

# 环境 DNA 技术在长江口水生生物监测中的应用潜力

王学昉<sup>1,2,3,4,5</sup>, 孟维钊<sup>1</sup>, 王丛丛<sup>1,2,3,4,5</sup>, 张云飞<sup>6\*</sup>, 田思泉<sup>1,2,3,4,5\*</sup>,  
高春霞<sup>1,2,3,4,5</sup>, 韩东燕<sup>1,2,3,4,5</sup>, 陈锦辉<sup>7</sup>, 吴建辉<sup>7</sup>

(1.上海海洋大学海洋科学学院,上海 201306; 2.国家远洋渔业工程技术研究中心,上海 201306;  
3.大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室,上海 201306; 4.农业农村部大洋渔业开发重点实验室,上海 201306;  
5.农业农村部大洋渔业资源环境科学观测实验站,上海 201306; 6.上海科技馆自然史研究中心,上海 200041;  
7.上海市水生野生动植物保护研究中心,上海 200092)

**摘要:**环境 DNA (Environmental DNA, eDNA) 技术是一种正在蓬勃发展的生物采样监测技术,可以根据需要同时监测特定对象或多种水生生物,因其方便快捷,对检测对象和生态环境友好等优点而在水生生物资源监测中具有广阔的应用潜力。长江口水域作为我国最大的河口,是诸多水生生物季节性洄游、觅食和栖息的重要场所,因此对该水域水生生物资源的动态变化进行准确监测是开展相应生态保护的必要基础。本文归纳分析了环境 DNA 技术的监测原理,以及在濒危珍稀物种、入侵物种、生物多样性、资源量和遗传多样性监测方面的应用现状及限制条件,并结合长江口水域监测工作的具体需求,展望了在该水域应用环境 DNA 技术进行水生生物资源监测的应用前景和研究方向,并提出相关建议。

**关键词:**海洋环境科学;环境 DNA 技术;水生生物资源;监测技术;应用展望;长江口

DOI: 10.3969/J.ISSN.2095-4972.2021.03.020

中图分类号: P76

文献标识码: A

文章编号: 2095-4972(2021)03-0547-08

河口是生态环境十分脆弱和敏感的水域,其对生物种群的繁衍、资源补充及保持生态平衡都具有十分重要的意义<sup>[1]</sup>。长江口是我国最大的河口,该区域饵料生物丰富,是多种海洋生物的良好栖息地、产卵场和洄游通道<sup>[2]</sup>。了解长江口地区的生物资源动态变化是保护其水域生态健康的前提,为更好地了解和保护该水域的生态系统,需要建立有效的水生生物监测体系。

水生生物监测调查,特别是渔业资源调查,按照是否依靠渔业活动获取数据分为依赖于渔业的调查 (Fishery-dependent Survey) 和独立于渔业的调查 (Fishery-independent Survey)<sup>[3]</sup>。在当前长江流域实行长期禁渔的背景下,很难再获取渔业数据或基于渔业的调查数据,因此需要发展多元的独立监测技术来健全传统的资源监测体系。

随着分子生物学的蓬勃发展,20 世纪 80 年代环境 DNA (Environmental DNA, eDNA) 技术孕育而生,逐渐成为一种新兴的生物监测技术。该技术最大的优势是环境友好,只需要从环境中采集水样,就可以了解到环境中的生物信息,不会对监测对象造成伤害,因此十分适合监测濒危或珍稀物种<sup>[4]</sup>;其次,单一的采样方法常常不能全面地采集群落中的所有生物,如底拖网一般只对底层鱼类的捕获率较高<sup>[5]</sup>,而环境 DNA 技术可以同时监测游泳动物、底栖生物甚至包括浮游动植物、细菌、真菌和病毒等<sup>[6]</sup>。

长江口水域仅鱼类就有 140 多种,还有中华鲟 (*Acipenser sinensis*)、江豚 (*Neophocaena phocaenoides asiaorientalis*)、松江鲈 (*Trachidermus fasciatus*) 等珍稀水生生物,具有多种监测需求<sup>[7]</sup>。本研究从环境

收稿日期: 2020-08-02

**基金项目:**上海市科委地方能力建设资助项目 (18050502000); 上海市长江口海域国家级海洋牧场建设资助项目 (NY2017002); 上海市长江口中华鲟资源调查和保护资助项目 (NY2018001); 国家重点研发计划资助项目 (2019YFD0901404); 长江水生生物资源监测和标准制定及效果评估资助项目 (190164); 上海市水生野生动植物保护研究中心业务资助项目 (D-8006-21-0050)

**作者简介:**王学昉 (1983—),男,副教授,博士;E-mail: xfwang@shou.edu.cn

\* **通讯作者:**张云飞 (1969—),男,副研究员,博士;E-mail: zhangyf@sstm.org.cn; 田思泉 (1978—),男,教授,博士;E-mail: sqtian@shou.edu.cn

DNA 技术的原理、发展、限制条件等方面介入,结合长江口具体的监测需求和环境特点,对该水域使用环境 DNA 技术进行监测的潜力进行展望,以期为长江大保护工作提供更加丰富的参考信息。

## 1 环境 DNA 技术的监测原理与发展

环境 DNA 是生物体扩散于环境中的 DNA,来源可以是脱落的细胞和组织,也可以是排泄物或粘液<sup>[8]</sup>。环境 DNA 技术是在确定调查物种或种群的特异性基因识别片段的基础上,检测从环境介质中提取环境 DNA 的种类与数量,进而确定取样环境中生物的种类与数量,以达到监测目标物种的目的的技术<sup>[9]</sup>。

环境 DNA 技术起源于微生物领域,最早被用于分离纯化环境中微生物的 DNA<sup>[10]</sup>,随后逐渐被应用于植物群落多样性等领域<sup>[11]</sup>,主要用于测定空气中的植物孢子,后来才被用于监测水生动物。Ficetola 等(2008)最先将环境 DNA 技术应用于淡水入侵物种的监测<sup>[12]</sup>;Thomsen 等(2012)首次使用环境 DNA 技术分析海洋中的生物多样性,扩大了环境 DNA 技术的应用水域<sup>[13-14]</sup>。从 2008 年至今,环境 DNA 技术经历了由监测单一物种到多个物种,再到调查生物多样性的历程,目前已发展到可评估部分物种的资源量;其适用水体也从流动性较小的封闭淡水水体(如池塘、湖泊),扩展至开放水体(如溪流、河流),最终应用于盐水、半盐海水域(如河口、近海);监测对象由小型底栖动物发展到两栖动物、鱼类、哺乳动物甚至是水禽。

## 2 环境 DNA 技术在水生生物监测中的应用

目前,环境 DNA 技术在水生生物监测中主要使用在四个方面,一是监测特定物种,如濒危物种和入侵物种;二是调查生物多样性;三是评估资源量;四是监测物种的遗传多样性。前两方面的技术发展较为成熟,因此应用也较多,而在对于资源量的评估与遗传多样性的监测方面仍处于探索阶段。

### 2.1 特定物种

**2.1.1 珍稀物种和濒危物种** 珍稀动物和濒危物种在自然界的密度很低,利用常规性的调查监测它们的存在具有固有的困难。对于淡水生态系统的低密度目标物种,已可通过环境 DNA 技术监测其存在与否<sup>[10]</sup>。这是因为生物的环境 DNA 通过在水体中的快速扩散,可以在一定范围内的任意地点被检测到<sup>[4]</sup>;环境 DNA 技术还能监测到任何生活史阶段的目标物种<sup>[15]</sup>,极大地避免了调查网具网目尺寸选择性的约束;环境 DNA 技术还是一种环境友好型的监

测方法,监测过程本身不会对目标物种和栖息地造成物理伤害,这对于珍稀濒危物种及脆弱的生境而言相当重要。

目前,环境 DNA 技术已成功应用于河口、河流及池塘的珍稀或濒危的鱼类<sup>[15]</sup>、两栖类<sup>[16]</sup>、水生哺乳动物<sup>[17]</sup>的监测,表现出了独特的优势。在长江流域,Ma 等(2016)设计出适合长江江豚的特异性引物,使用环境 DNA 技术对长江江豚进行了调查<sup>[17]</sup>;Stewart 等(2017)通过环境 DNA 的信息推测出长江江豚种群的时空分布<sup>[18]</sup>;Qu 等(2019)在以长江江豚为对象的监测中,发现传统实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qPCR)较传统视觉观察与捕获相比,其覆盖面积更广,且成本更低<sup>[19]</sup>;徐念等(2018)使用该技术对中华鲟的生殖洄游路线进行了分析,并认为其结果很好的反映了中华鲟的季节性洄游模式<sup>[20]</sup>;吴昉晨等(2019)对江苏江段的长江江豚分布进行了调查,并与传统方法比较后发现,8 个使用传统方法观测到江豚的站点均检测到了江豚的 DNA,10 个疑似站点中 3 个检测到了江豚的 DNA<sup>[21]</sup>。这些研究都表明在长江流域使用环境 DNA 技术监测珍稀物种活动的可行性。

**2.1.2 入侵物种** 入侵物种是指对经济生产、生态系统和生物多样性、人类健康等带来威胁的外来物种<sup>[22]</sup>。生物入侵是导致生物多样性丧失的重要原因之一<sup>[23]</sup>。环境 DNA 技术能够应用于入侵物种的监测,特别是在外来物种入侵的早期阶段,其种群密度比较低,往往并不引人注目,但此时也是最佳防控时机,如果失控将导致防除成本急剧增加,甚至难以根除。因此,在外来种入侵或扩散初期施行有效监测、预警至关重要,而环境 DNA 技术在这一阶段较传统监测方法具有更为明显的优势。

目前,使用环境 DNA 技术在监测入侵物种方面已有多个成功案例,如 Ficetola 等(2008)发现环境 DNA 技术不仅能在所有传统方法奏效的水体中监测到美国牛蛙(*Rana catesbeiana*),还能在一些传统方法失败的地点进行成功监测<sup>[12]</sup>;Jerde 等(2011)将环境 DNA 技术结合传统渔业资源调查监控劳伦斯河流域的入侵物种,发现真实的威胁程度远高于传统方法的估计<sup>[24]</sup>。目前监测水生入侵物种时常使用的方式是走访调查和传统网具捕捞相结合<sup>[25]</sup>,偶尔会使用遥感技术研究入侵物种的分布状况<sup>[26]</sup>,这几种监测方式在入侵早期的敏感性较低,且成本较高<sup>[27]</sup>。长江口水域是国际航线的交通要塞,远洋船舶的压舱水是造成生物入侵的重要途径<sup>[28]</sup>。目前,国内对压舱水内入侵物种的鉴定方法主要是采

用形态学观察结合分子生物学的方法<sup>[29]</sup>,而美国研究人员已经将环境 DNA 技术应用于压舱水的检测<sup>[30]</sup>。

## 2.2 生物多样性

生物多样性具有极高的价值,物种的过度缺失会造成生态失衡<sup>[31-32]</sup>。生物多样性涉及遗传多样性、物种多样性、生态系统多样性 3 个层次<sup>[33]</sup>,环境 DNA 技术在物种多样性的监测上也具有适用性。Thomsen 等(2012)利用环境 DNA 信息发现能在封闭的实验生态系统中检测到两栖类和所有鱼类,相比之下,开放的海洋环境中可能由于洋流和盐度等环境因素的影响,环境 DNA 技术只能检测出部分物种,但相比于潜水、底拖网、笼壶等传统调查方法,其监测效率明显更高<sup>[14]</sup>。然而,Foote 等(2012)使用环境 DNA 技术监测开阔水域的生物群落时,发现其对于领航鲸(*Globicephala melas*)的灵敏性就低于传统声学调查技术,这可能是由于海水中的环境 DNA 被稀释后密度过低所致<sup>[34]</sup>。在长江流域,徐念等(2016)在宜昌至南京江段的对比调查表明,渔获物调查最少采样到 17 种鱼类,而利用环境 DNA 只检测出 15 种鱼类,但是含有网具没有捕获的种类<sup>[35]</sup>;Zhang 等(2019)使用该技术调查了长江口区域不同季节的鱼类组成,共鉴定出 41 个种类,虽然鉴定出的种类数量较多,但是缺乏与网具采样效果的对比<sup>[36]</sup>。这些研究说明环境 DNA 技术的监测效果在不同类型的水体中有所差别,在一些水域能够较好地代替传统的调查方法,而在另一些水域只能作为补充手段,这可能与这些水体的环境特征有关,其适用性需要针对具体的调查水域进行进一步的评估。

## 2.3 资源量调查

对目标生物的资源丰度进行调查是水生生物资源监测的重要内容,传统上依赖网具和声学手段进行。Ficetola 等发现了牛蛙密度高的池塘中所提取的 DNA 扩增率明显高于低密度的池塘,这为使用环境 DNA 技术监测资源丰度提供了启示<sup>[12]</sup>。近十几年来,不断有学者尝试利用环境 DNA 技术在不同水域对多种生物进行调查研究<sup>[37-38]</sup>。这些研究结果表明动物密度与其环境 DNA 浓度之间存在某种非线性关系,可以通过测量一个样本中环境 DNA 拷贝的数量来估算物种生物量<sup>[39]</sup>。常见的方法为在实验室条件下饲养目标物种,再检测水样中的环境 DNA 浓度,由此绘制种群密度与环境 DNA 浓度关系的标准曲线,在此基础上采集监测水域中的水样并测量环境 DNA 浓度,通过对比标准曲线就可推算监测物种的密度和分布<sup>[40]</sup>。然而,这种方法只适合

于水样中环境 DNA 浓度与该物种数量的相关性较强的物种,对于带有坚硬外壳的虾类或者贝类的物种,其环境 DNA 浓度与生物量之间的关系并不明显<sup>[41-42]</sup>。

由于技术等诸多因素的限制,单独依靠环境 DNA 技术对资源量进行调查仍有较大不确定性,相关技术的改进一直处于探索之中,Doi 等(2015)发现微滴式数字 PCR (Droplet Digital PCR, ddPCR)比 qPCR 更适合于测定水中环境 DNA 的浓度<sup>[43]</sup>;Takahala 等(2012)尝试了使用不同孔径的滤膜来进行检测,并对比出了更适合当地鲤鱼(*Cyprinus carpio*)的滤膜孔径,并成功使用环境 DNA 技术对当地的鲤鱼群落进行了监测<sup>[44]</sup>;卢珊等(2015)发现酒精多次沉淀法浓缩的水样可获得最佳的环境 DNA 提取效果<sup>[45]</sup>。目前,环境 DNA 技术常配合其他方法共同调查资源量,如在 Sigsgaard 等(2015)的研究中,将环境 DNA 技术结合潜水员观察,发现环境 DNA 技术的结果与潜水观测的结果呈现高度一致性<sup>[37]</sup>。在长江流域,吴昉晨等(2019)使用该技术通过多项式估算了长江江苏段的江豚数量,但估算缺乏与实际观测数量的对比验证<sup>[21]</sup>。除了江豚以外,在长江流域还未有更多的利用环境 DNA 技术调查物种丰度的报道出现,因此该应用方向也具有广阔的探索空间。

## 2.4 遗传多样性

遗传多样性一般所指的是种内的遗传多样性,即种内个体之间或一个群体内不同个体的遗传变异总和。使用环境 DNA 技术分析遗传多样性的原理是检测样品中同一种群中每个个体之间的 DNA 差异来分析其遗传变异。Sigsgaard 等(2016)使用环境 DNA 技术对阿拉伯海湾鲸鲨(*Rhincodon typus*)的遗传多样性进行了分析,得到了其种群数量及结构<sup>[46]</sup>;Tsuji 等(2020)使用该技术发现能从低浓度且含有外来物质的样本中识别出香鱼(*Plecoglossus altivelis*)个体的差异,虽与传统捕获方法相比能明显检测到更多个体,但是也没有覆盖该种群的全部遗传多样性<sup>[47]</sup>。因此,尽管基于环境 DNA 的方法仍有一定的局限性和误判风险,但具备作为调查野外物种遗传多样性有效方法的潜力。

## 3 影响因素与局限性

### 3.1 自然因素

根据目前的研究,对环境 DNA 降解的速率影响较大的环境因子有 pH 值、温度、光照、流速、水深等。Seymour 等(2018)发现,一般情况下酸性环境

加快了环境 DNA 的降解速度,环境 DNA 在碱性和中性条件下的降解速度几乎没有差异<sup>[48]</sup>;另外,高温也被认为会加速环境 DNA 的降解,且光照常与高温相伴随,因此也常被认为会加速环境 DNA 的降解,但也有特殊情况,如 Andruszkiewicz 等(2017)发现温度对日本鲭(*Scomber japonicus*)的环境 DNA 降解几乎没有影响,光照也不是导致其环境 DNA 衰退的主要原因<sup>[49]</sup>。

虽然近年来科学界对于环境因子影响环境 DNA 鉴定结果准确性的研究在不断进行,但是由于对影响环境 DNA 的物理和化学因素,以及对环境 DNA 降解和转运过程的了解仍然有限,因此还是很难获知监测对象存在的精确时间、距离和数量。

### 3.2 外界污染

环境 DNA 样品在每一个操作过程中都可能发生污染,即混入来自非目标水样的 DNA。由于环境 DNA 技术的灵敏性,少许的污染就会对最终的结果造成巨大的误差。因此在调查前必须采取严格的控制措施,包括对采样工具、设备进行灭菌处理<sup>[37]</sup>;在操作过程中始终佩戴一次性无菌手套并及时更换<sup>[13]</sup>;每个采样点增加阴性对照组,即过滤蒸馏水或无目标生物生存区域的水样,也有助于验证实验过程中有无污染<sup>[24]</sup>;每个采样点的样品隔离保存,防止交叉污染。

### 3.3 技术因素

环境 DNA 的操作流程分为环境 DNA 的获取、提取和鉴定等步骤<sup>[50]</sup>,其中最常影响结果的环节就是环境 DNA 的鉴定。这是因为在环境 DNA 的鉴定过程中,目前常用到的 PCR 技术具有偏向性,因此 PCR 结果的 DNA 比例并不一定等同于被监测生物群体的比例<sup>[51]</sup>,从而造成误差。为解决 PCR 技术带来的误差,可以在测序时使用单分子测序技术<sup>[52]</sup>,该技术不需要使用 PCR 扩增,可以解决目前测序中所存在的偏向性问题。另一方面,在环境 DNA 的鉴定过程中,常使用到 DNA 条形码技术(DNA Barcoding),但由于其分辨率较低,有时无法区分检索序列匹配程度相同的物种<sup>[53]</sup>,因此,相同的序列可能代表不同的物种,Wilcox 等(2013)通过对美洲红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)和强壮结节鲑(*S. confluentus*)的检测,发现在基因型相似的情况下,种间特异性不足可导致假阳性和假阴性结果<sup>[54]</sup>。徐念等对长江中下游干流环境 DNA 样本进行监测时,鱼类物种中的鲤及其部分亚种分别与检索序列匹配程度相同而导致无法区分<sup>[35]</sup>。

## 4 环境 DNA 技术在长江口水生生物监测中应用的建议

长江口水域的水生生物资源监测中根据项目目标的不同具有多种的监测需求。在监测特定物种方面,除了江豚和中华鲟,长江口水域还栖息着松江鲈、花鳗鲡(*Anguilla marmorata*)、胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)等诸多珍稀濒危物种<sup>[55]</sup>,它们数量稀少,或在洄游过程中季节性地在河口水域<sup>[56-59]</sup>,因此在长江口的重点水域开展常规性的环境 DNA 调查,以监测珍稀濒危物种的出现和分布,可能具有极大的应用潜力。在监测珍稀物种时,也可以同时监测其遗传多样性,分析其种群结构与个体状态,从而有利于更好地对其制定保护措施。另外,上海作为远洋船舶密集分布的国际航运中心,对于水体中外来种或入侵种扩散趋势的监测具有强烈需求,因此环境 DNA 技术还可以成为长江口水域生态安全监测体系的重要组成部分。

长江口生物多样性的监测一直是该区域监测工作的重点,渔获物分析作为传统监测体系的重要信息源<sup>[60]</sup>,可以预见在长江流域长期禁渔的背景下将会受到限制,增加环境 DNA 技术可能有助于补充监测手段和信息来源,构建更加多元的监测体系。但是,长江口区域的地形、水文条件复杂多变,环境 DNA 技术与传统方法的监测效果的优劣需要进行比较研究。譬如,长江口沿岸碎波带是诸多暖水性鱼类仔稚鱼的保育场,因此是生物多样性监测的重点区域,但碎波带区域大多地势低平,部分岸段滩窄坡陡,底质由泥沙堆积而成,结构松散,易受侵蚀,导致其水流中泥沙含量较高,在过滤时会阻塞滤膜孔,从而可能影响环境 DNA 结果的准确性<sup>[61-63]</sup>,可以使用多层纱布进行预过滤以防止滤膜阻塞,提高检出率<sup>[21]</sup>。

在经济鱼类资源量调查方面,长江口水域作为我国重要的传统渔场,是多种经济鱼种如刀鲚(*Coilia nasus*)<sup>[64]</sup>、凤鲚(*Coilia mystus*)<sup>[65]</sup>和棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)<sup>[66]</sup>的良好索饵场,相关资源量的波动是常规性的监测内容,虽然目前在长江流域应用环境 DNA 技术进行生物量监测的案例很少,但是特定物种环境 DNA 浓度在时间尺度上的相对变化是一个值得尝试的研究内容和应用探索。另外,对于鱼卵与仔稚鱼的资源补充量监测,都存在使用环境 DNA 技术补充传统调查手段的应用潜力。

## 参考文献:

- [1] 金显仕, 单秀娟, 郭学武, 等. 长江口及其邻近海域渔业生物群落结构特征[J]. 生态学报, 2009, 29(9): 4 761-4 772.  
JIN X S, SHAN X J, GUO X W, et al. Community structure of fishery biology in the Yangtze River estuary and its adjacent waters[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(9): 4 761-4 772.
- [2] 李建生, 李圣法, 程家骅. 长江口渔场鱼类组成和多样性[J]. 海洋渔业, 2006, 28(1): 39-43.  
LI J S, LI S F, CHENG J H. The composition and diversity of fishes on fishing grounds of Changjiang Estuary[J]. Marine Fisheries, 2006, 28(1): 39-43.
- [3] MICHEAL K. Fisheries biology, assessment and management[M]. Oxford: Blackwell Publishing, 2007.
- [4] REES H C, MADDISON B C, MIDDLEDITCH D J, et al. Review: the detection of aquatic animal species using environmental DNA—a review of eDNA as a survey tool in ecology[J]. Journal of Applied Ecology, 2015, 51(5): 1 450-1 459.
- [5] 沈新强, 史赞荣, 晁敏, 等. 夏、秋季长江口鱼类群落结构[J]. 水产学报, 2011, 35(5): 700-710.  
SHEN X Q, SHI Y R, CHAO M, et al. Fish community structure of the Yangtze River Estuary in summer and autumn[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(5): 700-710.
- [6] MINAMOTO T, HONJO M N, KAWABATA Z. Seasonal distribution of Cyprinid Herpesvirus 3 in Lake Biwa, Japan[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2009, 75(21): 6 900-6 904.
- [7] 沈新强, 史赞荣, 晁敏, 等. 长江口鱼类群落分类学多样性变动的分析[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(4): 1-7.  
SHEN X Q, SHI Y R, CHAO M, et al. Analysis of taxonomic diversity of fish community in Yangtze River estuary[J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(4): 1-7.
- [8] TABERLAT P, COISSAC E, HAJIBABAEI M, et al. Environmental DNA[J]. Molecular Ecology, 2012, 21(8): 1 789-1 793.
- [9] FAHNER N A, SHOKRALLA S, BAIRD D J, et al. Large-Scale monitoring of plants through environmental DNA metabarcoding of soil: recovery, resolution, and annotation of four DNA markers[J]. PLoS ONE, 2016, 11(6): e0157505.
- [10] OGRAM A, SAYLER G S, BARKAY T. The extraction and purification of microbial DNA from sediments[J]. Journal of Microbiological Methods, 1987, 7(2/3): 57-66.
- [11] MATSUHASHI S, DOI H, FUJIWARA A, et al. Evaluation of the environmental DNA method for estimating distribution and biomass of submerged aquatic plants[J]. PLoS ONE, 2016, 11(6): e0156217.
- [12] 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.
- [13] THOMSEN P F, KIELGAST J, IVERSEN L L, et al. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA[J]. Molecular Ecology, 2012, 21(11): 2 565-2 573.
- [14] 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.
- [15] SHELTON A O, KELLY R P, O'DONNELL J L, et al. Environmental DNA provides quantitative estimates of a threatened salmon species[J]. Biological Conservation, 2019, 237: 383-391.
- [16] TORRES DAL J D, FARRELLI A D, GOLDBERG C S. Environmental DNA detection of the golden tree frog (*Phytotriades auratus*) in Bromeliads[J]. PLoS ONE, 2017, 12(1): e0168787.
- [17] MA H, STEWART K, LOUGHEED S, et al. Characterization, optimization, and validation of environmental DNA (eDNA) markers to detect an endangered aquatic mammal[J]. Conservation Genetics Resources, 2016, 8(4): 561-568.
- [18] STEWART K, MA H, ZHENG J, et al. Using environmental DNA to assess population-wide spatiotemporal reserve use[J]. Conservation Biology, 2017, 31(5): 1 173-1 182.
- [19] QU C, STEWART K A. Evaluating monitoring options for conservation: comparing traditional and environmental DNA tools for a critically endangered mammal[J]. The Science of Nature, 2019, 106(3/4): 1-9.
- [20] XU N, ZHU B, FANG S, et al. Monitoring seasonal distribution of an endangered anadromous sturgeon in a large river using environmental DNA[J]. The Science of Nature, 2018, 105(62): 11-12.
- [21] 吴昫晨, 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): 126-134.  
WU J S, TANG Y K, LI J L, et al. The application of environmental DNA in the monitoring of the Yangtze finless porpoise, *Neophocaena phocaenoides asaeorientalis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(1): 126-134.
- [22] 万方浩, 郭建英, 王德辉. 中国外来入侵生物的危害与管理对策[J]. 生物多样性, 2002, 10(1): 119-125.  
WANG F H, GUO J Y, WANG D H. Alien invasive species in China: their damages and management strategies[J]. Biodiversity Science, 2002, 10(1): 119-125.
- [23] 王献溥. 生物入侵的生态威胁及其防控措施[J]. 植物杂志, 1999, 4(4): 4-5.  
WANG X B. Ecological threat of biological invasion and its control measures[J]. Plant Magazine, 1999, 4(4): 4-5.
- [24] JERDE C L, MAHON A R, CHADDERTON W L, et al. "Sight-unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA[J]. Conservation Letters, 2011, 4(2): 150-157.
- [25] 刘世禄, 王凤起, 杨鸣, 等. 山东省水产养殖外来物种调查研究[J]. 渔业科学进展, 2003, 24(3): 66-71.  
LIU S L, WANG F Q, YANG M, et al. Investigation and study on the alien species in aquaculture in Shandong Province[J]. Progress in Fishery Sciences, 2003, 24(3): 66-71.
- [26] 于海燕, 邵卫伟, 韩明春, 等. 浙江省典型生态系统外来入侵物种调查研究[J]. 中国环境监测, 2010, 26(5): 70-74.

- YU H Y, SHAO W W, HAN M C, et al. Studies on the invasive species of typical ecosystem in Zhejiang Province[J]. Environmental Monitoring of China, 2010, 26(5): 70-74.
- [27] 王亚民, 曹文宣. 中国水生外来入侵物种对策研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(1): 7-13.  
WANG Y M, CAO W X. The strategies of aquatic invasive alien species (IAS) in China[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25(1): 7-13.
- [28] 张小芳. 中国出入境船舶压载水排放量分析及其高级氧化应急处理技术研究[D]. 大连: 大连海事大学, 2019.  
ZHANG X F. Researches on the volume of ballast water discharged by Chinese entry and exit vessels and its advanced oxidation emergency treatment technology[D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2019.
- [29] 高姗姗. 华东地区石莼属主要地理种群及压舱水中石莼属的鉴定[D]. 宁波: 宁波大学, 2014.  
GAO S S. Major geographical populations of *Ulva* in East China and identification of *Ulva* in ballast water[D]. Ningbo: Ningbo University, 2014.
- [30] 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: 4 113-4 121.
- [31] COSTANZA R, ARGE, GROOT R D, et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital[J]. Nature, 1997, 387(15): 253-260.
- [32] PURVIS A, HECTOR A. Getting the measure of biodiversity[J]. Nature, 2000, 405(6 783): 212-219.
- [33] 马克平. 试论生物多样性的概念[J]. 生物多样性, 1993, 1(1): 20-22.  
MA K P. On the concept of biodiversity[J]. Biodiversity Science, 1993, 1(1): 20-22.
- [34] FOOTE A D, TOMSEN P F, SVEEGAARD S, et al. Investigating the potential use of environmental DNA (eDNA) for genetic monitoring of marine mammals[J]. PLoS ONE, 2012, 7(8): e41781.
- [35] 徐念, 常剑波. 长江中下游干流环境 DNA 样本鱼类物种检测的初步研究[J]. 水生态学杂志, 2016, 37(5): 49-55.  
XU N, CHANG J B. Preliminary study on fish species detection in the middle and lower reaches of Yangtze River using environmental DNA[J]. Journal of Hydroecology, 2016, 37(5): 49-55.
- [36] ZHANG H, YOSHIZAWA S, IWASAKI W, et al. Seasonal fish assemblage structure using environmental DNA in the Yangtze Estuary and its adjacent waters[J]. Frontiers in Marine Science, 2019, 6: 515.
- [37] SIGSGAARD E E, HENRIK C, MOLLER P R, et al. Monitoring the near-extinct European weather loach in Denmark based on environmental DNA from water samples[J]. Biological Conservation, 2015, 183: 46-52.
- [38] TAKAHARA T, MINAMOTO T, YAMANAKA H, et al. Estimation of fish biomass using environmental DNA[J]. PLoS ONE, 2012, 7(4): e35868.
- [39] DEJEAN T, VALENTINI A, DUPARC A, et al. Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems[J]. PLoS ONE, 2011, 6(8): e23398.
- [40] 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, 2017.  
MA Z X. Distribution of Invasive Crayfish *Procambarus clarkii* in Yuanyang Terrace revealed by eDNA[D]. Kunming: Yunnan University, 2017.
- [41] DOUGHERTY M M, LARSON E R, RENSHAW M A, et al. Environmental DNA (eDNA) detects the invasive rusty crayfish *Orconectes rusticus* at low abundances[J]. Journal of Applied Ecology, 2016, 53(3): 722-732.
- [42] LARSON E R, RENSHAW M A, GANTZ C A, et al. Environmental DNA (eDNA) detects the invasive crayfishes *Orconectes rusticus* and *Pacifastacus leniusculus* in large lakes of North America[J]. Hydrobiologia, 2017, 800: 1-13.
- [43] DOI H, UCHII K, TAKAHARA T, et al. Use of droplet digital PCR for estimation of fish abundance and biomass in environmental DNA surveys[J]. PLoS ONE, 2015, 10(3): e0122763.
- [44] TAKAHARA T, MINAMOTO T, YAMMANAKA H, et al. Estimation of fish biomass using environmental DNA[J]. Pubmed, 2012, 7(4): e35868.
- [45] 卢珊. 常见水生动物与其环境 DNA 的定性与定量关系[D]. 南京: 南京师范大学, 2015.  
LU S. Qualitative and quantitative relationships between common aquatic animals and their environmental DNA[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2015.
- [46] SIGSGAARD E E, NIELSEN I B, Bach S S, et al. Population characteristics of a large whale shark aggregation inferred from seawater environmental DNA[J]. Nature Ecology & Evolution, 2016, 1(1): 1-5.
- [47] TSUJI S, MARUYAMA A, MIYA M, et al. Environmental DNA analysis shows high potential as a tool for estimating intraspecific genetic diversity in a wild fish population[J]. Molecular Ecology Resources, 2020, 20(5): 1 248-1 258.
- [48] SEYMOUR M, DURANCE I, COSBY B J, et al. Acidity promotes degradation of multi-species environmental DNA in lotic mesocosms[J]. Communications Biology, 2018, 1(1): 4.
- [49] ANDRUSZKIEWICZ E A, SASSOUBRE L M, BOEHM A B, et al. Persistence of marine fish environmental DNA and the influence of sunlight[J]. PLoS ONE, 2017, 12(9): e0185043.
- [50] 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.  
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.
- [51] 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): 4 573-4 582.  
CHEN L, WU L, LIU Y, et al. Application of environmental DNA metabarcoding in ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(15): 4 573-4 582.

- [52] 俞晓玲,姜文倩,郑玲,等.单分子测序技术及应用研究进展[J].生物化学与生物物理进展,2020,47(1):5-16.  
YU X L, JIANG W Q, ZHENG L, et al. The application and research progress of single molecule sequencing technology[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2020, 47(1): 5-16.
- [53] VALENTINI A, TABERLET P, MIAUD C, et al. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding[J]. Molecular Ecology, 2016, 25: 929-942.
- [54] WILCOX T M, MCKELVEY K S, YOUNG M K, et al. Robust detection of rare species using environmental DNA: the importance of primer specificity[J]. PLoS ONE, 2013, 8(3): e59520.
- [55] 童波,操文颖.长江口开发与河口珍稀水生动物保护[J].人民长江,2008,39(23):65-67.  
TONG B, CAO W Y. Exploitation of Changjiang Estuary and Protection of Rare Aquatic Animals in Estuary[J]. Yangtze River, 2008, 39(23): 65-67.
- [56] 陶江平,乔晔,谭细畅,等.中华鲟回声信号判别分析及其在葛洲坝产卵场的空间分布[J].科学通报,2009,54(19):2975-2982.  
TAO J P, QIAN Y, TAN X C, et al. Species identification of Chinese sturgeon using acoustic descriptors and ascertaining their spatial distribution in the spawning ground of Gezhouba Dam[J]. Chinese Science Bulletin, 2009, 54(19): 2975-2982.
- [57] 张枫,张保卫,唐文乔,等.长江口江豚的遗传多样性现状及种群动态[J].上海海洋大学学报,2018,27(5):15-24.  
ZHANG F, ZHANG B W, TANG W Q, et al. Analysis of genetic diversity and population dynamics of the narrow-ridged finless porpoise in the Yangtze River Estuary[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(5): 15-24.
- [58] 张波,唐启升.东、黄海六种鳗的食性[J].水产学报,2003,27(4):307-314.  
ZHANG B, TANG Q S. Feeding habits of six species of eels in East China Sea and Yellow Sea[J]. Journal of Fisheries of China, 2003, 27(4): 307-314.
- [59] 顾孝连,庄平,章龙珍,等.长江口中华鲟幼鱼对底质的选择[J].生态学杂志,2008,27(2):213-217.  
GU X L, ZHUANG P, ZHANG L Z, et al. Substrate preference of juvenile Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* captured from Yangtze River Estuary[J]. Chinese Journal of Ecology, 2008, 27(2): 213-217.
- [60] 赵静,章守宇,林军,等.不同采样设计评估鱼类群落效果比较[J].应用生态学报,2014,25(4):1181-1187.  
ZHAO J, ZHANG S Y, LIN J, et al. A comparative study of different sampling designs in fish community estimation[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(4): 1181-1187.
- [61] 钟俊生,郁蔚文,刘必林,等.长江口沿岸碎波带仔稚鱼种类组成和季节性变化[J].上海水产大学学报,2005,14(4):375-382.  
ZHONG J S, YU W W, LIU B L, et al. Seasonal occurrences of fish larvae and juveniles in the surf zone of the Yangtze River Estuary[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2005, 14(4): 375-382.
- [62] GADOMSKI D M, CADDELL S M. Effects of temperature on early-life-history stages of california halibut *paralichthys californicus*[J]. 1991, 89(4):567-576.
- [63] KELLY R P, SHELTON A O, RAMÓN G. Understanding PCR processes to draw meaningful conclusions from environmental DNA studies[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 12 133.
- [64] 管卫兵,陈辉辉,丁华腾,等.长江口刀鲚洄游群体生殖特征和条件状况研究[J].海洋渔业,2010,32(1):73-81.  
GUAN W B, CHEN H H, DING H T, et al. Reproductive characteristics and conditions of anadromous *Coilia ectenes* (Engraulidae) in Yangtze Estuary[J]. Marine Fisheries, 2010, 32(1): 73-81.
- [65] 刘守海,徐兆礼,田丰歌.长江口及附近水域凤鲚摄食习性的分析[J].上海海洋大学学报,2012,21(4):589-597.  
LIU S H, XU Z L, TIAN F G. Study on feeding habit of *Coilia mystus* in Yangtze River Estuary[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(4): 589-597.
- [66] 王建锋,赵峰,宋超,等.长江口棘头梅童鱼食物组成和摄食习性的季节变化[J].应用生态学报,2016,27(1):291-298.  
WANG J F, ZHAO F, SONG C, et al. Diet composition and seasonal variation in feeding habits of *Collichthy lucidus* in Yangtze Estuary[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27(1): 291-298.

# Potential application of environmental DNA technology in monitoring aquatic organisms in the Yangtze Estuary

WANG Xuefang<sup>1,2,3,4,5</sup>, MENG Weizhao<sup>1</sup>, WANG Congcong<sup>1,2,3,4,5</sup>, ZHANG Yunfei<sup>6\*</sup>, TIAN Siqun<sup>1,2,3,4,5\*</sup>,  
GAO Chunxia<sup>1,2,3,4,5</sup>, HAN Dongyan<sup>1,2,3,4,5</sup>, CHEN Jinhui<sup>7</sup>, WU Jianhui<sup>7</sup>

(1. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. National Distant-water Fisheries Engineering Research Center, Shanghai 201306, China;

3. The Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China;

4. Key Laboratory of Oceanic Fisheries Exploitation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China;

5. Scientific Observing and Experimental Station of Oceanic Fishery Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China;

6. Natural History Research Center, Shanghai Science and Technology Museum, Shanghai 200041, China;

7. Shanghai Aquatic Wildlife Conservation Research Center, Shanghai 200092, China)

**Abstract:** Environmental DNA (eDNA) is a technique of biological monitoring and it is developing rapidly. It can monitor specific objects or a variety of aquatic organisms simultaneously in need. Due to its convenience and efficient, it has a broad application potential for the monitoring of aquatic biological resources due to its advantages of friendliness to the detection objects and eco-environment. As the largest estuary in China, the Yangtze Estuary is an important waters for seasonal migration, foraging and habitat of aquatic organisms. Therefore, accurate monitoring of the dynamic changes of aquatic biological resources is a necessary basis for corresponding ecological protection. This paper summarizes the environmental monitoring principle of eDNA technology and its application situations of the rare and endangered species, alien species, biodiversity including gene diversity and resources in monitoring in addition to the application limitations. Considering the specific needs of monitoring in the Yangtze Estuary, the application of eDNA technology in the monitoring and research of aquatic resources and so on are suggested and prospected.

**Key words:** marine environmental science; environmental DNA technology; aquatic biological resources; monitoring technology; application prospect; Yangtze Estuary

DOI: 10.3969/J.ISSN.2095-4972.2021.03.020

(责任编辑:杜俊民)