



## LA CONSERVACIÓN DE LAS AVES EN LA ERA DE LA GENÓMICA

BETTINA MAHLER

*Laboratorio de Ecología y Comportamiento Animal, Depto. Ecología, Genética y Evolución,  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires e IEGEBA (UBA–CONICET).  
Piso 4, Pab. 2, Ciudad Universitaria, C1428EHA Buenos Aires, Argentina. bemahler@ege.fcen.uba.ar*

**RESUMEN.**— Las técnicas de secuenciación masiva o secuenciación de próxima generación han cambiado la forma de obtener datos genéticos para los estudios de conservación en aves, pasando del análisis de unos pocos loci ubicados en una pequeña porción del genoma a la obtención de información de cientos a miles de loci ubicados a lo largo de todo el genoma. Un mayor número de marcadores brinda más información para estudios filogenéticos, de introgresión y de estructuración poblacional, y permite una mejor estimación de los parámetros demográficos. Índices como la heterocigosis, el parentesco, la paternidad y la endogamia pueden ser estimados con mayor precisión. Además, uno de los mayores aportes de los estudios genómicos es la identificación de variación tanto adaptativa como neutra. En este trabajo se explica brevemente la base metodológica de la secuenciación masiva y se muestran ejemplos de la utilización de datos genómicos en estudios de conservación en aves.

**PALABRAS CLAVE:** *conservación, genética de la conservación, genómica, secuenciación de próxima generación.*

**ABSTRACT.** AVIAN CONSERVATION IN THE GENOMICS ERA.— Next-generation sequencing techniques have changed the way of obtaining genetic data for studies in avian conservation, from the analysis of a few loci located in a small portion of the genome to obtaining information from hundreds to thousands of loci distributed all over the genome. A larger number of markers provides more information for phylogenetic, introgression and population structure studies, and allows a better estimation of demographic parameters. Measures such as heterozygosity, parentage, paternity and inbreeding can be estimated more accurately. In addition, one of the greatest contributions of genomic studies is the identification of both adaptive and neutral variation. In this paper I briefly explain the methodological basis of next-generation sequencing and show examples of the use of genomic data in conservation studies in birds.

**KEY WORDS:** *conservation, conservation genetics, genomics, next-generation sequencing.*

La idea de que los principios de la genética se pueden aplicar a la conservación de las especies fue introducida en 1974 por Otto Frankel. En su trabajo, Frankel planteaba la necesidad de incorporar una perspectiva evolutiva a la conservación y de conservar las variantes genéticas actuales, maximizando así el potencial adaptativo de las especies para que puedan hacer frente a los cambios inciertos del futuro (Frankel 1974). La disciplina que enmarca el estudio de marcadores genéticos

para ser utilizados en problemas de conservación es conocida como genética de la conservación (Frankham 1995) y su aplicación se extiende a numerosos aspectos, tales como la resolución de conflictos taxonómicos, el análisis de estructura poblacional, los estudios de paternidad y parentesco, la hibridación y la pérdida de variabilidad por endogamia (Frankham 2010). En los últimos años, las técnicas de secuenciación masiva o secuenciación de próxima generación (en inglés NGS; “next

generation sequencing”) han revolucionado los estudios genéticos (Goodwin et al. 2016). Tradicionalmente, los análisis genéticos utilizados para estudios de conservación se basaban en unos pocos loci, representando una porción minúscula del genoma. Con el advenimiento de las nuevas tecnologías, el genoma puede ser muestreado de una forma mucho más densa, obteniendo loci representativos de toda su extensión.

El genoma de las aves está compuesto por 900–1300 millones de pares de bases (aproximadamente 1 Gb; Gregory 2005), un tercio del genoma de los mamíferos, pero se estima que ambos contienen unos 30 000 genes. Esta diferencia en tamaño se debe a una pérdida de ADN repetitivo en aves, quienes, en comparación a otros vertebrados, tienen menos intrones y secuencias más cortas entre genes (Zhang et al. 2014b). Además, las aves poseen una estructura cromosómica y una ploidía conservadas, así como una menor cantidad de rearrreglos (Ellegren 2010). Los genomas completos de numerosas especies de aves se encuentran actualmente disponibles en las bases de datos B10K (Zhang et al. 2014a) y Avianbase (Eöry et al. 2015). Para especies que no cuentan con un genoma ensamblado, una situación frecuente para especies amenazadas, la estructura conservada del genoma de las aves genera una alta confiabilidad en el uso del genoma de especies emparentadas como referencia (Galla et al. en prensa).

#### DE LA GENÉTICA A LA GENÓMICA DE LA CONSERVACIÓN

El principio básico de la genética de la conservación es que una reducción en la variabilidad genética aumenta los riesgos de extinción y, por lo tanto, que ésta debe ser conservada (Frankham 2005). Las ventajas de la existencia de variabilidad genética en una población están relacionadas con la adaptabilidad en el mediano y largo plazo y con el potencial adaptativo a un ambiente cambiante (Pertoldi et al. 2007). Se ha discutido la aplicabilidad de este principio a poblaciones pequeñas, debido a que en éstas la deriva génica cobra una importancia mucho mayor que la selección, lo que hace que todos los caracteres y genes sean, en efecto, selectivamente neutros (Gomulkiewicz y Holt 2006). En general, los estudios genéticos basados en marcadores selectivamente neu-

tros han encontrado una correlación entre la variabilidad y el tamaño poblacional. Sin embargo, la relación entre una menor variabilidad y una pérdida de adecuación biológica (“fitness”) no es tan clara (Ouborg et al. 2010; aunque ver Bouzat 2010). Esto ha puesto en duda la representatividad que tienen los marcadores neutros de la variación genómica subyacente. Los marcadores genéticos neutros no son necesariamente relevantes para entender la dinámica de genes funcionales sujetos a selección, los cuales pueden ser útiles para determinar el potencial adaptativo de una especie a cambios ambientales (Hedrick 2001, Gilligan et al. 2005). Uno de los mayores aportes de los estudios genómicos es que, como consecuencia de su alta densidad de cobertura del genoma, pueden identificar tanto variación adaptativa como neutra (Ellegren 2014) y permiten así estudiar variación genética que es funcionalmente importante (genes adaptativos o deletéreos; Kohn et al. 2006). Los estudios de genómica funcional en ecología y evolución (o ecogenómica) se concentran en la estructura y el funcionamiento de un genoma para entender la relación de un organismo con su entorno biótico y abiótico (van Straalen y Roelofs 2006), brindando un fundamento mecanístico a los fenómenos ecológicos y evolutivos. Esta aproximación permite ir más allá de preguntar si una especie está amenazada y pasar a preguntar por qué está amenazada (Ouborg et al. 2010).

Otro aspecto relevante del estudio de la diferenciación entre loci neutros y adaptativos es la identificación de unidades de conservación (Funk et al. 2012). Las unidades de conservación son unidades poblacionales de una especie usadas para guiar esfuerzos de manejo y conservación (Fraser y Bernatchez 2001). La caracterización de estas unidades a partir de datos genómicos que permiten identificar loci adaptativos es particularmente útil cuando se esperan diferencias entre poblaciones, como por ejemplo en especies con gradientes ambientales o con tamaños efectivos poblacionales grandes (en los cuales la selección es una fuerza más poderosa que la deriva), o también en presencia de bajas tasas de migración (donde el flujo génico no impide la fijación de adaptaciones locales). Identificar diferencias adaptativas entre unidades de conservación es importante, por un lado, para la priorización de las poblaciones que se van a

Tabla 1. Diferentes tipos de análisis genómicos y sus aplicaciones en estudios de aves.

Técnica	Representación del genoma	Aplicaciones
Secuenciación del genoma completo	Genoma completo	Asociación de genes a fenotipos, filogenias, patrones específicos de divergencia genómica, hibridación
Representación reducida del genoma	Loci anónimos	Estructuración poblacional y estimaciones de parámetros demográficos, patrones generales de divergencia genómica, paternidad y parentesco, introgresión
RNA-seq	Transcriptoma	Análisis de expresión, estructuración poblacional
Captura de secuencias conocidas	Regiones específicas	Análisis de regiones codificantes o regulatorias, estructuración poblacional

conservar y, por otro lado, para considerar qué poblaciones serán utilizadas como fuente en el caso de traslocaciones (Funk et al. 2012). Las traslocaciones son medidas de manejo para especies amenazadas que comprenden el movimiento intencional y liberación de un organismo en su ambiente natural para su conservación (IUCN Species Survival Commission 2013). Para la identificación de unidades de conservación, Funk et al. (2012) recomiendan un análisis jerárquico que abarque tanto marcadores neutros como adaptativos.

En general, con los métodos de secuenciación masiva, los estudios pasaron del formato de “muchos individuos, pocos genes” al de “pocos individuos, muchos genes” (McMahon et al. 2014), haciendo particularmente importante que el muestreo sea representativo (Meirmans 2015). Los estudios genómicos aplicados a la conservación utilizan un número mayor de marcadores que los estudios genéticos realizados previamente con algunos marcadores mitocondriales o nucleares y permiten, de esta forma, una mejor estimación de los parámetros demográficos. Índices tales como la heterocigosis, el parentesco, la paternidad y la endogamia pueden ser estimados con mayor precisión (Avisé 2010). Además, un mayor número de marcadores brinda más información para estudios filogenéticos, de introgresión y de estructuración poblacional.

#### SECUENCIACIÓN DE PRÓXIMA GENERACIÓN

A diferencia de la secuenciación tradicional de Sanger (Sanger et al. 1977) que genera fragmentos de aproximadamente 1000 bases con

bajo error (99.9% de certeza), las técnicas de secuenciación de próxima generación generan fragmentos más cortos (100–400 bases, dependiendo de la plataforma: Illumina, Ion-Proton o 454-pyrosequencing) con mayor error (99.5% de certeza), pero poseen un alto rendimiento debido a la secuenciación masiva en paralelo. En los últimos años se han desarrollado nuevas plataformas capaces de generar secuencias de 2000–10000 bases (Pacific Biosystems, Oxford Nanopore Technologies, Illumina synthetic long reads), que aunque poco utilizadas en estudios poblacionales son muy útiles para el ensamble de genomas completos.

Las técnicas de secuenciación de próxima generación permiten investigar la variación genómica a través de dos grandes aproximaciones: el estudio del genoma completo y el estudio de una representación reducida del genoma mediante la obtención de sitios polimórficos únicos (SNPs, por sus siglas en inglés). Otra forma de estudiar una porción del genoma es recuperando regiones específicas a través del estudio del transcriptoma (RNA-seq; ver detalles en Ozsolak y Milos 2011) o la captura de secuencias conocidas (ver detalles en Teer et al. 2010, Kiiialainen et al. 2011). Para la elección de alguna de las técnicas disponibles hay que definir los objetivos del estudio y evaluar la densidad de marcadores requerida, teniendo en cuenta factores tales como la disponibilidad de un genoma de referencia y el nivel de polimorfismo del genoma de estudio. La tabla 1 muestra algunos ejemplos de estudios que utilizan las diferentes técnicas (ver también Toews et al. 2015, Oyler-McCance et al. 2016).

A continuación, se presenta un resumen general de las dos primeras aproximaciones (ver detalles en Davey et al. 2011, Fuentes-Pardo y Ruzzante 2017) y los pasos que las componen. El primer paso en ambos casos consiste

en la digestión del genoma usando enzimas de restricción (Fig. 1). En este paso, la elección de las enzimas, cuyas secuencias blanco pueden diferir en la longitud, la simetría o la proporción de GC vs AT de los sitios de res-

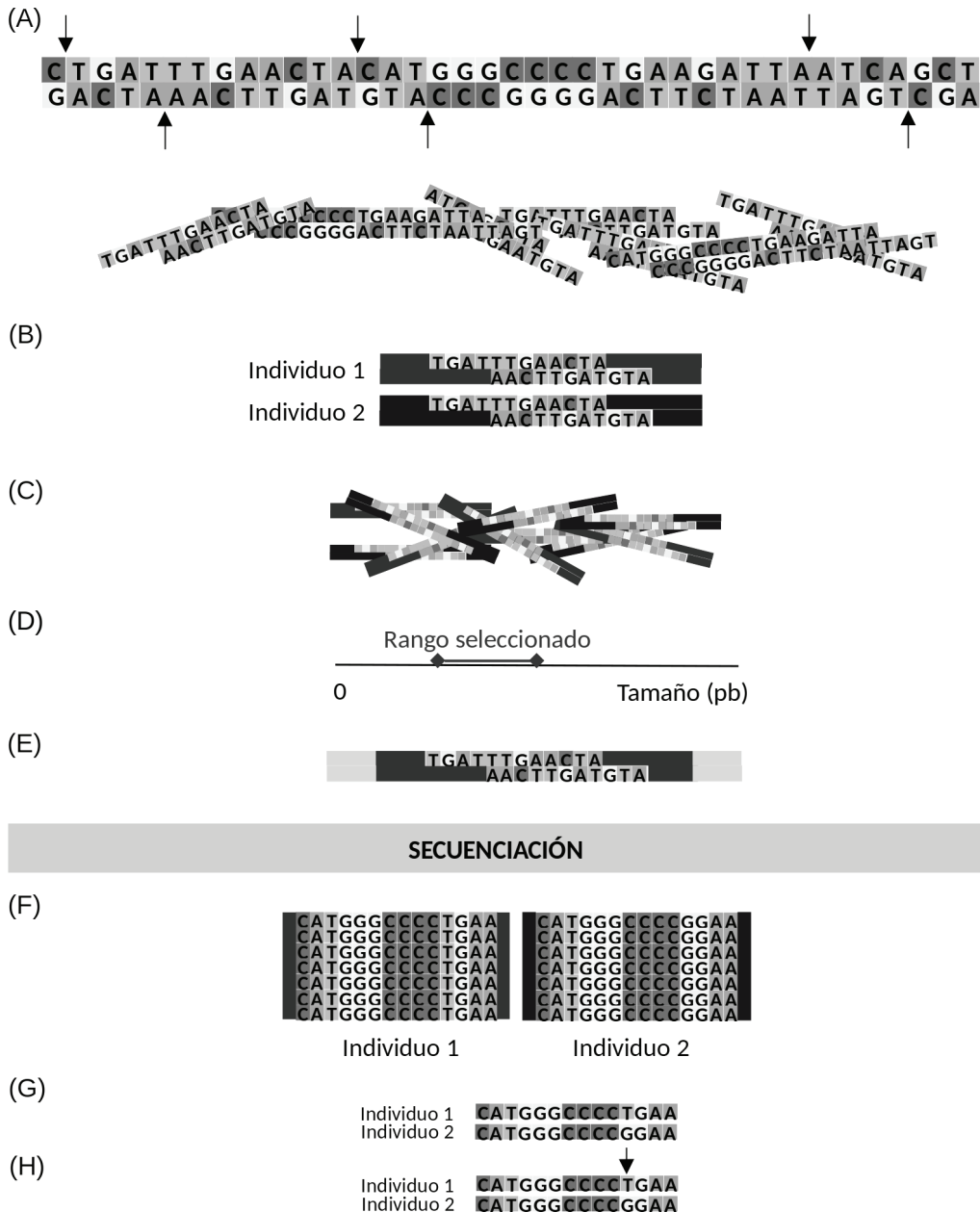


Figura 1. Protocolo básico de la técnica de secuenciación masiva de representación reducida del genoma para la obtención de sitios polimórficos únicos (SNPs), incluyendo la preparación de la biblioteca (A-E) y el análisis bioinformático (F-H). (A) Digestión con enzimas de restricción (los sitios de corte, indicados con flechas, son específicos de cada enzima). (B) Ligación de códigos de identificación individual ("barcodes"). (C) Mezcla de productos de diferentes individuos ("multiplexing"). (D) Selección del tamaño (en pares de bases) de los fragmentos. (E) Ligación de adaptadores de secuenciación. (F) Alineación de fragmentos. (G) Alineación de fragmentos homólogos. (H) Identificación de SNPs.

tricción, así como en la sensibilidad a la metilación, permite generar fragmentos de mayor o menor tamaño.

#### *Estudio del genoma completo*

Para estudiar el genoma completo, el siguiente paso es ligar los fragmentos a adaptadores que permiten la secuenciación en una plataforma determinada. Las secuencias obtenidas se alinean de forma de obtener aquellas que representan la misma porción del genoma. El número de secuencias para un determinado fragmento es lo que se denomina profundidad o cobertura de la secuenciación y es representada con  $\times$ . Una profundidad de  $10\times$  indica que, en promedio, un fragmento (i.e., un locus) fue secuenciado 10 veces. A continuación, los fragmentos contiguos con superposición parcial se ensamblan en "contigs", que a su vez se ensamblan en "scaffolds". Estos últimos se ordenan, alinean y ensamblan en una secuencia genómica *de novo*. Cuando se realiza una re-secuenciación del genoma completo, utilizando un genoma de referencia, los fragmentos se mapean al genoma de referencia.

#### *Estudio de una representación reducida del genoma*

Existen distintas maneras de estudiar una representación reducida del genoma, como RAD-seq (Baird et al. 2008), ddRAD-seq (Peterson et al. 2012) o GBS (Elshire et al. 2011). Con estas técnicas se obtienen de cientos a miles de SNPs que representan un 1–5% del genoma. Los procedimientos generales para todas ellas pueden resumirse en una selección del tamaño de los fragmentos de restricción (Fig. 1), que permite trabajar con una porción del producto de digestión. Para un reconocimiento posterior de la muestra individual se liga una secuencia identificatoria ("barcode") a los fragmentos antes de la unificación de los numerosos productos de digestión ("multiplexing"). Los SNPs contenidos en los fragmentos secuenciados se obtienen alineando los loci homólogos entre muestras, sin requerir necesariamente de un genoma de referencia. Un genoma de referencia permite no solamente mapear los fragmentos con menos error, sino también conocer su ubicación en los cromosomas.

Cada corrida de secuenciación con técnicas de próxima generación genera millones de

secuencias. A pesar de ello, no todos los fragmentos se verán amplificados y esto inevitablemente genera variabilidad en el número de individuos representados por locus y el número de loci por individuo, además de las incertezas que surgen en la asignación de genotipos por loci e individuos. Estos factores son esenciales para el diseño experimental, que debe optimizar el balance entre la densidad de marcadores (elección de las enzimas de restricción y rango del tamaño de los fragmentos), el número de individuos o poblaciones muestreadas y la profundidad de la secuenciación. Además, todas las plataformas de secuenciación introducen error. Para procesar los millones de secuencias e identificar SNPs se deben especificar los parámetros que optimicen la alineación de secuencias similares, especialmente cuando no hay un genoma de referencia disponible. Si estos parámetros son muy laxos (i.e., permiten muchos errores) se pueden alinear secuencias no ortólogas, mientras que si son muy rigurosos, secuencias del mismo locus pueden ser partidas en diferentes loci (Harvey et al. 2016, Paris et al. 2017). La optimización de estos parámetros es fundamental para identificar la variabilidad intra e interindividual, que permite, en los análisis posteriores ("downstream"), hacer inferencias a nivel poblacional o de especie. Es importante destacar que una primera instancia del análisis bioinformático de las secuencias obtenidas es el filtrado por su calidad, para así minimizar la tasa de error en los pasos posteriores.

### ESTUDIOS DE GENÓMICA DE LA CONSERVACIÓN EN AVES

#### *Estructura poblacional*

Los cambios en el ambiente que generan respuestas demográficas o selectivas en las especies se reflejan en la composición genética de las poblaciones. Los estudios genéticos son usados para estimar el grado y la organización de la diversidad genética en las poblaciones y a partir de ellos se pueden inferir las dinámicas espacio-temporales. En las especies amenazadas, las poblaciones estructuradas genéticamente se denominan unidades de manejo o conservación y corresponden a poblaciones demográficamente independientes, genéticamente diferenciables (Funk et al. 2012). La genómica de poblaciones ha permi-

tido mapear el genoma con suficiente densidad como para detectar fuerzas que afectan regiones particulares (e.g., homocigosis, recombinación reducida). Es decir, en lugar de utilizar algunos loci representativos para estimar el efecto promedio que tienen las fuerzas evolutivas, permite detectar variaciones en estas fuerzas a lo largo del genoma (Allendorf 2017).

Las técnicas de representación reducida permiten revisar miles de polimorfismos a lo largo del genoma que pueden estar afectados por diversos procesos evolutivos (deriva, selección, recombinación, mutación) y presentar diferentes niveles de variabilidad (Ellegren 2013). Los marcadores neutros permiten detectar diferenciación genética entre poblaciones por deriva o flujo génico reducido, mientras que las regiones genómicas bajo selección permiten detectar diferencias adaptativas entre poblaciones o similitudes que pueden haber sido retenidas de la población ancestral o adquiridas por evolución convergente (Narum et al. 2013). Un estudio realizado en *Falco mexicanus* utilizando SNPs encontró que las poblaciones muestreadas en el oeste de Estados Unidos conforman una unidad panmíctica y pueden ser consideradas una única unidad de conservación (Doyle et al. 2018). Sin embargo, un análisis más detallado de los loci con mayor divergencia entre las poblaciones muestreadas exhibió diferencias en las variantes de un gen relacionado con el desarrollo embrionario, que en gorriones del género *Passer*, por ejemplo, actuaría como barrera reproductiva (Elgvin et al. 2017).

En comparación a los marcadores tradicionales, los genómicos pueden detectar una estructuración genética más sutil. Langin et al. (2018) estudiaron la estructuración poblacional de *Lagopus leucura* con 12 microsatélites y aproximadamente 15000 SNPs. Ambos marcadores coincidieron en los patrones principales de estructuración genética, aunque en un análisis jerárquico los SNPs mostraron una estructuración más leve dentro de los grupos principales. En presencia de una estructuración poblacional sutil, es importante considerar la biología de la especie para interpretar las barreras y tasas de flujo génico (Shafer et al. 2015). Además, los marcadores genómicos pueden detectar un aislamiento entre poblaciones antes de que esto se refleje en una

monofilia recíproca del ADN mitocondrial, permitiendo delimitar poblaciones que requieren de esfuerzos independientes de conservación y manejo (Peters et al. 2016).

Las especies migratorias están declinando a nivel mundial y representan un desafío particular para entender la conectividad de las poblaciones a lo largo del ciclo anual (Runge et al. 2014, Marra et al. 2015). La utilización de SNPs permitió una resolución más fina de la estructura en *Cardellina pusilla* (Ruegg et al. 2014) y *Passerina ciris* (Battey et al. 2017). En un trabajo reciente sobre *Protonotaria citrea*, DeSaix et al. (en prensa) encontraron una diferenciación significativa entre dos sitios de nidificación en América del Norte utilizando miles de SNPs. Un análisis más fino permitió rescatar los 600 SNPs que mejor reflejaban esta diferenciación y permitían una asignación precisa de los individuos muestreados en áreas de invernada a sus áreas reproductivas, brindando información sobre la conectividad de ambas áreas. La información acerca del movimiento de las especies migratorias es crucial para la toma de decisiones para su conservación.

Estudios de asignación basados en marcadores tradicionales también han sido utilizados para el manejo de individuos de especies amenazadas rescatadas del tráfico de fauna (Fernandes y Caparroz 2013, Domínguez et al. en prensa). Las principales amenazas para el Cardenal Amarillo (*Gubernatrix cristata*) son la transformación del hábitat y la captura para el tráfico ilegal de fauna (BirdLife 2018). Con el objetivo de generar un plan de manejo para individuos decomisados por las fuerzas de seguridad, que habitualmente se depositan en centros de rescate tales como zoológicos, Domínguez et al. (en prensa) determinaron genéticamente la procedencia geográfica de los individuos incautados utilizando un marcador mitocondrial y 10 loci microsatélites. Esto permitió la liberación de los individuos en sus áreas de origen, reforzando de esta forma las poblaciones naturales. *Kittacincla malabarica* es un ave del sudeste asiático que ha sufrido una importante reducción poblacional como consecuencia de las capturas ilegales para satisfacer el mercado de aves de jaula. Ng et al. (2017) realizaron un análisis genómico para asignar la procedencia de individuos hallados en libertad en Singapur,

donde la especie no se encontraba desde hace décadas. Los resultados mostraron que estas aves habrían escapado del cautiverio y eran originarias de Malasia. Los estudios genómicos de asignación, basados en la estructuración poblacional de las especies, permiten generar programas de manejo que ayuden a la conservación de aves víctimas del tráfico ilegal de fauna.

### *Taxonomía y filogenia*

La habilidad para proteger y conservar las poblaciones naturales depende del reconocimiento apropiado de las especies (Mace 2004, Zink 2004). Aunque la legislación de algunos países reconoce las poblaciones distintivas o subespecies, los esfuerzos de conservación están mayormente dirigidos a las especies y las poblaciones en proceso de declinación pueden no ser tenidas en cuenta si pertenecen a una especie común con distribución amplia (Pratt y Mittermeier 2016). En Argentina, por ejemplo, se han reconocido dos linajes recíprocamente monofiléticos del Cauquén Colorado (*Chloephaga rubidiceps*), uno continental y otro para las Islas Malvinas, utilizando tanto marcadores mitocondriales (Bulgarella et al. 2014) como genómicos (Kopuchian et al. 2016). A pesar de que en la lista roja de especies amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza la especie figura en la categoría de Preocupación menor (IUCN 2018), la declinación de la población continental ha sido drástica en las últimas décadas, con menos de 1000 individuos en la actualidad, en contraposición a los más de 40000 individuos presentes en Islas Malvinas. La designación de la población continental como un taxón independiente es una acción crítica para redefinir su categoría de conservación y tomar medidas para recuperarla (Kopuchian et al. 2016).

En otro estudio reciente basado en SNPs, Andersen et al. (2017) mostraron la divergencia genética que existe entre las poblaciones de aves que habitan distintas islas del archipiélago de Fiji, en el sudeste asiático, y propusieron cambios en su estatus taxonómico, así como la necesidad de generar planes de conservación independientes para cada una de ellas. Klicka et al. (2016), por su parte, reevaluaron las cuatro subespecies de *Vireo bellii* descritas en base a caracteres morfo-

lógicos utilizando marcadores mitocondriales y SNPs. Ambos marcadores apoyaron la delimitación de dos unidades taxonómicas, una de distribución occidental y otra oriental, pero los marcadores genómicos mostraron, además, una subdivisión de dos grupos dentro de cada una de las unidades. En base a estos resultados, los autores propusieron la delimitación de dos especies con dos subespecies cada una, en lugar de cuatro subespecies. Esta re-determinación del estatus taxonómico de las unidades evolutivamente independientes tiene implicancias para la conservación, al redefinir la distribución, abundancia, amenazas y opciones de manejo para cada taxón.

### *Paternidad y parentesco*

El gran número de marcadores que generan las técnicas de representación reducida del genoma permiten una mejor estimación de los índices de parentesco y de las asignaciones parentales. Tradicionalmente, este tipo de estudios se basaba en aproximadamente 10–20 loci microsatélites, que generalmente eran desarrollados para cada especie en particular dado que los sitios de complementariedad de los “primers” no siempre coinciden entre especies o los mismos loci no presentan polimorfismos (Primmer et al. 2005). El desarrollo de microsatélites es un proceso costoso que se ha visto facilitado con las técnicas de próxima generación (e.g., Grohme et al. 2013, Hartmann et al. 2014), aunque sigue requiriendo de una serie de procedimientos de prueba y validación que lo hacen relativamente laborioso. En contraste, el desarrollo de SNPs es más rápido y directo. Aunque cada SNP es bialélico, comparado con la naturaleza multialélica de los microsatélites (y, por lo tanto, menos informativo a nivel de locus individual; Ball et al. 2010), un panel de SNPs (100–200 marcadores) resulta más informativo que una decena de loci microsatélites (Weinman et al. 2015, Kaiser et al. 2017, Thrasher et al. 2018). En un trabajo realizado sobre un ave promiscua y socialmente compleja, *Malurus lamberti*, Thrasher et al. (2018) presentaron un método universal para el desarrollo de SNPs que no requiere de un proceso de validación especie-específico y genera resultados más precisos que los obtenidos con microsatélites.

Además de brindar información acerca de la biología reproductiva y la dispersión en pobla-

ciones silvestres, los estudios de parentesco son particularmente importantes para el manejo de poblaciones *ex situ* que requieren de una estrategia para la reproducción de los animales en cautiverio. El consenso para las poblaciones cautivas es que sean demográficamente sustentables y genéticamente variables, para contribuir significativamente a la conservación *in situ* de la especie (Lacy 2013). En muchos casos, las poblaciones cautivas cuentan con un pedigree y relaciones de parentesco conocidas. Sin embargo, en presencia de individuos de origen desconocido o una ausencia del seguimiento del parentesco entre individuos, la utilización de marcadores genómicos puede aportar información acerca del parentesco entre individuos y la paternidad de potenciales reproductores. En los últimos años, la utilización de SNPs permitió conocer el parentesco entre individuos de poblaciones en cautiverio de varias especies de aves (Labuschagne et al. 2015, Lee et al. 2018). Además, los índices de parentesco son utilizados para la formación de parejas, seleccionando a los individuos que maximicen las diferencias genéticas (Lacy 1994). Aunque *a priori* esta estrategia minimiza la pérdida de variabilidad genética, estas parejas no siempre resultan reproductivamente exitosas y evidencias muestran que la elección de pareja juega un rol fundamental en muchas especies (Martin-Wintle et al. en prensa).

#### *Variación adaptativa*

Diferentes regiones del genoma evolucionan a tasas distintas. Mientras las regiones evolutivamente neutras se ven afectadas por las tasas de mutación características del grupo, las que están bajo selección verán aumentados (selección direccional) o disminuidos (selección estabilizadora) sus niveles de variación. Los estudios genómicos permiten abordar nuevos aspectos de la variación adaptativa (Stapley et al. 2010), tales como la cantidad de loci involucrados y su efecto o el tipo de variación genética (e.g., mutaciones, rearrreglos). Cuando los organismos de un determinado sitio tienen una ventaja adaptativa en su ambiente comparado con individuos de otros sitios, ocurre un fenómeno de adaptación local (Kawecki y Ebert 2004). La acción de la selección natural a lo largo del tiempo puede llevar a una divergencia adaptativa de los caracteres favo-

rables y sus frecuencias alélicas subyacentes (Savolainen et al. 2013). En híbridos de individuos parentales pertenecientes a poblaciones divergentes, esta diferenciación puede expresarse en una depresión por exogamia (Frankham et al. 2011). A través de evaluaciones genómicas, las técnicas de próxima generación permiten identificar sitios con divergencia inusualmente alta entre poblaciones o sitios con una alta asociación de variantes con ambientes particulares (Hoban et al. 2016). En los últimos años, algunos trabajos estudiaron la asociación entre variantes genómicas y el ambiente. Por ejemplo, Andrew et al. (en prensa) encontraron que poblaciones de *Passer domesticus* sometidas a mayores niveles de plomo en Australia mostraban diferencias en regiones del genoma que podrían estar relacionadas con procesos metabólicos asociados a este metal, indicando una respuesta adaptativa a la contaminación. En otro estudio, Ruegg et al. (2018) encontraron variantes genéticas asociadas al clima en *Empidonax traillii* y con estos datos predijeron la vulnerabilidad de distintas poblaciones al cambio climático.

En procesos de especiación incipiente se reconocen islas de divergencia, que corresponden a áreas del genoma que incluyen loci clave para la especiación y presentan tasas de divergencia mayores a las áreas con loci neutros (Wu 2001, Feder et al. 2012). Evaluaciones del genoma en taxa con divergencia reciente mostraron que los niveles de divergencia son heterogéneos a lo largo del genoma y que son pocas las regiones que muestran una divergencia mayor a la de las regiones neutras. En dos grupos de aves, estas regiones estaban relacionadas con la regulación de la coloración del plumaje, que juega un rol fundamental para el reconocimiento intraespecífico (Poelstra et al. 2014, Campagna et al. 2017). Es importante considerar que una mayor diferenciación también puede surgir en regiones con propiedades estructurales asociadas a bajas tasas de recombinación (Noor y Bennett 2009) o en cromosomas sexuales o secuencias mitocondriales, que poseen un menor tamaño efectivo (Charlesworth 2001), y no estar asociadas a procesos de selección. Además, cuando se usan técnicas de representación reducida del genoma algunas consideraciones metodológicas, como el número de individuos muestreados por población y la elección de



las enzimas de restricción, pueden evitar sesgos en las tasas de diferenciación y en las regiones representadas, respectivamente (Campagna et al. 2015).

## CONCLUSIONES

Las técnicas de secuenciación masiva permiten obtener un gran número de marcadores genómicos en corto tiempo. La reducción en los costos año tras año las convierte en herramientas esenciales para la incorporación de información genómica a los estudios de conservación. La información sobre la estructura de las poblaciones, los parámetros demográficos, la paternidad y el parentesco, la hibridación y los loci involucrados en la variación adaptativa puede mejorar las acciones de manejo y los planes de conservación para especies de aves amenazadas.

## AGRADECIMIENTOS

A J. Lopez de Casenave por la invitación a contribuir con este artículo y a V. V. Lía por sus comentarios sobre el manuscrito. A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica (PICT 2015-0569) y a Banco Galicia (Premios FOCA) por el financiamiento.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- ALLENDORF FW (2017) Genetics and the conservation of natural populations: allozymes to genomes. *Molecular Ecology* 26:420–430
- ANDERSEN MJ, MANTHEY JD, NAIKATINI A Y MOYLE RG (2017) Conservation genomics of the silktail (Aves: *Lamprolia victoriana*) suggests the need for increased protection of native forest on the Natewa Peninsula, Fiji. *Conservation Genetics* 18:1277–1285
- ANDREW SC, TAYLOR MP, LUNDREGAN S, LIEN S, JENSEN H Y GRIFFITH SC (en prensa) Signs of adaptation to trace metal contamination in a common urban bird. *Science of the Total Environment*
- AVISE JC (2010) Perspective: conservation genetics enters the genomics era. *Conservation Genetics* 11:665–669
- BAIRD NA, ETTER PD, ATWOOD TS, CURREY MC, SHIVER AL, LEWIS ZA, SELKER EU, CRESKO WA Y JOHNSON EA (2008) Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS One* 3:e3376
- BALL AD, STAPLEY J, DAWSON DA, BIRKHEAD TR, BURKE T Y SLATE J (2010) A comparison of SNPs and microsatellites as linkage mapping markers: lessons from the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *BMC Genomics* 11:art218
- BATTEY CJ, LINCK EB, EPPERLY KL, FRENCH C, SLAGER DL, SYKES PW Y KLICKA J (2017) A migratory divide in the Painted Bunting (*Passerina ciris*). *American Naturalist* 191:259–268
- BIRDLIFE INTERNATIONAL (2018) *Species factsheet: Gubernatrix cristata*. BirdLife International, Cambridge (URL: <http://datazone.birdlife.org/species/factsheet/yellow-cardinal-gubernatrix-cristata>)
- BOUZAT JL (2010) Conservation genetics of population bottlenecks: the role of chance, selection and history. *Conservation Genetics* 11:463–478
- BULGARELLA M, KOPUCHIAN C, DI GIACOMO AS, MATUS R, BLANK O, WILSON RE Y MCCracken KG (2014) Molecular phylogeny of the South American sheldgeese with implications for conservation of Falkland Islands (Malvinas) and continental populations of the Ruddy-headed Goose *Chloephaga rubidiceps* and Upland Goose *C. picta*. *Bird Conservation International* 24:59–71
- CAMPAGNA L, GRONAU I, SILVEIRA LF, SIEPEL A Y LOVETTE IJ (2015) Distinguishing noise from signal in patterns of genomic divergence in a highly polymorphic avian radiation. *Molecular Ecology* 24:4238–4251
- CAMPAGNA L, REPENNING M, SILVEIRA LF, SUERTEGARAY FONTANA C, TUBARO PL & LOVETTE IJ (2017) Repeated divergent selection on pigmentation genes in a rapid finch radiation. *Science Advances* 3:art1602404
- CHARLESWORTH B (2001) The effect of life-history and mode of inheritance on neutral genetic variability. *Genetical Research* 77:153–166
- DAVEY JW, HOHENLOHE PA, ETTER PD, BOONE JQ, CATCHEN JM Y BLAXTER ML (2011) Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics* 12:499–510
- DESAIX MG, BULLUCK LP, ECKERT AJ, VIVERETTE CB, BOVES TJ, REESE JA, TONRA CM Y DYER RJ (en prensa) Population assignment reveals low migratory connectivity in a weakly structured songbird. *Molecular Ecology*
- DOMÍNGUEZ M, PIZZARELLO G, ATENCIO M, SCARDAMAGLIA R Y MAHLER B (en prensa) Genetic assignment and monitoring of yellow cardinals. *Journal of Wildlife Management*
- DOYLE JM, BELL DA, BLOOM PH, EMMONS G, FESNOCK A, KATZNER TE, LAPRÉ L, LEONARD K, SANMIGUEL P, WESTERMAN R Y DEWOODY JA (2018) New insights into the phylogenetics and population structure of the prairie falcon (*Falco mexicanus*). *BMC Genomics* 19:art233
- ELGVIN TO, TRIER CN, TØRRESEN OK, HAGEN IJ, LIEN S, NEDERBRAGT AJ, RAVINET M, JENSEN H Y SÆTRE GP (2017) The genomic mosaicism of hybrid speciation. *Science Advances* 3:art1602996
- ELLEGREN H (2010) Evolutionary stasis: the stable chromosomes of birds. *Trends in Ecology and Evolution* 25:283–291
- ELLEGREN H (2013) The evolutionary genomics of birds. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 44:239–259

- ELLEGREN H (2014) Genome sequencing and population genomics in non-model organisms. *Trends in Ecology and Evolution* 29:51–63
- ELSHIRE RJ, GLAUBITZ JC, SUN Q, POLAND JA, KAWAMOTO K, BUCKLER ES Y MITCHELL SE (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One* 6:e19379
- EÖRY L, GILBERT MT, LI C, LI B, ARCHIBALD A, AKEN BL, ZHANG G, JARVIS E, FLICEK P Y BURT DW (2015) Avianbase: a community resource for bird genomics. *Genome Biology* 16:art21
- FEDER JL, EGAN SP Y NOSIL P (2012) The genomics of speciation-with-gene-flow. *Trends in Genetics* 28:342–350
- FERNANDES G Y CAPARROZ R (2013) DNA sequence analysis to guide the release of blue and yellow macaws (*Ara ararauna*, Psittaciformes, Aves) from the illegal trade back to the wild. *Molecular Biology Reports* 40:2757–2762
- FRANKEL OH (1974) Genetic conservation: our evolutionary responsibility. *Genetics* 78:53–65
- FRANKHAM R (1995) Conservation genetics. *Annual Review of Genetics* 29:305–327
- FRANKHAM R (2005) Stress and adaptation in conservation genetics. *Journal of Evolutionary Biology* 18:750–755
- FRANKHAM R (2010) Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological Conservation* 143:1919–1927
- FRANKHAM R, BALLOU JD, ELDRIDGE MDB, LACY RC, RALLS K, DUDASH MR Y FENSTER CB (2011) Predicting the probability of outbreeding depression. *Conservation Biology* 25:465–475
- FRASER DJ Y BERNATCHEZ L (2001) Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology* 10:2741–2752
- FUENTES-PARDO AP Y RUZZANTE DE (2017) Whole-genome sequencing approaches for conservation biology: advantages, limitations and practical recommendations. *Molecular Ecology* 26:5369–5406
- FUNK WC, MCKAY JK, HOHENLOHE PA Y ALLENDORF FW (2012) Harnessing genomics for delineating conservation units. *Trends in Ecology and Evolution* 27:489–496
- GALLA SJ, FORSDICK NJ, BROWN L, HOEPPNER MP, KNAPP M, MALONEY RE, MORAGA R, SANTURE AW Y STEEVES TE (en prensa) Reference genomes from distantly related species can be used for discovery of single nucleotide polymorphisms to inform conservation management. *Genes*
- GILLIGAN DM, BRISCOE DA Y FRANKHAM R (2005) Comparative losses of quantitative and molecular genetic variation in finite populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetical Research* 85:47–55
- GOMULKIEWICZ R Y HOLT RD (2006) When does evolution by natural selection prevent extinction? *Evolution* 49:201–207
- GOODWIN S, MCPHERSON JD Y MCCOMBIE WR (2016) Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics* 17:333–351
- GREGORY TR (2005) Synergy between sequence and size in large-scale genomics. *Nature Reviews Genetics* 6:699–708
- GROHME MA, FRIAS SOLER R, WINK M Y FROHME M (2013) Microsatellite marker discovery using single molecule real-time circular consensus sequencing on the Pacific Biosciences RS. *BioTechniques* 55:253–256
- HARTMANN SA, SCHAEFER HM Y SEGELBACHER G (2014) Development of 12 microsatellite loci for the endangered Pale-headed Brushfinch (*Atlapetes pallidiceps*) and their cross-amplification in two co-occurring brushfinches. *Journal of Ornithology* 155:835–839
- HARVEY MG, SMITH BT, GLENN TC, FAIRCLOTH BC Y BRUMFIELD RT (2016) Sequence capture versus restriction site associated DNA sequencing for shallow systematics. *Systematic Biology* 65:910–924
- HEDRICK PW (2001) Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology and Evolution* 16:629–636
- HOBAN S, KELLEY JL, LOTTERHOS KE, ANTOLIN MF, BRADBURY G, LOWRY DB, POSS ML, REED LK, STORFER A Y WHITLOCK MC (2016) Finding the genomic basis of local adaptation: pitfalls, practical solutions and future directions. *American Naturalist* 188:379–397
- IUCN (2018) *The IUCN Red List of threatened species*. IUCN, Gland (URL: <http://www.iucnredlist.org/>)
- IUCN SPECIES SURVIVAL COMMISSION (2013) *Guidelines for reintroductions and other conservation translocations. Version 1.0*. IUCN, Gland
- KAISER SA, TAYLOR SA, CHEN N, SILLETT TS, BONDRA ER Y WEBSTER MS (2017) A comparative assessment of SNP and microsatellite markers for assigning parentage in a socially monogamous bird. *Molecular Ecology Resources* 17:183–193
- KAWECKI TJ Y EBERT D (2004) Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* 7:1225–1241
- KIILAINEN A, KARLBERG O, AHLFORD A, SIGURDSSON S, LINDBLAD-TOH K Y SYVÄNEN AC (2011) Performance of microarray and liquid based capture methods for target enrichment for massively parallel sequencing and SNP discovery. *PLoS One* 6:e16486
- KLICKA LB, KUS BE, TITLE PO Y BURNS KJ (2016) Conservation genomics reveals multiple evolutionary units within Bell's Vireo (*Vireo bellii*). *Conservation Genetics* 17:455–471
- KOHN MH, MURPHY WJ, OSTRANDER EA Y WAYNE RK (2006) Genomics and conservation genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 21:629–637
- KOPUCHIAN C, CAMPAGNA L, DI GIACOMO AS, WILSON RE, BULGARELLA M, PETRACCI P, MAZAR BARNETT J, MATUS R, BLANK O Y MCCracken KG (2016) Demographic history inferred from genome-wide data reveals two lineages of sheldgeese endemic to a glacial refugium in the southern Atlantic. *Journal of Biogeography* 43:1979–1989

- LABUSCHAGNE C, NUPEN L, KOTZÉ A, GROBLER PJ Y DALTON DL (2015) Assessment of microsatellite and SNP markers for parentage assignment in ex situ African Penguin (*Spheniscus demersus*) populations. *Ecology and Evolution* 5:4389–4399
- LACY RC (1994) Managing genetic diversity in captive populations of animals. Pp. 63–89 en: BOWLES ML Y WHELAN CJ (eds) *Restoration and recovery of endangered plants and animals*. Cambridge University Press, Cambridge
- LACY RC (2013) Achieving true sustainability of zoo populations. *Zoo Biology* 32:19–26
- LANGIN KM, ALDRIDGE CL, FIKE JA, CORNMAN RS, MARTIN K, WANN GT, SEGLUND AE, SCHROEDER MA, BRAUN CE, BENSON DP, FEDY BC, YOUNG JR, WILSON S, WOLFE DH Y OYLER-MCCANCE SJ (2018) Characterizing range-wide divergence in an alpine-endemic bird: a comparison of genetic and genomic approaches. *Conservation Genetics* 19:1471–1485
- LEE L, TIRRELL N, BURRELL C, CHAMBERS S, VOGEL S Y DOMYAN ET (2018) Genetic tests reveal extra-pair paternity among Gentoo penguins (*Pygoscelis papua ellsworthii*) at Loveland Living Planet Aquarium: implications for ex situ colony management. *Zoo Biology* 37:236–244
- MACE GM (2004) The role of taxonomy in species conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 359:711–719
- MARRA PF, COHEN EB, LOSS SR, RUTTER JE Y TONRA CM (2015) A call for full annual cycle research in animal ecology. *Biology Letters* 11:art20150552
- MARTIN-WINTLE MS, WINTLE NJP, DÍEZ-LEÓN M, SWAISGOOD RR Y ASA CS (en prensa) Improving the sustainability of ex situ populations with mate choice. *Zoo Biology*
- MCMAHON BJ, TEELING EC Y HÖGLUND J (2014) How and why should we implement genomics into conservation? *Evolutionary Applications* 7:999–1007
- MEIRMANS PG (2015) Seven common mistakes in population genetics and how to avoid them. *Molecular Ecology* 24:3223–3231
- NARUM SR, BUERKLE CA, DAVEY JW, MILLER MR Y HOHENLOHE PA (2013) Genotyping-by-sequencing in ecological and conservation genomics. *Molecular Ecology* 22:2841–2847
- NG EYX, GARG KM, LOW GW, CHATTOPADHYAY B, OH RRY, LEE JGH Y RHEINDT FE (2017) Conservation genomics identifies impact of trade in a threatened songbird. *Biological Conservation* 214:101–108
- NOOR MAF Y BENNETT SM (2009) Islands of speciation or mirages in the desert: examining the role of restricted recombination in maintaining species. *Heredity* 103:439–444
- OUBORG NJ, PERTOLDI C, LOESCHCKE V, BIJLSMA RK Y HEDRICK PW (2010) Conservation genetics in transition to conservation genomics. *Trends in Genetics* 26:177–187
- OYLER-MCCANCE SJ, OH KP, LANGIN KM Y ALDRIDGE CL (2016) A field ornithologist's guide to genomics: practical considerations for ecology and conservation. *Auk* 133:626–648
- OZSOLAK F Y MILOS PM (2011) RNA sequencing: advances, challenges and opportunities. *Nature Reviews Genetics* 12:87–98
- PARIS JR, STEVENS JR Y CATCHEN JM (2017) Lost in parameter space: a road map for STACKS. *Methods in Ecology and Evolution* 8:1360–1373
- PERTOLDI C, BIJLSMA R Y LOESCHCKE V (2007) Conservation genetics in a globally changing environment: present problems, paradoxes and future challenges. *Biodiversity and Conservation* 16:4147–4163
- PETERS JL, LAVRETSKY P, DACOSTA JM, BIELEFELD RR, FEDDERSEN JC Y SORENSON MD (2016) Population genomic data delineate conservation units in mottled ducks (*Anas fulvigula*). *Biological Conservation* 203:272–281
- PETERSON BK, WEBER JN, KAY EH, FISHER HS Y HOEKSTRA HE (2012) Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS One* 7:e37135
- POELSTRA JW, VIJAY N, BOSSU CM, LANTZ H, RYLL B, MULLER I, BAGLIONE V, UNNEBERG P, WIKELSKI M, GRABHERR MG, UNNEBERG P & WOLF JBW (2014) The genomic landscape underlying phenotypic integrity in the face of gene flow in crows. *Science* 344:1410–1414
- PRATT D Y MITTERMEIER JC (2016) Notes on the natural history, taxonomy and conservation of the endemic avifauna of the Samoan Archipelago. *Wilson Journal of Ornithology* 128:217–241
- PRIMMER CR, PAINTER JN, KOSKINEN MT, PALO JU Y MERILÄ J (2005) Factors affecting avian cross-species microsatellite amplification. *Journal of Avian Biology* 36:348–360
- RUEGG KC, ANDERSON EC, PAXTON KL, APKENAS V, LAO S, SIEGEL RB, DESANTE DF, MOORE F Y SMITH TB (2014) Mapping migration in a songbird using high-resolution genetic markers. *Molecular Ecology* 23:5726–5739
- RUEGG KC, BAY RA, ANDERSON EC, SARACCO JE, HARRIGAN RJ, WHITFIELD M, PAXTON EH Y SMITH TB (2018) Ecological genomics predicts climate vulnerability in an endangered southwestern songbird. *Ecology Letters* 21:1085–1096
- RUNGE CA, MARTIN TG, POSSINGHAM HP, WILLIS SG Y FULLER RA (2014) Conserving mobile species. *Frontiers in Ecology and the Environment* 12:395–402
- SANGER F, NICKLEN S Y COULSON AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74:5463–5467
- SAVOLAINEN O, LASCoux M Y MERILÄ J (2013) Ecological genomics of local adaptation. *Nature Reviews Genetics* 14:807–820

- SHAFFER ABA, WOLF JBW, ALVES PC, BERGSTRÖM L, BRUFORD MW, BRÄNNSTRÖM I, COLLING G, DALÉN L, DE MEESTER L, EKBLÖM R, FAWCETT KD, FIOR S, HAJIBABAEI M, HILL JA, HOEZEL AR, HÖGLUND J, JENSEN EL, KRAUSE J, KRISTENSEN TN, KRÜTZEN M, MCKAY JK, NORMAN AJ, OGDEN R, ÖSTERLING EM, OUBORG NJ, PICCOLO J, POPOVIC D, PRIMMER CR, REED FA, ROUMET M, SALMONA J, SCHENEKAR T, SCHWARTZ MK, SEGELBACHER G, SENN H, THAULOW J, VALTONEN M, VEALE A, VERGEER P, VIJAY N, VILÀ C, WEISSENSTEINER M, WENNERSTRÖM L, WHEAT CW Y ZIELINSKI P (2015) Genomics and the challenging translation into conservation practice. *Trends in Ecology and Evolution* 30:78–87
- STAPLEY J, REGER J, FEULNER PGD, SMADJA C, GALINDO J, EKBLÖM R, BENNISON C, BALL AD, BECKERMAN AP Y SLATE J (2010) Adaptation genomics: the next generation. *Trends in Ecology and Evolution* 25:705–712
- VAN STRAALLEN NM Y ROELOFS D (2006) *An introduction to ecological genomics*. Oxford University Press, Oxford
- TEER JK, BONNYCASTLE LL, CHINES PS, HANSEN NE, AOYAMA N, SWIFT AJ, ABAAN HO, ALBERT TJ, MARGULIES EH, GREEN ED, COLLINS FS, MULLIKIN JC Y BIESECKER LG (2010) Systematic comparison of three genomic enrichment methods for massively parallel DNA sequencing. *Genome Research* 20:1420–1431
- THRASHER DJ, BUTCHER BG, CAMPAGNA L, WEBSTER MS Y LOVETTE IJ (2018) Double-digest RAD sequencing outperforms microsatellite loci at assigning paternity and estimating relatedness: a proof of concept in a highly promiscuous bird. *Molecular Ecology Resources* 18:953–965
- TOEWS DPL, CAMPAGNA L, TAYLOR SA, BALAKRISHNAN CN, BALDASSARRE DT, DEANE-COE PE, HARVEY MG, HOOPER DM, IRWIN DE, JUDY CD, MASON NA, MCCORMACK JE, MCCRACKEN KG, OLIVEROS CH, SAFRAN RJ, SCORDATO ESC, STRYJEWSKI KE, TIGANO A, UY JAK Y WINGER BM (2015) Genomic approaches to understanding population divergence and speciation in birds. *Auk* 133:13–30
- WEINMAN LR, SOLOMON JW Y RUBENSTEIN DR (2015) A comparison of single nucleotide polymorphism and microsatellite markers for analysis of parentage and kinship in a cooperatively breeding bird. *Molecular Ecology Resources* 15:502–511
- WU CI (2001) The genic view of the process of speciation. *Journal of Evolutionary Biology* 14:851–865
- ZHANG G, LI B, LI C, GILBERT MTP, JARVIS ED Y WANG J (2014a) Comparative genomic data of the Avian Phylogenomics Project. *GigaScience* 3:art26
- ZHANG G, LI C, LI Q, LI B, LARKIN DM, LEE C, STORZ JF, ANTUNES A, GREENWOLD MJ, MEREDITH RW, ÖDEEN A, CUI J, ZHOU Q, XU L, PAN H, WANG Z, JIN L, ZHANG P, HU H, YANG W, HU J, XIAO J, YANG Z, LIU Y, XIE Q, YU H, LIAN J, WEN P, ZHANG F, LI H, ZENG Y, XIONG Z, LIU S, ZHOU L, HUANG Z, AN N, WANG J, ZHENG Q, XIONG Y, WANG G, WANG B, WANG J, FAN Y, DA FONSECA RR, ALFARO-NÚÑEZ A, SCHUBERT M, ORLANDO L, MOURIER T, HOWARD JT, GANAPATHY G, PFENNING A, WHITNEY O, RIVAS MV, HARA E, SMITH J, FARRÉ M, NARAYAN J, SLAVOV G, ROMANOV MN, BORGES R, MACHADO JP, KHAN I, SPRINGER MS, GATESY J, HOFFMANN FG, OPAZO JC, HÅSTAD O, SAWYER RH, KIM H, KIM KW, KIM HJ, CHO S, LI N, HUANG Y, BRUFORD MW, ZHAN X, DIXON A, BERTELSEN MF, DERRYBERRY E, WARREN W, WILSON RK, LI S, RAY DA, GREEN RE, O'BRIEN SJ, GRIFFIN D, JOHNSON WE, HAUSSLER D, RYDER OA, WILLERSLEV E, GRAVES GR, ALSTRÖM P, FJELDSÅ J, MINDELL DP, EDWARDS SV, BRAUN EL, RAHBEK C, BURT DW, HOUDE P, ZHANG Y, YANG H, WANG J, AVIAN GENOME CONSORTIUM, JARVIS ED, GILBERT MTP Y WANG J (2014b) Comparative genomics reveals insights into avian genome evolution and adaptation. *Science* 346:1311–1320
- ZINK RM (2004) The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences* 271:561–564