

崛起的生態監測普查工具—環境DNA

文·圖—姚秋如

人類世的警鐘

從上個世紀以來，數以萬計的極度瀕臨滅絕的脊椎動物在地球上消失了，許多科學提出警訊，這個正在進行的、地球上第六次大規模物種滅絕，跟人類的極度擴張與利用地球資源有關。物種是生態系統中的關鍵鏈結，當一個物種殞落時，與他們相互作用的物種也可能會消失；當消失的物種集中在特定地區，這個區域的生物多樣性很可能急速下降，而雪球般的效應將造成無法逆轉的生態系崩潰。伴隨而來的日益劣化的環境變遷，也是對人類文明延續的最嚴重威脅。比如，因人類進行野生物貿易及頻繁的國間人際互動往來，導致2019年冠狀病毒疾病(Covid-19)疫情嚴峻，這正是考驗人類智慧的明顯例子。也因此，對於生物多樣性的監測與保育管理，成為人類世最重要課題之一。

生態監測與物種普查

監測可定義為「持續蒐集資料及分析，以評估所關注的環境主題的變化過程」。而物種與多樣性變化是生態監測最基本的主题。物種分布的訊息對生態系的保育管理至關重要，因此有效的偵測動物族群的存在對實際管理非常有幫助。傳統普查動物的分布多以目視或是陷阱捕捉回放調查為主，因此對於稀有的物種常需要大量的人力及長時間的投入才可獲取分布資料。以海洋生態系中的頂端掠食者鯨豚為例，大多是以設計穿越線從事目視調查，才可以獲得鯨豚物種多樣性、評估各物種之族群數量和變化。但是上述的調查方式需要涵蓋大範圍的調查區域，尤其是稀有的物種目擊頻率相當低，需要長期進行，所投入人力和經費相當高。近十多年來由於DNA定序技術的快速進展，加上動物粒線體DNA資料庫的累積，讓環境DNA定序與鑑定這個研究工具被使用在動物普查監測上，能運用較低的調查時間和人力、但提供相對敏銳的覺察度，其研究結果可反映當地動物相，並能有效地協助經營管理。

什麼是環境DNA?

環境DNA，也簡稱為eDNA (environmental DNA)，是指由環境所採集樣本內含的生物殘留物的DNA混合體。環境樣本包含土壤、底質沉積物、水、糞便、空氣或水的過濾物，甚至常見的昆蟲採集法馬氏網中的昆蟲體組合(bulk)、動物胃袋中的食糜，都是環境樣本。在這些環境樣本中，包含微生物、植物體、動物的脫落皮膚、口水、糞便或尿液所帶出的黏膜等。上述生物及脫落的組織含有細胞，不管DNA是否仍包覆在細胞內，或是細胞被分解使DNA溶於或吸附在環境樣本中，這些細胞內及細胞外的DNA總和，都是eDNA。由於DNA的鹼基序列(base sequence)含有辨識物種的訊息，藉由讀取序列訊息及分析，能應用在各種生態監測工作。例如由eDNA可成功鑑定特定侵入歐洲的外來種，如淡水塘中的牛蛙即是著名的例子。

環境DNA 逐漸成為生態學家與環境管理者的工具箱

eDNA的分析技術在全球各地逐年增加應用

在稀有或是入侵物種的調查，可幫助人們了解物種的分布情況，甚至可評估他們的生物量。尤其是次世代定序(Next Generation Sequencing, 又稱NGS)技術日漸成熟和普及，對動物相的物種組成分析幫助日益增加。次世代定序技術有別於傳統的桑格定序法(Sanger Sequencing)，兩種方法的差別在於桑格法藉由雙脫氧鏈終止定序，針對相同長度的所有序列同時定序，若定序樣本中有兩種以上的序列，會因為序列訊號互相干擾，造成機器判讀混亂，所以這個技術僅可針對單一DNA來源定序，而無法同時檢測具有複雜生物組成的樣本(如eDNA)。而次世代定序則是將原始序列打斷，或是利用聚合酶連鎖反應(Polymerase chain reaction, 簡稱PCR)將模板DNA增幅為長度差異不大的DNA片段後，再針對每一條序列同時定序，並不會有序列間訊號彼此干擾的問題，因而可達到快速、大量且全面的DNA定序。經由萃取環境樣本中的eDNA，可以直接打斷eDNA長度差不多的片段，直接進行NGS定序及分析，即是鑑定樣本中的所有生物物種與研究的基因體學。若是只想了解特定的生物類群(例如脊椎動物中的哺乳類、鳥類、魚類或兩爬類這些較容易受到人類活動衝擊的動物)，也可以利用特別設計的核苷酸引子，利用PCR反應將標的物種的特定DNA標誌片段增幅(如脊椎動物常用粒線體DNA COI基因當做物種鑑定的DNA標誌)，再將這些增幅後的DNA標誌片段進行NGS定序和物種鑑識，而這種以eDNA結合生命條碼(barcode of life)方法的物種鑑識調查方法被稱為關聯條碼研究(metabarcoding)。關聯條碼法早期多應用在環境微生物多樣性研究，而近十年來已經逐漸被廣泛應用到脊椎動物生態普查、外來種入侵、花粉鑑定、昆蟲調查等上。

雪泥「熊」爪，有「基」可循

瀕危物種北極熊是全球暖化下，生存受到極大影響的海洋哺乳動物，因此牠們的族群存續備受關注。科學家致力於改良追蹤北極熊的方式，希望充分獲得牠們的活動資料以做為保育行動依據。2014年法國科學家和世界自然基金會發布eDNA研究報告，他們從雪地中北極熊足跡的雪樣本中萃取出北極熊的DNA，也偵測到海豹與海鷗的遺傳訊息，顯示這些生物共棲在當地。加拿大學者則在2017年發現，北極熊腳掌的皮膚落在足跡的表層，他們刮取表層雪樣後，不僅從eDNA分析中確認了物種，更能從其中的基因訊息分析出北極熊的性別與個體辨識，非常有助於掌握個體活動領域範圍及時空分布。

eDNA的展望

以eDNA檢視環境物種多樣性最早在2003年應用在考古遺址的研究上，隨著生物DNA序列參考資料庫的累積、定序技術和生物資訊學的進步，現今已經在全球各地逐漸由科學家和生態保育工作者應用在科研和管理實務上。雖然仍有許多生物的DNA序列尚待加入參考資料庫，而在不同的環境也需要不同的採集技術和流程，但透



圖1 野生動物到水塘飲水，藉由唾液將遺傳物質傳遞到水體中成為eDNA的來源。

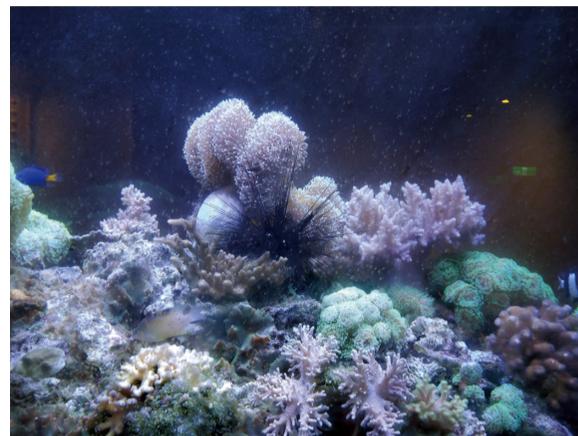


圖2 海中的魚類或無脊椎動物，脫落的皮膚或排泄物都可能構成水體中的eDNA。



圖3 熊爪下的雪泥，成為辨識北極熊性別和個體的好材料。



圖4 eDNA萃取及定序實驗的標準化，將有助於物種鑑識及生物多樣性評估的精準度。

過在實驗室的方法標準化，則可以更精準的鑑識評估，以監測環境中的生物組成和相對數量。此外，科學家也研發將奈米技術及雷射光透視光譜法用於eDNA分析，更有助於快速的環境現場檢測，使得eDNA監控可以更及時地反映瞬息萬變的生態系。