环境 DNA 技术在农林业有害生物监测中的应用*

龙淑婷[1, 2**] 张翼飞[1, 2***] 刘雨芳[2] 潘本山[1, 2] 邹琪辉[1, 2]

（1. 湖南科技大学三亚研究院，三亚 572024；2. 湖南科技大学生命科学与健康学院，湘潭 411201）

摘 要 农林业害虫的早期监测与精准防控是保障国家粮食安全与生态系统健康的重要前提。传统监测手段在低密度种群预警和隐蔽性害虫检测中普遍存在灵敏度不足、操作成本高及物种鉴定效率受限等问题。环境 DNA（Environmental DNA，eDNA）技术通过直接从水体、土壤、空气、植物表面等环境介质中提取遗传物质，实现对目标生物的非接触式检测。作为一种新兴的分子生物学工具，eDNA 技术在入侵害虫早期预警、低密度隐蔽种群检测及迁飞性害虫动态追踪等场景中展现出显著优势。本文梳理了国内外陆生农林害虫 eDNA 技术的研究进展，深入分析了陆生 eDNA 的释放与降解机制、采样策略、物种特异性引物探针体系，以及定量 PCR（qPCR）、数字 PCR（ddPCR）等关键检测技术，并结合占域模型等概率分析方法，重点综述了其在农田、林业、仓储及入侵害虫监测中的应用现状。分析表明，虽然 eDNA 技术能够显著提高目标种群的检出效率，但陆生环境中 DNA 的快速降解、空间异质性显著、标准化采样体系缺失、参考条形码数据库不完善以及定量解释能力不足，仍是制约其大规模推广的核心瓶颈。未来研究应聚焦于构建覆盖多介质的标准化采样与质控体系，完善农林害虫 DNA 条形码数据库，推动空气 eDNA 连续监测、便携式现场快检及人工智能辅助风险预警等技术的集成，逐步建立和完善陆生节肢动物 eDNA 监测理论框架，为重大农林害虫精准监测与国家农业生物安全体系建设提供核心技术支撑。

关键词 陆生害虫；环境 DNA（eDNA）；农林业害虫监测；数字 PCR；早期预警

Application of environmental DNA technology for monitoring agricultural and forestry pests

LONG Shu-Ting[1, 2**] ZHANG Yi-Fei[1, 2***] LIU Yu-Fang[2] PAN Ben-Shan[1, 2] ZOU Qi-Hui[1, 2]

(1. Sanya Institute of Hunan University of Science and Technology, Sanya 572024, China;
2. School of Life Science and Health, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract Early detection and precise monitoring of agricultural and forestry insect pests are fundamental for food security and ecosystem health. Conventional surveillance methods are often constrained by limited sensitivity for low-density populations, high operational costs, and heavy reliance on experts in morphological species identification. Environmental DNA (eDNA) technology enables the non-invasive detection of target organisms by extracting trace genetic material from various environmental substrates, including water, soil, air and plant surfaces. As an emerging molecular tool, eDNA has demonstrated considerable potential for the early detection of invasive pests, surveillance of cryptic and low-abundance populations, and tracking of migratory insect dynamics. This review synthesizes recent global advances in terrestrial eDNA research for agricultural and forestry pests. We systematically analyze eDNA release and degradation mechanisms, sampling strategies, species-specific assay development, and core detection technologies, including quantitative PCR (qPCR) and droplet digital PCR (ddPCR). Furthermore, statistical approaches (such as occupancy models) are summarized alongside representative applications in the surveillance of agricultural, forest, stored-product and invasive, insect pests. Although eDNA-based approaches substantially improve the sensitivity of detection, their widespread implementation in terrestrial ecosystems is hindered by rapid DNA degradation, pronounced spatial heterogeneity, lack of standardized protocols, incomplete reference databases, and challenges in quantitative interpretation. Future

*资助项目 Supported project：国家自然科学基金面上项目（32270528）

**第一作者 First author，E-mail：2804534143@qq.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：zhangyf@hnust.edu.cn

收稿日期 Received：2026-05-13；接受日期 Accepted：2026-07-21

research should prioritize establishing standardized multi-substrate sampling frameworks, expanding DNA barcode reference databases for major economic pests, developing airborne eDNA continuous monitoring and portable field-deployable detection platforms, and integrating artificial intelligence-assisted risk assessment. Advancing these frontiers will contribute to a robust theoretical framework for terrestrial arthropod eDNA monitoring, facilitating its application in precision pest management and agricultural biosecurity.

Key words terrestrial pests; environmental DNA (eDNA); agricultural and forestry pest monitoring; digital PCR; early warning

农林业害虫的分布及种群动态与人类活动息息相关。害虫在迁入地建立种群后，不仅直接威胁作物安全，还会导致本土生物多样性衰退、破坏当地生态系统结构与功能（Pyšek *et al.*，2020；Tahmid *et al.*，2023；陈万斌等，2026）。据统计，仅在中国，由害虫造成的年均直接经济损失就高达 4 000 多亿元（Li *et al.*，2025）。然而，野外调查、形态学鉴定、单基因标记、信息素捕获和黑光灯诱捕等传统监测手段，普遍存在劳动力投入大、分类鉴定主观性强、时效性滞后及综合成本较高等局限（Khrimian *et al.*，2008；Lodge *et al.*，2016；Chen *et al.*，2017；Ahmed *et al.*，2022；杨力凤等，2023），难以满足现代智慧农业对“早期预警+高通量监测”的双重需求。例如，Carleton 等（2013）对传统抽样策略的模拟研究表明，即使采用优化后的条带样线法，仍需对 25-40 棵植株进行取样方可实现基本的密度估算，且数据采集高度依赖人工计数与专家经验。因此，亟需引入更为高效、灵敏的现代化分子生物学工具，以提升重大虫害的防控效能。

在此背景下，环境 DNA（Environmental DNA，eDNA）作为一种新兴的分子生物学工具，凭借其高灵敏度、非侵入性及高通量等优势，正逐步融入各类有害生物监测体系（Smart *et al.*，2015；Wang *et al.*，2022）。自 Ogram 等（1987）从海洋沉积物中分离出微生物 DNA 并首次确立 eDNA 的概念以来，该技术在水生入侵生物（Jerde *et al.*, 2011）和海洋动物（Thomsen *et al.*，2012）的定性与定量分析中得以逐步建立并日趋成熟。作为一种非侵入性工具，eDNA 技术无需直接接触目标生物体，即可从土壤、植被、空气、水及沉积物等环境基质中提取遗传信息，具有高灵敏度、低人力成本及精确定量等显著优势（Taberlet *et al.*，2012；Bohmann *et al*，2014；Johnson *et al.*，2021）。

早期害虫的精准监测与集中清除，是实现有害生物高效防控的关键环节（Jerde *et al.*, 2011）。eDNA 技术作为一种非侵入性的新型监测工具，已在该领域崭露头角（Barnes and Turner, 2016）。近年来，随着树皮擦拭富集（Valentin *et al.*，2020）、气体抽滤收集（Tournayre *et al.*，2025）及无人机航测（Kirchgeorg *et al.*，2024）等创新采样手段的问世，eDNA 技术开始向陆生生态系统加速渗透。在陆生环境中，节肢动物释放的遗传物质主要附着于土壤颗粒、植物表面、有机残体及空气颗粒等载体上，其释放、迁移、吸附及降解过程受到紫外辐射、温湿度、降雨、风力、土壤矿物组成及微生物活性等多种环境因子的共同调控（Torsvik and Øvreås，2002；Andersen *et al.*, 2012；Valentin *et al.*, 2018；Williams *et al.*，2017）。尽管陆生 eDNA 研究进展迅速，但由于其环境基质相较于水体更为复杂多变，该技术在农林害虫监测中的规模化应用仍面临显著的方法学瓶颈。陆生环境介质类型异质性极高，不同介质中 eDNA 的富集方式、提取方法及 PCR 扩增效率差异巨大，导致目前缺乏适用于多元应用场景的标准化采样流程和质量控制体系（Goldberg *et al.*，2016；Kestel *et al.*，2022）。同时，现有的 eDNA 综述文献仍多聚焦于传统领域：如李筱芹等（2024）和尹晓强等（2026）偏重于水体 eDNA 生物多样性监测及渔业资源评估，Minamoto（2022）从宏观角度总结了水生大型生物的 eDNA 技术发展历程，而 Kestel 等（2022）虽然讨论了 eDNA 技术在农业系统的土壤、植物、空气等多介质中微生物与害虫的监测潜力，但未能针对陆生节肢动物的特殊行为习性

建立系统性的理论体系。

基于此，本文系统总结了陆生环境中 eDNA 的释放与降解机制、采样策略、检测技术及典型应用案例。在此基础上，进一步从 DNA 来源、分子检测等维度，构建了陆生节肢动物 eDNA 监测的理论框架，旨在阐明不同环境介质中 DNA 信号与害虫行为、种群动态之间的响应关系，以期为重大农林害虫精准监测、智能预警及国家农业生物安全评价提供坚实的理论依据与技术支撑。

1　不同生境来源的 eDNA 特点概述

1.1　eDNA 定义与基本原理

环境 DNA（eDNA）是指直接从土壤、大气、水体等环境样本中提取的、无需分离目标个体的遗传物质总称。它涵盖了样本中所有宏生物与微生物的游离 DNA 和存在于组织碎片、脱落细胞、分泌物或排泄物等处的遗传物质（Smart *et al.*，2015；Wang *et al.*，2022）。通过分析生物释放至周围介质中的 DNA，研究者能够以非侵入性的方式快速评估目标区域的生物多样性（Rees *et al.*，2014；Tsuji *et al.*，2019；Lynggaard *et al.*，2024）。结合特异性引物探针或高通量测序，eDNA 技术不仅能实现针对单一靶标害虫的精准定性与定量检测，更能扩展至对群落水平的宏条形码（Metabarcoding）的评估（Deiner *et al.*，2015；Alberdi *et al.*，2018；Chen *et al.*，2022；Milián-García *et al.*，2023），从而显著降低传统形态学调查因抽样代表性不足而导致的假阴性风险（Bessey *et al.*，2022；von Ammon *et al.*，2025）。

1.2　陆生与水生环境 eDNA 的行为机制差异

与技术相对成熟的水生生态系统相比，陆生环境中 eDNA 的行为机制具有其独特的鲜明特征。水生环境中的 eDNA 在地表径流、降雨冲刷及自然扩散等物理过程作用下，表现出显著的被动均质化特征，这种被动混匀和长距离运输能力赋予了水生 eDNA 极高的空间代表性，使其成为汇聚区域遗传信息的天然储库（Deiner *et al.*，2016；Mena *et al.*，2021；Macher *et al.*，2023；van der Heyde *et al.*，2022；Gutiérrez-López *et al.*，2023）。相反，陆生生境缺乏统一的流动连续介质，生物释放的 DNA 分子极易被土壤矿物颗粒或植物胶质表面快速吸附，表现出强烈的空间异质性与局域性分布特征（Thomsen and Willerslev，2015）。这种强异质性虽然限制了 eDNA 的扩散尺度，但也赋予了陆生 eDNA 极高的空间定位精度。

1.3　土壤与宿主植物表面的 eDNA 特点

土壤和宿主植物表面是陆生害虫遗传信息的主要沉积介质。土壤作为陆生 eDNA 的重要储库，能够整合一定时间尺度内积淀的物种信息，特别适用于隐蔽性、土栖性区域害虫的分布调查（Zhao and Andermann，2026）以及潜伏期物种的早期识别（Ritter *et al.*，2018；Kirse *et al.*，2021；Lunghi *et al.*，2022；Çevik and Çevik，2025）。然而，土壤基质中高浓度的腐殖酸等抑制剂会严重干扰后续的 PCR 扩增，且其强烈的空间异质性使得采样位点的微小偏差就可能导致截然不同的检出结果（Mathieu *et al.*，2020）。针对植物表面开展的微生境定向采样则能有效弥补这一不足（Goldberg *et al.*，2016）。目前，利用无人机采集树冠 eDNA （Kirchgeorg *et al.*，2024）、植物叶面拭子法（Lynggaard *et al.*，2019）以及针对昆虫危害痕迹（如取食孔、排泄物、蜕皮）的定向富集（Lunghi *et al.*，2022；Ryan *et al.*，2022）已展现出独特的监测优势。这种针对靶标生物活跃区域的精准采样，在低密度种群的检出率上甚至优于传统陷阱捕捉法（Johnson *et al.*，2023），为隐蔽性及入侵性害虫的早期预警提供了全新的技术路径（Andersen *et al.*，2012；Leandro *et al.*，2024）。

1.4　空气 eDNA 特点

尽管空气中的 eDNA 丰度极低（理论上仅为水体的约 1/25 000）（Ip *et al.*，2026），但昆虫在取食、蜕皮、求偶及飞行等生命活动中剥落的表皮细胞、分泌物或气溶胶微粒，仍足以被高灵敏度的分子手段所捕捉（Roger *et al.*，2022；

Bohmann and Lynggaard，2023；Zhang *et al.*，2024）。当前，空气 eDNA 的富集技术主要分为两类：被动富集（利用重力沉积或自然扩散捕获）与主动过滤采样（通过机械动力在特定时空内富集 DNA）（Mainelis，2020；Garrett *et al.*，2023；Johnson and Barnes，2024；Qian *et al.*，2026）。早期的大气生物监测主要聚焦于过敏性花粉（Kraaijeveld *et al.*，2015），这为后续动物监测奠定了理论与方法学基础（Utzeri *et al.*，2018；Clare *et al.*，2021）。目前，空气 eDNA 的监测展现出两个核心应用场景：一是针对迁飞性害虫暴发前夕的空中群体截获与风险预警；二是针对田间低密度害虫侵染早期的大面积扫描式精准检测（Ficetola *et al.*，2015；Johnson *et al.*，2019；Giolai *et al.*，2024；Lynggaard *et al.*，2024；Mikko *et al.*，2025）。随着第三代便携式测序技术（如纳米孔测序）的引入，空气 eDNA 未来有望彻底实现从野外自动化富集到现场即时测序分析的一体化（Krehenwinkel *et al.*，2019；Nousias *et al.*，2025）（图 1：A-E）。

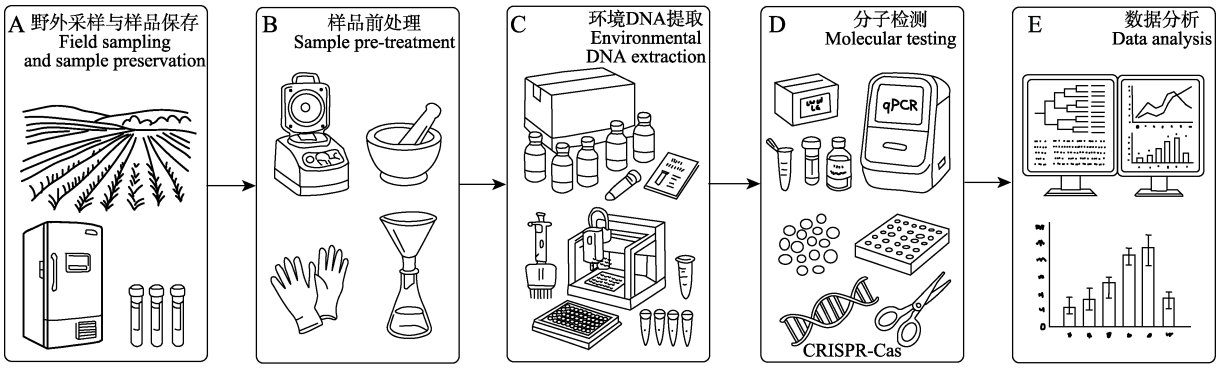


图 1　环境 DNA 检测工作流程示意图

Fig. 1　Schematic illustration of the workflow for environmental DNA (eDNA) detection

A. 野外采样与样品保存。在野外采集环境样本（水、土壤、空气等）并保存用以后续检测；B. 样品前处理。对环境样本进行预处理、低温保存与运输；C. eDNA 提取。在现场或实验室进行 eDNA 提取与扩增；D. 分子检测。通过 PCR 或 qPCR 等技术对目标物种 DNA 进行特异性扩增；E. 数据分析。对检测结果进行记录、分析与可视化展示。

A. Field sampling and sample preservation. Collection of environmental samples (water, soil, air, etc.) in the field and subsequent preservation for downstream detection; B. Sample pretreatment. Preprocessing, low-temperature preservation, and transportation of environmental samples; C. Environmental DNA extraction. Extraction and amplification of eDNA conducted either on-site or in the laboratory; D. Molecular detection. Specific amplification of target species DNA using techniques such as PCR or qPCR; E. Data analysis. Recording, analysis, and visualization of detection results.

2　eDNA 多维度采样与样本保存策略

2.1　采样技术的发展现状与局限性

建立标准化的采样流程与高效的样本保存技术，是确保农林害虫 eDNA 检测准确性与灵敏度的核心前提。针对陆生生态系统中害虫具有高度隐蔽性的特点，目前已发展出覆盖“土壤-宿主植物-空气”的多介质采样体系（图 2）。

在植物表面及微生境采样方面，通过采集具有代表性的树皮表层、植物叶面或针叶样本，能够有效捕获害虫遗留的脱落细胞和排泄物等痕量遗传物质（Goldberg *et al.*，2016；Young and Hebert，2022；Allen *et al.*，2023；Kyle *et al.*，2024）。

空气 eDNA 捕获是近年来陆生 eDNA 最具突破性的方向之一。昆虫在飞行、取食、蜕皮及交配过程中，会持续向空气释放鳞粉、体表碎屑及气溶胶颗粒。利用机械动力泵进行主动过滤采样（富集流速与体积可调）或利用重力沉积进行被动富集，可截获不同高度的大气生物气溶胶，为迁飞性害虫的长距离扩散监测提供了全新方案（Métris and Métris，2023；Kirchgeorg *et al.*，2024；Kyle *et al.*，2024；Sullivan *et al.*，2025；

Tournayre *et al.*，2025）。对于采集到的样本，通常需立即置于无水乙醇或 CTAB 保存液中进行低温保存，以遏制核酸酶和微生物对 eDNA 的降解（Hinlo *et al.*, 2017；Minamoto *et al.*, 2021）。

为确保虫害检测结果的准确性与灵敏度，建立标准化的采样流程以及高效的样本保存技术至关重要（Liang and Keeley，2013；Minamoto *et al.*，2015；Hinlo *et al.*，2017；Morinière *et al.*，2017）。然而，当前陆生农林害虫 eDNA 监测在采样设计上仍面临稳健性不足的严峻挑战。由于缺乏统一的行业标准，高达 95%的相关研究在采样设计上存在较强的主观性，或存在关键实验参数（如采样体积、富集流速等）报告缺失的问题（Dickie *et al.*，2018）。此外，目前大部分林业 eDNA 研究仍局限于森林水体中的水生生物监测，针对真正陆生林业害虫的系统性采样设计

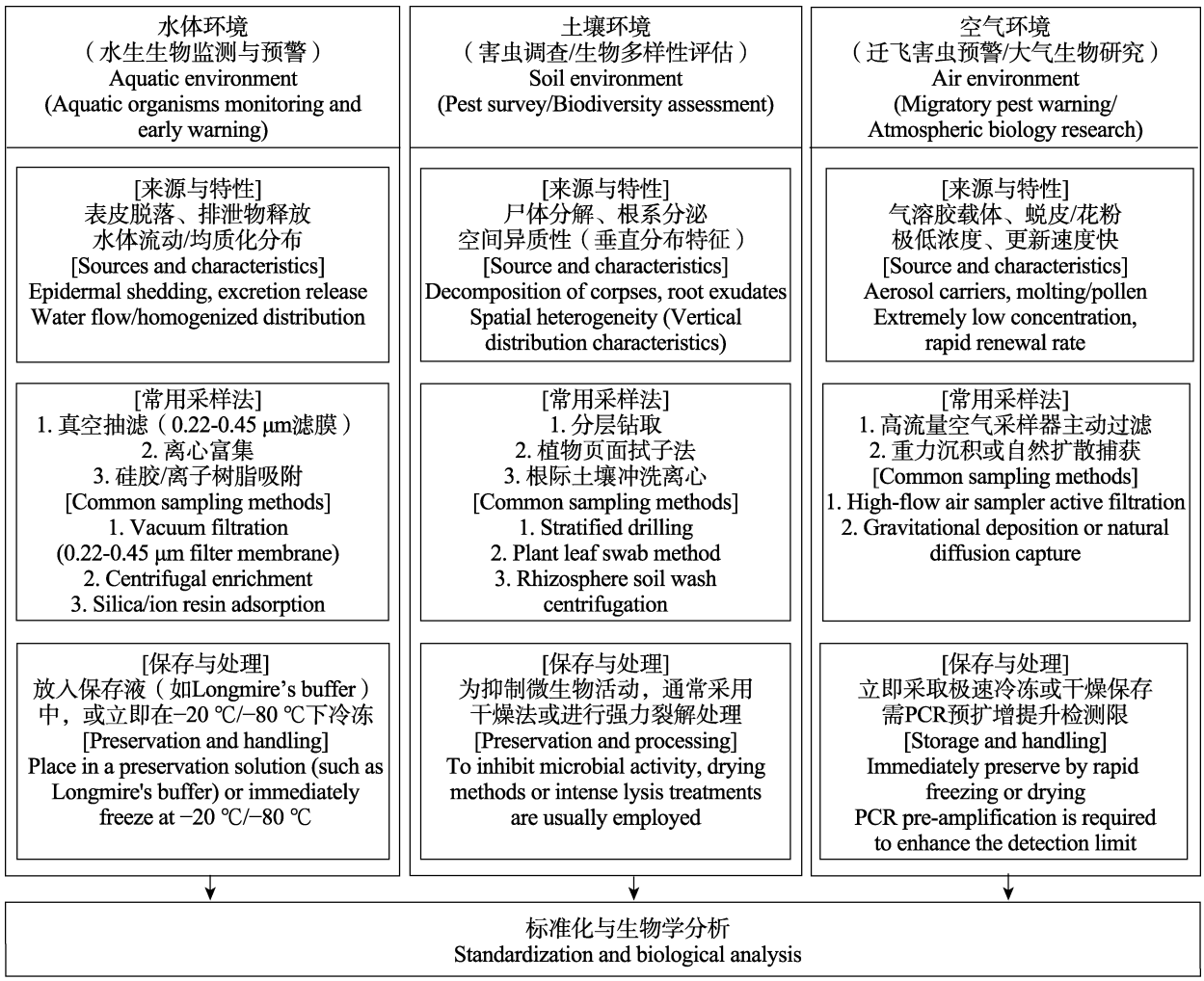


图 2　不同环境介质中 eDNA 采样与分析流程示意图

Fig. 2　Workflow of eDNA sampling and analysis procedures across different environmental matrices

图 2 展示了水体、土壤和空气 3 种环境介质中 eDNA 的来源（表皮脱落、尸体分解、气溶胶载体等）、采集方法（真空抽滤、分层钻取、高流量空气采样器主动过滤等）、保存与处理策略（低温干燥保存等）、以及最终的统一标准化与生物学分析。

The workflow illustrates the biological origins of eDNA (epidermal shedding, carcass decomposition, and aerosol carriers) across three environmental matrices-water, soil, and air-alongside their corresponding collection methods (such as vacuum filtration, stratified core drilling, and active filtration via high-volume air samplers). Furthermore, it depicts the preservation and processing strategies (low-temperature dry storage), culminating in unified standardization and downstream biological analysis.

依然严重匮乏，直接限制了虫害监测数据的横向可比性与跨区域复现能力（Prosser，2010；Smith *et al.*，2017）。

2.2 针对复杂基质的提取细节优化

DNA 提取方法的选择直接决定了下游 PCR 扩增的灵敏度与物种覆盖度。由于陆生害虫遗留的遗传物质多以组织碎片、蜕皮或分泌物的形式存在，且常与复杂的环境基质交织在一起，因此提取方案必须具备高效的细胞裂解与杂质去除的能力。研究表明，在跨营养级的生物多样性监测中，提取试剂盒的性能差异会直接导致分类群覆盖度的偏差（Deiner and Altermatt，2014；Djurhuus *et al.*，2017）。

针对土壤或沉积物等复杂基质中的虫害信号，传统的胞外 DNA 提取法（如磷酸盐缓冲液法）虽然操作便捷，但极易遗漏吸附在矿物颗粒内部的遗传信息。采用包含强力机械裂解（如珠磨法，Bead-beating）步骤的总 DNA 提取策略，能够更彻底地破坏生物细胞及颗粒结合物，从而在处理低生物量样本时获得更高的 DNA 产量，确保低密度害虫信号不被漏检（Pawlowski *et al.*，2022）。

与之相对应，张翼飞等（2021a，2021b）针对宿主植物表面的 eDNA 样本，采用了“碱性溶解液回收+柱纯化”的两步提取流程。该方法无需繁琐的珠磨裂解步骤，具有流程短，成本低的优势。该技术在未见害虫实体的情况下，成功检出了检疫性害虫在水果表面留下的痕量遗传物质（莫晶等，2021），在处理大体积滤膜样本及去除植物多糖多酚等 PCR 抑制物方面表现优异。

此外，由于环境样本（尤其是土壤和沉积物）中 eDNA 分布的空间异质性极高，提取过程中的匀质化处理与重复策略是克服假阴性的关键。通过强化提取前样本的混匀，并增加每个样本的技术重复，可显著降低随机误差，从而捕捉到更多稀有的扩增子序列变异（Amplicon sequence variants，ASVs）（Hestetun *et al.*，2021a，2021b）。同时，在提取前使用适当缓冲液维持 DNA 的完整性，亦能显著增强后续定量分析的稳健性（Mauvisseau *et al.*，2021）。

3 eDNA 检测与虫害监测技术

3.1 线粒体 DNA 的鉴定与定量方法

陆生害虫 eDNA 检测主要采用线粒体 DNA（mtDNA）作为扩增靶标，其中以细胞色素氧化酶亚基Ⅰ（COⅠ）基因应用最为广泛。由于 eDNA 的检测特异性与扩增效率高度取决于引物和探针的设计质量（Kestel *et al.*，2022；Bustin *et al.*，2025），因此对于部分难以区分的近缘种或隐种类群，通常需结合多位点联合分析来提高鉴定准确性（Hebert *et al.*，2003）。在实际应用中，eDNA 的目标扩增片段长度一般控制在 80-150 bp，特异性荧光探针长度控制在 20-30 bp，以顺应降解环境中的小片段特征（Kestel *et al.*，2022）。例如，Valentin 等（2020）在林业入侵害虫斑衣蜡蝉 *Lycorma delicatula* 的研究中，通过比对全球 42 个地理亚型的 COⅠ序列，设计出了一对扩增子长度仅为 92 bp 的单物种特异性引物组探针体系，在野外低密度区域成功实现了“零假阳性”的精准检出。

在下游分子检测中，定量 PCR（qPCR）与微流控液滴数字 PCR（ddPCR）是目前最常用的分析手段。qPCR 依赖标准曲线进行相对定量，适用于大规模样本的快速筛查。然而，在处理包含高浓度抑制物（如土壤中的腐殖酸）的陆生样本时，qPCR 的扩增效率易受干扰，从而导致丰度估算产生偏差。相比之下，ddPCR 技术通过微流控芯片将反应体系分割成数万个纳升级的独立液滴进行单分子平行扩增，利用泊松分布原理实现无需标准曲线的绝对定量（Hindson *et al.*，2013；Doi *et al.*，2015）。这种基于独立微反应体系的物理阻隔，赋予了 ddPCR 极强的抗抑制物稳健性和极低的检测限（Limit of detection，LOD），特别适用于低丰度、痕量外来入侵害虫的早期探测（Baudry *et al.*，2023）。Doi 等（2015）的对比研究证实，在低浓度 DNA 条件下，ddPCR 获得的定量结果与目标种群密度和生物量之间表现出更高的线性相关性，且技术重复误差显著

低于 qPCR。此外，由于 eDNA 的检出效能高度受制于目标节肢动物的季节性生物学行为（如活跃期、交配或产卵期），检测方案必须紧密结合害虫的生活史进行动态调整，以降低因生物量季节性减少导致的假阴性风险（Li *et al.*，2020；Troth *et al.*，2021）。

针对突发虫害的现场口岸截获与应急响应，无需依赖复杂热循环仪的等温扩增技术发展迅速。其中，环介导等温扩增（Loop-mediated isothermal amplification，LAMP）技术通过 4-6 条特异性引物在 60-65 ℃下实现高效扩增；重组酶聚合酶扩增（Recombinase polymerase amplification，RPA）技术则通常采用 30-35 nt 的长引物，在 37-42 ℃的温和条件下实现 70-500 bp 片段的快速扩增（Higgins *et al.*，2019；Ji *et al.*，2025）。上述技术结合便携式侧向流层析试纸条（Lateral-flow dipstick，LFD），可在 30 min 内实现重大检疫性害虫的现场确证（Trujillo-González *et al.*，2022）。与此同时，CRISPR-Cas 系统的引入进一步将现场快检的灵敏度提升至单拷贝级别。该技术利用 crRNA 精确识别目标害虫的特异性序列，一旦结合，便可激活 Cas12a 等核酸酶的“附带切割”活性，降解体系中的荧光或显色标记单链 DNA 探针，从而产生显著的信号放大效应。这种基于 RPA/LAMP 辅助的 CRISPR 检测法，即使在传统 qPCR 呈现阴性的极端稀有或严重降解的样本中，依然能稳定捕捉到害虫的遗传信号（Williams *et al.*，2019；Wei *et al.*，2023）。

3.2　宏条形码检测与监测方法

从宏观监测视角看，基于高通量测序的 eDNA 宏条形码（Metabarcoding）技术实现了从单一靶标向整体群落监测的跨越。通过在特定农田或林带布设被动沉积装置，或利用机械动力进行主动空气过滤，结合节肢动物通用引物进行扩增测序，研究者可以实时追踪和绘制陆生昆虫群落的空间异质性格局与大气扩散轨迹（Roger *et al.*，2022）。

eDNA 宏条形码数据的核心挑战在于如何将海量原始序列转化为高置信度的物种组成矩阵，其规范的生物信息学数据解析流程主要涵盖以下四个关键环节：

数据预处理与高分辨率降噪：原始测序数据首先需经过严格的质量控制，剔除低质量碱基、测序接头及外源短序列。随后，采用 DADA2 或 Deblur 等算法构建测序错误模型，区分真实的生物学变异与 PCR 测序错误，生成高空间分辨率的扩增子序列变异（ASV）特征表（Callahan *et al.*，2016）。

分类学注释与多源数据库比对：将高质量的 ASV 序列比对至已知参考数据库以明确物种身份。对于昆虫类群，生命条形码数据系统（Barcode of Life Data Systems，BOLD）和 GenBank 是核心的参考数据库，注释的准确性高度依赖于这些数据库中本土害虫条形码的覆盖完整度。

假阳性校正与背景噪声筛选：分类学注释完成后，必须利用提取空白、PCR 空白等阴性对照序列来识别并扣除环境及实验背景污染，根据生物学合理性过滤掉非目标生物（如真菌、植物）序列，并设定合理的丰度阈值以排除由残余测序错误导致的低丰度假信号（Xing *et al.*，2022）。

群落结构与生态学统计分析：校正后构建的“物种-样本”丰度矩阵，可用于计算 α 多样性（如物种丰富度、Shannon 指数）以评估局域群落结构；或通过 β 多样性分析（如 Bray-Curtis 相异度、主坐标分析 PCoA）比较时空梯度上的群落差异，进而揭示害虫的分布格局及其与环境因子的关联（Bylemans *et al.*，2019）。

3.3　规避检测误判风险的概率模型方法

无论是单物种特异性检测还是多物种宏条形码监测，陆生 eDNA 的检出结果都受到物种存在→DNA 释放→样本采集→分子扩增各阶段随机因素的影响。为了克服单次检测带来的误判风险，研究者开始引入占域模型（Occupancy models）等贝叶斯逻辑回归概率框架。在贝叶斯框架下，环境样品中 eDNA 的阳性检测结果并不

机械地等同于物种的真实存在，而是将历史发生记录、寄主植物分布、气象因子等作为先验信息，结合当时的实际检测数据，动态更新目标害虫在目标区域存在的后验概率（Lahoz-Monfort *et al.*，2016；Vastano *et al.*，2024）。当连续多次、多位点检测均为阳性时，模型将显著调高目标害虫真实存在的概率；反之，若在假阳性风险较高的干扰场景下（如外源风力带入的偶发虫体残骸），即使个别 PCR 平行重复出现阳性信号，模型也能通过计算将其判定为偶发噪声。因此，概率模型的引入推动了 eDNA 监测从简单的是否检测到 DNA 向高置信度的虫害发生概率预测和种群动态预警的范式转变。

4 eDNA 应用案例与实证研究

4.1 农田害虫监测

在农田生态系统中，eDNA 技术能够通过捕获土壤、植物表面、灌溉水及空气颗粒中残留的遗传物质，为作物害虫的非侵入式早期预警提供了全新路径。Lee-Rodriguez 等（2024）以温室番茄系统中的烟粉虱 *Bemisia argentifolii* 和二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 为靶标，开发了植物表面喷水洗脱富集 eDNA 结合 TaqMan qPCR 的检测方法。实证表明，该新型引物探针体系表现出极高的特异性，且 TaqMan qPCR 的检出灵敏度显著优于常规 PCR，有力证明了植物表面 eDNA 可准确表征隐蔽性微小害虫的早期侵染状态。

为实现多物种的同步监测，Chen 等（2025）应用 eDNA 宏条形码技术对中国七大农业气候区豇豆田节肢动物群落开展了系统监测。研究者通过采集豇豆花朵并提取其表面附着的痕量 eDNA，结合自主构建的 CO Ⅰ条形码参考数据库，共精确鉴定出 163 个物种（包括害虫 72 种、天敌 33 种）。相比传统群落调查，该方法实现了害虫与天敌类群的高通量解析，为农田生态系统的健康评价提供更全面的多维信息。此外，针对果园内危害严重的隐蔽性蛀果害虫，Li 等（2025）系统优化了采样、滤膜组合及 DNA 提取工艺，成功实现了对梨小食心虫 *Grapholita molesta* 和桃小食心虫 *Carposina sasakii* 这两种重要检疫性害虫的非破坏性、超早期预警。

4.2 林业害虫监测

林业害虫因栖息生境广阔、林冠层隐蔽性强、受害表征滞后，一直是传统监测的难点。针对这一痛点，Valentin（2020）创新提出了“滚筒擦拭法”（Roller method），即直接利用商业涂料滚筒或特定材质的擦拭介质，大面积采集树干、树皮缝隙及叶片表面的微量痕迹 DNA。野外实证证明，这种表面 eDNA 富集技术配合高特异性的 qPCR 检测，其早期检出概率显著高于传统视觉踏查。降解动力学实验进一步证实，尽管陆生昆虫的痕量 eDNA 在干旱、高紫外线的树皮表面会逐步降解，但通常能稳定留存数日至一周，确保了检测结果能够真实反映害虫的近期活动。

在宏观群落监测与宏观生态学假设验证方面，曹美伦等（2024）利用 eDNA 宏条形码技术对南京市不同林型（人工林、杂木林及天然次生林）的陆生昆虫多样性展开调查。该研究采用马氏网收集结合乙醇保存液过滤的策略，成功注释到陆生昆虫 465 个分类单元（Operational taxonomic units，OTUs），其实证结果有力地验证了人类活动干扰强度与昆虫多样性呈负相关的生态学假说。为了探索大范围主动预警模式，Geller 和 Partridge（2025）对比了被动式大气 eDNA 陷阱与弹力球采样法在密歇根州铁杉林中的捕获效率。结果表明，在尚未记录到虫情的高风险边缘区域，被动式大气 eDNA 陷阱提前截获了铁杉球蚜 *Adelges tsugae* 的遗传信号，且该信号随后被人工实地核查所证实，真正实现了林业害虫防控由被动响应向主动预警的跨越。

4.3 仓储环境害虫监测

仓储环境下的虫害防控对非损伤性、高时效性与现场抗干扰能力有着极高要求。传统的声学识别等探测手段虽能针对谷斑皮蠹 *Trogoderma*

granarium 和花斑皮蠹 *Trogoderma variabile* 进行粮堆内部筛查（常菲菲等，2025），但在实际应用中易受仓储机械噪音的干扰，且针对休眠虫体及低龄幼虫的探测灵敏度严重受限。仓储害虫在活动过程中脱落的表皮细胞、蜕皮、虫卵、排泄物等处含有的 DNA 会附着于粮粒表面或仓储粉尘中，并在一定时间内保持可检测状态。Vastano 等（2024）以国际检疫性害虫谷斑皮蠹为对象，通过对稻米样品进行冲洗与洗脱物过滤提取，实现了粮食表面残留 eDNA 的稳定回收。结果表明，即使在极低水平的害虫污染下，目标 DNA 仍能被稳定检出，通过合理增加技术重复次数可进一步提高阻断假阴性风险，首次证实了 eDNA 技术在仓储粮食害虫快速筛查中的可行性。

然而，仓储密闭空间也放大了交叉污染的风险。Trujillo-González 等（2022）在澳大利亚两次谷斑皮蠹入侵的现场应急响应中，系统评估了 eDNA 技术的可行性。值得注意的是，该研究发现现场阴性对照中出现了较高的假阳性率，深入剖析后证实主要归因于应急抽吸设备未进行严格的去污染处理，导致样本间交叉污染；这一实证发现也向行业敲响了警钟，强调了在仓储 eDNA 监测中制定严格去污染标准操作规程（Standard operating procedure，SOP）的紧迫性。

4.4　农业入侵物种与生物安全监测

外来入侵物种通常具有天敌缺乏、适应能力强和扩散迅速等特点，一旦建立定殖种群，将造成巨大的经济和生态损失。在口岸海关检疫与国境内早期扩散追踪中，eDNA 技术正发挥着不可替代的屏障作用。

以全球养蜂业的重大入侵性检疫性害虫——小蜂箱甲虫 *Aethina tumida* 为例，Ribani 等（2022）首次利用蜂蜜中存在的 eDNA 实现了对该寄生虫的非侵入性混合监测。研究表明，该体系的检测低限低至 0.000 1 ng/μL，其灵敏度明显优于传统 PCR 引物体系。在已知疫区采集的蜂蜜盲样检测中，该技术均成功检出目标 DNA，且测序解析结果与意大利官方公布的疫情实际空间分布高度一致。与传统破坏性蜂群检查相比，该方法无需拆检蜂箱或采集昆虫实体，显著降低了国境生物安全监测的成本与人为干扰。

5　eDNA 技术面临的挑战与未来发展方向

5.1　陆生害虫 eDNA 监测面临的主要挑战

eDNA 技术通过从土壤、植物表面及空气等复杂环境基质中提取痕量遗传物质，为陆生害虫的早期监测和入侵预警提供了非侵入性、高灵敏度的前沿解决方案。然而，由于陆生系统 eDNA 研究起步较晚，该技术在实际应用中仍面临环境介质降解快、参考数据库匮乏、方法学标准化缺失以及全球研究失衡等严峻挑战。

强空间异质性与生物大分子的快速降解：微气候环境（如温度、湿度、强紫外线及降雨等）显著影响着 eDNA 在陆生基质中的时空持久性（Kestel *et al.*，2022）。实证研究表明，高强度紫外线照射 4 d 后，叶片表面的目标遗传信号几乎完全丧失；而模拟降雨则使斑衣蜡蝉的表面 eDNA 检出率骤降 75%-100%（Allen *et al.*，2021），这极大增加了野外漏检的风险。

标准分类学参考数据库匮乏：物种水平的精准鉴定高度依赖高质量的条形码参考基准。目前，许多重要农林害虫和土栖节肢动物类群的 COⅠ、18S、ITS 等标准条形码序列在主流数据库中仍存在巨大空白，导致大量宏条形码测序数据因无法获得高置信度的分类学注释而被忽略（Moraes Zenker *et al.*，2024）。

多元基质导致的方法学标准化缺失：陆生系统复杂的基质构型（土壤、植物表面、空气、排泄物等）使得水生系统中成熟的采样与质控方案无法直接移植（Zhao and Andermann，2026）。由于缺乏统一的行业技术规程，不同实验室在采样体积、富集流速、技术重复及 ASV 过滤阈值设定上存在较强的主观性，这不仅削弱了数据的横向可比性，还常伴随着阴性对照出现阳性扩增等跨样本污染风险（Bell *et al.*，2024）。

全球研究分布的地理与分类学偏好性：目前，农林业 eDNA 研究仅占全部 eDNA 文献的

约 4%，且研究力量高度集中于北美、欧洲和中国；而在有害生物猖獗、小农户生产脆弱、粮食安全面临更高风险的撒哈拉以南非洲和东南亚等地区，eDNA 技术的实证研究和落地应用则极为匮乏（Kestel *et al.*，2022）。

5.2 核心发展趋势与前沿应用场景

为应对上述挑战，研究者们通过技术迭代与多场景融合，正从以下三个核心维度突破传统监测的局限，加速推进陆生害虫 eDNA 监测技术的发展和应用（Dickie *et al.*，2018；Tournayre *et al.*，2025）。

5.2.1 检测设备便携化与全自动口岸现场检疫 田园应急响应与海关边境检疫是 eDNA 技术最具产业化潜力的应用场景。在低密度种群条件下，eDNA 的探测概率（84%）显著高于传统目视调查（36%）（Allen *et al.*，2021）。未来应加速打破对大型实验室和昂贵仪器的依赖，构建以计算机模拟设计（*in silico*）、体外验证（*in vitro*）与体内验证（*in vivo*）“三位一体”为标准范式的新型现场快检体系（Kestel *et al.*，2022）。

技术集成方面，应推动将环介导等温扩增（LAMP）或重组酶聚合酶扩增（RPA）与侧向流层析试纸条（LFD）及 CRISPR-Cas 系统的附带切割信号放大效应相结合发展不依赖复杂热循环仪的 30 min 内野外视觉化确证技术（Boykin *et al.*，2019；Williams *et al*，2019；Rako *et al.*，2021；Fang *et al.*，2024）。同时，引入基于纳米孔平台（Oxford Nanopore MinION）的便携式测序方案（Krehenwinkel *et al.*，2019），推广 Boykin 等（2019）提出的“树木实验室”（Tree lab）概念。在海关口岸集装箱检疫、进口木材及果蔬中，通过对集装箱内灰尘、舱内空气生物气溶胶或果蔬清洗水进行全自动抽滤与现场一体化芯片检测，构筑全自动口岸现场检疫拦截线（Trujillo-González *et al.*，2022）。

5.2.2 大规模无人物流与植保天网自动监测网络 陆生害虫 eDNA 监测若要实现大尺度区域性覆盖，必须摆脱传统低效的人工采样模式，转向由无人机群+自动化空气收集站+无人物流构成的立体化植保天网。通过在农业主产区和林区关键节点布设高流量空气采集器、蛛网被动拦截装置，或利用蜜蜂、蝙蝠排泄物等“生物哨兵”策略，可实现对农林空域生物气溶胶和复杂基质的长周期自动富集（Bell *et al.*，2024；Johnson and Barnes，2024；Tournayre *et al.*，2025）。在此基础上，可利用植保无人机搭载特制的树冠拭子采集模块或空气吸附装置进行大面积低空巡检采样（Kirchgeorg *et al.*，2024）。采集到的富集滤膜通过无人物流网络统一转运至区域性分子检测中心。这种闭环网络能够有效打破陆生 eDNA 的空间异质性瓶颈，实现大尺度迁飞性害虫的高通量、动态追踪与实时群落监测。

5.2.3 标准化技术规程制定与多源数据智能预警体系 eDNA 技术全面商业化推广的前提是检测结果的稳健性、可比性以及能否直接指导生产实践（Tournayre *et al.*，2025）。目前多数陆生 eDNA 研究在采样设计、提取细节和关键生物信息学参数的报告上存在一定的主观性，这直接制约了不同检测服务机构之间数据的互认性（Dickie *et al.*，2018）。因此，行业亟需由科研院所、农业主管部门及龙头企业联合制定覆盖样本采集、低温保存、eDNA 纯化提取、引物选择及测序深度等全流程的标准化技术规程。

产业化平台应进一步将 eDNA 检测获得的核酸绝对拷贝数或序列丰度，与传统田间性信息素诱捕器、黑光灯的数据进行协同校准（Kirchgeorg *et al.*，2024）。通过引入占域模型等贝叶斯概率框架，排除背景噪声与偶发死体残骸的干扰，将分子信号转化为真正的虫害爆发概率。最终，结合气象数据与作物生育期特征，建设云端害虫 eDNA 谱系数据库与智能预警平台，实现从分子信号检出到田间动态预警及精准施药地图生成的全自动化跨越，使 eDNA 技术真正大规模应用于现代植保。

参考文献 (References)

Ahmed DA, Hudgins EJ, Cuthbert RN, Kourantidou M, Diagne C, Haubrock PJ, Leung B, Liu C, Leroy B, Petrovskii S, Beidas A, Courchamp F, 2022. Managing biological invasions: The cost of inaction. *Biological Invasions*, 24(7): 1927–1946.

Alberdi A, Aizpurua O, Gilbert MTP, Bohmann K, 2018. Scrut inizing key steps for reliable metabarcoding of environmenta l samples. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(1): 134–14 7.

Allen MC, Kwait R, Vastano A, Kisurin A, Zoccolo I, Jaffe B D, Angle JC, Maslo B, Lockwood JL, 2023. Sampling envi ronmental DNA from trees and soil to detect cryptic arbore al mammals. *Scientific Reports*, 13: 180.

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.

Andersen K, Bird KL, Rasmussen M, Haile J, Breuning-Madse n H, Kjær KH, Orlando L, Gilbert MTP, Willerslev E, 201 2. Meta-barcoding of 'dirt' DNA from soil reflects vertebrate biodiversity. *Molecular Ecology*, 21(8): 1966–1979.

Barnes MA, Turner CR, 2016. The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conservati on Genetics*, 17: 1–17.

Baudry T, Laffitte M, Noizat C, Delaunay C, Ricou G, Vasselon V, Grandjean F, 2023. Influence of distance from source population and seasonality in eDNA detection of white-clawed crayfish, through qPCR and ddPCR assays. *Environmental DNA*, 5(4): 733–749.

Bell KL, Campos M, Hoffmann BD, Encinas-Viso F, Hunter GC, Webber BL, 2024. Environmental DNA methods for biosecurity and invasion biology in terrestrial ecosystems: Progress, pitfalls, and prospects. *Science of the Total Environment*, 926: 171810.

Bessey C, Gao Y, Truong YB, Miller H, Jarman SN, Berry O, 2022. Comparison of materials for rapid passive collection of environmental DNA. *Molecular Ecology Resources*, 22 (7): 2559–2572.

Bohmann K, Evans A, Gilbert MTP, Carvalho GR, Creer S, Knapp M, Yu DW, Bruyn MD, 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*, 29(6): 358–367.

Bohmann K, Lynggaard C, 2023. Transforming terrestrial biodi versity surveys using airborne eDNA. *Trends in Ecology & Evolution*, 38(2): 119–121.

Boykin LM, Sseruwagi P, Alicai T, Ateka E, Mohammed IU, Stanton JAL, Kayuki C, Mark D, Fute T, Erasto J, Bachwenkizi H, Muga B, Mumo N, Mwangi J, Abidrabo P, Okao-Okuja G, Omuut G, Akol J, Apio HB, Osingada F, Kehoe MA, Eccles D, Savill A, Lamb S, Kinene T, Rawle CB, Muralidhar A, Mayall K, Tairo F, Ndunguru J, 2019. Tree lab: Portable genomics for early detection of plant viruses and pests in sub-Saharan Africa. *Genes*, 10(9): 632.

Bustin SA, Ruijter JM, van den Hoff MJB, Kubista M, Pfaffl MW, Shipley GL, Tran N, Rödiger S, Untergasser A, Mueller R, Nolan T, Milavec M, Burns MJ, Huggett JF, Vandesompele J, Wittwer CT, 2025. MIQE 2.0: Revision of the minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments guidelines. *Clinical Chemistry*, 71(6): 634–651.

Bylemans J, Gleeson DM, Duncan RP, Hardy CM, Furlan EM, 2019. A performance evaluation of targeted eDNA and eDNA metabarcoding analyses for freshwater fishes. *Environmental DNA*, 1(4): 402–414.

Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP, 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13: 581–583.

Cao ML, Shi FX, Chen YR, Cai K, Sun CH, Wang BX, 2024. Assessing Insect Biodiversity Under Different Forest Stands in Nanjing Based on Environmental DNA Metabarcoding T echniques. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 16 (5): 51–56. [曹美伦, 石法贤, 陈亚如, 蔡琨, 孙长海, 王备新, 2024. 基于环境DNA宏条形码技术的南京不同林地陆生昆虫多样性差异分析初探. 环境监控与预警, 16(5): 51–56.]

Carleton RD, Heard SB, Silk PJ, 2013. A simulation approach to assessing sampling strategies for insect pests: An example with the balsam gall midge. *PLoS ONE*, 8(12): e82618.

Çevik T, Çevik N, 2025. Environmental DNA (eDNA): A review of ecosystem biodiversity detection and applications. *Biodiversity and Conservation*, 34(9): 2999-3035.

Chang FF, Yang XJ, Lu YJ, Zheng SZ, Miao SY, Lou DF, 2 025. Bioacoustic detection of *Trogoderma granarium* and *Tr ogoderma variabile* in bulk stored peanut and corn. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 62(2): 349–360. [常菲菲, 杨晓军, 鲁玉杰, 郑斯竹, 苗世远, 娄定风, 2025. 散装花生和玉米中谷斑皮蠹和花斑皮蠹的声音识别方法. 应用昆虫学报, 62(2): 349–360.]

Chen Q, Lv JX, Xie W, Wang X, Wei SJ, Huang GH, 2025. Monitoring invertebrate pests on cowpea crops across China using eDNA metabarcoding. *Pest Management Science*, 81(8): 4286–4299.

Chen XY, Kong YQ, Zhang S, Zhao JD, Li S, Yao M, 2022. Comparative evaluation of common materials as passive samplers of environmental DNA. *Environmental Science & Technology*, 56(15): 10798–10807.

Chen WB, Liu H, Guo ZJ, Zhang LS, 2026. Current status of prevention and control strategies for Tuta absoluta in China and prospects for future research, 63(2): 285–305. [陈万斌, 刘欢, 郭致杰, 张礼生, 2026. 我国番茄潜叶蛾防控策略研究现状与展望. 应用昆虫学报, 63(2): 285–305.]

Chen YY, Sun CS, Zhan AB, 2017. Biological invasions in aquatic

ecosystems in China. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 20(4): 402–412.

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.

Deiner K, Altermatt F, 2014. Transport distance of invertebrate environmental DNA in a natural river. *PLoS ONE*, 9(2): e88786.

Deiner K, Fronhofer EA, Mächler E, Walser JC, Altermatt F, 2016. Environmental DNA reveals that rivers are conveyer belts of biodiversity information. *Nature Communications*, 7: 12544.

Deiner K, Walser JC, Mächler E, Altermatt F, 2015. Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA. *Biological Conservation*, 183: 53–63.

Dickie IA, Boyer S, Buckley HL, Duncan RP, Gardner PP, Hogg ID, Holdaway RJ, Lear G, Makiola A, Morales SE, Powell JR, Weaver L, 2018. Towards robust and repeatable sampling methods in eDNA-based studies. *Molecular Ecology Resources*, 18(5): 940–952.

Djurhuus A, Port J, Closek CJ, Yamahara KM, Romero-Maraccini O, Walz KR, Goldsmith DB, Michisaki R, Breitbart M, Boehm AB, Chavez FP, 2017. Evaluation of filtration and DNA extraction methods for environmental DNA biodiversity assessments across multiple trophic levels. *Frontiers in Marine Science*, 4: 314.

Doi H, Uchii K, Takahara T, Matsuhashi S, Yamanaka H, Minamoto T, 2015. Use of droplet digital PCR for estimation of fish abundance and biomass in environmental DNA surveys. *PLoS ONE*, 10(3): e0122763.

Fang YX, Liu LJ, Zhao WY, Dong LP, He LJ, Liu YH, Yin JY, Zhang YF, Miao WG, Chen DP, 2024. Rapid and sensitive detection of*Verticillium dahliae* from soil using LAMP-CRISPR/Cas12a technology. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(10): 5185.

Ficetola GF, Pansu J, Bonin A, Coissac E, Giguet-Covex C, De Barba M, Gielly L, Lopes CM, Boyer F, Pompanon F, Rayé G, Taberlet P, 2015. Replication levels, false presences and the estimation of the presence/absence from eDNA metabarcoding data. *Molecular Ecology Resources*, 15(3): 543–556.

Garrett NR, Watkins J, Simmons NB, Fenton B, Maeda-Obregon A, Sanchez DE, Froehlich EM, Walker FM, Littlefair JE, Clare EL, 2023. Airborne eDNA documents a diverse and ecologically complex tropical bat and other mammal community. *Environmental DNA*, 5(2): 350–362.

Geller K, Partridge C, 2025. Evaluation of two environmental DNA (eDNA) approaches for monitoring hemlock woolly adelgid (HWA). *microPublication Biology*, 2025. 10.17912/micropub.biology.001346.

Giolai M, Verweij W, Martin S, Pearson N, Nicholson P, Leggett RM, Clark MD, 2024. Measuring air metagenomic diversity in an agricultural ecosystem. *Current Biology*, 34(16): 3778–3791.

Goldberg CS, Turner CR, Deiner K, Klymus KE, Thomsen PF, Murphy MA, Spear SF, McKee A, Oyler-McCance SJ, Cornman RS, Laramie MB, Mahon AR, Lance RF, Pilliod DS, Strickler KM, Waits LP, Fremier AK, Takahara T, Herder JE, Taberlet P, 2016. Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(11): 1299–1307.

Gutiérrez-López R, Egeter B, Paupy C, Rahola N, Makanga B, Jiolle D, Bourret V, Melo M, Loiseau C, 2023. Monitoring mosquito richness in an understudied area: Can environmental DNA metabarcoding be a complementary approach to adult trapping? *Bulletin of Entomological Research*, 113(4): 456–468.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR, 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B*: *Biological Sciences*, 270(1512): 313–321.

Hestetun JT, Lanzén A, Dahlgren TG, 2021a. Grab what you can: An evaluation of spatial replication to decrease heterogeneity in sediment eDNA metabarcoding. *PeerJ*, 9: e11619.

Hestetun JT, Lanzén A, Skaar KS, Dahlgren TG, 2021b. The impact of DNA extract homogenization and replication on marine sediment metabarcoding diversity and heterogeneity. *Environmental DNA*, 3(5): 997–1006.

Higgins M, Ravenhall M, Ward D, Phelan J, Ibrahim A, Forrest MS, Clark TG, Campino S, 2019. PrimedRPA: Primer design for recombinase polymerase amplification assays. *Bioinformatics*, 35(4): 682–684.

Hindson CM, Chevillet JR, Briggs HA, Gallichotte EN, Ruf IK, Hindson BJ, Vessella RL, Tewari M, 2013. Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nature Methods*, 10: 1003–1005.

Hinlo R, Gleeson D, Lintermans M, Furlan E, 2017. Methods to maximise recovery of environmental DNA from water samples. *PLoS ONE*, 12(6): e0179251.

Ip YCA, Brandão-Dias PFP, Guri G, Allan EA, Kelly RP, 2026. Vertebrate biodiversity via eDNA at the air-water interface. *iScience*, 29(5): 115682.

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.

Ji T, Fang X, Gao YZ, Yu K, Gao XZ, 2025. Research progress on the application of RPA-CRISPR/Cas12a in the rapid visual detection of pathogenic microorganisms. *Frontiers in Cellular*

and Infection Microbiology, 15: 1640938.

Johnson MD, Cox RD, Barnes MA, 2019. The detection of a non-anemophilous plant species using airborne eDNA. *PLoS ONE*, 14(11): e0225262.

Johnson MD, Fokar M, Cox RD, Barnes MA, 2021. Airborne environmental DNA metabarcoding detects more diversity, with less sampling effort, than a traditional plant community survey. *BMC Ecology and Evolution*, 21(1): 218.

Johnson MD, Katz AD, Davis MA, Tetzlaff S, Edlund D, Tomczyk S, Molano-Flores B, Wilder T, Sperry JH, 2023. Environmental DNA metabarcoding from flowers reveals arthropod pollinators, plant pests, parasites, and potential predator–prey interactions while revealing more arthropod diversity than camera traps. *Environmental DNA*, 5(3): 551–569.

Johnson M, Barnes MA, 2024. Macrobial airborne environmental DNA analysis: A review of progress, challenges, and recommendations for an emerging application. *Molecular Ecology Resources*, 24(7): e13998.

Kestel JH, Field DL, Bateman PW, White NE, Allentoft ME, Hopkins AJM, Gibberd M, Nevill P, 2022. Applications of environmental DNA (eDNA) in agricultural systems: Current uses, limitations and future prospects. *Science of the Total Environment*, 847: 157556.

Khrimian A, Shearer PW, Zhang A, Hamilton GC, Aldrich JR, 2008. Field trapping of the invasive brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys*, with geometric isomers of methyl 2,4,6-decatrienoate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(1): 197–203.

Kirchgeorg S, Chang JJM, Ip YCA, Jucker M, Geckeler C, L ü thi M, van der Loo E, Mächler E, Franco-Sierra ND, Herrera MAG, Pellissier L, Deiner K, Desiderato A, Mintchev S, 2024. eProbe: Sampling of environmental DNA within tree canopies with drones. *Environmental Science and Technology*, 58(37): 16410–16420.

Kirse A, Bourlat SJ, Langen K, Fonseca VG, 2021. Metabarcoding Malaise traps and soil eDNA reveals seasonal and local arthropod diversity shifts. *Scientific Reports*, 11(1): 10498.

Kraaijeveld K, de Weger LA, Ventayol García M, Buermans H, Frank J, Hiemstra PS, den Dunnen JT, 2015. Efficient and sensitive identification and quantification of airborne pollen using next-generation DNA sequencing. *Molecular Ecology Resources*, 15(1): 8–16.

Krehenwinkel H, Pomerantz A, Prost S, 2019. Genetic biomonitoring and biodiversity assessment using portable sequencing technologies: Current uses and future directions. *Genes*, 10(11): 858.

Kyle KE, Allen MC, Siegert NW, Grabosky J, Lockwood JL, 2024. Design of an eDNA sampling method for detection of an endophagous forest pest. *NeoBiota*, 95: 149–164.

Lahoz-Monfort JJ, Guillera-Arroita G, Tingley R, 2016. Statistical approaches to account for false-positive errors in environmental DNA samples. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(5): 546–556.

Leandro C, Jay-Robert P, Pétillon J, 2024. eDNA for monitoring and conserving terrestrial arthropods: Insights from a systematic map and barcode repositories assessments. *Insect Conservation & Diversity*, 17(4): 589–598.

Lee-Rodriguez J, Ranger CM, Leach A, Michel A, Reding ME, Canas L, 2024. Using environmental DNA to detect and identify sweetpotato whitefly *Bemisia argentifolii* and twospotted spider mite *Tetranychus urticae* in greenhouse-grown tomato plants. *Environmental DNA*, 6(5): e70026.

Li M, Shan XJ, Wang WJ, Ding XS, Dai FQ, Lv D, Wu HH, 2020. Qualitative and quantitative detection using eDNA technology: A case study of *Fenneropenaeus chinensis* in the Bohai Sea. *Aquaculture and Fisheries*, 5(3): 148–155.

Li XQ, Wu KY, Ni DF, Yang LY, Lu TX, Zhang LB, Deng HT, Wu TF, He RC, Fu M, Yao WZ, Lü HJ, 2024. Impacts of cascade dams on the diversity of fish species in an important tributary of the upper reaches of Yangtze River based on environmental DNA technology: a case study of Qijiang River. *Acta Ecologica Sinica*, 44(19): 8865–8883. [李筱芹, 吴开阳, 倪达富, 杨丽亚, 鲁桃秀, 张连博, 邓华堂, 吴彤飞, 何荣超, 付梅, 姚维志, 吕红健, 2024. 基于环境 DNA 技术的梯级水坝对长江上游重要支流鱼类多样性的影响研究——以綦江为例. 生态学报, 44(19): 8865–8883.]

Li YY, Zhang JY, Zhang J, Du JC, Yang RX, Niu ML, Li YM, 2025. The high economic cost of biological invasions in China. *Journal of Environmental Management*, 389: 126224.

Liang ZB, Keeley A, 2013. Filtration recovery of extracellular DNA from environmental water samples. *Environmental Science & Technology*, 47(16): 9324–9331.

Lodge DM, Simonin PW, Burgiel SW, Keller RP, Bossenbroek JM, Jerde CL, Kramer AM, Rutherford ES, Barnes MA, Wittmann ME, Chadderton WL, Apriesnig JL, Beletsky D, Cooke RM, Drake JM, Egan SP, Finnoff DC, Gantz CA, Grey EK, Hoff MH, Howeth JG, Jensen RA, Larson ER, Mandrak NE, Mason DM, Martinez FA, Newcomb TJ, Rothlisberger JD, Tucker AJ, Warziniack TW, Zhang HY, 2016. Risk analysis and bioeconomics of invasive species to inform policy and management. *Annual Review of Environment and Resources*, 41: 453–488.

Lunghi E, Valle B, Guerrieri A, Bonin A, Cianferoni F, Manenti R, Ficetola GF, 2022. Environmental DNA of insects and springtails from caves reveals complex processes of eDNA

transfer in soils. *Science of the Total Environment*, 826: 154022.

Lynggaard C, Frøslev TG, Johnson MS, Olsen MT, Bohmann K, 2024. Airborne environmental DNA captures terrestrial v ertebrate diversity in nature. *Molecular Ecology Resources*, 24(1): e13840.

Lynggaard C, Nielsen M, Santos-Bay L, Gastauer M, Oliveira G, Bohmann K, 2019. Vertebrate diversity revealed by meta barcoding of bulk arthropod samples from tropical forests. *Environmental DNA*, 1(4): 329–341.

Macher TH, Schütz R, Hörren T, Beermann AJ, Leese F, 2023. It's raining species: Rainwash eDNA metabarcoding as a minimally invasive method to assess tree canopy invertebrate diversity. *Environmental DNA*, 5(1): 3–11.

Mainelis G, 2020. Bioaerosol sampling: Classical approaches, a dvances, and perspectives. *Aerosol Science and Technology*, 54(5): 496–519.

Mathieu C, Hermans SM, Lear G, Buckley TR, Lee KC, Buck ley HL, 2020. A Systematic review of sources of variability and uncertainty in eDNA data for environmental monitorin g. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8: 135.

Mauvisseau Q, Halfmaerten D, Neyrinck S, Burian A, Brys R, 2021. Effects of preservation strategies on environmental D NA detection and quantification using ddPCR. *Environmenta l DNA*, 3(4): 815–822.

Mena JL, Yagui H, Tejeda V, Bonifaz E, Bellemain E, Valentini A, Tobler MW, Sánchez-Vendizú P, Lyet A, 2021. Environmental DNA metabarcoding as a useful tool for evaluating terrestrial mammal diversity in tropical forests. *Ecological Applications*, 31(5): e02335.

Métris KL, Métris J, 2023. Aircraft surveys for air eDNA: Probing biodiversity in the sky. *PeerJ*, 11: e15171.

Mikko A, Villegas JA, Svensson D, Karlsson E, Esseen PA, Albrectsen BR, Lundin O, Forsman M, Berlin A, Stenberg P, 2025. Sequencing airborne DNA to monitor crop pathogens and pests. *iScience*, 28(7): 112912.

Milián-García Y, Pyne C, Lindsay K, Romero A, Hanner RH, 2023. Unveiling invasive insect threats to plant biodiversity: Leveraging eDNA metabarcoding and saturated salt trap so lutions for biosurveillance. *PLoS ONE*, 18(8): e0290036.

Minamoto T, 2022. Environmental DNA analysis for macro-organisms: Species distribution and more. *DNA Research*, 29(3): dsac018.

Minamoto T, Naka T, Moji K, Maruyama A, 2015. Techniques for the practical collection of environmental DNA: Filter selection, preservation, and extraction. *Limnology*, 17(1): 23–32.

Minamoto T, Miya M, Sado T, Seino S, Doi H, Kondoh M, Nakamura K, Takahara T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Iwasaki W, Kasai A, Masuda R, Uchii K, 2021. An illustrated manual for environmental DNA research: Water sampling guidelines and experimental protocols. *Environmental DNA*, 3: 8–13.

Mo J, Zhang YF, Liu YF, Ou XE, Xu MY, Huang H, 2021. Kit for detecting *Drosophila suzukii* based on terrestrial environmental DNA and its application. Chinese invention patent, ZL202110657622.1. 2021-07-23. [莫晶, 张翼飞, 刘雨芳, 欧雪儿, 许铭元, 黄汇, 2021. 基于陆生环境DNA检测斑翅果蝇的试剂盒及其应用. 中国发明专利, ZL202110657622.1. 2021-07-23.]

Moraes Zenker M, Portella TP, Pessoa FAC, Bengtsson-Palme J, Galetti PM, 2024. Low coverage of species constrains the use of DNA barcoding to assess mosquito biodiversity. *Scientific Reports*, 14(1): 7432.

Morinière J, Hendrich L, Balke M, Beermann AJ, König T, H ess M, Koch S, Müller R, Leese F, Hebert PDN, Hausman n A, Schubart CD, Haszprunar G, 2017. A DNA barcode li brary for Germany's mayflies, stoneflies and caddisflies (Ep hemeroptera, Plecoptera and Trichoptera). *Molecular Ecology Resources*, 17(6): 1293–1307.

Nousias O, McCauley M, Stammnitz MR, Farrell JA, Koda SA, Summers V, Eastman CB, Duffy FG, Duffy IJ, Whilde J, Duffy DJ, 2025. Shotgun sequencing of airborne eDNA achieves rapid assessment of whole biomes, population genetics and genomic variation. *Nature Ecology & Evolution*, 9: 1043–1060.

Ogram AV, Sayler GS, Barkay T, 1987. The extraction and pu rification of microbial DNA from sediments. *Journal of Mic robiological Methods*, 7(2-3): 57–66.

Pawlowski J, Bruce K, Panksep K, Aguirre FI, Amalfitano S, Apothéloz-Perret-Gentil L, Baussant T, Bouchez A, Carugati L, Cermakova K, Cordier T, Corinaldesi C, Costa FO, Danovaro R, Dell'Anno A, Duarte S, Eisendle U, Ferrari BJD, Frontalini F, Frühe L, Haegerbaeumer A, Kisand V, Krolicka A, Lanzén A, Leese F, Lejzerowicz F, Lyautey E, Maček I, Sagova-Marečková M, Pearman JK, Pochon X, Stoeck T, Vivien R, Weigand A, Fazi S, 2022. Environmental DNA metabarcoding for benthic monitoring: A review of sediment sampling and DNA extraction methods. *Science of the Total Environment*, 818: 151783.

Prosser JI, 2010. Replicate or lie. *Environmental Microbiology*, 12(7): 1806–1810.

Pyšek P, Hulme PE, Simberloff D, Bacher S, Blackburn TM, Carlton JT, Dawson W, Essl F, Foxcroft LC, Genovesi P, Jeschke JM, Kühn I, Liebhold AM, Mandrak NE, Meyerson LA, Pauchard A, Pergl J, Roy HE, Seebens H, van Kleunen M, Vilà

M, Wingfield MJ, Richardson DM, 2020. Scientists' warning on invasive alien species. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 95(6): 1511–1534.

Qian JS, Li YY, Chen JN, Huang JH, Ding LY, He DK, 2026. Flow conditions govern the efficiency of passive environmental DNA sampling. *Environment International*, 208: 110086.

Rako L, Agarwal A, Semeraro L, Broadley A, Rodoni BC, Blacket MJ, 2021. A LAMP (loop-mediated isothermal amplification) test for rapid identification of khapra beetle (*Trogoderma granarium)*. *Pest Management Science*, 77(12): 5509–5521.

Rees HC, Maddison BC, Middleditch DJ, Patmore JRM, Gough KC, 2014. Review: 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.

Ribani A, Taurisano V, Utzeri VJ, Fontanesi L, 2022. Honey environmental DNA can be used to detect and monitor honey bee pests: Development of methods useful to identify *Aethina tumida* and *Galleria mellonella* infestations. *Veterinary Sciences*, 9(5): 213.

Ritter CD, Zizka A, Roger F, Tuomisto H, Barnes C, Nilsson RH, Antonelli A, 2018. High-throughput metabarcoding reveals the effect of physicochemical soil properties on soil and litter biodiversity and community turnover across Amazonia. *PeerJ*, 6: e5661.

Roger F, Ghanavi HR, Danielsson N, Wahlberg N, Löndahl J, Pettersson LB, Andersson GKS, Boke Olén N, Clough Y, 2022. Airborne environmental DNA metabarcoding for the monitoring of terrestrial insects: A proof of concept from the field. *Environmental DNA*, 4(4): 790–807.

Ryan E, Bateman P, Fernandes K, van der Heyde M, Nevill P, 2022. eDNA metabarcoding of log hollow sediments and soils highlights the importance of substrate type, frequency of sampling and animal size, for vertebrate species detection. *Environmental DNA*, 4(4): 940–953.

Smart AS, Tingley R, Weeks AR, van Rooyen AR, McCarthy MA, 2015. Environmental DNA sampling is more sensitive than a traditional survey technique for detecting an aquatic invader. *Ecological Applications*, 25(7): 1944–1952.

Smith ANH, Anderson MJ, Pawley MDM, 2017. Could ecologists be more random? Straightforward alternatives to haphazard spatial sampling. *Ecography*, 40: 1251–1255.

Sullivan AR, Karlsson E, Svensson D, Brindefalk B, Villegas JA, Mikko A, Bellieny D, Siddique AB, Johansson AM, Grahn H, Sundell D, Norman A, Esseen PA, Sjödin A, Singh NJ, Brodin T, Forsman M, Stenberg P, 2025. Airborne eDNA captures three decades of ecosystem biodiversity. *Nature Communications*, 16: 11281.

Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M, Rieseberg LH, 2012. Environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21(8): 1789–1793.

Tahmid RS, Kline RJ, Rahman MS, 2023. Applications of environmental DNA (eDNA) to detect subterranean and aquatic invasive species: A critical review on the challenges and limitations of eDNA metabarcoding. *Environmental Advances*, 12: 100370.

Thomsen PF, Kielgast J, Iversen LL, Møller PR, Rasmussen M, Willerslev E, 2012. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *PLoS ONE*, 7(8): e41732.

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

Torsvik V, Øvreås L, 2002. Microbial diversity and function in soil: From genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 5(3): 240–245.

Tournayre O, Littlefair JE, Garrett NR, Allerton JJ, Brown AS, Cristescu ME, Clare EL, 2025. First national survey of terrestrial biodiversity using airborne eDNA. *Scientific Reports*, 15: 19247.

Troth CR, Sweet MJ, Nightingale J, Burian A, 2021. Seasonality, DNA degradation and spatial heterogeneity as drivers of eDNA detection dynamics. *Science of the Total Environment*, 768: 145466.

Trujillo-González A, Thuo DN, Divi U, Sparks K, Wallenius T, Gleeson D, 2022. Detection of khapra beetle environmental DNA using portable technologies in Australian biosecurity. *Frontiers in Insect Science*, 2: 795379.

Tsuji S, Takahara T, Doi H, Shibata N, Yamanaka H, 2019. The detection of aquatic macroorganisms using environmental DNA analysis: A review of methods for collection, extraction, and detection. *Environmental DNA*, 1(2): 99–108.

Utzeri VJ, Schiavo G, Ribani A, Tinarelli S, Bertolini F, Bovo S, Fontanesi L, 2018. Entomological signatures in honey: An environmental DNA metabarcoding approach can disclose information on plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes. *Scientific Reports*, 8: 9996.

Valentin RE, Fonseca DM, Gable S, Kyle KE, Hamilton GC, Nielsen AL, Lockwood JL, 2020. Moving eDNA surveys onto land: Strategies for active eDNA aggregation to detect invasive forest insects. *Molecular Ecology Resources*, 20(3): 746–755.

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.

van der Heyde M, Bunce M, Nevill P, 2022. Key factors to c onsider in the use of environmental DNA metabarcoding to monitor terrestrial ecological restoration. *Science of the Tot al Environment*, 848: 157617.

Vastano AR, Allen MC, Penca CJ, Stringham OC, Domingue MJ, Lockwood JL, 2024. Can environmental DNA be used within pest insect agricultural biosecurity? Detecting khapra beetle within stored rice. *Environmental DNA*, 6(4): e585.

von Ammon U, Jeunen GJ, Laroche O, Pochon X, Gemmell NJ, Stanton JL, Zaiko A, 2025. Investigating passive eDNA samplers and submergence times for marine surveillance. *PeerJ*, 13: e19043.

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 XY, Liu L, Hu H, Jia HJ, Bu LK, Pei DS, 2023. Ultra-sensitive detection of ecologically rare fish from eDNA samples based on the RPA-CRISPR/Cas12a technology. *iScience*, 26(9): 107519.

Williams KE, Huyvaert KP, Vercauteren KC, Davis AJ, Piaggio AJ, 2017. Detection and persistence of environmental DNA from an invasive, terrestrial mammal. *Ecology and Evolution*, 8(1): 688–695.

Williams MA, O'Grady J, Ball B, Carlsson J, de Eyto E, McGinnity P, Jennings E, Regan F, Parle-McDermott A, 2019. The application of CRISPR-Cas for single species identification from environmental DNA. *Molecular Ecology Resources*, 19(5): 1106–1114.

Xing YC, Gao WR, Shen ZX, Zhang YY, Bai J, Cai XW, Ou yang JL, Zhao YH, 2022. A review of environmental DNA field and laboratory protocols applied in fish ecology and environmental health. *Frontiers in Environmental Science*, 1 0: 725360.

Yang LF, Yang N, Fu HB, Chu D, 2023. Research advances i n the application of environmental DNA (eDNA) technique in biological invasions. *Journal of Plant Protection*, 50(1): 1–10. [杨力凤, 杨楠, 付海滨, 褚栋, 2023. 环境DNA技术在生物入侵研究中的应用进展. 植物保护学报, 50(1): 1–10.]

Yin XQ, Zeng JF, Zhang N, Liu YM, Zhang X, Zhang SY, Luo JL, Xie SG, Song YQ, 2026. Specific detection and biomass assessment of *Anguilla marmorata* based on environmental DNA. *Journal of Hydroecology*, 47(2): 195–203. [尹晓强, 曾金凤, 张娜, 刘宇明, 张鑫, 张思源, 罗佳林, 谢松光, 宋一清, 2026. 基于环境 DNA 技术的花鳗鲡特异性检测及生物量评估. 水生态学杂志, 47(2): 195–203.]

Young MR, Hebert PDN, 2022. Unearthing soil arthropod diversity through DNA metabarcoding. *PeerJ*, 10: e12845.

Zhao BL, Andermann T, 2026. Properties and limitations of eDNA substrates for terrestrial animal monitoring. *Molecular Ecology Resources*, 26(2): e70096.

Zhang CC, Dai XR, Gebrezgiabhier T, Wang Y, Yang MR, W ang LP, Wang W, Man Z, Meng Y, Tong L, He MM, Zho u B, Zheng J, Xiao H, 2024. Navigating the aerosolized fro ntier: A comprehensive review of bioaerosol research post-C OVID-19. *Atmosphere*, 15(4): 404.

Zhang YF, Liu YF, Wang HY, Ou XE, Xu MY, Chen QY, 2021a. Kit for detecting *Helicoverpa armigera* based on terrestrial environmental DNA and its application. Chinese invention patent, ZL202110668348.8. 2024-02-20. [张翼飞, 刘雨芳, 王浩洋, 欧雪儿, 许铭元, 陈倩玉, 2021a. 基于陆生环境 DNA 检测棉铃虫的试剂盒及其应用. 中国发明专利, ZL202110668348.8. 2024-02-20.]

Zhang YF, Liu YF, Wang HY, Ou XE, Xu MY, Mo J, Chen QY, 2021b. Kit for detecting *Bactrocera dorsalis* based on terrestrial environmental DNA and its application. Chinese invention patent, ZL202110527388.0. 2022-03-22. [张翼飞, 刘雨芳, 王浩洋, 欧雪儿, 许铭元, 莫晶, 陈倩玉, 2021a. 基于陆生环境 DNA 检测橘小实蝇的试剂盒及其应用. 中国发明专利, ZL202110527388.0. 2022-03-22.]