



Rainbow of bird poop

arcoíris de caca de pájaro

Genetic validation of field methods for characterizing diet of frugivorous birds during stopover

Validación genética de métodos de campo para caracterizar la dieta de aves frugívoras durante escala

**Jen Owen, Amelia Cole, Zack Spodek, Zac Milligan,
Kim Scribner, Jeannette Kanefsky, Kim Scribner**



Fruit important source of energy

Fruta importante fuente de energía.

- During fall migration, birds may switch to eating fruit
 - Durante la migración de otoño, las aves pueden pasar a comer frutas
- Fruit has high energy potential, it is abundant, clumped, and contains health-benefitting antioxidants
 - La fruta tiene un alto potencial energético, es abundante, agrupada y contiene antioxidantes beneficiosos para la salud



Yellow-bellied Sapsucker (*Sphyrapicus varius*) and native (y autóctona) *Parthenocissus quinquefolia*.
Photo: Gordon Ellmers



Swainson's Thrush (*Catharus ustulatus*) and native (y autóctona) *Lindera benzoin*.
Photo: Steve & Dave Maslowski (Audubon)



Native
Viburnum dentatum
High energy/fat



Exotic
Viburnum opulus
Low fat and energy



Exotic
Rhamnus cathartica
Low fat and energy

Fruit vary in nutritional content and value to migrating birds
Las frutas varían en contenido nutricional y valor para las aves migratorias



Native
Cornus racemosa
High energy/fat



Native
Sambucus canadensis
High energy/fat (Smith and McWilliams 2015; Alan et al. 2013, Smith et al. 2007, 2013)



Native
Lindera benzoin
High energy/fat

Invasion of exotic fruit-bearing shrubs

Invasión de arbustos frutales exóticos

Sub-optimal stopover sites
for refueling and
maintaining health

Sitios de escala subóptimos
para repostar y mantener la
salud

Higher sugar; less fat
Azúcar más alto;
menos grasa



Elaeagnus umbellata



Rhamnus cathartica



Lonicera species

Study site and species captured

Sitio de estudio y especies capturadas

Burke Lake Banding Station

MI DNR Rose Lake State Wildlife Area, Bath MI



Fall migration: 15 August – 15 October (2011 – present)

Migración de otoño: 15 de agosto - 15 de octubre

Capture ~4,000 – 5,000 birds of 100+ species

Captura una media de 4000 a 5000 avde más de 100 especies



Focal species (left to right): *Turdus migratorius*, *Dumetella carolinensis*, *Catharus ustulatus*



Lowland emergent shrub swamp

Pantano de arbustos emergentes de tierras bajas

14

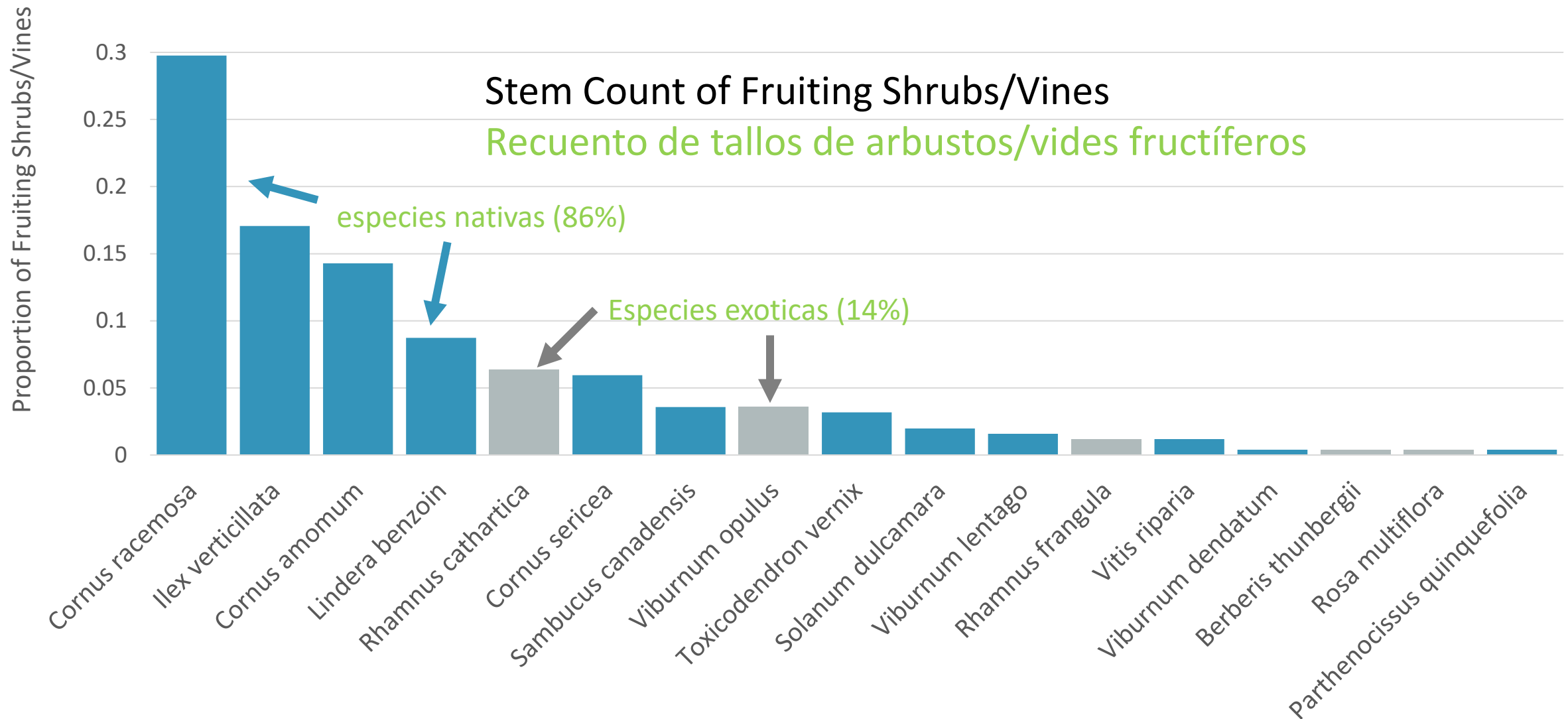


Lowland emergent shrub swamp

Pantano de arbustos emergentes de tierras bajas

Fruiting Shrubs and Vines: Habitat Composition

Arbustos frutales y enredaderas: composición del hábitat



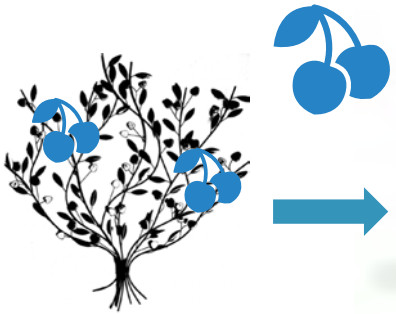


What are birds eating?

¿Qué están comiendo las aves?

Sample collection

coleccion de muestra

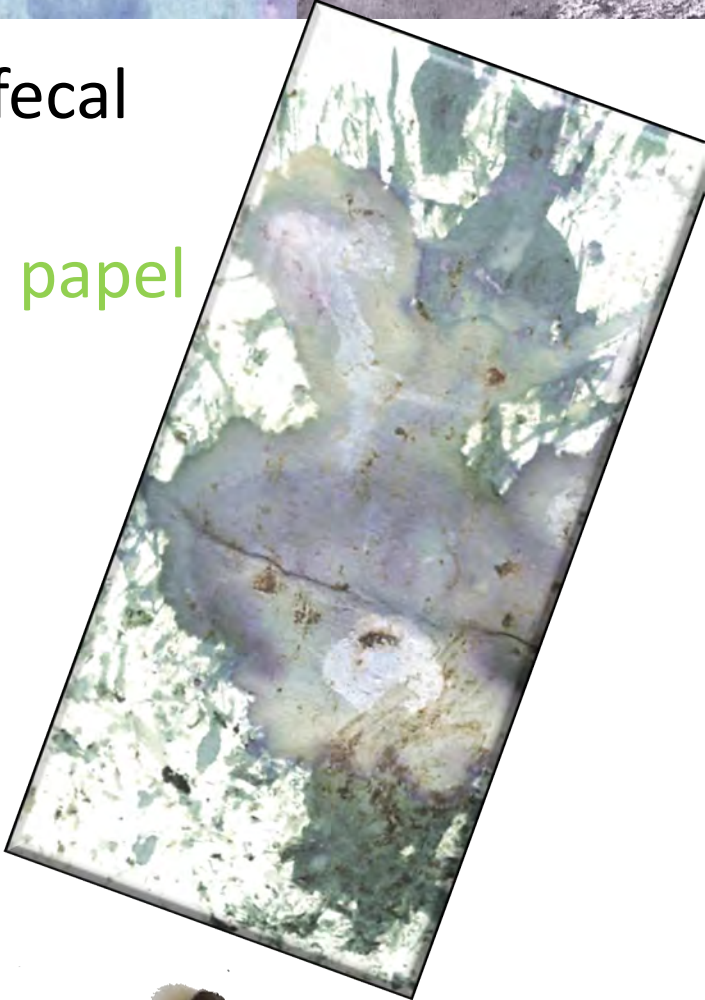


?



Color of fecal samples

Color del papel de caca



Seeds

Semillas

Identifying/matching fruit

Identificación de frutas

- Fecal paper color
 - color de las heces
- Match color to known berry smears
 - Haga coincidir el color con frotis de bayas conocidos

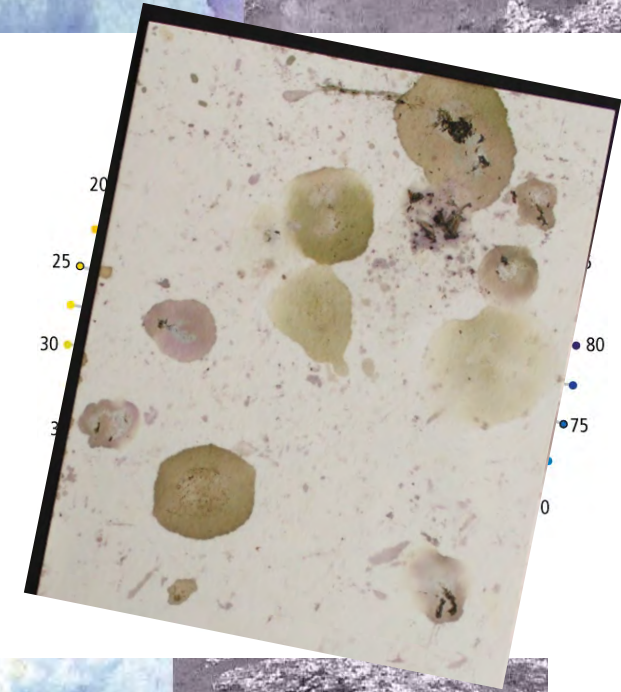


Smear berry on paper
untar bayas en papel

Diet by color

Dieta por color

- Assess color using *Munsell Book of Color*
 - Evaluar el color usando *Munsell Libro de Color*
- Not all colors are easily characterized*
 - No todos los colores se caracterizan fácilmente.





How reliable is this method?



Genetic validation

Validación genética

60 unknown samples* (muestras desconocidas)

12 known fruit smears or seeds (muestras conocidas)

Extracted DNA and amplified the **rbcl** chloroplast gene using orbcl2-M13F and M13R primers via PCR

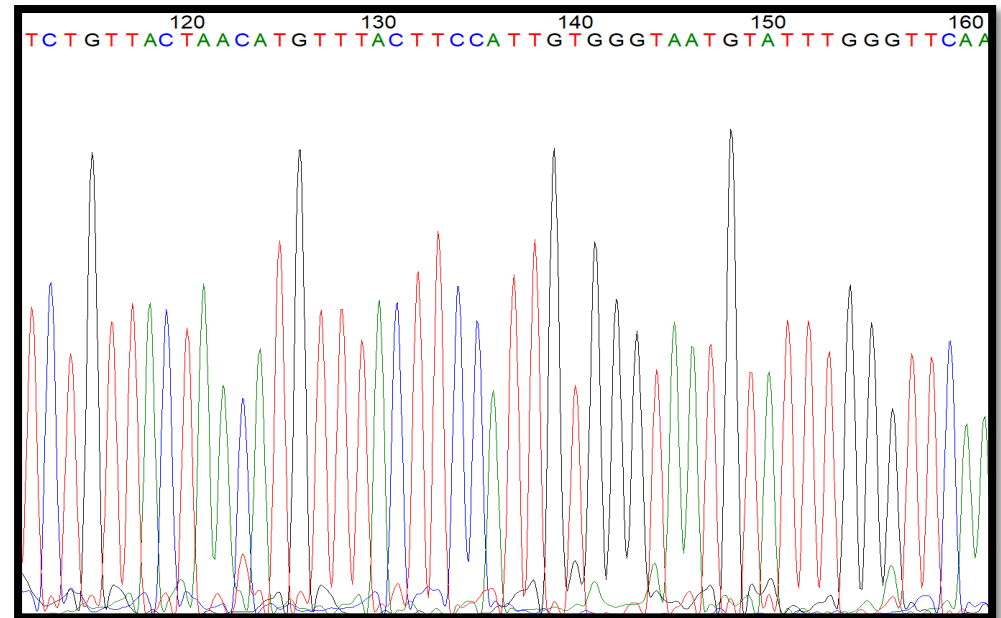
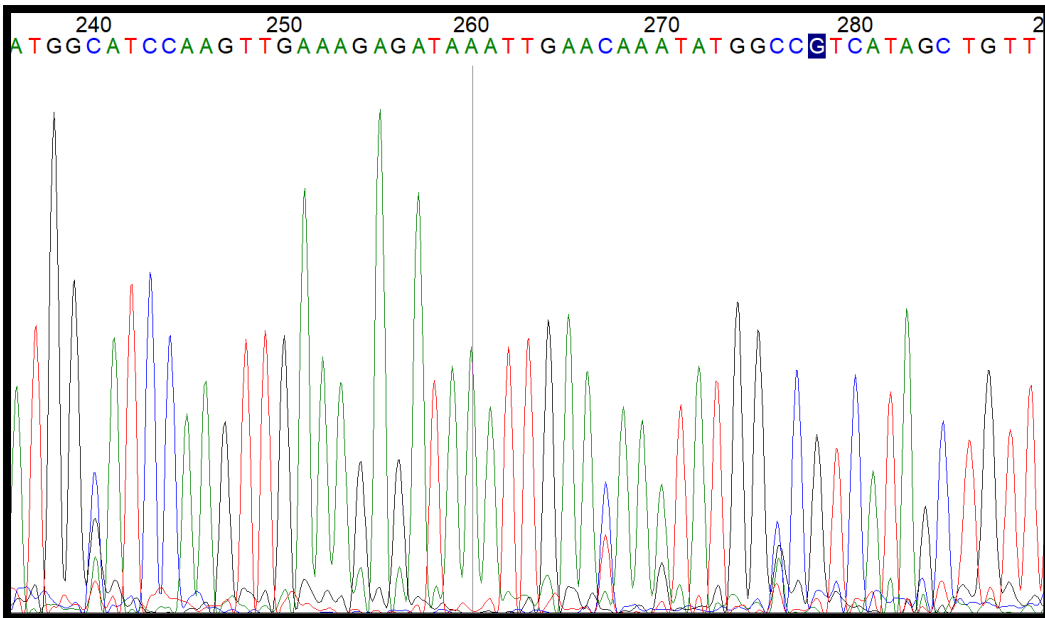
- Extrajo ADN y amplificó el gen del cloroplasto **rbcl** utilizando los cebadores orbcl2-M13F y M13R mediante PCR

Punched holes



Computational Analysis

- Purified PCR products were sequenced in both forward and reverse directions **Los productos de PCR purificados se secuenciaron**
- Chromatograms trimmed and inspected for quality and ambiguous bases using MEGA **Cromatogramas recortado e inspeccionado para calidad y bases ambiguas usando MEGA**



Computational Analysis

- Multiple sequence alignment using *ClustalW*; 247 nucleotides in length
 - Alineación de secuencias múltiples usando ClustalW, 247 nucleótidos de longitud.

The screenshot displays a multiple sequence alignment (MSA) software interface. The main window shows 26 DNA sequences from various species, including *Amelanchier canadensis*, *Berberis thunbergii*, *Cornus amomum*, *Cornus racemosa*, *Elaeagnus umbellata*, *Ilex verticillata*, *Juniperus communis*, *Lindera benzoin*, *Lonicera bella*, *Lonicera morrowii*, *Lonicera tatarica*, and *Rhamnus cathartica*. The sequences are aligned and color-coded by nucleotide (A, C, G, T) and gaps. The interface includes a menu bar (Data, Edit, Search, Alignment, Web, Sequencer, Display, Help) and a toolbar with icons for file operations and alignment navigation.

Computational Analysis (preliminary!)

- Used NCBI BLAST to find highly similar sequences that match
 - Usó NCBI BLAST para encontrar secuencias muy similares que coincidan
- Species to Genus only **Especie a Género solamente**
 - *Cornus* species (*C. racemosa*, *C. sericea*, *C. amomum*)
 - *Rhamnus cathartica* and *R. frangula*
 - *Ilex species*
- Family only **Solo familia**
 - (Vitaceae) *Vitis riparia* and *Parthenocissus quinquefolia*

Results/Resultados

- 58 of the 60 samples were sequenced (*las muestras se secuenciaron*)
- 4 could not be matched by BLAST (<97 % identity)
- How well did results align with our *apriori* prediction of species/genus/family?
 - ¿Qué tan bien se alinearon los resultados con nuestra predicción a priori de especie/género/familia?

Predicted	Yes/No	Match
<i>Lindera benzoin</i>	16/2	88%
<i>Cornus</i> spp.	11/1	92%
<i>Ilex</i> spp.	3/1	75%
Vitaceae	7/1	88%
<i>Rhamnus</i>	0/7	0%

Results/Resultados

Assessed sample color and then compared to Genus or Family according to GenBank

Se evaluó el color de la muestra y luego se comparó con Género o Familia según GenBank

Munsell Hue	<i>Cornus</i>	<i>Ilex</i>	Vitaceae	Lindera	Prunus	Rhamnus	Unknown
Purple/Blue (PB)			4			1	
Purple (P)			2				
Green/Yellow (GY)	1						
Yellow (Y)	13	3	3	2	1		1
Yellow/Red (YR) 5.0/7.5	2			18			1
YR – 10.0 (hue)	2	1	1		1		

Summary/Next Steps/Resumen/Próximos pasos

- Identifying diet through color of fecal samples can be a reliable approach for some fruit species.
 - Identificar la dieta a través del color de las muestras fecales puede ser un enfoque confiable para algunas especies de frutas.
- *Rhamnus* - not commonly consumed or need to sequence more samples
 - no se consume comúnmente o necesita secuenciar más muestras
- Next steps will be to feed known berries to captive birds (short-duration) and examine sample color.
 - Los siguientes pasos serán alimentar a las aves cautivas con bayas conocidas (duración corta) y examinar el color de la muestra.

The Scribner lab
MSU's RTSF

Thank
you!

Field crews



Michigan State
Bird Observatory

Funding

MI DNR
Private Donors
CANR UG
Scholarships



@jen_owen1