



文章栏目：环境监测技术

DOI 10.12030/j.cjee.201910035

中图分类号 X835

文献标识码 A

魏楠, 王夏晖, 张春鹏. 环境 DNA 在监测表层沉积物中的运用及其与环境变量的关系[J]. 环境工程学报, 2020, 14(8): 2262-2269.

WEI Nan, WANG Xiahui, ZHANG Chunpeng. Application of environmental DNA in monitoring surface sediment and its relationship to environment variables[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(8): 2262-2269.

环境 DNA 在监测表层沉积物中的运用及其与环境变量的关系

魏楠^{1,2}, 王夏晖^{1,*}, 张春鹏³

1. 生态环境部环境规划院, 北京 100012

2. 东京大学都市工学系, 东京 113-8656, 日本

3. 吉林大学, 地下水资源与环境教育部重点实验室, 长春 130021

第一作者: 魏楠(1989—), 男, 博士, 助理研究员。研究方向: 环境质量评价与监测。E-mail: weinan@caep.org.cn

*通信作者: 王夏晖(1975—), 男, 博士, 研究员。研究方向: 土壤污染防治规划。E-mail: wangxh@caep.org.cn

摘要 环境 DNA 技术是近几年出现的新兴环境生态监测技术, 为研究环境变量对表层沉积物中环境 DNA 变化的影响, 通过小试实验模拟海水环境并以日本大螯蜚作为目标生物, 引入 4 组不同的生物丰度, 运用环境 DNA 技术研究了表层沉积物中环境 DNA 含量变化与周边环境变量的关系。在小试装置中养殖日本大螯蜚 4 d 后全部取出, 之后启动实验。在实验启动后的第 0、6、12、18、24、72、144、264、384 小时进行取样, 提取出的环境 DNA 片段含量通过实时荧光进行定量 PCR 检测。结果表明, 表层沉积物中的环境 DNA 在源生物移除后 72 h 内降低至较低含量水平, 与水体中的环境 DNA 有较为相似的变化特征。通过广义线性回归分析, 发现环境 DNA 降解速率与水质盐度呈显著负相关 ($P=0.0005$), 与 pH 呈显著正相关 ($P=0.04$), 说明表层沉积物中的环境 DNA 对于周边环境变化具有一定指示意义。上述结果为进一步推动环境 DNA 技术的应用及其对环境变量影响作用的深入研究提供参考。

关键词 环境生物监测; 环境 DNA; 表层沉积物; 环境变量; 底栖生物

环境 DNA^[1](environmental DNA, eDNA) 通常指从环境样品(如水样、泥样等)直接获取的 DNA。环境样品中一般包含一定区域内存在的生物组织、排泄物以及分泌黏液等, 通常被认为是环境 DNA 的主要来源^[2]。从环境样品中提取 DNA 之后, 通过聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增目标 DNA 片段, 进一步检测分析环境 DNA 所携带的信息, 以达到获取某一区域环境生物信息的目的^[3-4]。在过去的十几年, 环境 DNA 技术已经被逐步应用于生态环境监测(如判断某些物种的存在与否)的研究中。RONDON 等^[5]从土壤样品中提取环境 DNA 研究土壤微生物的多样性, 并首次提出了环境 DNA 这一术语。严格来讲, 环境 DNA 技术是于 2008 年开始被研究者应用于监测大型生物的^[6]。从 2010 年开始, 随着实时荧光定量 PCR 技术 (qPCR) 和 DNA 条形码技术的引入, 环境 DNA 技术的应用从定性分析物种存在与否逐步扩展到定量分析物种丰度^[1-2, 7-9]。

收稿日期: 2019-10-09; 录用日期: 2020-03-01

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (41907391); 国家重点研发计划项目 (2018YFC1800200)

近年来,有研究^[7]表明,存在于某一区域的生物可以通过环境样品(如水样、泥样等)并采用环境DNA技术检测到,这一新兴检测技术有可能显著提升生态监测效率。与传统生态监测方法相比,环境DNA技术有如下优点:该技术不需要捕获、捕杀目标生物,因此,是更为环境行为友好的监测手段;该技术通过PCR技术扩增目标DNA片段,对DNA的检出限低于1 pg,与传统方法相比,对低丰度生物有更灵敏的检出限;该技术对于物种的鉴别是基于基因序列而非传统方法的人眼判断,与传统方法相比,对于物种鉴别的准确性更强。由于采样方式与判别标准不同于传统生态监测技术,环境DNA技术有望大幅提升生态监测的可行性与准确性。然而作为新兴生态监测手段,环境DNA技术仍然存在一些缺陷,如样品处理与检测手段有待进一步优化,环境DNA在环境中的迁移变化行为尚不明确等。着力解决这些问题可促进该技术的推广与应用,这些问题也是相关研究领域的重点研究课题。而对环境DNA降解动力学及环境影响因素的研究,可提高环境DNA数据对于周边环境的指示意义,如在不同的地域环境下,可根据周边环境特征,通过获取环境DNA数据,更准确地推断周边环境生物的丰度。

作为新兴技术,目前环境DNA的研究还局限于对环境水样的分析检测。有研究报道,温度^[10-11]、pH^[12]等环境变量是水体环境DNA变化的影响因素。底栖生物是重要的环境质量指示生物,多数底栖生物生活在表层沉积物中,因此,表层沉积物中的环境DNA同样值得关注。目前,对于表层沉积物中的环境DNA关注较少^[9],环境DNA在表层沉积物中变化的主要影响因素仍然未知,需要进一步研究探索。本研究通过小试实验引入并培养底栖生物,以底栖生物为目标生物,通过采集表层沉积物提取环境DNA的方法,探究了模拟自然环境下水体表层沉积物中环境DNA含量变化与周边环境变量的关系,揭示了表层沉积物中的环境DNA对于周边环境变化的指示意义,为环境DNA变化的动力学研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验设置

本研究以日本大螯蜚(*Grandidierella japonica*)作为目标生物,引入不同的生物丰度,共进行了4组小试规模的实验研究,每组实验包括3个平行样本和1个空白样本,结果见表1。实验设置与部分实验数据参考本课题组已有的研究^[9]。本研究所使用的日本大螯蜚来自实验室水族箱养殖。

每个小试装置为1个250 mL烧杯(DURAN,德国),内装有70 g石英砂(HARIO WS-10BR,日本)作为沉积物和180 mL人工海水(配方见US EPA人工合成海水配方^[13])。石英砂和海水在使用之前均已在灭菌锅中进行高温灭菌。实验启动时,4组小试装置中的平行样分别引入10、20、30和50只日本大螯蜚并依次命名为A组、B组、C组和D组,所有小试装置放入25℃恒温箱中运行并通过空气泵持续曝气。在小试装置中养殖日本大螯蜚4 d后全部取出,之后启动实验。在实验启动后的第0、6、12、18、24、72、144、264、384小时进行取样,每次取样从每个实验组烧杯中取出1.5 g表面石英砂和0.3 mL水样。石英砂用于环境DNA提取与qPCR分析,水样用于细菌数分析。在实验启动后的第0、72、144、264、384小时,各检测1次烧杯内水中的pH、DO(溶解氧)、盐度、电导率等指标。4个空白样只含有高温灭菌过后的石英砂和人造海水,在实验开始和结束后进行取样分析检测。

1.2 DNA提取

在实验过程中采集的石英砂沉积物样品采

表 1 小试实验条件设置

Table 1 Setup of lab-scale experiment

实验组	被测生物数量/只	石英砂/g	人造海水/mL	平行样数量/个
A	10	70	180	3
B	20	70	180	3
C	30	70	180	3
D	50	70	180	3
空白样	0	70	180	4

用 CTAB(cetyltrimethylammonium bromide) 方法提取环境 DNA, 具体操作流程参见文献中的方法^[8-9], 最终将每个环境 DNA 样品分别溶于 200 μL TE 缓冲液。采用 DNeasy Blood & Tissue Kit 套件 (QIAGEN, 德国) 提取日本大螯蜚的动物组织 DNA, 采用 Qubit 3.0 Fluorometer 仪器 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 测定从动物组织提取的 DNA 浓度。

1.3 实时荧光定量 PCR(qPCR)

在进行 qPCR 标准物制备时, 本研究共使用 3 对 PCR 引物, 通过美国国立生物技术信息中心 (NCBI) 数据库 Primer-BLAST 工具设计^[8, 14], 引物序列及 PCR 退火温度见表 2。qPCR 标准物为使用引物 413F 和 413R 通过传统 PCR 反应扩增纯化后的产物, 标准物片段长度为 413 bp。纯化后的标准物浓度通过 Qubit 3.0 Fluorometer 仪器测定, 进而通过式 (1) 计算得出标准物中的 DNA 片段拷贝数^[15], 之后分成小份, 于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

$$c = \frac{aN_A}{660b} \quad (1)$$

式中: c 为标准物中 DNA 拷贝数, $\text{copies}\cdot\mu\text{L}^{-1}$; a 为纯化后的标准物浓度, $\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$; b 为 DNA 片段长度, bp; N_A 为阿伏伽德罗常数。

表 2 引物序列及 PCR 退火温度

Table 2 Nucleotide sequence of primers and PCR annealing temperature

引物名称	核苷酸序列 (5'~3')	产物长度/bp	扩增目标区	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$
126F	GTTTATAGGTGCTTGGGCCAG	126	线粒体COI基因	60
126R	AGCATGCGCTGTTACTGAGA			
413F	CTTCGTTTTAGGTGCTTGGGC	413	线粒体COI基因	55
413R	AGGAGGCCCTGCTAAATGA			

在进行 qPCR 检测沉积物样品中环境 DNA 片段含量时, 每个提取出的环境 DNA 样品与平行样均进行 2 次平行 qPCR 检测, 每个 96 孔反应板上包括 2 组拷贝数为 1、10、100、1 000、1 000 的 qPCR 标准物和 3 个空白对照样品。每个 qPCR 反应体系为 20 μL , 包括 10 μL LightCycler[®] 480 SYBR Green I Master (ROCHE, 瑞士), 正反引物 126F 与 126R 各 $0.3\ \mu\text{mol}\ \text{L}^{-1}$, 5 μL 经超纯水 10 倍稀释的环境 DNA 提取液。qPCR 反应在 LightCycler[®] 480 Instrument II 仪器上进行, 首先在 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下变性 3 min; 之后进入扩增程序并循环 50 次: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下解旋 30 s, 在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下退火 30 s, 在 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下延伸 1 min; 循环结束后, 进入熔解曲线程序, 根据熔解曲线筛选出有效的 qPCR 反应并计算原环境 DNA 样品的拷贝数。

1.4 水质检测

水样的盐度、电导率和温度通过 Mother Tool CD-4307 SD 便携式手持检测仪测定, 溶解氧通过 Fuso DO-5509 溶氧仪测定, pH 通过 LAQUA Twin pH 计测定, 水样中活细菌总数通过 BD Accuri[™] C6 流式细胞仪检测。

1.5 数据分析

为探究环境变量对环境 DNA 含量变化的影响, 本研究采用广义线性模型 (general linear model, GLM) 进行回归分析。假设环境 DNA 降解规律服从指数降解模型, 以 qPCR 检测出的表层沉积物环境 DNA 片段含量在 t 时刻的降解速率 (由指数降解模型求得^[9]) 作为因变量, 以环境变量中的生物丰度、总活菌量、pH、盐度、溶解氧作为自变量, 缺失数据由前后 2 个时间点均值代替。由于水质电导率与盐度为相关非独立关系变量, 因此, 回归分析中未将电导率纳入自变量中。本研究所涉及的数据分析均在 R 语言 (版本 3.6.0)^[16] 及其集成开发环境 R Studio^[17] 上进行。

2 结果与讨论

2.1 环境 DNA 变化

本研究在实验中设置的空白样经 qPCR 检测，反应均为阴性，因此，认为本研究中不同实验组之间未受到 DNA 污染。实验期间，由 qPCR 检测出的环境 DNA 片段变化如图 1 所示，服从指数降解特征，对于实验期间环境 DNA 指数降解动力学研究可参见已有报道^[9]，4 组实验中环境 DNA 的指数降解系数分别为 0.044、0.021、0.029 和 0.005 5 h⁻¹。4 组实验组表层沉积物中的环境 DNA 含量在日本大螯蜚移除之后 (0 h) 迅速下降，在实验进行 72 h 后，基本降低至 5 000 copies·g⁻¹ 以下，并保持在这一较低含量水平。除此以外，在生物丰度较低的低实验组 (A, B) 表层沉积物中，环境 DNA 片段含量低于生物丰度较高的实验组 (C, D)。

本研究中 4 组实验组表层沉积物中的环境 DNA 含量在日本大螯蜚移除之后迅速下降，在实验进行 72 h 后，降低至较低水平。已有研究^[18-20]表明，水体中环境 DNA 在目标生物移除后在 1~14 d 之后，降低至无法检出的水平，其变化速度与本研究基本处于同一水平。然而对于深层底泥中的环境 DNA，有相关研究^[21-25]显示可持续 2 000、4 000、6 000、12 600 a 后仍被检出。本研究与以往研究的主要区别为，本研究中环境 DNA 载体介质为表层沉积物而非深层底泥，这说明表层沉积物中的环境 DNA 与水体中的环境 DNA 可能具有相似的变化特征。可能的原因是表层沉积物与水体直接接触，其所携带的环境 DNA 所处的自然环境与水环境相似，因此，二者含有的环境 DNA 具有类似的变化特征。

2.2 水质变化

实验期间，各实验组水样中总活菌量变化如图 2 所示。各实验组水样中的活菌含量在日本大螯蜚移除之后 (0 h) 迅速下降，在实验进行 72 h 后基本降低至较低含量水平。除此以外，在生物丰度较低的低实验组 (A, B, C) 水样中，总活菌含量低于生物丰度较高的实验组 (D)，这可能由于生物丰度较高的实验组内含有较多的有机质，导致活菌含量较高^[9]。

实验期间，各实验组水样中 pH、盐度、溶解氧、电导率变化如图 3 所示。各实验组水样中的 pH 在日本大螯蜚移除之后 (0 h) 缓慢上升，在实验进行 264 h 后 pH 保持在 8 左右；除此以外，在生物丰度较低的低实验组 (A) 水样中，pH 低于生物丰度较高的实验组 (B, C, D)。各实验组水样中的盐度在日本大螯蜚移除之后 (0 h) 缓慢上升，在实验进行 264 h 后，盐度保持在 2.6%~2.7% 左右；除此以外，生物丰度较低的低实验组 (A) 水样中盐度低于生物丰度较高的实验组 (B, C, D)。各实验组水样中的电导率在日本大螯蜚移除之后 (0 h) 缓慢上升，在实验进行 264 h 后，电导率保持在 4.5 S·m⁻¹ 左

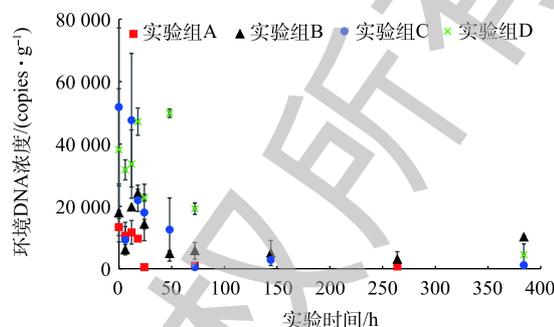


图 1 实验期间各实验组表层沉积物中环境 DNA 片段浓度的变化

Fig. 1 Variation of eDNA content in surface sediment during experimental period

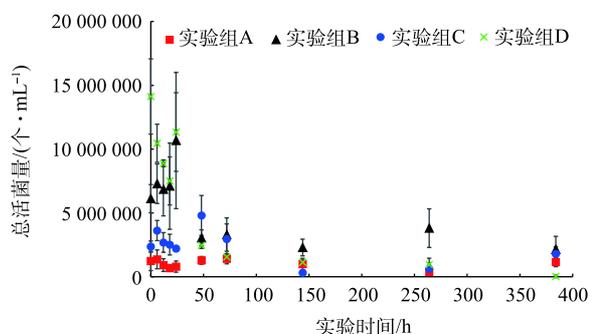


图 2 实验期间各实验组水样中活菌数的变化

Fig. 2 Variation of viable bacteria count in water sample during experimental period

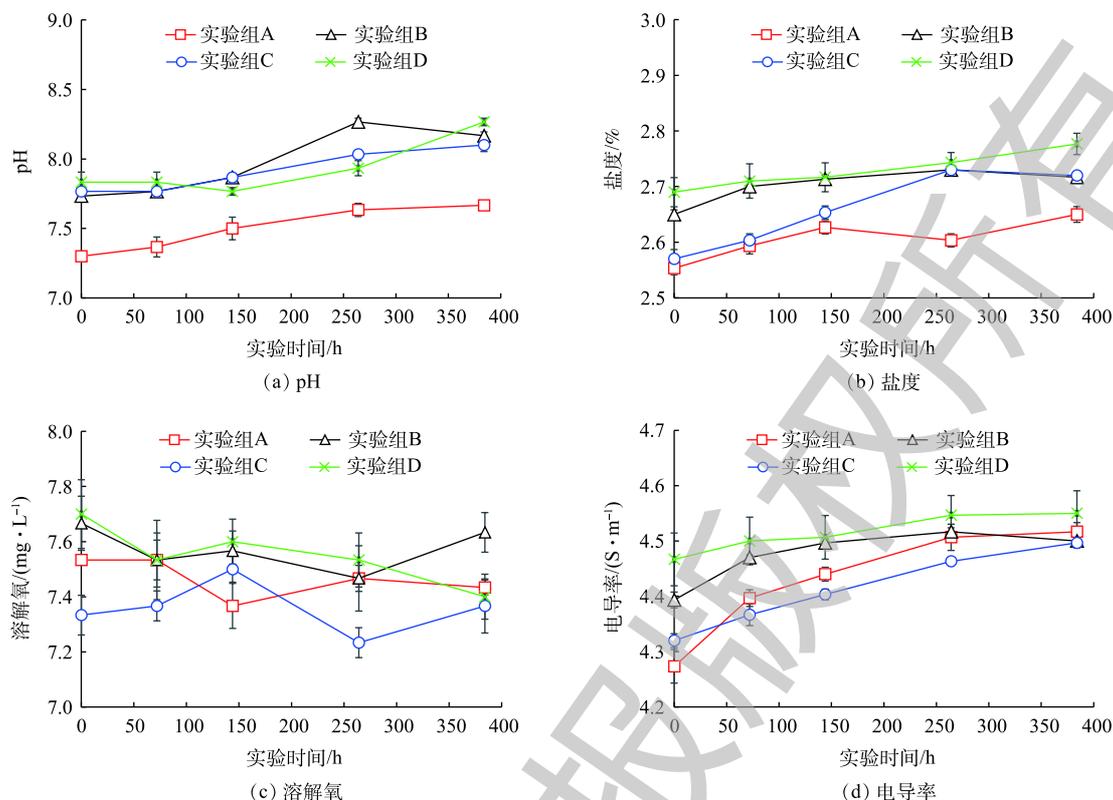


图3 实验期间各实验组水样中pH、盐度、溶解氧、电导率变化

Fig. 3 Variation of pH, salinity, dissolved oxygen, and conductivity in water sample during experimental period

右；除此以外，在生物丰度较低的实验组(A)水样中，电导率低于生物丰度较高的实验组(B, C, D)。各实验组在实验期间一直处于曝气状态，因此，水样中的溶解氧在整个实验期间保持相对稳定，未表现出明显变化趋势。

在4组实验所检测的水质参数中，除溶解氧以外均表现出较明显的变化趋势。总活菌量表现出随时间下降的趋势，可能的原因是生物从反应器中移除后，反应器内部的有机物质随时间逐步被降解，导致微生物数量逐渐降低。pH、盐度、电导率随时间推移呈现初步上升趋势，可能的原因是反应器中的部分水分随着时间的推移蒸发，导致反应器内溶解性物质浓度上升。研究发现表层沉积物中环境DNA含量与实验组生物丰度呈正相关关系。有研究^[18, 26-32]报道，物种丰度与环境DNA含量呈现一定程度的线性或指数正相关关系，可决系数为0.03~0.93。尽管环境DNA与生物丰度之间精确的数量关系目前尚未明确，但目前的研究发现至少证明了环境DNA存在定量估计生物丰度的可能性。

2.3 广义线性回归分析

本研究中表层沉积物中环境DNA片段降解速率与环境变量(包括生物丰度、总活菌量、pH、盐度、溶解氧)回归关系如表3所示。水质参数中盐度与环境DNA片段降解速率呈显著负相关关系(回归系数=-3 673, $P=0.005$)，pH与环境DNA片段降解速率呈显著正相关关系(回归系数=830.2, $P=0.04$)。生物丰度、总活菌量、溶解氧等水质参数与环境DNA片段

表3 环境DNA片段降解速率与环境变量
广义线性回归结果

Table 3 Results of general linear regression between eDNA decay rate and environmental variables

自变量	回归系数	标准差	t值	P值
生物丰度	3.34	4.02	1.830	0.41
总活菌量	0.000 006	0.000 017	0.366	0.72
pH	830.2	387.2	2.144	0.04
盐度	-6 022	1 549	-3.888	0.000 5
溶解氧	300	601	0.500	0.62

降解速率呈正相关关系但不显著, 回归系数分别为 3.34、0.000 006、300。

通过广义线性回归分析发现, 环境 DNA 降解速率与水质盐度呈显著负相关关系, 在盐度较高的环境下降解速率降低; 与 pH 呈显著正相关关系, 在 pH 较高的情况下降解速率上升。并与总活菌量、溶解氧等水质参数呈不显著正相关关系。由于实验模拟水质为常见海水水质, 因此, 环境变量的研究结果对于河口海湾底泥的环境 DNA 监测具有一定的参考价值。

2.4 表层沉积物中环境 DNA 的应用

环境 DNA 技术是近几年新兴的生态环境监测手段, 目前的相关研究主要集中于水样与鱼类监测, 而对于沉积物与底栖生物的研究相对缺乏。底栖生物经常被认为是环境质量指标生物, 但其具有难以辨认捕捉的缺点, 通过提取分析表层沉积物样品中的环境 DNA, 可以克服底栖生物难以辨认捕捉的缺点, 从而提升监测效率。本研究发现表层沉积物中的环境 DNA 与水体中的环境 DNA 具有相似的变化特征, 因此, 同样可以用来表征某一区域较短时间内的环境质量变化。WEI 等^[33] 对日本东京湾表层沉积物中的环境 DNA 进行了为期 1 年的持续取样研究, 也发现表层底泥环境 DNA 的变化对于 1 个月以内的自然环境有较强的指示意义。

目前, 有关环境 DNA 的研究主要来自国外报道, 来自国内的研究报道还较少。我国幅员辽阔, 生态环境多样, 随着社会经济的发展, 我国环境监测的指标要求将逐步从理化性指标扩展到生物性指标, 在这一趋势下, 环境 DNA 技术有望对提高环境监测效率和效果起到较大的推进提升作用。

3 结论

1) 通过小试实验模拟海水底泥环境发现, 水体表层沉积物中的环境 DNA 在源生物体移除后 72 h 内, 能降低至较低含量水平, 其变化特征与水体中的环境 DNA 较为相似。

2) 通过广义线性回归分析发现, 环境 DNA 降解速率与水质盐度存在显著负相关关系, 与 pH 存在显著正相关关系。这表明, 表层沉积物中的环境 DNA 对于周边环境变化具有一定的指示意义。

致谢: 感谢日本东京大学工学院都市工学系中岛典之教授、飞野智宏讲师提供的技术支持与指导!

参 考 文 献

- [1] TABERLET P, COISSAC E, HAJIBABAEI M, et al. Environmental DNA[J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(8): 1789-1793.
- [2] THOMSEN P F, WILLERSLEV E. Environmental DNA: An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity[J]. *Biological Conservation*, 2015, 18: 34-18.
- [3] 于水强, 王文娟. 环境DNA技术在地下生态学中的应用[J]. *生态学报*, 2015, 35(15): 4968-4976.
- [4] 马鸿娟, 马利民, 任文伟, 等. 环境DNA及其在水生生态系统保护中的应用[J]. *生态学杂志*, 2016, 35(2): 516-523.
- [5] RONDON M R, AUGUST P R, BETTERMANN A D, et al. Cloning the soil metagenome: A strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(6): 2541-2547.
- [6] 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.
- [7] KELLY R P, PORT J A, YAMAHARA K M, et al. Environmental monitoring: Harnessing DNA to improve environmental management[J]. *Science*, 2014, 344(6191): 1455-1456.
- [8] WEI N, NAKAJIMA F, TOBINO T. Effects of treated sample weight and DNA marker length on sediment eDNA based detection of a benthic invertebrate[J]. *Ecological Indicators*, 2018, 93: 267-273.
- [9] WEI N, NAKAJIMA F, TOBINO T. A microcosm study of surface sediment environmental DNA: Decay observation,

- abundance estimation, and fragment length comparison[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(21): 12428-12435.
- [10] EICHMILLER J J, BEST S E, SORENSEN P W. Effects of temperature and trophic state on degradation of environmental DNA in lake water[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(4): 1859-1867.
- [11] TSUJI S, USHIO M, SAKURAI S, et al. Water temperature-dependent degradation of environmental DNA and its relation to bacterial abundance[J]. *Plos One*, 2017, 12(4): e0176608.
- [12] STRICKLER K M, FREMIER 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.
- [13] US EPA. Methods for assessing the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods[R]. United States, 1994.
- [14] YE J, COULOURIS G, ZARETSKAYA I, et al. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction[J]. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13(1): 134.
- [15] ZHU F, MASSANA R, NOT F, et al. Mapping of picoeucaryotes in marine ecosystems with quantitative PCR of the 18S rRNA gene[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 52(1): 79-92.
- [16] TEAM R. R: A language and environment for statistical computing[EB/OL]. [2019-10-01]. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. <https://www.r-project.org>.
- [17] TEAM R. RStudio: integrated development for R[EB/OL]. [2019-10-01]. RStudio, Inc., Boston, MA, 2015. <https://rstudio.com>.
- [18] THOMSEN P F, KIELGAST J, IVERSEN L L, et al. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples[J]. *Plos One*, 2012, 7(8): e41732.
- [19] 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): 1819-1827.
- [20] PIAGGIO A J, ENGEMAN R M, HOPKEN M W, et al. Detecting an elusive invasive species: A diagnostic PCR to detect Burmese python in Florida waters and an assessment of persistence of environmental DNA[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2014, 14(2): 374-380.
- [21] WILLERSLEV E, HANSEN A J, CHRISTENSEN B, et al. Diversity of Holocene life forms in fossil glacier ice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(14): 8017-8021.
- [22] SEERSHOLM F V, PEDERSEN M W, SØE M J, et al. DNA evidence of bowhead whale exploitation by Greenlandic Paleo-Inuit 4000 years ago[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13389.
- [23] GIGUET-COVEX C, PANSU J, ARNAUD F, et al. Long livestock farming history and human landscape shaping revealed by lake sediment DNA[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 3211.
- [24] PEDERSEN M W, OVERBALLE-PETERSEN S, ERMINI L, et al. Ancient and modern environmental DNA[J]. *Biological Sciences*, 2015, 370(1660): 20130383.
- [25] PEDERSEN M W, RUTER A, SCHWEGER C, et al. Postglacial viability and colonization in North America's ice-free corridor[J]. *Nature*, 2016, 537(7618): 45.
- [26] TAKAHARA T, MINAMOTO T, YAMANAKA H, et al. Estimation of fish biomass using environmental DNA[J]. *Plos One*, 2012, 7(4): e35868.
- [27] PILLIOD D S, GOLDBERG C S, ARKLE R S, et al. Estimating occupancy and abundance of stream amphibians using environmental DNA from filtered water samples[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2013, 70(8): 1123-1130.

- [28] 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.
- [29] KLYMUS K E, RICHTER C A, CHAPMAN D C, et al. Quantification of eDNA shedding rates from invasive bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis* and silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*[J]. *Biological Conservation*, 2015, 183: 77-84.
- [30] LACOURSIÈRE-ROUSSEL A, ROSABAL M, BERNATCHEZ L. Estimating fish abundance and biomass from eDNA concentrations: Variability among capture methods and environmental conditions[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2016, 16(6): 1401-1414.
- [31] 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.
- [32] JO T, MURAKAMI H, MASUDA R, et al. Rapid degradation of longer DNA fragments enables the improved estimation of distribution and biomass using environmental DNA[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2017, 17(6): 25-33.
- [33] WEI N, NAKAJIMA F, TOBINO T. Variation of environmental DNA in sediment at different temporal scales in nearshore area of Tokyo Bay[J]. *Journal of Water and Environment Technology*, 2019, 17(3): 153-162.

(本文编辑：郑晓梅)

Application of environmental DNA in monitoring surface sediment and its relationship to environment variables

WEI Nan^{1,2}, WANG Xiahui^{1,*}, ZHANG Chunpeng³

1. Chinese Academy of Environmental Planning, Ministry of Ecology and Environment, Beijing 100012, China

2. Department of Urban Engineering, The University of Tokyo, Tokyo 113-8656, Japan

3. Key Laboratory of Groundwater Resources and Environment, Ministry of Education, Jilin University, Changchun 130021, China

*Corresponding author, E-mail: wangxh@caep.org.cn

Abstract Environmental DNA (eDNA) is an emerging tool for environmental and ecological monitoring in recent years. To clarify the effects of environment variables on the variation of eDNA in surface sediment, through the lab-scale experiments which could simulate marine environment and choose benthic organism *Grandidierella japonica* as target species with 4 groups of different bioabundance, the relationship between the variation of eDNA in surface sediment and ambient environment variables was investigated by using environmental DNA technology. After *Grandidierella japonica* were cultured for 4 days, and they were taken out from the experimental devices, then the following experiments start-up. The surface sediment samples and water samples were collected at 0, 6, 12, 18, 24, 72, 144, 264, 384 h from the start-up of the experiments, the eDNA was extracted from these surface sediment samples and target eDNA copy numbers were determined by quantitative PCR with species-specific primers. The results showed that after removal of *Grandidierella japonica*, environmental DNA in surface sediment decreased to low level within 72 hours, which was similar to the decreasing characteristics of environmental DNA in water. The general linear modelling regression showed that the eDNA decay rate was significantly and negatively ($P=0.0005$) related to the water salinity and significantly and positively ($P=0.04$) related to the pH value, indicating that environment DNA in surface sediment could reflect the changes of surrounding environment at a certain degree. This study provide a reference for promoting the application of eDNA and profoundly studying its effects on environment variables.

Keywords environmental biomonitoring; environmental DNA; surface sediment; environment variables; benthic organism