

# 基于非损伤性 DNA 宏条形码的黑鹳食性 季节变化分析与适应性保护策略

杨相国<sup>1</sup> 刘波<sup>1</sup> 贾岩<sup>1</sup> 刘森<sup>2\*</sup>

1 安阳市林业资源预防和保护工作中心 安阳 455000; 2 河南师范大学生命科学学院 新乡 453007

**摘要:** 黑鹳 (*Ciconia nigra*) 作为国家一级重点保护野生动物, 其食物主要依赖湿地生态系统的鱼类资源。传统食性研究方法 (如直接观察和胃内容物分析) 受限于样本获取难度和鉴定精度, 本研究以河南安阳市林州淇浙河国家湿地公园黑鹳种群为对象, 应用非损伤性 DNA 宏条形码技术, 通过对冬夏两季黑鹳粪便样本中的鱼类 12S rRNA 基因测序, 揭示其食物组成的季节性差异及生态适应策略。结果显示, 黑鹳食物涵盖 2 目 3 科 14 属鱼类,  $\alpha$  多样性指数显示冬夏两季食物丰富度无显著差异, 但  $\beta$  多样性分析 (PCoA 分析, PERMANOVA 验证) 表明食物结构存在显著季节性重构: 冬季样本离散度低, 夏季异质性增强。冬季以鲤形目鲮属 (*Hemiculter*) 为主 (相对丰度 98.4%), 呈现特化摄食特征; 夏季转为主要摄食鲤形目颌须鲃属 (*Gnathopogon*, 22.7%)、鲈属 (*Sarcocheilichthys*, 19.2%) 与鲂形目拟鲃属 (*Pseudobagrus*, 19.2%) 的广谱策略。LEfSe 和 metagenomeSeq 的分析结果也进一步支持上述发现。冬季特化策略可能与低温下鱼类活动受限相关, 而夏季多样化摄食受益于鱼类繁殖期资源丰度提升及生境扩展。建议开展针对性保护措施: 冬季维护鲤科资源并建立应急投喂机制, 夏季保护河道生境异质性以维持底栖鱼类繁殖。本研究为黑鹳适应性管理提供了科学依据, 凸显了分子生态学技术在濒危物种保护中的应用潜力。

**关键词:** 黑鹳; 粪便; DNA 宏条形码; 食性; 季节变化

中图分类号: Q958 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2026) 02-213-08

## Analysis of seasonal dietary shifts and adaptive conservation strategies in *Ciconia nigra* through non-invasive DNA metabarcoding

YANG Xiang-Guo<sup>1</sup> LIU Bo<sup>1</sup> JIA Yan<sup>1</sup> LIU Sen<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Anyang Center for Prevention and Protection of Forestry Resources, Anyang 455000;

<sup>2</sup> College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

**Abstract: [Objectives]** The Black Stork (*Ciconia nigra*) is a class I protected species in China, and its diet is mainly dependent on fish resources within wetland ecosystems. Conventional dietary analysis methods, such

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 31870354);

\* 通信作者, E-mail: liusen2021@htu.edu.cn;

**第一作者介绍** 杨相国, 男, 高级工程师; 研究方向: 湿地保护与修复、野生动植物调查监测与保护; E-mail: wsyxg@163.com.

收稿日期: 2025-05-08, 修回日期: 2025-08-07 DOI: 10.13859/j.cjz.202625089 CSTR: 32109.14.cjz.202625089

as direct observation and gastric content analysis, are limited by challenges in sample accessibility and taxonomic resolution. This study utilized non-invasive DNA metabarcoding to examine dietary shifts between winter and summer in a *C. nigra* population residing in the Linzhou Qixi River National Wetland Park of Anyang City, Henan Province. **[Methods]** To obtain high-quality fecal samples of Black Storks for dietary analysis, we developed and implemented a rigorous sampling protocol during two seasons—winter (January) and summer (August)—of 2024. Prior to sampling, we carefully selected roosting sites of Black Storks and thoroughly cleared existing feces from these sites. On sampling days, we first excluded overlapping sites, and then collected the freshest single fecal sample from each designated roosting site. All collections were completed within the same day. A total of 20 fecal samples were obtained across both seasons, with successful DNA amplification achieved in 12 samples. After molecular confirmation of species origin, eight effective fecal DNA samples were ultimately obtained (five in winter and three in summer). DNA from these validated samples underwent amplicon sequencing using 12S rRNA markers to assess seasonal variations in dietary composition, diversity characteristics, and biomarker species. **[Results]** The findings revealed a trophic spectrum encompassing 2 orders, 3 families, and 14 genera. The analysis of  $\alpha$ -diversity metrics indicated no significant seasonal variation in species richness. However,  $\beta$ -diversity analyses (PCoA ordination with PERMANOVA validation) revealed significant changes in dietary composition (Fig. 1), with winter assemblages exhibiting low dispersion in contrast to the increased heterogeneity observed in summer. During winter, the diet was highly specialized, with *Hemiculter* (Cypriniformes; 98.4% relative abundance) being dominant. In contrast, the summer diet was diverse, including *Gnathopogon* (22.7%, Cypriniformes), *Sarcocheilichthys* (19.2%, Cypriniformes), and *Pseudobagrus* (19.2%, Siluriformes) (Fig. 2). The analytical results from LEfSe and metagenomeSeq further supported the above findings. The specialized dietary strategy in winter might be linked to limited fish activity in cold environments, whereas the diversified dietary strategy in summer benefited from the more abundant resources and expanded habitats during the breeding season (Fig. 3). **[Conclusion]** The dietary composition of Black Storks exhibits significant seasonal restructuring, which is closely related to the abundance of fish resources. Conservation strategies highlight the need to protect Cypriniformes resources, develop winter emergency strategies, and preserve varied river habitats during summer to support the abundance of benthic fish spawners. This study provides evidence for adaptive management strategies for *C. nigra* and underscores the potential of molecular ecological tools in the preservation of endangered species.

**Key words:** *Ciconia nigra*; Feces; DNA metabarcoding; Diets; Seasonal variation

黑鹳 (*Ciconia nigra*) 隶属鹳形目鹳科鹳属, 是一种大型涉禽。黑鹳在全球范围内分布广泛, 涵盖欧亚大陆及非洲部分区域, 但种群数量相对稀少且呈局部性分布。尽管在世界自然保护联盟 (International Union for Conservation of Nature, IUCN) 红色名录中, 该物种被列为较少关注物种 (Least Concern, LC) (IUCN 2016), 但其在我国境内繁殖种群

数量较少, 被列为国家一级重点保护野生动物。

作为严格依赖湿地生态系统的顶级捕食者, 黑鹳展现出独特的摄食生态策略, 其典型觅食行为包括行走啄寻和静立啄食两种方式 (Tamás and Kalocs 2006, 冯理 2008, 张红娟 2010)。黑鹳的食物以鱼类为主, 具体种类随分布区域和季节的鱼类资源动态变化, 如云南纳帕海越冬地黑鹳主要以鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)、

食蚊鱼 (*Gambusia affinis*) 及黄黝鱼 (*Hypseleotris swinhonis*) 等为食 (冯理 2008), 而在山西繁殖地则以条鳅 (*Nemachilus sp.*) 和泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 为主要食物 (刘焕金等 1990)。除鱼类外, 黑鹳亦捕食少量软体动物、昆虫和蛙类等, 如在纳帕海越冬地, 黑鹳会捕食黄蚬 (*Corbicula aurea*) 或螺类等软体动物 (冯理 2008); 在山西灵丘县唐河冬季的鱼类资源相对缺乏时, 黑鹳主要以双翅目虻科幼虫为食 (陈利红 2016)。繁殖期间巢内雏鸟完全依赖于亲鸟投喂, 食物以鱼和两栖动物为主 (Kamiński et al. 2018), 亚成体离巢初期因捕鱼能力较弱, 对蛙类的取食量高于成体 (刘焕金等 1990)。

早期对黑鹳食性的研究主要依赖自然栖息地中的直接观察, 通过记录其捕食行为及猎物种类初步构建基础食物谱, 但受限于观察条件与时间跨度, 难以覆盖全季节食物组成。传统分析方法, 如显微镜对动物呕吐物、胃内容物或粪便残渣观察分析, 虽能直观识别部分猎物, 但对微小残渣的物种鉴定存在局限性。随着分子技术发展, DNA 宏条形码 (DNA metabarcoding) 技术通过对粪便样本中的基因片段高通量测序, 可将食物鉴定精度提升至属级。这种非损伤性技术尤其适用于濒危物种研究, 为解析其营养生态位时空动态提供了全新视角。

本研究在河南安阳市林州淇淅河国家湿地公园, 针对该区域常年栖息的 2~12 只黑鹳种群, 采集了夏季和冬季的黑鹳粪便样本, 通过鱼类 12S rRNA 基因片段的高通量测序技术, 初步解析了黑鹳冬夏两季鱼类食物的偏好情况, 为量化评估栖息地食物承载力、制定差异化保护策略提供了关键基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本采集

分别于 2024 年 1 月 (冬季) 和 8 月 (夏季) 在安阳市林州淇淅河国家湿地公园黑鹳核心区域——临淇镇下河村河段, 采集黑鹳粪便样本。

该区域水面和水漫滩面积较大, 河流东侧是悬崖, 为黑鹳提供了理想的觅食和休憩场所; 然而, 由于其邻近万泉湖景区, 春季和秋季频繁的游人活动干扰导致黑鹳数量稀少。基于长期定点观察记录黑鹳活动轨迹, 制定了严格的采样规程以最大程度减少对黑鹳的人为干扰: 采样前一日清理目标位点的遗留粪便, 采样当日通过追踪个体活动轨迹排除交叉区域, 待目标个体傍晚飞离后, 立即在其活动区域采集单份最新鲜粪便, 并确保样本均在单日内完成收集, 从而有效降低同个体重复采样的风险。最终, 我们按照此方法在 1 月和 8 月分别收集 12 份和 8 份粪便样本, 共收集 20 份样本, 所有样本均使用无菌冻存管收集并立即低温保存。

### 1.2 DNA 提取及高通量测序

采用 MagBeads FastDNA Kit for Soil 试剂盒 (MP Biomedicals) 提取基因组 DNA, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 共有 12 个样本成功提取到高质量 DNA, 其中 1 月 7 份, 8 月 5 份。首先, 采用鸟类 COI 基因特异性引物 5'-GCA TTY CCA CGA ATA AAT AAY ATA AG-3' (正向, Y 代表 C/T) 和 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAR AAY CA-3' (反向, R 代表 A/G) 进行 PCR 扩增, 验证粪便样本的物种来源。经测序和序列 BLAST 比对, 确定 8 份粪便样本归属于黑鹳, 其中冬季样本 5 份, 夏季样本 3 份, 纳入后续食性分析。

鉴于黑鹳以鱼类为主要食物来源, 本研究进一步采用携带条形码的鱼类 12S rRNA 基因通用引物 (正向: 5'-GTC GGT AAA ACT CGT GCC AGC-3'; 反向: 5'-CAT AGT GGG GTA TCT AAT CCC AGT TTG-3') 进行 PCR 扩增。PCR 产物回收纯化, 检测定量, 满足测序条件后, 采用 Rapid DNA-Seq Kit 建库, 利用 Illumina NovaSeq 6000 平台完成高通量测序 (上海派森诺生物科技有限公司)。原始下机数据提交至国家生物信息中心 (<https://ngdc.cncb.ac.cn>; Bioproject 编号: PRJCA038817)。

### 1.3 数据处理与统计分析

采用 Vsearch 对原始下机数据进行 barcode 序列去除、过滤、去噪等质量控制, 之后进行拼接、去嵌合体、聚类等步骤 (Rognes et al. 2016), 通过 97% 相似度聚类获得操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTUs) 及其丰度表, 采用稀疏方法进行抽平, 用于后续的分析 (Kemp and Aller 2004)。所有序列通过 NCBI 的 GenBank 和 Mitofish 数据库比对, 仅保留双数据库匹配一致的结果, 并进行分类学组成分析。为较为全面地评估  $\alpha$  多样性, 采用 Chao1 (Chao 1984)、Pielou's evenness (Pielou 1966)、Shannon (Shannon 1948) 和 Simpson (Simpson 1949) 指数评估不同时期黑鹳粪便中检测到鱼类的丰富度、均匀度和多样性差异, 组间差异显著性由 Kruskal-Wallis 检验完成。

基于 Jaccard 距离、Bray-Curtis 距离进行主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) (Ramette 2007), PERMANOVA (permutational multivariate analysis of variance) 分析 (McArdle and Anderson 2001) 评估组间差异显著性, 完成  $\beta$  多样性分析。标志物种 (biomarker) 的获取, 由 LefSe (LDA effect size) 分析 (Segata et al. 2011) 和 metagenomeSeq 分析完成, 其中 LefSe 分析由线性判别分析 LDA (linear discriminant analysis) 阈值大于 2 决定标志物种。上述分析在派森诺基因云平台 (www.genescloud.cn) 完成。

## 2 结果

测序分析共获得 115 个 OTUs, 其中有 51 个成功注释到鱼类分类单元 (占总 OTUs 的 44.3%), 涵盖鲤形目 (Cypriniformes) 和鲇形目 (Siluriformes) 2 个目。科级分类包括鲤科 (Cyprinidae)、鳅科 (Cobitidae) 和鲢科 (Bagridae) 3 个科。属级分类包括 14 个属, 即鳊属 (*Sarcocheilichthys*)、小鰾鲈属 (*Microphysogobio*)、颌须鲈属 (*Gnathopogon*)、鳊属 (*Hemiculter*)、鲢属 (*Hypophthalmichthys*)、

草鱼属 (*Ctenopharyngodon*)、鳊属 (*Zacco*)、鳊鲂属 (*Rhodeus*)、鲈属 (*Gobio*)、鳊属 (*Phoxinus*)、麦穗鱼属 (*Pseudorasbora*)、似鲈属 (*Pseudogobio*)、泥鳅属 (*Misgurnus*) 和拟鳊属 (*Pseudobagrus*)。

### 2.1 黑鹳冬夏两季的食物多样性与组成结构特征

夏季食物组成的丰富度、均匀度及多样性均略高于冬季 (图 1a), 但统计检验表明两组间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。食物组成的  $\beta$  多样性分异特征进一步通过基于 Jaccard 距离 (图 1b, 前两轴解释总差异的 55.6%) 和基于 Bray-Curtis 距离 (图 1d, 前两轴解释总差异的 79.2%) 的 PCoA 分析揭示: 冬季和夏季样本均明显分离, 且冬季样本之间差异性较小, 而夏季样本分散明显, 差异性较大。相应的 PERMANOVA 检验支撑了 PCoA 的结果, 证实组间差异具有统计学意义 (Jaccard 距离: pseudo- $F = 4.195$ ,  $P = 0.027$ , 图 1c; Bray-Curtis 距离: pseudo- $F = 6.886$ ,  $P = 0.022$ , 图 1e)。上述结果表明, 尽管黑鹳夏季与冬季食物组成的  $\alpha$  多样性 (丰富度、均匀度和多样性) 无显著差异, 但其食物群落的物种组成结构 ( $\beta$  多样性) 存在显著的季节性变化。

### 2.2 分类层级上的食物组成差异分析

黑鹳冬季和夏季的食物组成在目、科、属三级分类水平上均表现出具有一定的差异, 具体如下。在目级分类水平上 (图 2a), 冬季食物以鲤形目 (相对丰度约为 99.8%) 为主, 夏季则转变为鲤形目 (相对丰度约 52.2%) 和鲇形目 (相对丰度约 18.1%) 为优势类群。在科级分类水平上 (图 2b), 冬季食物主要由鲤科 (相对丰度约 99.2%) 构成, 夏季则以鲤科 (相对丰度约 45.3%) 与鳊科 (相对丰度约 19.1%) 为主。在属级分类水平上 (图 2c), 冬季优势属为鳊属 (相对丰度约 98.4%), 夏季则食性明显多样化, 以颌须鲈属 (相对丰度约 22.7%)、鳊属 (相对丰度约 19.2%) 及拟鳊属 (相对丰度约 19.2%) 为主。

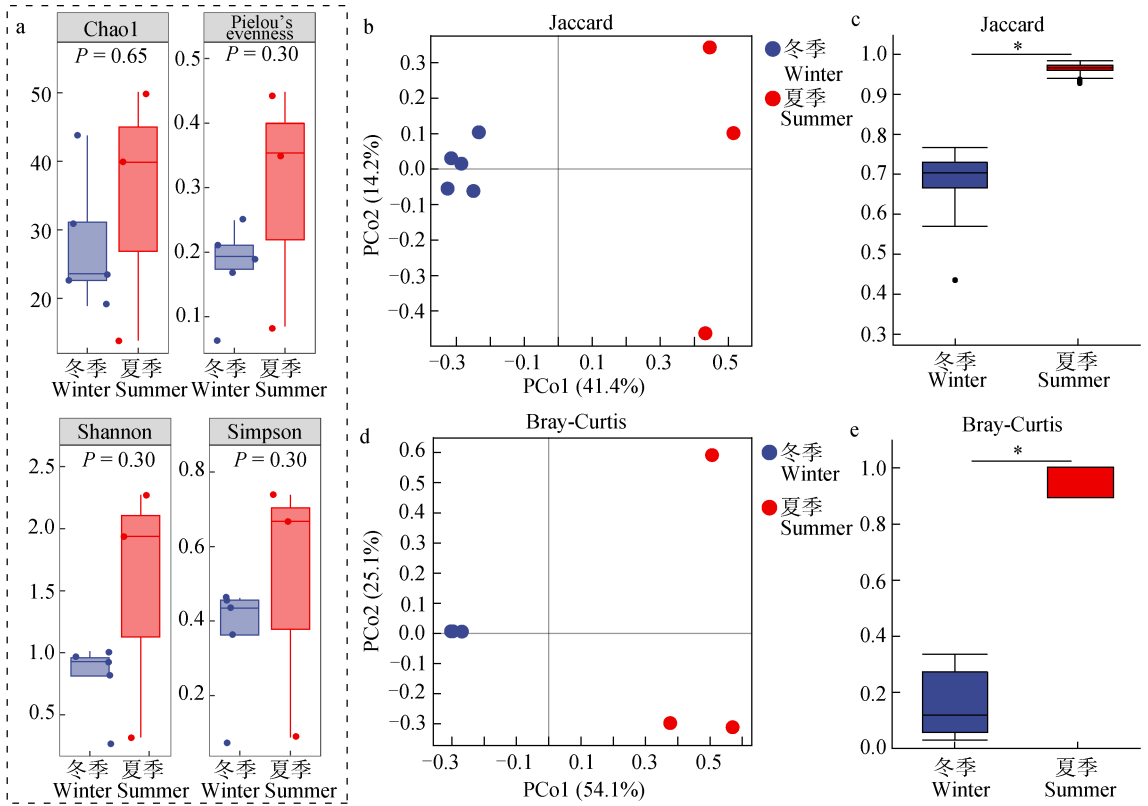


图 1  $\alpha$  多样性和  $\beta$  多样性差异分析与检验

Fig. 1 Comparative analysis and statistical validation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -diversity

a. 冬季和夏季样本的 Chao1、Pielou's evenness、Shannon 和 Simpson 4 种  $\alpha$  多样性指数差异。b~e. 组间  $\beta$  多样性差异分析与检验：b. 基于 Jaccard 距离矩阵的 PCoA 分析；c. 基于 Jaccard 距离矩阵的 PERMANOVA 检验；d. 基于 Bray-Curtis 距离矩阵的 PCoA 分析；e. 基于 Bray-Curtis 距离矩阵的 PERMANOVA 检验。\*  $P < 0.05$

Panel a illustrates the differences in  $\alpha$ -diversity indices (Chao1, Pielou's evenness, Shannon, and Simpson) between winter and summer groups. Panels b ~ e display intergroup  $\beta$ -diversity analysis and tests: b. PCoA based on Jaccard dissimilarity matrix; c. PERMANOVA test based on Jaccard dissimilarity matrix; d. PCoA based on Bray-Curtis dissimilarity matrix; e. PERMANOVA test based on Bray-Curtis dissimilarity matrix. \*  $P < 0.05$

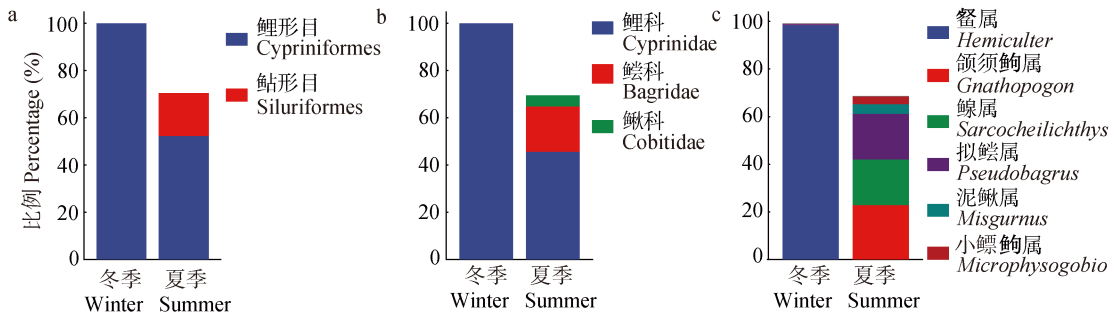


图 2 黑鹳冬季与夏季食物组成比例

Fig. 2 Proportions of food composition of *Ciconia nigra* in winter and summer

a. 目水平；b. 科水平；c. 属水平。a. Order level；b. Family level；c. Genus level.

### 2.3 组间标志物种分析

基于 LEfSe 分析和 metagenomeSeq 分析获得黑鹳冬夏两季的标志性食物物种，得出的结果具有高度的一致性（图 3），冬季样本的标志性物种主要是鳃属，而夏季样本的标志性物种

则主要包括颌须鲃属、鳊属、小鰾鲃属和泥鳅属。两种分析方法也获得了一些不同的结果，LEfSe 分析发现草鱼属也是冬季样本的标志物种（图 3a），metagenomeSeq 分析发现鳊鲃属和拟鳊属也是夏季样本的标志物种（图 3b）。

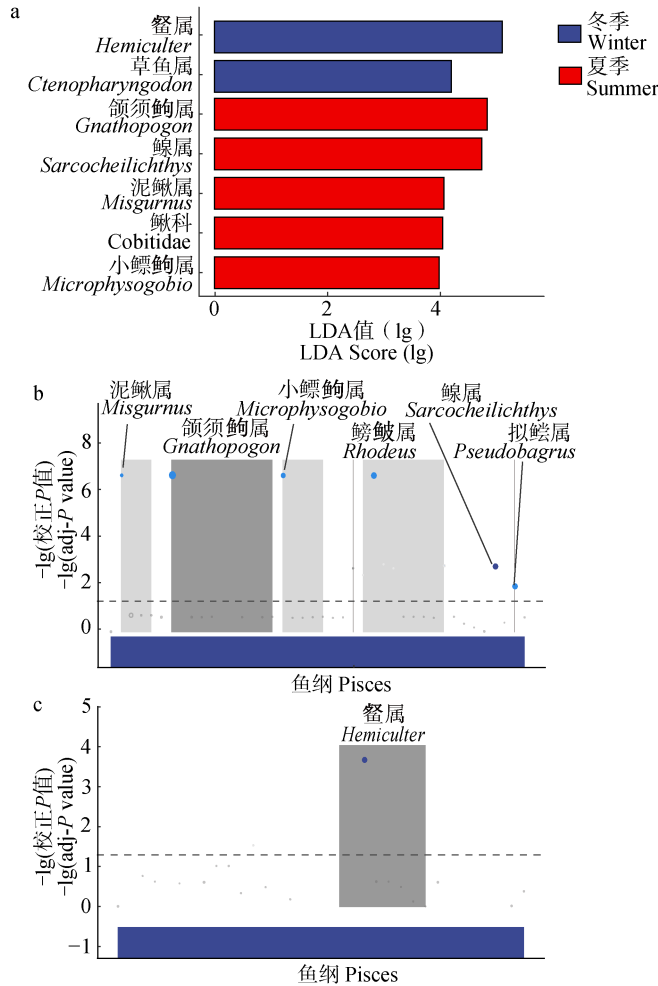


图 3 黑鹳食性组成标志物分析

Fig. 3 Biomarker analysis of food composition of *Ciconia nigra*

a. 基于 LEfSe 分析的 LDA 值柱状图；b. 基于 metagenomeSeq 分析获得的夏季组标志物种；c. 基于 metagenomeSeq 分析获得的冬季标志物种。b、c 中的虚线分隔了差异显著（以上）与差异不显著（以下）操作分类单元（OTU）；实心点表示该分组内显著上调的，实心点越大对应的 OTU 丰度越高；柱子代表 OTUs 对应的属，OTUs 数量越多，柱子越宽；对于显著差异的点数量排在前 10 的属，柱子添加灰色背景。

a. LDA score histogram from LEfSe analysis; b. Biomarker taxa predicted through metagenomeSeq analysis for summer samples; c. Biomarker taxa predicted through metagenomeSeq analysis for winter samples. In panels b and c, the dashed line separates significantly differential operational taxonomic units (OTUs, above) from non-significant OTUs (below); solid dots indicate significantly upregulated OTUs in the respective group, with dot size proportional to OTU abundance (larger dots indicate higher abundance); bar width represents the number of OTUs per genus (wider bars indicate more OTUs); gray-shaded backgrounds highlight the top 10 genera ranked by the count of significant differential OTUs.

### 3 讨论

本研究采用基于 12S rRNA 标记的粪便 DNA 宏条形码技术,对安阳市林州淇淅河国家湿地公园黑鹳的 8 份粪便样本(冬季 5 份,夏季 3 份)进行食性分析,共鉴定出 2 目 3 科 14 属的鱼类分类单元,揭示了黑鹳冬夏两季的食性组成特征。需要指出的是,本研究存在以下技术局限性:首先,受采样条件制约,该区域位于万泉湖景区,春秋季游客活动频繁导致黑鹳数量锐减,未能获取粪便样本,仅能获取冬季和夏季(游客稀少期)的粪便样本,无法全面反映其全年食性动态;其次,为避免干扰黑鹳活动,样本采集需在黄昏个体飞离后进行,导致粪便样本暴露时间较长,易加速 DNA 降解,尤其是在夏季,这直接造成符合测序要求的样本量有限,可能低估黑鹳食物组成的多样性。然而值得注意的是,尽管存在上述这些局限,本研究鉴定的鱼类类群(除似鲟属外)与林州地区既往记录的鱼类资源具有高度一致性(赵文武等 2016, 2017, 李斌顺等 2018),这不仅验证了粪便 DNA 高通量测序技术在黑鹳食性研究中的适用性,更为后续建立非损伤性食性监测体系提供了依据。

食性分析表明,黑鹳冬夏两季食物组成的  $\alpha$  多样性指数无显著差异,但  $\beta$  多样性区分明显,表明其食物组成结构存在显著季节性重构。冬季样本在 PCoA 分析中呈现低离散度,与食物中鲤形目(99.8%)尤其是鲤科(99.2%)、鲮属(98.4%)占绝对优势密切相关。这种特化的摄食策略可能与低温环境下鱼类活动能力下降有关,耐寒且集群的鲤科鱼类在浅水区更易被捕食。相比之下,夏季食性结构呈现多优势种格局:食物中鲤形目占比降至 52.2%,颌须鲟属、鳊属、拟鲮属显著增加,这可能与鱼类繁殖期幼体资源丰富化、水位上涨扩展了黑鹳的觅食生境密切相关。这种广谱摄食策略不仅提升了营养获取的稳定性,更增强了种群应对环境波动的生态韧性。LEfSe 和 metagenomeSeq

的分析结果也进一步支持上述发现,但两种方法在检测低丰度物种的敏感性上存在差异,提示在结果解读时需保持谨慎。

基于上述发现,建议采取差异化保护策略:冬季重点维护黑鹳核心觅食区的鲤科鱼类资源,同时可参考山西灵丘唐河经验建立极端天气下的应急投喂机制(陈利红 2016)。夏季则需注重维持河道生境异质性,避免砾石底质破坏和岸线硬化,特别要保护具有重要生态功能的池塘系统,即黑鹳的重要觅食区域(Moreno-Opo et al. 2011),为底栖鱼类提供繁殖庇护所。黑鹳的出现与人类活动呈反比(Chevallier et al. 2010),在旅游旺季,应积极宣传和引导游客避免在河边戏水,为黑鹳提供充足的安全活动空间。这种基于食性季节动态的保护方案,可为黑鹳种群恢复和维持提供科学支撑。

### 参 考 文 献

- Chao A. 1984. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 11(4): 265–270.
- Chevallier D, Le Maho Y, Baillon F, et al. 2010. Human activity and the drying up of rivers determine abundance and spatial distribution of Black Storks *Ciconia nigra* on their wintering grounds. *Bird Study*, 57(3): 369–380.
- IUCN. 2016. IUCN Red List of Threatened Species: *Ciconia nigra*. [EB/OL]. (2016-10-01)[2025-04-17]. <https://www.iucnredlist.org/species/22697669/111747857>.
- Kamiński M, Bańbura J, Janic B, et al. 2018. Intra-seasonal and brood-size dependent variation in the diet of black stork (*Ciconia nigra*) nestlings. *Waterbirds*, 41(3): 268–275.
- Kemp P F, Aller J Y. 2004. Bacterial diversity in aquatic and other environments: what 16S rDNA libraries can tell us. *FEMS Microbiology Ecology*, 47(2): 161–177.
- McArdle B H, Anderson M J. 2001. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology*, 82(1): 290–297.
- Moreno-Opo R, Fernández-Olalla M, Guil F, et al. 2011. The role of ponds as feeding habitat for an umbrella species: best

- management practices for the black stork *Ciconia nigra* in Spain. *Oryx*, 45(3): 448–455.
- Pielou E C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of Theoretical Biology*, 13: 131–144.
- Ramette A. 2007. Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 62(2): 142–160.
- Rognes T, Flouri T, Nichols B, et al. 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4: e2584.
- Segata N, Izard J, Waldron L, et al. 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 12(6): R60.
- Shannon C E. 1948. A mathematical theory of communication. *Bell System Technical Journal*, 27(3): 379–423.
- Simpson E H. 1949. Measurement of diversity. *Nature*, 163(4148): 688.
- Tamás E, Kalocsa B. 2006. The diet of young and feeding places of adult's black storks *Ciconia nigra* in Gemenc. *Biota*, 7(1/2): 103–107.
- 陈利红. 2016. 山西灵丘唐河黑鹳越冬生态学研究. 哈尔滨: 东北林业大学硕士学位论文. [Chen L H. 2016. Ecology study on wintering of black stork (*Ciconia nigra*) at Tang River in Lingqiu County of Shanxi Province. Harbin: Northeast Forestry University, Master's dissertation.]
- 冯理. 2008. 纳帕海黑鹳越冬生态观察. 昆明: 西南林学院硕士学位论文. [Feng L. 2008. Wintering ecology of *Ciconia nigra* at Napahai. Kunming: Southwest Forestry University, Master's dissertation.]
- 李斌顺, 赵文武, 游永武, 等. 2018. 林州市鱼类资源调查. 河南水产, (4): 37–40. [Li B S, Zhao W W, You Y W, et al. 2018. Current status of fishery resources in Linzhou city. *Henan Shuichan*, (4): 37–40.]
- 刘焕金, 苏化龙, 申守义. 1990. 黑鹳食性的初步研究. 动物学杂志, 25(5): 20–22. [Liu H J, Su H L, Shen S Y. 1990. Preliminary study on feeding habits of black stork. *Chinese Journal of Zoology*, 25(5): 20–22.]
- 张红娟. 2010. 北京十渡自然保护区迁徙与越冬期黑鹳生态学研究. 北京: 北京林业大学硕士学位论文. [Zhang H J. 2010. Migrating and overwintering ecology of black stork (*Ciconia nigra*) in Shidu nature reserve, Beijing. Beijing: Beijing Forestry University, Master's dissertation.]
- 赵文武, 庞显炳, 张国真, 等. 2017. 淇河林州段鱼类资源现状调查. 河南水产, (4): 26–29. [Zhao W W, Pang X B, Zhang G Z, et al. 2017. Current status of fishery resources in Linzhou area of Qihe River. *Henan Shuichan*, (4): 26–29.]
- 赵文武, 易栖梧, 庞显炳, 等. 2016. 安阳市鱼类资源调查. 河南水产, (6): 23–27. [Zhao W W, Yi Q W, Pang X B, et al. 2016. Investigation of fish resources in Anyang City. *Henan Fisheries*, (6): 23–27.]