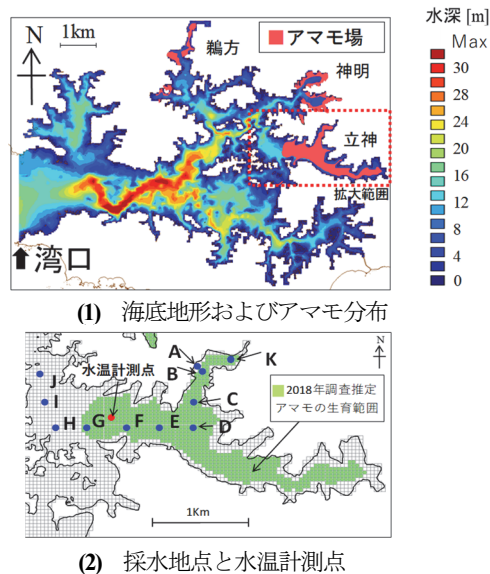


図-2 三重県英虞湾

3. 実験および調査方法

(1) 水槽実験

海草の eDNA 季節変化の検討として、2018 年 7 月～2019 年 2 月までの 8 か月間、週 2 回、表層水を干潮時に 1L 採水した。本実験水槽の海水交換は、下潮時に海水を排水し、上潮時に新しく汲み上げた海水が流入する仕組みである。新しい海水が流入する直前の干潮時が、水槽内の海水と海草の接触時間が一番長くなることを考慮し、干潮時の採水とした。モニタリングとして、草丈、密度、水温を計測した。草丈は、図-1 平面図Ⅲの領域の 5 株を任意に計測し、密度は、観察窓近くの図-1 平面図Ⅳの位置に設置した観察区画 (20cm×20cm) の 3 か所で計測した。草体の脱落部は水槽から日々除去した。

海草の eDNA 放出に、植物の活動が活発となる光合成が影響しているかを確認するため、eDNA の日変化を検討した。2019 年 2 月に海水交換を 1 日間停止し、1 時間毎に採水した。また採水時の試料差の確認として、2 月 22 日 9 時の採水時には、10 分間に 1L を 60 本採水した際

に 1 本目、30 本目、60 本目の分析結果を比較した。採水後は $0.7\mu\text{m}$ でろ過し、ろ紙を -20°C で冷凍保存した。分析前日にろ紙から DNA を抽出した。

(2) 室内実験

海草 eDNA の粒径、草体の状態による DNA 量の差異や eDNA の分解特性を確認する室内試験を実施した。粒径検討は、数値解析でモデル化する eDNA の形態の確認として重要である。1L の採水試料を 20, 8, 6, 0.7, $0.3\mu\text{m}$ の順序でろ過し、ろ紙毎に DNA を抽出し分析した。草体検討は、変色した枯死体から DNA が検出されるのかを確認するため、水槽内で脱落し浮遊するアマモの緑葉体と変色した茶葉体を採取し、葉表面の海水を洗浄後に常温のデシケータ内で乾燥させた。7 日間の乾燥後、 -80°C で 24 時間冷凍し、ビーズ式細胞破碎装置 (TOMY 製, MS-100R, 60s, 5000rpm) で粉末化し分析した。粉体 0.5mg を 4 章の同じ方法で DNA を抽出し分析した。eDNA の分解特性は、2019 年 2 月に採水し、採水試料を採水日から 7 日後まで室温・暗所保管し、経過日数毎にろ過し、ろ紙を冷凍保存 (-20°C) した。

(3) eDNA空間分布調査 (三重県英虞湾)

三重県英虞湾の 11 地点 (A-K) を eDNA 分析の採水地点に選定した (図-1(2))。A-K 点は、アマモ、コアマモが生育する湾奥から湾口に向かう約 3km の 11 点であり、2017 年 6 月、2018 年 1 月、2018 年 7 月、2019 年 1 月に採水と潜水調査を実施した。いずれの地点も一年生のアマモが優占種である。

現地調査は、採水直後に船上からポータブル測深器 (HONDEX 製, PS-7) を用いて水深を測定し、多項目水質計 (アレック電子製, AAQ1186-pro) で水温、塩分、濁度を測定した。採水点直下の潜水による目視観察は、アマモ、コアマモの被度、草丈、株数 (50cm×50cm の枠内) とした。また、周辺海域に潜水しアマモの分布域を調査した。海水は、干潮時から約 1 時間に湾口側である J 点から湾奥の K 点に向かって順次、船上からバンドン式採水器で採水した。採水水深は、水面下 1m とした。海水は 1L ずつ容器に分注し、DNA 分解を抑制するため塩化ベンザルコニウム 10w/v% 水溶液を 1ml 添加後、冷蔵輸送した。採水した翌日にガラス繊維ろ紙 ($0.7\mu\text{m}$, $\Phi 47\text{mm}$) でろ過し、ろ紙を冷凍保存 (-20°C) した。

4. eDNA 分析方法

(1) ろ過および抽出

eDNA の分析手順を示す。抽出試薬として DNeasy Blood & Tissue kit (QIAGEN 製) を用い、1L の海水をろ過したろ紙から 100 μl の DNA 抽出液を得た。実験室でろ過や分析等に使用する器具は誤検出防止のため、採水地点毎に次亜塩素酸 0.5% 溶液に 5 分間浸漬後に洗浄した。

(2) qPCR分析

アマモ、コアマモのDNA量を比較するため、表-1に示す各塩基配列情報と主な反応条件でqPCR（Thermo Fisher Scientific 製，QuantStudio 6）分析を実施した。反応液は 2xEnvironmental Master Mix 10 μ l，AmpErase 0.1 μ l，Primer F 900nM，Primer R 900nM，Probe 125nM，DNA 2 μ l をSDWで20 μ lとした。

(3) フミン酸による分析阻害影響確認

DNA分析で問題となる阻害物質の一つとしてフミン酸等が報告されており⁸⁾，海草にも含まれることから影響の確認が重要と考えられる。フミン酸による分析阻害影響の確認として，日本腐植物質学会のフミン酸（褐色森林土）を用いて，フミン酸による分析阻害影響を確認した。対象としたアマモ，コアマモと阻害確認等に用いられる λ ファージ⁹⁾を対象とした分析条件において，4章(2)のPCR反応液組成のうちDNAとして人工遺伝子（3000copies）2 μ l，蒸留水をろ過したろ紙の抽出液2 μ lとフミン酸200～2000ngを添加し，総量をSDWで調整した20 μ lでqPCR分析を実施した。

5. 水槽実験とeDNA分析結果

(1) 海草の生育と水温のモニタリング

8ヶ月間の海草の生育と水温のモニタリング結果を図-3に示す。図-3(1)(2)より，水槽内のアマモは，7月から9月にかけて草丈が短くなり，8月以降に密度も低下し，枯死・脱落を確認した。観察区画（図-1：平面図IV）を含む水槽内全体では，12月以降に発芽・生長が進んだ。11月以降に観察区画外である水槽内（図-1：平面図I，II）の一部で多年生のアマモが地下茎から生長し，2月末には草丈100cm以上となった。

図-3(3)の水温計測結果に比較として同水槽での2004年7月から2005年2月と2005年7月から2006年2月までの計測結果⁹⁾を示した。アマモは，発芽や葉寿命の長さは水温に強く依存すると言われており，例年，4月から6月において最も繁茂し，発芽は水温が10℃前後となる時期（12月から2月）である⁴⁾。アマモの発芽が優勢となる2018年12月から2019年2月は，2004年から2006年の計測結果に比べて水温が高かったため，発芽・生育が遅かったと考えられる。また，発芽時期に水温が高いことから発芽後に藻類の付着などによる生育阻害が起こり，2019年1月～2月は5～10cm程に生長後に枯死する個体が多かった。

(2) 水槽のeDNA分析結果

eDNA量（図-4(1)）は，調査を開始した7月は高い値を示した後，低下したがその後，8月中旬にかけて増加した。8月中旬から10月にかけて低減し，10月～11月は数100copies/Lとなった。その後，発芽体を確認しはじめた12月以降は，1000～2000copies/Lの値を示す日も増

表-1 配列情報および反応条件

対象生物	アマモ		コアマモ	
対象領域	matK(131bp)		matK(182bp)	
Forward (5'→3')	GCTTCTCTTTCCCTTACACGAG		TATTCATGATTGGTCGTGAG AATA	
Reverse (5'→3')	AACCTTCCCAACCCCGTT		TGCACACAGCACTTTCCTTA TG	
Probe (5'→3')	FAM- TTCATGATTGGTTGATATAT- MGB-NFQ		FAM- ACTGAGTAGTCTTCTTATAC TTT-MGB-NFQ	
サイクル数	55 回		55 回	
サイクル 前	温度	時間	温度	時間
	50℃	2min	50℃	2min
	95℃	10min	95℃	10min
熱変性	95℃	15s/cycles	95℃	15s/cycles
伸長反応	60℃	60s/cycles	60℃	60s/cycles

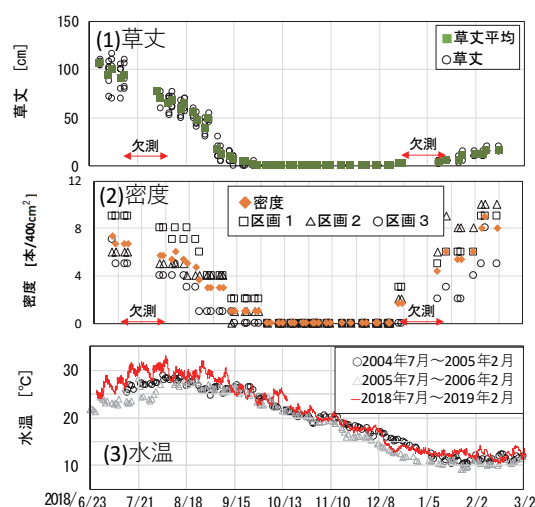


図-3 海草の生育と水温のモニタリング結果

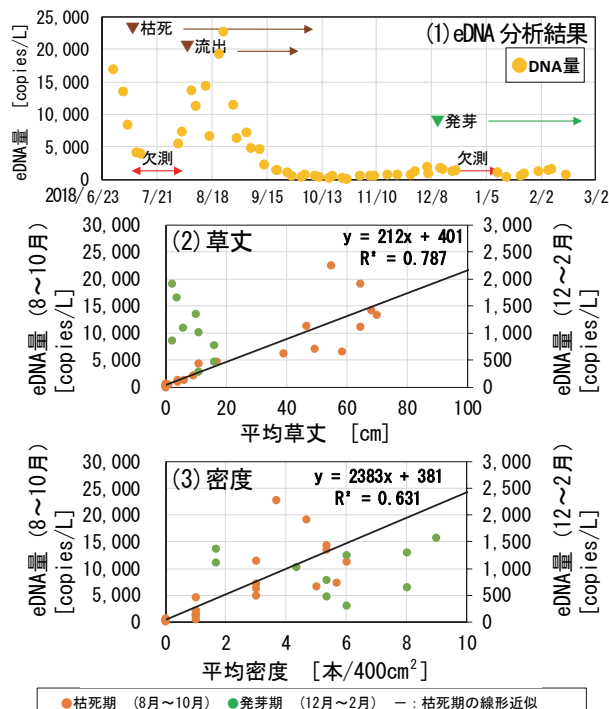


図-4 eDNA分析結果および草丈・密度との関係

え、eDNA量は増加の傾向となった。8月以降の海草が枯死・流出して低下する時期とeDNA量の低下する時期が一致し、冬場の発芽・生長が進む時期は、eDNA量が微量ながら徐々に増加する可能性が得られた。また、枯死期と発芽期では、同じ草丈や密度であっても、草幅や葉の状態（葉の断面が海水に接する枯死体と新芽）が異なった。本論文では、海草の発芽体が成熟株から枯死する生物量が増加する時期のデータを未取得のため、生物量が減少する枯死期に着目し、線形近似を図示した（図-4(2)(3)）。8月から10月までの枯死期のeDNA量は草丈や密度と正の相関が示唆され、eDNAは海草量の時間変化（増減）を表す可能性が明らかとなった。なお、7月の一時的なeDNA低下要因は不明確だが、枯死初期で海草の流出は少なかったものの、水槽の海水交換が不定期であったため水槽内の腐植物質増加による分析阻害なども考えられる。分析阻害の影響については5章(2)で検討した。2019年2月21日から22日に実施したeDNA量の日変化の検討（図-5）では、24時間経過後までの1時間毎の差は±15%となり、試料差の確認として2月22日9時に採水した3試料の差は±5%となったことから、季節変化の増減に対して日変化は小さい結果となった。

(2) 室内実験

粒径検討では、20~6 μ mのろ紙からはDNAが検出されず、0.7 μ m以下のろ紙で検出した（図-6(1)）。eDNAは草体の破片等の組織片等を対象としていると推測していたが、4章(2)の方法ではセルロースの分解工程がないこともあり草体より小さな葉緑体（約5 μ m）等を対象にしている可能性がある。草体検討では、季節変化にともない草体が異なる状態となるため、eDNA量の差を確認した。緑の草体と枯死し脱落した茶色く変色した草体を水槽から回収し、乾燥、粉碎後に分析したところeDNAは同程度検出された（図-6(2)）。今後、実海域に向けては脱落後に日数が経過した草体や土中の草体の検討の検討も必要だが、水槽内においては脱落直後の変色した草体からもDNAが検出されることが確認できた。減衰率は、pPCRで得られた値を分子とし、各溶液の0日における値を分母として算出した。図-6(3)より、2日の経過で概ね半減し、3~7日の経過で8割程が減少した。この結果は、人工海水に草体を1日浸漬させて海水に放出させたeDNAの減衰試験¹⁾と同じ傾向であった。水槽から採水した海水のeDNAは、数日間に放出されたeDNAを主に捉えていると考えられる。

フミン酸の検討の結果を図-7に示す。縦軸のCt値とは、DNAを所定のDNA量まで増幅するためのPCRサイクル数であり、Ct値が高くなることは、PCRが阻害されたと考えられる。3つの条件では、いずれもフミン酸濃度が高くなるとCt値が高くなり阻害影響は大きくなった。対象領域が81bpの λ ファージでは、500ngまでCt

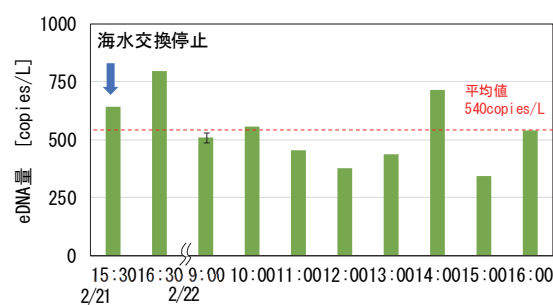
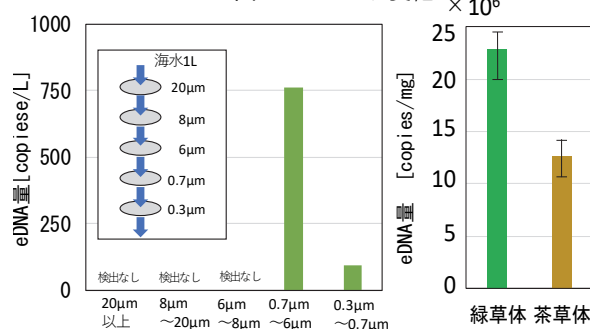
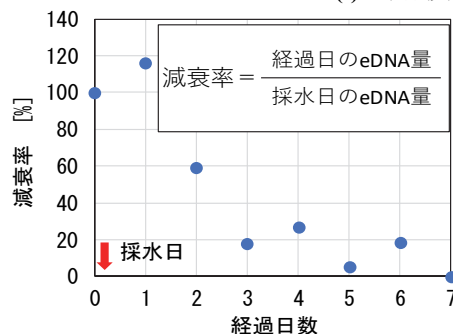


図-5 eDNAの日変化



(1) 粒径検討

(2) 草体検討



(3) 減衰率

図-6 室内実験結果

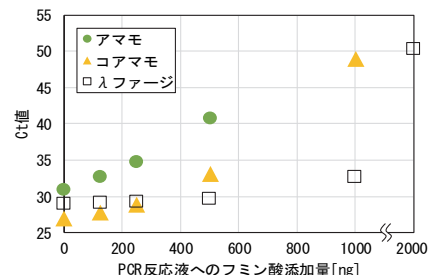


図-7 フミン酸の影響確認

値の差は1以下であるが、対象領域が131bpアマモではCt値が10、対象領域が182bpコアマモでは5となった。対象領域が長いコアマモに比べ短いアマモでの阻害影響が強かったことから、対象領域の長さではなくプライマー毎に影響度が異なると考えられ、それぞれの影響度の確認が重要であることが明らかとなった。また、水槽の海水交換時の海水（12月）や水槽水（12月）の抽出液においてアマモの人工遺伝子を添加してqPCR分析を実施したが、Ct値は±0.1以内と差はなかったことから、本実験水槽での海水交換や底質の状況での阻害がないことは確認できた。今後、図-4(1)の7月のような生物量が多い時期に低いDNA量を示す場合など、他の時期に阻

害影響の確認やフミン酸が抽出液に多く含まれる要因の整理を行う必要がある。

6. 現地調査と eDNA 分析結果

(1) モニタリング結果

現地調査の概要を表-2に示す。2017年度（夏季・冬季）には、水深の大きい入り江中央で広くアマモの成育を確認し（図-2(b)），湾奥の K から G にかけて広く生育していた。2018年度では、夏季・冬季ともに点在する草体を僅かに確認となり、2018年1月の密度が最も高かった。2年連続での同時期の調査となったが、図-8、図-9や表-3、表-4に示すように、アマモの生育状況（被度、草丈）や生育域は大きく異なった。生育状況の差異の要因の一つとして水温が考えられ、三重県が公開している水温計測結果¹⁰を図-10に示す。2017年度に比べ、2018年夏と2019年冬はともに水温が高い傾向となっており、枯死が早く、発芽が遅かった要因と考えられる。気象等により分布が変化する結果が得られた。

(2) eDNA 分析結果

11点（A~K）の海水の海草を対象とした qPCR 分析結果を図-8に示す。eDNA は生育密度が最も高かった2018年1月が他の調査に比べて高く、4調査とも湾奥で高い値を示し、直下で海草の目視確認できなかった地点（H~J）ではeDNA量が少なくなる傾向となった。

表-2 現地調査概要

	2017年6月調査	2018年1月調査
調査日	2017年6月18日	2018年1月15日
天候	くもり	はれ
干潮時刻	6:14	10:54
採水時間	6:30~8:05	10:53~12:04
採水	11地点	11地点
分析	10地点（K点なし）	11地点
	2018年7月調査	2019年1月調査
調査日	2018年7月25日	2019年1月30日
天候	はれ	はれ
干潮時刻	10:24	6:52
採水時間	10:26~11:51	7:10~8:15
採水	11地点	11地点
分析	11地点	11地点

表-3 現地調査結果（アマモ被度[%]）

地点	J	I	H	G	F	E	D	C	B	A	K
水深[m]	142	122	113	105	96	87	84	75	51	12	34
2017年6月	0	0	0	5	5	20	10	10	10	20	40
2018年1月	0	0	0	5	5	20	10	10	10	20	40
2018年7月	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2019年1月	0	0	0	0	0	30	5	5	0	5	5

表-4 現地調査結果（アマモ草丈平均[cm]）

地点	J	I	H	G	F	E	D	C	B	A	K
水深[m]	142	122	113	105	96	87	84	75	51	12	34
2017年6月	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2018年1月	-	-	-	18	18	20	20	20	20	20	25
2018年7月	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019年1月	-	-	-	-	10	22	15	10	-	5	5

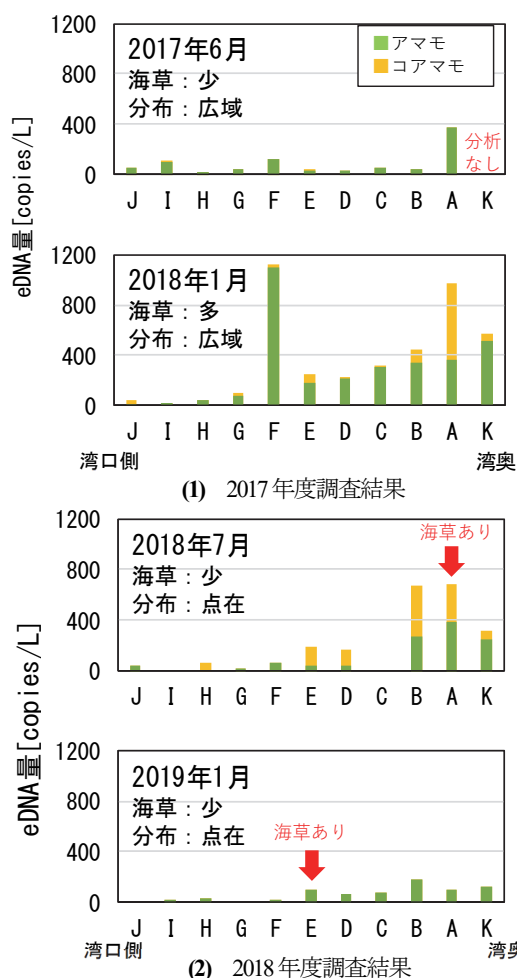


図-8 eDNA 分析結果

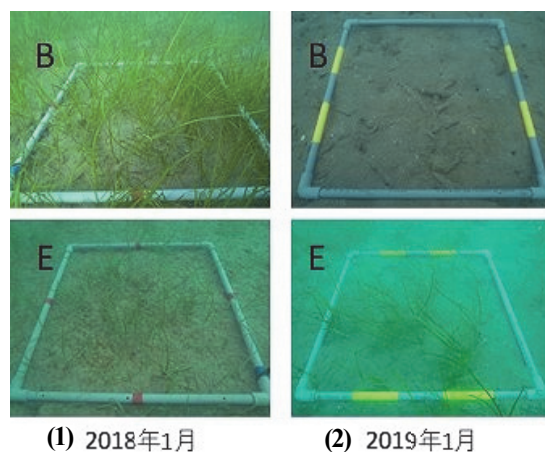


図-9 現地写真（B点、E点）

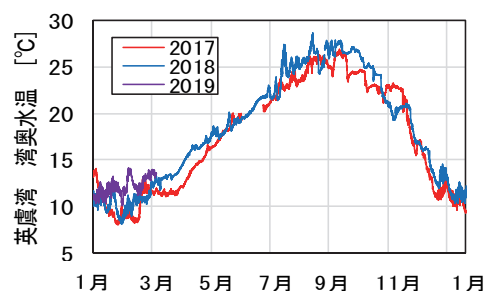


図-10 英虞湾水温比較結果

7. まとめ

水槽実験では、アマモの季節変化における生物量の変化によって eDNA 量に明確な差が得られた。それに対し、日変化や草体の状態等の影響は相対的に小さいことから、eDNA 量のモニタリングによって海草量の変化が捉えられる可能性が得られた。英虞湾の現地調査では、調査年によって海草の生育状況が異なる時に eDNA でも差が得られ、海草量が多い時期に eDNA 量が高くなる水槽試験の結果と整合した。以上のことから、eDNA を活用した海草場モニタリングによって、海草の消失や分布変化等の情報入手を実現できる可能性を明らかにできた。

一方、水槽や同一海域での結果は、それぞれの条件において相対的な比較はできると考えられるが、水槽と実海域では海草の eDNA 量の値が大きく異なった。観測される eDNA 量は、海草の生物量のほかに水深および海水交換率、水温や生育状況（枯死体、発芽体）などが影響していると考えられ、実海域では、上記の他に、流れや風、他の生物種（分析阻害等）の影響も考えられる。また、それらの影響度や分析精度に対して海草の変化による eDNA 量の変化の差が顕著となることが、海草場のモニタリングに活用するためには必要となる。今後、eDNA 量の変化と各影響因子の影響度の把握をすすめ、異なる条件下の DNA 量を比較できる値としてどのように扱うことができるか、調査を継続して検討する。

参考文献

- 1) 赤塚真依子, 高山百合子, 伊藤一教, 森本哲平, 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, p. I_1225-I_1230, 2018.
- 2) 高山百合子, 赤塚真依子, 伊藤一教, 源利文: 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, 土木学会論文集 B2 (海岸工学), vol.74, No.2, p. I_1231-I_1236, 2018.
- 3) Hamaguchi, M., Shimabukuro, H., Hori, M., Yoshida, G., Terada, T. and Miyajima, T.: Quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) and droplet digital PCR duplex assays for detecting *Zostera marina* DNA in coastal sediments, *Limnol. Oceanogr.* 16, pp253-264., 2018.
- 4) Hosokawa, S., Nakamura, Y. and Kuwae, T.: Increasing temperature induces shorter leaf life span in an aquatic plant, *Oikos* 118, pp1158-1163, 2009.
- 5) Hosokawa, S., Konuma, S. and Nakamura, Y.: Accumulation of Trace Metal Elements (Cu, Zn, Cd, and Pb) in Surface Sediment via Decomposed Seagrass Leaves: A Mesocosm Experiment Using *Zostera marina* L., *PLoS ONE*, 11(6), e0157983, pp1-18, 2016.
- 6) 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.
- 7) Yamanaka, H., Motozawa, H., Tsuji, S., Miyazawa, R.C., Takahara, T., Minamoto, T.: On-site filtration of water samples for environmental DNA analysis to avoid DNA degradation during transportation, *Ecological Research*, Vol.31, 6, pp.963-967, 2016.
- 8) McKee, AM., Spear, S.F., Pierson, T.W.: The effect of dilution and the use of a post-extraction nucleic acid purification column on the accuracy, precision, and inhibition of environmental DNA samples, *Biological Conservation*, 183:70-76, 2015.
- 9) Honjo, M. N., Minamoto, T., Matsui, K., Uchii, K., Yamanaka, H., Suzuki, A., Kohmatsu, Y., Iida, T. and Kawabata Z.: Quantification of cyprinid herpesvirus 3 in environmental water by using an external standard virus, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 76. pp. 161-168, 2010.
- 10) 三重県: 三重県真珠関係養殖漁場水温モニタリングシステム, <http://www.ohyamanet.info/~m-shinkyo/index.php>.

(2019.3.13 受付)

STUDY ON SEASONAL, DAILY AND MORPHOLOGICAL CHANGE OF ENVIRONMENTAL DNA FOR SEAGRASS BED

Maiko AKATSUKA, Yuriko TAKAYAMA, Kazunori ITO, Kenta WATANABE,
Tomohiro KUWAE, Ryosuke OSAWA, Teppei MORIMOTO
and Toshifumi MINAMOTO

In order to develop a monitoring method for seagrass beds using environmental DNA, basic characteristics of environmental DNA released from *Zostera marina* were investigated. For eight months, twice a week, water sampling and DNA analysis were performed for *Zostera marina* which was grown in a water tank, whose seawater was regularly changed. The biomass of *Zostera marina* decreased in summer and increased in winter. Similarly, the amount of DNA decreased in summer and increased in winter. Moreover, in the sea survey, the growth conditions (plant height and density) were different from that of *Zostera marina* field survey in the previous year, and growth retardation was confirmed. The amount of eDNA analyzed at the same time was low, and the variation from the previous year survey was obtained. This result shows that by observing a wide range of seagrass beds through monitoring of sea grass using DNA, it is possible to rapidly acquire information such as loss and distribution change of seagrass.