

传统形态学与环境核酸技术在生物多样性监测中的分歧： 从技术分化到范式革新

战爱斌^{1,2}, 金小伟³

1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085

2. 中国科学院大学, 北京 100049

3. 中国环境监测总站, 国家环境保护环境监测质量控制重点实验室, 北京 100012

摘要:传统形态学方法与环境核酸技术在生物多样性监测中常产生结果差异, 引发对新技术可靠性的质疑。作者系统分析了两类方法在监测对象、时空代表性等方面的差异, 指出结果差异源于研究范式的系统性不同, 而非技术本身的不可靠性; 提出系统性监测应整合 eDNA/eRNA 的“时空广度”“预警能力”与传统形态学的“定量性”, 以提升多样性监测的全面性与可靠性。在未来多源大数据融合的背景下, 生物多样性监测正经历以“大数据驱动与应用需求”为核心的范式转型。这一转型并非依赖两类技术的简单互补即可实现, 而需超越技术层面的形式整合, 构建以“环境核酸信号流”为核心的生物多样性信息技术体系, 将连续的分子信号转译为可量化、可解释的生物多样性与生态学参数。通过融合生态学、模型科学、时空统计与人工智能, 实现生物信号从采样到反演的全链条解析, 并注入多维度生态系统韧性与可塑性理论, 揭示物种互作与环境响应的动态机制, 推动生物多样性监测由“数据采集”向“生态认知”、由“形态描述”向“机制解析”转变, 最终形成多源数据语义同化与模型耦合的“信号流驱动的生态认知”新研究范式。

关键词:生物多样性; 形态学; eDNA; eRNA; 研究范式

中图分类号: X835 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-6002(2026)01-0034-18

DOI: 10.19316/j.issn.1002-6002.2026.01.03

Divergence Between Traditional Morphology and Environmental Nucleic Acids-Based Techniques in Biodiversity Monitoring: From Technical Divergence to Paradigm Innovation

ZHAN Aibin^{1,2}, JIN Xiaowei³

1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3. State Environmental Protection Key Laboratory of Quality Control in Environmental Monitoring, China National Environmental Monitoring Centre, Beijing 100012, China

Abstract: Traditional morphology and environmental nucleic acids-based techniques often yield differed results in biodiversity monitoring, raising concerns on the reliability of molecular approaches. This study systematically discusses the differences between these two approaches in terms of monitoring targets, spatiotemporal representation, and technical workflows, showing that such discrepancies arise from fundamental paradigm differences rather than methodological unreliability. Thus, systematic biodiversity monitoring should integrate the spatiotemporal breadth and early-warning capability of eDNA/eRNA with the precision and quantitative accuracy of morphological methods to enhance the comprehensiveness and reliability of biodiversity monitoring. In the context of future multi-source big data integration, biodiversity monitoring is undergoing a paradigm shift driven by big data and wide application needs. Addressing this transformation requires more than technical complementarity, calling for a biodiversity information technology framework centered on environmental molecular signal flow to translate continuous molecular signals into quantifiable and interpretable biodiversity and ecological parameters. By integrating ecological principles, modeling, spatiotemporal statistics, and artificial intelligence, full-chain analytical tools can be developed to trace molecular signals from sampling through decay to inversion. Furthermore, by incorporating multidimensional theories of ecosystem resilience and plasticity, it helps reveal the dynamic mechanisms of species interactions, functional group dynamics, and environmental responses. Ultimately, this approach advances biodiversity monitoring to evolove from data collection to ecological cognition, and from morphological

收稿日期: 2025-10-27; **修订日期:** 2025-12-01

基金项目: 京津冀环境综合治理国家科技重大专项(2025ZD1200800, 2025ZD1207600)

第一作者简介: 战爱斌(1980—), 男, 博士, 研究员, azhan@rcees.ac.cn。

description to mechanistic innovation, forming a new “signal flow-driven ecological cognition paradigm” that unifies multi-source data through semantic assimilation and model coupling.

Keywords: biodiversity; traditional morphology; eDNA; eRNA; paradigm

全球生态系统正遭受过度利用、气候变化、生物入侵及环境污染等多重压力的共同影响^[1-3]。这些复合驱动因子正以前所未有的速度与规模改变着生态系统的结构与功能,引发生态服务退化与新生代生物灭绝等生态危机^[4]。有效识别并应对这些持续的生态危机,准确评估生态系统的结构与功能及其时空动态演替规律,已成为生物学、生态学、环境科学以及环境评价与保护管理等领域的核心任务^[5-8]。作为生态系统结构与功能的核心组成要素,生物多样性不仅决定生态系统的稳定性与韧性,也为监测与评估生态系统的变化提供关键科学依据。

长期以来,现场实地调查(如陷阱、网捕、拖网、样线/样方、点计数及目视调查等)由于具有广泛的应用基础与较高的接受程度,常被视为生物多样性监测的核心手段。这些方法能够直接提供物种存在的实物证据,并可估算个体数量、生物量、年龄、性别及生理状态等信息,对众多生态学研究与管理决策具有不可替代的价值^[5-6]。然而,基于形态学鉴定的传统监测方法存在若干系统性局限。首先,样本获取高度依赖于采样设计、操作者经验与方法选择,且物种的行为特征(如隐蔽性、夜行性与季节性迁移等)显著影响可检测性,导致体型较小、稀有、幼体或隐蔽物种易被低估或漏检^[9-11]。其次,检测概率会随栖息地类型、气候条件及时间而变化;若不进行显式建模检测概率,可能造成对物种丰度与分布的偏差推断^[9,12]。同时,在大尺度、多栖息地或长期连续监测情境下,传统方法往往成本高、耗时长,对人力与技术要求较高,从而限制了其在广域快速评估与高频复测中的应用潜力^[13-14]。

近年来,以环境 DNA (environmental DNA, eDNA) 为代表的新型分子监测技术迅速发展,成为对传统生物多样性监测的有效补充与改进手段^[15-16]。过去 20 多年的研究确立了从环境样品中提取碎片化 DNA 并进行条形码扩增测序(eDNA 宏条形码技术)和直接建库高通量测序(宏基因组学技术),从而实现大尺度、多类群快速识别的技术框架与理念^[13,15,17-18]。大量研究表明,eDNA 技术在生物多样性监测中具有更高的

灵敏度和更低的成本,尤其在检测低密度或难以目测、捕获的物种(如濒危物种与入侵物种)时表现出明显优势^[19-22]。目前,该技术已广泛应用于水生态系统、土壤生态系统等的多样性评估与生态系统健康监测领域^[16,23-25]。近年来兴起的环境 RNA (environmental RNA, eRNA) 技术进一步推动了分子监测的时效化与精准化。由于 RNA 分子在环境中易降解,eRNA 信号通常反映生物体的近期存在或活跃状态,因此其可用于判断物种的实时/近期活动^[26-29]。总体而言,eDNA 主要反映物种的存在及历史信息,而 eRNA 更能揭示生态系统中生物的即时动态,二者结合可在生物多样性动态监测、生态健康评估等方面提供更加全面和高效的分子证据,为生态学研究与生物资源管理提供高效技术和大数据支撑^[26,28,30]。

环境核酸技术由于具有高效、非侵入性和高灵敏度等特点,已在全球生物多样性监测与保护中被提升至战略地位。在欧美发达国家,环境核酸技术已被系统性地纳入政策规划。例如,欧盟科技合作联盟(COST)发布了《环境 DNA 生物评估方法指南》,美国也制定了《国家水环境 DNA 战略》,旨在推动 eDNA 技术在水生生物监测中的标准化和广泛应用(国际代表性 eDNA 应用战略与规划详见表 1)。在国际生物多样性保护战略层面,eDNA 技术正成为实现全球目标的强大工具。联合国教科文组织(UNESCO)已在全球海洋世界遗产地开展 eDNA 项目,为“昆明—蒙特利尔全球生物多样性框架”的实施提供可扩展、高效的监测模型和关键数据支持,以应对气候变化和生物多样性退化的紧迫挑战。

尽管 eDNA 与 eRNA 技术在生物多样性监测中展现出高效与灵敏的优势^[13,24,31-32],但实证研究发现,这些分子方法与传统监测手段的监测结果在物种检出率和群落组成等方面存在显著差异^[11,28,33]。简而言之,某些物种仅能在 eDNA 或 eRNA 样本中被检出,而未在传统采样中被记录,反之亦然;同时,不同方法获得的群落结构指标如 α -和 β -多样性参数等亦常表现出不一致性^[11,25,34]。为探讨这些差异产生的具体原因及其深远影响,现有相关研究多聚焦于单一方法的应

用或局部比较,对分子方法与传统方法之间的系统性差异、影响机制及整合优化策略的探讨仍显不足。这在一定程度上导致了对不同方法监测结果的理解存在差异,也增大了对其可比性和适用性的质疑空间,进而影响了环境核酸技术在长期

生态监测、入侵物种早期预警及保护优先区识别等实践中的推广与应用。因而,系统比较并认知不同监测方法的适用条件、局限性及互补性,对于科学解读监测数据、提高生物多样性评估的准确性与可靠性具有重要意义。

表1 国际代表性 eDNA 应用战略与规划

Table 1 Representative international eDNA application strategy and planning

国家/组织	代表性战略或规划	政策/战略地位	关键应用领域与目标
美国	《国家水环境 DNA 战略》	国家级战略,由白宫科技政策办公室(OSTP)主导发布,旨在加速水生 eDNA 分析的应用,将其作为实施“国家可持续海洋经济战略”等大型工作的基础支柱	(1)加速推广和应用:促进 eDNA 工具包的应用,以提高效率、降低成本,统一协议。 (2)政策支持:为联邦机构提供指导,使其能够利用 eDNA 进行海洋生物多样性监测、有害藻华监测、受保护物种管理和气候适应性渔业管理。 (3)标准化:强调制定可重复的 eDNA 采样规范和自主 eDNA 采样器的部署
加拿大	加拿大公园管理局 eDNA 应用项目等多个规划	机构层面对 eDNA 标准化工作的重点投入。加拿大基因组中心(Genome Canada)进行大规模投资;加拿大渔业和海洋部(DFO)实验室通过国际标准组织(ISO)认证	(1)生物安全和入侵物种:利用 eDNA 对水生入侵物种进行早期检测和预防,是高效、经济的管理措施。 (2)公共卫生与环境监测:资助 eDNA 监测项目,以追踪病原体、抗微生物耐药性和生物多样性损失。 (3)能力建设:重点为北部、偏远地区和原住民社区提供 eDNA 监测工具
澳大利亚	《澳大利亚/新西兰 eDNA 最佳实践指南》等多个规范	国家科研机构(CSIRO)牵头,指导海洋资源管理者和研究人员的实践路线图。旨在将 eDNA 技术系统地整合到澳大利亚的海洋监测项目中	(1)整合与标准化:将 eDNA 技术整合到澳大利亚海洋公园的常规监测中。 (2)能力提升:提升工作人员的 eDNA 技能,并投资技术转化。 (3)最佳实践:提供统一的 eDNA 方案开发和测试验证指南,确保数据的可信度和可比性。 (4)合作:鼓励土地所有者、居民和其他利益相关者参与 eDNA 技术部署
联合国教科文组织	全球 eDNA 项目	国际组织推动的全球合作战略。作为《开放科学建议书》的实践,旨在通过标准化技术支持全球生物多样性治理	(1)气候变化与保护区管理:在世界海洋遗产地等生物多样性热点地区绘制物种分布图(已成功绘制近 4 500 个海洋物种),监测气候变化对海洋生物的影响。 (2)政策支持:提供数据支持,协助会员国更好地规划和管理海洋保护区,推动更强有力的海洋保护
欧盟	《环境 DNA 生物评估方法指南》	区域性科技合作框架,提供技术标准和指导	(1)指导原则:为 eDNA 取样设计提供指导原则,包括考虑基质的物理化学性质、环境变异性和目标物种的生态学特性等。 (2)生物评估:在指导原则的指导下完成系统的生物多样性评估

基于此,作者系统阐述了导致环境核酸技术与传统形态学方法在生物多样性监测结果上产生差异的多因素机制,涵盖了生物学与生态学特征、分子与技术属性、采样与实验操作以及生物信息学分析等环节;探讨了两类方法在生物多样性识别与评估中的互校互验,剖析了常见分歧的科学根源。同时,作者提出在未来多源大数据融合智能监测的背景下,两种方法的融合虽体现了监测手段的互补,但实质上仍是面对技术转型的阶段性的修补,缺乏深层次的技术整合与理论拓展。未来的生物多样性研究应超越多方法的机械拼接,为一个在前理论时代建立起来的、已形成巨大惯性的庞大实践体系追溯性地注入新的理论支撑,构建基于统一理论框架的语义同化与模型耦合,实现监测体系的“信号化-网络化-智能化”转型。

因此,应建立以“环境核酸信号流”为基础的新生态信息体系,即基于环境中生物释放的 DNA/RNA 信号及其时空迁移来获取生态信息的研究体系;通过整合生态学、模型模拟、时空统计与人工智能,实现从信号采样到生态过程反演的全链条解析;进而解析生态系统多维要素交互机制,围绕对生态系统韧性与弹性的过程性与机制性认知,推动生物多样性监测由“外部形态描述”向“生态过程解析”、由“数据采集”向“生态认知”的范式跃迁。

1 采样对象及其理化性质差异导致的多多样性结果不一致

采样对象的不同是环境核酸技术与传统形态

学监测在生物多样性评估中产生差异的核心根源(表2)。两者在检测对象的性质、生物选择的偏

倚性和样品来源的复杂性等方面存在系统性差异。

表2 传统形态学方法与环境核酸技术的主要技术参数比较
Table 2 Comparison of key technical parameters between traditional morphology and environmental nucleic acid-based technologies

指标/维度	传统形态学方法	环境核酸技术
检测灵敏度/种类覆盖度	对常见、易捕获、活动性强的物种检测效果好,但对稀有、隐蔽性或行为特殊物种漏检率较高	能检测到传统方法难以捕获或遗漏的物种,尤其是低丰度、稀有或隐蔽物种
物种组成/群落结构	能提供个体级别的捕获数据,并可统计丰度、种间相对关系、群落结构	通过高通量测序获得存在性/相对频次/序列丰度,间接反映群落组成
定量/丰度估算	可以直接记录捕获个体数、生物量、体长等数据,是丰度/生物量估算的“金标准”	序列丰度或检测频率可作为半定量或相对丰度指示,但与真实个体丰度、生物量的线性关系并不总是稳定
采样效率	在小尺度或局地系统中成本可控,但在大范围、多样点、多时间监测中极为耗时、耗人力	采样和处理效率高、时间和覆盖面广、单位样点检测成本较低
环境干扰性	可能对目标或非目标物种造成干扰、伤害或破坏(例如捕杀、扰动栖息地)	非侵入性监测(仅取水、土壤、沉积物、空气样本),对生物个体干扰小
可扩展性	难以在大域、多点、长期重复监测中大规模推广(成本、人员、设备限制)	更易在大尺度、多站点、长时间尺度布局(样本易于保存与运输)
误差来源	存在采样偏差(网具选择、捕获效率、操作者差异、物种行为偏好等),若不校正检测概率,容易低估某些物种	存在引物偏好性、PCR扩增偏差、核酸降解/扩散/迁移/污染、数据库不完整等问题

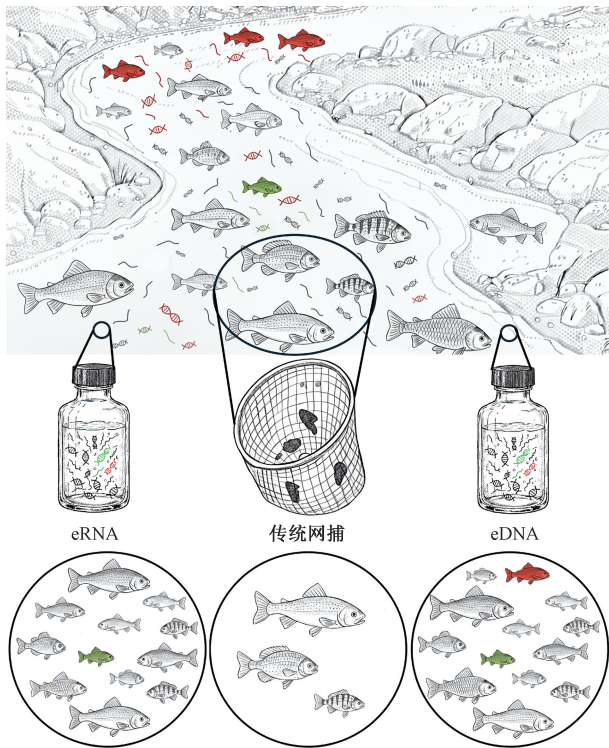
1.1 检测对象及其理化性质的差异

环境核酸检测的目标是利用环境介质中由生物体释放的核酸片段,基于该环境中综合的遗传信息,反演出该环境中的生物多样性状况(表3)。eDNA包括细胞内DNA(存在于完整细胞或组织碎片中)和细胞外DNA(来源于细胞、黏液、鳞片、粪便、尿液、生殖物质、尸体或组织残骸等);这些遗传物质通过生物的排泄、分泌、裂解或分解等过程进入环境,因此可综合反映当前及近期存在的活体与死亡个体的遗传信号。eDNA在环境中的保存时间差异显著,取决于环境介质及降解速率:从水体中的数小时或数周,到沉积物中的数千年甚至数百万年^[35-37]。相比之下,eRNA由活体生物转录产生,可通过

细胞脱落、黏液分泌、配子释放或细胞裂解等途径进入环境,有时还被包裹在胞外囊泡或核糖核蛋白复合物中。由于eRNA化学性质不稳定、易于降解,它能提供更为即时的生物活性“快照”,其检测时效通常仅为数分钟至数小时^[38-39]。传统的形态学方法则以获取采样时间和空间范围内的完整个体或可识别的生物构件为基础,直接对应具体的生物实体。因而,环境核酸检测反映的是“过去与现在存在”的生物信息,既包括当前采样时存在的物种信号,也可能包含近期曾出现但已消失的物种信号;而形态学方法反映的是采样时的“实时存在”,代表采样瞬间实际可观察/采集到的生物或生物群落,不存在时间滞后性(图1)。

表3 传统形态学方法与环境核酸技术所监测的生物对象及其理化特性对比
Table 3 Comparison of biological targets and their physicochemical characteristics monitored by traditional morphology and environmental nucleic acid-based technologies

指标	传统形态学方法	环境核酸技术
检测对象性质	生物个体或可识别的生物结构及其构件。直接捕获、观察或记录活体生物等,包括幼体、成体、植物(植株、叶片)、可辨识的生物痕迹(如鸟巢、粪便)	遗传物质片段(DNA/RNA)。源于脱落细胞、分泌物、排泄物、体液、尸体等;存在于水体、沉积物、土壤、空气等环境介质中
生物选择倚倚	偏好体型较大/形态特征明显生物。更易捕获和识别大中型或具有独特形态特征的物种;对微小、隐蔽、幼体、形态相似的物种以及稀有生物等难以识别或容易漏检	偏好高代谢/高脱落率生物。更易检测到代谢旺盛、细胞更新快、分泌物多、体表黏液多的物种;对移动性强或数量稀少的物种,可能因其核酸信号在环境中出现稀释或降解而难以稳定检测
样品来源复杂性与时效性	瞬间性/局部性强。反映采样瞬间或短期内在采样点实际存在的生物;只能检测到当时在场且被捕获/看到的生物;对迁移性物种、周期性出现的物种易漏检	时空整合性强。eDNA可整合一段时间内、较大空间范围内生物群落的信号,甚至包含已死亡或暂时离开区域的生物;eRNA反映更近期的生物活动。样品来源混合多样,难以追溯到单个个体



注:传统形态学依赖捕获完整个体,反映采样瞬间的“实时存在”。环境核酸技术检测生物体释放的核酸片段。eDNA 较稳定,揭示物种“过去与现在存在”的信息;eRNA 易降解,提供生物活性的“即时快照”。传统形态学方法注重局地精确与定量,而环境核酸技术具有高灵敏度与广泛时空代表性。

图1 传统形态学、eDNA 与 eRNA 在生物多样性监测中的差异

Fig. 1 Differences among traditional morphology-based methods, eDNA, and eRNA in biodiversity monitoring

1.2 生物类群偏倚的差异

不同生物类群,甚至同一类群的不同种属,在核酸释放量、降解速率、细胞结构特征及栖息习性方面存在显著差异(表3),这些差异共同决定了环境核酸信号的产生与可检测性^[40-42]。一般而言,鱼类和两栖类等具有较高代谢水平和体表黏液分泌量的生物,在活动过程中会持续释放大量细胞与核酸片段,因此其环境核酸信号较强、检出率较高^[43-44]。相比之下,底栖无脊椎动物(如具外壳生物等)以及水生植物等,由于细胞壁或外壳结构致密、排泄与组织脱落较少,核酸释放速率低,导致在环境样品中的检出率相对较低^[11,45]。此外,微生物与浮游生物由于数量庞大、更新迅速,其核酸信号易被放大,在环境样品中通常占据较高比例,甚至可能掩盖大型生物的信号^[46-47]。

而传统形态学调查受制于采样设备(如网具类型、网目大小、拖网深度等)及样品处理方式,往往更易捕获和识别体型较大或形态特征明显的物种,主要反映生态系统中大型或关键类群的组成特征;而对于体型微小、结构脆弱或处于早期生活史阶段的生物(如鱼卵、仔稚鱼、浮游幼体等),传统形态学方法往往难以准确识别或易于发生大范围遗漏^[48-49]。因此,两类多样性评估方法对生物类群具有信号偏向性和检测选择性,偏向性与选择性的机制与口径不一导致了两类方法在获取多样性数据上的显著差异。

1.3 样品来源复杂性差异

环境核酸样本通常来源于多种生物体及复杂的生态过程,其形成机制涉及生物体排泄、组织脱落、死亡分解以及水流或风力输送等多重途径(表3)。这些过程使得环境介质中积累的核酸信号不仅包含局地生物的信息,还混合了来自上游、邻近或更广空间范围的遗传物质^[50-52]。与此同时,环境中的物理化学过程(如稀释、降解、吸附与沉降)进一步影响核酸的分布与保存状态,导致环境核酸样品难以精确追踪到特定个体或种群来源^[50,53]。因而,环境核酸检测结果往往呈现为一个整合性的生物多样性“时空合集”,能够反映采样区域内近期的物种出现历史和综合生态过程,具有较强的整合性。而传统形态学方法取得的样品多来源于明确的个体、群体或取样点,与栖息地类型、采样深度、网具特征等环境因子直接对应,空间定位精确、来源可控。此类样本能较好地揭示局地生物群落的即时组成和数量结构,但空间与时间覆盖范围有限,难以捕获迁移性强或稀有物种的信号。因而,传统形态学方法检测结果往往呈现为一个时间和空间截面的生物多样性“瞬间合集”。

总体而言,采样对象的差异决定了环境核酸技术与形态学方法在生态信息层次、时空代表性等方面的根本区别(表3)。环境核酸技术具有强整合性和非侵入性等优势,适用于宏观尺度监测及隐匿类群检测;而传统形态学方法则具备时间点和采样区间的瞬时性等特征,更适用于局地调查。由此可见,两种方法在采样对象层面具有互补性:环境核酸技术强调监测的时间和空间“广度”,形态学方法侧重特定采样时间和具体区域等信息的“专度”。

2 环境核酸时空赋存导致的多样性结果不一致

环境核酸在环境中的赋存状况是决定其检测信号时空尺度的核心因素,其稳定性受生物学特性与环境因子的共同复杂调控(表4)。首先,分子结构差异赋予 eDNA 和 eRNA 不同的持久性。eDNA 由于具有双链结构且缺乏 2'-OH 基团,相对稳定,可作为长期或历史信号存在;而 eRNA 化学性质不稳定,易被核酸酶降解,通常反映实时的生物活性^[38,54]。其次,生物学特性对核酸的释放量与空间分布具有显著影响。物种的体型、代谢活性、行为习性 & 生活史阶段等因素,决定了局部核酸浓度与空间运输模式。高代谢率或繁殖期物种可产生局部高浓度信号,而游动性或群居性物

种的核酸则可能被远程运输,形成空间偏移^[42,44]。除上述核酸理化性质外,环境因子同样在核酸降解中发挥关键作用。温度可加速水解和酶解,pH 偏离中性会促进化学水解,紫外线会引起光化学损伤,而微生物活性则可通过释放降解酶加速核酸降解^[50,55]。此外,核酸的物理状态是重要的保护因素:存在于完整细胞或组织碎片中的核酸,或附着在颗粒物和沉积物上的核酸,因细胞膜或吸附表面的屏蔽作用,其降解可被有效延缓,形成长期储库;而游离核酸则易被酶解或光解^[42,56]。降解速率和保护程度的空间异质性导致环境核酸信号在时间和空间上高度不均,即使在同一环境中,不同区域的核酸信号也可能存在显著差异。因此,基于环境核酸的生物多样性评估结果往往与仅捕捉活体生物的传统形态学方法存在差异,甚至在部分环境中差异明显。

表 4 环境核酸时空赋存驱动因素对传统形态学方法与环境核酸技术生物多样性监测结果差异的影响

Table 4 Effects of spatiotemporal drivers of environmental nucleic acid persistence on the differences in biodiversity monitoring results between traditional morphology methods and environmental nucleic acids-based techniques

因素	指标	传统形态学方法	环境核酸技术
生物因素	体型、代谢活性、生理状态	直接反映可见个体或其构件,受体型、代谢活性、生理状态的影响较小	核酸释放量受体型、代谢、表面积体积比等因素影响;反映总量与稳定残留,而非仅可见个体
	行为与生态习性	依赖采样点周围活体生物捕获或观察,反映严格局地性群落	栖息地性质影响核酸释放;游动或洄游物种信号分散,而群居物种易形成局部高浓度,致信号空间偏移
	生活史与繁殖周期	更易受迁徙物种的实时物理存在影响,仅能捕捉活体生物在特定季节和栖息地出现的信号	繁殖季核酸释放量剧增,形成信号高峰;对生活史与繁殖周期高度敏感,能前瞻性捕捉物种周期性生境利用
环境因素	环境介质流动特性	依赖采样点周围活体捕获,受介质流动影响小,空间精度高,但代表性受采样范围限制	介质流动驱动核酸平流扩散,拓展生物群落信息的空间代表性,但削弱局地精度
	温度、pH 与紫外辐射	受理化因素直接影响较小,但可通过调节生物体活性、可见性或捕获效率产生间接效应	高温加速水解与酶解,偏离中性 pH 促进化学水解,紫外线致光损伤
	悬浮颗粒与沉积作用	采样针对活体个体,结果反映当前局地群落状态,不受历史信号或底质核酸影响,具有高度实时性	核酸易吸附于颗粒物形成结合态,延长半衰期;可能反映历史群落与上层输入信号,带来时间维度的不确定性
	微生物与酶促降解作用	采集和分析不受分子降解机制影响	微生物分泌胞外核酸酶加速游离核酸降解;在高活性区(如富营养化水体),信号衰减更快、寿命更短
	环境复杂度与栖息地异质性	复杂结构可为生物提供隐蔽场所,使隐蔽物种难以被直接观察或有效捕获,捕获效率和准确性降低	复杂结构(石缝、根系等)可滞留并富集核酸,形成局部高浓度热点,延长半衰期并提高捕获概率

2.1 生物学因素影响环境核酸的时空赋存

2.1.1 体型/密度效应

总体而言,大型个体或高密度种群由于生物量较大或核酸来源集中,通常会释放更多核酸,从而提高被采集的概率和信号强度^[44]。然而,核酸信号强度并非与体型、种群密度等因素呈简单线性关系,这主要是因为从核酸释放到采集的过程

中存在多重互作因素。一方面,核酸释放率与代谢活性、生理状态(如繁殖、应激、受伤)甚至表面积与体积的比值密切相关。例如,单位生物量下高周转率的小型物种,其核酸释放效率一般高于大型物种。因此,环境核酸技术无法像形态学方法那样直接反映可见个体,而是体现了体型等多重因素交互作用下的核酸释放总量与稳定残留量

的综合结果,这也是两种监测方法结果存在差异的重要原因^[40-41,44]。

2.1.2 行为与生态习性

物种的行为特征与生态位是决定环境核酸时空分布格局的关键因素之一。物种的栖息深度和活动区域直接影响核酸的释放位置和积累介质:底栖、穴居或附着性物种的核酸主要沉积并富集在沉积物中,而游泳性或浮游性物种的核酸则主要分散在水体中^[50]。此外,活动性与集群性也造成了空间信号的差异:游泳性强或洄游性物种的核酸会随水流远距离输运,使其信号分散且非局地性强;群居性物种的核酸则因集中释放,会在局部区域形成高浓度热点;独居或定居性物种的核酸则会形成局部浓度梯度^[51,53]。这种行为与生态习性导致的核酸释放位置、积累介质和分散模式的差异,使得环境核酸信号在空间上出现偏移,与传统形态学样点所反映的严格局地性群落存在不完全重叠。

2.1.3 生活史与繁殖周期

不同物种在生命周期不同阶段对环境核酸的释放能力存在显著差异,特别是在繁殖季节(如产卵、排精),生物体释放大量的生殖细胞,这些配子富含高拷贝数的核酸,导致环境核酸的释放量出现爆炸性增长,在局部区域形成信号高峰,使环境核酸技术能够提前或敏感地捕捉到物种对特定生境的周期性利用^[40,57]。相比之下,在幼体阶段或休眠期,由于生物量小或代谢率低,核酸的释放量则降至基础水平^[58]。因此,环境核酸技术监测结果对生活史和繁殖周期表现出高度的敏感性。这与常规形态学方法形成鲜明对比,后者更易受迁徙物种的实时物理存在影响,仅能捕捉到物种在特定季节和栖息地活体出现的信号,但可能忽视或低估物种在非活动期或繁殖高峰期利用该栖息地的生物学意义。

因此,生物学特性差异通过影响环境核酸的释放、降解及空间分布过程,决定了其信号的强度与持续时间。环境核酸对活跃、代谢旺盛及高生物量的物种表现出较高灵敏度,但其信号容易受到降解及时空偏移的影响;相比之下,传统形态学方法不受这些生物学过程干扰,能够稳定地反映个体的存在与数量,但对低丰度或隐蔽类群的检出能力有限。由此可见,从生物学特性角度出发,环境核酸技术更适用于捕捉生态系统中动态变化及隐匿的群体,而传统形态学调查则能更可靠地

反映代表性群落结构等信息。

2.2 生态环境因素影响环境核酸的时空赋存

2.2.1 环境介质流动特征

环境介质的流动特征显著影响环境核酸的空间分布,决定其在环境中的扩散、积累与代表性。如在水生态系统中,水动力学过程(如流速、湍流、混合)驱动环境核酸从释放点到采样点的水平输运和平流扩散。在大型河流或高流速水域,环境核酸或可被带至数十公里外,使采样点反映更广阔水域的生物群落信息,增强宏观空间代表性;高湍流和混合虽有助于使环境核酸分布于不同水层,但也会加速其稀释,可能降低局地浓度^[53,59]。相反,在低流速或静水系统(如湖泊、河湾),环境核酸主要受沉降和局地扩散影响,更易富集于沉积物中,信号呈现局地化^[60-61]。这种介质驱动的输运与非局地性虽扩大了监测范围,却降低了局地精确性,难以精确指示物种的具体存在位置。与之相比,传统形态学方法依赖对采样点周围活体个体的捕获或观察,不受或者很少受到环境介质运动等因素干扰,空间精确性高,但空间代表性仅限于采样设计可及的空间范围。

2.2.2 温度、pH与紫外辐射等条件

温度、pH与紫外辐射等环境因素直接调节环境核酸的稳定性与半衰期,成为影响环境核酸检测率和结果可变性的重要因素。具体而言,温度升高会加快核酸的非生物水解速率,并促进微生物酶促降解;偏离中性的酸性或强碱性环境会加速核酸的化学水解;而强紫外线照射则会直接引起碱基光化学损伤。相反,低温、中性或弱碱性环境(如深海或湖泊沉积物)则通过抑制化学反应和微生物活性,极大地有利于核酸的长期保存^[50,55]。这种环境理化条件对DNA稳定性的直接调节作用,使得环境核酸的检测结果在不同环境(如暖水河道与寒冷深湖)或不同季节之间差异显著,难以直接进行跨环境的定量比较。相比之下,传统形态学方法虽然受这些理化因素的直接影响较小,但环境条件会通过间接方式影响生物体的活性、可见性或捕获效率(例如,低温降低了生物的新陈代谢和移动性,可能降低捕获率)。这种间接影响机制与环境核酸的分子降解机制在本质上是不同的。

2.2.3 悬浮颗粒与沉积作用

环境核酸分子易吸附在悬浮颗粒或沉积物上,形成颗粒结合态核酸。这种物理结合作用对

环境核酸信号具有双重影响,并导致其结果与形态学监测产生关键差异。一方面,颗粒结合态为 DNA 提供了重要的保护机制。核酸吸附到矿物表面、有机物或生物膜上后,其磷酸二酯骨架被物理屏蔽,能有效阻止细胞外核酸酶的降解和紫外线的光解作用,从而大大延长核酸的半衰期和持久性,使沉积的颗粒结合态 DNA 可保藏长达数百万年^[62-64]。另一方面,这种吸附作用也导致环境核酸信号的空间和时间偏移。因此,当从沉积物或富含悬浮颗粒的水体中检测到 eDNA 信号时,它可能代表历史群落组成或上层水体的输入信号,而非当前采样点水体中活体生物的群落。这种历史信号的干扰,构成了环境核酸技术在时间维度上的核心挑战。相比之下,传统形态学方法的采样目标是水体中可见、可捕获的活体个体,其结果仅反映当前的局地群落状态,完全不受历史信号或底质积累核酸的影响,因此在时间维度上具有更严格的实时性。

2.2.4 微生物与酶促降解作用

环境微生物的活性是调控环境核酸降解速率的最重要生物化学因素之一。环境中普遍存在的异养微生物会主动分泌细胞外核酸酶(如 DNases 和 RNases),以水解游离在环境介质中的核酸分子,将其作为碳、氮、磷等元素的营养来源,从而导致游离的环境核酸被快速降解。因此,微生物活性高的区域,例如富营养化湖泊、靠近污水排放口或季节性温度高的水域,核酸酶的丰度和活性显著增高,这会导致环境核酸信号的衰减速率加快,使环境核酸的信号寿命缩短^[50,65]。这种降解强度的差异,是造成不同采样地点环境核酸检测灵敏度差异的重要原因,即在高微生物活性区域,只有近期或高浓度的环境核酸信号才能被捕获。而形态学样本(即活体生物)的采集和分析则完全不受这种分子降解机制的影响,其检测结果仅取决于活体个体的存在与否和可捕获性。

2.2.5 环境复杂度与栖息地异质性

复杂的栖息地结构是可同时影响环境核酸和传统形态学方法有效性的关键环境特征,但其作用方向恰好相反,从而导致两种方法监测结果的进一步分歧。对于环境核酸技术而言,复杂结构(例如底部的石块缝隙、珊瑚礁的分支、水生植物的茂密根系)扮演了滞留和富集的角色。环境核酸分子和颗粒结合态 DNA 容易在这些结构表面或内部空间被物理截留并积累,形成局部的高浓

度热点。这种局部滞留效应不仅能延长环境核酸的半衰期,保护其免受水流稀释,还能提高采样时对局地物种信号的捕获概率^[9,53]。对于传统形态学方法而言,这种复杂性则成为了限制因素。石块、密集的根系和复杂的分支结构为生物提供了大量的隐蔽场所,使得隐蔽性强、穴居性的物种难以被直接观察或通过常规工具(如拖网、陷阱)有效捕获。因此,在复杂栖息地中进行形态学调查的捕获效率和准确性显著降低。

总体而言,生态环境因素通过调控环境核酸的扩散、降解和保存过程,显著影响基于环境核酸技术的多样性检测结果。环境核酸方法对环境变化高度敏感,能够反映生态系统动态,但其稳定性受多种因素制约。而传统形态学调查结果较为稳健,受外界理化条件影响较小,但在极端或复杂环境中的捕获率可能下降。因此,从生态环境角度看,环境核酸技术在环境敏感性和区域代表性方面具有优势,而形态学方法在稳定性上更可靠。

3 检测与分析流程差异导致的多样性结果不一致

环境核酸技术与传统形态学方法在实验检测与分析流程上存在根本性差异(表 5),这些技术环节直接影响物种检测的灵敏度、准确性与可比性。

3.1 样品采集与核酸提取

从野外采样到分子分析的整个过程中,多种因素都会影响环境核酸的收集与提取效率,使其稳定性和获取效率面临多重挑战。首先,样品采集是决定核酸质量与代表性(尤其是 eRNA)的关键环节,也是环境核酸技术中最为敏感的环节^[18,28,66-67]。其次,样品中存在的抑制剂(如腐殖酸、重金属)会影响 PCR 扩增效率,必须通过高效提取试剂和纯化步骤予以去除^[68-70]。再次,核酸提取方法(如离心方式、过滤膜材质、裂解液配方)直接影响核酸回收率和完整性^[71-72]。对于 eRNA 而言,这一点尤为关键:其分子极不稳定,易被样品中的 RNA 酶迅速降解,因此需要快速处理、添加 RNA 酶抑制剂,并全程低温操作;任何微小操作失误都可能导致 eRNA 信号丧失,从而影响其反映实时生物活性的能力^[73]。相比之下,形态学采样在样品可视性方面更具稳定性。一旦活体个体被成功捕获,其可见形态特征不会因理化

降解而消失,样本身份与代表性在固定和保存后通常可保持稳定。因此,样品处理的及时性和妥

当性是导致环境核酸技术与传统形态学方法结果差异的重要因素。

表5 监测流程差异对传统形态学方法与环境核酸技术生物多样性评估结果的影响
Table 5 Effects of differences in monitoring workflows on biodiversity assessment results between traditional morphology and environmental nucleic acids-based techniques

监测流程/指标	传统形态学方法	环境核酸技术
样品采集	活体个体特征稳定性高	需快速处理、低温操作;提取出的核酸易受抑制剂(腐殖酸、重金属)影响,进而干扰后续分子生物学实验
PCR扩增与引物偏倚	不依赖PCR扩增,避免分子层面偏差,但受到鉴定者鉴定能力等要素影响	高度依赖引物组合的扩增效率和物种特异性,易导致物种信号低估、遗漏或过度放大
物种鉴定基础	基于视觉观察和形态学特征判断,主观性强	依赖生物信息学流程,可能出现部分错误
数据库依赖	形态学数据库,分类学知识和经验	高度依赖条形码数据库
错误来源	采样不足、观察者遗漏或识别错误	核酸降解、扩增失败、采样不足、交叉污染、生物信息学错误等
灵敏度	较低,易漏检稀有或隐蔽性物种	极高,能检测低丰度、微小、隐蔽性强的物种
检测精度	难以区分形态相似的隐秘物种,难以覆盖完整群落	能识别形态相似的隐秘物种,精度高;高通量检测;标准化、自动化分析
定量与丰度	可直接获取绝对丰度(个体数量/生物量)	序列丰度与真实丰度关系复杂,并非总是线性

3.2 PCR扩增与引物偏倚

环境核酸宏条形码技术高度依赖于所选引物组合的扩增效率和物种特异性。由于不同引物在设计上与目标物种的核酸序列可能存在不完美的匹配,这会导致扩增效率的差异:某些物种的DNA片段(即使丰度高)可能因为引物结合不佳而扩增效率低下,使其信号在最终的测序数据中被显著低估或遗漏;相反,引物与某些高丰度物种的DNA匹配极好,可能导致这些物种的信号过度放大。这种引物偏倚造成了环境核酸物种检测的分子层面偏差,使得监测结果对技术参数高度敏感,从而降低了跨引物组、跨研究的可比性^[74-76]。而传统形态学方法不依赖于PCR扩增,从根本上避免了这种分子层面的偏差。形态学鉴定直接基于物种的可见解剖特征,其准确性主要取决于观察者的专业经验和分类学知识,以及形态学分类单元的精细程度。然而,形态学方法也因此受制于专家经验,且难以区分形态相似的隐秘物种,无法识别生命周期早期(如卵、幼体)生物。因此,环境核酸技术以引物偏倚换取了极高的灵敏度,而形态学方法则以专家经验确保了形态鉴定的稳定性,两者在分子和宏观层面的差异共同塑造了生态监测结果的不一致性。

3.3 生物信息学分析

环境核酸技术与传统形态学方法在数据产出和物种鉴定上存在着基于分子算法与形态视觉的根本性差异。环境核酸分析结果的可靠性高度依赖于复杂的生物信息学流程,包括质量控制、序列

去噪、聚类以及分类鉴定等一系列步骤。在这一流程中,不同软件的选择、参数的设定和阈值标准的调整都可能对最终的物种判定结果产生显著影响^[77-78]。更为关键的是,环境核酸技术的物种鉴定在本质上依赖于将测序得到的序列与现有公共或者本地数据库进行比对。如果数据库存在覆盖率低(即缺乏目标物种的参考序列)或标注错误情形,将直接导致物种无法识别或判读错误^[31,79]。而传统形态学方法的物种鉴定是基于视觉观察和形态学特征判断,不依赖复杂算法,鉴定准确性主要受限于观察者的经验和分类学知识体系。因此,其鉴定精度受限于形态相似种的区分难度,可能因分类学修订而产生偏差,且无法辨别仅存在基因序列差异的隐秘物种。

3.4 假阳性与假阴性控制

环境核酸技术与传统形态学方法在假阴性和假阳性风险的来源上存在显著差异,这直接影响两种方法监测结果的可比性。对于环境核酸技术,假阴性(即物种实际存在但未被检测到)主要源于核酸降解、扩增失败和采样不足:快速降解会使低丰度或近期释放的信号消失;不理想的样品处理、提取操作,PCR扩增效率低下及抑制剂的存在,都可能导致扩增失败,从而遗漏物种信号^[31,80-81]。环境核酸技术面临的另一挑战是较高的假阳性风险(即物种不存在但被检测到):环境核酸漂移(如气溶胶或水流输运导致的非局地信号)、交叉污染(如野外采集或实验室操作中的DNA残留)以及生物信息学流程中的错误,都可

能产生虚假信号^[82-83];而形态学方法的假阴性主要源于采样不足(未捕获到物种)或观察者遗漏(物种存在但未被发现或识别错误)。总体来看,环境核酸技术的假阳性风险高于传统形态学方法,尤其在受人类影响的生态系统,因此需要采取严格的防污染措施和生物信息学质控措施^[82];而传统形态学方法的假阴性风险远高于环境核酸技术,主要源于采样不足、观察者经验有限或主观遗漏。需要特别说明的是,能够开展多类群系统鉴定的专业人员目前仍十分稀缺。

3.5 检测精度

对于环境核酸技术而言,其主要优势在于极高的灵敏度:能够检测到低丰度、体型微小、活动性强或隐蔽性强而难以通过传统方法捕获的物种,从而提高了群落物种清单的完整性,尤其在物种存在性的确认方面表现卓越^[84-86]。环境核酸技术能够识别形态相似的隐秘物种,其精度远超形态学方法。例如,针对水生入侵物种使用的传统形态学调查方法,在标准采样方案下,检出概率通常低于 20%;即使在加强采样(例如多达 100 个重复)的情况下,早期或低密度的种群仍可能无法被检测到^[87]。对于传统形态学方法而言,其优势在于高精确性和直观性:能提供活体个体的绝对丰度和生物量数据,具有严格的局地性和实时性。然而,其检测精度受限于采样效率(特别是复杂或大尺度环境)、物种体型(难以检测微小生物)以及观察者经验,容易漏检稀有或隐蔽性物种,且无法区分形态相似的物种。

3.6 定量与丰度估计差异

环境核酸技术与传统形态学方法在定量与丰度估计上存在根本性差异。形态学方法的最大优势在于其直观性:可以直接通过统计个体数量或称量生物量来获取物种的绝对丰度数据,这种关系是直接且可信的。然而,环境核酸技术获取的序列丰度(即测序得到的 reads 数)与生物体的真实丰度或密度之间的关系则极为复杂:虽为正相关关系但不总是线性^[88-89]。序列丰度受到一系列动态且难以精确量化的因子影响,包括 DNA 的释放率(受物种体型、生理状态和行为影响)、降解速率(受环境理化条件和微生物活性影响)以及 PCR 扩增的效率和引物偏倚。虽然定量 PCR(qPCR)和数字 PCR(dPCR)等技术能够通过测量特定基因拷贝数来改进定量精度,但它们本质上度量的仍是环境中的核酸浓度,而不是活体生

物的生物量或密度^[41,89]。

总体而言,检测与分析流程的技术差异是导致环境核酸技术与传统形态学方法结果不一致的核心来源之一。环境核酸技术在高通量检测、隐蔽种发现与标准化自动化分析上具有显著优势,但其结果易受引物偏倚、数据库局限与环境干扰影响。形态学方法在局地准确性和定量分析方面仍具不可替代性,但效率低、主观性强,难以覆盖完整的生物群落。因此,未来研究应通过开发多引物组合、建立标准化生物信息学流程与完善参考数据库来提升环境核酸技术的准确性,并整合传统形态学监测,以实现生物多样性评估的全面性与可靠性。

4 两类方法互校解析生物多样性常见分歧

由于环境核酸技术与传统形态学鉴定在数据维度和检测偏好等方面存在差异,要在同一监测项目中有效整合两种方法,就必须协调处理其分歧,构建统一的多样性解析框架,从而最大化利用两类方法的效率与准确性。

4.1 单一方法检出的“额外物种”:假阳性还是真实存在?

传统的形态学方法能有效收集和保存肉眼可见的实体生物或其图像,并易于复核,因此,其发现的特有物种极少受到质疑。而基于环境核酸技术检测到的大量肉眼不可见的独有生物,则是常见的结果不匹配与质疑的主要来源。环境核酸技术的高检出率源于其高灵敏度和广阔的时空覆盖能力,使其能检测到稀有、隐蔽或近期存在的物种,这是一种优势而非错误信号。然而,潜在的假阳性风险确实存在,主要来自以下 3 个方面^[31,50,68]。(1)外部污染:可通过执行严格的采样和实验操作以及设置阴性对照来有效规避。(2)引物非特异性扩增:需通过设计和优化引物,并结合高通量测序来解决。(3)参考数据库不完善:可通过加强基因数据库建设并结合传统形态学方法进行验证。此外,环境核酸的运输与滞留效应会导致检测信号并非来自当前采样点的活体生物。这并非真正的假阳性,而是其非局地性和时间累积效应的体现,可通过明确研究尺度、结合水流模型、多点多时序采样及利用 eRNA 反映实时活动等方式进行综合解读。

需要特别注意的是,源自人类活动(如向水生生态系统排放经过处理的废水)的环境核酸污染是一个严重的、常常被忽视的错误信号来源,尤其是在城市和沿海环境等人为干扰明显的生态系统中^[83-84]。研究表明,即使经过二级和三级处理,污水处理厂排放的废水中仍残留有 eDNA,会导致大规模假阳性^[83]。但这种假阳性主要集中于与人类活动相关的生物类群(如养殖、食用、观赏生物);同时,通过设计完善的采样策略、采用环境 eRNA 互校等方式,可提高数据的可靠性,剔除假阳性^[84]。

综上所述,只要充分理解环境核酸的检测原理,并严格遵循标准规范操作,假阳性风险就是可控且可追溯的。环境核酸技术的高检出率恰恰是其评估生物多样性的重要优势。

4.2 差异多样性结果:取交集还是并集?

简而言之,仅取交集的处理方式忽视了两类方法在检测对象、时空代表性、敏感性和偏倚性上的根本性互补优势,会大量舍弃环境核酸技术在检测稀有、隐蔽、微小或短暂出现物种以及捕捉生态动态方面的独特贡献,从而严重低估生物群落多样性,并限制对生态系统完整性的全面解读。因此,物种多样性的汇总应采取并集思维和互补应用策略,将两种方法视为互为补充的体系;环境核酸技术以其高灵敏度和时空整合性,提供宏观尺度的广度信息和隐匿物种早期预警;而传统形态学方法则提供局地、实时的物种数量、生物量和形态功能特征深度信息。

对于环境核酸技术常能检测出传统形态学方法难以核查的生物,可以采取多维度应对。首先,可通过增强环境核酸结果的可靠性进行内部核查,包括重复采样与检测、高通量测序深度分析、严格的生物信息学筛选及对照实验,以确保环境核酸信号的真实性。其次,可利用现有信息和间接证据进行背景核查,如比对物种分布、生态位匹配,或咨询专家意见,评估其在该环境中存在的合理性。若该物种具有重要意义,可调整采样策略进行定向核查,增加传统采样方式、改变采样工具或利用 eRNA 的实时指示性来提高捕获概率^[28]。最后,对于仍无法核查的生物,应在报告中谨慎解读与报告,明确指出其为 eDNA 独有发现,并讨论其潜在生态意义,避免过度推断。通过这些措施,能最大程度地验证环境核酸独有检出生物的真实性,充分发挥“并集”策略的互补性和前瞻性。

同时需要指出,环境核酸技术的灵敏度极高,能够捕获环境中极低丰度、稀有或隐秘物种脱落的微量 DNA 痕迹,其检测阈值远低于形态学方法所需的可见生物量或可捕获个体数。这种阈值上的差异决定了必然存在一部分生物,它们由于数量太少、体型太小、习性隐秘或难以捕获,无法达到传统形态学的检测阈值,但其 DNA 信号却能被 eDNA 技术精准捕捉。同时,在生物多样性研究中,种复合体(即那些在形态上几乎无法区分,但实际上包含多个独立物种的生物类群)一直是传统形态学分类的一大难题^[90-91]。由于这些物种在外观上高度相似,研究人员需要依赖细微、有时甚至是主观的形态特征,这使得准确识别和物种界定过程耗时且容易出错。相比之下,环境核酸方法能够通过特异性分子标记直接区分这些外观相似的物种,从而显著提高物种鉴定的准确性和效率,为揭示隐藏的物种多样性提供了强有力的工具。因此,传统形态学无法核查的生物信号是 eDNA 高灵敏度、高分辨率特性的必然产物,这正是 eDNA 为生物多样性监测提供互补性和前瞻性价值的关键所在。

综上所述,将两种方法有机结合,不仅可以交叉验证提高数据可靠性,更能最大化生物多样性评估的准确性和生态解释力,从而获得最全面的物种清单及对生态系统多样性动态的整体理解。

4.3 eRNA + eDNA:能否解决 eDNA 的“历史残留”问题,更好地匹配形态学结果?

尽管环境 eRNA 被广泛认为比 eDNA 更能反映生物的即时存在或活体活动,其在环境中的持续时间仍可达数小时至数天。eRNA 的高降解性有助于有效排除历史遗留信号,但其检测结果在时间和空间尺度上仍与传统形态学方法存在差异。此外,针对低丰度、低代谢或处于休眠状态的生物群落,eRNA 的检测灵敏度可能显著下降。eRNA 的提取与保存对操作条件要求较高,操作不当容易导致降解或产量偏差,从而影响检测可靠性。随着技术的不断完善,eDNA 与 eRNA 联合应用已成为提高环境核酸监测准确性的重要方向,二者协同作用是提升时空监测精度的关键机制^[28]。

eRNA 的时效性有效弥补了 eDNA 在时间分辨率上的不足,使监测系统能够清晰区分物种的长期存在与即时活动或胁迫状态,从而在时间维

度上实现从历史平均到即时动态的转变,并使环境核酸检测结果更易与传统形态学调查结果整合。同时,eDNA信号因长期存留及水体迁移而可能导致空间溯源模糊。通过将eDNA的广域存留信号与eRNA的即时活性信号进行空间叠加与耦合分析,可以更精确地锁定活跃种群或生态事件的即时发生中心。例如,eRNA在特定微生物中的显著富集可指示该处为活跃种群的即时聚集地或微环境扰动的发生源,从而极大地提升监测的空间准确性。这种互补不仅有助于区分当前活体与历史遗留信号,也使环境核酸检测成为高分辨率、高预警性的工具,为生态系统动态监测与生物多样性评估提供更及时效性和可靠性的支持。

综上所述,eDNA与eRNA的联合应用充分发挥了两者在时间与空间维度上的互补优势:eRNA提供即时活动信息,增强时间分辨率;eDNA提供长期存在背景信息,辅助空间追踪。二者协同能够实现对物种分布和生态事件的高时空分辨监测,为环境核酸技术在生态监测和生物多样性评估中的应用提供更精准、可靠和可操作的解决方案。

5 展望

环境核酸技术经过20余年的快速发展,无论是在样品采集、核酸提取、扩增检测,还是在高通量测序与生物信息学分析流程方面,均已臻成熟。技术的可靠性、重复性以及操作标准化水平显著提高,使得环境核酸方法在物种多样性监测中展现出高灵敏度和广覆盖性。尽管在某些环节仍有待完善,例如引物的有效性与覆盖度、参考数据库的完整性、注释的精度以及部分分析算法的优化,环境核酸技术总体上已具备可靠的监测能力。然而,环境核酸方法与传统形态学监测结果之间仍存在一定差异。值得强调的是,这些差异并非源于新技术本身的不可靠性,而主要是由两类方法的监测对象差异以及分析技术需求特性等多方面因素的共同作用引起的。

在环境核酸技术迈向大规模、规范化应用的过程中,技术标准化与规范建设是保障数据可靠性和跨项目可比性的关键。我国已在积极推动eDNA标准的制定。例如,北京市发布了《鱼类贝类环境DNA识别技术规范》(DB11/T 2023—2022)、《淡水大型底栖无脊椎动物环境DNA监

测技术规范》(DB11/T 2358—2024),而江苏省则发布了《淡水生物环境DNA监测技术方法》(DB32/T 4539—2023)等。这些地方标准在应用场景下为eDNA技术的样品采集、保存、提取、检测和质量控制提供了详细指导,有效促进了区域内eDNA技术的规范化应用。然而,由于eDNA/eRNA从野外采集到数据产出的全流程涉及多个敏感环节,不同实验室和项目间的结果差异仍往往源于非标准化操作导致的系统性偏差。因此,应加速制定和统一从野外采样、样品保存、核酸提取,到高通量测序及生物信息学分析的国家级全流程技术标准 and 操作规程。特别是针对eRNA的快速降解特性和eDNA的污染敏感性,应建立更为严格的质量控制体系,包括野外阴性对照、提取对照和PCR抑制剂检测等,以减少技术层面的系统性偏差。同时,尽管相关机构针对部分地区和类群已建立了相应的生物多样性数据库^[92],但仍需加强国家层面的生物多样性参考序列数据库建设,以确保数据的全面覆盖和准确注释,并推动监测数据的标准化与共享机制建设,从而为环境核酸技术在生态监测与生物多样性保护中的科学决策和广泛应用提供有力支撑。

传统形态学方法与环境核酸技术在生物多样性监测中各具优势。传统形态学方法以实物个体或可识别结构为基础,能够直接提供物种存在、个体数量、生物量及生态信息,具有高精度、低假阳性率和良好的局地代表性。然而,其对低丰度、隐蔽或微型类群的检出能力有限,且在大尺度或高频监测中成本高、效率低。环境核酸技术通过检测环境介质中释放的核酸,能够高灵敏度地捕捉低密度、隐蔽及微型类群,具有非侵入性、广空间代表性及快速高通量检测优势。eDNA与eRNA在同一监测框架下的有效结合,实现了对生物多样性存在状况(由eDNA反映的近期历史信息)和功能活性(由eRNA揭示的即时动态)的同步获取。这种时空尺度的互补是实现了对生态系统动态变化进行更全面、机制性评估的基础。因此,环境核酸适于“广度”监测,捕捉隐蔽或低丰度群体及生态动态;传统形态学适于“专度”调查,提供准确的个体定量及生态信息。二者结合,可最大化提升生物多样性评估的准确性、可靠性与生态解释力,为长期生态监测、入侵物种早期预警及保护优先区识别提供更为全面的技术支撑。因此,在实际生态监测中,可将连续的eDNA/eRNA信

号流作为广域的动态分析手段,用于及时捕捉生态系统的实时变化;将传统形态学数据视为高精度的离散验证信号,用于分子信号反演结果的定量校准。同时,利用分子信号的异常变化来触发和指导资源投放,将稀缺的形态学资源投入到最具生态风险的区域,并将形态学权威定量数据作为模型耦合的约束条件,从而有效提高监测的针对性、效率和最终数据的准确性。通过交叉验证结果提高数据可靠性,通过优势互补增强对生态系统多样性、动态变化及物种生态功能的整体理解,从而实现更科学、全面和高效的多样性监测与生态系统评估。

事实上,在多源大数据融合的背景下,传统形态学监测与环境核酸技术的融合,表面上似乎仅是监测手段的互补与优化,实则也是应对技术转型压力的阶段性修补。然而,这种融合并非仅仅出于对“惯性”与“发展”的调和,更体现了科学研究和管理实践对精确、高效、多维度监测能力的迫切需求。几百年来形成的形态学监测体系,依托于可视化形态特征和经验分类学逻辑,构筑了生物多样性评估的基础框架。然而,当这一框架遭遇以分子信号为核心的环境核酸技术时,其长期积累的理论假设和信息逻辑正面临结构性冲击,其涉及的理念和技术基础本身已无法充分应对以大数据、时间连续性以及空间非定域性为特征的新型数据范式。因此,两种方法的分歧实际上是研究范式的转变:从传统形态学的“实体存在”到环境核酸技术的“环境核酸信号流”。未来在基于大数据和多学科手段的监测实践体系中,追溯性地注入一套基于“环境核酸信号流”的全新理论框架,能够将连续的分子信号精确反演为生态学参数,并解析其中的生物多样性与多要素耦合关系,实现对生物多样性结构、功能和动态的系统解析。以河流生态系统为例,信号流驱动的生态认知范式可以通过整合环境核酸信号与生态过程模型得以实现。沿河流横、纵向布设多个监测点,连续采集水体中的 eDNA 和 eRNA 样品,所获得的分子信号能够反映不同时间和空间尺度上生物体释放、扩散及降解的动态特征。同时,同步记录流速、水温、pH、悬浮颗粒、有机物含量及污染物输入等关键环境参数。最后,通过结合水动力学模型与机器学习算法,实现对信号流的精细解析:水动力学模型用于模拟核酸在河流中的平流、扩散和沉降过程,重建分子信号在不同流速、地形和

环境条件下的时空迁移轨迹,从而识别潜在来源区域与传播路径;机器学习算法则利用多维环境因子与分子浓度数据,挖掘影响信号强度与空间分布的关键因素,建立“环境因子-生物信号-生态扰动”之间的非线性映射关系,从而实现对生物活动时空分布的综合解析。

未来的生物多样性研究与实践应超越传统的多方法机械叠加,进入一个以多源数据在统一理论框架下实现语义同化与模型耦合的新阶段。在这一阶段,数据不再仅是独立的信息片段,而是可以在时间-空间连续性上进行整合的动态信号,从而将监测从静态的局部快照转向连续的生态信号解码。生物多样性监测将不再局限于单一指标的描述,而是能够实现系统级诊断,揭示物种多样性、功能群构型以及生态过程对环境梯度变化的动态响应。在大数据与人工智能背景下,生物多样性监测亟需打破依赖经验的“修补式”路径,从理论和技术两方面完成范式重塑。其核心在于构建以“环境核酸信号流”为核心的生态信息体系,使连续的分子信号可以被转译为可量化、可解释的生态学参数。通过整合分子生态学、遥感技术、生态模型、时空统计学与人工智能算法,可实现从信号采样、传输、衰减到反演的全链条解析,形成一套面向生态系统水平的多维韧性与可塑性分析框架。在此框架下,生物多样性监测将能够揭示关键生态过程,包括物种间相互作用的动力学、功能群的空间-时间重构以及环境梯度下的响应机制。同时,该方法可将微观分子信号与宏观生态模式有机结合,使监测从传统的“形态描述”向“机制创新”转型,实现从单纯“数据采集”到“系统生态认知”的跃迁。这不仅可为生态学研究提供高精度、高时空分辨率的监测工具,也可为生物多样性保护和生态管理提供科学决策支撑,使未来的生态监测体系真正具备智能化、预测化和可操作化的特征。

面对全球生物多样性治理的新趋势以及我国生态文明建设的重大战略部署,推动生物多样性研究范式的转型已成为当务之急。我国亟需深入理解并系统借鉴国际先进经验(表1),将 eDNA 技术上升至国家战略层面,推动构建以“信号流驱动生态认知”为核心的新型研究范式,并将其切实应用于生态监测实践中。通过建立覆盖近海、流域与城市水体的现代化生态监测网络,实现对生态系统结构与功能的高效感知与动态评估。

这一研究与监测范式的转型,对于支撑国家生态环境治理决策具有重要的政策意义,也将为我国落实国际生物多样性保护战略(如“昆蒙框架”),并实现“人与自然和谐共生”的宏伟目标,提供精准而高效的科技支撑。

参考文献(References):

- [1] 杨明,周桔,曾艳,等.我国生物多样性保护的主要进展及工作建议[J].中国科学院院刊,2021,36(4):399-408.
YANG Ming, ZHOU Ju, ZENG Yan, et al. Main Progress of Biodiversity Conservation in China and Some Suggestions for Further Work [J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2021, 36 (4): 399-408.
- [2] ZHAN A B, BRISKI E, BOCK D G, et al. Ascidians as Models for Studying Invasion Success [J]. Marine Biology, 2015, 162(12): 2 449-2 470.
- [3] KECK F, PELLER T, ALTHER R, et al. The Global Human Impact on Biodiversity [J]. Nature, 2025, 641 (8 062): 395-400.
- [4] CEBALLOS G, EHRlich P R, DIRZO R. Biological Annihilation via the Ongoing Sixth Mass Extinction Signaled by Vertebrate Population Losses and Declines [J]. PNAS, 2017, 114(30): E6089-E6096.
- [5] YOCCOZ N G, NICHOLS J D, BOULINIER T. Monitoring of Biological Diversity in Space and Time [J]. Trends in Ecology & Evolution, 2001, 16(8): 446-453.
- [6] 冯晓娟,米湘成,肖治术,等.中国生物多样性监测与研究网络建设及进展[J].中国科学院院刊,2019,34(12):1 389-1 398.
FENG Xiaojuan, MI Xiangcheng, XIAO Zhishu, et al. Overview of Chinese Biodiversity Observation Network (Sino BON) [J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2019, 34(12): 1 389-1 398.
- [7] MENG S D, XIONG W, JIN X W, et al. Hormetic Effects of the Pesticide Chlorpyrifos Counteract the Adverse Effects of a Heat Spike Both Within and Across Generations in a Freshwater Rotifer [J]. Environmental Science & Technology, 2025, 59(33): 17 403-17 415.
- [8] 金小伟,王业耀,王备新,等.我国流域水生生态完整性评价方法构建[J].中国环境监测,2017,33(1): 75-81.
JIN Xiaowei, WANG Yeyao, WANG Beixin, et al. Methods Development for Monitoring and Assessment of Ecological Integrity of Surface Waters in China [J]. Environmental Monitoring in China, 2017, 33 (1): 75-81.
- [9] MACKENZIE D I, NICHOLS J D, LACHMAN G B, et al. Estimating Site Occupancy Rates When Detection Probabilities Are Less Than One [J]. Ecology, 2002, 83(8): 2 248-2 255.
- [10] 吴慧,徐学红,冯晓娟,等.全球视角下的中国生物多样性监测进展与展望[J].生物多样性,2022,30(10):196-210.
WU Hui, XU Xuehong, FENG Xiaojuan, et al. Progress and Prospect of China Biodiversity Monitoring from a Global Perspective [J]. Biodiversity Science, 2022, 30(10): 196-210.
- [11] DU X, XIONG W, LI S G, et al. Conventional Net Tow Versus Environmental DNA for Metabarcoding-Based Analysis of Plankton-Environment Interactions in Polluted Aquatic Ecosystems [J]. Ecological Indicators, 2024, 158: 111356.
- [12] SHANNON G, LEWIS J S, GERBER B D. Recommended Survey Designs for Occupancy Modelling Using Motion-Activated Cameras: Insights from Empirical Wildlife Data [J]. PeerJ, 2014, 2: e532.
- [13] XIONG W, HUANG X N, CHEN Y Y, et al. Zooplankton Biodiversity Monitoring in Polluted Freshwater Ecosystems: A Technical Review [J]. Environmental Science and Ecotechnology, 2020, 1: 100008.
- [14] SEIDLITZ A, BRYANT K A, ARMSTRONG N J, et al. Sign Surveys Can Be More Efficient and Cost Effective Than Driven Transects and Camera Trapping: A Comparison of Detection Methods for a Small Elusive Mammal, the Numbat (*Myrmecobius fasciatus*) [J]. Wildlife Research, 2021, 48(6): 491-500.
- [15] TABERLET P, COISSAC E, POMPANON F, et al. Towards Next-Generation Biodiversity Assessment Using DNA Metabarcoding [J]. Molecular Ecology, 2012, 21(8): 2 045-2 050.
- [16] BENG K C, CORLETT R T. Applications of Environmental DNA (eDNA) in Ecology and Conservation: Opportunities, Challenges and Prospects [J]. Biodiversity and Conservation, 2020, 29(7): 2 089-2 121.
- [17] YAO M, ZHANG S, LU Q, et al. Fishing for Fish Environmental DNA: Ecological Applications, Methodological Considerations, Surveying Designs, and Ways Forward [J]. Molecular Ecology, 2022, 31 (20): 5 132-5 164.

- [18] ZHANG Y, QIU Y, LIU K, et al. Evaluating eDNA and eRNA Metabarcoding for Aquatic Biodiversity Assessment: From Bacteria to Vertebrates [J]. *Environmental Science and Ecotechnology*, 2024, 21: 100441.
- [19] 李飞龙, 杨江华, 杨雅楠, 等. 环境 DNA 宏条形码监测水生生态系统变化与健康状态[J]. *中国环境监测*, 2018, 34(6): 37-46.
- LI Feilong, YANG Jianghua, YANG Yanan, et al. Using Environmental DNA Metabarcoding to Monitor the Changes and Health Status of Aquatic Ecosystems [J]. *Environmental Monitoring in China*, 2018, 34(6): 37-46.
- [20] 李晗溪, 黄雪娜, 李世国, 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 Hanxi, HUANG Xuena, LI Shiguo, et al. Environmental DNA (eDNA)-Metabarcoding-Based Early Monitoring and Warning for Invasive Species in Aquatic Ecosystems [J]. *Biodiversity Science*, 2019, 27(5): 491-504.
- [21] CRUZ-CANO R, KOLB M, SALDAÑA-VÁZQUEZ R A, et al. Existing Evidence on the Use of Environmental DNA as an Operational Method for Studying Rivers: A Systematic Map and Thematic Synthesis [J]. *Environmental Evidence*, 2024, 13(1): 2.
- [22] XIA Z Q, GU J N, WEN Y, et al. eDNA-Based Detection Reveals Invasion Risks of a Biofouling Bivalve in the World's Largest Water Diversion Project [J]. *Ecological Applications*, 2024, 34(1): e2826.
- [23] RUPPERT K M, KLINE R J, RAHMAN M S. Past, Present, and Future Perspectives of Environmental DNA (eDNA) Metabarcoding: A Systematic Review in Methods, Monitoring, and Applications of Global eDNA [J]. *Global Ecology and Conservation*, 2019, 17: e00547.
- [24] MATHIEU C, HERMANS S M, LEAR G, et al. A Systematic Review of Sources of Variability and Uncertainty in eDNA Data for Environmental Monitoring [J]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2020, 8: 135.
- [25] 钟文军, 姚蒙, 金小伟, 等. 淡水环境 DNA (eDNA) 技术领域发展——成就与挑战 [J]. *湖泊科学*, 2025, 37(4): 1 091-1 095.
- ZHONG Wenjun, YAO Meng, JIN Xiaowei, et al. Development of Freshwater Environmental DNA (eDNA): Achievements and Challenges [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2025, 37(4): 1 091-1 095.
- [26] MARSHALL N T, VANDERPLOEG H A, CHAGANTI S R. Environmental (e)RNA Advances the Reliability of eDNA by Predicting Its Age [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 2769.
- [27] 苟潇, 宿欣欣, 王琼, 等. 环境 RNA 在化学物质生态风险评估中的应用及展望 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2024, 38(10): 759-765.
- GOU Xiao, SU Xinxin, WANG Qiong, et al. Environmental RNA Applications in Ecological Risk Assessment of Chemicals [J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2024, 38(10): 759-765.
- [28] WANG F W, XIONG W, LIU Y, et al. Exploring Technical Improvements for Environmental Nucleic Acids-Based Biodiversity Assessment and Management in Coastal Ecosystems [J]. *Journal of Environmental Management*, 2025, 377: 124724.
- [29] WANG F W, XIONG W, HUANG X N, et al. Selecting Competent Reverse Transcription Strategies to Maximise Biodiversity Recovery with eRNA Metabarcoding [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2025, 25(6): e14092.
- [30] JANIK-SUPERSON K, KRAWCZYK D, BARANOWSKA M, et al. Comparing eDNA and eRNA Sampling Methodologies from Pond Environments [J]. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 2025, 35(2): e70083.
- [31] ZHAN A B, MACISAAC H J. Rare Biosphere Exploration Using High-Throughput Sequencing: Research Progress and Perspectives [J]. *Conservation Genetics*, 2015, 16(3): 513-522.
- [32] GUO W, LI S G, ZHAN A B. eDNA-Based Early Detection Illustrates Rapid Spread of the Non-native Golden Mussel Introduced into Beijing via Water Diversion [J]. *Animals*, 2024, 14(3): 399.
- [33] GIROUX M S, REICHMAN J R, LANGKNECHT T, et al. Using eRNA/eDNA Metabarcoding to Detect Community-Level Impacts of Nanoplastic Exposure to Benthic Estuarine Ecosystems [J]. *Environmental Pollution*, 2023, 338: 122650.
- [34] 王方晗, 王雷, 孙婷婷, 等. 基于形态学和宏条形码技术的南海西沙群岛浮游动物多样性的比较分析 [J]. *应用海洋学学报*, 2022, 41(2): 317-327.
- WANG Fanghan, WANG Lei, SUN Tingting, et al. Comparative Morphology and Metabarcoding Analysis of Zooplankton Diversity in Xisha Islands in the South

- China Sea [J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2022, 41 (2): 317-327.
- [35] BARNES M A, TURNER C R, JERDE C L, et al. Environmental Conditions Influence eDNA Persistence in Aquatic Systems [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48 (3): 1 819-1 827.
- [36] JO T, MINAMOTO T. Complex Interactions Between Environmental DNA (eDNA) State and Water Chemistries on eDNA Persistence Suggested by Meta-Analyses [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2021, 21 (5): 1 490-1 503.
- [37] OGATA M, MASUDA R, HARINO H, et al. Environmental DNA Preserved in Marine Sediment for Detecting Jellyfish Blooms After a Tsunami [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11 (1): 16830.
- [38] VEILLEUX H D, MISUTKA M D, GLOVER C N. Environmental DNA and Environmental RNA: Current and Prospective Applications for Biological Monitoring [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 782: 146891.
- [39] AHI E P, SCHENEKAR T. The Promise of Environmental RNA Research Beyond mRNA [J]. *Molecular Ecology*, 2025, 34 (12): e17787.
- [40] MARUYAMA A, NAKAMURA K, YAMANAKA H, et al. The Release Rate of Environmental DNA from Juvenile and Adult Fish [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (12): e114639.
- [41] SASSOUBRE L M, YAMAHARA K M, GARDNER L D, et al. Quantification of Environmental DNA (eDNA) Shedding and Decay Rates for Three Marine Fish [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50 (19): 10 456-10 464.
- [42] MAUVISSEAU Q, HARPER L R, SANDER M, et al. The Multiple States of Environmental DNA and What Is Known About Their Persistence in Aquatic Environments [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56 (9): 5 322-5 333.
- [43] HARRISON J B, SUNDAY J M, ROGERS S M. Predicting the Fate of eDNA in the Environment and Implications for Studying Biodiversity [J]. *Proceedings of the Royal Society B*, 2019, 286 (1 915): 20191409.
- [44] THALINGER B, RIEDER A, TEUFFENBACH A, et al. The Effect of Activity, Energy Use, and Species Identity on Environmental DNA Shedding of Freshwater Fish [J]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2021, 9: 623718.
- [45] KORBEL K L, HOSE G C, KARWAUTZ C, et al. Detection, Movement and Persistence of Invertebrate eDNA in Groundwater [J]. *Scientific Reports*, 2024, 14 (1): 17151.
- [46] DJURHUUS A, CLOSEK C J, KELLY R P, et al. Environmental DNA Reveals Seasonal Shifts and Potential Interactions in a Marine Community [J]. *Nature Communications*, 2020, 11 (1): 254.
- [47] BAIROLIYA S, XIANG J K Z, CAO B. Extracellular DNA in Environmental Samples: Occurrence, Extraction, Quantification, and Impact on Microbial Biodiversity Assessment [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2022, 88 (3): e01845-21.
- [48] THOMSEN P F, WILLERSLEV E. Environmental DNA—An Emerging Tool in Conservation for Monitoring Past and Present Biodiversity [J]. *Biological Conservation*, 2015, 183: 4-18.
- [49] FERNÁNDEZ A P, MARQUES V, FOPP F, et al. Comparing Environmental DNA Metabarcoding and Underwater Visual Census to Monitor Tropical Reef Fishes [J]. *Environmental DNA*, 2021, 3 (1): 142-156.
- [50] BARNES M A, TURNER C R. The Ecology of Environmental DNA and Implications for Conservation Genetics [J]. *Conservation Genetics*, 2016, 17 (1): 1-17.
- [51] DEINER K, BIK H M, MÄCHLER E, et al. Environmental DNA Metabarcoding: Transforming How We Survey Animal and Plant Communities [J]. *Molecular Ecology*, 2017, 26 (21): 5 872-5 895.
- [52] BÁLINT M, PFENNINGER M, GROSSART H P, et al. Environmental DNA Time Series in Ecology [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2018, 33 (12): 945-957.
- [53] SHOGREN A J, TANK J L, ANDRUSZKIEWICZ E, et al. Controls on eDNA Movement in Streams: Transport, Retention, and Resuspension [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 (1): 5065.
- [54] YATES M C, DERRY A M, CRISTESCU M E. Environmental RNA: A Revolution in Ecological Resolution? [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2021, 36 (7): 601-609.
- [55] STRICKLER K M, FRIEMER A K, GOLDBERG C S. Quantifying Effects of UV-B, Temperature, and pH on eDNA Degradation in Aquatic Microcosms [J]. *Biological Conservation*, 2015, 183: 85-92.
- [56] BRANDÃO-DIAS P F P, HALLACK D M C, SNYDER E D, et al. Particle Size Influences Decay

- Rates of Environmental DNA in Aquatic Systems[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2023, 23(4):756-770.
- [57] TILLOTSON M D, KELLY R P, DUDA J J, et al. Concentrations of Environmental DNA (eDNA) Reflect Spawning Salmon Abundance at Fine Spatial and Temporal Scales [J]. *Biological Conservation*, 2018, 220:1-11.
- [58] PILLIOD D S, GOLDBERG C S, ARKLE R S, et al. Factors Influencing Detection of eDNA from a Stream-Dwelling Amphibian [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2014, 14(1):109-116.
- [59] DEINER K, FRONHOFER E A, MÄCHLER E, et al. Environmental DNA Reveals that Rivers Are Conveyor Belts of Biodiversity Information [J]. *Nature Communications*, 2016, 7:12544.
- [60] TURNER C R, UY K L, EVERHART R C. Fish Environmental DNA Is More Concentrated in Aquatic Sediments Than Surface Water [J]. *Biological Conservation*, 2015, 183:93-102.
- [61] URYCKI D R, KIRTANE A A, ARONOFF R, et al. A New Flow Path: eDNA Connecting Hydrology and Biology [J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, 2024, 11(6):e1749.
- [62] CAI P, HUANG Q Y, ZHANG X W. Interactions of DNA with Clay Minerals and Soil Colloidal Particles and Protection Against Degradation by DNase [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(9):2971-2976.
- [63] SAKATA M K, YAMAMOTO S, GOTOH R O, et al. Sedimentary eDNA Provides Different Information on Timescale and Fish Species Composition Compared with Aqueous eDNA [J]. *Environmental DNA*, 2020, 2(4):505-518.
- [64] KJÆR K H, PEDERSEN W M, DE SANCTIS B, et al. A 2-Million-Year-Old Ecosystem in Greenland Uncovered by Environmental DNA [J]. *Nature*, 2022, 612(7939):283-291.
- [65] MCCARTIN L J, VOHSEN S A, AMBROSE S W, et al. Temperature Controls eDNA Persistence Across Physicochemical Conditions in Seawater [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56(12):8629-8639.
- [66] XING Y C, GAO W R, SHEN Z X, et al. A Review of Environmental DNA Field and Laboratory Protocols Applied in Fish Ecology and Environmental Health [J]. *Frontiers in Environmental Science*, 2022, 10:725360.
- [67] ZOU N X, WANG S H, QIU W H, et al. Environmental RNA as a Transformative Tool for Aquatic Ecosystem Health Assessment: Progress and Challenges [J]. *Ecological Indicators*, 2025, 180:114328.
- [68] GOLDBERG C S, TURNER C R, DEINER K, et al. Critical Considerations for the Application of Environmental DNA Methods to Detect Aquatic Species [J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2016, 7(11):1299-1307.
- [69] RUB W A M, SOM N A, HENDERSON M J, et al. Changes in Adult Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) Survival Within the Lower Columbia River Amid Increasing Pinniped Abundance [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2019, 76(10):1862-1873.
- [70] KUMAR G, FARRELL E, REAUME A M, et al. One Size Does Not Fit All: Tuning eDNA Protocols for High- and Low-Turbidity Water Sampling [J]. *Environmental DNA*, 2022, 4(1):167-180.
- [71] DEINER K, WALSER J C, MÄCHLER E, et al. Choice of Capture and Extraction Methods Affect Detection of Freshwater Biodiversity from Environmental DNA [J]. *Biological Conservation*, 2015, 183:53-63.
- [72] SPENS J, EVANS A R, HALFMAERTEN D, et al. Comparison of Capture and Storage Methods for Aqueous Microbial eDNA Using an Optimized Extraction Protocol: Advantage of Enclosed Filter [J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2017, 8(5):635-645.
- [73] WANG F W, XIONG W, HUANG X N, et al. Influence of Short-Term Water Sample Storage on Environmental RNA Metabarcoding-Based Biodiversity Assessment [J/OL]. *Journal of Environmental Sciences*, 2025-11-08. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S100107422500734X?via%3Dihub>.
- [74] CLARKE L J, BEARD J M, SWADLING K M, et al. Effect of Marker Choice and Thermal Cycling Protocol on Zooplankton DNA Metabarcoding Studies [J]. *Ecology and Evolution*, 2017, 7(3):873-883.
- [75] ZHAN A B, BAILEY S A, HEATH D D, et al. Performance Comparison of Genetic Markers for High-Throughput Sequencing-Based Biodiversity Assessment in Complex Communities [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2014, 14(5):1049-1059.
- [76] ZHAN A B, HE S, BROWN E A, et al. Reproducibility of Pyrosequencing Data for

- Biodiversity Assessment in Complex Communities [J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2014, 5(9): 881-890.
- [77] XIONG W, ZHAN A B. Testing Clustering Strategies for Metabarcoding-Based Investigation of Community-Environment Interactions [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2018, 18(6): 1 326-1 338.
- [78] ZINGER L, BONIN A, ALSOS I G, et al. DNA Metabarcoding—Need for Robust Experimental Designs to Draw Sound Ecological Conclusions [J]. *Molecular Ecology*, 2019, 28(8): 1 857-1 862.
- [79] WEIGAND H, BEERMANN A J, ČIAMPOR F, et al. DNA Barcode Reference Libraries for the Monitoring of Aquatic Biota in Europe: Gap-Analysis and Recommendations for Future Work [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 678: 499-524.
- [80] ZAFEIRIADOU A, NANO K, THOMAIDIS N S, et al. Evaluation of PCR-Enhancing Approaches to Reduce Inhibition in Wastewater Samples and Enhance Viral Load Measurements [J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 955: 176768.
- [81] ÇEVİK T, ÇEVİK N. Environmental DNA (eDNA): A Review of Ecosystem Biodiversity Detection and Applications [J]. *Biodiversity and Conservation*, 2025, 34(9): 2 999-3 035.
- [82] ZHAN A B. Overlooked eDNA Contamination in Human-Influenced Ecosystems: A Call to Manage Large-Scale False Positives in Biodiversity Assessments [J]. *Water Biology and Security*, 2025, 4(4): 100374.
- [83] XIONG W, MACISAAC H J, ZHAN A B. An Overlooked Source of False Positives in eDNA-Based Biodiversity Assessment and Management [J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 358: 120949.
- [84] ZHAN A B, HULÁK M, SYLVESTER F, et al. High Sensitivity of 454 Pyrosequencing for Detection of Rare Species in Aquatic Communities [J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2013, 4(6): 558-565.
- [85] CHEVRINAIS M, BOURRET A, CÔTÉ G, et al. Improving an Endangered Marine Species Distribution Using Reliable and Localized Environmental DNA Detections Combined with Trawl Captures [J]. *Scientific Reports*, 2025, 15(1): 11926.
- [86] SAHU A, SINGH M, AMIN A, et al. A Systematic Review on Environmental DNA (eDNA) Science: An Eco-Friendly Survey Method for Conservation and Restoration of Fragile Ecosystems [J]. *Ecological Indicators*, 2025, 173: 113441.
- [87] HARVEY C T, QURESHI S A, MACISAAC H J. Detection of a Colonizing, Aquatic, Non-indigenous Species [J]. *Diversity and Distributions*, 2009, 15(3): 429-437.
- [88] SUN C, ZHAO Y, LI H, et al. Unreliable Quantitation of Species Abundance Based on High-Throughput Sequencing Data of Zooplankton Communities [J]. *Aquatic Biology*, 2015, 24(1): 9-15.
- [89] DOI H, INUI R, AKAMATSU Y, et al. Environmental DNA Analysis for Estimating the Abundance and Biomass of Stream Fish [J]. *Freshwater Biology*, 2017, 62(1): 30-39.
- [90] PFENNINGER M, SCHWENK K. Cryptic Animal Species Are Homogeneously Distributed Among Taxa and Biogeographical Regions [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2007, 7(1): 121.
- [91] ZHAN A B, MACISAAC H J, CRISTESCU M E. Invasion Genetics of the *Ciona intestinalis* Species Complex: From Regional Endemism to Global Homogeneity [J]. *Molecular Ecology*, 2010, 19(21): 4 678-4 694.
- [92] 王萌, 苑艺, 于海燕, 等. 中国淡水大型底栖无脊椎动物条形码数据库构建 [J]. *中国环境监测*, 2022, 38(1): 36-44.
- WANG Meng, YUAN Yi, YU Haiyan, et al. Construction of Barcode Library of Freshwater Macroinvertebrate in China [J]. *Environmental Monitoring in China*, 2022, 38(1): 36-44.