环境DNA技术在生物入侵研究中的应用进展

杨力凤[1]　杨　楠[1]　付海滨[2]　褚　栋[1*]

（1. 青岛农业大学植物医学学院，山东省植物病虫害绿色防控工程研究中心，青岛 266109；
2. 沈阳海关技术中心，沈阳 110016）

摘要： 生物入侵事关国家粮食安全、生态安全和生物安全。快速发现外来物种并及时根除或阻截是降低损害的重要手段，而传统的鉴定方法往往无法满足对外来物种精准快速的检测需求。环境DNA（environmental DNA，eDNA）技术是一种新型检测技术，具有非侵入性和易于取样等特点，弥补了入侵生物传统鉴定技术在检测率低、耗时长以及破坏样本等方面的不足，为入侵生物防控提供了重要的技术支撑。该文综述了eDNA技术的特点及发展概况，从入侵物种的检测与监测、入侵途径、分布与危害程度以及与其他物种的相互关系等方面介绍了eDNA技术在生物入侵研究中的应用进展；同时，指出了eDNA技术存在的问题并展望了该技术的应用前景。

关键词： 生物入侵；环境DNA；检测鉴定；早期监测；入侵物种

Research advances in the application of environmental DNA (eDNA) technique in biological invasions

Yang Lifeng[1]　Yang Nan[1]　Fu Haibin[2]　Chu Dong[1*]

（1. Shandong Engineering Research Center for Environment-Friendly Agricultural Pest Management, College of Plant Health and Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong Province, China;
2. Technology Center of Shenyang Customs, Shenyang 110016, Liaoning Province, China）

Abstract: Biological invasion is closely associated with national food security, ecological security, and biological security. Rapid detection and eradication or interception of invasive alien species (IAS) is an effective means to reduce the damages. However, the traditional methods often fail to satisfy the requirement of rapid and accurate identification of IAS. As a newly emerged monitoring technique, environmental DNA (eDNA) can be used as an important method for the monitoring of IAS due to its non-invasiveness and easy of sampling, overcoming the deficiencies of traditional identification techniques such as low efficiency, time consumption, and sample destruction. This review summarized the characteristics and development history of eDNA technique, and introduced its application in the research on biological invasions including the detection and monitoring, judgment of the invasion routes, determination of the distribution and damage degree of IAS, and the interaction between IAS and other species. Meanwhile, the review pointed out the problems and perspectives of this technique in the future.

Key words: biological invasion; environmental DNA; detection and identification; early monitoring; invasive alien species

生物入侵是指生物由原生存地经自然的或人为的途径侵入到另一个新环境，对入侵地的生物多样性、农林牧渔业生产以及人类健康造成经济损失或生态灾难的过程（万方浩等，2002）。生物入侵会对

基金项目：国家重点研发计划（2021YFD1400200），国家自然科学基金（31872030），山东省现代农业产业技术体系水稻创新团队项目（SDAIT-17-07）
* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：chinachudong@qau.edu.cn
收稿日期：2022-11-08

入侵地的粮食安全、生态安全与生物安全构成严重威胁。随着经济全球化、区域经济一体化以及气候变化等因素的影响，生物入侵问题愈发严重，已引起世界各国的共同关注。生物入侵是一个传入、定殖、潜伏、扩散与暴发的链式过程，不同的入侵阶段应采取不同的防控策略（万方浩等，2008）。入侵物种在入侵地一旦建立种群后再进行治理，不仅费用高，而且难以达到预期效果；而对入侵物种进行早期检测、诊断与监测，有利于做出快速有效的反应并制订相应防治决策，及时遏制入侵物种的扩散蔓延。因此，入侵物种的早期检测、诊断与监测技术对其防控尤为重要（Woodell et al.，2021），目前主要涉及形态学鉴定以及分子标记等方法。形态学鉴定的优点是可以直观地观察到结果，但这种方法对害虫幼龄阶段的识别能力较差，而幼龄阶段在入侵物种的建群和扩散过程中却至关重要（Brown et al.，2016）。分子标记方法在物种的准确鉴定中发挥着重要作用（Deiner et al.，2017；Poland & Rassati，2019），可弥补形态学鉴定中存在的不足。然而，这些分子技术往往会对环境和标本造成干扰或伤害，同时难以监测到隐蔽性的入侵物种，如钻蛀性害虫和微小型生物等。

近年来，环境DNA（environmental DNA，eDNA）技术在物种鉴定中的作用受到了广泛关注。eDNA技术是指从土壤、沉积物、水或雪等环境样本中提取DNA片段，通过分析环境中的DNA来检测或鉴定物种（Rees et al.，2014）。该技术在对入侵物种的检测、诊断与监测方面具有重要的潜在价值，是传统检测、诊断与监测方法的有力补充。在2013年对全球生态保护的地平线扫描分析中，该技术在水生生物监测的应用被确定为15个最重要的全球生态保护议题之一（Sutherland et al.，2013）。当前，eDNA技术已在生态学、自然保护和生物监测等方面发挥着越来越重要的作用。在欧美等发达国家，eDNA技术已在鱼类和两栖类入侵物种的研究中被广泛使用，尤其值得关注的是，近年来该技术逐渐在农业入侵生物研究中得到应用。迄今为止，我国对eDNA技术的研究还相对较少，且主要是用于水生生物研究（李苗等，2020）。

本文综述了eDNA技术的特点及发展概况，从入侵物种的检测与监测、入侵途径、分布与危害程度以及与其他物种的相互关系等方面对eDNA技术在生物入侵研究中的应用进展进行介绍；同时，指出了eDNA技术存在的问题并展望了该技术的应用前景。

1 eDNA技术的优势

与形态学鉴定和分子标记技术等传统方法相比，eDNA技术具有独特的优势，主要包括以下3个方面。

1.1 对生物和环境破坏性小

eDNA技术对生物与环境具有非侵入性的特点，可以极大程度地避免对环境或生物物种造成伤害。例如，应用该技术通过对天然池塘的水样进行分析可以发现采样区域共有5种鸟类（Ushio et al.，2018）；或通过对粪便进行检测就可监测到入侵物种赤狐 *Vulpes vulpes*（Berry et al.，2007）；或从人类居住环境的灰尘中检测出节肢动物（Madden et al.，2016）。另外，诸如蜘蛛网（Xu et al.，2015）、猪笼草 *Nepenthes* sp.（Bittleston et al.，2016）和被动物啃食过的植物枝条（Nichols et al.，2015）等样品都能被用来收集eDNA进行物种鉴定。

1.2 样本检测灵敏度高

相较于传统检测技术，eDNA技术具有更高的检出率，特别是对低密度种群（如在入侵早期阶段）更具有优势。例如通过eDNA技术分析可以检测到每平方公里水域内种群密度仅为1~2只的美洲牛蛙 *Rana catesbeiana*（Ficetola et al.，2008）；在250 mL水样中能检测到白鲨 *Carcharodon carcharias* 存在的痕迹（Lafferty et al.，2018）；在1.5 L水中仅有1只新西兰泥螺 *Potamopyrgus antipodarum* 时也能被准确检测到（Goldberg et al.，2013）。有研究数据表明，使用eDNA技术的检测率比传统调查法高出2倍多（Allen et al.，2021；陈晓等，2021）。

1.3 取样和检测节本高效

eDNA技术成本低、耗时少。采用电气捕鱼和eDNA技术调查美洲红点鲑 *Salvelinus fontinalis* 时，相较于前者，eDNA技术仅仅需要收集水体就可以检测，在取样方面更省力，能节省约67%的成本（Evans et al.，2017）；利用传统方法和eDNA技术调查美洲牛蛙时，前者所耗费的费用与时间比后者多2.5倍（Dejean et al.，2012）。

2 eDNA技术的应用历史

eDNA技术最早由Ogram et al.（1987）提出。2000年，eDNA术语第一次在文献中出现，之后eDNA技术得到越来越广泛的关注（Rondon et al.，2000；刘梦月和赵文玉，2020）。特别是2010年后，eDNA技术的研究与应用急剧增加，逐步成为热点领域。纵观eDNA技术的应用历史，有以下几个重要转变。

2.1 检测的物种对象从微生物拓展到高等生物

Ogram et al.(1987)最初提出该技术时旨在研究微生物，随后几十年的研究与探索一直围绕着微生物开展。随后，研究发现该技术不仅适用于微生物的检测，还可以从陆地沉积物样本中检测到大型生物(Willerslev et al.，2003)以及从环境样本中检测到牛蛙等高等生物(Ficetola et al.，2008)。

2.2 检测对象的生存环境从水生环境拓展到陆生环境

长期以来，eDNA技术主要应用于水生生物如细菌、藻类及动物等的监测，近年来逐渐用于陆生生物监测。例如用eDNA技术监测到农业害虫茶翅蝽 *Halyomorpha halys*(Valentin et al.，2018)，这为使用eDNA技术监测其他陆生生物提供了先例。最新的研究发现，还可以从空气中收集eDNA并识别哺乳动物(Clare et al.，2022)。

2.3 从检测单一物种拓展到可以同时检测多个物种

eDNA技术多用于检测单一物种，如利用该技术检测到了日本竹筴鱼 *Trachurus japonicus*(Yamamoto et al.，2016)、中华鲟 *Acipenser sinensis*(Xu et al.，2018)、鲢 *Hypophthalmichthys molitrix*(Ruan et al.，2020)和长江江豚 *Neophocaena phocaenoides asaeorientalis*(吴昀晟等，2019)等水生物种。后来该技术逐渐拓展到可以同时检测到多个物种，如利用eDNA技术在森林的池塘中同时检测到陆地哺乳动物棕背䶄 *Myodes rufocanus*、北美浣熊 *Procyon lotor* 和梅花鹿 *Cervus nippon* 等多个物种(Ushio et al.，2017)或在收集的水样中同时检测到多种鱼(舒璐等，2020；王梦等，2022)。

3 eDNA技术在生物入侵研究中的应用

截至到2022年9月，在Web of Science核心数据库基于最大检索范围(1985—2022年)进行检索。其中英文的检索词设置为TS=("environmental DNA" OR "eDNA") AND TS=("biological invasion" OR "invasive species")，共检索到338篇涉及该主题的文献。为分析eDNA技术在生物入侵领域应用的研究进展和前沿热点，借助文献分析软件将检索到的文献进行进一步分析。使用CiteSpace 6.1.R2(64-bit)Basic软件分析发现，目前在该领域研究较多的主要有美国、加拿大和法国等国家(图1)。运用VOSviewer 1.6.18软件分别以作者和关键词进行聚类分析并绘制共现图谱，结果表明当前应用eDNA技术开展研究的主要有5个群体(图2)，研究内容主要集中在入侵物种的检测与监测方面(图3)。

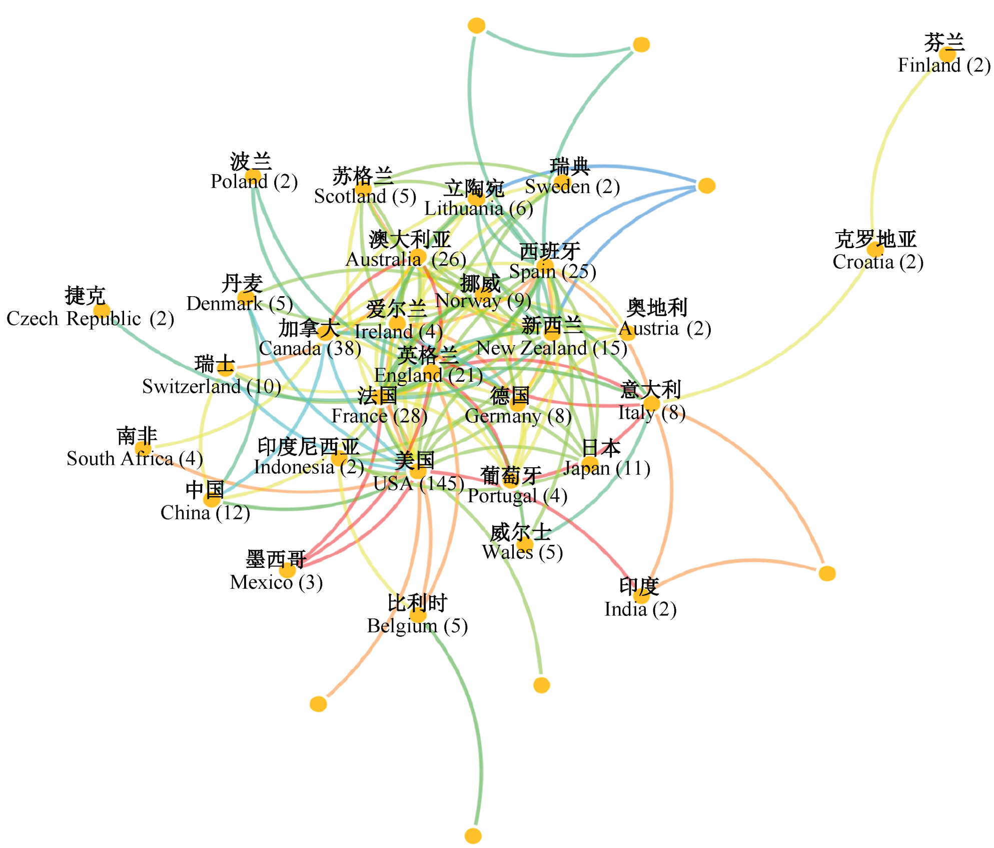

图1 Web of Science数据库中研究eDNA国家的聚类图

Fig. 1 Clustering chart of countries studying eDNA in Web of Science database

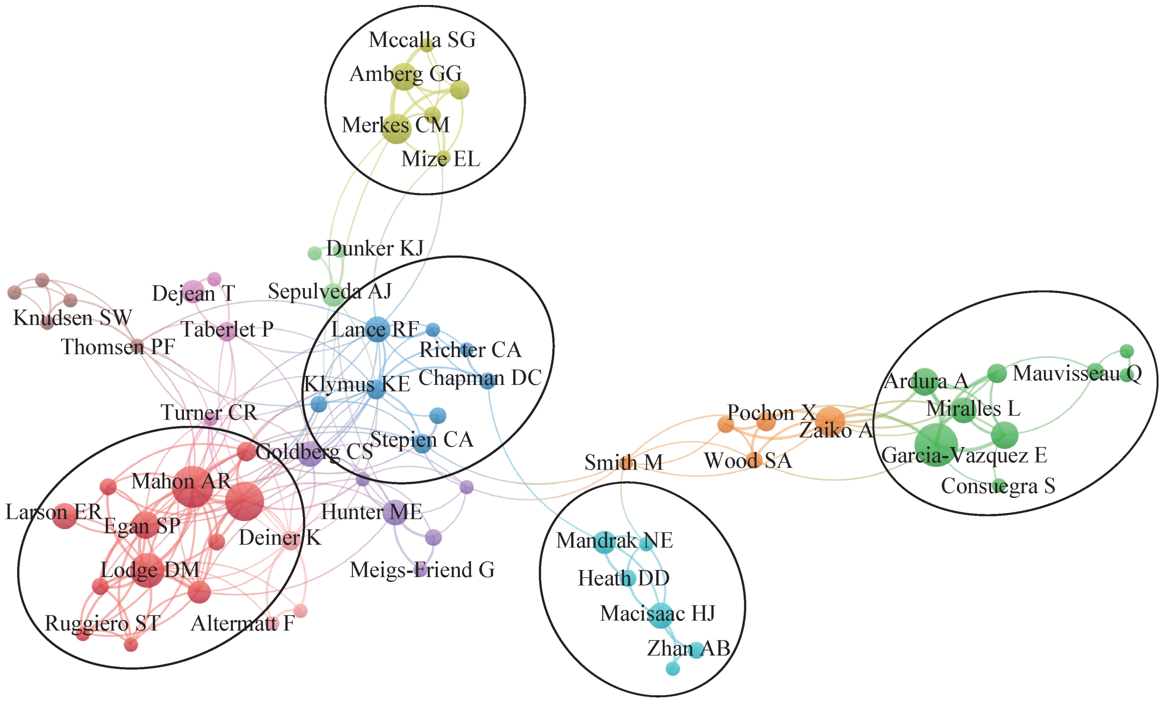

图2 Web of Science数据库中eDNA研究人员聚类图

Fig. 2 Clustering chart of personnel studying eDNA in Web of Science database

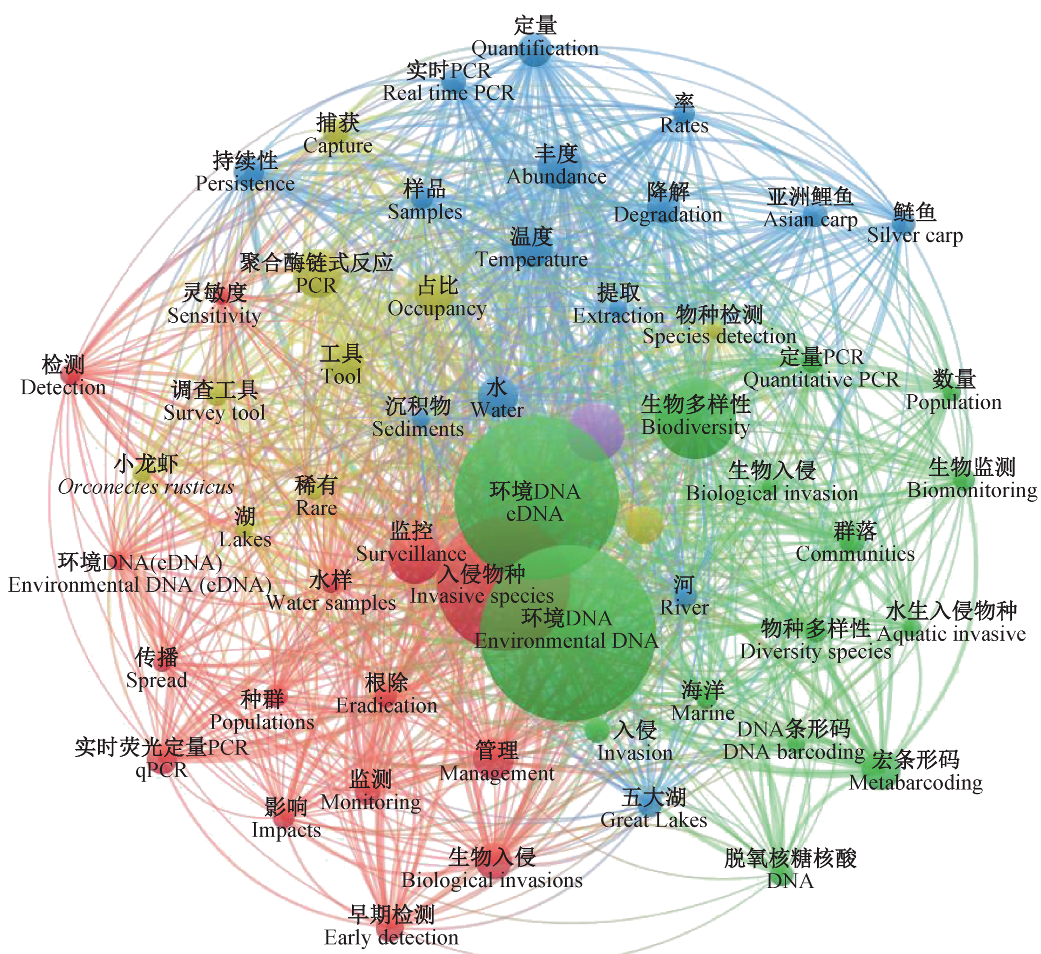

图3 Web of Science数据库中eDNA研究关键词聚类图

Fig. 3 Clustering graph of eDNA keywords in Web of Science database

迄今为止，eDNA技术在生物入侵研究方面的应用主要用于外来入侵物种的检测和监测。近年来，该技术也用于判断外来入侵物种的传入途径、确定其分布与危害程度以及解析入侵物种与生态系统中其他物种的相互关系（表1）。

表1 eDNA技术在生物入侵研究中的应用案例

Table 1 Application cases of eDNA techniques in biological invasion research

研究主题 Research topic	物种 Species	参考文献 Reference
入侵物种的检测与监测 Detection and monitoring of invasive species	美洲牛蛙 *Rana catesbeiana*	Ficetola et al., 2008
	新西兰泥螺 *Potamopyrgus antipodarum*	Goldberg et al., 2013
	蓝鳃太阳鱼 *Lepomis macrochirus*	Takahara et al., 2013
	克氏原螯虾 *Procambarus clarkii*	Tréguier et al., 2014
	银鲫 *Carassius gibelio*	Keskin, 2014
	尖齿胡鲶 *Clarias gariepinus*	Keskin, 2014
	尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus*	Keskin, 2014
	麦穗鱼 *Pseudorasbora parva*	Keskin, 2014
	非洲珍珠鱼 *Hemichromis letourneuxi*	Díaz-Ferguson et al., 2014
	娃娃鱼 *Andrias davidianus*	Fukumoto et al., 2015
	鳙鱼 *Hypophthalmichthys nobilis*	Nathan et al., 2015
	云斑原吻虾虎鱼 *Proterorhinus marmoratus*	Nathan et al., 2015
	红眼鱼 *Scardinius erythrophthalmus*	Nathan et al., 2015
	鲫鱼 *Carassius auratus*	Nathan et al., 2015
	小斑马似壳菜蛤 *Dreissena bugensis*	Egan et al., 2015
	小龙虾 *Orconectes rusticus*	Dougherty et al., 2016
	哈氏海蟹 *Rhithropanopeus harrisii*	Forsström & Vasemägi, 2016
	非洲爪蟾 *Xenopus laevis*	Secondi et al., 2016
	斑马贻贝 *Dreissena polymorpha*	Ardura et al., 2017
	草苔虫 *Bugula neritina*	Kim et al., 2018
	欧亚野猪 *Sus scrofa*	Williams et al., 2018
	沼蛤 *Limnoperna fortunei*	Xia et al., 2018
	茶翅蝽 *Halyomorpha halys*	Valentin et al., 2018
	日本大螯蜚 *Grandidierella japonica*	Wei et al., 2019
	水蕴藻 *Elodea canadensis*	Anglès d'Auriac et al., 2019
	异色瓢虫 *Harmonia axyridis*	Thomsen & Sigsgaard, 2019
	缨鳃蚕 *Sabellas pallanzanii*	von Ammon et al., 2019
	褐鳟鱼 *Salmo trutta*	Minett et al., 2021
	美洲斑潜蝇 *Liriomyza sativae*	Pirtle et al., 2021
	小麻臭蚁 *Linepithema humile*	Yasashimoto et al., 2021
	麂鹿 *Muntiacus reevesi*	Clare et al., 2022
	短吻间银鱼 *Hemisalanx brachyrostralis*	王梦等，2022 Wang et al., 2022
	欧洲绿蟹 *Carcinus maenas*	Danziger & Frederich，2022
	美国红鱼 *Sciaenops ocellatus*	Wang et al., 2022
	蟾蜍 *Bufo japonicus*	Mizumoto et al., 2022
判断入侵物种的传入途径 Judgment of the introduction route of invasive species	欧洲青蟹 *Carcinus maenas*	Briski et al., 2012
	泥蟹 *Rhithropanopeus harrisii*	Briski et al., 2012
	软壳蛤蜊 *Mya arenaria*	Briski et al., 2012
	白鲈鱼 *Morone americana*	Mahon et al., 2014
	欧洲泥螺 *Peringia ulvae*	Ardura et al., 2015
入侵物种的分布及危害程度 Distribution and damage degree of invasive species	大冠蝾螈 *Triturus cristatus*	Biggs et al., 2015
	小管福寿螺 *Pomacea canaliculata*	陈晓等，2021 Chen et al., 2021
	水蕴藻 *Egeria densa*	Fujiwara et al., 2016
入侵物种与其他物种的相互关系 Interactions between invasive species and other species	斑衣蜡蝉 *Lycorma delicatula*	Allen et al., 2021
	稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus*	Montauban et al., 2021
	斑翅果蝇 *Drosophila suzukii*	Dekeukeleire et al., 2020
	茶翅蝽 *Halyomorpha halys*	Maslo et al., 2017

3.1 入侵物种的检测和监测

eDNA技术在外来入侵物种监测中多用于水生生物的检测和监测，如使用eDNA技术检测鳙*Hypophthalmichthys nobilis*及鲢*Hypophthalmichthys molitrix*等水生入侵生物（Jerde et al.，2011；2013）。近年来，逐渐拓展应用于半水生生物以及陆生生物等物种监测中（Pirtle et al.，2021；Yasashimoto et al.，2021）。例如，Piaggio et al.（2014）使用eDNA技术检测半水生入侵物种缅甸蟒*Python bivittatus*，在佛罗里达州南部的6个地点取样，并在5个地点成功检测到缅甸蟒，这是对现有缅甸蟒检测方法的重大改进。

特别值得关注的是，近年来eDNA技术已用于农业入侵昆虫的监测。例如，通过eDNA技术检测叶片上残留的DNA痕迹，从中发现了美洲斑潜蝇*Liriomyza sativae*，由于痕迹采样比收集昆虫更容易，且在环境中的存留时间更长，该方法显著提高了对入侵昆虫的监测效率（Pirtle et al.，2021）；另外，还可以通过在表层土壤中收集eDNA进行检测，从中发现了小麻臭蚁*Linepithema humile*，证实了eDNA技术分析的可靠性并表明该方法可以提高检测入侵蚂蚁的能力（Yasashimoto et al.，2021）。粘板诱集是一种十分普遍的昆虫诱捕方法，但是诱捕到的样本大多损坏或多个物种混合在一起，使用eDNA技术从粘板分离的遗留物中成功检测到入侵昆虫番茄潜叶蛾*Phthorimaea absoluta*（Butterwort et al.，2022）；还从花上收集的eDNA中检测到了外来入侵物种异色瓢虫*Harmonia axyridis*（Thomsen & Sigsgaard，2019）。

3.2 判断入侵物种的传入途径

目前，利用eDNA技术对水生入侵物种的传入途径研究较多。在跨区域航行中，物种在压载水和港口水或压舱物沉积物中生存的可能性很高。Ardura et al.（2015）就利用eDNA技术证实欧洲泥螺*Peringia ulvae*在压载水中能成功越洋。此外，Mahon et al.（2014）使用eDNA技术从商业诱饵供应商处收集的水体中检测到入侵鱼类白鲈鱼*Morone americana*，这表明对于不同用途的鱼类（作为食物、垂钓鱼放养或作为诱饵）的活体运输也是一个潜在的入侵途径。

3.3 确定入侵物种的分布及危害程度

及时调查入侵物种的分布及危害程度有助于决策部门尽快制订相应的防治措施，减少对入侵地经济与环境造成的损失。在确定入侵物种分布及危害程度方面，使用eDNA技术的检测效率往往很高。斑衣蜡蝉*Lycorma delicatula*是北美洲东部森林和农业系统新发生的入侵昆虫，也是葡萄上的重要害虫，使用eDNA技术对其的检测率可达到84%（Allen et al.，2021）；而采用eDNA-宏条形码技术检测外来入侵物种小管福寿螺*Pomacea canaliculata*时，检测率为92.11%（陈晓等，2021）。此外，有研究发现eDNA技术在物种繁殖季节的检测率往往会更高，如在大冠蝾螈*Triturus cristatus*的繁殖季节使用eDNA技术对环境样品进行检测时，检测率高达99.3%（Biggs et al.，2015）。

eDNA技术不仅可以确定动物的分布，而且还可以用于检测植物的分布情况。Scriver et al.（2015）通过对8科10种水生植物进行检测，首次证明可以从水样提取的eDNA中扩增到目的产物，因此eDNA技术为入侵早期的植物检测或为入侵植物清除项目的评估提供了一种高效的监测手段；随后Fujiwara et al.（2016）通过eDNA技术检测采自23个池塘的水样，分析获得了入侵植物水蕴草*Egeria densa*的分布情况。

3.4 解析入侵物种与其他物种的相互关系

利用eDNA技术检测入侵物种可以揭示其在生态系统中与其他物种之间的关系，有助于分析与揭示复杂的食物网，促进人们对生态系统的理解，并为入侵生物的防控与管理决策制订提供参考依据。例如，利用捕食天敌的粪便可以检测某地区是否有入侵物种的存在，使用eDNA技术在蝙蝠*Pipistrellus pygmaeus*的粪便中检测出了茶翅蝽（Maslo et al.，2017）、斑翅果蝇*Drosophila suzukii*（Dekeukeleire et al.，2020）以及稻水象甲*Lissorhoptrus oryzophilus*（Montauban et al.，2021）的存在。

4 eDNA技术的应用展望

相较于传统鉴定方法，eDNA技术在提高监测外来物种的及时性和易操作性方面具有优势，但该项技术也存在着一些缺陷，主要包括以下3个方面。第一，eDNA技术往往缺乏标准化的操作流程。对此，需根据不同的研究目的，明确与细化样品采集和样品DNA提取等技术规范，制订一套通用的eDNA技术标准化操作流程。在利用eDNA技术检测鱼类时，已形成一套完整的标准化操作流程，并且开发了野外便携式eDNA检测平台（Shu et al.，2020）。第二，物种参考数据库不足。eDNA技术克服了传统物种鉴定方法耗时等缺点，可以快速地鉴定物种（Thomsen & Willerslev.，2015），但是该技术依赖于

完整的分子数据库。当数据库缺少目标物种序列时则会导致假阴性或假阳性问题。因此，需要继续积累参考数据库，加强全球资源和成果的共享。第三，在物种识别方面存在不确定性，有误报风险。该技术捕捉的信号无法确定生物体的死活(如船舶压载水中的生物)，或无法区分生物确实存在还是相关的污染物(如粪便、蛹壳或被捕食排出的猎物)(Ricciardi et al., 2017)。在应用eDNA技术出现假阳性或假阴性问题时，往往会带来较大的损失。

今后，建议eDNA技术可以和其他方法结合应用，相辅相成，取长补短，为监测外来物种提供更可靠的技术支持。例如，将eDNA技术与DNA宏条形码方法相结合，后者选取条形码序列中的一段序列作为分子标记，将样本DNA作为模板扩增完成后，进行高通量测序以及生物信息学分析来鉴别靶标物种(Tisthammer et al., 2016)；长时间保存的样本存在DNA降解情况，导致使用常规方法无法进行检测，也可以将eDNA技术与微条形码方法相结合，后者是选取条形码序列中较短的序列进行扩增，其成功率往往更高(Meusnier et al., 2008)。还可以将eDNA技术与数字PCR(digital PCR, dPCR)方法相结合，dPCR方法是近年来备受关注的一种分子检测方法，相较于其他分子鉴定技术，具有检测时间更短、价格更低和适合大批量样本检测等优点。如Nathan et al.(2014)对比了PCR、实时荧光定量PCR和dPCR方法对eDNA样品的检测效果，发现3种方法都可以检测出入侵物种黑口新虾虎鱼*Neogobius melanostomus*；但在eDNA浓度较低的情况下，dPCR方法更有效、速度更快并且费用更低。此外，eDNA技术也可与机器学习、遥感云服务(李飞龙等, 2018)和光谱(Egan et al., 2013)等技术相结合，为外来入侵物种检测提供更多的可能。如使用eDNA技术和光谱相结合的方法，在收集的压载水和港口水中检测到了入侵物种斑马贻贝*Dreissena polymorpha*(Egan et al., 2015)。

参考文献(References)

Allen MC, Nielsen AL, Peterson DL, Lockwood JL. 2021. Terrestrial eDNA survey outperforms conventional approach for detecting an invasive pest insect within an agricultural ecosystem. Environmental DNA, 3(6): 1102−1112

Anglès d'Auriac MB, Strand DA, Mjelde M, Demars BOL, Thaulow J. 2019. Detection of an invasive aquatic plant in natural water bodies using environmental DNA. PLoS ONE, 14(7): e0219700

Ardura A, Zaiko A, Borrell YJ, Samuiloviene A, Garcia-Vazquez E. 2017. Novel tools for early detection of a global aquatic invasive, the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 27(1): 165−176

Ardura A, Zaiko A, Martinez JL, Samuiloviene A, Borrell Y, Garcia-Vazquez E. 2015. Environmental DNA evidence of transfer of North Sea molluscs across tropical waters through ballast water. Journal of Molluscan Studies, 81(4): 495−501

Berry O, Sarre SD, Farrington L, Aitken N. 2007. Faecal DNA detection of invasive species: the case of feral foxes in Tasmania. Wildlife Research, 34(1): 1−7

Biggs J, Ewald N, Valentini A, Gaboriaud C, Dejean T, Griffiths RA, Foster J, Wilkinson JW, Arnell A, Brotherton P, et al. 2015. Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). Biological Conservation, 183: 19−28

Bittleston LS, Baker CCM, Strominger LB, Pringle A, Pierce NE. 2016. Metabarcoding as a tool for investigating arthropod diversity in *Nepenthes* pitcher plants. Austral Ecology, 41(2): 120−132

Briski E, Ghabooli S, Bailey SA, MacIsaac HJ. 2012. Invasion risk posed by macroinvertebrates transported in ships' ballast tanks. Biological Invasions, 14(9): 1843−1850

Brown EA, Chain FJJ, Zhan AB, MacIsaac HJ, Cristescu ME. 2016. Early detection of aquatic invaders using metabarcoding reveals a high number of non-indigenous species in Canadian ports. Diversity and Distributions, 22(10): 1045−1059

Butterwort V, Dansby H, Zink FA, Tembrock LR, Gilligan TM, Godoy A, Braswell WE, Kawahara AY. 2022. A DNA extraction method for insects from sticky traps: targeting a low abundance pest, *Phthorimaea absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), in mixed species communities. Journal of Economic Entomology, 115(3): 844−851

Chen X, Fang JY, Wang M, Shen Q, Sun ZJ, Wang BX. 2021. Monitoring of the invasive species *Pomacea canaliculata* via environmental DNA metabarcoding in Suzhou City. Plant Protection, 47(6): 58−65 (in Chinese) [陈晓, 方靖怡, 王萌, 沈晴, 孙振军, 王备新. 2021. 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. 植物保护, 47(6): 58−65]

Clare EL, Economou CK, Bennett FJ, Dyer CE, Adams K, McRobie B, Drinkwater R, Littlefair JE. 2022. Measuring biodiversity from DNA in the air. Current Biology, 32(3): 693−700

Clare EL, Economou CK, Faulkes CG, Gilbert JD, Bennett F, Drinkwater R, Littlefair JE. 2021. eDNAir: proof of concept that animal DNA can be collected from air sampling. PeerJ, 9: e11030

Danziger AM, Frederich M. 2022. Challenges in eDNA detection of the invasive European green crab, *Carcinus maenas*. Biological Invasions, 24(6): 1881−1894

Deiner K, Bik HM, Mächler E, Seymour M, Lacoursière-Roussel A, Altermatt F, Creer S, Bista I, Lodge DM, de Vere N, et al. 2017. Environmental DNA metabarcoding: transforming how we survey animal and plant communities. Molecular Ecology, 26(21): 5872−5895

Dejean T, Valentini A, Miquel C, Taberlet P, Bellemain E, Miaud C.

2012. Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding: the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus*. Journal of Applied Ecology, 49 (4): 953−959

Dekeukeleire D, Janssen R, Delbroek R, Raymaekers S, Batsleer F, Belien T, Vesterinen EJ. 2020. First molecular evidence of an invasive agricultural pest, *Drosophila suzukii*, in the diet of a common bat, *Pipistrellus pipistrellus*, in Belgian orchards. Journal of Bat Research & Conservation, 13(1): 109−115

Díaz-Ferguson E, Herod J, Galvez J, Moyer G. 2014. Development of molecular markers for eDNA detection of the invasive African jewelfish (*Hemichromis letourneuxi*): a new tool for monitoring aquatic invasive species in National Wildlife Refuges. Management of Biological Invasions, 5(2): 121−131

Dougherty MM, Larson ER, Renshaw MA, Gantz CA, Egan SP, Erickson DM, Lodge DM. 2016. Environmental DNA (eDNA) detects the invasive rusty crayfish *Orconectes rusticus* at low abundances. Journal of Applied Ecology, 53(3): 722−732

Egan SP, Barnes MA, Hwang CT, Mahon AR, Feder JL, Ruggiero ST, Tanner CE, Lodge DM. 2013. Rapid invasive species detection by combining environmental DNA with light transmission spectroscopy. Conservation Letters, 6(6): 402−409

Egan SP, Grey E, Olds B, Feder JL, Ruggiero ST, Tanner CE, Lodge DM. 2015. Rapid molecular detection of invasive species in ballast and harbor water by integrating environmental DNA and light transmission spectroscopy. Environmental Science & Technology, 49(7): 4113−4121

Evans NT, Shirey PD, Wieringa JG, Mahon AR, Lamberti GA. 2017. Comparative cost and effort of fish distribution detection via environmental DNA analysis and electrofishing. Fisheries, 42(2): 90−99

Ficetola GF, Miaud C, Pompanon F, Taberlet P. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. Biology Letters, 4(4): 423−425

Forsström T, Vasemägi A. 2016. Can environmental DNA (eDNA) be used for detection and monitoring of introduced crab species in the Baltic Sea? Marine Pollution Bulletin, 109(1): 350−355

Fujiwara A, Matsuhashi S, Doi H, Yamamoto S, Minamoto T. 2016. Use of environmental DNA to survey the distribution of an invasive submerged plant in ponds. Freshwater Science, 35(2): 748−754

Fukumoto S, Ushimaru A, Minamoto T. 2015. 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. Journal of Applied Ecology, 52(2): 358−365

Goldberg CS, Sepulveda A, Ray A, Baumgardt J, Waits LP. 2013. Environmental DNA as a new method for early detection of New Zealand mudsnails (*Potamopyrgus antipodarum*). Freshwater Science, 32(3): 792−800

Jerde CL, Chadderton WL, Mahon AR, Renshaw MA, Corush J, Budny ML, Mysorekar S, Lodge DM. 2013. Detection of Asian carp DNA as part of a Great Lakes basin-wide surveillance program. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 70 (4): 522−526

Jerde CL, Mahon AR, Chadderton WL, Lodge DM. 2011. "Sight-unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA. Conservation Letters, 4(2): 150−157

Keskin E. 2014. Detection of invasive freshwater fish species using environmental DNA survey. Biochemical Systematics and Ecology, 56: 68−74

Kim P, Kim D, Yoon TJ, Shin S. 2018. Early detection of marine invasive species, *Bugula neritina* (Bryozoa: Cheilostomatida), using species-specific primers and environmental DNA analysis in Korea. Marine Environmental Research, 139: 1−10

Lafferty KD, Benesh KC, Mahon AR, Jerde CL, Lowe CG. 2018. Detecting southern California's white sharks with environmental DNA. Frontiers in Marine Science, 5: 355

Li FL, Yang JH, Yang YN, Zhang XW. 2018. Using environmental DNA metabarcoding to monitor the changes and health status of aquatic ecosystems. Environmental Monitoring in China, 34(6): 37−46 (in Chinese) [李飞龙, 杨江华, 杨雅楠, 张效伟. 2018. 环境DNA宏条形码监测水生态系统变化与健康状态. 中国环境监测, 34(6): 37−46]

Li M, Shan XJ, Wang WJ, Ding XS, Dai FQ, Lü D, Wu HH. 2020. Studying the retention time of *Fenneropenaeus chinensis* eDNA in water. Progress in Fishery Sciences, 41(1): 51−57 (in Chinese) [李苗, 单秀娟, 王伟继, 丁小松, 戴芳群, 吕丁, 吴欢欢. 2020. 环境DNA在水体中存留时间的检测研究: 以中国对虾为例. 渔业科学进展, 41(1): 51−57]

Liu MY, Zhao WY. 2020. Progress of application of eDNA technology in polar water environments. Chinese Journal of Polar Research, 32(4): 586−595 (in Chinese) [刘梦月, 赵文玉. 2020. eDNA技术在极地水环境中的应用进展. 极地研究, 32(4): 586−595]

Madden AA, Barberán A, Bertone MA, Menninger HL, Dunn RR, Fierer N. 2016. The diversity of arthropods in homes across the United States as determined by environmental DNA analyses. Molecular Ecology, 25(24): 6214−6224

Mahon AR, Nathan LR, Jerde CL. 2014. Meta-genomic surveillance of invasive species in the bait trade. Conservation Genetics Resources, 6(3): 563−567

Maslo B, Valentin R, Leu K, Kerwin K, Hamilton GC, Bevan A, Fefferman NH, Fonseca DM. 2017. Chirosurveillance: The use of native bats to detect invasive agricultural pests. PLoS ONE, 12(3): e0173321

Meusnier I, Singer GA, Landry JF, Hickey DA, Hebert PD, Hajibabaei M. 2008. A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. BMC Genomics, 9: 214

Minett JF, Garcia de Leaniz C, Brickle P, Consuegra S. 2021. A new high-resolution melt curve eDNA assay to monitor the simultaneous presence of invasive brown trout (*Salmo trutta*) and endangered galaxiids. Environmental DNA, 3(3): 561−572

Mizumoto H, Kishida O, Takai K, Matsuura N, Araki H. 2022. Utilizing environmental DNA for wide-range distributions of reproductive area of an invasive terrestrial toad in Ishikari river basin in Japan. Biological Invasions, 24(4): 1199−1211

Montauban C, Mas M, Wangensteen OS, Monteys VSI, Fornós DG, Mola XF, López-Baucells A. 2021. Bats as natural samplers: first record of the invasive pest rice water weevil *Lissorhoptrus oryzophilus* in the Iberian Peninsula. Crop Protection, 141: 105427

Nathan LM, Simmons M, Wegleitner BJ, Jerde CL, Mahon AR. 2014. Quantifying environmental DNA signals for aquatic invasive species across multiple detection platforms. Environmental Science & Technology, 48(21): 12800−12806

Nathan LR, Jerde CL, Budny ML, Mahon AR. 2015. The use of environmental DNA in invasive species surveillance of the Great Lakes commercial bait trade. Conservation Biology, 29(2): 430−439

Nichols RV, Cromsigt JPGM, Spong G. 2015. DNA left on browsed twigs uncovers bite-scale resource use patterns in European ungulates. Oecologia, 178(1): 275−284

Ogram A, Sayler GS, Barkay T. 1987. The extraction and purification of microbial DNA from sediments. Journal of Microbiological Methods, 7(2/3): 57−66

Piaggio AJ, Engeman RM, Hopken MW, Humphrey JS, Keacher KL, Bruce WE, Avery ML. 2014. Detecting an elusive invasive species: a diagnostic PCR to detect Burmese python in Florida waters and an assessment of persistence of environmental DNA. Molecular Ecology Resources, 14(2): 374−380

Pirtle EI, van Rooyen AR, Maino J, Weeks AR, Umina PA. 2021. A molecular method for biomonitoring of an exotic plant-pest: leafmining for environmental DNA. Molecular Ecology, 30(19): 4913−4925

Poland TM, Rassati D. 2019. Improved biosecurity surveillance of non-native forest insects: a review of current methods. Journal of Pest Science, 92(1): 37−49

Rees HC, Maddison BC, Middleditch DJ, Patmore JRM, Gough KC. 2014. The detection of aquatic animal species using environmental DNA: a review of eDNA as a survey tool in ecology. Journal of Applied Ecology, 51(5): 1450−1459

Ricciardi A, Blackburn TM, Carlton JT, Dick JTA, Hulme PE, Iacarella JC, Jeschke JM, Liebhold AM, Lockwood JL, MacIsaac HJ, et al. 2017. Invasion science: a horizon scan of emerging challenges and opportunities. Trends in Ecology & Evolution, 32(6): 464−474

Rondon MR, August PR, Bettermann AD, Brady SF, Grossman TH, Liles MR, Loiacono KA, Lynch BA, MacNeil IA, Minor C, et al. 2000. Cloning the soil metagenome: a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. Applied and Environmental Microbiology, 66(6): 2541−2547

Ruan R, Wang DQ, Yue HM, Li CJ, Chen DQ, Duan XB. 2020. Using environmental DNA to detect *Hypophthalmichthys molitrix* during the spawning period in the Yangtze River. Conservation Genetics Resources, 12(1): 37−39

Scriver M, Marinich A, Wilson C, Freeland J. 2015. Development of species-specific environmental DNA (eDNA) markers for invasive aquatic plants. Aquatic Botany, 122: 27−31

Secondi J, Dejean T, Valentini A, Audebaud B, Miaud C. 2016. Detection of a global aquatic invasive amphibian, *Xenopus laevis*, using environmental DNA. Amphibia-Reptilia, 37(1): 131−136

Shu L, Lin JY, Xu Y, Cao T, Feng JM, Peng ZG. 2020. Investigating the fish diversity in Erhai Lake based on environmental DNA metabarcoding. Acta Hydrobiologica Sinica, 44(5): 1080−1086 (in Chinese) [舒璐, 林佳艳, 徐源, 曹特, 封吉猛, 彭作刚. 2020. 基于环境DNA宏条形码的洱海鱼类多样性研究. 水生生物学报, 44(5): 1080−1086]

Shu L, Ludwig A, Peng Z. 2020. Standards for methods utilizing environmental DNA for detection of fish species. Genes, 11(3): e296

Sutherland WJ, Bardsley S, Clout M, Depledge MH, Dicks LV, Fellman L, Fleishman E, Gibbons DW, Keim B, Lickorish F, et al. 2013. A horizon scan of global conservation issues for 2013. Trends in Ecology & Evolution, 28(1): 16−22

Takahara T, Minamoto T, Doi H. 2013. Using environmental DNA to estimate the distribution of an invasive fish species in ponds. PLoS ONE, 8(2): e56584

Thomsen PF, Sigsgaard EE. 2019. Environmental DNA metabarcoding of wild flowers reveals diverse communities of terrestrial arthropods. Ecology and Evolution, 9(4): 1665−1679

Thomsen PF, Willerslev E. 2015. Environmental DNA: an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. Biological Conservation, 183: 4−18

Tisthammer KH, Cobian GM, Amend AS. 2016. Global biogeography of marine fungi is shaped by the environment. Fungal Ecology, 19: 39−46

Tréguier A, Paillisson JM, Dejean T, Valentini A, Schlaepfer MA, Roussel JM. 2014. Environmental DNA surveillance for invertebrate species: advantages and technical limitations to detect invasive crayfish *Procambarus clarkii* in freshwater ponds. Journal of Applied Ecology, 51(4): 871−879

Ushio M, Fukuda H, Inoue T, Makoto K, Kishida O, Sato K, Murata K, Nikaido M, Sado T, Sato Y, et al. 2017. Environmental DNA enables detection of terrestrial mammals from forest pond water. Molecular Ecology Resources, 17(6): 63−75

Ushio M, Murata K, Sado T, Nishiumi I, Takeshita M, Iwasaki W, Miya M. 2018. Demonstration of the potential of environmental DNA as a tool for the detection of avian species. Scientific Reports, 8: 4493

Valentin RE, Fonseca DM, Nielsen AL, Leskey TC, Lockwood JL. 2018. Early detection of invasive exotic insect infestations using eDNA from crop surfaces. Frontiers in Ecology and the Environment, 16(5): 265−270

von Ammon U, Wood SA, Laroche O, Zaiko A, Lavery SD, Inglis GJ, Pochon X. 2019. Linking environmental DNA and RNA for improved detection of the marine invasive fanworm *Sabella spallanzanii*. Frontiers in Marine Science, 6: 621

Wan FH, Guo JY, Wang DH. 2002. Alien invasive species in China: their damages and management strategies. Chinese Biodiversity, 10(1): 119−125 (in Chinese) [万方浩, 郭建英, 王德辉. 2002. 中国外来入侵生物的危害与管理对策. 生物多样性, 10(1): 119−125]

Wan HF, Xie BY, Chu D. 2008. Biological invasion: management. Beijing: Science Press (in Chinese) [万方浩, 谢丙炎, 褚栋. 2008. 生物入侵: 管理篇. 北京: 科学出版社]

Wang M, Yang X, Wang W, Duan C, Liu ZH, Chen QL, Li YW, Shen YJ. 2022. Fish diversity in Chongqing section of the national nature reserve for rare and endemic fish in the upper Yangtze River based on eDNA technology. Acta Hydrobiologica Sinica, 46(1): 2−16 (in Chinese) [王梦, 杨鑫, 王维, 段聪, 刘智皓, 陈启亮, 李英文, 沈彦君. 2022. 基于eDNA技术的长江上游珍稀特有鱼类国家级自然保护区重庆段鱼类多样性研究. 水生生物学报, 46(1): 2−16]

Wang XY, Zhang HB, Lu GQ, Gao TX. 2022. Detection of an invasive species through an environmental DNA approach: the example of the red drum *Sciaenops ocellatus* in the East China Sea. Science of the Total Environment, 815: 152865

Wei N, Nakajima F, Tobino T. 2019. Variation of environmental DNA in sediment at different temporal scales in nearshore area of Tokyo Bay. Journal of Water and Environment Technology, 17(3): 153−162

Willerslev E, Hansen AJ, Binladen J, Brand TB, Gilbert MT, Shapiro B, Bunce M, Wiuf C, Gilichinsky DA, Cooper A. 2003. Diverse plant and animal genetic records from Holocene and Pleistocene sediments. Science, 300(5620): 791−795

Williams KE, Huyvaert KP, Vercauteren KC, Davis AJ, Piaggio AJ. 2018. Detection and persistence of environmental DNA from an invasive, terrestrial mammal. Ecology and Evolution, 8(1): 688−695

Woodell JD, Neiman M, Levri EP. 2021. Matching a snail's pace: successful use of environmental DNA techniques to detect early stages of invasion by the destructive New Zealand mud snail. Biological Invasions, 23(10): 3263−3274

Wu YS, Tang YK, Li JL, Liu K, Li HX, Wang Q, Yu JH, Xu P. 2019. The application of environmental DNA in the monitoring of the Yangtze finless porpoise, *Neophocaena phocaenoides asaeorientalis*. Journal of Fishery Sciences of China, 26(1): 124−132 (in Chinese) [吴昀晟, 唐永凯, 李建林, 刘凯, 李红霞, 王钦, 俞菊华, 徐跑. 2019. 环境DNA在长江江豚监测中的应用. 中国水产科学, 26(1): 124−132]

Xia ZQ, Zhan AB, Gao YC, Zhang L, Haffner GD, MacIsaac HJ. 2018. Early detection of a highly invasive bivalve based on environmental DNA (eDNA). Biological Invasions, 20(2): 437−447

Xu CC, Yen IJ, Bowman D, Turner CR. 2015. Spider web DNA: a new spin on noninvasive genetics of predator and prey. PLoS ONE, 10(11): e0142503

Xu N, Zhu B, Shi F, Shao K, Que YF, Li WT, Li W, Jiao WJ, Tian H, Xu DM, et al. 2018. Monitoring seasonal distribution of an endangered anadromous sturgeon in a large river using environmental DNA. The Science of Nature, 105(11): 62

Yamamoto S, Minami K, Fukaya K, Takahashi K, Sawada H, Murakami H, Tsuji S, Hashizume H, Kubonaga S, Horiuchi T, et al. 2016. Environmental DNA as a 'snapshot' of fish distribution: a case study of Japanese jack mackerel in Maizuru Bay, Sea of Japan. PLoS ONE, 11(3): e0149786

Yasashimoto T, Sakata MK, Sakita T, Nakajima S, Ozaki M, Minamoto T. 2021. Environmental DNA detection of an invasive ant species (*Linepithema humile*) from soil samples. Scientific Reports, 11: 10712

（责任编辑：李美娟）