

大健康与新医疗

BIG DATA Health
and New Medical

2022 年

第08期



上海科学技术情报研究所
上海市前沿技术发展研究中心
技术与创新支持中心(TISC)

环境 DNA 宏条形码技术协助生态保护的监测发展

编者按

近年，伴随全球干旱、高温、瘟疫的肆虐发展，低碳环保成为热点话题。如何在社会经济稳定发展的同时，减少对环境的破坏是当前人们亟待解决的焦点。生物学的生态领域，环境 DNA 宏条形码技术是甄别生态环境分布的得利技术，也是研究生物多样性的极佳分子工具。

环境 DNA 宏条形码（environmental DNA metabarcoding）指从环境样本中提取 DNA，利用高通量测序分析获得大量 DNA 序列，通过序列检索比对检测环境中的多个物种，与传统形态学监测方法相比，环境 DNA 技术具有经济高效，流程标准化，重复性好和同时揭示遗传多样性和物种多样性等优势，是一种潜在补充甚至替代传统形态学的生物监测方法。

生物多样性研究是一项工作量巨大的长期任务，传统意义上零散的调查数据已无法满足当前的研究和管理需求，需要在流域范围内获取更全面更系统的资料，因此对调查方法的科学性和有效性、调查结果的全面性和准确性，以及对大数据的综合分析能力提出了更高的要求。eDNA 条形码技术恰好可以从技术手段上提供更加精准的数据，使人们能够更加清晰认识生态多样性，继而更好加强生态布局。

目 录

科技战略与政策	3
江苏省发布《淡水生物环境 DNA 监测技术方法》（征求意见稿）	3
上海海洋大学环境 DNA 技术与水生态健康评估工程中心成立	4
研究进展	5
环境 DNA 宏条形码监测湖泊真核浮游植物的精准性	5
长江中下游环境 DNA 宏条形码生物多样性检测技术初步研究	9
利用环境 DNA 宏条形码技术监测苏州地区小管福寿螺的入侵	12
技术应用	15
环境 DNA 宏条形码技术的新兴应用	15
环境 DNA 宏条形码技术在生态学中的应用	18
环境 DNA 宏条形码技术的应用优缺点	21

科技战略与政策

江苏省发布《淡水生物环境 DNA 监测技术方法》（征求意见稿）

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》《中华人民共和国水污染防治法》《中华人民共和国长江保护法》等法律法规，进一步规范江苏省淡水生物环境 DNA 监测技术要求，省生态环境厅组织起草了江苏省地方环境保护标准《淡水生物环境 DNA 监测技术方法（征求意见稿）》。

一、技术规范的编制

该标准围绕淡水生物监测技术发展现状及国内外研究进展展开，提出技术规范编制的必要性与可行性，即：全面支撑生物多样性保护的迫切需要、落实地方法规统一规划全省生物监测的明确要求以及现行标准和技术规范不能满足我省工作需要。

二、技术规范主要内容的制定依据

环境 DNA 宏条形码监测水生生物方法的建立和完善对于我国生物多样性监测和生物评价方法的变革具有重要意义。本标准以环境 DNA 宏条形码监测水环境生物多样性为目标，规范水环境 DNA 的采样方法和宏条形码监测方法，将促进该技术在我国的生物监测和评价体系的应用推广。

本文件规定了利用环境 DNA 宏条形码技术监测淡水生物的点位布设、监测频次与时间、试剂和材料、仪器和设备、监测内容和方法以及质量控制与评价指标。文件适用于湖泊、水库、溪流、河流、河口区等水域浮游植物、浮游动物、着生藻类、大型底栖无脊椎动物和鱼类等淡水生物监测。其他淡水生物在确定特异性引物的条件下，也可以参照执行。

除以上应用范围，还罗列规范性引用文件、术语和定义。

三、技术规范的使用建议

本标准建议为推荐性标准，不属于强制性标准。

本标准为首次制订，随着 DNA 条形码技术的快速崛起和发展，本标准中的 DNA 条形码建库方法和涉及到的相关参数也可能会随之发生变化。因此，建议在本标准实施过程中，继续广泛听取和收集各方面的意见与建议，并根据实际应用情况，对本标准进行不断地修订与完善，使其实用性和可操作性与时俱进，为

规范开展基于 DNA 条形码的水生生物种群鉴定和生物多样性监测等工作提供依据和指导。

资料来源：江苏省生态环境厅关于征求《淡水生物环境 DNA 监测技术方法（征求意见稿）》意见的函[EB/OL].（2022-07-11）.[2022-09-29].

sthjt.jiangsu.gov.cn/art/2022/7/11/art_83848_10538422.html.

上海海洋大学环境 DNA 技术与水生态健康评估工程中心成立

2022 年 8 月 28 日，上海海洋大学环境 DNA 技术与水生态健康评估工程中心（以下简称工程中心）挂牌仪式在上海海洋大学海洋科技楼举行。

一、工程中心成立背景

环境 DNA 技术是未来发展的一个重大方向，需要更进一步的深入发展。社会各界需要将环境 DNA 技术应用到实际工作中，为生态健康的可持续发展做出贡献。工程中心基于上海海洋大学海洋生物系统分类与进化上海高校重点实验室和上海海洋大学水域生态与修复实验室，联合多个学院共同成立。

二、工程中心发展目标

工程中心立足上海，辐射长三角，以科技创新、技术开发、科教科普为目标，通过建立环境 DNA 数据库，开展相关新技术的研发和应用，生物多样性监测和水生态健康评估研究等项目，围绕环境 DNA 技术与水生态健康评估等领域开展合作，取得有价值的研究成果，力争在 2—3 年内建设成上海市环境工程领域的重点工程中心。

三、学术研讨

机构成立后，进行了来自多方学者的学术研讨。代表性研究话题如下：

（1）南京农业大学——“eDNA 宏条形码技术监测中国淡水底栖动物多样性”

该主旨报告就目前运用环境 DNA 技术监测中国淡水底栖动物多样性相较于传统方法具有的诸多优势与挑战进行具体阐述，并提出进一步推动环境 DNA 数据库建设的必要性。

（2）中科院南京地理与湖泊所——“太湖水体磷浓度长期变化及其水华效应”

该主题报告阐述了太湖水域水体磷浓度的变化情况及其与太湖水华效应之间的关系，并介绍了目前取得的阶段性研究成果。

(3) 上海海洋大学——“eDNA 技术的发展前景、困境和突破”

该专题报告阐述了环境 DNA 技术自身存在的优势与未来发展方向，同时指出目前环境 DNA 技术发展面临的困境。

资料来源：上海海洋大学环境 DNA 技术与水生态健康评估工程中心挂牌[EB/OL].

(2022-08-31) . [2022-09-27]. <https://www.shou.edu.cn/2022/0829/c147a309332/page.htm>.

研究进展

环境 DNA 宏条形码监测湖泊真核浮游植物的精准性

文章以高原湖泊滇池和抚仙湖的真核浮游植物为研究对象，采用 eDNA 宏条形码生物监测技术监测真核浮游植物多样性的规范化流程，对两个湖泊的样品进行深度测序，获取适合滇池和抚仙湖藻类监测的测序深度；分别在遗传分类单元（OTU）和可注释物种分类单元（属水平）评估 eDNA 监测结果的精确性；根据以上研究结果对监测数据进行质量控制，最终获得滇池和抚仙湖的真核藻类图谱，对比和形态学监测结果的一致性；揭示滇池和抚仙湖真核藻类多样性的空间分布差异，探究并验证 eDNA 宏条形码技术监测我国湖泊真核浮游植物多样性的可行性。

1. 主要结果

测序共获 4 426 086 条原始序列，对原始序列过滤处理，获得高质量序列 4 392 050 条。DN1 和 FN1 表层水 6 个样品的平均序列 89 560 条，其余样品序列分布在 41 642~47 000 条。对高质量序列进行 OTU 聚类，共获得 3 960 个 OTUs，其中有 2 658 个 OTUs 能被数据库注释，属于真核浮游藻类的 OTU 共 1 040 个，占总注释 OTUs 的 39.13%。有 765 个 OTU 能被注释到属水平，占总序列数的 32.40%。

1.1 基于环境 DNA 宏条形码监测生物多样性的精确性评价

1.1.1 遗传多样性（OTU）的精确性评价

3 个生物平行样品中均出现的 OTU 交叉率达到 $45.97\% \pm 1.67\%$ ，至少在两个平行样中出现的 OTU 所占比例为 $68.01\% \pm 1.98\%$ 。3 个平行样品考虑序列数目权重的 OTU 交叉率达到 $92.83\% \pm 2.74\%$ （表 1）。

Sample	OTU	Sequence	Reads	Genus	Species
Sample 1	OTU1	1000	1000	Genus1	Species1
Sample 1	OTU2	500	500	Genus2	Species2
Sample 1	OTU3	200	200	Genus3	Species3
Sample 1	OTU4	100	100	Genus4	Species4
Sample 1	OTU5	50	50	Genus5	Species5
Sample 1	OTU6	20	20	Genus6	Species6
Sample 1	OTU7	10	10	Genus7	Species7
Sample 1	OTU8	5	5	Genus8	Species8
Sample 1	OTU9	2	2	Genus9	Species9
Sample 1	OTU10	1	1	Genus10	Species10
Sample 2	OTU1	1000	1000	Genus1	Species1
Sample 2	OTU2	500	500	Genus2	Species2
Sample 2	OTU3	200	200	Genus3	Species3
Sample 2	OTU4	100	100	Genus4	Species4
Sample 2	OTU5	50	50	Genus5	Species5
Sample 2	OTU6	20	20	Genus6	Species6
Sample 2	OTU7	10	10	Genus7	Species7
Sample 2	OTU8	5	5	Genus8	Species8
Sample 2	OTU9	2	2	Genus9	Species9
Sample 2	OTU10	1	1	Genus10	Species10
Sample 3	OTU1	1000	1000	Genus1	Species1
Sample 3	OTU2	500	500	Genus2	Species2
Sample 3	OTU3	200	200	Genus3	Species3
Sample 3	OTU4	100	100	Genus4	Species4
Sample 3	OTU5	50	50	Genus5	Species5
Sample 3	OTU6	20	20	Genus6	Species6
Sample 3	OTU7	10	10	Genus7	Species7
Sample 3	OTU8	5	5	Genus8	Species8
Sample 3	OTU9	2	2	Genus9	Species9
Sample 3	OTU10	1	1	Genus10	Species10

表 1 eDNA 宏条形码监测数据的精确性评价结果 /%Table
1 Biodiversity Precision assessment based on eDNA metabarcoding data/%

单因素方差分析显示生物重复之间的 OTU 多样性无显著差异 ($P > 0.1$)。基于多样性指数计算生物重复之间 OTU 多样性的 CV 值，丰富度的 CV 值为 $7.54\% \pm 2.60\%$ ，香农指数和 Pielou 均匀度的 CV 值分别为 $2.82\% \pm 1.70\%$ 和 $3.55\% \pm 1.59\%$ ，均低于 5% [表 1 和图 1(a)]。

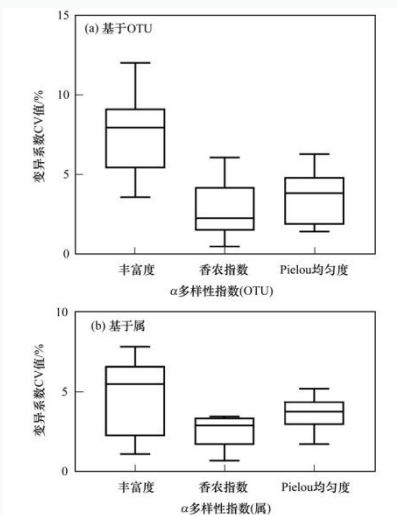


图 1 基于 OTU 和属的 α 多样性指数的精确性 Fig.
4 Degree of precision of α biodiversity index

1.1.2 可注释物种多样性（属分类单元）的精确性评价

在属水平上, 3 个平行样品的交叉率达到 $64.21\% \pm 3.25\%$ ，至少出现在两个平行样的属所占比例为 $84.16\% \pm 3.76\%$ (表 1)。若考虑序列数目权重, 则 3 个平行样品的属交叉率达到 $98.41\% \pm 0.51\%$ 。

单因素方差分析显示生物重复之间的属 α 多样性无显著性差异 ($P > 0.1$)。在属水平, 丰富度的 CV 值为 $4.71\% \pm 2.30\%$ ，香农指数和 Pielou 均匀度的 CV 值分别为 $2.51\% \pm 0.98\%$ 和 $3.63\% \pm 0.95\%$ ，均小于 5% [表 1 和图 1(b)]。

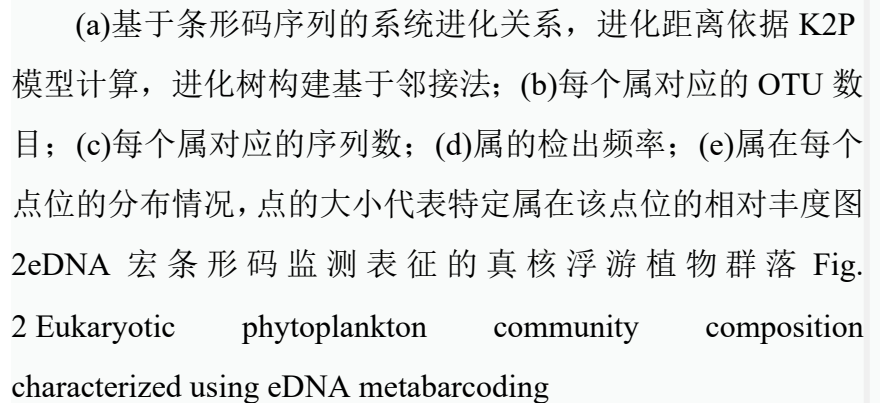
1.2 eDNA 宏条形码监测高原湖泊真核浮游植物多样性

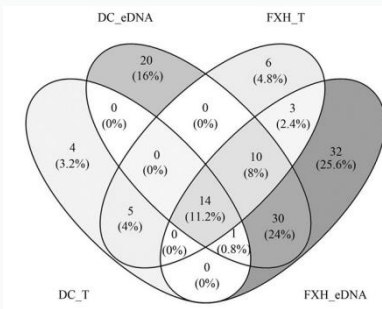
1.2.1 eDNA 宏条形码监测滇池和抚仙湖真核浮游植物组成

滇池共监测到真核藻类 75 个属, 分属于 8 门 13 纲 23 目 49 科。其中绿藻门和硅藻门为主要优势类群, 绿藻门有 33 属, 占总序列数的 40.27%, 共识别硅藻 14 属, 占总序列数的 41.67%。优势属为冠盘藻, 栅藻和隐藻属(图 2)。

1.2.2 eDNA 宏条形码和传统形态学监测结果的比较

eDNA 宏条形码覆盖了滇池 62.5%和抚仙湖 71.05%的形态学监测数据,表明两种方法监测结果具有较高一致性(图 3)。同时 eDNA 宏条形码检测到金藻门,褐藻门和定鞭藻门等显微镜鉴定未识别的类群。



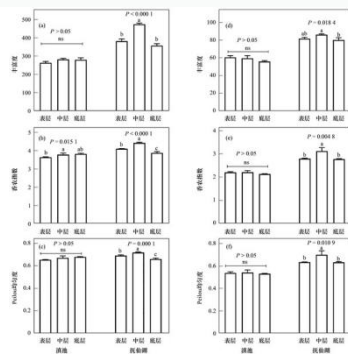


DC: 滇池 FXH: 抚仙湖; T: 形态学监测结果; eDNA: 环境 DNA 宏条形码监测结果; 括号外、内数字分别表示该区域的属数目及所占比例图 3 eDNA 宏条形码和形态学监测真核浮游植物在属水平的比较 Fig. 3 Comparison of metabarcoding data with traditional monitoring data at the genus level

1.3 不同空间尺度生物多样性的差异

1.3.1 生物多样性的垂直差异

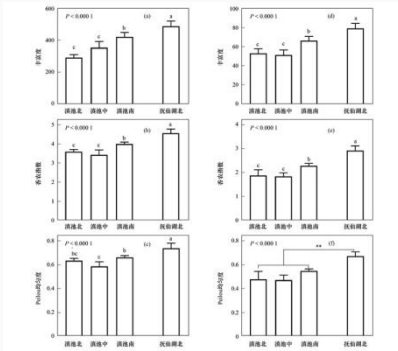
滇池 DN1 位点不同水深的真核藻类多样性无明显差异, 抚仙湖 FN1 位点的真核藻类多样性具有显著垂直分布特征。滇池属于浅水型湖泊, 分别取 0.5、2 和 4 m 水深的样品进行生物多样性分析, 基于 OTU 计算的真核藻类香农指数存在显著性差异($P=0.015$), 其余多样性参数无明显差异($P>0.05$)。基于抚仙湖 FN1 点位的不同水深 OTU 数据获得的丰富度, 香农指数和 Pielou 均匀度均存在显著性差异($P<0.05$), 10 m 左右水层真核藻类的种类最丰富, 生物多样性最高, 均匀度也略高, 其次为表层水。在可注释分类单元属水平, 中层水(10 m)的真核藻类多样性显著高于表层水和底层水, 但是 level 表层水和底层水的生物多样性无显著差异(图 4)。



(a)~(c)基于 OTU 的生物多样性差异; (d)~(e)基于可注释分类单元属的生物多样性差异; ns: 无显著性差异($P>0.05$); 不同字母表示显著性差异($P<0.05$)图 4 滇池和抚仙湖不同水深的生物多样性差异 Fig. 4 Differences in biodiversity determined at different depths at the OTU and genus level

1.3.2 区域间生物多样性差异

抚仙湖北的生物多样性明显高于滇池各区域, 滇池南部的生物多样性明显高于中部和北部。基于 OTU 和属分类单元的真核藻类多样性结果均显示, 滇池南部的丰富度和香农指数明显高于滇池中部和北部, 滇池北和滇池中部的差异不显著。抚仙湖北的真核藻类的 OTU 和属对应的香农指数分别为 4.55 ± 0.73 和 2.92 ± 0.17 , 生物多样性明显高于滇池不同区域($P<0.05$, 图 5)。



(a)~(c)基于 OTU 的生物多样性差异; (d)~(f)基于可注释分类单元属的生物多样性差异; **代表 $P < 0.01$; 不同字母表示显著性差异($P < 0.05$)图 5 不同区域的生物多样性差异 Fig. 5 Biodiversity differences among regions

2. 主要结论

研究证实新型的 eDNA 宏条形码技术可应用于湖泊真核浮游植物多样性监测。和传统形态学相比，eDNA 宏条形码监测具有多方面优势：如采样可在时间上提高采样频率，空间上设置更多的监测位点，可用于真核浮游植物群落的跨生态系统和跨时间比较。为进一步推动 eDNA 宏条形码监测技术的规范化，未来可开展跨实验室比对验证实验，通过采用统一的 eDNA 宏条形码标准化分析流程，在不同实验室由不同操作者进行重复，对监测结果进行验证比较；并在推广实践过程中需要评估监测结果的准确性，并且做好质量控制。

资料来源：张丽娟，徐杉，赵峥，周小华，冯庆，杨江华，李飞龙，王志浩，张效伟. 环境

DNA 宏条形码监测湖泊真核浮游植物的精准性. 环境科学, 2021, 42(2): 796-807.

长江中下游环境 DNA 宏条形码生物多样性检测技术初步研究

长江是我国淡水资源的宝库，但多年来受人类活动影响，长江生物多样性持续下降，水生态保护形势严峻。

长江中下游具有独特的江湖生态系统，分布有多种重要经济鱼类，也是濒危水生动物的重要栖息地，而长江中下游因流量大、泥沙含量高、物种资源衰退等因素对环境 DNA 检测提出了巨大挑战。该研究在长江中下游 3 个江段（新滩、安庆和芜湖）采集水样，利用通用分子标记建立长江水样环境 DNA 宏条形码物种检测体系，分析该方法在长江水生物种类组成和资源量评估中的有效性，旨在探索高敏感度非入侵式的长江生物多样性监测新方法，以期为长江水生态监测体系建设提供技术支撑。

1. 研究方法

主要方法：环境 DNA 样本的采集、目的基因片段的扩增、对扩增子的高通量测序以及数据的生物信息学分析。

2. 主要结果

2.1 水样环境 DNA 物种注释

2.1.1 种类组成

长江中下游干流新滩、安庆、芜湖 3 个江段水样环境 DNA 宏条形码检测共得到有效拼接序列 334 623 条，平均序列长度为 285 bp，聚类得到 425 个 OTU，其中在数据库中达到匹配的 OTU 为 54 个（总序列数 162 398），共注释 10 目 13 科 32 种，其中鱼类 20 种、水生哺乳动物 1 种、鸟类 4 种、陆生哺乳动物 7 种。鱼类包括鲤形目、鲇形目、鲈形目和鲱形目物种，其中鲤形目物种数最多；水生哺乳动物为国家一级保护动物长江江豚，是长江中唯一现存的水生哺乳动物，也是目前中国唯一的淡水豚类；鸟类包括家禽和野生物种；陆生哺乳动物包括偶蹄目牲畜、褐家鼠和人。

所有注释物种中，水生物种数占 65.6%，其他为陆生动物。以无脊椎动物为主要对象的环境 DNA 宏条形码研究报道了河流水样环境 DNA 包含水生和陆生生物群落的多样性信息。该研究以脊椎动物为主要对象，结果表明，长江水样环境 DNA 包含水生和陆生物种信息，通过环境 DNA 宏条形码可检测多类群物种。该研究采样点位于人口密集的城镇江段，水样中检测到的陆生物种大多与人类生产生活息息相关，水样环境 DNA 物种组成体现出人类活动与河流生态系统的密切联系。

2.1.2 序列相对丰度

在所有注释物种中，鱼类序列数占总序列数的 78.5%，其中鲤形目序列数占鱼类总序列的 96.2%，鲱形目占 3.5%，鲇形目占 0.2%，鲈形目占 0.1%。在 20 种鱼类物种中，序列数排序前 5 位的依次为鲢、团头鲂、青鱼、短颌鲚和草鱼，各物种序列数在鱼类中占比依次分别为 52.5%、23.7%、17.0%、3.5%和 1.3%。水生哺乳动物长江江豚的序列数在所有注释水生物种中占比约为 1/4 000。陆生物种中，序列相对丰度最高的是鸡，其序列数占陆生物种总序列数的 96.0%，其次为人（占比为 2.6%）、鸿雁（占比为 0.8%）、牛（占比为 0.6%）和绵羊（占比为 0.2%）。综合种类数量和序列相对丰度，长江中下游水样环境 DNA 主要包含水生物种信息，鱼类是水生脊椎动物的主要类群，其中鲤形目占绝大多数。

2.2 水生物种分布和资源量

2.2.1 鱼类

该研究通过水样环境 DNA 检测到的 20 种鱼类均为在长江中下游传统鱼类资源调查中出现过的物种, 包括构成重要渔业资源的经济鱼类草鱼、青鱼、鲢、鳙、鲤、鲫等。环境 DNA 检测到的 4 个类目是长江中下游渔获物中的主要类目, 在所有 20 种鱼类中, 鲤形目种类数占总种类总数的 60%, 鲇形目占 25%, 鲈形目占 10%, 鲱形目占 5%。长江鱼类资源的特点是鲤科鱼类种类多, 该次环境 DNA 检测结果也显示, 鲤科种类占多数。在已报道的长江中下游干流渔获物调查中, 鲤科种类占 52%~61%, 该次环境 DNA 检测鲤科种类占鱼类种类总数的 50%~60%。在上述渔获物调查中, 鲇形目、鲈形目和鲱形目分别占 11%~22%、12%~19% 和 3%~6%, 该次环境 DNA 检测结果显示, 其分别占 18%~23%、0~12% 和 0~6%。水利部中国科学院水工程生态研究所于 2017 年 3 月在芜湖江段开展了 6 d 渔获物调查, 记录每日渔民单船渔获物种类, 各类目鱼类种类数从多到少依次为鲤形目、鲇形目、鲈形目和鲱形目。

2.2.2 长江江豚

安庆采样点的长江江豚环境 DNA 检出率和 DNA 序列相对丰度在 3 个采样点中都是最高的, 与传统调查中长江江豚密度最高的江段相一致。与 2017 年江豚科学考察结果相比, 新滩采样点处于长江江豚分布密度居中的江段, 位于长江新螺段白鱄豚国家级自然保护区内靠近下游边界, 该保护区也是长江江豚的聚集地; 而芜湖采样点处于江豚分布密度最低的江段, 距离上游铜陵淡水豚国家级自然保护区下游边界约 60 km。该次环境 DNA 检测结果表明, 长江中下游干流长江江豚环境 DNA 检出率和序列相对丰度与其密度分布相符合, 但利用环境 DNA 宏条形码进行长江江豚群体分布和资源量的监测还需要针对性的开展进一步研究。

3. 结论

(1) 长江中下游干流新滩、安庆和芜湖 3 个江段的水样环境 DNA 宏条形码分析共检测到 32 个脊椎动物物种, 其中包括 20 种鱼类, 1 种水生哺乳动物 (长江江豚) 和 11 种陆生动物, 其中鱼类序列数占总注释序列数的 78.5%, 表明长江水样环境 DNA 主要包含水生物种信息, 同时承载了陆生物种信息, 通过水样环境 DNA 宏条形码可检测不同类群物种。

(2) 环境 DNA 检测到的鱼类中, 鲤形目种类占 60%, 鲇形目占 25%, 鲈形目占 10%, 鲱形目占 5%, 为长江中下游渔获物调查的主要类目, 且各类目包含的种类数量比例与渔获物调查结果具有相似性. 在渔获物中尾数和质量均居首位的鲤形目在环境 DNA 调查中序列数也最多, 但 4 个类目序列相对丰度与渔获物种资源量组成差异较大。

(3) 环境 DNA 调查用约占传统渔获物调查几十至几百分之一的调查次数, 百分之一至十万分之一的调查时间, 检测到了 31%~49% 的鱼类种数, 表明环境 DNA 调查效率更高, 且环境 DNA 检测到了在渔获物调查中未出现的物种, 可以对传统调查结果进行补充, 将二者结合可获得更全面的调查结果。

(4) 在新滩和安庆采样点均检测到濒危物种长江江豚环境 DNA, 表明环境 DNA 宏条形码对濒危物种具有一定敏感度. 在中下游长江江豚密度最高的安庆江段, 长江江豚环境 DNA 检出率和序列相对丰度在 3 个采样点中都是最高的, 而位于长江江豚密度最低的中下游下段的芜湖采样点, 未检测到长江江豚环境 DNA. 长江江豚环境 DNA 检出率和序列相对丰度可能主要受其分布密度的影响。

(5) 长江中下游水样环境 DNA 宏条形码分析结果体现了调查区域的部分群落结构, 显示出了优势类群, 注释物种包含濒危物种. 环境 DNA 宏条形码在淡水生物多样性研究中具有高效率和无损伤的优势. 核酸序列数据库和分子标记体系是环境 DNA 宏条形码物种检测的主要限制因素, 进行全面的物种多样性监测和资源量估算需要对采样方案和分析方法进行科学设计。通过水样环境 DNA, 可进一步对河流水陆复合生态系统的生物多样性信息进行挖掘。

资料来源: 徐念, 熊美华, 邵科, 阙延福, 李键庸. 长江中下游环境 DNA 宏条形码生物多样性检测技术初步研究[J]. 环境科学研究, 2020, 33(5): 1187-1196.

利用环境 DNA 宏条形码技术监测苏州地区小管福寿螺的入侵

外来物种入侵是重要的全球环境问题和生态安全问题。入侵生物对农、林、牧、渔业和交通运输等产生直接或间接的破坏, 造成重大的经济损失和生态安全问题。福寿螺 *Pomacea* 属软体动物门 *Mollusca*, 腹足纲 *Gastropoda*, 瓶螺科 *Ampullariidae*, 是世界 100 种恶性外来入侵物种之一, 具有适应性强、生长快、繁殖力高, 食性杂且食量大等特点, 在局部区域对水稻、茭白、莲藕、芡实等农

作物造成严重危害。2003 年中国环保总局将其列入首批 16 种外来入侵生物名单。小管福寿螺生活于水中，可潜藏在水底，非繁殖期有较强的隐蔽性，传统的现场观察和调查问卷法发现难度大，不利于早期预警。如何有效地开展早期监测是当前福寿螺防控中的重要工作内容。

文章利用环境 DNA 技术监测苏州地区不同水体类型的 38 个样点的小管福寿螺发生情况，探索环境 DNA 技术是否可以作为批量检测入侵生物福寿螺的灵敏、高效的技术，明确丰度阈值和水体类型对环境 DNA 技术检测结果的影响，为今后运用环境 DNA 宏条形码技术对福寿螺进行监测和早期预警提供技术参考。

1. 主要结果

1.1 不同序列丰度阈值对检测结果的影响

不同序列丰度阈值下小管福寿螺 CO I 条码序列检出率的结果表明，在序列丰度阈值 $n \geq 3$ 和相对丰度阈值 $m \geq 0.001\%$ 两种阈值下检测到小管福寿螺序列的样点数一致。其中，环境 DNA 技术检测到小管福寿螺 CO I 序列的样点数为 35 个，占总调查样点的 92.11%，在 14 个现场调查到福寿螺个体的样点中有 13 个检测到小管福寿螺 CO I 序列。但随着序列丰度阈值和相对丰度阈值的提高，检出率随之下降。当序列丰度阈值 $n \geq 15$ 时，小管福寿螺 CO I 序列的检出率仅为 57.89%，14 个调查到福寿螺个体样点中仅有 7 个样点（50%）检测到小管福寿螺序列；而序列相对丰度阈值 $m \geq 0.030\%$ 时，小管福寿螺 CO I 序列的检出率仅为 47.37%，14 个调查到福寿螺个体样点中仅有 5 个样点（35.71%）检测到小管福寿螺 CO I 序列。

基于 38 个样点及对照组共 44 个样本的总序列数及小管福寿螺序列数的线性拟合结果显示，总序列数与小管福寿螺序列数间不存在线性关系，这表明基于序列相对丰度阈值 m 检测到的小管福寿螺发生率不能够真实地反映福寿螺的实际发生情况。

1.2 不同水体类型中小管福寿螺的检测结果

当序列丰度阈值 $n \geq 2$ 与 $n \geq 3$ 时，从环境 DNA 中检测到小管福寿螺的结果与现场观察的结果一致，且此时两种方法检测到小管福寿螺的样点数均最多，现以序列丰度阈值 $n \geq 3$ 作为小管福寿螺 CO I 条形码检出的阈值来计算其在不同水体类型中的检出率。结果表明，湖泊中小管福寿螺检出率最高，达到 100%，河流和运河检出率分别为 91.67% 和 87.50%。但是，现场观察法并未在 6 个湖泊

样点中调查到小管福寿螺，而 24 个河流样点中有 12 个样点（50%）调查到小管福寿螺，8 个运河样点中有 2 个样点（25%）调查到小管福寿螺。综上所述，38 个调查样点中，现场观察法成功调查到小管福寿螺的共 14 个样点（36.84%），远低于从环境 DNA 中检测出小管福寿螺的 35 个样点（92.11%）。

2 讨论

目前我国报道有 3 种外来入侵福寿螺，即小管福寿螺、斑点福寿螺 *Pomacea maculata* 和 *Pomacea sp.*，其中小管福寿螺与斑点福寿螺亲缘关系近，形态与生活习性也相近，利用传统分类方法很难区分二者。基于 DNA 条形码技术研究发现，云南省、浙江省均已监测到斑点福寿螺的入侵。然而，此前的研究中，苏州地区仅发现小管福寿螺，尚不确定是否有其他福寿螺入侵物种存在。文章通过分子技术验证了苏州地区现阶段仅有小管福寿螺一种入侵物种存在。

针对入侵物种小管福寿螺的检测，环境 DNA 宏条形码技术相比传统观察法更加灵敏。在 38 个样点中环境 DNA 技术在序列丰度阈值 $n \geq 1$ 时检测到小管福寿螺的样点数有 36 个，明显高于现场观察法（14 个）。当序列丰度阈值设置为 $n \geq 3$ ，环境 DNA 技术检测到小管福寿螺的发生率（92.11%）远高于传统观察法（36.84%）。然而，利用环境 DNA 技术检测也存在假阴性结果。现场观察到小管福寿螺的 14 个样点中 S21 样点在现场观察到福寿螺卵块及空壳，但环境 DNA 技术并未检测出，这可能与其在环境中的 DNA 含量少有关，处于不同发育阶段的生物其环境 DNA 释放量存在差异，也有可能是生物信息分析过程中由于筛选标准高，序列被删除而造成的假阴性结果。

文章研究了两种丰度阈值对小管福寿螺检测结果的影响，结果表明，从单个环境 DNA 样本中检测出小管福寿螺的序列数与总序列数没有显著相关性，而序列相对丰度阈值是基于总序列数计算得到的，说明基于序列相对丰度阈值 m 的结果并不能准确反映小管福寿螺的入侵，针对低丰度生物的检测时采取序列丰度阈值可能更合适。小管福寿螺序列数为 $n=1$ 的样点只有 S22，在该样点我们并未观察到其物种存在痕迹，所以我们认为该结果为假阳性结果，即与实际不相符。本研究中，序列丰度阈值为 $n \geq 3$ 时利用环境 DNA 技术在 35 个样点中检测到小管福寿螺 CO I 条形码。关于 n 值多少为最佳，针对不同物种阈值设置是否不同，仍需要进一步研究。

环境 DNA 技术和现场观察法在不同水体类型中的检测结果也存在差异。在所有的湖泊样点中，环境 DNA 技术都检测到了小管福寿螺，这与我们前期在这些湖泊中发现有小管福寿螺分布的事实相符，而传统观察法在湖泊水体并未观测到小管福寿螺。湖泊水体在监测时受水深、生物习性等因素影响，而传统观察及捕捞多在沿岸区域进行，底栖性的小管福寿螺在监测时，极有可能难以发现。在运河水体中，利用环境 DNA 技术的检出率（87.50%）也高于传统观察法（25%）。相比传统观察法只在河流水体中有较高的检出率不同，环境 DNA 技术在 3 种水体类型中都有较高的检出率，表明该方法受水体类型的影响较小。

文章的研究结果表明环境 DNA 技术对入侵水生生物的监测有重要的应用价值，该技术可以高效敏捷地监测小管福寿螺的入侵分布。虽然该技术仍存在低丰度物种检出率低，且不能定量的不足，但环境 DNA 技术具有可对大量的混合样本快速检测，受时间和环境因素影响小，对生物和环境近乎无伤，操作简单便捷，省时省力灵敏度高等优点。相比传统观察法，环境 DNA 宏条形码技术可在福寿螺入侵初期进行监测，且受水体类型影响小。相信随着环境 DNA 的获取及数据分析方法的标准化及优化，其必将成为未来入侵水生生物检测的优选方法。

资料来源：利用环境 DNA-宏条形码技术监测苏州地区小管福寿螺的入侵[EB/OL].

(2022-04-06) . [2022-09-28]. www.scicat.cn/bb/20220406/242339.html.

技术应用

环境 DNA（eDNA）宏条形码技术的新兴应用

基因组革命从根本上改变了我们调查地球生物多样性的方式。高通量测序（HTS）平台现在能够对各种环境样本的 DNA（称为“环境 DNA”或“eDNA”）进行快速测序。将 HTS 和我们把 eDNA 序列与分类学名称相关联的能力结合起来被称为“eDNA 宏条形码技术”（eDNA metabarcoding），它提供了一个强大的分子工具，能够非侵入性地调查许多生态系统的物种丰富度。

一、在生态学中的应用

量化自然群落中物种的丰富度和丰度是并将继续是许多生态学研究的目标。从 eDNA 获得的物种丰富度信息不一定不同于传统方法，但该信息的规模、速度和全面性是不同的。例如，Drummond 等（2015）证明了从表层土壤对生物多

样性（例如从细菌到动植物）进行近乎完整的分析是可能的。在这一分类尺度上收集数据为跨空间和时间衡量群落组成和演替开辟了新的机会。除了估计物种丰富度，生态学的一个主要研究领域是确定观察到的群落变化是否超过某些期望的生态系统功能的可接受阈值。生物多样性和生态系统功能研究需要追踪多个分类群和营养级的物种，以及生态系统功能的变化。eDNA 宏条形码有可能通过提高我们对捕食者/猎物关系、互利共生（如植物-传粉者相互作用）和由小隐种（小而隐秘的物种）组成的高度多样化系统中的食物网的了解，促进生物多样性和生态系统功能的研究。在以上情况下，关于物种共生和相互作用的知识将进一步促进集合生态系统的研究，并提供数据来指导生态系统规模的管理决策。仍然具有挑战性的是除了丰富度估计，同时获得物种丰度数据。

二、在保护生物学中的应用

鉴于全球生物多样性正在快速下降，提高战略的有效性至关重要，以阻止或扭转这种损失。因此，开发能够实现快速、经济有效和非侵入性生物多样性评估的工具，如 eDNA 宏条形码，尤其是对于稀有和隐秘物种，是至关重要的。这能改进对脆弱物种分布的估计，并且这样做是非侵入性的，将有助于政策制定，并有助于有效地针对不同生境进行管理。例如，记录栖息地中受威胁物种的存在可能会引发一系列与生物多样性保护相关的法律行动（如《美国濒危物种法案》）。通常，与政策相关的数据来自环境法规定的监测工作（对收集的数据产生重大影响）。

基于 eDNA 的监测可能会给那些经常资金不足且负责遵守数据要求法律的公共机构带来巨大的好处。具体来说，当许多物种受到保护时，eDNA 宏条形码将有助于监测群落。整个加州的春季池塘就是一个最好的例子，因为它们包含 20 种美国联邦政府列出的濒危或受威胁的动植物物种。利用来自此类栖息地的土壤和水样监测物种丰富度，规定使用一种全面的采样方法，以确定保护和管理所需的群落数据。然而，尽管 eDNA 宏条形码对于无创获取脆弱物种的分布可能很重要，但它不能用于区分活的和死的生物，也不能用于估计对种群生存能力分析很重要的许多种群统计学参数。

量化动植物物种丰富度的基线和偏离这些基线的情况是评估环境影响和保护的核心。eDNA 宏条形码方法在不同样本类型中的应用，结合在一起可以进行跨时间尺度的推断，提供了一个记录局部物种灭绝和生态系统长期变化的独特工

具。灭绝模型通常依赖并用于理解灭绝时间线。eDNA 宏条形码追踪与先前冰河时代事件相关的灭绝时间的有效性已经在哺乳动物和植物中得到证明。因此，来自同一地点的不同样本类型的 eDNA 宏条形码为更好地理解扰动导致的灭绝后果提供了极好的机会，并可为气候变化下的情景建模提供信息。

三、在入侵生物学中的应用

由于 eDNA 在大型生物中的首次应用是在法国池塘中检测北美牛蛙，该方法立即引起了对入侵生物学感兴趣的研究人员的注意。这些初步研究以及许多正在进行的研究继续基于物种特异性引物，其阳性扩增为特定入侵物种提供了发生证据。在 eDNA 的入侵生物学中，这种有针对性的方法被称为“主动”监测。

与之相反的是，eDNA 宏条形码使同时检测许多物种的存在成为可能，包括以前不被怀疑存在的物种。这种更广泛的非目标方法在管理应用中被称为“被动”监测。不利的一面是，由于引物特异性的权衡，我们预计 eDNA 宏条形码在检测某些物种时可能不太敏感，或者一个物种的检测率可能会根据物种丰富度而变化。在新的入侵风险很高并且针对不良物种的具有成本效益的根除计划可能成功的情况下，可以考虑采用被动和主动监测的双重方法。

避免未来的引进和减少外来物种的传播是自然资源政策的重中之重。与管理相关的 eDNA 宏条形码检测包括早期检测环境中的初期入侵种群，监测入侵途径，例如船舶压载水和活饵贸易。虽然 eDNA 宏条形码还没有被常规用于入侵物种的生物安全监管或在许多环境中实施，但它有可能成为生物入侵的有价值的监测工具。在入侵物种检测中使用 eDNA 宏条形码的一个重要挑战是假阳性和假阴性，因为两种结果都可能在不需要时触发行动或不行动，对负责入侵物种缓解和控制的实体造成潜在的巨大负担。因此，继续研究以减少或理解假阳性和假阴性的本质将减少工具的不确定性，并促进更大范围的采用。

四、在生物监测中的应用

城市化、粮食生产和采矿等进程产生的空气、水和土地资源污染是我们在 21 世纪面临的许多新出现的全球挑战之一。确定大多数污染的来源、迁移和效应具有挑战性，因为它通过点源（如废水）和与土地使用类型相关的扩散源（如农业或城市化）积累。在这种情况下，耐受生物的存在和敏感生物的缺失被用来确定污染对全世界生态系统健康的影响，被称为“生物监测”（Biological monitoring 或 Biomonitoring）。动物和植物在生物监测中的使用范围取决于所监测的分类

群的独特特征及其与关注的污染的关系。大多数生物监测方案都将群落组成和分类群的丰度考虑在内，并计算所谓的生物指数。生物指数有多种形式，通常反映着污染影响（例如，水中毒物暴露的 SPEAR 指数）。

在生物监测的背景下应用 eDNA 宏条形码是一个主要的研究途径。对群落 DNA 样本进行宏条形码检测显示出对检测隐性分类群或生命阶段的更高敏感性，并可缓和识别受损样本的问题（这些受损样本会使形态学工具失效）。众所周知，仅上述这两个问题就在生物指数估计中造成了巨大差异。将动植物 eDNA 宏条形码应用于生物监测中，需要对传统的调查方法和基于 eDNA 的方法进行深入测试，以了解从这两种方法得出的物种丰富度估计值是否会产生对感兴趣的生物指数的类似测量，或者新的生物指数是否需要开发，以同时考虑这两种形式的信息。DNAqua-Net COST Action (<http://dnaqua.net/>) 正在向前迈出有希望的一步，这是一个由 45 个国家组成的联盟，共同努力开发用于欧洲水生生态系统生物评估的遗传工具。

五、在公民科学和生物多样性教育中的应用

收集环境样本的协议的简单性为有关使用 eDNA 进行生物多样性调查的公民科学项目提供了便捷。随着商业公司专门用于 eDNA 分析的样品试剂盒的开发（如 GENIDAQS、ID-GENE、Jonah Ventures、NatureMetrics、Spygen），现在出现了让公众参与生物多样性科学的新机会，这可能伴随着已经确立的生物多样性项目，如 BioBlitz（国家地理学会）。在这种背景下使用 eDNA 宏条形码检测将可能为生物多样性的教育和宣传提供一个前所未有的工具，并提高公众对生物多样性下降的认识。阻碍 eDNA 宏条形码技术在公民科学项目和教育机会中整合的挑战是处理样本所需的时间和成本以及用户友好的数据可视化工具，以便在得到数据后能够进行探索。因此，为了推动 eDNA 在公民科学和教育领域的应用，需要找到削减成本和加快数据生成的方法（这是该工具在任何应用情景下的共同目标），以及创建用于在智能手机和台式机上探索数据的应用程序。

资料来源 Kristy Deiner, Holly M Bik, Elvira Mächler, et al. Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities[J]. Molecular Ecology, 2017, 26(21):5872-5895.

环境 DNA 宏条形码技术在生态学中的应用

物种的准确鉴定是探索、认识物种和保护生物多样性的生态研究基础。DNA 条形码可以构建植物与动物之间的网状拓扑结构,可以从群落水平探讨物种多样性、系统发育多样性与群落稳定性之间的相互关系。在此基础上的环境 DNA 宏条形码已成功应用于动植物的生态研究。

一、生物多样性研究

近年来,环境 DNA 宏条形码技术已成功应用于动植物的多样性研究。Yoccoz 等利用宏条形码技术分析了不同植被类型的土壤 DNA, 获得其中叶绿体 trnL(UAA)内含子 P6 环序列, 结果表明利用土壤 DNA 检测的植物多样性与传统地面调查估计的植物种类和生长型多样性结果高度一致。Bienert 等利用宏条形码技术结合线粒体 16S 基因, 设计两个 DNA 短序列的特异性引物(大约 30bp 和 70bp)进行 PCR 扩增及测序, 分析了法国阿尔卑斯山地生态系统土壤中蚯蚓组成。研究表明基于 DNA 方法分析的蚯蚓群落多样性与传统分类方法获得的结果一致, 阐明了环境 DNA 作为土壤动物多样性评价工具的潜力。Thomsen 等从丹麦的一个海洋生态系统中采集海水, 利用环境 DNA 宏条形码技术研究海洋鱼类生物多样性。在获得的环境 DNA 中发现了 15 种不同的鱼类以及 4 种鸟类, 其中包括一些用传统监测方法很难发现的稀有物种。同时与 9 种传统的海洋鱼类调查方法比较, 环境 DNA 检测出的鱼类多样性与其他传统方法相当, 甚至优于传统方法。

目前国内在应用环境 DNA 宏条形码技术研究生物多样性的报道还比较少。杨晨雪等使用宏条形码技术研究土壤样品中的生物多样性, 通过三种不同的生物信息学分析方法进行比较分析, 探讨了用 18S rDNA 基因扩增土壤中后生动物的有效性, 研究证明宏条形码技术可以快速、全面、有力地调查土壤动物多样性。中科院昆明动物所 Yu 等利用马氏网诱捕节肢动物, 对整个混合样本的 DNA 进行线粒体 COI 基因扩增, 再进行高通量测序, 并结合生物信息学分析, 探讨宏条形码方法对群落的差异度 (β -多样性) 和群落内系统发育 (α -多样性) 评估的准确性, 结果表明宏条形码方法可以在更广的尺度上有效地测量生物多样性。

二、食性分析

食性分析及食物网络的研究可直接体现出生态群落的功能结构, 是生态系统研究的重要组成部分。传统的食性分析通常通过收集粪便并鉴别其中的食物残留,

研究人员通过肉眼直接观察或利用早期的分子实验获取食谱信息。由于食物残留情况各异，这种方法耗时费力，对分析人员的经验依赖性大而且解析度不高，时间长，准确度不高。

在动植物间的植食网络关系中，当观察动物的行为存在困难时，可利用动物消化道中的食物残渣，利用宏条形码技术，研究人员可快速准确地进行大量样品的食性分析。Shehzad 等基于第二代测序技术进行了食肉动物豹猫(*Prionailurus bengalensis*)的食性分析。从 38 个豹猫的粪便提取出了混合 DNA，通过扩增约 100bp 片段的 12S rRNA 研究豹猫取食的食物种类，发现了 18 种猎物，包括八种哺乳动物、八种鸟类、一种两栖类和一种鱼类，并且确定豹猫主要食用啮齿动物鼠类。

在自然界中，动物栖息地和食物资源的改变，季节和地域的差异通常会对动物的取食有所影响。Soininen 等利用叶绿体 trnL(UAA)内含子 P6 环作为条形码，对苔原生态系统的食草动物棕背(*Myodes rufocanus*)和根田鼠(*Microtus oeconomus*)的胃内容物中包含的种子植物进行分析。结果表明棕背和根田鼠对食物的选择比较灵活，尽管季节和地域会对这两种鼠的取食有所影响，但是影响很小。环境的改变会影响灵长类动物的食物资源的获取。Hope 等对纳氏鼠耳蝠(*Myotis nattereri*)的冬季取食进行研究，扩增采集的粪便样品的 Cyt b 基因，发现冬季纳氏鼠耳蝠取食的食物中包含大量的鳞翅目幼虫，证实了宏条形码技术在动物食性分析研究上的可行性。

三、外来入侵物种的检测

目前外来入侵物种的情况日趋严重。当外来物种入侵时，入侵物种很有可能破坏原本的生态平衡，使生态系统不完善，从而对本地物种的种类和数量产生影响。但是在早期入侵阶段外来入侵物种通常数量不多，使用传统的检测方法耗时且效率不高，难度高，不能及时发现。这会导致外来入侵物种对本地生态平衡的危害达到最高值时才受到重视，为时已晚。环境 DNA 宏条形码增强了对入侵物种早期监测的可能性，可以有效地遏制物种入侵。

研究发现利用环境 DNA 宏条形码可以从淡水中提取环境 DNA，检测出外来入侵物种的存在。Ficetola 等最早将环境 DNA 宏条形码应用于物种监测，他们使用特异性引物扩增短线粒体 DNA 序列追踪在受控环境和自然环境中一种入侵牛蛙(*Rana catesbeiana*)的存在，发现对环境中低密度的物种，使用宏条形码技术

仍然可以进行快速有效的物种检测。这是首次结合大规模测序和 DNA 条形码技术的发展来进行物种识别，为利用环境 DNA 监测外来物种提供了新方法和新思路。Jerde 等利用环境 DNA 研究美国芝加哥地区河流中的两种入侵亚洲鲤科鱼 (*Hypophthalmichthys molitrix* 和 *H.nobilis*)，发现使用传统电气捕鱼法检测到一条鱼需要 93 人的努力，而环境 DNA 宏条形码方法检测到目标物种只需要 0.174 人。在亚洲鲤科鱼种群密度很低的区域，只有环境 DNA 方法能够检测到这两种鱼。可见，环境 DNA 宏条形码方法不仅在时间和资金成本上优于传统监测方法，而且可以在种群密度很低的环境样本中灵敏地检测到入侵物种的存在。

四、物种监测

通过水体中的环境 DNA 可以有效检测水生脊椎动物，并且已在湿地和大型河流研究中得到证实。利用环境 DNA 检测河流中的稀有物种和隐秘物种可以增加调查结果准确性，减少调查成本。Goldberg 等利用宏条形码技术，通过收集快速流动的水体环境 DNA 样本，对尾突角蟾 (*Ascaphus montanus*) 和爱达荷陆巨螈 (*Dicamptodon aterrimus*) 两种珍稀物种进行监测。设计特异性引物尾突角蟾和爱达荷陆巨螈的线粒体 Cyt b 区域的 85bp 和 78bp 片段，在 5 个不同物种密度的水样中均成功进行了 PCR 扩增并灵敏地检测到了目标物种的存在。该研究还发现早春季节比早秋季节更难以检测到两栖类物种存在，推测可能是由于早春比早秋温度更低，降低了生物代谢速率而导致。Foote 等从海水中分离 DNA，使用特异性引物扩增线粒体 DNA 区域 60—80bp 的片段检测水体中是否存在港湾鼠海豚 (*Phocoena phocoena*)，对控制条件下和自然条件下该物种进行遗传监测。在一个样地中检测到长肢领航鲸 (*Globicephala melas*)，而该物种极少在研究海域被发现，结果表明环境 DNA 的方法可用于检测稀有物种。Rees 等利用环境 DNA 和传统的实地调查方法开展对英国珍稀保护物种冠北螈 (*Triturus cristatus*) 的监测，野外调查发现冠北螈分布的地点中，采集的水样 DNA 中成功检测出冠北螈的概率为 84%。使用环境 DNA 方法监测物种，对物种及其生存环境不会造成损害。随着测序成本的下降，环境 DNA 与宏条形码技术结合应用在许多情况下甚至优于一些传统监测方法，成为物种监测方法的又一选择。

资料来源： 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): 96-99.

环境 DNA 宏条形码技术的应用优缺点

环境 DNA 宏条形码技术作为一种快捷、准确且对环境干扰小的物种监测方法已经受到了生态学家的广泛应用，但在样本收集和提取、定量研究及研究成本上仍然存在技术与应用上的挑战。

一、样本收集和提取

eDNA 样本受环境、时间的影响较大，例如大于 48h 的样本检测受到 DNA 降解的影响较大。eDNA 样本的核酸是微量的，如水体和土壤样本，通常超过 99% 的 DNA 来自于细菌。因此，在样本收集过程中需要采用一些方法选择性的富集研究所需目标。由于 eDNA 样本的目标 DNA 含量低，应当选择高效的 DNA 提取方法。此外，样本保存和 DNA 提取过程还需注意样本污染的问题。

二、定量研究

环境 DNA 宏条形码技术首要解决的是物种鉴定问题，而分析的关键在于其依赖于高质量、高准确度的数据库，有证据表明，数据库的错误或者缺失都会导致调查结果准确度的下降。对于目标生物定量研究是环境 DNA 宏条形码技术所面临的另一个挑战。因生物体释放 DNA 的速率存在差异、不同生物 eDNA 的降解速率不同，这导致提取的 eDNA 和生物体数量之间很难有确切的关联。通过分析不同区域物种是否存在，当样本量足够多时，可以利用存在和不存在的检测来检测物种的相对丰度。

三、研究成本

要将环境 DNA 宏条形码技术长期用于生态环境监测，其成本是一个重要的考虑因素。该技术依赖高通量测序平台，根据当前国内相关技术服务公司报价，前处理自行开展的前提下，检测费用约 500-600 元/样，周期预计 1 个月，且国内从事该类检测服务的公司数量较少。对于单个样本的测序研究成本远高于传统定量 PCR 方法，其大规模应用与环境生物多样性监测需考虑成本问题。

资料来源：生物多样性研究中的环境 DNA 宏条形码技术带给园林植物保护的启示[EB/OL]. (2022-05-06) . [2022-09-29]. www.cqla.cn/chinese/news/news_view.asp?id=62932.

