

环境DNA技术在水生态领域应用研究进展

赵彦伟, 陈家琪, 董丽, 麻晓梅, 白洁, 田凯

引用本文:

赵彦伟, 陈家琪, 董丽, 等. 环境DNA技术在水生态领域应用研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(10): 2057–2065.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0666>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于eDNA技术的白洋淀微型生物群落监测

陈家琪, 董丽, 麻晓梅, 田凯, 白洁, 赵彦伟

农业环境科学学报. 2021, 40(8): 1773–1786 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0632>

土壤微塑料污染及生态效应研究进展

任欣伟, 唐景春, 于宸, 何娟

农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1045–1058 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1409>

(微)塑料污染对土壤生态系统的影响:进展与思考

朱永官, 朱冬, 许通, 马军

农业环境科学学报. 2019, 38(1): 1–6 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1427>

有毒有机物影响DNA酶解和抗生素抗性基因横向迁移

胡小婕, 秦超, 林志鹏, 高彦征

农业环境科学学报. 2020, 39(1): 5–16 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1386>

藻类在农业面源污染防控中的应用

李胜男, 纪雄辉, 朱坚, 李尝君, 简燕, 彭华

农业环境科学学报. 2019, 38(5): 970–979 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0859>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

赵彦伟, 陈家琪, 董丽, 等. 环境DNA技术在水生态领域应用研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(10): 2057–2065.

ZHAO Y W, CHEN J Q, DONG L, et al. Advances in the application of environmental DNA in aquatic ecosystems[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(10): 2057–2065.

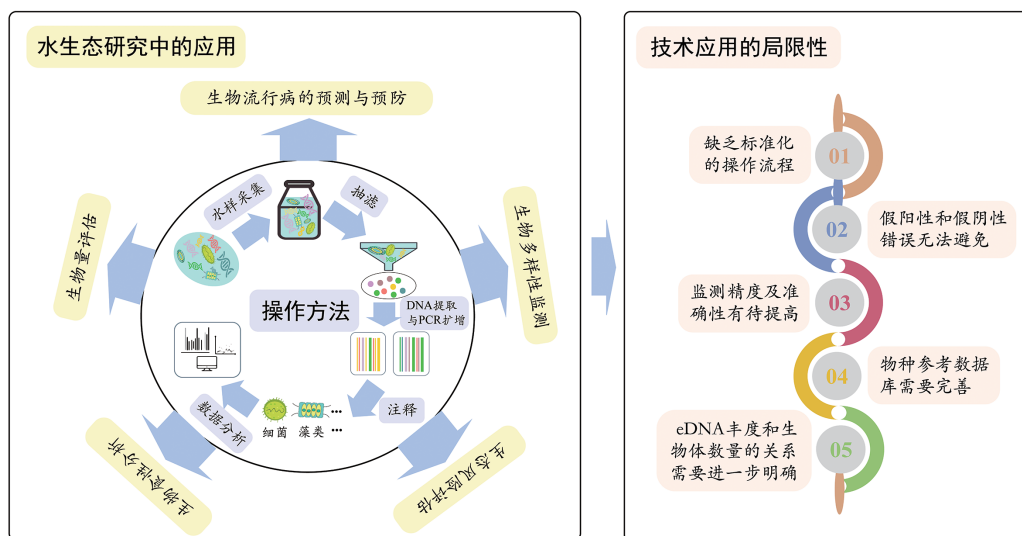


开放科学 OSID

环境DNA技术在水生态领域应用研究进展

赵彦伟, 陈家琪, 董丽, 麻晓梅, 白洁, 田凯

(北京师范大学环境学院, 水环境模拟国家重点实验室, 北京 100875)



摘要: 环境DNA(eDNA)是指环境中所有被发现的生物DNA的混合。eDNA技术可以通过对提取的环境样品进行DNA测序,反映生态系统中的群落或物种组成信息。相较于传统的基于形态学鉴定的生物监测方法,eDNA技术具有简单高效、灵敏度高、环境友好等优势,是未来水生态环境研究的重要手段之一。本文对eDNA技术的操作流程、在水生态环境研究中的应用及技术局限性进行了综述,并对eDNA技术的发展趋势进行了展望。

关键词: 环境DNA;水生态系统;生物多样性;生态监测;应用局限

中图分类号:X143;X52 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)10-2057-09 doi:10.11654/jaes.2021-0666

Advances in the application of environmental DNA in aquatic ecosystems

ZHAO Yanwei, CHEN Jiaqi, DONG Li, MA Xiaomei, BAI Jie, TIAN Kai

(State Key Laboratory of Water Environmental Simulation, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: Environmental DNA(eDNA) refers to the DNA of all organisms found in the environment. eDNA can be helpful in determining community or species composition information in the ecosystem by analyzing DNA fragments directly from different environmental samples using sequencing techniques. Compared to traditional biological monitoring methods based on morphological identification, eDNA has the

收稿日期:2021-06-09 录用日期:2021-08-26

作者简介:赵彦伟(1974—),男,河南上蔡人,教授,从事流域生态综合管理研究。E-mail:awei1974@bnu.edu.cn

陈家琪与赵彦伟同等贡献

基金项目:国家自然科学基金项目(52070020);水体污染控制与治理科技重大专项(2018ZX07110001)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (52070020); The Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment(2018ZX07110001)

advantages of simplicity, high effectiveness, high sensitivity, and environmental friendliness. It is an important avenue for future research in aquatic ecosystems. Here, we review the operational flow of eDNA technology, its application in aquatic ecosystems, and existing problems, as well as prospective development trends of eDNA technology.

Keywords: environmental DNA; aquatic ecosystem; biodiversity; ecological monitoring; application limitations

对生物资源与生态系统进行全面系统的调查评估,是生态环境研究的重点,也是保护全球生物多样性的重要举措。基于形态学鉴定的传统生物监测方法对样本的完整性和鉴定人员的技术要求高,尤其对于隐蔽性强、生活习性难以掌握、形态变化大的物种,鉴定难度较大,这些均为生物监测和物种保护工作的开展带来了困难。因此,需要一种快速高效、侵入性低且受物种自身影响小的技术来解决当前的生物监测问题。

环境DNA(Environmental DNA, eDNA)作为当前重要的技术手段之一,为环境生态的相关研究提供了新思路与新方法,其推动着物种鉴定工作由形态学识别向分子生物学过渡。任何物种都有自己特有的DNA序列,皮肤、粪便、唾液、配子、分泌物等都会携带着自身的DNA片段,其脱落到环境中后,即可通过一系列分子生物学操作流程检测到环境中物种的存在信息^[1],这即是eDNA技术的基本原理。eDNA技术直接从环境样品中提取DNA,无需对任何物种进行分离,可将生物监测对环境带来的影响降到最低^[2-3]。涉及eDNA的研究最早开始于20世纪80年代,经过近年的发展,该技术的研究逐步深入,采集范围逐步扩大,尤其在水生态领域得到了广泛的应用。

相较于其他的生物鉴别技术,eDNA是一项新技术领域,因此受到较多学者的关注。马鸿娟等^[4]、陈炼等^[5]、张辉等^[6]对eDNA技术进行了较为全面的综述,对该技术的发展历程、通用操作流程及其在生物多样性研究中的应用进行了系统的介绍。本文在这些综述基础上,吸收了近年eDNA技术在水生态领域的最新研究成果,强调了水生态研究中采样环境、目标物种变化情况下不同技术环节的特点与比较,重点总结了eDNA技术在水生态领域的应用,分析了该技术应用局限性,并根据水生态系统特点提出了相应改进措施,对eDNA技术未来发展趋势进行了展望。

1 eDNA技术的操作方法

eDNA技术主要包括样品采集、DNA提取、PCR扩增及测序、生物信息学分析。在不同的研究中,采样环境、目标物种等重要因素会有差异,从而使不同

的技术环节方法有所变化。

在水环境应用中,为减少外界环境因子对水体中遗留的生物DNA的影响,样品采集时不宜对水体造成过大的扰动,通常采集研究区表层水即可^[7]。样品采集过程中要格外注意外来污染或交叉污染,必须严格佩戴一次性手套并及时更换,以免给最后的物种识别过程带来干扰。在采集平行样本的同时设计空白样本^[8],如将一瓶加盖的蒸馏水保存在冰上,以检查现场工作期间的污染。样品采集后要立刻冷藏防止水体中生物DNA降解,并在最短的时间内进行初步处理。

样品采集后,采用滤膜法和沉淀法均可以达到浓缩样品提取DNA的目的,且两种方法各有优势,沉淀法所需水样明显少于滤膜法,但滤膜法可获得更高浓度的DNA,当前滤膜法中的抽滤方式应用较多。DNA的提取方法包括物理法、化学法、生物法等,也有研究选择相应的DNA试剂盒提取水环境中的DNA。有研究表明,应根据目标物种选取合适的DNA提取方法,以保证提取到的DNA浓度最佳,如提取真核生物DNA时采用抽滤法与DNeasy Blood & Tissue Kit试剂盒相结合的方法检出率更高^[9]。

PCR扩增首先需要进行引物的设计。引物设计需依不同的研究目标而定,如果是对研究区进行全面的生物多样性评价,则要选择通用性引物,以保证此引物扩增到的物种序列最全;如果是对特定物种进行监测评估,则需根据目标物种特点设计特异性引物。之后进行PCR扩增,扩增后产物经琼脂糖凝胶电泳检测,若检测结果符合要求,即可进行上机测序。

测序得到的原始序列需经过低质量过滤、序列拼接、去除嵌合体等一系列质控过程,得到的高质量有效序列将按照一定的序列相似性进行OTU聚类(OTU相当于传统生物监测中的“种”),在每个OTU中选取代表序列(通常为最长序列)与相应的参考数据库比对进行物种的注释分析,不同数据库的鉴定范围通常不同(表1),需根据目标物种选择合适的数据库。以OTU聚类和物种注释结果为基础,可得到区域内的物种组成与分布、群落间结构差异等信息,还可进一步挖掘物种之间的进化关系,探究不同环境因子对物种

表1 常见基因数据库及鉴定范围

Table 1 Common genetic databases and appraisal scope

数据库名称 Name of the database	目标注释物种 Target annotated species	数据库简介 Introduction of the database
SILVA 数据库	古菌、细菌和真核生物	更新较为及时,是目前高通量测序后最常选用的数据库之一
PR2 数据库	真核生物	主要由原生生物序列构成,但数据库中也包括真菌、后生动物、陆生植物等生物类群的基因序列信息
Greengenes 数据库	细菌、古菌	更新较慢,但依据 16S 测序结果预测微生物群落功能的分析必须依托此数据库进行
UNITE 数据库	真菌	常被用于 ITS 测序后对真菌进行分类注释
PFR ² 数据库	浮游有孔虫界	专门针对浮游原生生物-有孔虫界,内含大量高质量的有孔虫界基因序列
RDP 数据库	细菌、古菌、真菌	常用其 Classifier 功能确定检出的某条基因序列从门到属水平的分类信息

群落结构的影响等。

2 eDNA 技术在水生态研究中的应用

2.1 生物多样性监测

2.1.1 物种的识别与监测

生物多样性是衡量某一区域物种丰富程度的重要指标,是环境生态学领域的重要基础性工作,生物多样性监测的难点在于快速准确地识别物种,eDNA 技术因可以解决这一问题,而在浮游动物、藻类、鱼类等生物类群的监测中得到了应用(表2)。其中,鱼类是 eDNA 监测的重要类群之一,THOMSEN 等^[18]发现 eDNA 技术可监测到形态学监测方法识别不到的鱼类;赵梦迪^[19]、SIGSGAARD 等^[20]、杨海乐等^[21]将 eDNA 技术与形态学监测方法对鱼类的监测结果进行了比较,证明了 eDNA 技术较高的覆盖度和用于渔业生物多样性监测的可行性。利用 eDNA 技术,宋伦等^[22]、LIU 等^[23]、岳一鸿等^[24]对藻类进行了监测,唐晟凯等^[25]、胡愈忻等^[26]对浮游生物进行了监测,这些研究证实了利用 eDNA 技术对水生态系统中的物种进行识别与监测,全面评估区域物种资源状况的潜力。

2.1.2 濒危物种和入侵物种监测

濒危物种保护和外来入侵物种防治是维持生态系统平衡、保护全球生物多样性的的重要举措。一般情况下,入侵物种早期阶段和濒危物种的物种数量低,利用传统的形态学监测方法难以及时发现,这增加了珍稀物种灭绝和外来物种大规模繁殖的风险,影响到生态系统结构的稳定性。尽早掌握濒危物种和入侵物种早期阶段的分布范围、演变趋势等基本信息是监测工作的关键^[27-29],已有研究利用 eDNA 技术完成了对典型入侵物种克氏原螯虾的监测^[30],还有研究利用 eDNA 技术检出了全球第四只斑鳖。利用 eDNA 技术还实现了对美国牛蛙^[31]、亚洲鲤鱼^[32]、斑马贻贝^[33]、蓝

腮太阳鱼^[34]等入侵物种,江豚^[35]、欧白鲑^[36]、野生娃娃鱼^[37]、澳洲麦氏鲑^[38]、长鳍金枪鱼^[39]等濒危物种的监测,这些证实了 eDNA 技术在入侵物种的及时监测预警、珍稀物种的追踪研究等方面的应用价值与潜力。

2.2 生物量评估

已有研究表明,某一物种释放的 eDNA 浓度和其生物量呈正相关关系^[40],此结论为生物资源的综合评估提供了一个新的思路。孙晶莹等^[41]选取太湖流域常见的 5 种浮游动物为研究对象,利用 eDNA 技术对其开展了生物量监测研究,发现在选择合适引物的基础上,eDNA 技术可实现对浮游动物的半定量检测。李苗等^[42-43]在建立优化中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*) eDNA 操作流程的基础上,进一步对 eDNA 在水体中的存留时间进行了研究,这些研究对中国对虾进行定量的生物量评估至关重要。秦传新等^[44]分别综述了实验室可控环境和野外环境条件下利用 eDNA 技术进行生物量评估的研究进展,并提出要更多地关注影响 eDNA 释放、迁移、降解的因素,进而为生物量评估提供重要的依据。尽管目前已有众多针对鱼类、两栖动物等物种生物量估算的研究,但由于不同物种释放 eDNA 的浓度和速度不尽相同,想要实现跨类群的生物量评估还需要 eDNA 技术更深入的发展。

2.3 生物食性分析

以往的食性分析多基于形态学鉴定、同位素追踪等方法^[45],对濒危性、夜行性以及生活习性难以掌握的生物测定难度较大。近年来 eDNA 技术被广泛应用于动物食性的分析,其最大的优势在于能进行快速精准的测定,有利于精确解析动物食物网的关系和生态系统的功能。周天成等^[46]利用基因测序技术分析了一种海洋贝类——塔形马蹄螺(*Tectus pyramis*)的食物组成并推测其属于沉积物碎屑食性生物,测序结

表2 eDNA技术用于水生态监测的应用实例
Table 2 Application examples of eDNA in aquatic ecosystem monitoring

监测生物类群 Biological groups	监测地点 Location	引物序列 Primer sequences	研究结果 Results of research	参考文献 Reference
浮游动物	太湖	COI-F: WACWGGWTGAACWGTWTAYCCYCC COI-R: TAAACTTCAGGGTGACCAARAAYCA 18SV9-F: TCCCTGCCHTTTGTACACAC 18SV9-R: CCTTCYGCAGGTTACCTAC 16S-F: GACTGTGCTAAGGTAGCRTRAT 16S-R: TAATCCAACATCGAGGTMGYA	3对常见引物检出的浮游动物种类具有较大的差异,且每对引物用于生物监测的适用范围不同	[10]
真核藻类	中国东部的6个湖泊和5个水库	18SV7-F: GGCTTAATTTGACTCAACRCG 18SV7-R: GGGCATCACAGACCTGTTAT	eDNA技术和传统形态学鉴定这两种监测方法的藻类监测结果有差异,且eDNA技术的覆盖度较高	[11]
	滇池和抚仙湖	18SV9-F: TCCCTGCCHTTTGTACACAC 18SV9-R: CCTTCYGCAGGTTACCTAC	证实了eDNA技术用于监测高原湖泊浮游藻类的精确性及可行性	[12]
	辽河流域	Euk-F: GGCAAGTCTGGTGCCAG Euk-R: GACTACGACGGTATCTRATCRTCCTTCG	eDNA技术可表征辽河真核浮游藻类群落的结构	[13]
原核生物、真核生物和脊椎生物的组合	黑海	16SV3-F: ACCTACGGGRSGCWGCAG 16SV3-R: ATTACCGCGGCTGCTGG 18SV9-F: TCCCTGCCHTTTGTACACAC 18SV9-R: CCTTCYGCAGGTTACCTAC 12S-F: ACACCGCCCGTCACTCT 12S-R: CTTCCGGTACACTTACCATG	监测了黑海整体的生物多样性,从细菌到海洋哺乳动物	[14]
	沙颍河流域	16SV3-F: CCTACGGGRSGCWGCAG 16SV3-R: ATTACCGCGGCTGCTGG 18SV9-F: TCCCTGCCHTTTGTACACAC 18SV9-R: CCTTCYGCAGGTTACCTAC COI-F: ACWGGWTGRACWGTNTAYCC COI-R: TCDGGRTGNCCRAARAAYCA	在明确研究区生物组成的基础上,研究人类活动对生态系统中生物多样性的影响	[15]
鱼类	北京未名湖、昆明湖和官厅水库	Tele02-F: AAACCTCGTGCCAGCCACC Tele02-R: GGGTATCTAATCCCAGTTTG	采样方案不同对检出鱼类的丰度及群落结构等有影响	[8]
	象山港水域	Fish-F: GTCGGTAAAACTCGTGCCAGC Fish-R: CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTG	利用eDNA技术揭示了象山港主要鱼类群落的种类组成和多样性特征	[16]
蚌类	鄱阳湖流域	16S rRNA-3L: TGAGCGTGCTAAGGTAGC 16S rRNA-4H: AGCCAACATCGAGGTCGC 等11对引物	筛选适合用于蚌类eDNA生物多样性研究的引物,并证明eDNA方法调查效率更高且准确度更高	[17]

果共获得41个OTU,分属11个门类,其中有孔虫、真菌、后生动物是其消化道中存在的重要类群。除此之外,eDNA技术还被用于多种海洋生物的食性研究,如刺参、龙虾、方星格虫等^[47]。

食性分析是生态学研究的重点,也是了解水生生物与环境关系及捕食者与被捕者关系的基础,是对已有食物链研究的重要补充^[48],对研究区内食物网结构的重建和生态调控具有重要意义。但世界上绝大多数生物的食性分析还处于较为粗略的定性描述阶段,eDNA技术将会成为人类更全面明确生物食性、研究食物链/网结构的有利工具。

2.4 生态风险评估

生态风险评估是生态毒理学研究中的重要且基础内容,传统生态毒理学方法强调对化学物质暴露过程的评估,忽视了对群落结构及生态系统基本功能的影响,评估结果具有一定的应用局限性。ZHANG^[49]

认为eDNA技术开拓了生态毒理学研究的新时代,该技术既可解决当前生态风险评估存在的问题,又可扩展未来生态毒理学研究的领域和方法。YANG等^[50]、LI等^[51]利用eDNA技术监测了水体中的原核生物、真核生物等生物群落结构,评估了其pH、总氮、总磷等环境因子的关系;XIE等^[52]利用eDNA技术评估了漏油对沿海沉积物中细菌、原生动物、后生动物群落的影响;YANG等^[53]探究了铜的不同浓度对湿地沉积物中原核生物和真核生物多样性、群落结构以及生物间关系的影响。这些研究推动着eDNA技术在生态系统监测、污染诊断和生态修复等方面更深入的应用。

2.5 生物流行病的预测与预防

疾病生态学是用生态学观点研究环境、宿主和病原体之间关系及其发展规律的新学科,其能明确疾病进化和生态之间的相互作用,预测疾病爆发的方式和

地点,指导相关部门的管理决策,有效预防生物流行病的传播。当前,eDNA技术已用于研究水体中的寄生虫疾病^[54]。CARRARO等^[55-56]、GOMES等^[57]通过研究证实了eDNA技术用于预测预防水体寄生虫爆发的潜力。其中CARRARO等^[55]以瑞士Wigger分水岭为研究区,以对本地鲑鱼物种有极大影响的增生性疾病(Proliferative kidney disease, PKD)为研究对象,绘制了其病原体*F. sultane*的DNA浓度分布图,并建立了研究水传播疾病的流行病学和疾病动力学模型;同时利用eDNA技术对整个河流上游网络中引发鲑鱼疾病的固着无脊椎动物*F. sultane*及其寄生虫*T. bryosalmonae*的分布和丰度进行了估计,通过这两种生物的生物量变化来预测PKD在研究区内的传染状况^[56]。这项研究开启了利用eDNA技术估计目标物种在研究区内分布情况及有效预测预防流行病传播的新模式,而传统的调查方法迄今还无法做到这一点。

3 eDNA技术应用的局限性与改进

和传统生物监测方法相比,eDNA技术具有非入侵性、高灵敏度、不受环境条件限制等优势,但也存在一系列有待完善的问题,在实际应用过程中存在局限,还不能完全取代传统的调查方法,这些问题制约着eDNA技术的应用。

3.1 缺乏标准化的操作流程

选择效果最佳、最经济便捷的操作流程与方案一直是科研人员关注的焦点,随着eDNA技术的不断发展及研究团队的壮大,eDNA技术实验方案也在不断增加。已有研究表明,不同的DNA捕获与提取方案^[9,58]会对最终的监测结果产生影响。但因受采样环境、采样范围、监测目标物种等多重因素的限制,当前缺乏一套通用的eDNA技术标准化操作流程。研究者在研究过程中采取的操作方法不尽相同,导致研究结果的对比性差,存在一些争议^[17,28]。今后应加强eDNA技术在水生态研究中应用的普适性研究,使eDNA技术能更广泛地应用于水生生态监测中。需要综合考虑不同类型水生生物的生活特征,对eDNA技术的整个操作流程进行优化,针对不同目标物种与研究目的,明确与细化采样、提取、PCR扩增、分析等的操作指南与技术规范,从而建立一个规范统一的操作方案与流程,以推动eDNA技术更广泛的应用与发展。

3.2 监测精度及准确性有待提高

eDNA在水体中释放的浓度及其分布受到水动力条件^[59]、水体温度及光照条件^[60]、季节变化、生物活

动等多种因素的影响,还与人类活动干扰强度密切相关,且eDNA会随着时间和各环境因子的改变而发生降解。当前研究大多未考虑外界环境条件变化对DNA分布的影响^[5],使得监测结果与实际情况存在一定的误差。近年来国内外学者针对这一问题进行了有效探索,主要集中在季节变化对特定生物eDNA的影响^[35],水体温度及营养条件与eDNA降解之间的关系^[61]等方面,但这些研究具有个案特征,并不能作为普遍的规律指导eDNA的广泛应用,eDNA时空尺度研究的精确度还有待提升。为此,需要研究者在模拟并建立外界干扰和物种分布之间对应关系的基础上^[7],积极探究影响eDNA产生和降解速率的环境因素,进而更好地为生物量评估和生物流行病的预测预防等相关工作的开展提供理论基础。

3.3 假阳性和假阴性错误无法避免

假阳性和假阴性错误是基于研究区目标物种的DNA是否被检出以及目标物种是否真实存在而产生的,主要受技术敏感性、引物偏倚性等因素的影响^[35]。在实际操作中,假阳性和假阴性错误的出现可能会带来较大的损失,尤其是在濒危物种和入侵物种的监测中,物种的误判对生态系统的影响是巨大甚至是毁灭性的。为了尽可能减少假阳性和假阴性错误的出现,需提高引物的通用性,严格控制实验操作过程的准确性,设置阳性和阴性对照以保证实验结果的可靠性,对实验中的外来污染和交叉污染进行实时监控,还可以结合其他鉴定方法进行对比分析,校核实验结果,从而提高eDNA技术用于生物监测的有效性和可靠性。

3.4 物种参考数据库需要完善

基因测序序列和物种参考数据库的比对是保障eDNA技术应用准确性的关键环节。主要在于,物种参考数据库的完整性和质量直接影响着特异性DNA条形码的可用性,进而影响生物多样性的监测结果,更决定着运用eDNA技术进行物种鉴定的可靠性^[62-63]。数据库的不完整可能会导致大量的基因序列无法被注释,造成海量遗传信息的遗失。近年来,NCBI、SILVA、Greengenes、PR2等一些常用的公共数据库的数据在不断更新和完善,也有研究者在积极建立研究区的本土生物基因库,如:太湖浮游生物基因库^[64-65]、中国的底栖动物条形码数据库^[66]等,但数据库的容量依旧不足。为保证结果有效性和数据可用性,同时提高基因序列注释到种水平的概率,可从两个方面改进:一是建立本土基因库,加强全球资源和成果共享;二是完善和优选现有数据库,建立一个生物类

群更多、基因序列更全的公共数据库。

3.5 eDNA 丰度和生物体数量的关系需要进一步明确

eDNA 技术只能从序列数量推断 OTU 的相对丰度,虽然可利用实时荧光定量 PCR 等方法对特定 DNA 进行绝对定量,但对于还原形态学方法中的物种绝对丰度或生物量的预期,仍然相差甚远。目前多采用多引物法或仅对单一类群的特异基因测序结果进行分析,以弥补 eDNA 监测技术还原度低的问题。近年来,物种的基因拷贝数、基因组大小、生物体积大小等因素逐渐被纳入到矫正因子的参数选择中^[67],也有研究者在探索不依赖于形态学分类注释的描述群落结构和多样性的 eDNA 监测和数据分析方法^[68-69],这进一步丰富了 eDNA 与生物体对应关系的研究体系。

4 总结与展望

在水生态监测研究中,传统的形态学生物监测方法受耗时长、难度大、成本高等因素的限制,无法实现对水生生物的精准监测和识别。eDNA 技术目前虽然也存在着流程不规范统一、数据库不完善等问题,但其具有的省时高效、灵敏度高、环境友好等优势,正推动着该技术成为生物多样性监测和评估的一个强有力工具。因此,eDNA 技术和传统监测方法的互相补充才能为全球大规模、高效率的生物监测提供技术支撑。

eDNA 技术是分子生态学发展的重要产物,它将极大地提升人类从生态系统中获取数据的能力,未来关于 eDNA 的进一步发展将涉及技术和应用两个层面。技术方面,在解决技术流程、监测精度、水生生物种数据库等问题的同时,应加强新兴测序技术及平台的研发,将基因测序结果和监督式机器学习进行有效结合,实现水生态监测的智能化,不断提高监测效率,使更大批量的测序成为可能,还应将 eDNA 技术引入水生生物的食物网/链研究中,丰富 eDNA 研究的技术体系。应用方面,一是在稳步推进 eDNA 技术应用于水域生物多样性与水生态监测等常规研究的同时,还应拓展 eDNA 技术在水生态系统的研究领域,加强该技术在水域食物链/网重构、流域营养盐控制、流域生态调控与管理中的应用;二是要积极开展试点性研究,尝试将 eDNA 技术引入国家水环境与水生态监测体系,编制并完善与 eDNA 技术应用及实施相关技术的指南、导则与方法,进而实现 eDNA 技术在水生态环境监测领域更广泛的应用。

参考文献:

- [1] HANFLING B, LAWSON H L, READ D S, et al. Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods[J]. *Molecular Ecology*, 2016, 25 (13): 3101-3119.
- [2] TABERLET P, COISSAC E, HAJIBABAEI M, et al. Environmental DNA[J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(8): 1789-1793.
- [3] 高天翔, 陈治, 王晓艳. 近海鱼类多样性调查新方法——环境 DNA 分析技术[J]. 浙江海洋大学学报(自然科学版), 2018, 37(1): 1-7.
- [4] GAO T X, CHEN Z, WANG X Y. Environmental DNA, a new method for fish diversity investigation in the coastal waters[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University(Natural Science)*, 2018, 37(1): 1-7.
- [5] 马鸿娟, STEWART KATHRYN, 马利民, 等. 环境 DNA 及其在水生生态系统保护中的应用[J]. 生态学杂志, 2016, 35(2): 516-523.
- [6] MA H J, STEWART K, MA L M, et al. Environmental DNA and its application in protecting aquatic ecosystems[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(2): 516-523.
- [7] 陈炼, 吴琳, 刘燕, 等. 环境 DNA metabarcoding 及其在生态学研究中的应用[J]. 生态学报, 2016, 36(15): 4573-4582.
- [8] CHEN L, WU L, LIU Y, et al. Application of environmental DNA metabarcoding in ecology[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(15): 4573-4582.
- [9] 张辉, 线薇薇. 环境 DNA 技术在生态保护和监测中的应用[J]. 海洋科学, 2020, 44(7): 96-102.
- [10] ZHANG H, XIAN W W. Application of environmental DNA technology in ecological conservation and monitoring[J]. *Marine Sciences*, 2020, 44(7): 96-102.
- [11] 李萌, 尉婷婷, 史博洋, 等. 环境 DNA 技术在淡水底栖大型无脊椎动物多样性监测中的应用[J]. 生物多样性, 2019, 27(5): 480-490.
- [12] LI M, YU T T, SHI B Y, et al. Biodiversity monitoring of freshwater benthic macroinvertebrates using environmental DNA[J]. *Biodiversity Science*, 2019, 27(5): 480-490.
- [13] ZHANG S, LU Q, WANG Y Y, et al. Assessment of fish communities using environmental DNA: Effect of spatial sampling design in lentic systems of different sizes[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2020, 20(1): 242-255.
- [14] DEINER K, WALSER J C, MACHLER E, et al. Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA[J]. *Biological Conservation*, 2015, 183: 53-63.
- [15] 高旭, 杨江华, 张效伟. 浮游动物 DNA 宏条形码标志基因比较研究[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(2): 61-70.
- [16] GAO X, YANG J H, ZHANG X W. Study on the selection of marker genes in zooplankton DNA metabarcoding monitoring[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, 15(2): 61-70.
- [17] HUO S L, LI X C, XI B D, et al. Combining morphological and metabarcoding approaches reveals the freshwater eukaryotic phytoplankton community[J]. *Environmental Sciences Europe*, 2020, 32(1): 1-14.
- [18] 张丽娟, 徐杉, 赵峥, 等. 环境 DNA 宏条形码监测湖泊真核浮游植物的精准性[J]. 环境科学, 2021, 42(2): 796-807.
- [19] ZHANG L J, XU S, ZHAO Z, et al. Precision of eDNA metabarcoding technology for biodiversity monitoring of eukaryotic phytoplankton in lakes[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(2): 796-807.

- [13] 王靖淇, 王书平, 张远, 等. 高通量测序技术研究辽河真核浮游藻类的群落结构特征[J]. 环境科学, 2017, 38(4): 1403–1413. WANG J Q, WANG S P, ZHANG Y, et al. Community structure characteristics of eukaryotic planktonic algae in Liaohe River through high-throughput sequencing[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(4): 1403–1413.
- [14] ZHANG Y, PAVLOVSKA M, STOICA E, et al. Holistic pelagic biodiversity monitoring of the Black Sea via eDNA metabarcoding approach: From bacteria to marine mammals[J]. *Environment International*, 2020, 135: 105307.
- [15] LI F L, FLORIAN A, YANG J H, et al. Human activities' fingerprint on multitrophic biodiversity and ecosystem functions across a major river catchment in China[J]. *Global Change Biology*, 2020, 26(12): 6867–6879.
- [16] 凌建忠, 姜亚洲, 孙鹏, 等. 环境DNA技术在象山港水域鱼类多样性调查中的应用与评估[J]. 中国水产科学, 2021, 28(2): 205–214. LING J Z, JIANG Y Z, SUN P, et al. Application and evaluation of environmental DNA technology in fish research in Xiangshan Bay[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(2): 205–214.
- [17] 陈金萍, 周春花, 欧阳珊, 等. 鄱阳湖流域蚌类环境DNA宏条形码引物的筛选验证[J]. 湖泊科学, 2021, 33(4): 1254–1264. CHEN J P, ZHOU C H, OUYANG S, et al. Universal primers screening and verification for environmental DNA metabarcoding of freshwater mussels in the Lake Poyang basin[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2021, 33(4): 1254–1264.
- [18] THOMSEN P F, KIELGAST J, IVERSEN L L, et al. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e41732.
- [19] 赵梦迪. 利用环境DNA分析冬季中国东黄海海域的鱼类多样性[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017: 40–47. ZHAO M D. Analysis of fish diversity of the east China sea and the Yellow Sea in winter using environmental DNA[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017: 40–47.
- [20] SIGSGAARD E E, TORQUATO F, FRØSLEV T G, et al. Using vertebrate environmental DNA from seawater in biomonitoring of marine habitats[J]. *Conservation Biology*, 2020, 34(3): 697–710.
- [21] 杨海乐, 吴金明, 张辉, 等. 大型河流中鱼类组成的eDNA监测效率——以长江武汉江段为例[J]. 中国水产科学, 2021, 28(6): 796–807. YANG H L, WU J M, ZHANG H, et al. Efficiency of using environmental DNA metabarcoding to monitoring large river fish species composition: A case study in the Wuhan transect of the Yangtze River[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(6): 796–807.
- [22] 宋伦, 吴景, 宋广军, 等. 基于环境DNA技术的辽东湾真核微藻群落结构特征[J]. 生态学报, 2020, 40(17): 6243–6257. SONG L, WU J, SONG G J, et al. Characteristics of phytoplankton community structure in Liaodong Bay based on environmental DNA technology[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(17): 6243–6257.
- [23] LIU S Y, GIBSON K, CUI Z M, et al. Metabarcoding analysis of harmful algal species in Jiaozhou Bay[J]. *Harmful Algae*, 2020, 92: 101772.
- [24] 岳一鸿, 傅志伟, 陈学萍, 等. 乌江流域某水库浮游藻类群落结构及多样性分析[J]. 上海大学学报(自然科学版), 2021, 27(1): 97–105. YUE Y H, FU Z W, CHEN X P, et al. Community structure and diversity phytoplankton in the Wujiang River basin reservoir[J]. *Journal of Shanghai University (Natural Science Edition)*, 2021, 27(1): 97–105.
- [25] 唐晟凯, 钱胜峰, 沈冬冬, 等. 应用环境DNA技术对邵伯湖浮游动物物种检测的初步研究[J]. 水产养殖, 2021, 42(3): 13–20. TANG S K, QIAN S F, SHEN D D, et al. Preliminary study on detection of zooplankton species in Shaobo Lake by environmental DNA technology[J]. *Journal of Aquaculture*, 2021, 42(3): 13–20.
- [26] 胡愈炘, 彭玉, 李瑞雯, 等. 基于环境DNA宏条形码的丹江口水库浮游生物多样性及群落特征[J/OL]. 湖泊科学: 1–10. (2021–07–08) [2021–07–15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1331.P.20210708.1511.006.html>. HU Y X, PENG Y, LI R W, et al. Plankton diversity and community characteristics in Danjiangkou Reservoir based on environmental DNA metabarcoding[J/OL]. *Journal of Lake Sciences*: 1–10. (2021–07–08) [2021–07–15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1331.P.20210708.1511.006.html>.
- [27] 吴昉晟, 唐永凯, 李建林, 等. 水生生物环境DNA检测技术及其应用[J]. 水产学杂志, 2018, 31(4): 48–52, 58. WU Y S, TANG Y K, LI J L, et al. Detection technology and application of aquatic environmental DNA[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2018, 31(4): 48–52, 58.
- [28] 单秀娟, 李苗, 王伟继. 环境DNA(eDNA)技术在水生生态系统中的应用研究进展[J]. 渔业科学进展, 2018, 39(3): 23–29. SHAN X J, LI M, WANG W J. Application of environmental DNA technology in aquatic ecosystem[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(3): 23–29.
- [29] 郁斯哈. 环境DNA技术在水生生物监测中的应用研究[J]. 科技视界, 2019(22): 78–79, 89. YU S Y. Application of environmental DNA technology in aquatic biological monitoring[J]. *Science & Technology Vision*, 2019(22): 78–79, 89.
- [30] 马竹欣. 利用环境DNA技术调查入侵种克氏原螯虾在元阳梯田的分布[D]. 昆明: 云南大学, 2016. MA Z X. Distribution of invasive crayfish *Procambarus clarkii* in Yuanyang terrace revealed by eDNA[D]. Kunming: Yunnan University, 2016.
- [31] FICETOLA G F, MIAUD C, POMPANON F, et al. Species detection using environmental DNA from water samples[J]. *Biology Letters*, 2008, 4(4): 423–425.
- [32] JERDE C L, CHADDERTON W L, MAHON A R, et al. Detection of Asian carp DNA as part of a great lakes basin-wide surveillance program[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2013, 70(4): 522–526.
- [33] EGAN S P, GREY E, OLDS B, et al. Rapid molecular detection of invasive species in ballast and harbor water by integrating environmental DNA and light transmission spectroscopy[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(7): 4113–4121.
- [34] TAKAHARA T, MINAMOTO T, DOI H. Using environmental DNA to estimate the distribution of an invasive fish species in ponds[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56584.
- [35] 吴昉晟, 唐永凯, 李建林, 等. 环境DNA在长江江豚监测中的应用[J]. 中国水产科学, 2019, 26(1): 124–132. WU Y S, TANG Y K, LI J L, et al. The application of environmental DNA in the monitoring

- of the Yangtze finless porpoise[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(1):124-132.
- [36] WINFILED I J, FLETCHER J M, JAMES J B, et al. Assessment of the vendace population of Bassenthwaite Lake including observations on vendace spawning grounds final report[J]. *Anesthesia and Analgesia*, 2008, 115(1):209-210.
- [37] FUKUMOTO S, USHIMARU A, MINAMOTO T. A basin-scale application of environmental DNA assessment for rare endemic species and closely related exotic species in rivers: A case study of giant salamanders in Japan[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2015, 52(2):358-365.
- [38] PIGGOTT M P. An environmental DNA assay for detecting macquarie perch, *Macquaria australasica*[J]. *Conservation Genetics Resources*, 2017, 9(2):257-259.
- [39] RIAZ M, WITTEWER C, NOWAK C, et al. An environmental DNA assay for the detection of the regionally endangered freshwater fish *Alburnoides bipunctatus* in Germany[J]. *Conservation Genetics Resources*, 2020, 12(1):41-43.
- [40] TAKAHARA T, MINAMOTO T, YAMANAKA H, et al. Estimation of fish biomass using environmental DNA[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35868.
- [41] 孙晶莹, 杨江华, 张效伟. 环境DNA(eDNA)宏条形码技术对枝角类浮游动物物种鉴定及其生物量监测研究[J]. *生态毒理学报*, 2018, 13(5):76-86. SUN J Y, YANG J H, ZHANG X W. Identification and biomass monitoring of zooplankton cladocera species with eDNA metabarcoding technology[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, 13(5):76-86.
- [42] 李苗, 单秀娟, 王伟继, 等. 中国对虾生物量评估的环境DNA检测技术的建立及优化[J]. *渔业科学进展*, 2019, 40(1):12-19. LI M, SHAN X J, WANG W J, et al. Establishment and optimization of environmental DNA detection techniques for assessment of *Fenneropenaeus chinensis* biomass[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(1):12-19.
- [43] 李苗, 单秀娟, 王伟继, 等. 环境DNA在水体中存留时间的检测研究:以中国对虾为例[J]. *渔业科学进展*, 2020, 41(1):51-57. LI M, SHAN X J, WANG W J, et al. Studying the retention time of *Fenneropenaeus chinensis* eDNA in water[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(1):51-57.
- [44] 秦传新, 左涛, 于刚, 等. 环境DNA在水生生态系统生物量评估中的研究进展[J]. *南方水产科学*, 2020, 16(5):123-128. QIN C X, ZUO T, YU G, et al. Advances in research of environmental DNA(eDNA) in biomass assessment of aquatic ecosystems[J]. *South China Fisheries Science*, 2020, 16(5):123-128.
- [45] 尹华宝, 余冠军, 王贵林, 等. 食肉目动物食性研究方法[J]. *安徽大学学报(自然科学版)*, 2008, 32(1):90-94. YIN H B, YU G J, WANG G L, et al. Studying methods of carnivore food habit[J]. *Journal of Anhui University Natural Science Edition*, 2008, 32(1):90-94.
- [46] 周天成, 胡思敏, 林先智, 等. 基于18S rDNA条形码技术的珊瑚礁区塔形马蹄螺(*Tectus pyramis*)食性分析[J]. *海洋科学*, 2020, 44(2):99-107. ZHOU T C, HU S M, LIN X Z, et al. Study on the feeding habits of *Tectus pyramis* in the coral reef ecosystem based on 18S rDNA barcoding[J]. *Marine Sciences*, 2020, 44(2):99-107.
- [47] ZHANG H, XU Q, ZHAO Y, et al. Sea cucumber(*Apostichopus japonicus*) eukaryotic food source composition determined by 18S rDNA barcoding[J]. *Marine Biology*, 2016, 163(7):1-11.
- [48] 刘刚, 宁宇, 夏晓飞, 等. 高通量测序技术在野生动物食性分析中的应用[J]. *生态学报*, 2018, 38(9):359-368. LIU G, NING Y, XIA X F, et al. The application of high-throughput sequencing technologies to wildlife diet analysis[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(9):359-368.
- [49] ZHANG X W. Environmental DNA shaping a new era of ecotoxicological research[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(10):5605-5612.
- [50] YANG J H, ZHANG X W, XIE Y W, et al. Ecogenomics of zooplankton community reveals ecological threshold of ammonia nitrogen[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(5):3057-3064.
- [51] LI F L, YANG J H, ZHANG X W, et al. Application of environmental DNA metabarcoding for predicting anthropogenic pollution in rivers[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(20):11708-11719.
- [52] XIE Y W, ZHANG X W, YANG J H, et al. eDNA-based bioassessment of coastal sediments impacted by an oil spill[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 238:739-748.
- [53] YANG J H, JEPPE K, ZHANG X W. Environmental DNA metabarcoding supporting community assessment of environmental stressors in a field-based sediment microcosm study[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(24):14469-14479.
- [54] HUVER J R, KOPRIVNIKAR J, JOHNSON P T J, et al. Development and application of an eDNA method to detect and quantify a pathogenic parasite in aquatic ecosystems[J]. *Ecological Applications: A Publication of the Ecological Society of America*, 2015, 25(4):991-1002.
- [55] CARRARO L, BERTUZZO E, MARI L, et al. Integrated field, laboratory and theoretical study of PKD spread in a Swiss Prealpine River[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, 114(45):11992-11997.
- [56] CARRARO L, HARTIKAINEN H, JOKELA J, et al. Estimating species distribution and abundance in river networks using environmental DNA[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(46):11724-11729.
- [57] GOMES G B, HUTSON K S, DOMINGOS J A, et al. Use of environmental DNA(eDNA) and water quality data to predict protozoan parasites outbreaks in fish farms[J]. *Aquaculture*, 2017, 479(1):467-473.
- [58] 黎慧, 阚霞, 魏宁, 等. 一种水环境eDNA提取方法的建立[J]. *安徽农业科学*, 2019, 47(9):108-110, 115. LI H, KAN X, WEI N, et al. Establishment of a method for environmental DNA extraction from water samples[J]. *Anhui Agricultural Sciences*, 2019, 47(9):108-110, 115.
- [59] JANE S F, WILCOX T M, YOUNG M K, et al. Distance, flow and PCR inhibition: eDNA dynamics in two headwater streams[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2015, 15(1):216-227.
- [60] PILLIOD D S, GOLDBERG C S, ARKLE R S, et al. Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian[J]. *Molecu-*

- lar Ecology Resources, 2014, 14(1):109–116.
- [61] JESSICA J E, SENDREA E B, PETER W S. Effects of temperature and trophic state on degradation of environmental DNA in lake water [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(4):1859–1867.
- [62] 杨江华. 太湖流域浮游动物物种多样性与环境污染群落生态效应研究[D]. 南京:南京大学, 2017:29–49. YANG J H. Study of zooplankton and community effects of environmental pollution communities in Taihu lake basin[D]. Nanjing:Nanjing University, 2017:29–49.
- [63] 李晗溪, 黄雪娜, 战爱斌, 等. 基于环境DNA-宏条形码技术的水生生态系统入侵生物的早期监测与预警[J]. 生物多样性, 2019, 27(5):491–504. LI H X, HUANG X N, ZHAN A B, et al. Environmental DNA (eDNA) – metabarcoding based early monitoring and warning for invasive species in aquatic ecosystems[J]. *Biodiversity*, 2019, 27(5):491–504.
- [64] 张宛宛. 基于DNA宏条形码技术的浮游植物群落多样性监测研究[D]. 南京:南京大学, 2017:36–60. ZHANG W W. Study on biodiversity monitoring of phytoplankton community based on DNA barcoding technology[D]. Nanjing:Nanjing University, 2017:36–60.
- [65] YANG J H, ZHANG X W, ZHANG W W, et al. Indigenous species barcode database improves the identification of zooplankton[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10):e0185697.
- [66] 王萌, 金小伟, 林晓龙, 等. 基于环境DNA-宏条形码技术的底栖动物监测及水质评价研究进展[J/OL]. 生态学报, 2021(18):1–14. (2021–06–15)[2021–07–15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2031.Q.20210615.1034.033.html>. WANG M, JIN X W, LIN X L, et al. Advances in the macrozoobenthos biodiversity monitoring and ecosystem assessment using environmental DNA metabarcoding[J/OL]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021(18):1–14. (2021–06–15)[2021–07–15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2031.Q.20210615.1034.033.html>.
- [67] ZHU F, RAMON M, FABRICE N, et al. Mapping of picoeucaryotes in marine ecosystems with quantitative PCR of the 18S rRNA gene[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010(1):79–92.
- [68] LAURE A P G, ARIELLE C, FRANCOIS S, et al. Taxonomy-free molecular diatom index for high-throughput eDNA biomonitoring[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2017, 17(6):1231–1242.
- [69] SAGOVA M M, BOENIGK J, BOUCHEZ A, et al. Expanding ecological assessment by integrating microorganisms into routine freshwater biomonitoring[J]. *Water Research*, 2021, 191:116767.