



# 基于高通量测序的贵州北部地区 红腿长吻松鼠秋季食性分析

陆荣华<sup>1,2</sup>, 杨舒晗<sup>1,2</sup>, 曹和琴<sup>1,2</sup>, 李光容<sup>3</sup>, 粟海军<sup>1,2\*</sup>

(1. 贵州大学林学院, 贵阳, 550025;  
2. 贵州大学生物多样性与自然保护研究中心, 贵阳, 550025;  
3. 贵州宽阔水国家级自然保护区管理局, 绥阳, 563300)

## 稿件运行过程

收稿日期: 2024-03-25

修回日期: 2024-04-25



**关键词:** 红腿长吻松鼠;  
高通量测序技术;  
食性;  
贵州北部地区

**Keywords:** Red-hipped squirrel (*Dremomys pyrrhomerus*);  
High-throughput sequencing  
technology;  
Dietary analysis;  
Northern Guizhou Province

中图分类号: Q958.1

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-04-0717-10

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240404

## 摘要

红腿长吻松鼠(*Dremomys pyrrhomerus*)是一种主要分布于我国的长吻松鼠,但对其生物学和生态学特征鲜有研究报道。为揭示红腿长吻松鼠的食物种类组成及其取食偏好,运用高通量测序技术对贵州北部地区采集的红腿长吻松鼠进行食性分析。结果表明:红腿长吻松鼠所食植物包含4门85科180属,动物包含3门59科71属,其中,胡桃科(Juglandaceae)、禾本科(Poaceae)、壳斗科(Fagaceae)、蔷薇科(Rosaceae)、鼠李科(Rhamnaceae)和樟科(Lauraceae)等是红腿长吻松鼠主要的植物性食物,而田螺科(Viviparidae)、蚌科(Unionidae)、剑水蚤科(Cyclopidae)、沼大蚊科(Limoniidae)、管蓟马科(Phlaeothripidae)和蠹科(Tettigoniidae)等是其主要的动物性食物。此外,不同性别红腿长吻松鼠的食性具有一定的差异性,雌性红腿长吻松鼠的食物多样性均高于雄性,雌性和雄性的植物性食物重叠度较高,而动物性食物重叠度较低。研究结果丰富了黔北喀斯特台原地区小型哺乳动物的摄食生态学。

## Autumn Dietary Analysis of Red-hipped Squirrel in Northern Guizhou Province Based on High-throughput Sequencing

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060307)

第一作者简介: 陆荣华(1997—),男,硕士研究生;主要从事鸟兽生态学研究。E-mail: 2052881101@qq.com

\* 通信作者: 粟海军, E-mail: hjsu@gzu.edu.cn

LU Ronghua<sup>1,2</sup>, YANG Shuhan<sup>1,2</sup>, CAO Heqin<sup>1,2</sup>, LI Guangrong<sup>3</sup>, SU Haijun<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang, 550025, China;

2. Research Center for Biodiversity and Nature Conservation of Guizhou University, Guiyang, 550025, China;

3. Administration Bureau for Kuankuoshui National Nature Reserve, Suiyang, 563300, China)

**Abstract:** The red-hipped squirrel (*Dremomys pyrrhomerus*) is mainly distributed in China. However, its biology and ecology were rarely reported. In order to reveal the diet composition and feeding preference of the red-hipped squirrel, high-throughput sequencing technology was used to analyze its dietary habits of the samples collected from the northern region of Guizhou Province. Plant species involved in four phyla, 85 families, 180 genera were identified as plant food sources, and animal species involved in three phyla, 59 families, 71 genera were identified as animal food sources. The plant species from Juglandaceae, Poaceae, Fagaceae, Rosaceae, Rhamnaceae, and Lauraceae were the main plant foods of the squirrel, and the animal species from Viviparidae, Unionidae, Cyclopidae, Limoniidae, Phlaeothripidae, and Tettigoniidae were the main animal food. There were some differences in the feeding habits of different sex squirrels, and the food diversity of female squirrels was higher than that of males. Principal coordinate analysis showed that female squirrels and male squirrels had higher overlap in plant food sources, but lower overlap in animal food sources. The results of this study enrich the feeding ecology of small mammals in the Karst Platform area of northern Guizhou Province.

掌握野生动物食性是进一步了解物种生物学和生态学特征的基础内容<sup>[1]</sup>。通过食性分析不仅可以直接了解动物的食物组成和取食偏好,还能反映动物的生存状况、营养策略、生境需求和资源利用状况等信息<sup>[2-4]</sup>。因此,掌握动物的食性及其生态适应策略,是了解动物与环境之间相互关系、开展种群生态学研究的前提<sup>[5-6]</sup>。

红腿长吻松鼠(*Dremomys pyrrhomerus*)隶属于松鼠科(Sciuridae)丽松鼠亚科(Callosciurinae)长吻松鼠属(*Dremomys*),是广泛分布于我国南方各省森林的一种昼行性、半树栖的杂食性小型哺乳动物,其种群量大、适应性强、贮食行为发达,在森林生态系统恢复过程中起着非常重要的作用,是影响森林生态平衡的重要动物之一<sup>[7-8]</sup>。迄今为止,对于红腿长吻松鼠的研究主要见于系统发生、物种厘定及红外相机监测报告等<sup>[9-12]</sup>,其食性方面尚未见较详细的报道。食性研究方法的精确性直接关系到该类动物资源科学管理的水平<sup>[13]</sup>。对啮齿类动物食性研究的方法多为直接观察法、解剖法、粪便显微组织分析法和胃容物分析法等,其中,胃容物分析法是国内外研究啮齿动物食性的主要方法<sup>[5,14]</sup>。传统的胃容物检测方法形态鉴定的工作强度大,且易受

食物类型和消化情况的影响,鉴定结果的效率和准确性较低<sup>[15]</sup>。相比于传统的食性形态学分析方法,高通量测序技术具有检测灵敏、样本量少和精确度高等优点<sup>[16]</sup>。目前该技术已逐渐成为分析动物食性的热门手段之一,被广泛应用于各种野生动物的食性研究中<sup>[17-20]</sup>。因此,为准确揭示红腿长吻松鼠的食性,以黔北地区的红腿长吻松鼠为研究对象,运用高通量测序技术,分析其食性组成,以期在丰富黔北喀斯特台原地区小型哺乳动物的摄食生态学认知的同时,为今后深入研究这类物种提供基础资料。

## 1 研究区概况

研究对象采自贵州省北部遵义市绥阳县的旺草镇(28°13'—28°19' N, 107°9'—107°13' E)。采样地位于贵州宽阔水国家级自然保护区的中心区域。宽阔水国家级自然保护区是黔北喀斯特台原区及其周边峡谷区森林生态系统保存最好、生物多样性最丰富的区域之一,海拔650~1762 m,属亚热带季风性气候,常年气温较低,云雾多,日照少,具有低纬度山地湿润性气候特点,年均气温11.7~15.2℃,年降水量1300~1350 mm,相对湿度超过80%。地貌为典型的喀斯特台原地貌,土壤以黄棕

壤和黄壤为主。保护区水热条件良好,森林植被主体为光叶水青冈(*Fagus lucida*)林与常绿阔叶树种构成的落叶常绿阔叶混交林,优势植被群落主要以壳斗科(Fagaceae)、樟科(Lauraceae)和杜鹃花科(Ericaceae)等为主<sup>[11]</sup>。区内珍稀濒危动植物资源十分丰富,分布有黑叶猴(*Trachypithecus francoisi*)、红腹锦鸡(*Chrysolophus pictus*)、南方红豆杉(*Taxus wallichiana* var. *mairii*)和珙桐(*Davidia involucrata*)等国家重点保护野生动植物;其他生物资源也十分丰富,保护区现已记录高等植物、浮游植物、脊椎动物、节肢动物和软体动物等生物资源近4 000种,同时,保护区内也广泛种植粮食作物,如水稻、玉米和大豆等<sup>[21][41-47],[22]</sup>。

## 2 研究方法

### 2.1 野外样本采集

于2022年秋季(9—11月)在黔北绥阳县旺草镇北部林区的3个不同斑块(图1)采用笼捕法共获取12只红腿长吻松鼠成年个体。研究已通过贵州大学动物实验伦理委员会的审查(批件号:EAE-GZU-2020-7011)。样本经CO<sub>2</sub>气体处死后,进行常规生物学测量(性别、体质量、体长、前足长、后足长、头长和尾长),随后立即解剖,取胃置于5%的福尔马林溶液中固定<sup>[23]</sup>,放入冰箱-80℃保存,以备后续DNA的提取。测定的样本信息见表1。

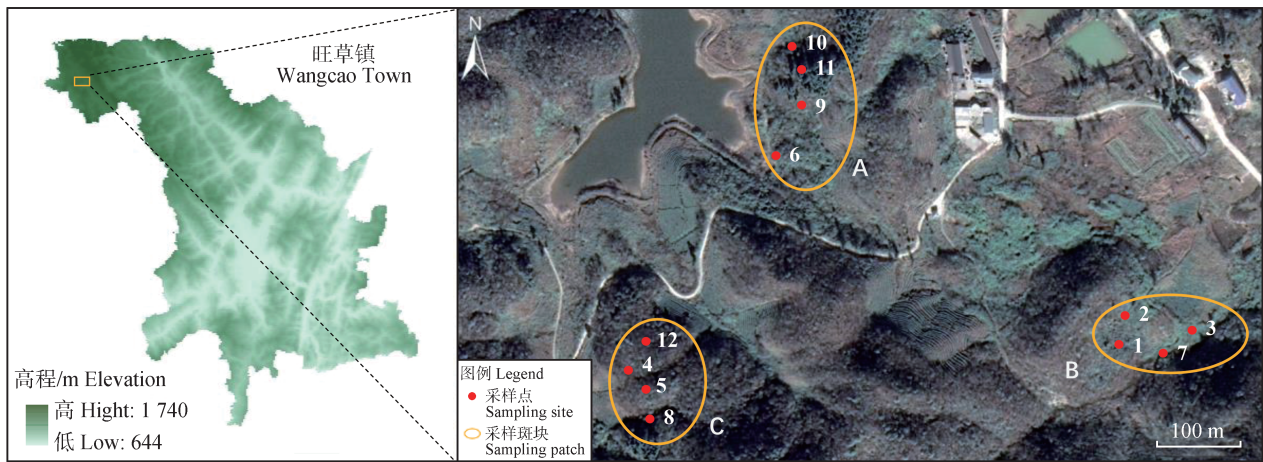


图1 研究区位置

Fig. 1 Location map of the study area

表1 红腿长吻松鼠样本信息

Tab. 1 Information on body characteristics of *Dremomys pyrrhomerus*

| 斑块<br>Patch     | 编号<br>Number | 性别<br>Sex | 体质量/g<br>Body mass | 体长/mm<br>Body length | 前足长/mm<br>Fore foot length | 后足长/mm<br>Hind foot length | 头长/mm<br>Head length | 尾长/mm<br>Tail length |
|-----------------|--------------|-----------|--------------------|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
|                 | HT06         | ♂         | 214.74             | 213.74               | 29.63                      | 42.43                      | 59.07                | 121.45               |
| 斑块 A<br>Patch A | HT09         | ♀         | 223.63             | 212.44               | 30.81                      | 48.31                      | 60.61                | 164.76               |
|                 | HT10         | ♀         | 243.98             | 205.24               | 32.38                      | 49.14                      | 59.27                | 119.94               |
|                 | HT11         | ♀         | 225.88             | 210.92               | 30.38                      | 47.84                      | 60.43                | 147.96               |
|                 | HT01         | ♂         | 202.85             | 197.87               | 29.56                      | 41.07                      | 59.41                | 124.69               |
| 斑块 B<br>Patch B | HT02         | ♀         | 228.03             | 213.11               | 31.37                      | 45.24                      | 60.64                | 141.87               |
|                 | HT03         | ♂         | 238.41             | 198.11               | 31.15                      | 46.60                      | 60.61                | 164.65               |
|                 | HT07         | ♀         | 286.87             | 213.49               | 29.71                      | 46.95                      | 62.49                | 102.30               |
| 斑块 C<br>Patch C | HT04         | ♀         | 147.20             | 179.03               | 30.18                      | 48.77                      | 56.63                | 149.03               |
|                 | HT05         | ♀         | 231.30             | 180.18               | 31.48                      | 47.54                      | 59.68                | 154.96               |
|                 | HT08         | ♂         | 256.61             | 250.18               | 29.44                      | 47.15                      | 61.31                | 156.10               |
|                 | HT12         | ♂         | 110.13             | 163.98               | 28.94                      | 46.84                      | 52.45                | 143.73               |

## 2.2 胃内容物基因组DNA的提取

根据 E. Z. N. A. Soil DNA kit(D5625-01)说明书对红腿长吻松鼠胃内容物进行DNA抽提,配制1.2%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA的提取质量,并用NanoDrop2000超微量分光光度计测定DNA浓度和纯度。

## 2.3 目的基因片段的PCR扩增与测序

分别选用线粒体 *COI* 和叶绿体 *rbcL* 鉴定动植物性食物。叶绿体 *rbcL* 基因扩增使用引物 Z1aF(5'-ATGTCACCACCAACAGAGACTAAAGC-3') 和 hp2R(5'-CGTCCTTTGTAACGATCAAG-3')。线粒体 *COI* 基因扩增使用引物 intF(5'-GGWACWGGWTGAA CWGTWTAYCCYCC-3') 和 *COI* jgHCO2198(5'-TANACYTCNGGRTGNCCRAARAAYCA-3')。PCR反应总体系 25.00  $\mu$ L, 其中包括 5  $\times$  reaction buffer 5.00  $\mu$ L, 5  $\times$  GC buffer 5.00  $\mu$ L, dNTP(2.5 mmol/L) 2.00  $\mu$ L, 正、反向引物(10  $\mu$ mol/L) 各 1.00  $\mu$ L, DNA 模板 2.00  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 8.75  $\mu$ L, Q5 DNA Polymerase 0.25  $\mu$ L。扩增 *rbcL* 和 *COI* 基因片段反应程序: 98  $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 98  $^{\circ}$ C 变性 15 s, 55  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 30 个循环; 72  $^{\circ}$ C 再延伸 5 min, 10  $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 采用 DNA 纯化磁珠(Vazyme VAHTS™ DNA Clean Beads)对 PCR 扩增产物纯化回收。将 PCR 扩增回收产物进行荧光定量, 荧光试剂为 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit, 定量仪器为 Microplate Reader (BioTek, FL  $\times$  800)。按照每个样本的测序量需求, 对各样本按相应比例混合, 然后送上海派森诺生物科技股份有限公司测序。

## 2.4 数据处理与分析

首先检测原始下机数据的质量, 通过质量初筛的原始序列按照 index 和 barcode 信息, 进行文库和样本划分, 并去除 barcode 序列。使用 Vsearch(v2.13.4) 软件去引物、拼接、质量过滤、去重和去嵌合体获得高质量序列。应用 QIIME2 软件对序列按照 97% 的序列相似度归并和操作分类单元聚类分析, 产生 OTU 表并与 Silva 数据库(Release132, <http://www.arb-silva.de>)、Greengenes 数据库(Release13.8, <http://greengenes.secondgenome.com>) 比对分类分析。

使用 QIIME2 软件获取各样本在科属分类水平上的食物组成和相对丰度(relative abundance, RA),

揭示红腿长吻松鼠的食性组成。在进行食性分析时, 采用相对丰度和出现频率(frequency of occurrence, FO)两个指标综合评估红腿长吻松鼠食物构成<sup>[24]</sup>。为比较雌、雄红腿长吻松鼠食物组成的差异, 使用物种丰富度 Chao1 指数、Ace 指数以及物种多样性 Shannon 指数、Simpson 指数, 计算食物组成的  $\alpha$  多样性。采用 Mann-Whitney *U* 检验比较红腿长吻松鼠食物组成  $\alpha$  多样性的性别差异, 显著性水平  $\alpha = 0.05$ , 用 SPSS 26.0 软件统计分析。采用主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA), 选择 Bray-Curtis 距离算法开展不同性别红腿长吻松鼠的  $\beta$  多样性分析, 分析在 R 4.3.0 中实现。

## 3 结果

### 3.1 OTU 划分与分类地位鉴定

分别选取红腿长吻松鼠叶绿体 *rbcL* 基因片段、线粒体 *COI* 基因片段, 对其胃内容物的植物组成和动物组成进行组分分析鉴定。在植物鉴定中, 从 12 个样品中共获得目的片段 1 487 702 条, 样本序列为 86 849 ~ 153 085 条, 平均长度 280 bp, 以 97% 相似度进行聚类共得到 721 个 OTU。在动物鉴定中, 共从 12 个样品中获得目的片段 979 575 条, 样品的序列数最低为 51 165 条, 最高为 121 604 条, 平均长度 320 bp, 按 97% 相似度进行聚类得到 859 个 OTU。

### 3.2 红腿长吻松鼠食物组成

红腿长吻松鼠的食性较为复杂, 剔除自身序列和无法鉴定且数量较少的序列优化筛选后, 将其食物来源分为植物性食物和动物性食物。

从植物性食物成分上看, 从 12 只红腿长吻松鼠个体的胃内容物样品中, 共鉴定植物种类 4 门 42 目 85 科 180 属。在科水平上(图 2), 相对丰度 > 1% 的植物科有 11 个, 分别为胡桃科(Juglandaceae)、禾本科(Poaceae)、壳斗科、蔷薇科(Rosaceae)、鼠李科(Rhamnaceae)、樟科、柳叶藓科(Amblystegiaceae)、猕猴桃科(Actinidiaceae)、山茱萸科(Cornaceae)、桦木科(Betulaceae)和菊科(Asteraceae), 其中以胡桃科、禾本科和壳斗科为主要的植物性食物, 分别占比 27.45%、16.67% 和 11.92%, 植物性食物的出现频率均较高, 其中胡桃科、禾本科、壳斗科、蔷薇科、樟科和桦木科的出现频率为 100%, 而菊科、杨梅科(Myricaceae)和桤木科(Clethraceae)出现频率为 75%。

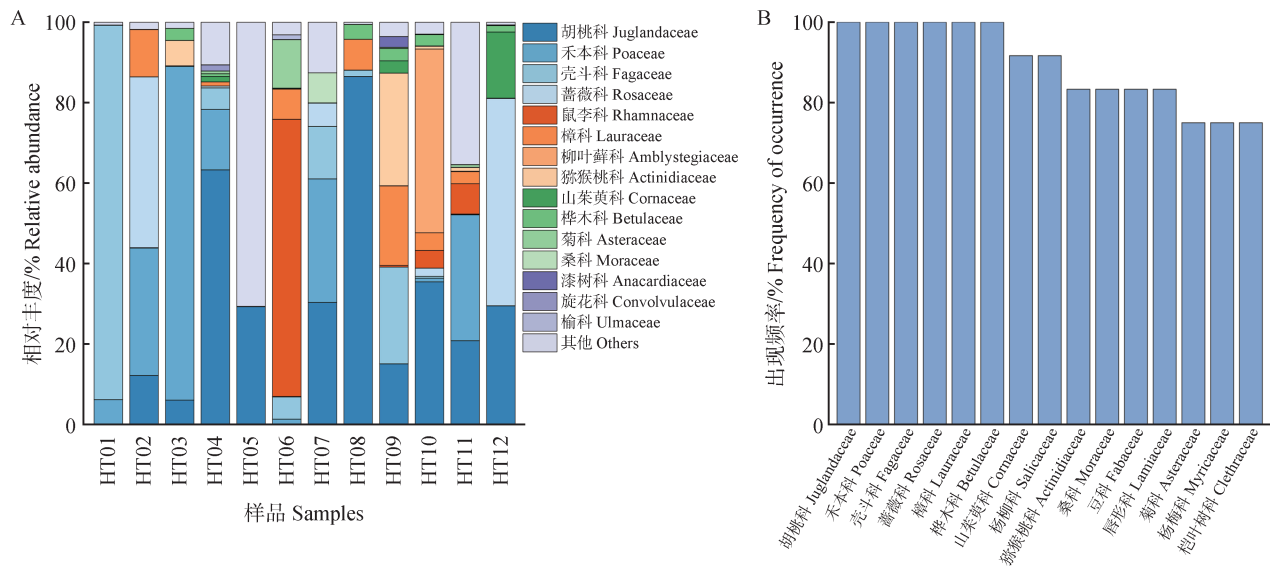


图2 红腿长吻松鼠胃容物样品中相对丰度(A)和出现频率(B)最高的15科植物

Fig. 2 The top 15 plant families with the highest relative abundance (A) and frequency of occurrence (B) in the samples of stomach content of *Dremomys pyrrhomerus*

在属水平上(图3),相对丰度 > 10%的植物为胡桃属 (*Juglans*)、栗属 (*Castanea*) 和白茅属 (*Imperata*),相对丰度分别为27.28%、11.84%和10.67%。枣属 (*Ziziphus*)、玉蜀黍属 (*Zea*)、柃子属 (*Cotoneaster*)、山胡椒属 (*Lindera*)、*Sarmentypnum*、悬钩子属

(*Rubus*)、猕猴桃属 (*Actinidia*)、山茱萸属 (*Cornus*) 和鹅耳枥属 (*Carpinus*) 也是红腿长吻松鼠的主要采食属。出现频率最高的属为胡桃属、栗属、白茅属、山胡椒属、青钱柳属 (*Cyclocarya*) 和桦木属 (*Betula*), 出现频率均为100%。

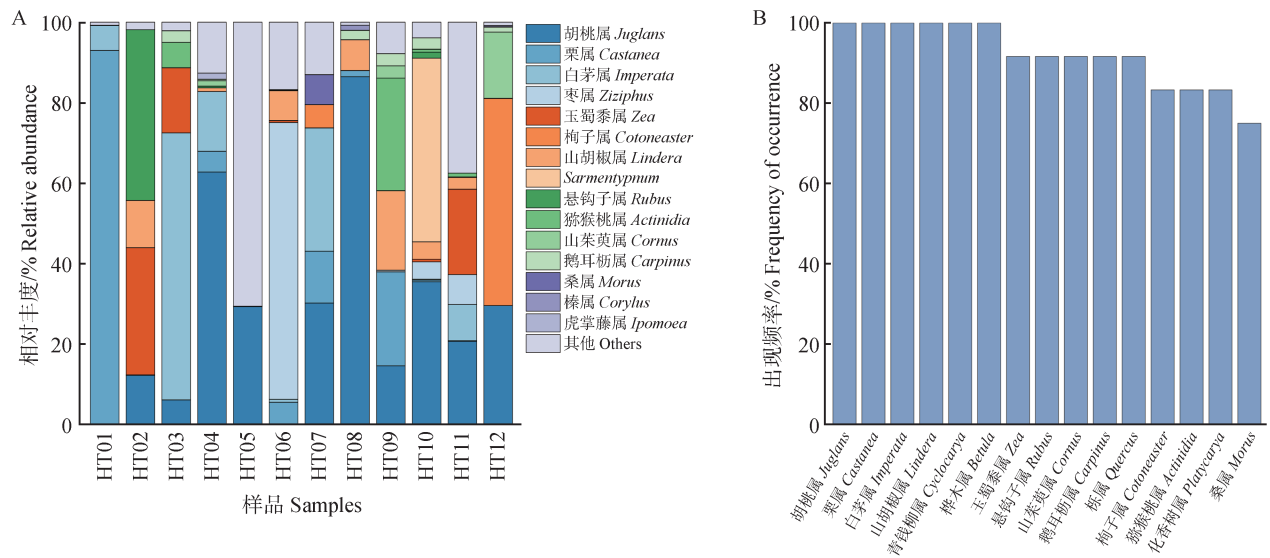


图3 红腿长吻松鼠胃容物样品中相对丰度(A)和出现频率(B)最高的15属植物

Fig. 3 The top 15 plant genus with the highest relative abundance (A) and frequency of occurrence (B) in the samples of stomach content of *Dremomys pyrrhomerus*

从动物性食物成分上看,共鉴定出摄食的动物种类分属于3个门,分别为软体动物门(Mollusca)、节肢动物门(Arthropoda)和脊索动物门(Chordata),包括24目59科71属。在科水平上(图4),无脊椎动

物是红腿长吻松鼠最常见的食物种类,相对丰度排在前10位的动物为田螺科(Viviparidae)、蚌科(Unionidae)、剑水蚤科(Cyclopidae)、沼大蚊科(Limoniidae)、管蓟马科(Phlaeothripidae)、蠹斯科(Tetti-

goniidae)、裳夜蛾科(Erebidae)、溞科(Daphniidae)、眼蕈蚊科(Sciaridae)和象甲科(Curculionidae),相对丰度分别为4.26%、4.14%、3.46%、2.97%、2.18%、1.61%、1.50%、1.47%、1.39%和1.27%。动物性食

物的出现频率均较低,其中出现频率最高的为剑水蚤科,占比58.33%,而田螺科、蚌科、螽斯科、摇蚊科(Chironomidae)、蚊科(Culicidae)和果蝇科(Drosophilidae)的出现频率仅为33.34%。

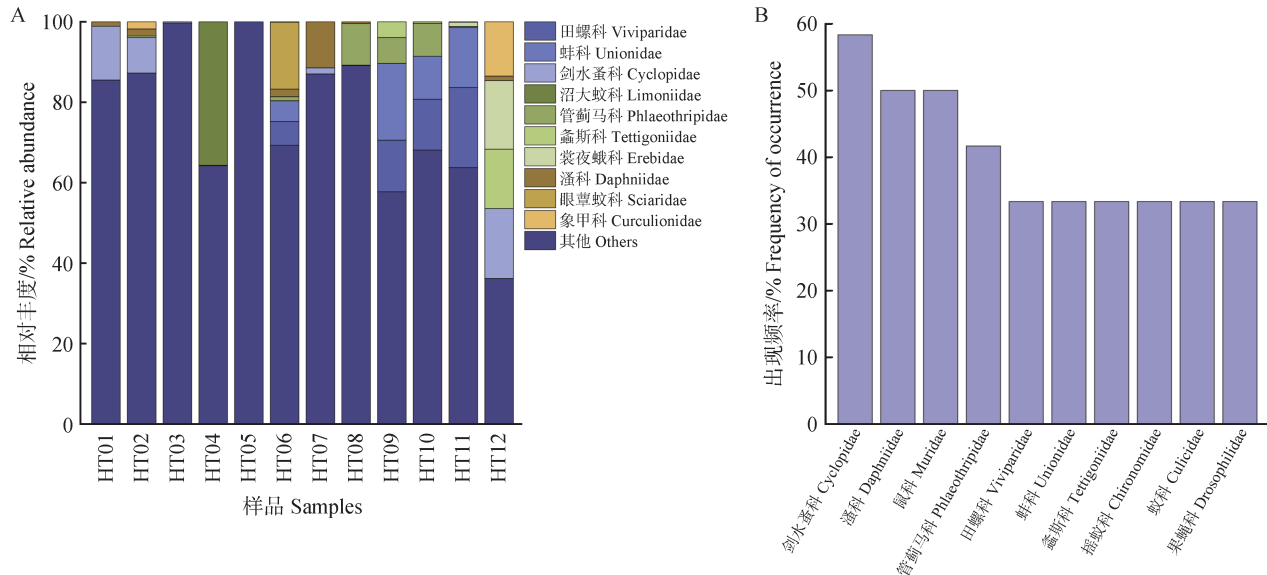


图4 科水平上红腿长吻松鼠胃容物样品中动物性食物相对丰度(A)和出现频率(B)

Fig. 4 Relative abundance (A) and frequency of occurrence (B) of animal food source in stomach contents samples of *Dremomys pyrrhomerus* at family level

在属水平上(图5),相对丰度排在前10位的为石田螺属(*Sinotaia*)、*Polymera*、矛蚌属(*Lanceolaria*)、简管蓟马属(*Haplothrips*)、剑水蚤属(*Cyclops*)、温剑水蚤属(*Thermocyclops*)、*Homoeocera*、溞属(*Daphnia*)、迟螽属(*Lipotactes*)和*Nodularia*,相对丰度分别

为4.25%、2.97%、2.89%、2.18%、2.01%、1.42%、1.41%、1.31%、1.25%和1.25%。出现频率较高的为剑水蚤属、大鼠属(*Berylmys*)、简管蓟马属和溞属,出现频率分别为50.00%、50.00%、41.67%和41.67%。

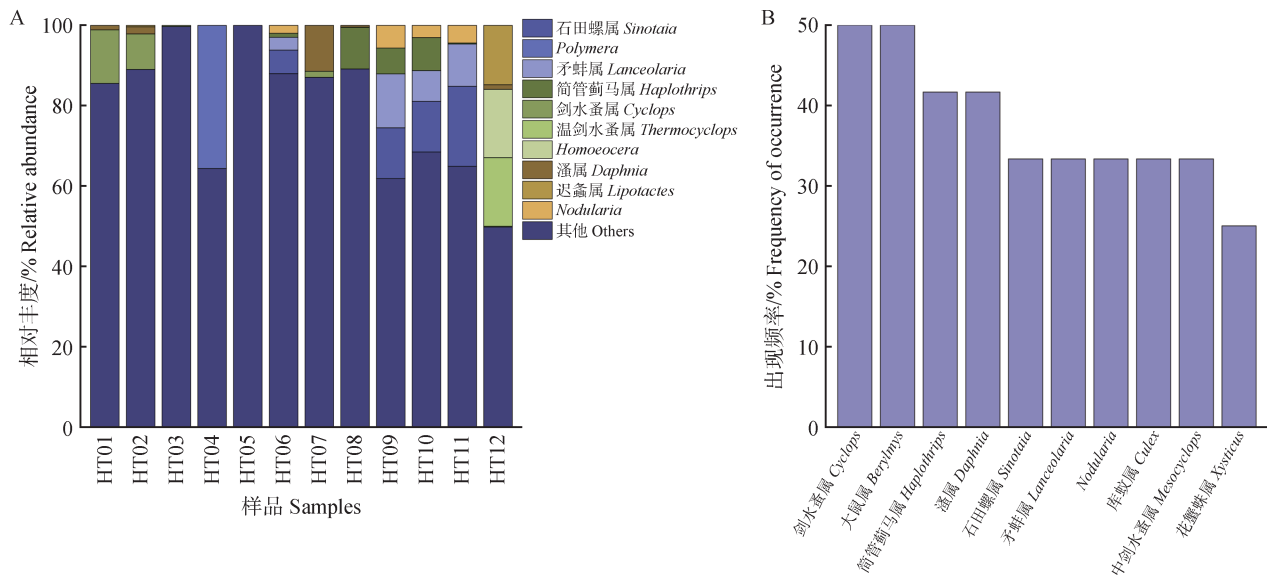


图5 属水平上红腿长吻松鼠胃容物样品中动物性食物相对丰度(A)和出现频率(B)

Fig. 5 Relative abundance (A) and frequency of occurrence (B) of animal food source in stomach contents samples of *Dremomys pyrrhomerus* at genus level

### 3.3 红腿长吻松鼠食物组成多样性的性别差异

红腿长吻松鼠胃容物样品的 $\alpha$ 多样性指数(Chao1、ACE、Shannon和Simpson)计算结果显示,雌雄红腿长吻松鼠的食物多样性存在一定的差异(表2)。雌性红腿长吻松鼠的Chao1、ACE、Shannon和Simpson指数均高于雄红腿长吻松鼠,其中,植物性

食物的各项指标均呈显著性差异。雌性和雄性红腿长吻松鼠的动物性食物的 $\alpha$ 多样性指数差异并不显著(表2)。基于Bray-Curtis距离算法的PCoA分析结果显示(图6),不同性别红腿长吻松鼠胃容物样品食物组成存在一定的重叠,植物性食物的重叠度较高,动物性食物的重叠度较低,均未呈现显著差异。

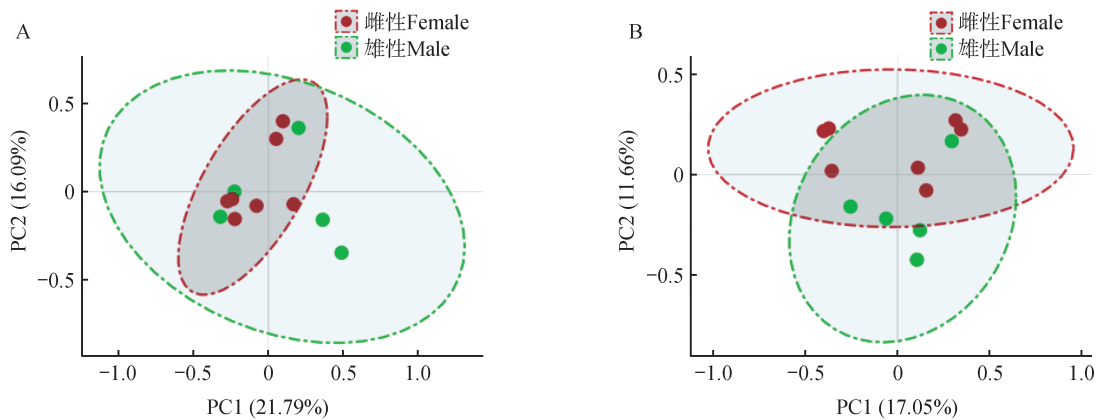
表2 红腿长吻松鼠胃容物样品中 $\alpha$ 多样性指数

Tab. 2 The  $\alpha$ -diversity indices of *Dremomys pyrrhomerus* stomach contents

| 食物类型<br>Food type            | 性别<br>Sex           | Chao1 指数<br>Chao1 index | ACE 指数<br>ACE index | Shannon 指数<br>Shannon index | Simpson 指数<br>Simpson index |
|------------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 植物性食物<br>Plant food sources  | ♀                   | 178.77 ± 74.07          | 183.95 ± 73.13      | 1.66 ± 0.25                 | 0.71 ± 0.08                 |
|                              | ♂                   | 99.89 ± 53.29           | 103.65 ± 54.10      | 0.96 ± 0.40                 | 0.42 ± 0.19                 |
|                              | Mann-Whitney U test | W = 20, P = 0.048*      | W = 19, P = 0.030*  | W = 16, P = 0.005*          | W = 16, P = 0.005*          |
| 动物性食物<br>Animal food sources | ♀                   | 87.38 ± 37.28           | 99.75 ± 45.47       | 3.31 ± 0.57                 | 0.92 ± 0.04                 |
|                              | ♂                   | 70.66 ± 44.04           | 83.34 ± 52.20       | 2.49 ± 0.88                 | 0.79 ± 0.23                 |
|                              | Mann-Whitney U test | W = 28, P = 0.530       | W = 29, P = 0.639   | W = 22, P = 0.106           | W = 24, P = 0.202           |

注:  $\alpha$ 多样性指数数值均以平均值 ± 标准差的形式呈现,\*表示差异显著(P < 0.05)。

Note:  $\alpha$ -diversity index values in the table were presented as mean ± SD, \* indicates significant difference at P < 0.05.



A. 植物性食物; B. 动物性植物。

A. Plant food sources; B. Animal food sources.

图6 不同性别红腿长吻松鼠食物组成主坐标分析结果

Fig. 6 PCoA analysis for male and female *Dremomys pyrrhomerus*

## 4 讨论

### 4.1 红腿长吻松鼠食性特征

本研究利用高通量测序技术首次系统报告了贵州北部地区红腿长吻松鼠的食性。结果显示,红腿长吻松鼠具有极为丰富多样的食谱,摄食对象涵盖种子植物、苔藓植物、节肢动物、软体动物和浮游动物等多个生物类群,红腿长吻松鼠展现了较为典型的杂食性特征。与其他使用传统形态学进行松鼠科

动物食性的研究<sup>[25-27]</sup>相比较,本研究食性分析结果获得了分辨率更高的动植物食物图谱。从具体植物性食物成分上看,胡桃科、禾本科和壳斗科等植物是红腿长吻松鼠最主要的秋季食物种类,主要原因是这些植物资源易获取,产量大,取食成本低。本研究采样地位于宽阔水保护区,该区域植被类型主要为中亚热带常绿落叶阔叶混交林,壳斗科和樟科为主要植物种类,并伴有胡桃科、蔷薇科和禾本科等植物,光叶水青冈、茅栗(*Castanea seguinii*)、胡桃楸

(*Juglans mandshurica*) 和黑壳楠 (*Lindera megaphylla*) 等植物在研究区内分布广且数量多<sup>[21,27-30]</sup>。这些分布较多的植物为红腿长吻松鼠提供了丰富的食物来源。植物蛋白质、脂肪、纤维素及其他营养成分对啮齿动物的行为和生理都有不同程度的影响,一般来说,动物通常会选择营养含量高的食物<sup>[28]</sup>。适口性也是影响动物食性的一个十分重要的因素<sup>[29]</sup>。本研究结果发现,在红腿长吻松鼠食物组成中蔷薇科和猕猴桃科植物亦占有较大的比例,可能是这类植物营养丰富,同时具有较好的适口性,使得它们成为红腿长吻松鼠秋季主要食物选择之一。有研究表明,许多松鼠会盗食农作物(玉米、小麦等)<sup>[30-31]</sup>。在本研究中,也检测到一定丰度的禾本科的玉蜀黍属、稻属(*Oryza*)等植物,说明红腿长吻松鼠有盗食作物的行为,而本次采样时间也正值当地玉米、水稻等农作物成熟的时期。本研究发现,红腿长吻松鼠摄食植物中的 *Sarmentypnum* 属目前在我国只有云南省有记录,而贵州地区暂无分布记录。这可能是当前对该属物种缺乏研究,相关报道较少,也可能是物种注释的问题,采用97%序列相似度标准进行物种归并分析,可能影响了高通量测序在某些物种鉴别方面的精准度,导致对该属的分类辨识不够清晰,被归并到近缘属种。在摄食动物性食物中,也存在类似现象。

从动物性食物成分上看,共鉴定出摄食的动物种类包括无脊椎动物(软体动物、节肢动物)和脊索动物。无脊椎动物被红腿长吻松鼠频繁采食,是其最主要的动物性食物来源。值得注意的是,多个样本中检测到一定丰度的贝类动物,可能与食物的可获得性有关。采样地靠近水库,有大量贝类动物,且采样时间刚好处于水库的枯水期会有许多贝类搁浅在水库周边,且体型较大的贝类的脂肪含量比其他类群高。选择资源量丰富且易获得的食物意味着取食容易,即在觅食过程中以最小的能量投入获取最大的收益,这种取食策略符合最优觅食选择<sup>[32]</sup>。很多研究已经证实:昆虫是松鼠科动物最重要的动物性食物资源之一,在山西芦芽山国家级自然保护区,岩松鼠(*Sciurotamias davidianus*)胃内容物中约10%为昆虫<sup>[30]</sup>;金志民等<sup>[26]</sup>在我国黑龙江林区通过解剖观察北松鼠(*Sciurus vulgaris*)和花鼠(*Tamias sibiricus*)胃内容物研究其食性时,也发现它们频繁取食昆虫。在本研究中,沼大蚊科、管蓟马科、蠹斯科和

裳夜蛾科等昆虫类动物也是红腿长吻松鼠的主要取食对象。此外,引物还扩增出了剑水蚤科等浮游动物序列,这类动物体型细小,大多数用肉眼看不见,传统形态学方法难以鉴定,而高通量测序技术有不受消化作用限制且有极高的灵敏度和准确性的优点,能够以更高的检出率鉴别出传统形态学食性分析方法难以鉴别出的食物种类。Bradley<sup>[33]</sup>对美国西部地区羚羊地松鼠(*Ammospermophilus leucurus*)的食性研究发现,啮齿类动物美洲黄鼠(*Spermophilus tereticaudus*)和食蝗鼠(*Onychomys torridus*)等的遗骸全年都在其胃中被发现;周宏力等<sup>[25]</sup>也在小兴安岭地区松鼠的粪便中发现含有鼠类毛样及小型动物骨骼。本研究在部分样品中也检测到鼠科(*Muridae*)动物的存在,说明红腿长吻松鼠会捕食一些小型脊椎动物,此外还检测到大量红腿长吻松鼠自身DNA序列,这些序列可能是取样时刮到了其胃内壁组织,导致在后续DNA提取中被大量检出;另外可能是在DNA提取的过程中,自身基因对试验结果的影响。类似的研究结果也在Deagle *et al.*<sup>[34]</sup>及徐静静等<sup>[15]</sup>的研究中被发现。总而言之,红腿长吻松鼠食性主要依赖于环境中食物的丰富度、种类及可利用程度,其食性也会随着生境可获得资源的不同而有所调整。

#### 4.2 雌雄红腿长吻松鼠食物组成多样性差异

不同性别动物的食性差异反映动物在不同生长阶段上对营养的不同需要<sup>[35]</sup>。 $\alpha$ 多样性分析发现,不同性别红腿长吻松鼠的食性总体相似而在种类组成上略有差异,雌性的植物性食物的丰富度和多样性均高于雄性,动物性食物的丰富度亦如此。笔者解剖样本时发现妊娠情况,说明秋季是红腿长吻松鼠的繁殖季,雌性为了在相对较小的领域内维持生长和繁殖的高能量消耗被迫拓宽食谱,也有可能是竞争不敌雄性而导致扩大范围寻找食物,所以雌性样本的食物组成多样性更为丰富。

本研究初步揭示了黔北地区红腿长吻松鼠的食物种类组成,为该物种营养生态学研究积累了重要的基础数据。同时,也证实了高通量测序技术在啮齿类动物食性研究中的可行性,为今后同类动物的食性研究提供了方法借鉴。当然,与传统方法相比,高通量测序技术也存在一些不足之处:第一,高通量测序可能鉴定出额外的食物分类单元,因为其难以区分食物是被直接摄食进入肠胃中,还是动物的二级进食带入导致被检出<sup>[17]</sup>;第二,高通量测序结果也

会受到多种因素的影响,如DNA的提取、PCR的扩增、引物的选择、序列分类学分配以及参考数据库的完善程度等<sup>[36]</sup>。因此,想要更准确全面地解析动物食性特征,仍需与传统的胃含物分析等多种食性研究方法相结合。即便如此,基于高通量测序的食性研究的分类精度远远比传统的显微组织法高,在一定范围内是一种既高效又精确的食性研究方法。由于样本采集区域面积和野外数据积累时间有限,本研究尚无法全面反映红腿长吻松鼠的食性及其季节变化,将在后续工作中继续加强更长时间跨度和地理尺度的数据积累,从而获得更加准确全面的红腿长吻松鼠食物组成信息。

### 参考文献:

- [1] 初红军, 蒋志刚, 兰文旭, 等. 蒙古野驴、鹅喉羚和家畜的食物重叠[J]. 动物学报, 2008, 54(6): 941-954.  
CHU H J, JIANG Z G, LAN W X, *et al.* Dietary overlap among kulan *Equus hemionus*, goitered gazelle *Gazella subgutturosa* and livestock[J]. Acta Zoologica Sinica, 2008, 54(6): 941-954.
- [2] 崔多英, 刘振生, 王小明, 等. 贺兰山马鹿冬季食性分析[J]. 动物学研究, 2007, 28(4): 383-388.  
CUI D Y, LIU Z S, WANG X M, *et al.* Winter food-habits of red deer (*Cervus elaphus altaicus*) in Helan Mountains, China[J]. Zoological Research, 2007, 28(4): 383-388.
- [3] 尹华宝, 余冠军, 王贵林, 等. 食肉目动物食性研究方法[J]. 安徽大学学报(自然科学版), 2008, 32(1): 90-94.  
YIN H B, YU G J, WANG G L, *et al.* Studying methods of carnivore food habit[J]. Journal of Anhui University (Natural Science Edition), 2008, 32(1): 90-94.
- [4] 殷宝法, 淮虎银, 张德铨, 等. 可可西里地区藏羚羊、藏原羚和藏野驴的营养生态位[J]. 应用生态学报, 2007, 18(4): 766-770.  
YIN B F, HUAI H Y, ZHANG Y L, *et al.* Trophic niches of *Pantholops hodgsoni*, *Procapra picticaudata* and *Equus kiang* in Kekexili region[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(4): 766-770.
- [5] 雍仲禹, 郭聪, 张美文, 等. 啮齿动物食性研究的意义及方法评述[J]. 生态学杂志, 2011, 30(11): 2637-2645.  
YONG Z Y, GUO C, ZHANG M W, *et al.* Significance and methodology of rodent's food habit research: a review[J]. Chinese Journal of Ecology, 2011, 30(11): 2637-2645.
- [6] 魏爽, 梁振玲, 滕威, 等. 阔叶红松林中花鼠的食物组成及取食偏好[J]. 野生动物学报, 2023, 44(3): 506-514.  
WEI S, LIANG Z L, TENG W, *et al.* Food composition and feeding preference of chipmunks in a broadleaved red pine forest[J]. Chinese Journal of Wildlife, 2023, 44(3): 506-514.
- [7] SMITH A T, 解焱. 中国兽类野外手册[M]. GEMMA F, 绘. 长沙: 湖南教育出版社, 2009: 53.
- SMITH A T, XIE Y. A guide to the mammals of China [M]. GEMMA F, illus. Changsha: Hunan Education Publishing House, 2009: 53.
- [8] 蔡延芳, 张海波, 胡灿实, 等. 贵州丽松鼠亚科动物资源调查[J]. 野生动物学报, 2018, 39(3): 529-535.  
CAI Y F, ZHANG H B, HU C S, *et al.* A survey of animal resources of Callosciurinae in Guizhou Province[J]. Chinese Journal of Wildlife, 2018, 39(3): 529-535.
- [9] 丛海燕. 基于线粒体全基因组的松鼠科系统演化分析及不同基因的表现力评估[D]. 济南: 山东大学, 2016.  
CONG H Y. Phylogenetic study of Sciuridae based on complete mitochondrial genome and evaluation of phylogenetic performance of different genes[D]. Jinan: Shandong University, 2016.
- [10] LI S, YU F H, YANG S, *et al.* Molecular phylogeny of five species of *Dremomys* (Rodentia: Sciuridae), inferred from cytochrome *b* gene sequences[J]. Zoologica Scripta, 2008, 37(4): 349-354.
- [11] 粟海军, 李光容, 陈光平, 等. 贵州宽阔水自然保护区野生动物红外相机调查初报[J]. 兽类学报, 2018, 38(2): 221-229.  
SU H J, LI G R, CHEN G P, *et al.* A preliminary report on wildlife camera-trapping monitoring in Kuankuoshui National Nature Reserve, Guizhou Province [J]. Acta Theriologica Sinica, 2018, 38(2): 221-229.
- [12] 韩克国, 李凯, 孙婧, 等. 基于红外相机技术对文山国家级自然保护区老君山片区地栖鸟兽多样性的调查[J]. 兽类学报, 2023, 43(1): 89-101.  
HAN K G, LI K, SUN J, *et al.* Diversity of birds and mammals in Laojunshan region, Wenshan National Nature Reserve based on infrared cameras [J]. Acta Theriologica Sinica, 2023, 43(1): 89-101.
- [13] 郑荣泉, 鲍毅新. 有蹄类食性研究方法及其研究进展[J]. 生态学报, 2004, 24(7): 1532-1539.  
ZHENG R Q, BAO Y X. Study methods and procedures for ungulate food habits [J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(7): 1532-1539.
- [14] 张养养, 孙飞达, 霍霏, 等. 草地啮齿动物食性的影响因素及研究方法综述[J]. 中国草地学报, 2023, 45(8): 129-138.  
ZHANG Q Q, SUN F D, HUO F, *et al.* Review on influencing factors and research methods of grassland rodent feeding habits [J]. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45(8): 129-138.
- [15] 徐静静, 冯广朋, 张涛, 等. 基于高通量测序的长江口中华绒螯蟹雌蟹食性分析[J]. 水产科学, 2023, 42(1): 1-10.  
XU J J, FENG G P, ZHANG T, *et al.* Diet composition and feeding habits of female Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* in the Yangtze River Estuary based on high-throughput sequencing [J]. Fisheries Science, 2023, 42(1): 1-10.
- [16] 邵昕宁, 宋大昭, 黄巧雯, 等. 基于粪便DNA及宏条形码技术的食肉动物快速调查及食性分析[J]. 生物多样性, 2019, 27(5): 543-556.  
SHAO X N, SONG D Z, HUANG Q W, *et al.* Fast surveys and molecular diet analysis of carnivores based on fecal DNA and me-

- tabarcoding[J]. *Biodiversity Science*, 2019, 27(5): 543-556.
- [17] 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): 76-89.
- 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): 76-89.
- [18] 吴鹏, 王腾, 刘永, 等. 高通量测序分析西沙晋卿岛两种草食性鱼类对大型海藻的摄食差异[J]. *生态学杂志*, 2023, 42(6): 1509-1516.
- WU P, WANG T, LIU Y, *et al.* Macroalgal consumption by two herbivorous coral-reef fish species from Jinqing Island, Xisha [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2023, 42(6): 1509-1516.
- [19] 刘刚, 李皓, 吴自有, 等. 基于DNA条形码分析大鸨繁殖期动物性食物[J]. *动物学杂志*, 2021, 56(3): 405-416.
- LIU G, LI H, WU Z Y, *et al.* Animal derived diet of great bustard in the breeding season based on DNA barcoding [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2021, 56(3): 405-416.
- [20] 孙鹏, 凌建忠, 张辉, 等. 基于高通量测序的象山港海域黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)食性分析[J]. *生态学报*, 2021, 41(3): 1221-1228.
- SUN P, LING J Z, ZHANG H, *et al.* Diet composition and feeding habits of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) in Xiangshan Bay based on high-throughput sequencing [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(3): 1221-1228.
- [21] 喻理飞, 陈光平, 余登利. 贵州宽阔水国家级自然保护区生物多样性保护研究[M]. 北京: 中国林业出版社, 2018: 41-47; 27-30.
- YU L F, CHEN G P, YU D L. Biodiversity and conservation in Kuankuoshui National Nature Reserve, Guizhou, China [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2018: 41-47; 27-30.
- [22] 戴仁怀, 李子忠, 金道超. 宽阔水景观昆虫[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2012: 1-2.
- DAI R H, LI Z Z, JIN D C. Insects from Kuankuoshui landscape [M]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Publishing House, 2012: 1-2.
- [23] 杨舒晗, 蔡延芳, 王野影, 等. 贵州茂兰喀斯特地区隐纹花松鼠秋季食性分析[J]. *野生动物学报*, 2022, 43(2): 337-344.
- YANG S H, CAI Y F, WANG Y Y, *et al.* Autumn diet analysis on Swinhoe's striped squirrel (*Tamiops swinhoei*) in Maolan Karst area, Guizhou Province, China [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2022, 43(2): 337-344.
- [24] 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.
- [25] 周宏力, 张晓岚. 大、小兴安岭松鼠的食性[J]. *东北林业大学学报*, 2003, 31(3): 44-46.
- ZHOU H L, ZHANG X L. The food habit of red squirrels in Daxing'an Mt. and Xiaoxing'an Mt. [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2003, 31(3): 44-46.
- [26] 金志民, 刘铸, 李殿伟, 等. 黑龙江省东南部林区6种啮齿动物食性分析[J]. *畜牧与饲料科学*, 2011, 32(5): 11-13.
- JIN Z M, LIU Z, LI D W, *et al.* Analysis on the feeding habits of six kinds of rodents in the southeast forest region of Heilongjiang Province [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2011, 32(5): 11-13.
- [27] 蔡红霞, 冉江洪, 张家平, 等. 赤腹松鼠危害季节性变化与食性的初步探讨[J]. *四川林业科技*, 2001, 22(3): 21-24.
- CAI H X, RAN J H, ZHANG J P, *et al.* Preliminary study on the seasonal changes of red-bellied squirrels (*Callosciurus erythraeus*) damage and their feeding habits [J]. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 2001, 22(3): 21-24.
- [28] 徐吉伟, 杨国荣, 黄彬, 等. 植物营养成分对草原啮齿动物的影响[J]. *草业科学*, 2014, 31(11): 2148-2154.
- XU J W, YANG G R, HUANG B, *et al.* Effects of plant nutrients on grassland rodents [J]. *Pratacultural Science*, 2014, 31(11): 2148-2154.
- [29] 刘伟, 杨维康, 徐文轩. 蒙古野驴的秋季食性分析[J]. *兽类学报*, 2008, 28(1): 33-36.
- LIU W, YANG W K, XU W X. Food habits of the kulan (*Equus hemionus*) in autumn [J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2008, 28(1): 33-36.
- [30] 郭建荣. 山西芦芽山自然保护区岩松鼠生态的初步观察[J]. *四川动物*, 2003, 22(3): 171-172.
- GUO J R. Preliminary observation on the ecology of *Sciurotamias davidianus* in Luya Mountain Nature Reserve, Shanxi Province [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2003, 22(3): 171-172.
- [31] 罗蓉. 贵州兽类志[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 1993: 200-202.
- LUO R. The mammalian fauna of Guizhou [M]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Publishing House, 1993: 200-202.
- [32] EMLEN J M. The role of time and energy in food preference [J]. *The American Naturalist*, 1966, 100(916): 611-617.
- [33] BRADLEY W G. Food habits of the antelope ground squirrel in southern Nevada [J]. *Journal of Mammalogy*, 1968, 49(1): 14-21.
- [34] DEAGLE B E, JARMAN S N, PEMBERTON D, *et al.* Genetic screening for prey in the gut contents from a giant squid (*Architeuthis* sp.) [J]. *Journal of Heredity*, 2005, 96(4): 417-423.
- [35] 陈小勇, 王建平, 龚大洁. 兰州北山三种蜥蜴春季食性分析[J]. *动物学杂志*, 1997, 32(5): 13-18.
- CHEN X Y, WANG J P, GONG D J. Diet of three species of lizard in the spring in Lanzhou [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 1997, 32(5): 13-18.
- [36] 王雪芹, 王光华, 乔飞, 等. 高通量测序及其在食物网解析中的应用进展[J]. *生态学报*, 2017, 37(8): 2530-2539.
- WANG X Q, WANG G H, QIAO F, *et al.* Progress on high-throughput sequencing and its applications in food web analysis [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(8): 2530-2539.