



## •研究报告

# 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

彭步青, 陶玲, 李靖, 范荣辉, 陈顺德, 付长坤, 王琼, 唐刻意<sup>ID\*</sup>

四川师范大学生命科学学院, 成都 610101

**摘要:** 揭示物种共存的发生和维持机制对于群落生态学理论的发展具有重要意义, 同时也是生物多样性和保护生物学研究的热点之一。生态位分化是同域分布物种实现共存的重要原因之一。为了解同域分布的多种小型哺乳动物的共存机制, 本研究采用DNA宏条形码技术对四川老君山国家级自然保护区内的6种小型哺乳动物胃内容物进行分子食性分析, 解析其夏季食物组成特征, 并计算和比较种间食物的多样性、生态位宽度和重叠指数。结果表明: (1)鳞翅目(相对丰度: 3.76%–42.33%)和双翅目(2.59%–62.63%)是6种小型哺乳动物的主要动物性食物, 禾本目(0.02%–45.33%)和豆目(0.19%–38.95%)为其主要植物性食物。6种小型哺乳动物取食主要动植物性食物的相对丰度存在种间差异。(2)黄胸鼠(*Rattus tanezumi*)和淡灰黑齿鼯鼠(*Blarinella griselda*)的属水平动物性食物显著重叠( $O_{jk} = 0.63$ ); 其余物种间的营养生态位存在一定程度重叠, 但在主要食物的构成和组成比例上存在明显差异; (3) 6种小型哺乳动物的动物性食物 $\alpha$ 多样性存在明显种间差异, 而植物性食物 $\alpha$ 多样性在6种小型哺乳动物之间差异不显著, 其中社鼠(*Niviventer confucianus*)食物多样性最高, 其动植物营养生态位宽度(8.2–11.1)均高于其余物种。以上结果表明6种小型哺乳动物的食物组成存在一定程度重叠, 但在主要食物上出现分离, 它们可能通过对主要食物摄食种类和比例的分化来减少竞争, 实现长期共存。本研究为揭示四川老君山地区多种小型哺乳动物物种多样性的维持机制提供理论依据, 也为该地区鼠形动物的生态管理提供参考。考虑到本研究在样本量和时间尺度上的局限性, 未来基于营养生态位对多种小型哺乳动物进行同域共存机制研究时建议适当增加取样的时空跨度, 更多的样本量能更好地反映种间关系。

**关键词:** 同域共存; 食物组成; DNA宏条形码; 营养生态位

彭步青, 陶玲, 李靖, 范荣辉, 陈顺德, 付长坤, 王琼, 唐刻意 (2023) 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. 生物多样性, 31, 22474. doi: 10.17520/biods.2022474.

Peng BQ, Tao L, Li J, Fan RH, Chen SD, Fu CK, Wang Q, Tang KY (2023) DNA metabarcoding dietary analysis of six sympatric small mammals at the Laojunshan National Nature Reserve, Sichuan Province. Biodiversity Science, 31, 22474. doi: 10.17520/biods.2022474.

## DNA metabarcoding dietary analysis of six sympatric small mammals at the Laojunshan National Nature Reserve, Sichuan Province

Buqing Peng, Ling Tao, Jing Li, Ronghui Fan, Shunde Chen, Changkun Fu, Qiong Wang, Keyi Tang<sup>ID\*</sup>

College of Life Sciences, Sichuan Normal University, Chengdu 610101

### ABSTRACT

**Aim:** Revealing the mechanisms that determine species coexistence is of great importance for the development of community ecology theoretical concepts/ which is one of the hot spot for biodiversity and conservation biology research. Niche separation is an important reason for the coexistence of sympatric species.

**Methods:** To determine the dietary composition of six sympatric small mammals at the Laojunshan Nature Reserve, Sichuan, the animal samples were trapped and the luminal stomach contents were collected. We used two DNA

收稿日期: 2022-08-18; 接受日期: 2022-11-24

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(32001223)、四川省自然科学基金青年基金(2022NSFSC1711)和成都市科技项目重点研发支撑计划(2021-YF05-01552-SN)

\* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: tangkeyi0214@163.com

metabarcoding assays (chloroplast *RbcL* and mitochondrial *COI* region sequences) to better understand their dietary diversity, niche breadth and overlap.

**Results:** (1) Lepidoptera (relative abundance: 3.76%–42.33%) and Diptera (2.59%–62.63%) were the prey items identified, while Poales (0.02%–45.33%) and Fabales (0.19%–38.95%) were the taxa that constituted the majority of plant-derived foods. In addition to this, inter-specific differences in relative abundance of these main food items were observed. (2) We found that there was a significant trophic overlap ( $O_{jk} = 0.63$ ) of animal derived diet between *Rattus tanezumi* and *Blarinella griselda*. A certain degree of food niche overlap was found between the other sampled species, yet there were still significant differences in the composition and proportion of predominant food items. (3) A certain inter-specific difference in  $\alpha$  diversity of animal derived food between the six small mammals was detected, while almost no differences in  $\alpha$  diversity of plant derived foods were found between the six small mammals. *Niviventer confucianus* had the highest dietary diversity, with higher niches breadth (8.2–11.1) of both plant- and animal-derived diets than those of the other five species.

**Conclusion:** These results suggest that, although the dietary overlap is observed in six small mammals, they can reduce foods competition and achieve long-term coexistence through separating the types and proportions of the main food items. Furthermore, this study reveals the mechanism of maintaining the diversity of various small mammal species at the Laojunshan Nature Reserve. This study also contributes to the ecological management of rodent-like animals in this area. Considering the limitations of our sample size and time scale of sampling, we believe that increasing sample size and time span can be more effective at identifying inter-specific relationship through DNA metabarcoding.

**Key words:** sympatric co-existence; dietary composition; DNA metabarcoding; trophic niche

物种共存机制是生态学的核心课题之一, 揭示物种共存的发生和维持机制对于群落生态学理论发展具有重要意义, 也是生物多样性研究的热点之一。生态学家提出了多种揭示共存机制的理论和假说, 其中包括资源比例假说(Huisman & Weissing, 1999)、中度干扰假说(Sommer, 1999)和生态位分化理论(Grinnell, 1917; Urdvary, 1959)。目前, 针对野生动物同域共存的研究大多集中在鸟类(De León et al, 2014; Hou et al, 2021)、灵长类(Porter, 2001; 王丞等, 2020)、食草动物(Liu et al, 2007; Kartzinel et al, 2015)等大中型动物, 而对物种数量多、分布范围广的小型哺乳动物同域共存机制研究较为匮乏。

生存需求相似的物种往往伴随着生态位的分化(Hardin, 1960), 竞争的结果将导致食物、栖息地和时间等资源的分化, 进而促进生境内多物种共存。国内外学者围绕生态位分化理论的研究主要从时间生态位(Rutrough et al, 2019)、空间生态位(杨春文, 2008)和营养生态位(Cooke & Crowley, 2018)等方面展开。其中, 食性分析是营养生态位研究的重要组成部分, 是动物根据自身营养需求对生境适应的结果(Marshall et al, 2008), 营养生态位即动物对食物资源的利用情况。食性分析是一项重要的基础研究内容(Cooke & Crowley, 2018), 可以直观展现动物的营养需求特征, 反映出动物的生态功能及其营养关系(殷宝法等, 2007)。食物也为动物生长发育

和生存繁衍提供必需的营养成分, 是探讨食物网营养流动、评估物种生存状况及种间关系等热点问题的重要基础(钟林强, 2020; 张宇洋等, 2022)。

小型哺乳动物作为生态系统的消费者, 在能量流动和物质循环等过程中至关重要, 并通过觅食、挖掘巢穴等活动影响生态系统的结构和功能(雍仲禹等, 2011)。因此, 该类动物对维持生态平衡具有重要意义。但在其种群数量激增时也会对生态系统造成严重危害, 损害农业、林业、畜牧业经济(王德利等, 2016)。森林中的小型哺乳动物会取食树木种子、剥食树皮和嫩芽, 部分甚至食用树根, 对树木乃至森林造成严重危害(王贵来, 2004)。多数小型哺乳动物也是各种疾病的传染源, 携带多种病原菌, 在公共卫生领域也被高度重视(邓址, 1991)。因此, 明确其食物组成和摄食策略有助于从营养生态位层面揭示多种小型哺乳动物同域共存机制, 也为小型哺乳动物物种多样性的维持和种群生态管理提供理论依据。

动物食性研究方法众多, 如直接观察法(多用于观察取食和贮食的行为特征)、实验室笼养饲喂法(更适用于研究动物对食物的偏好选择)、颊囊内含物分析法(只适用于有颊囊的动物, 研究对象受限)、稳定同位素技术(难以确定具体食物组成)、胃内容物显微组织分析法、粪便显微分析法以及DNA宏条形码技术等(陆琪等, 2019; Shutt et al, 2020; Shao et

al, 2021; 赵耕, 2021)。基于粪便对食物进行传统形态学鉴定也有诸多问题: (1)对外观相似的食物无法准确区分; (2)肌肉、软组织等部分食物消化完全, 难以鉴定; (3)要求实施者具备高水平的分类学技能; (4)总体鉴定效率低下, 准确率有待提升等(Pompanon et al, 2012; Akrim et al, 2018)。目前, DNA宏条形码技术在动物食性研究领域潜力巨大, 极大地提高了食性分析的精确性(Taberlet et al, 2012)。与传统方法相比, DNA宏条形码技术优势明显: (1)几乎不受食物消化影响, 可鉴定出形态上无法识别的无脊椎动物; (2)提高了物种鉴定的准确度, 耗时少; (3)不依靠分类学经验; (4)可同时分析多个样本(Razgour et al, 2011; Pompanon et al, 2012; Yang et al, 2016)。该技术已广泛应用于食草动物(Kartzinel et al, 2015; 郭艳萍等, 2021)、食肉动物(陆琪等, 2019; 邵昕宁等, 2019)和杂食动物(Tang et al, 2020; Hou et al, 2021)的分子食性研究。

四川老君山国家级自然保护区内分布着多种小型哺乳动物, 通过我们前期调查, 其中以4种啮齿目动物巢鼠(*Micromys minutus*)、社鼠(*Niviventer confucianus*)、针毛鼠(*N. fulvescens*)、黄胸鼠(*Rattus tanezumi*)及2种劳亚食虫目动物四川短尾鼯(*Anourosorex squamipes*)和淡灰黑齿鼯(*Blarinella griselda*)居多。它们的生存环境与生活习性等方面存在诸多相似, 是研究小型哺乳动物同域共存机制的理想对象。本研究拟基于DNA宏条形码技术, 对6种小型哺乳动物的动植物食物组成进行鉴定和比较分析, 并计算种间食物生态位重叠指数和食物生态位宽度, 从营养生态位层面探究该保护区内多种小型哺乳动物同域共存的机制。

## 1 研究方法

### 1.1 研究区域

四川老君山国家级自然保护区(103°57'–104°04' E, 28°39'–28°43' N)地处四川省宜宾市屏山县, 保护区位于凉山山系, 区内海拔900–2,008 m, 垂直气候差异大, 东西约为11.6 km, 南北约为7.4 km, 总面积为35 km<sup>2</sup>, 是以保护四川山鹧鸪(*Arborophila rufipectus*)等雉科鸟类为主的自然保护区, 是全球生物多样性保护的热点地区, 其他野生动物资源也十分丰富(付义强等, 2016)。保护区为亚热带湿润型

季风气候, 雨量充沛, 年平均气温12–14℃, 气候湿润, 适宜小型哺乳动物生存。阔叶林为该生态系统的主要植被类型, 为多种野生动物提供了适宜的栖息地和觅食场所(Liao et al, 2007, 2008; 西丽媛子等, 2020)。

### 1.2 样本采集

本研究于2020年夏季在该保护区核心区的3个不同海拔段采用铗夜法和陷阱法对目标物种进行捕获, 每个海拔段采集6种小型哺乳动物各3只。所有采集的动物标本均在现场根据外部特征进行初步形态学鉴定。每只标本取少量肝脏或肌肉组织保存于酒精中, 于实验室–40℃冰柜保存, 以备后续DNA的提取。在胃内容物食糜DNA提取前, 混合同一海拔采集的同一物种的3份胃内容物样本。最终参与测序的样品为每个物种在3个不同海拔段的3份食糜DNA, 因此共18份胃内容物食糜DNA被用于后续测序。在保护区管理站对动物标本进行解剖, 使用一次性采样拭子收集其肠、胃内容物保存于装有常温细胞保存液的冻存管中, 用冰袋冷藏运输, 送回实验室后置于–40℃冰柜保存。目标物种的分子鉴定按如下步骤进行: (1)提取收集的肝脏或肌肉组织的总DNA; (2)PCR扩增; (3)PCR产物纯化回收和Sanger测序; (4)序列BLAST比对和物种鉴定。组织样品总DNA提取使用动物组织DNA提取试剂盒(成都福际生物公司), 选择引物对L14724-hk3和H15915-hk3 (He et al, 2010) (附录1)扩增Cyt b基因序列。PCR目的产物通过凝胶电泳成像, 将符合目的片段大小的PCR产物纯化回收后由擎科生物科技有限公司(成都)进行双向测序。测序结果在NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 公共数据库中进行BLAST比对, 获得物种信息。

### 1.3 食物DNA扩增和测序

胃内容物中食糜DNA的提取采用QIAamp DNA Stool Mini Kit试剂盒。由于胃内容物中的食物DNA存在降解和PCR抑制等问题, 因此较短的扩增片段可能会提高扩增成功率(陆琪等, 2019)。本研究分别选用线粒体COI (cytochrome c oxidase subunit I, 线粒体细胞色素C氧化酶亚基)和RbcL (ribulose-bisphosphate carboxy lase gene, 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶基因)鉴定动植物性食物(Hofreiter et al, 2000), 引物分别为COIZBJ-ArtF1c/COIZBJ-ArtR2c



(Burgar et al, 2014; Clare et al, 2014)和Z1aF/hp2R (附录1), 连接的样本特异性barcode序列见附录2。PCR扩增体系为20  $\mu$ L, *COI*引物PCR扩增程序为98℃预变性5 min; 95℃变性30 s, 53℃退火30 s, 68℃延伸30 s, 进行5个循环; 98℃变性30 s, 45℃退火30 s, 68℃延伸45 s, 进行30个循环; 68℃延伸5 min, 在12℃下保存。*RbcL*引物PCR扩增程序为98℃预变性5 min; 98℃变性30 s, 52℃退火30 s, 72℃延伸45 s, 进行30个循环; 72℃延伸5 min, 12℃保存。PCR扩增使用全式金公司的Pfu高保真DNA聚合酶。每个PCR板和不同引物组设置阴性对照用于检测环境、试剂等污染。采用DNA纯化磁珠(Vazyme VAHTSTM DNA Clean Beads)对PCR扩增产物进行纯化回收。以纯化后的PCR产物为模板, 采用荧光试剂(Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit)进行荧光定量。根据高通量测序要求, 将每个样品的扩增子按比例混合和纯化回收, 使用Illumina公司的TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit制备测序文库, 文库的高通量双末端测序在上海派森诺生物信息技术公司的Illumina NovaSeq 6000测序平台进行, 每端读长为250 bp。

#### 1.4 序列处理与数据统计分析

经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(Caporaso et al, 2012)。使用Vsearch软件对扩增子序列完成合并、质量过滤、去重、去嵌合体、聚类等步骤(Edgar, 2013)。基于操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类的Vsearch (Rognes et al, 2016)方法, 对有效序列进行OTU归并划分, 以98%的序列相似度作为OTU划分的阈值。在NCBI数据库中使用BLAST比对通过质量过滤的序列(Berry et al, 2017), 根据相似度百分比阈值, 序列被鉴定到种、属等分类单位。序列比对结果一致性不低于99%, 且最匹配序列只对应单一物种, 同时该物种在当地有分布时, 认为该序列来自于该物种; 序列比对一致性不低于98%被认为是属水平的注释。本研究的原始测序数据已上传至组学原始数据归档库(genome sequence archive, GSA), 动物性食物数据序列号为CRA007014; 植物性食物数据序列号为CRA007015。

$\alpha$ 多样性的计算与分析在QIIME2软件中完成。为了评估测序深度的充分性, 本研究根据OTU的数

量绘制了样本的稀疏曲线。基于Jaccard距离矩阵进行了非量度多维尺度分析(nonmetric multidimensional scaling analysis, NMDS), 并使用R v.3.3.3的ggplot2包(Wickham, 2009)进行图形可视化分析, 且使用ANOSIM (analysis of similarities)进行组间差异显著性分析。本研究使用相对丰度(relative abundance, RA)和出现频率(frequency of occurrence, FO)来衡量食物组成和出现情况(Deagle et al, 2019)。使用LEfSe (linear discriminatory analysis (LDA) effect size)分析, 在不同分类水平上鉴定了劳亚食虫类四物种和啮齿目两物种的主要差异性食物。为比较食物组成和多样性在不同物种中的显著性差异情况, 本研究使用SPSS 20的单因素方差分析(ANOVA)和Student's *t*检验检测差异显著性。

#### 1.5 营养生态位宽度和重叠指数

根据食物组成在不同分类水平的相对丰度情况, 本研究采用Levins指数(*B*)来描述食物生态位宽度(Levins, 1968), 采用Pianka重叠指数( $O_{jk}$ )衡量食物生态位重叠程度(Pianka, 1973)。计算公式如下:

$$B = \frac{1}{\sum P_j^2} \quad (1)$$

式中, *B*代表生态位宽度,  $P_j$ 代表食物*j*所占的比例;

$$O_{jk} = \frac{\sum (P_{ij} \cdot P_{ik})}{\sqrt{\sum (P_{ij}^2) \cdot \sum (P_{ik}^2)}} \quad (2)$$

式中,  $P_{ij}$ 和 $P_{ik}$ 分别代表食物*i*在物种*j*和*k*的食物中所占的相对丰度。 $O_{jk}$ 的变化范围为0–1, 根据Krebs (1999)的评判标准,  $O_{jk} > 0.3$ 视为重叠有意义,  $O_{jk} > 0.6$ 视为显著重叠。

## 2 结果

### 2.1 6种小型哺乳动物的食物组成

基于*COI*宏条形码的测序数据, 所有物种的胃内容物样品共获得2,029,373条有效序列, 平均每个样品112,743  $\pm$  41,572条。随着测序深度的增加, 样品稀疏曲线逐渐达到平稳状态, 表明本研究测序深度合理(附录3)。

6种小型哺乳动物的动物性食物主要由无脊椎动物构成, 其中在门水平占比较多的为节肢动物门, 其相对丰度(RA)占有所有动物性食物的88.31%; 纲水平占比较多的食物为昆虫纲(RA = 79.02%)。在目水

平, 鳞翅目、双翅目和蜘蛛目构成这6种小型哺乳动物的主要动物性食物(图1A), 这3个目总共占全部动物性食物的62.10%。其中在巢鼠、社鼠、针毛鼠和四川短尾鼩4个物种的胃内容物中检测到大量鳞翅目昆虫, 其相对丰度分别为39.87%、42.33%、47.98%、35.76% (附录4)。而双翅目的序列在巢鼠(37.19%)、黄胸鼠(55.02%)和淡灰黑齿鼩(62.63%)的食物组成中相对丰度较高。在淡灰黑齿鼩的食

物中检测到较多的半翅目(29.69%)昆虫, 而其余5种小型哺乳动物食物中的半翅目相对丰度则较低(0–0.05%), 直翅目的相对丰度较高(1.48%–13.60%)。在属水平, 黄胸鼠和淡灰黑齿鼩食物中壳粗腹摇蚊属(*Conchapelopia*, 隶属于双翅目)的相对丰度较高(分别为34.83%、30.52%) (附录5); 美舟蛾属(*Uropyia*, 隶属于鳞翅目)动物构成了社鼠(16.47%)、针毛鼠(18.08%)和四川短尾鼩(30.35%)

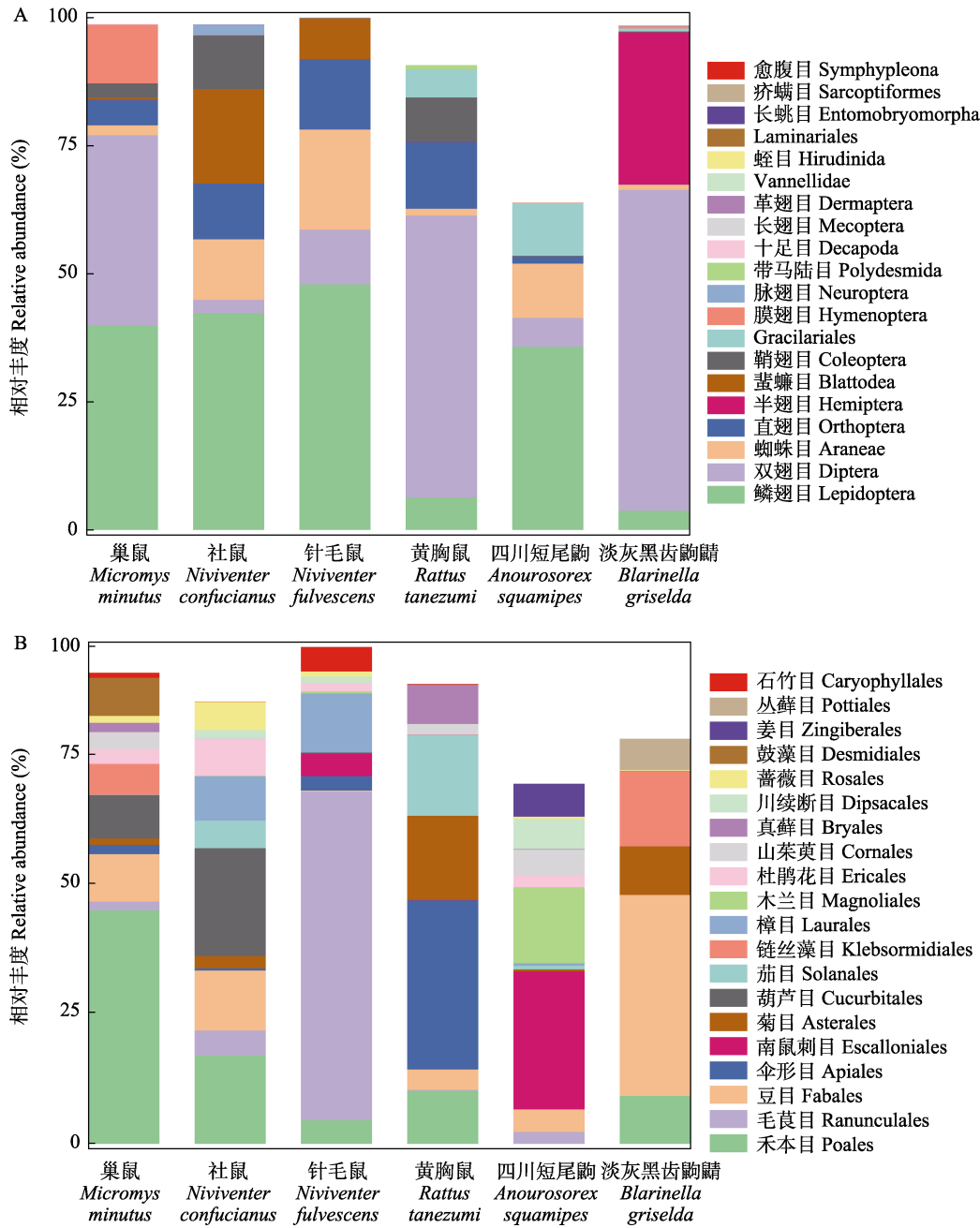


图1 6种小型哺乳动物目水平排名前20的动物性食物(A)和植物性食物(B)的相对丰度

Fig. 1 Relative abundance of top 20 animal- (A) and plant-derived (B) food items at the order level in the six small mammals

动物性食物的主要部分。巢鼠大量摄食长喙天蛾属(*Macroglossum*, 隶属于鳞翅目, 29.40%)和尺禾蝇属(*Geomyza*, 隶属于双翅目, 27.72%)物种, 而短痣蚜属(*Anoecia*, 隶属于同翅目, 29.68%)在淡灰黑齿鼯鼠的食物中被大量检测到。

基于*RbcL*宏条形码鉴定植物性食物的数据中, 所有样本高通量测序后共获得1,581,373条有效序列, 平均每个样品 $87,854 \pm 37,783$ 条。在纲水平, 6种小型哺乳动物植物性食物占比较多的为百合纲植物, 相对丰度为19.21%。在目和属水平, 鉴定到的分类单元相对丰度超过1%的分别有20个目和16个属。其中, 禾本目和豆目构成6种小型哺乳动物的主要植物性食物来源, 伞形目也表现出较高的相对丰度(图1B), 这3个目共占植物性食物的37.20%。除四川短尾鼯大量取食南鼠刺目(26.71%)食物外, 其余5种小型哺乳动物取食较多的为禾本目植物, 其中禾本目序列在巢鼠植物性食物中占比最高(45.33%)。针毛鼠取食毛茛目(63.74%)的比例最高, 其余5种小型哺乳动物则不喜取食毛茛目食物, 而对豆目植物较为青睐(附录6)。相比于其他物种, 黄胸鼠食物中伞形目的相对丰度较高(32.81%), 葫芦目(20.90%)在社鼠食物中的比例较高, 菊目植物则

是巢鼠、黄胸鼠和淡灰黑齿鼯鼠都较为喜好的食物。在属水平的植物性食物中, 八月瓜属(*Holboellia*, 隶属于毛茛目)在针毛鼠食物中较为丰富(60.89%)(附录7)。巢鼠、黄胸鼠和社鼠分别喜好取食芒属(*Miscanthus*, 隶属于禾本目, 33.37%)、当归属(*Angelica*, 隶属于伞形目, 32.69%)和绞股蓝属(*Gynostemma*, 隶属于莴苣目, 20.18%)植物。燕麦属(*Avena*, 隶属于禾本目)则是巢鼠、社鼠、黄胸鼠和淡灰黑齿鼯鼠都青睐的食物。以上结果与LEfSe分析结果相符合(附录8), 表明在不同分类水平下, 6种小型哺乳动物主要食物的摄食比例存在差异, 同时某些植物(如菊目和燕麦属植物)是它们共同的食物。

2.2 食物组成多样性的种间比较

$\alpha$ 多样性指数(Chao1、Shannon和Simpson)计算结果表明, 6种小型哺乳动物的动物性食物多样性存在一定的种间差异(图2A)。针毛鼠的Chao1丰富度指数显著高于淡灰黑齿鼯鼠( $P = 0.011$ ), 黄胸鼠和针毛鼠的Chao1丰富度指数差异显著( $P = 0.014$ )。淡灰黑齿鼯鼠的Simpson指数显著低于社鼠( $P = 0.015$ ), 同时显著低于针毛鼠( $P = 0.028$ )和黄胸鼠( $P = 0.011$ )。淡灰黑齿鼯鼠的Shannon指数显著低于

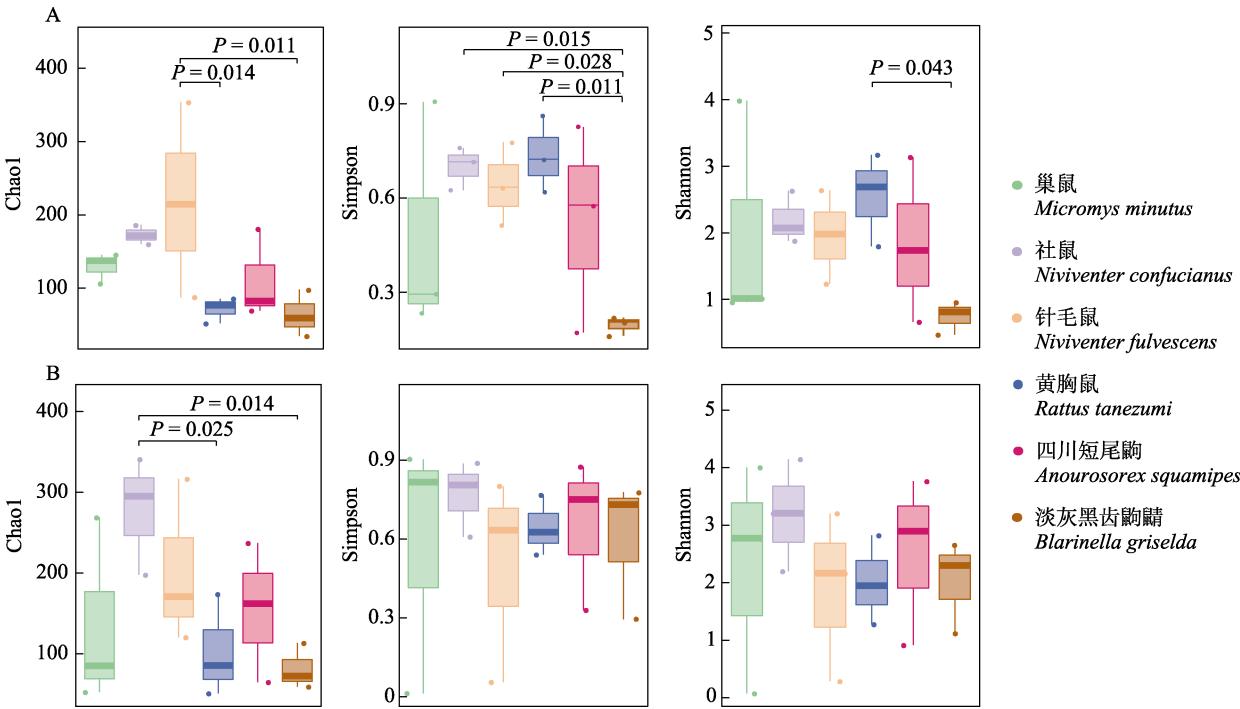


图2 6种小型哺乳动物动物性食物(A)和植物性食物(B)的 $\alpha$ 多样性指数的分组箱线图

Fig. 2 Box-and-whisker plots for  $\alpha$  diversity of animal- (A) and plant-derived (B) food items of six small mammals

黄胸鼠( $P = 0.043$ )。3个 $\alpha$ 多样性指数的种间差异比较显示, 淡灰黑齿鼯鼠的动物性食物多样性水平最低。总体上, 植物性食物的 $\alpha$ 多样性在6种小型哺乳动物之间差异并不显著(图2B)。只有社鼠的Chao1丰富度指数显著高于淡灰黑齿鼯鼠( $P = 0.014$ ), 黄胸鼠与社鼠的Chao1丰富度指数差异显著( $P = 0.025$ )。

基于Jaccard distance矩阵的NMDS聚类结果显示了6种小型哺乳动物的动植物食物组成的种间差异情况(图3)。四川短尾鼯鼠的动物性食物组成与其他5种小型哺乳动物明显分离(ANOSIM:  $R = 0.259-0.778$ ,  $P = 0.092-0.302$ )。巢鼠、社鼠和针毛鼠的动物性食物相对聚集, 且有一定重叠。黄胸鼠和淡灰黑齿鼯鼠的动物性食物聚集距离较近。此外, 淡灰黑齿鼯鼠的植物性食物与其他5种小型哺乳动物存在一定分离(ANOSIM:  $R = -0.111$ 至 $0.519$ ,  $P = 0.101-0.689$ )。四川短尾鼯鼠和巢鼠、针毛鼠的植物性食物的重叠较多。

### 2.3 食物生态位宽度和食物重叠

在6种小型哺乳动物的属水平营养生态位宽度

计算结果中, 社鼠的动物性食物营养生态位宽度最广( $B = 8.6485$ ), 其次是针毛鼠( $B = 8.1913$ ), 四川短尾鼯鼠( $B = 4.0286$ )和淡灰黑齿鼯鼠( $B = 3.7137$ )的较低(表1)。本研究中的4种啮齿目物种的动物性食物平均营养生态位宽度均显著高于2种劳亚食虫目物种( $B$ :  $7.1181$  v.s.  $3.8712$ ,  $P = 0.003$ )。在植物性食物营养生态位宽度计算结果中, 社鼠的营养生态位宽度最大( $B = 11.0998$ ), 其后依次为巢鼠( $B = 6.9642$ )、四川短尾鼯鼠( $B = 5.8556$ )、黄胸鼠( $B = 5.5751$ )、淡灰黑齿鼯鼠( $B = 4.5893$ ), 针毛鼠的最低( $B = 2.5601$ )。总体上, 6种小型哺乳动物的植物性食物营养生态位宽度差异较大。4种啮齿目物种的植物性食物平均营养生态位宽度与2种劳亚食虫目物种间并无显著差异。同时, 科水平的营养生态位宽度计算结果与属水平的结果较为一致(表1)。

在6种小型哺乳动物的属水平营养生态位重叠指数计算结果中, 黄胸鼠和淡灰黑齿鼯鼠的动物性营养生态位重叠指数最高( $O_{jk} = 0.63$ ), 表明二者营养生态位重叠明显。社鼠与针毛鼠( $O_{jk} = 0.31$ )、社

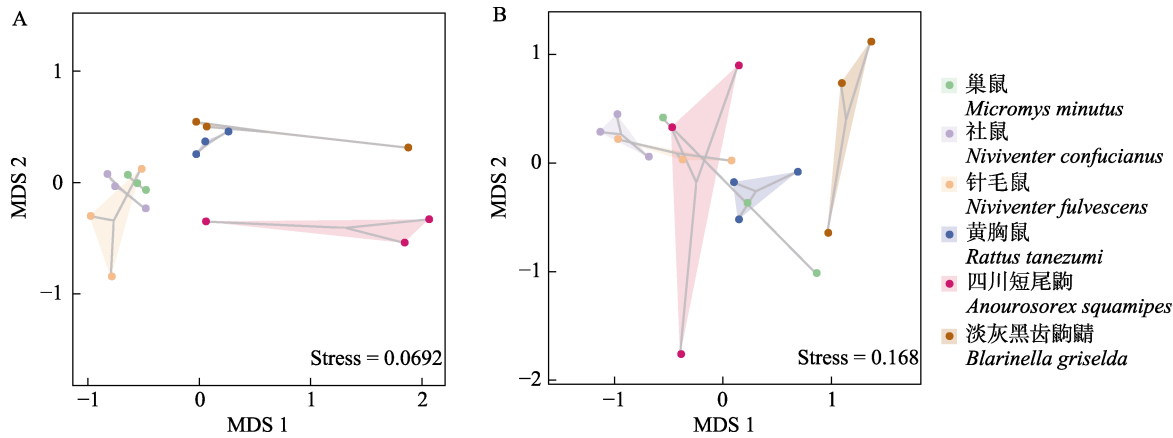


图3 基于Jaccard distance矩阵的6种小型哺乳动物的动物性食物(A)和植物性食物(B)的NMDS图  
Fig. 3 The NMDS of animal- (A) and plant-derived (B) food items of six small mammals based on Jaccard distance

表1 6种小型哺乳动物的营养生态位宽度  
Table 1 Trophic niche breadth of the six small mammals

	动物性食物 Animal-derived food		植物性食物 Plant-derived food	
	属水平 Genus level	科水平 Family level	属水平 Genus level	科水平 Family level
巢鼠 <i>Micromys minutus</i>	5.4882	5.4409	6.9642	4.7517
社鼠 <i>Niviventer confucianus</i>	8.6485	8.2191	11.0998	8.6986
针毛鼠 <i>Niviventer fulvescens</i>	8.1913	6.4274	2.5601	2.5435
黄胸鼠 <i>Rattus tanezumi</i>	6.1445	6.1359	5.5751	5.5339
四川短尾鼯鼠 <i>Anourosorex squamipes</i>	4.0286	4.0239	5.8556	5.8525
淡灰黑齿鼯鼠 <i>Blarinella griselda</i>	3.7137	3.7118	4.5893	4.5681



**表2 6种小型哺乳动物属水平的动物性(斜线左)和植物性(斜线右)食物营养生态位重叠指数**  
Table 2 Trophic niche overlap index of the animal- (the left side of the slash) and plant-derived (the right side of the slash) food items at the genus level in the six small mammals

	巢鼠 <i>Micromys minutus</i>	社鼠 <i>Niviventer confucianus</i>	针毛鼠 <i>Niviventer fulvescens</i>	黄胸鼠 <i>Rattus tanezumi</i>	四川短尾鼯 <i>Anourosorex squamipes</i>
社鼠 <i>Niviventer confucianus</i>	0.04/ <b>0.34</b>				
针毛鼠 <i>Niviventer fulvescens</i>	0.07/0.09	<b>0.31</b> /0.22			
黄胸鼠 <i>Rattus tanezumi</i>	0.08/0.12	0.08/0.24	0.14/0.01		
四川短尾鼯 <i>Anourosorex squamipes</i>	0.01/0.06	<b>0.40</b> /0.26	<b>0.35</b> /0.12	0.21/0.12	
淡灰黑齿鼯 <i>Blarinella griselda</i>	0.04/0.23	0.01/ <b>0.48</b>	0.02/0.01	<b>0.63</b> /0.24	0.03/ <b>0.31</b>

根据Krebs (1999)的评判标准,  $O_{jk} > 0.3$ 视为重叠有意义,  $O_{jk} > 0.6$ 视为显著重叠。加粗的数值表示二者重叠有意义或显著重叠。  
According to Krebs (1999),  $O_{jk} > 0.3$  is considered meaningful overlap and  $O_{jk} > 0.6$  is considered significant overlap. Bold indicates that the trophic niche of two species is meaningful or significantly.

鼠与四川短尾鼯( $O_{jk} = 0.40$ )、针毛鼠与四川短尾鼯( $O_{jk} = 0.35$ )的动物性食物有一定程度重叠(表2), 表明它们的生活史中可能面临动物性食物资源的竞争。其余几种小型哺乳动物两两间的动物性食物重叠指数均较低(表2)。在植物性营养生态位重叠指数中, 社鼠和淡灰黑齿鼯的食物生态位重叠指数最高( $O_{jk} = 0.48$ ), 巢鼠和社鼠( $O_{jk} = 0.34$ )、四川短尾鼯和淡灰黑齿鼯( $O_{jk} = 0.31$ )也表现出一定程度的食物生态位重叠, 其余小型哺乳动物两两间的食物生态位重叠指数均较低。此外, 本研究还计算了4种啮齿目物种间的营养生态位重叠指数,  $O_{jk}$ 值均小于0.01。

### 3 讨论

#### 3.1 食物组成特点

本研究基于DNA宏条形码技术解析了老君山国家级自然保护区6种优势小型哺乳动物夏季的食物组成和食物资源种间竞争关系。结果表明, 鳞翅目、双翅目昆虫和蜘蛛目是6种小型哺乳动物主要的动物性食物, 禾本目和豆目构成了其大部分植物性食物。不同小型哺乳动物之间虽然存在食物生态位重叠, 但在主要食物上出现分离, 表明它们可能通过摄食不同比例和种类的食物来降低种间食物资源竞争, 以实现同域共存。

本研究较之前关于同域共存小型哺乳动物营养生态位的报道(李天保, 2020; 张彩军等, 2021), 获得了分辨率更高的动植物食物图谱。同域分布物种营养生态位上的分化在其他同域共存小型哺乳动物研究中也有报道。如, 陈文文等(2014)通过对神农架地区4种啮齿动物的食物组成进行比较, 发现

安氏白腹鼠(*Niviventer andersoni*)、社鼠、中华姬鼠(*Apodemus draco*)和高山姬鼠(*A. chevrieri*)的摄食偏好有所差异。安氏白腹鼠主要食用植物枝叶和种子, 其余3种鼠类则主要食用种子和动物性食物。本研究中, 社鼠、针毛鼠和四川短尾鼯均取食较多的美舟蛾属食物, 黄胸鼠和淡灰黑齿鼯取食壳粗腹摇蚊属动物较多(附录5)。主要食物组成相对丰度差异(图1)和食物聚类分析结果(图3)显示, 6种小型哺乳动物在主要食物的摄食偏好性上存在一定差异, 表明它们可以通过不同取食策略达到摄食比例的差异, 以减少对栖息地食物资源的竞争, 实现长期共存。此外, 了解小型哺乳动物的食物偏好性, 对于其防治也有重要意义。王明春等(1997)对甘肃鼯鼠(*Eospalax cansus*)食物偏好性的研究发现, 玉米是其最喜食的饵料, 在防治甘肃鼯鼠时, 可以使用玉米作饵料诱杀。李新民等(1989)发现褐家鼠(*Rattus norvegicus*)、黄胸鼠对大米的偏好性要优于小麦和玉米, 但对炒米的喜食性降低, 不宜用炒米配置毒饵。本研究结果表明, 6种小型哺乳动物在动植物食物中各有其偏好性食物, 在鼠形动物的防治管理中可提供参考依据。

本研究中, 四川短尾鼯的动物性食物主要由鳞翅目、双翅目昆虫和蜘蛛目构成, 该结果与其他鼯属动物的食物组成相似。例如, 在南短尾鼯(*Blarina carolinensis*)的食物谱组成中, 昆虫是其主要食物来源, 特别是双翅目和膜翅目动物, 共约占其食物的23% (Hoffman et al, 2012)。此外一定比例的蜘蛛目、鞘翅目、端足目和腹足纲等无脊椎动物也在南短尾鼯的胃内容物中被检测到(Calhoun, 1941; Jow et al, 1994; Whitaker, 2006; Ladine &



Munoz, 2010)。在水鼯鼠(*Neomys fodiens*)的粪便颗粒中鉴定出最常见的食物为单向蚓目、等足目和双翅目(Churchfield, 1979)。Tang等(2021)通过对四川短尾鼯鼠四季食性的研究,发现四川短尾鼯鼠全年动物性食物主要为单向蚓目动物,本文与前人存在差异,推测可能与采样地的生境类型(成都平原和四川老君山国家级自然保护区)和食物资源空间分布差异有关。在植物性食物中,以豆目和禾本目食物较多(Tang et al, 2021),本研究与其一致。另外,小型哺乳动物的捕食对象和效率也会受到昆虫生活史特征变化(例如,发育阶段、体型)的影响(Sullins et al, 2018),这也可能造成不同研究中的优势食物组成结果存在差异。另外,本研究取样时间单一只能反映6种小型哺乳动物夏季的食物组成特征,可能造成对其食物多样性的低估。

### 3.2 营养生态位宽度与重叠

生态位宽度表示生物对资源的利用和对生境的适应能力(Crozier, 1985),营养生态位宽度代表动物在生态环境中的营养层及营养关系。最优觅食理论预测,在食物丰富度高的季节,营养生态位宽度会降低,而在食物丰富度低的季节,营养生态位宽度会增加(MacArthur & Pianka, 1966)。本研究中,社鼠的动物和植物食物生态位宽度指数均最高(表1),表明社鼠对食物资源的利用能力和对生境的适应能力相对较强。针毛鼠的动物性食物营养生态位宽度较宽,但植物性食物营养生态位宽度最窄(表1),暗示其摄食动物性食物的多样性较高。在针毛鼠植物性食物中检测出八月瓜属食物的含量最多(RA = 60.9%),可能是造成其植物性食物 $\alpha$ 多样性较低的原因之一。老君山地区八月瓜属植物资源丰富,尤其在果期可充分满足针毛鼠食物需求,表明针毛鼠对八月瓜属的摄食偏好性很高。

生态位重叠指数反映了物种间对生境内资源的利用程度,并在一定程度上衡量物种间潜在的竞争关系(王桂明等, 1996)。营养生态位重叠较高的物种,可通过改变觅食场所、调整活动节律、取食不同类型的食物等方式以减轻种间竞争强度。营养生态位重叠指数也能反映物种间食性的相似程度。Biffi等(2017)发现比利牛斯鼯鼠(*Galemys pyrenaicus*)和水鼯鼠通过改变取食行为或觅食微生境差异来实现对营养资源的差异利用,以实现二者

的共存。本研究采样在夏季进行,研究地在该季节植物性食物多样性较高,可能会增加捕食者之间的食物重叠。如黄胸鼠和淡灰黑齿鼯鼠的动物性食物存在显著重叠( $O_{jk} = 0.63$ ),但在食物资源充盈的季节,明显的食物重叠可能并不会造成种间食物竞争的加剧。成功的资源分配也可能与捕食者如何根据其觅食策略获取食物资源有关。根据觅食模式和觅食微栖息地的差异,营养生态位的分离现象在鼯鼠中被报道(Churchfield & Rychlik, 2006)。Churchfield和Rychlik(2006)认为,体型在资源分配中起重要作用,可导致不同的觅食模式。由于体型大小的差异(如本研究中四川短尾鼯鼠和淡灰黑齿鼯鼠的头体长分别为74–110 mm和65–81 mm),同域物种可以在同一栖息地捕食不同发育阶段和体型大小的猎物。

食物分化通常被理解为物种相对于主要食物类型的专一化(Churchfield & Sheftel, 1994)。本研究中,黄胸鼠和淡灰黑齿鼯鼠均取食壳粗腹摇蚊属物种,其动物性食物营养生态位显著重叠( $O_{jk} = 0.63$ ),但淡灰黑齿鼯鼠的食物中短痣蚜属(*Anoecia*)的摄入比例显著高于黄胸鼠(29.7% v.s. 0.001%,  $P < 0.01$ ),表明淡灰黑齿鼯鼠可能通过摄食更多的半翅目昆虫以减少同黄胸鼠的食物竞争。其余发生显著重叠的不同物种之间,均发现两两比较的物种会取食同一属食物,但在各自的专性食物的摄食比例上又彼此分开。此外,动物性食物出现重叠的物种间在植物性食物中的重叠指数都较低(表2)。因此,该地区6种小型哺乳动物夏季可能通过改变主要食物的摄食比例以减少营养生态位重叠,避免摄食冲突。

与传统方法相比,DNA宏条形码技术虽然实现了高分辨率的食物鉴定,但也存在不足。由于动物的二级进食,使用分子工具可能鉴定出额外的食物分类单元(Clare et al, 2014),因此基于分子手段获得的食物数据往往低估了常见主要食物种类的重要性,而可能高估稀少食物(Krüger et al, 2014)。本研究在属水平鉴定出多种相对丰度极低的动植物类群,其中一部分食物可能为二级进食导致。如很多昆虫可取食植物,植食性食物中较多低丰度的食物可能是由小型哺乳动物取食昆虫带入。由于DNA宏条形码技术基于食糜中的DNA序列来获取食物组成情况,测序结果也会受到多种因素的影响,如标记基因、基因区域和引物的选择,特异性阻断引

物的扩增成功率以及DNA条形码参考数据库的完善程度等(王雪芹等, 2017; Jusino et al, 2019)。因此, 采用多种食性研究方法是补充数据和验证结果准确性的有效途径(刘刚等, 2018)。小型哺乳动物在研究地分布广泛, 但本研究涉及的动物标本数量较少, 取样范围较窄, 可能会对其食物组成的表征不够全面, 从而影响对物种间食物资源利用偏好的解读。此外, 由于本研究取样时间单一, 即使在6种小型哺乳动物的主要食物存在组成上的差异, 也不能推测物种间的营养生态位分化在全年内都存在。取样的时间尺度也是影响判断物种间生态位是否分化的因素之一。在未来的研究中, 基于更大的样品量, 更长跨度时间和地理尺度研究同域物种共存机制可能更有价值。

基于DNA宏条形码技术, 本研究对四川老君山国家级自然保护区优势分布的6种小型哺乳动物开展分子食性研究。通过鉴定食物种类及明确取食偏好性进一步了解小型哺乳动物间的营养生态位分化和重叠程度及潜在的种间竞争关系。该自然保护区分布的6种小型哺乳动物作为生态系统的消费者, 对于维持老君山生态系统的能量流动和物质循环等方面具有重要意义。对6种小型哺乳动物食物组成及营养生态位的研究, 为从营养生态位分化角度揭示物种同域共存机制提供理论依据。此外, 研究结果对了解老君山国家级自然保护区小型哺乳动物的多样性及其维持机制具有借鉴意义, 并将为该地区鼠形动物种群管理提供理论支持。

**致谢:** 本研究在样品的野外采集过程中得到了四川大学李凤君博士研究生和四川省林业科学研究院的大力支持, 在此一并感谢。

## ORCID

唐刻意  <https://orcid.org/0000-0003-4885-8260>

## 参考文献

- Akrim F, Mahmood T, Max T, Nadeem MS, Qasim S, Andleeb S (2018) Assessment of bias in morphological identification of carnivore scats confirmed with molecular scatology in north-eastern Himalayan region of Pakistan. *PeerJ*, 6, e5262.
- Berry TE, Osterrieder SK, Murray DC, Coghlan ML, Richardson AJ, Grealy AK, Stat M, Bejder L, Bunce M (2017) DNA metabarcoding for diet analysis and

- biodiversity: A case study using the endangered Australian sea lion (*Neophoca cinerea*). *Ecology and Evolution*, 7, 5435–5453.
- Biffi M, Laffaille P, Jabiol J, André A, Gillet F, Lamothe S, Michaux JR, Buisson L (2017) Comparison of diet and prey selectivity of the Pyrenean desman and the Eurasian water shrew using next-generation sequencing methods. *Mammalian Biology*, 87, 176–184.
- Burgar JM, Murray DC, Craig MD, Haile J, Houston J, Stokes V, Bunce M (2014) Who's for dinner? High-throughput sequencing reveals bat dietary differentiation in a biodiversity hotspot where prey taxonomy is largely undescribed. *Molecular Ecology*, 23, 3605–3617.
- Calhoun JB (1941) Distribution and food habits of mammals in the vicinity of the Reelfoot Lake Biological Station. *Journal of the Tennessee Academy of Science*, 16, 177–185.
- Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, Owens SM, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert JA, Smith G, Knight R (2012) Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*, 6, 1621–1624.
- Chen WW, Zhong J, Liu SX, Xiong GM, Chen FQ, Xie ZQ, Jiang GH, Zhou YB (2014) Variations in food habit and viscera organ morphology of four rodents in Shennongjia, central China. *Acta Ecologica Sinica*, 34, 3620–3628. (in Chinese with English abstract) [陈文文, 钟杰, 刘三峡, 熊高明, 陈芳清, 谢宗强, 江广华, 周友兵 (2014) 神农架地区4种啮齿类食性及脏器形态差异比较. *生态学报*, 34, 3620–3628.]
- Churchfield JS (1979) A note on the diet of the European Water shrew, *Neomys fodiens bicolor*. *Journal of Zoology*, 188, 294–296.
- Churchfield S, Rychlik L (2006) Diets and coexistence in *Neomys* and *Sorex* shrews in Białowieża forest, eastern Poland. *Journal of Zoology*, 269, 381–390.
- Churchfield S, Sheftel BI (1994) Food niche overlap and ecological separation in a multi-species community of shrews in the Siberian taiga. *Journal of Zoology*, 234, 105–124.
- Clare EL, Symondson WOC, Broders H, Fabianek F, Fraser EE, MacKenzie A, Boughen A, Hamilton R, Willis CKR, Martinez-Núñez F, Menzies AK, Norquay KJO, Brigham M, Poissant J, Rintoul J, Barclay RMR, Reimer JP (2014) The diet of *Myotis lucifugus* across Canada: Assessing foraging quality and diet variability. *Molecular Ecology*, 23, 3816–3832.
- Cooke SB, Crowley BE (2018) Deciphering the isotopic niches of now-extinct Hispaniolan rodents. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 38, e1510414.
- Crozier WW (1985) Observations on the food and feeding of the angler-fish, *Lophim piscatorius* L., in the northern Irish Sea. *Journal of Fish Biology*, 27, 655–665.

- De León LF, Podos J, Gardezi T, Herrel A, Hendry AP (2014) Darwin's finches and their diet niches: The sympatric coexistence of imperfect generalists. *Journal of Evolutionary Biology*, 27, 1093–1104.
- Deagle BE, Thomas AC, McInnes JC, Clarke LJ, Vesterinen EJ, Clare EL, Kartzinel TR, Eveson JP (2019) Counting with DNA in metabarcoding studies: How should we convert sequence reads to dietary data? *Molecular Ecology*, 28, 391–406.
- Deng Z (1991) Harm of rodents to human health. *Chinese Journal of Public Health*, 7, 131–134. (in Chinese) [邓址 (1991) 啮齿动物对人类健康的危害. *中国公共卫生*, 7, 131–134.]
- Edgar RC (2013) UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 10, 996–998.
- Fu YQ, Wen LY, Dai B, Chen BP, Zhang ZW (2016) Winter habitat characteristics of Sichuan partridge (*Arborophila rufipectus*). *Chinese Journal of Ecology*, 35, 3012–3016. (in Chinese with English abstract) [付义强, 文隲英, 戴波, 陈本平, 张正旺 (2016) 四川山鹧鸪冬季栖息地特征. *生态学杂志*, 35, 3012–3016.]
- Grinnell J (1917) The niche-relationships of the California thrasher. *The Auk*, 34, 427–433.
- Guo YP, Zhang H, Zhao XG, Luo HL, Zhang YJ (2021) Applications of DNA metabarcoding in diet identification of herbivores. *Biotechnology Bulletin*, 37, 252–260. (in Chinese with English abstract) [郭艳萍, 张浩, 赵新钢, 罗海玲, 张英俊 (2021) DNA宏条形码技术在食草动物食性研究中的应用. *生物技术通报*, 37, 252–260.]
- Hardin G (1960) The competitive exclusion principle. *Science*, 131, 1292–1297.
- He K, Li Y, Brandley MC, Lin L, Wang Y, Zhang Y, Jiang X (2010) A multi-locus phylogeny of Nectogalini shrews and influences of the paleoclimate on speciation and evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 734–746.
- Hoffman J, Sylvester T, Lyons E (2012) Diet and ectoparasites of the southern short-tailed shrew (*Blarina carolinensis*) in Louisiana. *Western North American Naturalist*, 72, 586–590.
- Hofreiter M, Poinar HN, Spaulding WG, Bauer K, Martin PS, Possnert G, Pääbo S (2000) A molecular analysis of ground sloth diet through the last glaciation. *Molecular Ecology*, 9, 1975–1984.
- Hou JJ, Li L, Wang YF, Wang WJ, Zhan HY, Dai NH, Lu P (2021) Influences of submerged plant collapse on diet composition, breadth, and overlap among four crane species at Poyang Lake, China. *Frontiers in Zoology*, 18, 1–17.
- Huisman J, Weissing FJ (1999) Biodiversity of plankton by species oscillations and chaos. *Nature*, 402, 407–410.
- Jow J, Hartman GD, Hein R (1994) Food and ectoparasites of the southern short-tailed shrew, *Blarina carolinensis* (Mammalia: Soricidae), from South Carolina. *Brimleyana*, 21, 97–105.
- Jusino MA, Banik MT, Palmer JM, Wray AK, Xiao L, Pelton E, Barber JR, Kawahara AY, Gratton C, Peery MZ, Lindner DL (2019) An improved method for utilizing high-throughput amplicon sequencing to determine the diets of insectivorous animals. *Molecular Ecology Resources*, 19, 176–190.
- Kartzinel TR, Chen PA, Coverdale TC, Erickson DL, Kress WJ, Kuzmina ML, Rubenstein DI, Wang W, Pringle RM (2015) DNA metabarcoding illuminates dietary niche partitioning by African large herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 112, 8019–8024.
- Krebs CJ (1999) *Ecological Methodology*. Addison Wesley Longman, Menlo Park.
- Krüger F, Clare EL, Greif S, Siemers BM, Symondson WC, Sommer RS (2014) An integrative approach to detect subtle trophic niche differentiation in the sympatric trawling bat species *Myotis dasycneme* and *Myotis daubentonii*. *Molecular Ecology*, 23, 3657–3671.
- Ladine T, Munoz A (2010) Food habits of the southern short-tailed shrew (*Blarina carolinensis*) in East Texas. *Texas Journal of Science*, 62, 153–156.
- Levins R (1968) *Evolution in Changing Environment*. Princeton University Press, Princeton.
- Li TB (2020) Analysis of feeding habits of forest rodents in Wangwu Mountain area of Jiyuan City. *Modern Agricultural Science and Technology*, (20), 83–85, 88. (in Chinese with English abstract) [李天保 (2020) 济源市王屋山地区林栖鼠类食性分析. *现代农业科技*, (20), 83–85, 88.]
- Li XM, Li SJ, He JF (1989) Preliminary observation on feeding habits and activities of *Rattus norvegicus* and *Rattus flavipectus*. *Chinese Journal of Vector Biology and Control*, (4), 209. (in Chinese) [李新民, 李书建, 贺金方 (1989) 对褐家鼠、黄胸鼠食性及活动规律的初步观察. *中国鼠类防制杂志*, (4), 209.]
- Liao WB, Fuller RA, Hu JC, Li C (2008) Habitat use by endangered Sichuan partridges *Arborophila rufipectus* during the breeding season. *Acta Ornithologica*, 43, 179–184.
- Liao WB, Li C, Hu JC, Lu X (2007) Habitat utilization of the Sichuan hill partridge (*Arborophila rufipectus*) in the non-breeding period in Laojunshan Nature Reserve. *Zoological Research*, 28, 172–178.
- Liu G, Ning Y, Xia XF, Gong MH (2018) The application of high-throughput sequencing technologies to wildlife diet analysis. *Acta Ecologica Sinica*, 38, 3347–3356. (in Chinese with English abstract) [刘刚, 宁宇, 夏晓飞, 龚明昊 (2018) 高通量测序技术在野生动物食性分析中的应用. *生态学报*, 38, 3347–3356.]
- Liu ZS, Wang XM, Teng LW, Cao LR (2007) Food habits of blue sheep, *Pseudois nayaur* in the Helan Mountains, China. *Folia Zoologica*, 56, 13–22.



- Lu Q, Hu Q, Shi XG, Jin SL, Li S, Yao M (2019) Metabarcoding diet analysis of snow leopards (*Panthera uncia*) in Wolong National Nature Reserve, Sichuan Province. *Biodiversity Science*, 27, 960–969. (in Chinese with English abstract) [陆琪, 胡强, 施小刚, 金森龙, 李晟, 姚蒙 (2019) 基于分子宏条形码分析四川卧龙国家级自然保护区雪豹的食性. *生物多样性*, 27, 960–969.]
- MacArthur RH, Pianka ER (1966) On optimal use of a patchy environment. *The American Naturalist*, 100, 603–609.
- Marshall JP, Bleich VC, Andrew NG, Bighorn S, Andrew N (2008) Evidence for interspecific competition between feral ass *Equus asinus* and mountain sheep *Ovis canadensis* in a desert environment. *Wildlife Biology*, 14, 228–236.
- Pianka ER (1973) The structure of lizard communities. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 4, 53–74.
- Pompanon F, Deagle BE, Symondson WOC, Brown DS, Jarman SN, Taberlet P (2012) Who is eating what: Diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology*, 21, 1931–1950.
- Porter LM (2001) Dietary differences among sympatric Callitrichinae in northern Bolivia: *Callimico goeldii*, *Saguinus fuscicollis* and *S. labiatus*. *International Journal of Primatology*, 22, 961–992.
- Razgour O, Clare EL, Zeale MRK, Hanmer J, Schnell IB, Rasmussen M, Gilbert TP, Jones G (2011) High-throughput sequencing offers insight into mechanisms of resource partitioning in cryptic bat species. *Ecology and Evolution*, 1, 556–570.
- Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F (2016) Vsearch: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584.
- Rutrough A, Widick IV, Bean WT (2019) Reconstruction of the historical range alters niche estimates in an endangered rodent. *Ecography*, 42, 1742–1751.
- Shao XN, Lu Q, Xiong MY, Bu HL, Shi XY, Wang DJ, Zhao JD, Li S, Yao M (2021) Prey partitioning and livestock consumption in the world's richest large carnivore assemblage. *Current Biology*, 31, 4887–4897.
- Shao XN, Song DZ, Huang QW, Li S, Yao M (2019) Fast surveys and molecular diet analysis of carnivores based on fecal DNA and metabarcoding. *Biodiversity Science*, 27, 543–556. (in Chinese with English abstract) [邵昕宁, 宋大昭, 黄巧雯, 李晟, 姚蒙 (2019) 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. *生物多样性*, 27, 543–556.]
- Shutt JD, Nicholls JA, Trivedi UH, Burgess MD, Stone GN, Hadfield JD, Phillimore AB (2020) Gradients in richness and turnover of a forest passerine's diet prior to breeding: A mixed model approach applied to faecal metabarcoding data. *Molecular Ecology*, 29, 1199–1213.
- Sommer U (1999) Competition and coexistence. *Nature*, 402, 366–367.
- Sullins DS, Haukos DA, Craine JM, Lautenbach JM, Robinson SG, Lautenbach JD, Kraft JD, Plumb RT, Reitz JH, Sandercock BK, Fierer N (2018) Identifying the diet of a declining prairie grouse using DNA metabarcoding. *The Auk*, 135, 583–608.
- Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Brochmann C, Willerslev E (2012) Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 21, 2045–2050.
- Tang KY, Xie F, Liu HY, Pu YT, Chen D, Qin BX, Fu CK, Wang Q, Chen SD, Guo KJ (2021) DNA metabarcoding provides insights into seasonal diet variations in Chinese mole shrew (*Anourosorex squamipes*) with potential implications for evaluating crop impacts. *Ecology and Evolution*, 11, 376–389.
- Udvardy MFD (1959) Notes on the ecological concepts of habitat, biotope and niche. *Ecology*, 40, 725–788.
- Wang C, Su HJ, Hu CS, Shi L, Zhang MM (2020) Spatial distribution of sympatric *Rhinopithecus brelichi* and *Macaca thibetana* in Fanjingshan National Nature Reserve, Guizhou, China. *Acta Theriologica Sinica*, 40, 193–200. (in Chinese with English abstract) [王丞, 粟海军, 胡灿实, 石磊, 张明明 (2020) 梵净山保护区同域分布黔金丝猴与藏酋猴的空间分布初探. *兽类学报*, 40, 193–200.]
- Wang DL, Li XC, Pan DF, De KJ (2016) The ecological significance and controlling of rodent outbreaks in the Qinghai-Tibetan Grasslands. *Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition)*, 42, 237–245. (in Chinese with English abstract) [王德利, 李心诚, 潘多峰, 德科加 (2016) 青藏高原草地鼠害的生态释义及控制. *西南民族大学学报(自然科学版)*, 42, 237–245.]
- Wang GL (2004) Causes and control countermeasures of forest rodent damage in Bailongjiang forest area. *Journal of Gansu Forestry Science and Technology*, 29(4), 74–75. (in Chinese with English abstract) [王贵来 (2004) 白龙江林区森林鼠害发生原因及防治对策. *甘肃林业科技*, 29(4), 74–75.]
- Wang GM, Zhou QQ, Zhong WQ (1996) Trophic niches of four species of common small mammals in Inner Mongolia grassland and their relationships. *Acta Ecologica Sinica*, 16, 71–76. (in Chinese with English abstract) [王桂明, 周庆强, 钟文勤 (1996) 内蒙古典型草原4种常见小哺乳动物的营养生态位及相互关系. *生态学报*, 16, 71–76.]
- Wang MC, Han CX, Hu ZL, Chen XD, Yang XJ (1997) A study on Gansu Zokor's feeding rhythm and its food preference to different baits. *Acta Universitatis Agriculturae Boreali-Occidentalis*, 25(2), 46–50. (in Chinese with English abstract) [王明春, 韩崇选, 胡忠朗, 陈孝达, 杨学军 (1997) 甘肃鼯鼠取食节律及对不同饵料喜食性的研究. *西北农业大学学报*, 25(2), 46–50.]
- Wang XQ, Wang GH, Qiao F, Gao QK, Heong KL, Zhu ZR, Cheng JA (2017) Progress on high-throughput sequencing and its applications in food web analysis. *Acta Ecologica*

- Sinica, 37, 2530–2539. (in Chinese with English abstract) [王雪芹, 王光华, 乔飞, 高其康, Heong KL, 祝增荣, 程家安 (2017) 高通量测序及其在食物网解析中的应用进展. 生态学报, 37, 2530–2539.]
- Whitaker J (2006) Food of the southern short-tailed shrew (*Blarina carolinensis*) on Cumberland Island, Georgia. Southeastern Naturalist, 5, 361–366.
- Wickham H (2009) ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag, New York.
- Xi LYZ, Luo G, Ran JH, Feng SL, Chen JW, Chen BP (2020) Habitat use and change of *Arborophila rufiperctus* during the breeding season in the Laojunshan National Nature Reserve, Sichuan. Sichuan Journal of Zoology, 39, 258–265. (in Chinese with English abstract) [西丽媛子, 罗概, 冉江洪, 冯盛林, 陈建武, 陈本平 (2020) 四川老君山国家级自然保护区四川山鸲繁殖期的生境利用及其变化研究. 四川动物, 39, 258–265.]
- Yang CW, Ma JZ, Jin JL, Liu Z (2008) Research on autumn time niche of five rodents in forests ecosystem. Chinese Journal of Zoology, 43(2), 64–69. (in Chinese with English abstract) [杨春文, 马建章, 金建丽, 刘铸 (2008) 森林生态系统中5种啮齿动物秋季时间生态位. 动物学杂志, 43(2), 64–69.]
- Yang YZ, Zhan AB, Cao L, Meng FJ, Xu WB (2016) Selection of a marker gene to construct a reference library for wetland plants, and the application of metabarcoding to analyze the diet of wintering herbivorous waterbirds. PeerJ, 4, e2345.
- Yin BF, Huai HY, Zhang YL, Zhou L, Wei WH (2007) Trophic niches of *Pantholops hodgsoni*, *Procapra picticaudata* and *Equus kiang* in Kekexili Region. Chinese Journal of Applied Ecology, 18, 766–770. (in Chinese with English abstract) [殷宝法, 淮虎银, 张镡锂, 周乐, 魏万红 (2007) 可可西里地区藏羚羊、藏原羚和藏野驴的营养生态位. 应用生态学报, 18, 766–770.]
- Yong ZY, Guo C, Zhang MW, Wang Y, Li B (2011) Significance and methodology of rodent's food habit research: A review. Chinese Journal of Ecology, 30, 2637–2645. (in Chinese with English abstract) [雍仲禹, 郭聪, 张美文, 王勇, 李波 (2011) 啮齿动物食性研究的意义及方法评述. 生态学杂志, 30, 2637–2645.]
- Zhang CJ, Wang XY, Yao BH, Wang C, Kang YK, Zhang Q, Su JH (2021) Diet composition and trophic niche characteristics of three rodents in Gannan meadow. Acta Agrestia Sinica, 29, 1484–1490. (in Chinese with English abstract) [张彩军, 王小燕, 姚宝辉, 王缠, 康宇坤, 张倩, 苏军虎 (2021) 甘南草原3种啮齿动物的食性及其营养生态位特征. 草地学报, 29, 1484–1490.]
- Zhang YY, Dong JY, Sun X, Zhang XM (2022) Bibliometric analysis of food habit research based on DNA molecular biology. Fisheries Science, 41, 160–172. (in Chinese with English abstract) [张宇洋, 董建宇, 孙昕, 张秀梅 (2022) 基于DNA分子生物学食性研究领域的文献计量分析. 水产科学, 41, 160–172.]
- Zhao G (2021) A review of rodent feeding methods. Biological Chemical Engineering, 7(5), 163–165. (in Chinese with English abstract) [赵耕 (2021) 啮齿动物食性研究方法. 生物化工, 7(5), 163–165.]
- Zhong LQ (2020) Feeding and Nutrition Strategy and Feeding Habitat Evaluation of Red Deer and Sika Deer Distributed in the Same Domain. PhD dissertation, Northeast Forestry University, Harbin. (in Chinese with English abstract) [钟林强 (2020) 同域分布马鹿与梅花鹿采食和营养策略及采食生境评价. 博士学位论文, 东北林业大学, 哈尔滨.]

(责任编委: 周欣 责任编辑: 闫文杰)

## 附录 Supplementary Material

### 附录1 本研究使用的引物序列

Appendix 1 Sequences of the primers used in the study  
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022474-1.pdf>

### 附录2 本研究使用的各样品对应的barcode序列

Appendix 2 Barcode sequences of the samples used in the study  
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022474-2.pdf>

### 附录3 6种小型哺乳动物基于样本的稀疏曲线

Appendix 3 Sample-based rarefaction curves of the six small mammals  
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022474-3.pdf>

### 附录4 6种小型哺乳动物目水平食物中排名前10的动物性食物的出现频率(FO)和平均相对丰度(RA)

Appendix 4 The frequency of occurrence (FO) and average relative abundance  $\pm$  standard error (RA  $\pm$  SE) of the top 10 animal food items at the order level in the diet of the six small mammals  
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022474-4.pdf>

**附录5 6种小型哺乳动物属水平食物中排名前10的动物性食物的出现频率(FO)和平均相对丰度(RA)**

Appendix 5 The frequency of occurrence (FO) and average relative abundance  $\pm$  standard error (RA  $\pm$  SE) of the top 10 animal food items at the genus level in the diet of the six small mammals

<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022474-5.pdf>

**附录6 6种小型哺乳动物目水平食物中排名前10的植物性食物的出现频率(FO)和平均相对丰度(RA)**

Appendix 6 The frequency of occurrence (FO) and average relative abundance  $\pm$  standard error (RA  $\pm$  SE) of the top 10 plant food items at the order level in the diet of the six small mammals

<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022474-6.pdf>

**附录7 6种小型哺乳动物属水平食物中排名前10的植物性食物的出现频率(FO)和平均相对丰度(RA)**

Appendix 7 The frequency of occurrence (FO) and average relative abundance (RA)  $\pm$  standard error (RA  $\pm$  SE) of the top 10 plant food items at the genus level in the diet of the six small mammals

<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022474-7.pdf>

**附录8 6种小型哺乳动物的动物性和植物性食物的LEfSe分析结果**

Appendix 8 The result of LEfSe analysis of animal- and plant-derived food items in six small mammals

<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022474-8.pdf>