

## 研究论文 ORIGINAL PAPERS

粪便样品取样部位对  
东北虎食性分析的影响吴净雨<sup>1</sup>, 刘东起<sup>1</sup>, 程万年<sup>1</sup>, 程志刚<sup>2</sup>,  
宋涛<sup>2</sup>, 赵岩<sup>2</sup>, 顾佳音<sup>1</sup>, 姜广顺<sup>1</sup>, 齐进哲<sup>1\*</sup>(1. 国家林业和草原局猫科动物研究中心, 东北林业大学野生动物与自然保护地学院, 哈尔滨 150040;  
2. 东北虎豹国家公园珲春管护中心, 珲春 133300)

## 稿件运行过程

收稿日期: 2024-10-09

修回日期: 2024-11-06



## 摘要

关键词: 东北虎;

食物组成;

DNA宏条形码;

粪便取样部位

**Keywords:** Amur tiger (*Panthera tigris altaica*);

Diet composition;

DNA metabarcoding;

Faecal partial sampling

中图分类号: Q958.1

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2025)-03-0473-10

DOI: 10.12375/ysdwxb.20250301

粪便是开展野生动物种群生态学、遗传特征、疾病与健康状况等研究的重要样品。由于东北虎(*Panthera tigris altaica*)种群处于濒危状态,粪便样品收集困难,为满足多种研究目的,同一样品往往被分成不同部分用于不同分析。然而部分取样以及不同部位间的差异是否会影响研究结果并未得到科学验证。为此,本研究基于野生东北虎粪便样品,运用DNA宏条形码技术分析东北虎的食物组成,并比较不同粪便取样部位间的结果差异。结果显示:东北虎的食物组成包括野猪(*Sus scrofa*)、梅花鹿(*Cervus nippon*)、狍(*Capreolus pygargus*)等大宗食物(相对序列丰度22.130 0%~42.660 0%),以及中级捕食者、啮齿类、鸟类在内的多种消遣性食物(0.000 3%~0.480 0%);不同粪便取样部位间,食物的相对生物贡献量无显著差异( $P > 0.05$ ),但组合取样方案检测出的物种数量最多[(6.50 ± 1.29)种],显著高于其他取样方案( $P < 0.05$ )。研究结果提示了在开展基于粪便样品对东北虎营养、遗传和疾病等分析时考虑取样部位潜在影响的必要性,特别是在无法使用完整粪便样品或关注于稀有食物种类鉴定时,多部位组合取样是获得可靠结果的最优方案。

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32000351);国家重点研发计划项目(2023YFF1305000)

第一作者简介: 吴净雨(1999—),女,硕士研究生;主要从事野生动物营养生态学研究。E-mail: 1293713994@qq.com

\*通信作者: 齐进哲, E-mail: qijinze@sina.com

## The Impact of Sampling Parts of Faecal Samples on the Dietary Analysis of Amur Tiger

WU Jingyu<sup>1</sup>, LIU Dongqi<sup>1</sup>, CHENG Wannian<sup>1</sup>, CHENG Zhigang<sup>2</sup>,  
SONG Tao<sup>2</sup>, ZHAO Yan<sup>2</sup>, GU Jiayin<sup>1</sup>, JIANG Guangshun<sup>1</sup>, QI Jinzhe<sup>1\*</sup>

(1. Feline Research Center of National Forestry and Grassland Administration, College of Wildlife and Protected Area, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;  
2. Northeast Tiger and Leopard National Park Hunchun Conservation Center, Hunchun 133300, China)

**Abstract:** Faecal samples are important for studies on the population ecology, genetic characteristics, disease and health of wildlife. As Amur tiger (*Panthera tigris altaica*) is endangered, faecal samples collection is often challenging, thus one faecal sample is often divided into different parts for different analyses in order to satisfy different research purposes. However, it has not been explored that whether partial sampling and the differences of sampling parts would affect research results. This study analyzed the dietary composition based on faecal samples of the wild Amur tiger using DNA metabarcoding technology and compared the differences among the different faecal sampling parts. The results showed that Amur tiger preyed on wild boar (*Sus scrofa*), sika deer (*Cervus nippon*), and Siberian roe deer (*Capreolus pygargus*) as its main food resources (relative read abundance: 22.130 0% – 42.660 0%), but also occasionally preyed on other animals, like mid-sized carnivores, rodents and birds (0.000 3% – 0.480 0%). Among the different faecal sampling designs, the outcomes of diet composition showed no significant difference in relative biomass contribution ( $P > 0.05$ ). However, the combined sampling designs detected the highest number of species ( $6.50 \pm 1.29$ ), which was significantly higher than the other sampling designs ( $P < 0.05$ ). This study demonstrates the necessity to consider the potential impact of partial sampling when conducting faecal samples-based analyses of nutrition, genetics, and disease in Amur tiger, especially when complete faecal samples are unavailable or when the focus is on the identification of rare food species, and that a combination of multiple parts is the optimal solution for obtaining reliable results.

粪便作为一种广泛应用的非损伤性样品,因其含有丰富的食物残渣、微生物群体以及宿主遗传物质而成为野生动物研究中的重要样品资源<sup>[1]</sup>。特别是随着DNA分析技术的发展,通过粪便样品研究目标物种的种群数量和时空分布、种群遗传特征及亲缘关系、食物组成及种间互作关系、肠道微生物群落结构功能及机体健康状况,已成为野生动物研究的重要内容<sup>[2-6]</sup>。

东北虎(*Panthera tigris altaica*)又称阿穆尔虎,是世界上体型最大的虎亚种<sup>[7]</sup>,其家域往往可以达到500 km<sup>2</sup><sup>[8]</sup>。目前,全球野生种群数量不足600只<sup>[9]</sup>,主要分布于俄罗斯远东地区和中国东北地区。我国境内野生东北虎个体数量仅约54只<sup>[10]</sup>,除大部分集中分布于东北虎豹国家公园区域外,其余个体散布于张广才岭、完达山、小兴安岭和大兴安岭等广阔林区。东北虎作为顶级捕食者,对维持食物网结构和生态系统稳定至关重要;同时作为其所在群落的旗

舰种与伞护种,往往是生物多样性保护中最被关注的类群之一<sup>[11]</sup>。因而,东北虎一直是野生动物生态学研究中的热点物种,而不断增加的保护需求更是进一步提高了开展其种群分布、疾病、遗传和营养等各方面研究的必要性。然而,受到人类活动的严重干扰,导致东北虎种群数量稀少,加之其本身家域广泛且活动隐秘,其粪便样品的收集较其他物种更加困难。国内已经开展了关于东北虎食物选择、肠道菌群结构和功能、近交状况等的研究,但已有的大部分研究为满足样品需求,多基于持续积累的粪便样品<sup>[12-14]</sup>,不得不忽略了东北虎相关特性时间和空间的变异性。另外,大量的研究需求与样品收集困难之间的矛盾,往往导致在实际研究中同一粪便样品常被用于多个研究内容,也就是说每项独立研究都无法使用完整的粪便样品进行分析。比如,对于同一个粪便样品,需要首先进行物种鉴定和个体识别,

然后根据研究目的提取粪便进行遗传特征、食性和肠道微生物等方面的分析,在样品过少需要多次重复实验或实验条件不充分需要将样品送到不同研究机构的情况时,每项分析使用的样品都会占整个粪便样品的一部分。然而,目前在基于粪便样品的动物分子生态学相关研究中,对取样方式和部位是否对研究结果产生显著影响的研究较少<sup>[15]</sup>,如何利用有限的粪便样品,通过部分取样,满足多种研究需求等是未来研究需要着重考虑的问题。

食性研究是动物生态学中不可或缺的一环,猎物选择对于揭示东北虎的生活史策略至关重要<sup>[16]</sup>。这不仅是理解动物与环境相互作用、捕食者与猎物关系的先决条件,也为建立栖息地选择与利用模型、探讨取食策略和营养流动、评估物种生存状况以及生态系统功能等热点问题提供了基础。目前,国内东北虎的食性研究主要开展于2016年之前。自2017年东北虎豹国家公园体制试点建设以来<sup>[17]</sup>,国家公园内部东北虎、东北豹(*P. pardus orientalis*)及其他野生动物种群数量有了明显恢复。东北虎豹国家公园是我国东北虎种群数量最多、活动最频繁、最重要的定居和繁育区域,也是中国、俄罗斯和朝鲜之间东北虎活动的重要通道<sup>[17]</sup>。公园管理部门对林区内家畜散放饲养的限制是否影响到东北虎的食物选择?春季是大部分野生动物集中繁殖的季节,也是食草动物可食性植物资源缺乏的季节,东北虎的食性选择如何?这些科学问题尚未被关注。DNA宏条

形码技术(DNA metabarcoding)的发展为动物食性分析带来了新的机遇和挑战<sup>[4,18]</sup>。该技术的主要优势在于不受研究者经验和主观判断的限制,提高了食物物种辨识的准确性和可信度,同时不受食物消化程度和硬质残留比例的影响。目前,DNA宏条形码技术已广泛应用于多种食肉动物<sup>[12,19]</sup>。

为此,本研究运用DNA宏条形码技术,对2023年春季在东北虎豹国家公园内收集的东北虎粪便样品进行食性分析,比较不同粪便取样部位之间的结果差异,以探讨目前猎物资源状况下,东北虎的春季食物组成,以及粪便样品的部分取样和取样部位对研究结果的潜在影响效应。

## 1 研究方法

### 1.1 研究区域

东北虎粪便样品采集于东北虎豹国家公园珲春分局区域(42°24'—43°28' N, 130°14'—131°14' E)(图1),区域内分布有中山、低山和丘陵河谷3种地貌类型,属于温带季风气候,年平均降水量617.9 mm,主要植被形式为针叶林、阔叶林和阔叶混交林。野生动物资源种类繁多,包括国家一级重点保护野生动物东北虎、东北豹、梅花鹿(*Cervus nippon*)等;国家二级重点保护野生动物猞猁(*Lynx lynx*)、豹猫(*Prionailurus bengalensis*)和亚洲黑熊(*Ursus thibetanus*)等;同时,东北虎的主要猎物如野猪(*Sus scrofa*)、狍(*Capreolus pygargus*)等有蹄类动物资源丰富。

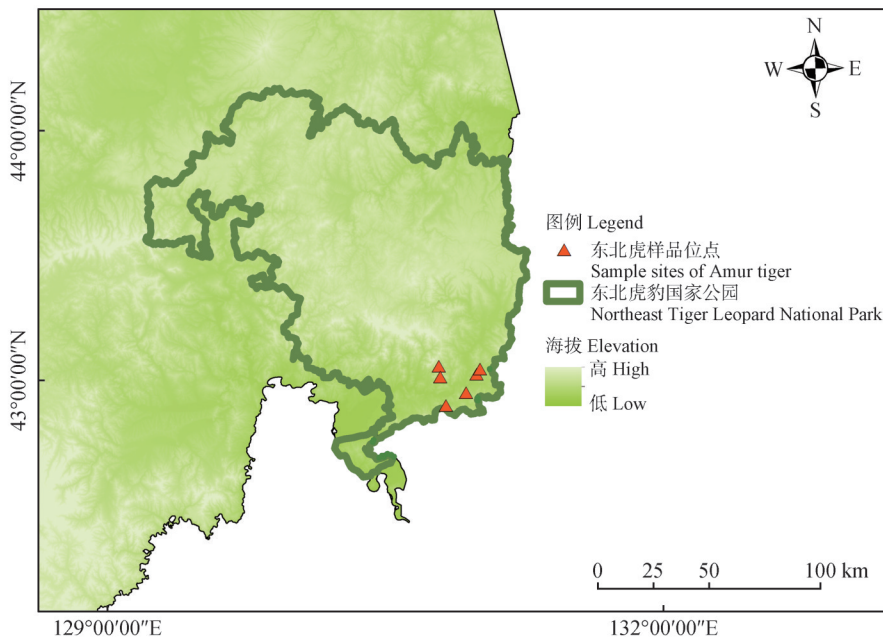


图1 东北虎豹国家公园东北虎粪便样品的空间分布示意图

Figure 1 The locations of Amur tiger feces collected in Northeast China Tiger and Leopard National Park

区域内的干扰因素主要包括放牧和盗猎等人类活动,以及道路、农田和村庄等人为设施。东北虎豹国家公园建设之前,放牧活动在该地区广泛存在,东北虎对家畜的捕食是该区域主要的人虎冲突类型。2017年东北虎豹国家公园体制试点建设以来,公园区域内逐步实施封山禁牧政策以及产业转型措施,林区内家畜数量显著减少<sup>[20]</sup>。

## 1.2 东北虎粪便样品收集和物种鉴定

在研究区域内,基于团队长期监测数据确定东北虎经常出现的位点,并结合东北虎喜欢在捕食点周围、运材道等区域排便的习性,选择重点调查位点并于2023年3—5月集中对这些位点及周边进行多次调查以最大可能地收集东北虎粪便样品。在收集过程中,先根据粪便的形态特征(包括直径、长度以及团块数等)进行野外物种初判,收集疑似东北虎的粪便样品,并利用手持GPS记录样品的地理信息。所有样品使用样品袋封装,−80℃保存,以备后续分析。

选用OMEGA试剂盒提取粪便样品DNA。利用哺乳动物线粒体通用引物16S(表1)扩增粪便线粒体DNA<sup>[20]</sup>。PCR扩增体系为30 μL,包括粪便DNA 6 μL、Ex Taq15 μL、16S-F/R各2 μL以及BSA 5 μL。PCR反应程序:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,50℃退火30 s,72℃延伸30 s,35个循环;72℃延伸10 min。用纯化回收试剂盒纯化DNA,将纯化后的PCR产物进行Sanger测序。测序结果用Chromas软件获得测序峰图,得到约380 bp的DNA序列。通过NCBI的BLAST程序检索测序片段的匹配序列。当最匹配序列覆盖度为100%,一致度在99%及以上<sup>[21]</sup>,且只对应一个物种,并且该物种在研究地点有分布时,认为粪便样品来自匹配序列对应的物种<sup>[22]</sup>。不满足这一标准或无法确定物种的序列则不被用于后期分析。

表1 本研究使用的引物序列

Table 1 The sequences of the primers used in the study

引物 Primer	序列(5'→3') Sequence(5'→3')	产物长度 /bp Product length	退火温度 /℃ Annealing temperature
16S	F: GAGAAGACCCTATGGAGC R: ATAGAAACCGACTGGAT	~ 380	50
12SV5	F: TAGAACAGGCTCCTCTAG R: TTAGATACCCCACTATGC	~ 100	60

## 1.3 食物DNA扩增和测序

应用DNA宏条形码技术,选用脊椎动物通用引物12SV5-F/R(表1)进行食物DNA线粒体12S rRNA V5片段的扩增,扩增片段长度约为100 bp<sup>[23]</sup>。PCR反应程序:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,35个循环;72℃延伸10 min<sup>[24]</sup>。由生工生物工程(上海)股份有限公司测序(双端测序,Illumina HiSeq X Ten系统)。

## 1.4 东北虎食物组成数据统计分析

经过高通量测序获得的原始数据需通过修剪和质量控制步骤进行筛选。使用Usearch软件对扩增子序列进行合并、质量过滤、去重、去嵌合体 and 聚类等步骤。使用Unoise算法对测序错误、扩增错误序列进行校正,最后生成ZOTUs(zero-radius OTUs)<sup>[25-26]</sup>。序列的物种鉴定及分类原则包括:(1)比对结果一致度不低于98%时,最匹配序列只对应单一物种,且该物种在当地有分布时,认为序列来自该物种;(2)当比对结果一致度不低于98%,且最匹配序列对应多物种时,先排除当地无分布的物种,如仍对应不止一种,则鉴定结果记为涵盖这些物种的最小分类单元;(3)当比对结果一致度在95%~98%时,统计最高一致度且本地分布的物种,鉴定结果记为涵盖这些物种的最小分类单元;(4)舍弃一致度低于95%的序列;(5)合并差异小于2%的序列<sup>[27]</sup>。

基于物种鉴定和分类结果,使用出现频率(frequency of occurrence,  $F_o$ )和相对序列丰度(relative read abundance,  $R_{RA}$ )2个指标,估计东北虎的食物组成<sup>[28-29]</sup>。

$F_o$ 是含某一食物类别的样品数占总样品数的百分比,计算公式为

$$F_{o,i} = \frac{N_i}{N} \times 100\%。 \quad (1)$$

式中: $N_i$ 为出现*i*类食物的样品数, $N$ 为有效样品总数。

$R_{RA}$ 是某一食物类别的序列数占该样品总食物序列的百分比,计算公式为

$$R_{RA,i} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^T \frac{S_{i,j}}{\bigcup_{i=1}^T S_{i,j}} \times 100\%。 \quad (2)$$

式中: $T$ 为食物类别数, $N$ 为有效样品总数, $S_{i,j}$ 为食物类别*i*在样品*j*中的序列数。

被捕食猎物生物量修正公式<sup>[30]</sup>为

$$\hat{Y} = 1.980 + 0.035X。 \quad (3)$$

式中： $\hat{Y}$ 为被捕食猎物的修正后体质量(kg), $X$ 为猎物种的平均体质量(kg)。各类猎物平均体质量数据参考 Yang *et al.*<sup>[12]</sup>的研究。

生物贡献量的比例,计算公式为

$$D = \frac{Y_i \times A_i}{\sum(Y_i \times A_i)} \quad (4)$$

式中: $D$ 为猎物的相对生物量贡献, $Y_i$ 为第*i*种猎物的修正指数, $A_i$ 为第*i*种猎物的出现频率。

### 1.5 粪便取样部位对食性分析结果的影响分析

为探究粪便取样部位对东北虎食物组成分析结果的影响,人为将每个粪便样品划分出两端、中间、表层和里层部位,其中两端根据粪便样品的粗细分成上部 and 下部(一般粪便起始端较粗,划定为下部;终端较细,划定为上部)。然后选取上里(上部里层)、上外(上部表层)、中里(中部里层)、中外(中部表层)、下里(下部里层)和下外(下部表层)6个不同部位分别提取样品进行食性分析(图2)。

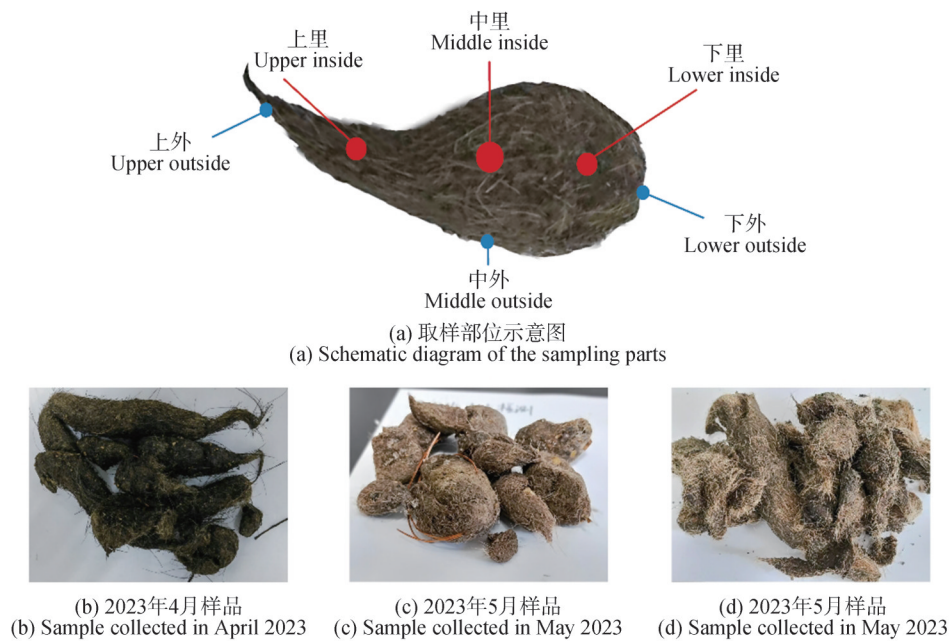


图2 粪便样品及取样部位示意图

Figure 2 Schematic diagram of faecal samples and sampling parts

通过6个不同部位的不同组合方案,获得上里、上外、中里、中外、下里、下外、里层、外层、两端、中部和所有部位混合相加11种组合取样方案,开展食物组成分析。最后,根据食性分析结果,使用 Mann-Whitney *U* 检验两两比较各取样方案之间检出的生物量和物种数量的差异显著性。

## 2 结果

经分子鉴定确认,2023年3—5月调查收集的6份疑似东北虎粪便样品均来源于东北虎。基于东北虎食物类群的物种累积箱型图(图3),随着粪便样品量的不断增加,样品中发现的物种数目不断增加,当粪便样品数量>5时,箱型图的位置便逐渐平稳,几乎处于同一水平,说明用于本研究的粪便样品量足够。

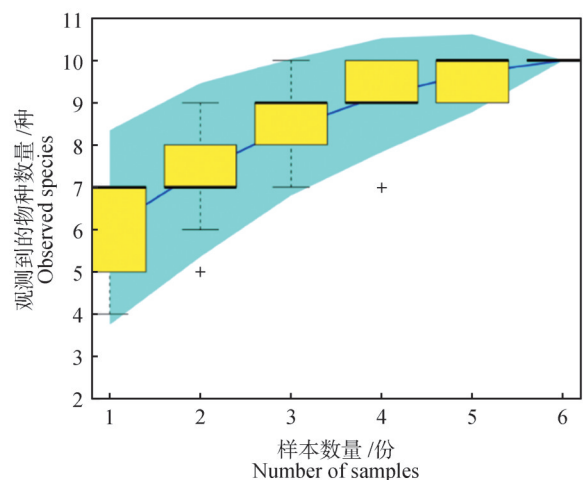


图3 基于东北虎食物类群的物种累积箱型图

Figure 3 Species accumulation boxplot of food groups based on Amur tiger

### 2.1 东北虎食物组成

通过 PCR 产物高通量测序对 6 份(每个样品包

含6个部位的全部结果)东北虎豹国家公园的东北虎粪便样品进行处理,共获得510 719条下机序列,平均每份样品获得85 120条序列。

共鉴定出10种食物类别,包括梅花鹿、野猪、豹、豹猫、貉(*Nyctereutes procyonoides*)、大林姬鼠(*Apodemus peninsulae*)、小飞鼠(*Pteromys volans*)、褐头山雀(*Poecile montanus*)、褐家鼠(*Rattus norvegicus*)和花尾榛鸡(*Tetrastes bonasia*)。分析结果表明,在所有食物

类别中,野猪是东北虎食谱中的主要成分,其出现频率和相对序列丰度分别为100.00%和42.660%。此外,梅花鹿和豹也是东北虎的重要取食对象,其出现频率和相对序列丰度分别为100.00%、34.690%和100.00%、22.130%。相比之下,褐家鼠和花尾榛鸡在东北虎食性中的比例较小,其序列仅在1份样品中有出现。综合而言,东北虎主要猎物的相对生物贡献量由高到低依次为野猪、梅花鹿、豹和豹猫(表2)。

表2 基于高通量测序技术的东北虎粪便样品(n=6)食性分析结果

Table 2 Prey species detected in the molecular diet analysis of Amur tiger fecal samples using high-throughput sequencing technology (n = 6)

猎物种类 Prey species	出现样品数量 / 个 No. of samples occurrence	出现频率 / % Frequency of occurrence	相对序列丰度 / % Relative read abundance	猎物平均体质量 / kg Mean prey body mass	相对生物贡献量 / % Relative biomass contribution
野猪 <i>Sus scrofa</i>	6	100.00	42.660	103.0	27.37
梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	6	100.00	34.690	95.0	26.00
豹 <i>Capreolus pygargus</i>	6	100.00	22.130	37.0	16.05
豹猫 <i>Prionailurus bengalensis</i>	6	100.00	0.480	4.0	10.39
貉 <i>Nyctereutes procyonoides</i>	4	66.67	0.004	6.0	7.15
大林姬鼠 <i>Apodemus peninsulae</i>	2	33.33	0.006	0.5	3.26
小飞鼠 <i>Pteromys volans</i>	2	33.33	0.003	0.5	3.26
褐头山雀 <i>Poecile montanus</i>	2	33.33	0.024	0.1	3.24
褐家鼠 <i>Rattus norvegicus</i>	1	16.67	0.000	1.2	1.65
花尾榛鸡 <i>Tetrastes bonasia</i>	1	16.67	0.001	0.5	1.63

2.2 不同取样部位食性结果的差异

差异性分析显示,独立部位取样和组合取样方案之间检出的不同食物相对生物贡献量均不存在显著差异(P > 0.05)(图4)。组合取样方案获得的食

物种数量[(6.50 ± 1.29)种]普遍高于独立部位取样方案,但只有组合取样包含所有部位时,其与独立部位取样的差异才存在显著性(P < 0.05)(图5)。

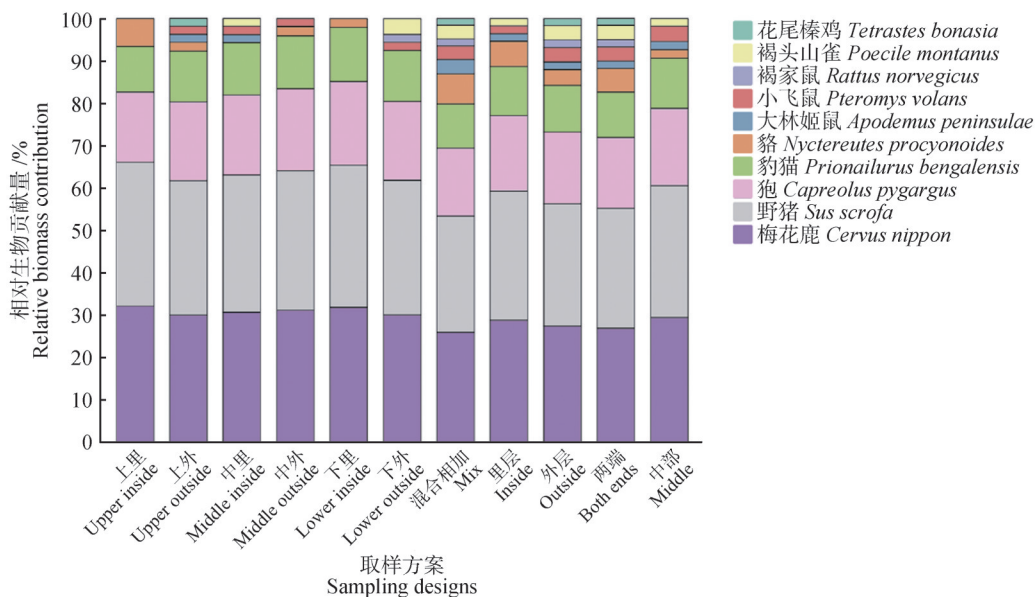
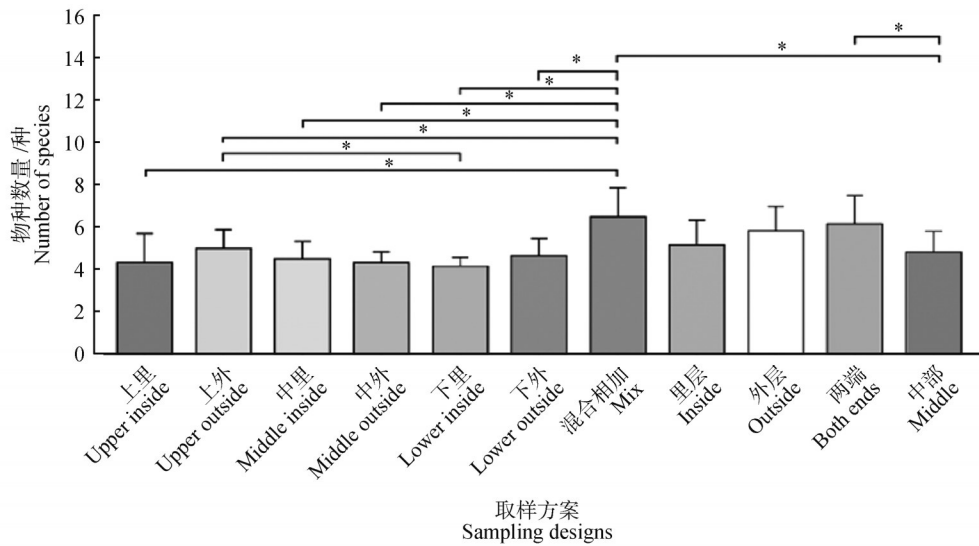


图4 东北虎粪便样品不同取样方案的相对生物贡献量

Figure 4 Relative biomass contribution for different sampling designs of Amur tiger faecal samples



\*. 差异的显著性水平为0.05。  
 \*. With a significance level of 0.05 for differences.

图5 东北虎粪便样品不同取样方案检出的物种数量及组间差异显著性

Figure 5 Number of species for different sampling designs of Amur tiger faecal samples, and the significance of differences between groups

对各类食物发现部位的比较分析发现,野猪、狍和梅花鹿作为东北虎的大宗食物,在各个取样部位几乎都

能够探测到,其他消遣性食物的发现部位则比较随机(表3),可能是导致组间物种数量差异显著的原因。

表3 东北虎粪便中消遣食物的发现部位

Table 3 Amur tiger faeces recreational foods discovery parts

猎物种类 Prey species	样品A Sample A	样品B Sample B	样品C Sample C	样品D Sample D	样品E Sample E	样品F Sample F
貉 <i>Nyctereutes procyonoides</i>	上里		上里, 上外	中外		上里, 下里
大林姬鼠 <i>Apodemus peninsulae</i>	中里				上外	
小飞鼠 <i>Pteromys volans</i>			中外, 下外	上外, 中里		
褐头山雀 <i>Poecile montanus</i>		下外, 中里				下外
褐家鼠 <i>Rattus norvegicus</i>			下外			
花尾榛鸡 <i>Tetrastes bonasia</i>				上外		

### 3 讨论

#### 3.1 东北虎食物组成特点

本研究显示东北虎春季的大宗食物为梅花鹿、野猪和狍等有蹄类动物,这与东北虎豹国家公园体制试点建设以前同区域内东北虎食性研究结果<sup>[12,31]</sup>一致。不同的是,3种有蹄类动物作为东北虎的大宗食物,其总体生物贡献量比例较于兰<sup>[31]</sup>的研究结果稍高,相较 Yang *et al.*<sup>[12]</sup>的研究结果则有所降低。单物种分析发现,相较于兰<sup>[31]</sup>和 Yang *et al.*<sup>[12]</sup>的研究,

梅花鹿的相对生物贡献量有明显增加,而野猪的相对生物贡献量低于其冬季数据。这可能是研究区域内有蹄类动物种群变化,导致猎物资源可获得性发生变化引起的。一方面,东北虎豹国家公园体制试点建设以及国家公园的正式成立有力地促进了大部分野生动物种群数量的快速恢复,这主要包括该地区分布的有蹄类动物<sup>[17]</sup>;另一方面,非洲猪瘟的传播可能对区域内野猪种群造成了一定的打击。尽管国内没有非洲猪瘟在野生野猪种群中传播的报道,但非洲猪瘟对野猪种群的危害,以及在圈内家猪和俄

罗斯远东地区野猪种群中的传播都是切实存在的<sup>[32]</sup>。同时,考虑到前期研究显示:尽管研究区域豹的种群数量更高,但东北虎依然更偏爱梅花鹿、野猪等大型有蹄类动物。野猪种群减少和梅花鹿种群增加可能是导致本研究中这两个物种在东北虎食性中的相对生物贡献量相较其他研究有明显变化的主要原因。

本研究相较于其他研究的另外一个主要差异在于,其他两项开展于2011—2016年和2014—2016年的研究均探测到东北虎对家畜的捕食<sup>[12,31]</sup>,特别是Gu *et al.*<sup>[33]</sup>的研究,家畜在东北虎食物组成中占有相当的比例,而本研究中并未探测到东北虎捕食家畜。东北虎豹国家公园建设之前,牲畜放牧是研究区域内常见的人为干扰类型之一,普遍存在于研究区域内,也是造成人虎冲突的主要因素<sup>[34-36]</sup>。自国家公园体制试点建设以来,对当地黄牛养殖采取了限额管理措施,并采取了执法和专项整治行动,禁止家畜进入国有林区。本研究未探测到东北虎捕食家畜,体现了这一政策在缓解人虎冲突方面的作用。

另外,本研究探测到东北虎对豹猫、啮齿类等中小型哺乳动物及鸟类等其他野生动物的捕食相较于其他研究有所增加,特别是对貉、豹猫等体型仅次于有蹄类动物的中级捕食者的捕食。笔者推测可能是家畜作为食物来源被限制后,东北虎通过捕食其他野生动物补充食物资源的结果。

季节性变化也可能是导致东北虎食物选择差异的主要因素。例如,亚洲狗獾(*Meles leucurus*)等冬眠动物作为东北虎的食物资源,其可获得性具有显著的季节差异,可能是本研究未探测到的主要原因。由于本研究与其他研究存在时间、季节等多方面的差异,无法准确确定季节对东北虎食物组成变化的影响效应。但本研究显示,有必要基于更广泛的样品量和更长的时间跨度,对东北虎食物组成的动态变化进行持续性监测和研究,以了解不同猎物资源条件下东北虎的取食策略,以更好地指导保护实践。

### 3.2 粪便样品取样部位对东北虎食物组成结果的影响效应

粪便样品在研究野生动物的遗传、疾病和食性方面具有重要意义,特别是对于濒危物种而言,粪便样品资源显得尤为宝贵。本研究结果显示,不同粪便样品的取样方案(部位)检出的东北虎食物的相对生物贡献量并无显著的组间差异。梅花鹿、野猪和

豹等作为大宗食物,在不同样品取样方案中所占的生物贡献量比例均较大,但也存在一定差异,梅花鹿、野猪的相对生物贡献量明显高于豹。中级捕食者、啮齿类和鸟类等作为消遣食物所占的生物贡献量比例很小。猎物的体质量是影响捕食者食物选择的重要因素,东北虎对梅花鹿、野猪和豹的选择可能是其体质量大,与中级捕食者、啮齿目和鸟类相比,能够给东北虎提供更高的能量收益。此外,多部位组合取样相较于独立部位取样往往能获得更多的猎物物种数量,且包括所有部位的组合取样与所有独立部位取样结果均存在显著差异。这些差异主要源于消遣食物种类在粪便中的不均匀分布(表3)。在动物食性研究中,偶然摄入和二次摄入现象构成了重要的误差来源,确定哪些分类群是被动物有意或无意地摄入是一项挑战<sup>[37]</sup>。研究人员在开展大型捕食者食性研究,特别是关注于消遣性食物的研究时,需要重视采样部位对结果的影响。

本研究不仅揭示了在无法使用完整粪便样品的情况下,特别是需要考虑稀有食物种类时,多部位混合取样是获取东北虎食物组成的最佳方法。同时,也提示关注粪便取样部位对于野生动物营养、遗传和疾病分析结果影响的必要性。随着粪便样品在野生动物生态学研究中的应用越来越广泛,只有持续优化实验设计和流程,采取可靠的取样方案来减少研究中的误差和不确定性<sup>[18]</sup>,才能获得更加严谨和可靠的研究结果及结论,推动生态学理论以及野生动物保护实践的发展。

## 4 结论

本研究中东北虎大宗食物种类与往年调查结果一致,但消遣食物种类存在差异,东北虎增加了对啮齿类、鸟类的捕食,但并没有发现其对家畜的摄入。同时,粪便不同取样部位间,食物的相对生物贡献量无显著差异;物种数量大部分存在显著差异,主要为消遣食物种类分布不均。综上,东北虎食性分析受到粪便不同取样部位的影响,在无法利用完整粪便样品的情况下,多部位混合取样是研究东北虎食物组成的最佳方法。因此,未来在进行东北虎等野生动物食物组成、种群遗传特征和肠道微生物等研究时,应注意不同粪便取样部位对分析结果的影响。

致谢: 本研究在样品野外采集过程中得到了琿

春东北虎国家级自然保护区工作人员以及国家林业和草原局猫科动物研究中心的大力支持,在此一并感谢!

### 参考文献:

- [1] 王小琪, 段子渊. 动物粪便中分子遗传信息的应用[J]. 四川动物, 2022, 41(6): 711-720.  
WANG X Q, DUAN Z Y. Application of molecular genetic information in animal feces[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2022, 41(6): 711-720.
- [2] BELLEMAIN E, SWENSON J E, TALLMON D, *et al.* Estimating population size of elusive animals with DNA from hunter-collected feces: four methods for brown bears [J]. Conservation Biology, 2005, 19(1): 150-161.
- [3] MONDOL S, BOOTH R K, WASSER S K. Fecal stress, nutrition and reproductive hormones for monitoring environmental impacts on tigers (*Panthera tigris*) [J]. Conservation Physiology, 2020, 8(1): coz091.
- [4] ANDO H, MUKAI H, KOMURA T, *et al.* Methodological trends and perspectives of animal dietary studies by noninvasive fecal DNA metabarcoding [J]. Environmental DNA, 2020, 2(4): 391-406.
- [5] PENG Z W, NING Y, LIU D, *et al.* Ascarid infection in wild Amur tigers (*Panthera tigris altaica*) in China [J]. BMC Veterinary Research, 2020, 16(1): 86.
- [6] BARTLETT S L, DIEHL D G, WANG L Y, *et al.* SARS-CoV-2 infection and longitudinal fecal screening in Malayan tigers (*Panthera tigris jacksoni*), Amur tigers (*Panthera tigris altaica*), and African lions (*Panthera leo krugeri*) at the Bronx Zoo, New York, USA [J]. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 2021, 51(4): 733-744.
- [7] 王凤昆, 李艳, 姜广顺. 东北虎栖息地历史分布、种群数量动态及其野化放归进展[J]. 野生动物学报, 2022, 43(4): 1119-1130.  
WANG F K, LI Y, JIANG G S. Historical distribution, population dynamics and reintroduction progress of the *Panthera tigris altaica* [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2022, 43(4): 1119-1130.
- [8] 蒋亚芳, 田静, 赵晶博, 等. 国家公园生态系统完整性的内涵及评价框架: 以东北虎豹国家公园为例[J]. 生物多样性, 2021, 29(10): 1279-1287.  
JIANG Y F, TIAN J, ZHAO J B, *et al.* The connotation and assessment framework of national park ecosystem integrity: a case study of the Amur Tiger and Leopard National Park [J]. Biodiversity Science, 2021, 29(10): 1279-1287.
- [9] 许群, 谢永华. 基于注意力机制融合多特征的东北虎个体自动跟踪方法[J]. 生物多样性, 2024, 32(3): 23409.  
XU Q, XIE Y H. Automatic individual tracking method of Amur tiger based on attention mechanism fusion of multiple features [J]. Biodiversity Science, 2024, 32(3): 23409.
- [10] QI J Z, GU J Y, NING Y, *et al.* Integrated assessments call for establishing a sustainable meta-population of Amur tigers in northeast Asia [J]. Biological Conservation, 2021, 261: 109250.
- [11] 周学红, 王强, 李星醇. 关键种、伞护种、旗舰种在保护生物学领域的研究与应用[J]. 陆地生态系统与保护学报, 2023, 3(6): 88-96.  
ZHOU X H, WANG Q, LI X C. Research and application of key-stone species, umbrella species and flagship species in the field of conservation biology [J]. Terrestrial Ecosystem and Conservation, 2023, 3(6): 88-96.
- [12] YANG H T, DOU H L, BANIIYA R K, *et al.* Seasonal food habits and prey selection of Amur tigers and Amur leopards in northeast China [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 6930.
- [13] NING Y, LIU D Q, GU J Y, *et al.* The genetic status and rescue measure for a geographically isolated population of Amur tigers [J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 8088.
- [14] NING Y, ROBERTS N J, QI J Z, *et al.* Inbreeding status and implications for Amur tigers [J]. Animal Conservation, 2022, 25(4): 521-531.
- [15] 杨波, 赖燕舞, 周强, 等. 大熊猫粪便皮质醇激素分布与取样对策[J]. 野生动物学报, 2022, 43(4): 1094-1099.  
YANG B, LAI Y W, ZHOU Q, *et al.* Distribution of fecal cortisol in giant panda and sampling strategies [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2022, 43(4): 1094-1099.
- [16] MIQUELLE D G, SMIRNOV E N, QUIGLEY H G, *et al.* Food habits of Amur tigers in Sikhote-Alin Zapovednik and the Russian Far East, and implications for conservation [J]. Journal of Wildlife Research, 1996, 1(2): 138-147.
- [17] 徐卫华, 臧振华, 杜傲, 等. 东北虎豹国家公园试点经验 [J]. 生物多样性, 2021, 29(3): 295-297.  
XU W H, ZANG Z H, DU A, *et al.* The experiences of Northeast China Tiger and Leopard National Park pilot [J]. Biodiversity Science, 2021, 29(3): 295-297.
- [18] 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): 5872-5895.
- [19] POMPANON F, DEAGLE B E, SYMONDSON W O C, *et al.* Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing [J]. Molecular Ecology, 2012, 21(8): 1931-1950.
- [20] 王宏新, 邵俊霖, 于姝婷, 等. 基于再野化理论的东北虎豹国家公园发展前瞻: 兼评荒野保护思想与实践 [J]. 自然资源学报, 2021, 36(11): 2955-2965.  
WANG H X, SHAO J L, YU S T, *et al.* Prospect of the development of Northeast Tiger and Leopard National Park based on the theory of rewilding: comments on the thought and practice of wilderness protection [J]. Journal of Natural Resources, 2021, 36(11): 2955-2965.
- [21] KRÜGER F, CLARE E L, SYMONDSON W O C, *et al.* Diet of the insectivorous bat *Pipistrellus nathusii* during autumn migration and summer residence [J]. Molecular Ecology, 2014, 23(15): 3672-3683.

- [22] SOININEN E M, VALENTINI A, COISSAC E, *et al.* Analysing diet of small herbivores: the efficiency of DNA barcoding coupled with high-throughput pyrosequencing for deciphering the composition of complex plant mixtures[J]. *Frontiers in Zoology*, 2009, 6: 16.
- [23] LU Q, CHENG C, XIAO L Y, *et al.* Food webs reveal coexistence mechanisms and community organization in carnivores[J]. *Current Biology*, 2023, 33(4): 647–659.
- [24] SHEHZAD W, RIAZ T, NAWAZ M A, *et al.* Carnivore diet analysis based on next-generation sequencing: application to the leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) in Pakistan[J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(8): 1951–1965.
- [25] EDGAR R C. UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing[EB/OL]. *BioRxiv* (2016-10-15) [2024-09-09]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/081257v1>.
- [26] BUKIN Y S, MIKHAILOV I S, PETROVA D P, *et al.* The effect of metabarcoding 18S rRNA region choice on diversity of microeukaryotes including phytoplankton[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2023, 39(9): 229.
- [27] XIONG M Y, WANG D J, BU H L, *et al.* Molecular dietary analysis of two sympatric felids in the mountains of southwest China biodiversity hotspot and conservation implications[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41909.
- [28] DEAGLE B E, THOMAS A C, MCINNES J C, *et al.* Counting with DNA in metabarcoding studies: How should we convert sequence reads to dietary data? [J]. *Molecular Ecology*, 2019, 28(2): 391–406.
- [29] 彭步青, 陶玲, 李靖, 等. 基于DNA宏条形码研究四川老君山国家级自然保护区6种同域共存小型哺乳动物的食性[J]. *生物多样性*, 2023, 31(4): 22474.
- PENG B Q, TAO L, LI J, *et al.* DNA metabarcoding dietary analysis of six sympatric small mammals at the Laojunshan National Nature Reserve, Sichuan Province[J]. *Biodiversity Science*, 2023, 31(4): 22474.
- [30] ACKERMAN B B, LINDZEY F G, HEMKER T P. Cougar food habits in southern Utah [J]. *The Journal of Wildlife Management*, 1984, 48(1): 147–155.
- [31] 于兰. 东北虎和豹的食物选择及其营养生态位研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2017.
- YU L. Research on food selection and nutrition niche of Amur tiger and leopard [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2017.
- [32] LUSKIN M S, MOORE J H, MENDES C P, *et al.* The mass mortality of Asia's native pigs induced by African swine fever [J]. *Wildlife Letters*, 2023, 1(1): 8–14.
- [33] GU J Y, YU L, HUA Y, *et al.* A comparison of food habits and prey preferences of Amur tiger (*Panthera tigris altaica*) at the southwest Primorskii Krai in Russia and Hunchun in China[J]. *Integrative Zoology*, 2018, 13(5): 595–603.
- [34] ROBERTS N J, ZHANG Y H, CONVERY I, *et al.* Cattle grazing effects on vegetation and wild ungulates in the forest ecosystem of a national park in northeastern China [J]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2021, 9: 680367.
- [35] FENG R N, LÜ X Y, XIAO W H, *et al.* Effects of free-ranging livestock on sympatric herbivores at fine spatiotemporal scales [J]. *Landscape Ecology*, 2021, 36(5): 1441–1457.
- [36] 朱逸晓, 王大伟, 李治霖, 等. 亚洲虎种群恢复的机遇与挑战[J]. *生物多样性*, 2022, 30(9): 22421.
- ZHU Y X, WANG D W, LI Z L, *et al.* Restoring tiger population in Asia: challenges, opportunities, and future prospects [J]. *Biodiversity Science*, 2022, 30(9): 22421.
- [37] XIONG M Y, SHAO X N, LONG Y, *et al.* Molecular analysis of vertebrates and plants in scats of leopard cats (*Prionailurus bengalensis*) in southwest China[J]. *Journal of Mammalogy*, 2016, 97(4): 1054–1064.