

Vogelwarte 50, 2012: 9 – 14
© DO-G, IFV, MPG 2012

Molekulare Methoden im Naturschutz

Gernot Segelbacher

Segelbacher G 2012: Molecular methods in nature conservation. *Vogelwarte* 50: 9-14.

Molecular tools are getting more and more important in the conservation of species. I here present an overview of source materials that can be used to obtain genetic material in bird studies. I further demonstrate how genetic studies can help us to address key questions in conservation. Using grouse as a model species I show how conservation units can be identified and that genetic tools can help us to infer barriers to dispersal. Identifying gene flow among areas and monitoring the number of individuals gives us the necessary knowledge to create the best corridors and develop specific management and action plans.

✉ GS, Wildlife Ecology and Management, Universität Freiburg, Tennenbacher Str. 4, D-79106 Freiburg
E-Mail: gernot.segelbacher@wildlife.uni-freiburg.de

Hintergrund/Geschichte

Genetische Methoden spielen in der Geschichte der Ornithologie seit den 1980er Jahren eine zunehmend wichtigere Rolle. Während zunächst taxonomische Fragestellungen im Vordergrund standen (Sibley et al. 1988) wurden genetische Ansätze zur Identifizierung von Fremdvaterschaften (Birkhead & Biggins 1987; Westneat 1987) und zur Geschlechtsbestimmung (Griffiths et al. 1998) in verhaltensökologischen Untersuchungen bald zum Standard (z. B. Griffith et al. 2002).

Methodische Entwicklung

Seit der Einführung der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR; Saiki et al. 1985) und der damit verbundenen Möglichkeit, auch geringe DNA-Mengen als Ausgangsmaterial für genetische Analysen zu verwenden, entwickeln sich molekargenetische Methoden und die damit verbundenen Anwendungsmöglichkeiten in rasendem Tempo weiter. Nachdem zunächst Verfahren wie DNA-Hybridisierung, Oligofingerprinting, Allozyme, RAPDs oder die Sequenzierung mitochondrialer DNA genutzt wurden, gewannen bald genetische Marker wie Mikrosatelliten, AFLPs oder SNPs an Bedeutung (Schlötterer 2004). Heute können innerhalb kürzester Zeit ganze Genome sequenziert werden und die Analyse von diesen enormen Datenmengen stellt eine große Herausforderung für die Auswertung dar.

DNA-Quellen

Typischerweise werden einem Vogel aus der Flügelvene einige Tropfen Blut für DNA-Analysen entnommen. Zunehmend werden aber auch alternative Verfahren zur Gewinnung von DNA entwickelt, z.B. speziell konstruierte Federfallen zum Gewinn von Federn (Maurer et al. 2010), der Einsatz von Raubwanzen in Nestern

(Becker et al. 2006; Arnold et al. 2008; Stadler et al. 2011) oder Rachenabstriche (Handel et al. 2006; Lucentini et al. 2010; Yannic et al. 2011). Bei bedrohten und/oder scheuen Arten wird die sogenannte nicht-invasive Probenahme als Methode der Wahl angesehen. Dazu werden die Vögel nicht gefangen, sondern beispielsweise Mauserfedern, Eischalen oder Kotproben als Probenmaterial verwendet. Auch wenn Qualität und Quantität der DNA aus solchen Materialien limitiert sind und spezifische Laborverfahren erfordern, wurde doch eine Reihe von Protokollen entwickelt, die es ermöglichen, diese nicht-invasiven Materialien zu analysieren und auszuwerten (Taberlet et al. 1999; Pompanon et al. 2005; Waits & Paetkau 2005; Beja-Pereira et al. 2009). Erfahrungswerte zeigen, dass allerdings nur 30 % bis 60 % aller gesammelten Mauserfedern (siehe z. B. Segelbacher 2002; Johansson et al. 2012) und zwischen 25 % und 89 % der gesammelten Kotproben (eigene Daten, siehe aber auch Regnaut et al. 2006; Jacob et al. 2010) für verlässliche genetische Analysen ausreichen. Entscheidend ist dabei ein optimiertes Sammelprotokoll, das auf die jeweilige Art und Probenahme zugeschnitten ist. Zusammen mit speziellen Laborprotokollen (Horvath et al. 2005; Bayard De Volo et al. 2008; Hogan et al. 2008; Gebhardt et al. 2009) kann die Erfolgsrate häufig deutlich gesteigert werden.

Federn, Kot, Eischalen

Erste Arbeiten zur erfolgreichen DNA-Extraktion aus Federn wurden bereits Anfang der 1990er Jahre veröffentlicht (Taberlet & Bouvet 1991). Seither werden Mauserfedern häufig als Ausgangsmaterial in genetischen Studien verwendet z. B. bei Raufußhühnern (Bush et al. 2005; Segelbacher et al. 2007; 2008; Johansson et al. 2012; Strand et al. 2012), Papageien (Gebhardt et al. 2009), Tauben (Seki 2006), Greifvögeln (Rudnick et al. 2005; Rudnick et al. 2007; Alcaide et al. 2010), Eulen

Tab. 1: Ausgangsmaterialien für DNA-Analysen bei Vögeln. - *Source material for genetic studies in birds.*

Ausgangsmaterial	Beispiele
Nicht-invasive Probennahme Feder Kot Urin Eischale: - Reste nach Schlupf - Abstrich - Schliff	Segelbacher et al.(2003); Gebhardt et al. (2009) Jacob et al. (2010); Regnaut et al. (2006) Nota & Takenaka (1999) Bush et al. (2005); Trimbos et al. (2009) Schmaltz et al. (2006); Martin-Galvez et al. (2011) Egloff et al. (2009)
Direkte Probennahme Blut - Raubwanzen Rachenabstrich Feder (gezupft)	Becker et al. (2006); Stadler et al. (2011) Handel et al. (2006); Lucentini et al. (2010); Yannic et al. (2011) Maurer et al. (2010)
Museumsproben / Sub-Fossile Proben Feder Gewebe Knochen	Martinez-Cruz et al. (2007); Segelbacher et al. (2008) Segelbacher et al. (2008); Johnson et al. (2010) Heupink et al. (2011)

(Hogan & Cooke 2010), Möwen (Yannic et al. 2011) und Wasservögeln (Mino & Del Lama 2009). Neben Mauserfedern finden aber auch Eierschalen als DNA-Quelle Verwendung. Dabei kann es sich um Schalenreste in Nestern handeln, bei denen oft noch die Eimembran vorhanden ist (Bush et al. 2005; Trimbos et al. 2009; Urano et al. 2011) oder aber es werden bei intakten Eiern Teile der Eischale abgewischt (Schmaltz et al. 2006; Martin-Galvez et al. 2011) oder abgefeilt (Egloff et al. 2009). Neben Kotproben (Guerrini & Barbanera 2009; Marrero et al. 2009; Jacob et al. 2010) kann selbst Urin (Nota & Takenaka 1999) für genetische Analysen verwendet werden.

Museumsproben

Auch Museumsmaterial oder archäologisches Material kann als DNA-Quelle verwendet werden und gewinnt zunehmend an Bedeutung (Wandeler et al. 2007; Joseph 2011). Hierzu werden entweder kleine Gewebeproben, Federn oder Knochenmaterial als Ausgangsmaterial genutzt. Dies ermöglicht nicht nur den Vergleich von rezenten mit historischen Populationen, sondern auch die Untersuchung bereits ausgestorbener Arten (z.B. Johnson et al. 2010; Heupink et al. 2011; Joseph 2011; Tracy & Jamieson 2011). Ähnlich wie bei Kotproben gilt auch hier, dass die Nutzung von Museumsmaterial limitiert ist. Je nach Konservierungsverfahren, Aufbewahrungsgeschichte und Alter der Präparate sind die Proben nur teilweise nutzbar. Sie bieten aber häufig wertvolle Informationen über die Geschichte von Arten.

Empfehlungen zur Probennahme

- I) Gerade bei heimlichen oder bedrohten Arten sind die Möglichkeiten so genannter nicht-invasiver genetischer Proben überzeugend. Allerdings sollten die Nachteile, die durch häufig geringe und schlechte DNA-Qualität entstehen, nicht außer Acht gelassen werden. Wenn Vögel einmal gefangen werden, ist die Entnahme einer geringen Menge an Blut sicher nach wie vor die Methode der Wahl (siehe auch McDonald & Griffith 2011).
- II) Bevor eine aufwändige Studie durchgeführt wird, sollten in einer Pilotphase mögliche Probleme identifiziert und ein spezifisches Protokoll zu Probennahme, DNA Extraktion, PCR und dem Umgang mit fehlerhaften Daten entwickelt werden (siehe auch Segelbacher et al. 2010; Johansson et al. 2012).

Artenschutz und Genetik in der Ornithologie

Betrachtet man die Veröffentlichungen, die sich mit genetischen Methoden schutzrelevanter Themen bei Vögeln widmen, so nimmt deren Anzahl seit Beginn der 1990er Jahre kontinuierlich von null auf über 80 Veröffentlichungen im Jahr 2011 zu (Abfrage Web of Science 12.1.2012 mit den Suchwörtern „genetic“ „bird“ „conservation“). Diese Tendenz ist auch bei anderen Organismengruppen zu beobachten (Primmer 2009).

Welches sind nun die wichtigsten Fragen, die sich im Artenschutz ergeben? Im Rahmen des EU-Projektes

ConGRESS zum Einsatz genetischer Methoden in Naturschutzprojekten (<http://www.congressgenetics.eu>) haben wir folgende Hauptanwendungsgebiete als besonders relevant ermittelt:

1.) Welche Arten oder Populationen benötigen einen besonderen Schutz?

Genetische Methoden können helfen, taxonomische Unsicherheiten zu klären und jene Populationen oder Vorkommen zu identifizieren, die eines besonderen Schutzes bedürfen (Vogler & Desalle 1994; Frankham 2010).

Beispiel Auerhuhn Europa: Auerhühner *Tetrao urogallus* wurden innerhalb Europas bisher in über 10 verschiedene Unterarten aufgespalten (siehe Segelbacher & Piertney 2007). Es zeigte sich aber, dass die Ergebnisse aus mehreren genetischen Untersuchungen nicht unbedingt mit dieser Einteilung übereinstimmen. Phylogeographische Studien zeigten, dass in Europa zu Zeiten der letzten großen Vergletscherung mindestens zwei eiszeitliche Refugien bestanden haben müssen. Von dort aus erfolgte dann eine Rekolonisierung der eisfrei werdenden Gebiete. Heute kann man zwei genetische Linien in Europa unterscheiden, eine südliche mit Vorkommen auf der iberischen Halbinsel und dem Balkan und einer vorherrschenden borealen Linie im übrigen Europa (Duriez et al. 2007; Rodríguez-Muñoz et al. 2007; Segelbacher & Piertney 2007; Bajc et al. 2011). Die Vorkommen in den Rhodopen und im kantabrischen Gebirge benötigen daher besonderen Schutz, da sie nur aus Individuen der südlichen Linie bestehen und gleichzeitig nur noch wenige Individuen umfassen.

2.) Sind Populationen isoliert oder stehen sie miteinander im Austausch?

Die zunehmende Fragmentierung von Lebensräumen führt häufig zur Isolation von Populationen. Ob Vorkommen isoliert sind, oder noch miteinander in Verbindung stehen, kann ebenfalls über genetische Methoden abgeschätzt werden. Häufig stellt sich die Frage ob z. B. Straßen eine Barrierewirkung auf Wildtiere haben. Dazu ist es nicht zwangsläufig notwendig, direkt eine Wanderung z. B. durch Telemetry zu verfolgen, sondern es können Aussagen über den Genfluss zwischen Populationen getroffen werden. Mittlerweile hat sich dazu ein eigenes Forschungsfeld „Molecular Road Ecology“ etabliert (Balkenhol & Waits 2009). Es können aber auch Bergrücken, Täler oder ungeeignete Lebensräume eine Barriere darstellen. Mit einer Kombination verschiedener Umweltvariablen und genetischer Information lässt sich heute der Effekt solcher Landschaftsvariablen auf die genetische Struktur von Populationen berechnen. Dieses Forschungsfeld wird auch als Landschafts-genetik (Manel et al. 2003) bezeichnet und ermöglicht es, konkrete Managementempfehlungen für Tierarten zu entwickeln (Segelbacher et al. 2010).

Beispiel Auerhuhn Schwarzwald: Auerhühner kommen im Schwarzwald nicht mehr flächig verbreitet, sondern in verschiedenen räumlich getrennten Teilpopulationen vor. Da die mittlere Distanz, die Auerhühner zurücklegen, nur wenige Kilometer beträgt, ist unklar, ob ein Austausch zwischen den einzelnen Verbreitungsgebieten besteht. Mittels genetischer Methoden konnte nun der Austausch zwischen den einzelnen Lebensräumen quantifiziert und eine Barriere zwischen Nord- und Südschwarzwald identifiziert werden (Segelbacher et al. 2008). Für das Überleben der Population als Ganzes ist aber eine Verbindung der verschiedenen Teilpopulationen notwendig. Eine Kombination genetischer Daten mit Landschaftsparametern (wie z. B. Waldstruktur, Höhe, Siedlungen, Straßen) ermöglichte eine genaue Vorhersage, wo Wanderungen zwischen den einzelnen Vorkommen stattfinden können. Damit lassen sich planerisch Korridore festlegen, die dann in einem konkreten Aktionsplan für die Art Niederschlag finden (Braunisch et al. 2010).

3.) Welche Tiere (Individuen/Populationen) sollten für Wiedereinbürgerungen verwendet werden?

Kleine Populationen, die aus nur wenigen Individuen bestehen, haben häufig eine stark reduzierte genetische Vielfalt. Dies kann dann zur so genannten Inzuchtdepression führen – die geringe genetische Variabilität wirkt sich direkt auf die individuelle Fitness (z. B. den Bruterfolg) aus. Ein Beispiel dafür ist das nordamerikanische Präriehuhn *Tympanuchus cupido*. Nur wenige Individuen reproduzierten in einer Teilpopulation noch miteinander und die Schlupfrate der Eier war deutlich reduziert (Westemeier et al. 1998). Eine Translokation zusätzlicher Individuen führte dann zu einer Erhöhung der genetischen Variabilität und auch des Fortpflanzungserfolges. Ähnliche Probleme sind in Mitteleuropa z. B. beim Birkhuhn zu erwarten, bei dem es mehrere isolierte Vorkommen mit weniger als 20 Individuen und reduzierter genetischer Variabilität gibt (Strand et al. 2012). Genetische Analysen können hier helfen, die beste Ausgangspopulation für mögliche Wiedereinbürgerungen oder Stützungsmaßnahmen zu identifizieren. Bisherige Erfahrungen bei Raufußhühnern in Mitteleuropa haben jedoch gezeigt, dass Aussetzungen von ausgewilderten Käfigvögeln erfolglos sind (Seiler et al. 2000). Dies kann möglicherweise auf eine veränderte Bakterienzusammensetzung im Blinddarm der Käfigvögel zurückgeführt werden, welches durch eine genetische Charakterisierung der Bakterienstämme gezeigt werden konnte (Wienemann et al. 2011).

4.) Wie groß ist eine Population?

In vielen Naturschutzprojekten ist die Anzahl der vorhandenen Tiere eine wichtige und wünschenswerte Information. Insbesondere bei scheuen und schwer erfassbaren Arten können oft nur ungefähre Schätzungen

vorgenommen werden. Ähnlich wie bei der Identifizierung von Personen mittels eines genetischen Fingerabdruckes in der Gerichtsmedizin, können auch bei Vögeln einzelne Individuen bestimmt werden. Damit lassen sich z. B. durch Kotproben bei Auerhühnern Bestandszahlen ermitteln (Jacob et al. 2010). Dabei hat sich gezeigt, dass die bisherigen Sichtbeobachtungen durch klassische Balzplatzzählungen eine Unterschätzung der Bestände darstellen und mit genetischen Methoden mehr Individuen nachgewiesen werden können. Auch bei einer Studie am Kaiseradler *Aquila heliaca* in Kasachstan konnten mittels genetischer Methoden deutlich mehr Individuen entdeckt werden (Katzner et al. 2011).

Ausblick

Molekulare Methoden gewinnen im Naturschutz zunehmend an Bedeutung. Dabei befindet sich das Forschungsgebiet der Naturschutzgenetik derzeit in einem besonders starken Wandel, da sich mit dem schnellen technischen Fortschritt in der Analyse ganzer Genome neue Herausforderungen ergeben (siehe auch Allendorf et al. 2010; Frankham 2010). Für die Ornithologie ergeben sich ebenfalls vielfältige neue Möglichkeiten (Lerner & Fleischer 2010; Haig et al. 2011). Hier sind insbesondere in der Zugvogelforschung (Liedvogel et al. 2011) oder bei der Identifizierung von Nahrungsbestandteilen (Deagle et al. 2007; Deagle et al. 2010; Oehm et al. 2011) wesentliche Fortschritte gemacht worden.

Umsetzung

Im Laufe der letzten Jahre hat die Bedeutung genetischer Vielfalt, als dritte Komponente der Biodiversität (neben der Vielfalt der Ökosysteme und Arten) zugenommen und in Teilen rechtliche Verbindlichkeit erlangt. Die Naturschutzgenetik hat hier bereits bedeutende Fortschritte erzielt, indem sie neueste Technologien in die Wildtierforschung integriert. Jetzt müssen diese Forschungsergebnisse (z. B. Hoban et al. 2012) mit praktischem Naturschutz verknüpft werden. Dazu wurde eine spezielle Internetseite (www.congressgenetics.eu) ins Leben gerufen, die kostenlose Werkzeuge und Informationen für alle Naturschützer zur Verfügung stellt. Ziel ist, Entscheidungsträger aus Politik und Naturschutz für die Möglichkeiten genetischer Methoden zu sensibilisieren und das für Managementpläne notwendige Wissen zu vermitteln. Dies stellt sicher auch für viele Ornithologen eine wichtige Informationsquelle dar.

Zusammenfassung

Molekulare Methoden spielen in der Ornithologie eine zunehmend wichtigere Rolle. Während bisher vor allem systematische Fragen und Vaterschaftsanalysen im Fokus standen, steht heute häufig die Anwendung genetischer Methoden im

angewandten Naturschutz im Mittelpunkt. Dazu wurde innerhalb der letzten Jahre eine Reihe von Verfahren entwickelt, die es erlauben nicht nur aus Blutproben, sondern auch aus Materialien wie Mauserfedern, Kotproben oder auch Eischalen genetisches Material zu gewinnen. Damit ist es möglich auch von bedrohten und scheuen Arten ohne direkten Fang Informationen zu erhalten, die für den Schutz der Art relevant sind. So lassen sich Populationen identifizieren die eines besonderen Schutzstatus bedürfen oder erkennen, ob Populationen miteinander im Austausch stehen oder bereits voneinander isoliert sind. Damit lassen sich dann konkrete Managementpläne erstellen.

Literatur

- Alcaide M, Cadahia L, Lambertucci SA & Negro JJ 2010: Non-invasive estimation of minimum population sizes and variability of the major histocompatibility complex in the Andean Condor. *Condor* 112: 470-478.
- Allendorf FW, Hohenlohe PA & Luikart G 2010: Genomics and the future of conservation genetics. *Nat. Rev. Genet.* 11: 697-709.
- Arnold JM, Oswald SA, Voigt CC, Palme R, Braasch A, Bauch C & Becker PH 2008: Taking the stress out of blood collection: comparison of field blood-sampling techniques for analysis of baseline corticosterone. *J. Avian Biol.* 39: 588-592.
- Bajc M, Cas M, Ballian D, Kunovac S, Zubic G, Grubestic M, Zhelev P, Paule L, Grebenc T & Kraigher H 2011: Genetic differentiation of the Western Capercaillie highlights the importance of south-eastern Europe for understanding the species phylogeography. *PLoS ONE* 6 (8):15.
- Balkenhol N & Waits LP 2009: Molecular road ecology: exploring the potential of genetics for investigating transportation impacts on wildlife. *Mol. Ecol.* 18: 4151-4164.
- Bayard De Volo S, Reynolds RT, Douglas MR & Antolin MF 2008: An improved extraction method to increase DNA yield from molted feathers. *Condor* 110: 762-766.
- Becker PH, Voigt CC, Arnold JM & Nagel R 2006: A non-invasive technique to bleed incubating birds without trapping: a blood-sucking bug in a hollow egg. *J. Ornithol.* 147: 115-118.
- Beja-Pereira A, Oliveira R, Alves PC, Schwartz MK & Luikart G 2009: Advancing ecological understandings through technological transformations in noninvasive genetics. *Mol. Ecol. Res.* 9: 1279-1301.
- Birkhead TR & Biggins JD 1987: Reproductive synchrony and extra-pair copulations in birds. *Ethology* 74: 320-334.
- Braunisch V, Segelbacher G & Hirzel AH 2010: Modelling functional landscape connectivity from genetic population structure: a new spatially explicit approach. *Mol. Ecol.* 19: 3664-3678.
- Bush KL, Vinsky MD, Aldridge CL & Paszkowski CA 2005: A comparison of sample types varying in invasiveness for use in DNA sex determination in an endangered population of greater Sage-Grouse (*Centrocercus urophasianus*). *Conserv. Genet.* 6: 867-870.
- Deagle BE, Chiaradia A, McInnes J & Jarman SN 2010: Pyrosequencing faecal DNA to determine diet of little penguins: is what goes in what comes out? *Conserv. Genet.* 11: 2039-2048.

- Deagle BE, Gales NJ, Evans K, Jarman SN, Robinson S, Trebilco R & Hindell MA 2007: Studying seabird diet through genetic analysis of faeces: A case study on Macaroni Penguins (*Eudyptes chrysolophus*). PLoS ONE 2 (9): 10.
- Duriez O, Sachet J-M, Menoni E, Pidancier N, Miquel C & Taberlet P 2007: Phylogeography of the Capercaillie in Eurasia: what is the conservation status in the Pyrenees and Cantabrian Mountains? Conserv. Genet. 8: 513-526.
- Egloff C, Labrosse A, Hebert C & Crump D 2009: A non-destructive method for obtaining maternal DNA from avian eggshells and its application to embryonic viability determination in herring gulls (*Larus argentatus*). Mol. Ecol. Res. 9: 19-27.
- Frankham R 2010: Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. Biol. Conserv. 143: 1919-1927.
- Gebhardt KJ, Brightsmith D, Powell G & Waits LP 2009: Molted feathers from clay licks in Peru provide DNA for three large macaws (*Ara ararauna*, *A. chloropterus*, and *A. macao*). J. Field Ornithol. 80: 183-192.
- Griffith SC, Owens IPF & Thuman KA 2002: Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. Mol. Ecol. 11: 2195-2212.
- Griffiths R, Double MC, Orr K & Dawson RJG 1998: A DNA test to sex most birds. Mol. Ecol. 7: 1071-1075.
- Guerrini M & Barbanera F 2009: Noninvasive genotyping of the Red-Legged Partridge (*Alectoris rufa*, Phasianidae): Semi-nested PCR of mitochondrial DNA from feces. Biochem. Genet. 47: 873-883.
- Haig SM, Bronaugh WM, Crowhurst RS, D'Elia J, Eagles-Smith CA, Epps CW, Knaus B, Miller MP, Moses ML, Oyler-McCance S, Robinson WD & Sidlauskas B 2011: Genetic applications in avian conservation. Auk 128: 205-229.
- Handel CM, Pajot LM, Talbot SL & Sage GK 2006: Use of buccal swabs for sampling DNA from nestling and adult birds. Wildl. Soc. Bull. 34: 1094-1100.
- Heupink TH, Huynen L & Lambert DM 2011: Ancient DNA suggests Dwarf and 'Giant' Emu are conspecific. PLoS ONE 6 (4).
- Hoban S, Bertorelle G & Gaggiotti OE 2012: Computer simulations: tools for population and evolutionary genetics. Nat. Rev. Genet. 13: 110-122.
- Hogan FE & Cooke R 2010: Insights into the breeding behaviour and dispersal of the Powerful Owl (*Ninox strenua*) through the collection of shed feathers. Emu 110: 178-184.
- Hogan FE, Cooke R, Burrirdge CP & Norman O JA 2008: Optimizing the use of shed feathers for genetic analysis. Mol. Ecol. Res. 8: 561-567.
- Horvath MB, Martinez-Cruz B, Negro JJ, Kalmar L & Godoy JA 2005: An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. J. Avian Biol. 36: 84-88.
- Jacob G, Debrunner R, Gugerli F, Schmid B & Bollmann K 2010: Field surveys of Capercaillie (*Tetrao urogallus*) in the Swiss Alps underestimated local abundance of the species as revealed by genetic analyses of non-invasive samples. Conserv. Genet. 11: 33-44.
- Johansson MP, McMahon BJ, Höglund J & Segelbacher G 2012: Amplification success of multilocus genotypes from feathers found in the field compared with feathers obtained from shot birds. Ibis 154: 15-20.
- Johnson KP, Clayton DH, Dumbacher JP & Fleischer RC 2010: The flight of the Passenger Pigeon: Phylogenetics and biogeographic history of an extinct species. Mol. Phylogenet. Evol. 57: 455-458.
- Joseph L 2011: Museum collections in ornithology: today's record of avian biodiversity for tomorrow's world. Emu 111: I-XII.
- Katzner TE, Ivy JAR, Bragin EA, Milner-Gulland EJ & DeWoody JA 2011: Conservation implications of inaccurate estimation of cryptic population size. Anim. Conserv. 14: 328-332.
- Lerner HRL & Fleischer RC 2010: Prospects for the use of next-generation sequencing methods in ornithology. Auk 127: 4-15.
- Liedvogel M, Akesson S & Bensch S 2011: The genetics of migration on the move. Trends Ecol. Evol. 26: 561-569.
- Lucentini L, Gigliarelli L, Puletti ME, Volpi L & Panara F 2010: Comparison of conservative DNA extraction methods for two Galliformes: Grey Partridge (*Perdix perdix italica*, Hartert 1917) and red-legged partridge (*Alectoris rufa*, Linnaeus 1758). Conserv. Gen. Res. 2: 381-384.
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G & Taberlet P 2003: Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. Trends Ecol. Evol. 18: 189-197.
- Marrero P, Fregel R, Cabrera VM & Nogales M 2009: Extraction of high-quality host DNA from feces and regurgitated seeds: a useful tool for vertebrate ecological studies. Biol. Res. 42: 147-151.
- Martin-Galvez D, Peralta-Sanchez JM, Dawson DA, Martin-Platero AM, Martinez-Bueno M, Burke T & Soler JJ 2011: DNA sampling from eggshell swabbing is widely applicable in wild bird populations as demonstrated in 23 species. Mol. Ecol. Res. 11: 481-493.
- Maurer G, Beck N & Double MC 2010: A 'feather-trap' for collecting DNA samples from birds. Mol. Ecol. Res. 10: 129-134.
- McDonald PG & Griffith SC 2011: To pluck or not to pluck: the hidden ethical and scientific costs of relying on feathers as a primary source of DNA. J. Avian Biol. 42: 197-203.
- Mino CI & Del Lama SN 2009: Molted feathers as a source of DNA for genetic studies in waterbird populations. Waterbirds 32: 322-329.
- Nota Y & Takenaka O 1999: DNA extraction from urine and sex identification of birds. Mol. Ecol. 8: 1237-1238.
- Oehm J, Juen A, Nagiller K, Neuhauser S & Traugott M 2011: Molecular scatology: how to improve prey DNA detection success in avian faeces? Mol. Ecol. Res. 11: 620-628.
- Pompanon F, Bonin A, Bellemain E & Taberlet P 2005: Genotyping errors: Causes, consequences and solutions [Review]. Nat. Rev. Genet. 6: 847-859.
- Primmer CR 2009: From conservation genetics to conservation genomics. Ann. NY Acad. Sci. 1162 (The Year in Ecology and Conservation Biology 2009): 357-368.
- Regnaut S, Christe P, Chapuisat M & Fumagalli L 2006: Genotyping faeces reveals facultative kin association on Capercaillie's leks. Conserv. Genet. 7: 665-674.
- Rodríguez-Muñoz R, Mirol PM, Segelbacher G, Fernández A & Tregenza T 2007: Genetic differentiation of an endangered Capercaillie (*Tetrao urogallus*) population at the Southern edge of the species range. Conserv. Genet. 8: 659-670.
- Rudnick JA, Katzner TE, Bragin EA & DeWoody JA 2007: Species identification of birds through genetic analysis of naturally shed feathers. Mol. Ecol. Notes 7: 757-762.

- Rudnick JA, Katzner TE, Bragin EA, Rhodes OE & Dewoody JA 2005: Using naturally shed feathers for individual identification, genetic parentage analyses, and population monitoring in an endangered Eastern Imperial Eagle (*Aquila heliaca*) population from Kazakhstan. *Mol. Ecol.* 14: 2959-2967.
- Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA & Arnheim N 1985: Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle-cell anemia. *Science* 230: 1350-1354.
- Schlötterer C 2004: The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? *Nat. Rev. Genet.* 5: 63-69.
- Schmaltz G, Somers C, Sharma P & Quinn J 2006: Non-destructive sampling of maternal DNA from the external shell of bird eggs. *Conserv. Genet.* 7: 543-549.
- Segelbacher G 2002: Noninvasive genetic analysis in birds: testing reliability of feather samples. *Mol. Ecol. Notes* 2: 367-369.
- Segelbacher G, Cushman SA, Epperson BK, Fortin MJ, Francois O, Hardy OJ, Holderegger R, Taberlet P, Waits LP & Manel S 2010: Applications of landscape genetics in conservation biology: concepts and challenges. *Conserv. Genet.* 11: 375-385.
- Segelbacher G, Høglund J & Storch I 2003: From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in Capercaillie across Europe. *Mol. Ecol.* 12: 1773-1780.
- Segelbacher G, Manel S & Tomiuk J 2008: Temporal and spatial analyses disclose consequences of habitat fragmentation on the genetic diversity in Capercaillie (*Tetrao urogallus*). *Mol. Ecol.* 17: 2356-2367.
- Segelbacher G & Pieltney S 2007: Phylogeography of the European Capercaillie (*Tetrao urogallus*) and its implications for conservation. *J. Ornithol.* 148: S269-S274.
- Segelbacher G, Wegge P, Sivkov AV & Høglund J 2007: Kin groups in closely spaced Capercaillie leks. *J. Ornithol.* 148: 79-84.
- Seiler C, Angelstam P & Bergmann H 2000: Conservation releases of captive reared grouse in Europe: what do we know and what do we need? *Cahiers d'Ethologie* 20: 235-252.
- Seki SI 2006: Application of molted feathers as noninvasive samples to studies on the genetic structure of pigeons (Aves: Columbidae). *J. Forest Res.* 11: 125-129.
- Sibley CG, Ahlquist JE & Monroe BL 1988: A classification of the living birds of the world based on DNA-DNA hybridisation studies. *Auk* 105: 409-423.
- Stadler A, Meiser CK & Schaub GA 2011: "Living Syringes": Use of hematophagous bugs as blood samplers from small and wild Animals. In: Mehlhorn H (Hrsg) *Nature helps...* How plants and other organisms contribute to solve health problems. Vol. 1: 243-271 *Parasitology Research Monograph*. Springer, Berlin.
- Strand TM, Segelbacher G, Quintela M, Xiao L, Axelsson T & Høglund J 2012: Can balancing selection on MHC loci counteract genetic drift in small fragmented populations of Black Grouse? *Ecol. Evol.* DOI: 10.1002/ece3.86.
- Taberlet P & Bouvet J 1991: A single plucked feather as a source of DNA for bird genetic studies. *Auk* 108: 959-960.
- Taberlet P, Waits LP & Luikart G 1999: Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends Ecol. Evol.* 14: 323-327.
- Tracy LN & Jamieson IG 2011: Historic DNA reveals contemporary population structure results from anthropogenic effects, not pre-fragmentation patterns. *Conserv. Genet.* 12: 517-526.
- Trimbos KB, Broekman J, Kentie R, Musters CJM & de Snoo GR 2009: Using eggshell membranes as a DNA source for population genetic research. *J. Ornithol.* 150: 915-920.
- Urano K, Yamada T, Taniguchi Y, Iwaisaki H, Sugiyama T, Homma K, Kaneko Y & Yamagishi S 2011: Non-invasive sampling technique for DNA extraction from captive Japanese Crested Ibis on Sado Island. *Anim. Sci. J.* 82: 616-619.
- Vogler AP & Desalle R 1994: Diagnosing units of conservation management. *Conserv. Biol.* 8: 354-363.
- Waits LP & Paetkau D 2005: Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: A review of applications and recommendations for accurate data collection. *J. Wildl. Manage.* 69: 1419-1433.
- Wandeler P, Hoek PEA & Keller LF 2007: Back to the future: museum specimens in population genetics. *Trends Ecol. Evol.* 22: 634-642.
- Westemeier RL, Brawn JD, Simpson SA, Esker TL, Jansen RW, Walk JW, Kershner EL, Bouzat JL & Paige KN 1998: Tracking the long-term decline and recovery of an isolated population. *Science* 282: 1695-1698.
- Westneat DF 1987: Extra-pair fertilizations in a predominantly monogamous bird - genetic evidence. *Anim. Behav.* 35: 877-886.
- Wienemann T, Schmitt-Wagner D, Meuser K, Segelbacher G, Schink B, Brune A & Berthold P 2011: The bacterial microbiota in the ceca of Capercaillie (*Tetrao urogallus*) differs between wild and captive birds. *Syst. Appl. Microbiol.* 34: 542-551.
- Yannic G, Sermier R, Aebischer A, Gavrilo MV, Gilg O, Miljeteig C, Sabard B, Strom H, Pouive E & Broquet T 2011: Description of microsatellite markers and genotyping performances using feathers and buccal swabs for the Ivory Gull (*Pagophila eburnea*). *Mol. Ecol. Res.* 11: 877-889.