



Université de Montréal

**Sexage et phylogénie, à partir des gènes CHD (-Z et -W) et COX-1, des oiseaux de proie du Québec et de perroquets d'attrait vétérinaire**

par

Karol'Ann Gilbert

Département de biomédecine Vétérinaire

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire en vue  
de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)  
en sciences vétérinaires, option reproduction

Septembre, 2015

© Karol'Ann Gilbert, 2015

## Résumé

---

Connaître le sexe d'un oiseau est important pour divers domaines notamment pour les vétérinaires, les écologistes ainsi que pour les éleveurs d'oiseaux qui veulent former des couples qui serviront à la reproduction. Plusieurs espèces d'oiseaux, juvéniles et adultes, n'ont pas de dimorphisme sexuel. L'utilisation de l'ADN est une façon rapide de déterminer le sexe à partir d'un échantillon de sang, de muscle, de plumes ou de fèces. Par contre, la méthode devrait être validée pour chaque espèce et idéalement, standardisée. Le premier objectif de cette étude est de développer une méthode de sexage par séquençage des oiseaux à partir des séquences du gène CHD, en utilisant les oiseaux de proie et les perroquets vus en clinique au Québec. Un deuxième objectif est de faire l'identification de l'espèce à sexer, à partir du gène mitochondrial COX-1 et aussi à partir des séquences CHD-Z et CHD-W, utilisés pour le sexage. Un troisième objectif est d'évaluer les séquences sorties (CHD-Z, CHD-W et COX-1) en vue d'une étude phylogénique. Une extraction d'ADN a été effectuée chez 27 espèces de perroquets, 34 espèces d'oiseaux de proie, une corneille (*Corvus brachyrhynchos*) et un poulet (*Gallus gallus*). Une amplification par PCR a été exécutée pour les exons partiels 23 et 24 du gène CHD. Le séquençage de cet amplicon permettait de savoir s'il s'agissait d'un mâle (séquence simple CHD-Z) ou d'une femelle (séquences CHD-Z et CHD-W qui se chevauchent). Afin d'avoir des séquences CHD-W distinctes, un sous-clonage a été fait chez les femelles de chaque espèce. De cette manière, les séquences partielles du gène CHD, Z et W, ont été trouvées pour les espèces échantillonnées. Une étude phylogénique a été effectuée avec les séquences de COX-1, CHD-Z et CHD-W grâce au site « Clustal-Omega ». La méthode de sexage des oiseaux par séquençage du gène CHD est standard et efficace. Le gène COX-1 permet une meilleure identification des espèces parentes et le gène CHD-Z est le plus utile pour étudier la phylogénie profonde.

**Mots-clés** : CHD-Z, CHD-W, COX-1, sexage, oiseaux, aviaire, phylogénie, identification

## Abstract

---

Knowing the sex of a bird is important for many disciplines, notably for veterinary, ecological and evolutionary studies, not to mention for bird breeders who need to form pairs for reproduction. For many species of birds, juveniles and adults do not display a sexual dimorphism. The use of DNA, derived from a sample of blood, muscle, feathers or feces, is a rapid method to determine a bird's sex. However, this method must be validated for each species, and ideally, standardised. The first objective of this work was to develop a method of sexing birds by sequencing portions of their CHD gene, for birds of prey and parrots seen in veterinary clinics in Quebec. A second objective was to identify the species being sexed, first of all using the mitochondrial gene COX-1, and second of all using the CHD-Z and CHD-W sequences used for sexing. The third objective of these studies was to evaluate the sequences obtained (CHD-Z, CHD-W and COX-1) for performing phylogenetic studies. DNA was extracted from 27 species of parrots, 34 species of birds of prey, from one species of crow (*Corvus brachyrhynchos*) and from the chicken (*Gallus gallus*). A PCR amplification was performed for partial exons 23 and 24 of the CHD gene. Sequencing this amplicon resulted in simple CHD-Z sequences for a male and overlapping CHD-Z and CHD-W sequences for a female, allowing sexing of the bird. In order to obtain distinct CHD-W sequences, a sub-cloning was performed for females of each species. In this fashion, partial sequences of the CHD gene, both -Z and -W, were generated for the species studied. A phylogenetic study was performed using COX-1, CHD-Z and CHD-W sequences and the site "Clustal-Omega". The method of sexing birds by sequencing was found to be standard and efficient. The COX-1 gene permitted a better resolution of closely related species, while the CHD-Z gene was the most useful for estimating deep phylogenetic relationships.

**Keywords :** *CHD-Z, CHD-W, COX-1, sexing, birds, avian, phylogeny*

# Table des matières

---

<b>RÉSUMÉ</b> .....	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>II</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	<b>III</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>VI</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS</b> .....	<b>VIII</b>
<b>DÉDICACE</b> .....	<b>XI</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>XII</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>CHAPITRE 1- REVUE DE LITTÉRATURE</b> .....	<b>5</b>
1. Méthodes de sexage classiques chez les oiseaux .....	5
1.1 Observation des oiseaux.....	6
1.1.1 Observation de l'apparence.....	6
1.1.2 Observation du comportement.....	9
1.1.3 Techniques de l'industrie avicole .....	10
1.2 Laparoscopie et Laparotomie.....	12
1.3 Stéroïdes fécaux.....	14
1.4 Cytologie .....	16
1.5 Imagerie .....	17
1.6 Généralité sur les méthodes classiques .....	18
2. Méthode de sexage par ADN chez les oiseaux .....	20
2.1 Chromosomes sexuels aviaires.....	20
2.1.1 Généralité .....	20
2.1.2 Chromosome W .....	22
2.1.3 Chromosome Z.....	24
2.2 Méthode de sexage génomique.....	26
2.2.1 Amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD) .....	26
2.2.2 Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP) .....	27
2.3 Méthode de sexage par amplification d'ADN ciblé .....	29

2.3.1 Gène aviaire utilisé pour le sexage .....	29
2.3.1.1 Microsatellites (STRs ou SSRs ou VNTRs) .....	29
2.3.1.2 PSL «Pheasant Sex-Linked marker» .....	30
2.3.1.3 Gènes «Chromodomain-helicase-DNA-binding gene» (CHD) .....	30
2.3.2 Comparaison de fragments sur gel d'électrophorèse (acrylamide et agarose) .....	33
2.3.3 Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) .....	34
2.3.4 Amplification PCR d'allèle spécifique (AS-PCR ou ARMS) .....	35
2.3.5 PCR en temps réel.....	37
2.3.5.1 PCR en temps réel avec sondes TaqMan (qPCR) .....	37
2.3.5.2 PCR en temps réel combiné à l'analyse de la courbe de fusion .....	37
2.3.5.3 L'analyse «High-resolution melting» (HRM) .....	39
3. Identification génétique d'espèces animales.....	40
3.1 ADN mitochondrial (ADNmt) .....	41
3.2 Cytochrome c oxydase .....	42
3.3 Classification aviaire.....	43
4. Phylogénie aviaire.....	47
4.1 Phylogénie morphologique et moléculaire.....	47
<b>CHAPITRE 2- MÉTHODOLOGIE .....</b>	<b>51</b>
1. Extraction d'ADN .....	51
1.1 Sang.....	51
1.2 Muscles.....	52
1.3 Plumes .....	53
1.4 Fèces.....	54
1.5 Membrane fœtale .....	55
1.6 Procédure commune .....	56
2. CHD-Z et CHD-W .....	57
2.1 PCR.....	57
2.2 Sous-clonage (ligation et transformation) .....	59
2.3 Extraction des plasmides.....	61
2.4 Bio-informatique.....	62
3. COX-1 .....	64
3.1 PCR .....	64
4. Phylogénie .....	66
4.1 Les gènes du projet .....	66
4.2 Bio-informatique.....	66

4.3 Individus utilisés .....	68
<b>CHAPITRE 3- RÉSULTATS .....</b>	<b>70</b>
1. Sexage par séquençage.....	70
1.1 Les séquences.....	70
1.2 Longueur CHD-Z et -W des fragments séquencés (pb) .....	84
1.3 Homologie CHD-Z et -W des fragments séquencés (%) .....	89
2. Identification des espèces.....	92
2.1 COX-1.....	92
2.2 CHD-Z.....	106
2.3 CHD-W .....	107
3. Phylogénie.....	109
3.1 COX-1.....	109
3.2 CHD-Z.....	114
3.3 CHD-W .....	119
<b>CHAPITRE 4- DISCUSSION .....</b>	<b>125</b>
1. Sexage par séquençage.....	125
1.1 Les séquences.....	125
1.2 Longueur CHD-Z et -W des fragments séquencés (pb) .....	130
1.3 Homologie CHD-Z et -W des fragments séquencés (%) .....	132
2. Identification .....	135
3. Phylogénie.....	138
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>141</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>143</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>XIV</b>
1. Séquences soumises dans GenBank ; .....	xiv
2. Alignements de séquences multiples ; COX-1.....	xvi
3. Alignements de séquences multiples ; CHD-Z .....	xvii
4. Alignements de séquences multiples ; CHD-W .....	xviii
5. Données statistiques des longueurs moyennes des fragments CHD-Z, CHD-W et CHD-Z/W .....	xix
6. Données statistiques des moyennes d'homologie des fragments CHD-Z, CHD-W et CHD-Z/W .....	xx

## Liste des figures

---

<b>Figure 1.</b> Famille de gènes qui codent pour les protéines CHD..	31
<b>Figure 2.</b> Deux transcrits du gène CHD-Z du poulet.	32
<b>Figure 3.</b> Répartition des perroquets selon la provenance originale de leurs ancêtres	44
<b>Figure 4.</b> Coquille d'œuf d'un oisillon <i>Pandion haliaetus</i> .	55
<b>Figure 5.</b> Séquençage partiel d'un fragment CHD pour <i>Bubo scandiacus</i>	71
<b>Figure 6.</b> Moyenne de la longueur des fragments des gènes CHD-Z et CHD-W pour chacun des ordres aviaires étudiés.	85
<b>Figure 7.</b> Longueur de paire de bases de CHD-Z en fonction de chaque espèce.	88
<b>Figure 8.</b> Pourcentage d'homologie moyen (Z/W, Z et W).	91
<b>Figure 9.</b> Séquençage d'un fragment COX-1 pour <i>Ara macao</i>	105
<b>Figure 10.</b> Homologie moyenne des séquences COX-1 pour chaque ordre d'espèces aviaires sexées.	106
<b>Figure 11.</b> Séquençage d'un fragment CHD-Z pour <i>Ara macao</i> .	107
<b>Figure 12.</b> Séquençage d'un fragment CHD-W pour <i>Ara macao</i>	108
<b>Figure 13.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 de divers oiseaux séquencés en fonction de leur proximité génétique.	110
<b>Figure 14.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des Accipitriformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.	111
<b>Figure 15.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des Strigiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.	112
<b>Figure 16.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des Falconiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.	113



<b>Figure 17.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des Psittaciformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	114
<b>Figure 18.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z de divers oiseaux séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	115
<b>Figure 19.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z des Accipitriformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	116
<b>Figure 20.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z des Strigiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	117
<b>Figure 21.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z des Falconiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	118
<b>Figure 22.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z des Psittaciformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	119
<b>Figure 23.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W de divers oiseaux séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	120
<b>Figure 24.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W des Accipitriformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	121
<b>Figure 25.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W des Strigiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	122
<b>Figure 26.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W des Falconiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	123
<b>Figure 27.</b> Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W des Psittaciformes séquencés en fonction de leur proximité génétique.....	124
<b>Figure 28.</b> Résultats obtenus suite au séquençage du fragment du gène CHD amplifié par les amorces P2 et P8, pour <i>Falco columbarius</i> .....	129

## Liste des abréviations

---

ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNmt	Acide désoxyribonucléique mitochondriale
AFLP	Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés
ARN	Acide ribonucléique
ARNr	Acide ribonucléique ribosomal
AS-PCR	Amplification PCR d'allèle spécifique (ou ARMS)
ATP5A1	ATP synthase alpha subunit 1
AVR2 AVD	Avidin related protein 2
CHD	Chromobox Helicase DNA
CHD-W	Gène CHD sur le chromosome W
CHD-Z	Gène CHD sur le chromosome Z
COX-1	Cytochrome C Oxidase sous unité 1
DMRT1	Doublesex and mab-3 related transcription factor 1
DTT	Dithiothréitol
ETM1/FET1	Anti-dopamine Receptor D3
FGF10	Fibroblast growth factor 10
FST	Follistatin (activin-binding protein)
GHR	Growth hormone receptor
HINT-W	Histidine triad nucleotide binding protein W
hnRNP-W	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins W
HRM	High-resolution melting
IFNA3	Interféron alpha 3
IPTG	Isopropyl $\beta$ -D-1-thiogalactopyranoside
ISL1-FST	Islet-1/Follistatin (activin-binding protein)
KCMF	Potassium channel modulatory factor 1
LPL-VCAN	Lipoprotein lipase / Versican
Mb	Méga base

MIER3	Mesoderm induction early response 1, family member 3
NIPBL	Nipped-B-like protein
NRG	Neuregulin
NTRK2	Neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2
pb	Paire de base
PBS	Tampon phosphate salin
PCR	Polymerase Chain Reaction
PRLR	Prolactin receptor
PSL	Pheasant Sex-Linked marker
qPCR	PCR en temps réel avec sondes TaqMan
RAPD	Amplification aléatoire d'ADN polymorphe
RCF	Relative centrifugal force
RFLP	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction
RPM	Tour par minute
SMAD2	Mothers against decapentaplegic homolog 2
SNF2	Sucrose non-fermentable sous-famille 2
SPIN	Spindlin 1
SRY	Sex-determining Region of Y chromosome
SSR	Microsatellites — Simple sequence repeats
STR	Microsatellites — Short tandem repeats
SYK- EFNA5	Spleen tyrosine kinase /Ephrin-A5
TaqMan	<i>Thermus aquaticus</i>
TLN1 TPM2	Talin-1 Tropomyosin beta chain
Tm	Température de fusion
TMOD1	Tropomodulin 1
UBAP2-W	Ubiquitin-associated protein 2
UCEs	Séquences ultra-conservées
UTRs	Régions non traduites
UV	Rayons ultraviolets
VNTR	Microsatellites — Variable number tandem repeats
ZFR	Zinc finger RNA

ZNF532	Zinc finger protein 532
2d-2D9/2d-2F9	Gène inconnu lié à W

## Dédicace

---

*À mon amour, Matthew St-Pierre*  
*Mes parents, Manon Morin et Laval Gilbert*  
*Mes amis, Karine Béland, Jessica Bond,*  
*Valérie Bouchard, Jean-Philippe Dupré*  
*et Émilie Lessard*  
*Pour tout le support apporté...*

## Remerciements

---

Je souhaite tout d'abord remercier Dr David W. Silversides de m'avoir permis de travailler sous sa supervision, de m'avoir suggéré un projet très intéressant et de m'avoir partagé une partie de son savoir afin de réaliser ce projet. Je vous remercie pour votre dévouement, votre patience et toutes vos connaissances si précieuses.

Merci à Dr Jacques Lussier, Dr Guy Fitzgerald, Dre Isabelle Langlois, Kathleen Brown, Josée Bermingham et Danyèle Vachon pour vos enseignements et le temps investi dans le projet au cours de cette maîtrise. Merci également à Dr Beauchamp pour l'élaboration de mes tests statistiques.

Je tiens également à remercier toute l'équipe du laboratoire. Merci à Manon Salvas, Diana Raiwet, Sonia Lacouture et Isabelle Nadeau pour le soutien technique et les connaissances qui m'ont été apportés.

Merci au Centre québécois sur la santé des animaux sauvages (CQSAS), à la Clinique des oiseaux de proie (COP), à l'Union québécoise de réhabilitation des oiseaux de proie (UQROP), à la Clinique des animaux exotiques de compagnie (CAE), à l'Institut Hagen de recherche en aviculture (HARI), à la Coopérative de solidarité d'entraide pour la survie des perroquets (CO-ESP) et à « Lamifidel », qui m'ont permis de recueillir mes échantillons. Sans eux, un tel projet n'aurait pas pu avoir lieu.

## Introduction

---

Les oiseaux, comme la plupart des vertébrés, ont une reproduction sexuée impliquant un individu mâle et un individu femelle. Chez les espèces aviaires, la détermination du sexe est génétique, mais contrairement aux mammifères, c'est la femelle qui est hétérogamétique (WZ) et le mâle qui est homogamétique (ZZ) (Vucicevic et coll., 2013 ; Lee et coll., 2010 ; Fridolfsson et Ellegren, 1999 ; Kahn et coll., 1998 ; Griffiths et coll., 1998 ; Ellegren et Sheldon, 1997). Pour divers domaines, tels que l'écologie, la conservation, la médecine vétérinaire, la reproduction dans les élevages et même l'évolution, il est important de connaître le sexe des oiseaux (Lee et coll., 2010 ; Han et coll., 2009a ; Fridolfsson et Ellegren, 1999). La survie de plusieurs espèces aviaires menacées par l'introduction d'agents pathogènes par l'homme et celles dont l'habitat naturel a été détruit, ou qui ont été chassées abondamment, dépend de programmes de reproduction en captivité (Bermúdez-Humarán et coll., 2002). Pour ce faire, il faut être en mesure d'identifier les mâles et les femelles afin de former des couples reproducteurs. De plus, les perroquets, de par leur capacité à imiter et leur couleur flamboyante, sont des espèces de plus en plus populaires comme animal de compagnie (Cerit et Avanus, 2006). La majorité des propriétaires de ces oiseaux, que ce soit pour la reproduction ou simplement pour leur donner un nom adéquat, veulent savoir le sexe de leur animal de compagnie (Cerit et Avanus, 2006).

Pour plusieurs espèces d'oiseaux, il est difficile d'effectuer un sexage par la seule observation phénotypique de la morphologie extérieure (Fridolfsson et Ellegren, 1999 ; Kahn et coll., 1998 ; Griffiths et coll., 1998 ; Ellegren et Sheldon, 1997). Les oiseaux n'ont pas d'organes sexuels externes visibles, ce qui augmente la difficulté de sexage (Cerit et Avanus, 2007). Soixante pour cent des espèces aviaires, sur plus de 10 500 espèces répertoriées (Gill et Donsker, 2015), sont

considérés comme étant monomorphes ; c'est-à-dire que leur sexe est difficile à déterminer non seulement par leur apparence et leur taille, mais aussi parfois par leur comportement (Liu et coll., 2011 ; Bermúdez-Humaràn et coll., 2002). Chez certaines espèces, le mâle juvénile ressemble, de par son plumage, sa coloration et sa grosseur, à la femelle adulte. De plus, chez plusieurs juvéniles et adultes, le dimorphisme sexuel est très peu exprimé.

Quelques techniques peuvent être utilisées afin de différencier les mâles des femelles aviaires. Parmi celles-ci, on trouve notamment la laparoscopie et la laparotomie aviaire, l'examen du cloaque, la morphométrie, l'observation du comportement, la présence de plaques incubatrices chez la femelle incubant ses œufs, l'analyse biochimique comme le sexage par stéroïdes, et l'analyse cytogénétique (caryotype) (Garcia et coll., 2009 ; Cerit et Avanus, 2007 ; Dubiec et Zagalska-Neubauer, 2006 ; Bermúdez-Humaràn et coll., 2002). Par contre, ces méthodes entraînent souvent des manipulations comportant des risques pour l'oiseau, des coûts élevés, de longs processus d'analyse et des résultats qui peuvent, dans certains cas, être incertains (Bermúdez-Humaràn et coll., 2002). Il est également souvent nécessaire d'avoir de grandes quantités d'échantillons récoltés afin de procéder à l'analyse au moyen de certaines de ces techniques (Garcia et coll., 2009). Par opposition, l'utilisation de l'ADN extraite à partir d'un échantillon de sang, de tissu, de plumes, de fèces ou même d'urine est une façon, rapide et en principe sûre, de procéder au sexage (Wu et coll., 2011). Cette méthode est avantageuse puisqu'elle n'entraîne que très peu de manipulation des individus.

Afin d'avoir une méthode pour sexer un oiseau, basée sur l'ADN, il faut cibler un gène retrouvé sur les chromosomes sexuels et qui est présent chez toutes les espèces aviaires. Le gène, pouvant servir au sexage, doit détenir une région codante bien conservée entre les espèces afin qu'il puisse servir à sexer plusieurs d'entre elles (Griffiths et coll., 1998). De cette manière, il est possible de distinguer la femelle du mâle par la présence d'un gène rencontré sur le



chromosome W, présent seulement chez la femelle. Le gène CHD (Chromobox Helicase DNA binding gene) est retrouvé sur les deux chromosomes sexuels, mais il diffère par sa séquence. Les deux allèles, CHD-Z et CHD-W, détiennent des exons similaires, mais des introns qui varient en longueur et en séquence (Wu et coll., 2011 ; Ellegren, 1996 ; Griffiths et coll., 1996). Il s'avère donc utile pour déterminer le sexe d'un oiseau. C'est un gène qui détient des séquences codantes remarquablement bien conservées entre les espèces aviaires à l'exception des Struthioniformes (autruches) qui ne peuvent pas être sexés avec cette méthode (Griffiths et coll., 1998). Avec le gène CHD, il est donc possible d'utiliser une seule paire d'amorces pour déterminer le sexe de nombreuses espèces d'oiseaux (Griffiths et coll., 1998).

Dans cette étude, l'objectif premier est, en utilisant le séquençage du gène CHD, de sexer les oiseaux de proie du Québec et les perroquets communément rencontrés en clinique et en élevage. Suite à une amplification et un séquençage de l'intron 23-24 du gène, deux profils de séquence devraient apparaître soit une séquence simple pour le mâle représentant deux copies de l'allèle CHD-Z et deux séquences qui se chevauchent pour la femelle démontrant la présence d'un allèle CHD-Z et d'un allèle CHD-W. À partir de cette étude il sera alors possible de pouvoir documenter les séquences de CHD-Z et de CHD-W séparément pour chacune des espèces, grâce à un sous-clonage et un séquençage de l'amplification du gène CHD-W chez les femelles.

Un deuxième objectif de cette étude est de faire une identification et une confirmation des espèces d'oiseaux qui ont été utilisées pour le sexage. Cette identification est faite grâce au gène mitochondrial COX-1 qui est actuellement le plus utilisé puisqu'il démontre une grande variation entre les espèces. Par contre, à l'intérieur d'une même espèce, cette variation entre les différents COX-1 est très peu élevée ce qui permet d'effectuer la distinction d'espèce (Hébert et coll., 2003b). Les fragments des gènes CHD séquencés serviront également au cours de

ce projet, afin d'observer si ces gènes pourraient eux aussi être de bons candidats à l'identification et ainsi à la taxonomie aviaire.

Les séquences trouvées pourront par la suite, servir à une étude phylogénique des espèces aviaires utilisées pour le projet. L'étude phylogénique servira à déterminer lequel des gènes séquencés est le plus adéquat pour faire un rapprochement phylogénique. Ce projet permet l'utilisation de trois gènes qui agissent différemment à l'intérieur du génome aviaire. Il y a le gène CHD retrouvé sur le chromosome W qui est issu de l'ADN nucléaire des oiseaux et qui s'y retrouve en un seul exemplaire (monoploïde), le gène CHD-Z issu lui aussi de l'ADN nucléaire, mais cette fois-ci en deux copies (diploïde). Finalement, il y a le gène COX-1 qui provient de l'ADN mitochondrial qui se retrouve lui aussi en un seul exemplaire (monoploïde). Basés sur l'alignement des séquences entre les espèces, des arbres phylogéniques pourront être dessinés et une estimation du rapprochement évolutif entre les espèces pourra être faite.

# Chapitre 1- Revue de littérature

---

## 1. Méthodes de sexage classiques chez les oiseaux

Le dimorphisme sexuel correspond aux différences entre les mâles et les femelles au sein d'une même espèce. Il est estimé qu'environ 10 500 espèces d'oiseaux seraient connues et identifiées par l'être humain (Gill et Donsker, 2015). Plusieurs espèces aviaires (environ 60 %) ne possèdent pas le dimorphisme entre les genres ce qui, comme mentionné précédemment, rend la détermination du sexe difficile entre les individus. Chez les oiseaux, les organes qui permettent la reproduction ne sont pas facilement visibles de l'extérieur chez la plupart de ces espèces aviaires (Griffiths et Phil, 2000). Chez quelques espèces d'oiseaux de proie, les jeunes peuvent ressembler aux femelles adultes. Certains oiseaux dans les groupes utilisés dans ce projet, c'est-à-dire les perroquets et les oiseaux de proie, détiennent un dimorphisme sexuel bien visible. Parmi ceux-ci, il y a entre autres, l'Éclectus (*Eclectus roratus*), certains cacatoès (*Cacatua sp*), certaines amazones (*Amazona sp*) ainsi que la Calopsitte élégante (*Nymphicus hollandicus*) (Parr et Juniper, 2010).

Malgré tout, une grande majorité d'entre eux n'ont pas de dimorphisme et c'est pour cette raison que plusieurs méthodes de sexage ont été élaborées. Ces techniques ont été développées afin de pouvoir déterminer plus facilement le sexe des oiseaux.

## 1.1 Observation des oiseaux

Il est possible d'identifier le genre des animaux selon des caractères sexuels primaires tel que l'apparence des organes génitaux, ce qui est impossible chez les espèces aviaires. Les oiseaux détiennent un cloaque. Le cloaque est une cavité rassemblant à la fois les extrémités du système digestif, du système urinaire et du système reproducteur des oiseaux (Griffiths et Phil, 2000). Chez la plupart des oiseaux, l'observation de cette cavité à elle seule ne permet pas la différenciation des genres puisque le cloaque est morphologiquement très similaire entre le mâle et la femelle. Le canard, l'autruche et l'oie font partie des exceptions chez qui l'organe reproducteur du mâle (le phallus) fait protrusion à l'extérieur du cloaque lors de la copulation (McCracken, 2000). Il est donc possible, chez ces espèces, de déterminer le sexe de l'animal à partir des caractères primaires en faisant l'examen direct du cloaque. Il est également possible d'évaluer des caractères sexuels secondaires morphologiques tels que la taille de l'oiseau ou la couleur du plumage, ainsi que des caractères secondaires physiologiques comme le métabolisme et l'odeur qui diffèrent entre les sexes. Les comportements, tels que les parades nuptiales, les chants, la construction du nid et la socialisation permettent également la distinction mâle/femelle chez certaines espèces aviaires.

### *1.1.1 Observation de l'apparence*

De façon générale, les oiseaux mâles sont plus colorés que les femelles afin d'attirer ces dernières, de les courtiser et de se reproduire. Certains oiseaux détiennent un dimorphisme net entre les mâles et les femelles d'une même espèce. Leur sexage est alors facile et évident. En effet, chez ces quelques espèces d'oiseaux, la seule observation de la coloration du plumage ou de la taille de leur corps permet, avec certitude, l'identification du sexe (Cerit et Avanus, 2007). La femelle peut être soit plus petite ou plus grosse que le mâle, ou présenter une coloration différente. L'Éclectus (*Eclectus rotatus*) est un exemple d'oiseau qui nécessite une simple observation pour différencier les genres puisque le mâle

présente une couleur vert vif avec un bec orangé tandis que la femelle détient une coloration rouge et bleue avec un bec noir et l'iris de l'œil plus blanc (South et Wright, 2002). Un autre exemple frappant de dimorphisme sexuel évident est le faisán (*Phasianus colchicus*) chez qui la femelle est beaucoup plus petite et moins colorée que le mâle. De par ces caractéristiques observables, il est possible de faire la distinction mâle/femelle par l'observation. Par contre, cette technique demande beaucoup de temps d'observation et des personnes avec des connaissances élevées sur le phénotype de chaque espèce aviaire puisqu'il est possible que le dimorphisme soit si grand que l'on confond le mâle et la femelle comme étant deux espèces différentes. Chacune d'entre elles détient des caractéristiques phénotypiques particulières, il est donc difficile de standardiser cette méthode. Des paramètres morphométriques permettent parfois le sexage, par exemple en prenant la différence de longueur de l'aile entre mâle et femelle ainsi que la différence de poids. Par contre, cette technique ne s'est pas avérée efficace à tout coup pour le Merle à ventre clair (*Turdus amaurochalinus*) utilisé dans cette étude. Le taux de réussite était d'environ 80 % pour cette même espèce (Silva et coll., 2011). Il est à noter que certaines espèces démontrent une coloration plus marquée en période de reproduction, ce qui pourrait aider le sexage à ce moment (Gill, 1995).

Plusieurs recherches ont été effectuées afin de comprendre comment les femelles choisissent entre les divers mâles et femelles qui se ressemblent chez les espèces dites monomorphes. Ces chercheurs ont examiné surtout le système sensoriel aviaire au cours des dernières décennies. Les oiseaux voient les rayons ultraviolets (UV) et l'examen de certains oiseaux sous la lumière UV a permis de faire la distinction sexuelle d'un grand nombre d'espèces que l'on croyait monomorphes. La mésange bleue (*Cyanistes caeruleus*) en est un exemple, car elle présente beaucoup de différences non visibles par l'œil humain. Les espèces aviaires qui se distinguent seulement par leur coloration observable par une vision des ultraviolets, non visibles par l'œil humain, nécessitent une lumière UV pour leur sexage (Andersson et coll., 1998). Il est également nécessaire d'approcher de très près les oiseaux ce qui complique grandement le sexage par cette méthode. Par

contre, ce n'est, encore une fois, pas une méthode standard puisque ce ne sont pas tous les oiseaux qui présentent cette différence (Birkhead, 2014).

Certaines espèces aviaires peuvent même présenter des caractéristiques sexuelles secondaires comme la présence d'une crête ou d'un barbillon, ainsi qu'une position de la tête différente chez les mâles, qui les distinguent des caractéristiques de leurs femelles respectives (Gill, 1995). Par contre, ce n'est pas toujours aussi simple chez tous les oiseaux puisqu'il existe beaucoup de ressemblances, parfois même aucune différence, entre le mâle et la femelle (méthode non standard). De plus, les oiseaux doivent souvent atteindre une certaine maturité afin de présenter des caractéristiques sexuelles secondaires, ce qui complique le sexage des juvéniles d'apparence semblable aux adultes femelles (Ellegren et Sheldon, 1997).

Chez les femelles, en période de nidification, il est possible de remarquer une plaque de couvaison, aussi appelée plaque incubatrice, qui pourrait servir à confirmer le sexe de l'animal. Cette zone est en fait une plaque sans plume irriguée par de nombreux vaisseaux sanguins et située sur la surface ventrale de l'oiseau. Sa position peut changer selon l'espèce (Gill, 1995). Elle permet le maintien d'une température adéquate lors de l'incubation par le transfert de chaleur de l'oiseau à ses œufs via les artéριοles s'y retrouvant. Par contre, cette plaque se recouvre de plumes à la suite de l'éclosion des œufs et devient ainsi inutile pour l'identification de la femelle. De plus, il est possible que le mâle ou que les deux parents s'occupent du nid, ainsi, les deux sexes pourraient présenter une plaque incubatrice chez ces espèces. De ce fait, l'observation de la présence de plaques de couvaison, même en période de nidification, s'avère inutile pour le sexage dans ce contexte (Payne et Sorensen, 2005 ; Gill, 1995).

### *1.1.2 Observation du comportement*

Chez les oiseaux mâles, il existe généralement deux grandes stratégies afin d'attirer son partenaire sexuel ; par la vue, avec un plumage coloré ou une parade nuptiale, et/ou par l'ouïe, c'est-à-dire par un chant qui attirera l'attention des femelles. Le comportement, en général ou lors des périodes de reproduction, peut chez certaines espèces, être différent entre le mâle et la femelle (Ketterson et Nolan, 1994). Habituellement, lorsque la température est plus élevée et la nourriture plus abondante, la saison de reproduction des espèces aviaires s'entame (Gill, 1995). Lors de cette période, les mâles de plusieurs espèces démontrent un comportement dénotant de la territorialité, tel que de l'agressivité envers les autres mâles qui se trouvent à proximité lors de sa recherche de partenaire sexuel (Moss, 2003 ; Gill, 1995). De plus, toujours lors de la saison reproductrice des oiseaux, certains mâles manifestent une parade nuptiale dans le but de courtiser leur femelle. Dans certains cas, tel que mentionné antérieurement, le chant du mâle est différent de celui de la femelle et avec une oreille expérimentée il est possible de sexer l'oiseau à distance à partir de ces différences. Les femelles, de plusieurs espèces d'oiseaux, ont des mœurs généralement plus discrètes puisqu'elles sont, la plupart du temps, responsables de la couvaison et doivent éviter les prédateurs. Dans le même ordre d'idée, c'est généralement les femelles qui détiennent le rôle de fabrication du nid, de protection du nid et de couvaison des œufs. Par contre, certains de ces comportements sont inversés chez certaines espèces aviaires. Certains mâles peuvent avoir le rôle de couvaison ou de fabrication du nid tandis que les femelles peuvent manifester de la territorialité ou faire une parade (Gill, 1995 ; Ketterson et Nolan, 1994). Il est donc essentiel, pour pouvoir sexer les oiseaux en utilisant la simple analyse de comportement, de connaître chacune des exceptions pour chaque espèce aviaire, ce qui en fait une méthode laborieuse pour le sexage rapide des oiseaux.

La technique de sexage des oiseaux par l'observation du comportement demande beaucoup de temps d'observation et des personnes connaissant très bien les

comportements aviaires, et ce, pour chacune des espèces. Les agissements reproducteurs et maternels sont différents d'une espèce à l'autre, il est donc difficile de standardiser cette méthode.

### *1.1.3 Techniques de l'industrie avicole*

Chez les poussins, d'apparence monomorphe entre les individus mâles et femelles, deux méthodes sont utilisées pour sexer les oiseaux rapidement dans l'industrie avicole. Ces techniques sont l'examen du cloaque et l'observation des plumes des ailes ou de la coloration du plumage chez certaines races. Ces méthodes de sexage peuvent être appliquées dès la première journée de vie du poussin, ce qui comporte un avantage énorme pour l'industrie.

La première méthode, l'observation du cloaque, consiste à visualiser les structures anatomiques du cloaque en effectuant une éversion de ce dernier. Ainsi, cette méthode permet de distinguer les structures appartenant aux femelles et celles appartenant aux mâles. Cette technique est très utilisée, mais elle nécessite des compétences particulières. Une connaissance élevée de l'apparence du cloaque des mâles et des femelles est de mise, puisque les structures mâles/femelles aviaires se ressemblent. Cette méthode de sexage doit être effectuée par des experts, car il y a de nombreuses différences anatomiques au niveau cloacal entre les différentes espèces et races, et même, beaucoup de variété de configuration individuelle au sein d'une même race (Cerit et Avanus, 2007 ; Reynnells et Flega, 2000 ; Lunn, 1948). Il est aussi possible que quelqu'un de très entraîné puisse commettre des erreurs et l'observation du cloaque est difficile à apprendre pour un débutant dans le domaine (Boersma et Davies, 1987 ; Cerit et Avanus, 2007). De ce fait, la méthode de distinction cloacale ne semble pas être adaptée au sexage d'une grande variété d'oiseaux à grande échelle, et ce, même si elle est très utilisée dans l'industrie aviaire, c'est-à-dire, chez les poules et les dindes.



Dans le même ordre d'idée, Boersma et Davies (1987) ont suggéré une méthode de sexage qui utilise la mesure du cloaque. Chez les femelles, le cloaque est généralement plus dilaté dans les périodes d'ovulation que celui des mâles afin de permettre le passage des œufs plus facilement. Par contre, cette méthode présente le même désavantage que l'observation des caractéristiques sexuelles secondaires, c'est-à-dire que l'oiseau doit être à maturité. De plus, la taille du cloaque est différente chez la femelle seulement en période d'ovulation ce qui rend cette technique peu efficace à l'identification du genre de plusieurs espèces aviaires lors de la période anovulatoire.

Les méthodes de l'observation des rémiges des ailes ou de la coloration du plumage consistent elles aussi à distinguer le mâle de la femelle aviaire par l'examen des structures anatomiques, mais cette fois-ci au niveau du plumage. Ces méthodes sont considérées comme plus faciles à apprendre que celles nécessitant l'observation du cloaque. La technique consiste à regarder la croissance des rémiges primaires ou la coloration des plumes sur les ailes des poussins. Pour l'industrie du poulet, c'est souvent une caractéristique génétiquement sélectionnée qui permet une différenciation rapide de l'aspect morphologique entre les mâles et les femelles (Reynnells et Flega, 2000). Les races qui présentent ces marquages sexuels, c'est-à-dire la longueur des rémiges ou la coloration, se nomment races autosexables. Par contre, ce n'est pas toutes les races et encore moins, toutes les espèces aviaires qui présentent cette différence entre le mâle et la femelle dans l'industrie avicole. Ces méthodes nécessitent que le marquage sexuel soit présent dès l'éclosion, ainsi la détermination du sexe du poussin peut être exécutée dans les heures qui suivent sa naissance.

Le marquage le plus souvent utilisé prend en compte la croissance des rémiges primaires. Chez certaines races de poules autosexables, les mâles détiennent des plumes primaires et secondaires qui semblent être de la même taille et leurs extrémités sont au même niveau. À l'inverse, la femelle montre des rémiges primaires qui se terminent plus loin que ses rémiges secondaires, ce qui la

distingue du mâle (McGibbon, 1977). En ce qui concerne le marquage par la coloration du plumage, le Coucou des Flandres (*Gallus gallus*) en est un bon exemple. Le coq de cette race de poule domestique est de couleur plutôt claire alors que la poule est de couleur plus foncée, ce qui présente un réel avantage afin de pouvoir séparer les mâles des femelles dès leur naissance (Périquet et Latimer, 2010). Cette méthode, bien qu'encore une fois très utile dans l'industrie aviaire, ne peut pas être utilisée pour tous les oiseaux.

## 1.2 Laparoscopie et laparotomie

La laparoscopie et la laparotomie sont deux techniques chirurgicales qui nécessitent la contention des oiseaux par diverses manipulations, puis l'anesthésie générale (Burr et coll., 1981 ; Griffiths et Phil, 2000). La laparoscopie est une intervention chirurgicale utilisant un dispositif de lentilles optiques, appelé endoscope rigide, afin de pouvoir faire l'observation de l'intérieur du cœlome et des organes qu'il contient. Chez les oiseaux, ce procédé se fait en effectuant seulement une petite incision chirurgicale, contrairement à la laparotomie pour qui l'incision est beaucoup plus grande. La petite incision effectuée pour la laparoscopie est généralement réalisée entre deux côtes ou dans la fosse paralombaire chez les oiseaux (Burr et coll., 1981 ; Griffiths et Phil, 2000). Par la suite, l'insertion de l'endoscope permet l'observation des gonades et ainsi la détermination du sexe de l'animal (Griffiths et Phil, 2000). Plusieurs approches de laparoscopie ont été décrites, parmi celles-ci, l'approche la plus fréquemment utilisée pour l'évaluation endoscopique des gonades est l'une qui s'effectue sur le flanc gauche de l'animal. L'incision est effectuée entre la septième et la huitième côte ventralement au muscle fléchisseur cruris médial permettant ainsi une meilleure visualisation des gonades (Taylor, 2015). En ce qui concerne la laparotomie, l'ouverture est plus large afin de permettre l'insertion d'instruments

servant au déplacement des intestins pour y voir les gonades directement (Griffiths et Phil, 2000).

Chez les mâles aviaires, il est possible d'observer un testicule au pôle cranial de chacun des deux reins. Les testicules ont une forme de haricot et leur taille peut varier en fonction des saisons (Griffiths et Phil, 2000). Il est également possible d'y observer les canaux déférents et les uretères qui rejoignent l'urodéum. C'est d'ailleurs la contraction des muscles bulbo-caverneux situés autour de cette ampoule qui permet l'éjection du sperme lors de la copulation aviaire qui se fait, généralement, cloaque contre cloaque (Birkhead et coll., 1994). Par contre, chez la femelle, une seule grappe ovarienne est généralement visible. En effet, la femelle aviaire détient généralement deux grappes ovariennes, mais l'une des deux est souvent atrophiée lors de la maturation. C'est habituellement la gonade droite qui est plus petite, voire même absente. Pour cette raison, l'incision lors de chirurgie servant au sexage se fait généralement du côté gauche de l'animal afin d'y voir la grappe ovarienne fonctionnelle ou encore, le ligament suspenseur de l'ovaire (Griffiths et Phil, 2000). Cette grappe est suspendue, tout comme les testicules, au pôle crânial du rein dans la cavité cœlomique et comprend les follicules ovariens qui sont les futurs jaunes d'œuf (vitellus). L'observation de l'oviducte y est également possible. Il s'agit d'un tube divisé en plusieurs parties (l'infundibulum, le magnum, l'isthme et finalement l'utérus) partant de l'ovaire et permettant la migration de l'œuf jusqu'au cloaque (Sauveur et de Reviers, 1988).

Même si ces techniques chirurgicales semblent permettre un sexage adéquat des oiseaux, il existe tout de même certaines limites à ces méthodes. Chez diverses espèces aviaires, autant chez le mâle que chez la femelle, lorsqu'ils ne sont pas en période de reproduction, leurs gonades peuvent régresser. De ce fait, le sexage par laparoscopie ou par laparotomie peut s'avérer difficile dans ces circonstances, car l'ovaire immature ressemble au testicule (Taylor, 2015). De la même manière, l'observation des gonades chez les oiseaux plus petits ou chez les oiseaux juvéniles est très difficile, vu l'immaturation, dans le cas des juvéniles, et la taille de

l'oiseau et des gonades chez les petites espèces (Griffiths et Phil, 2000). Un autre facteur limitant des méthodes chirurgicales est que les manipulations exigées peuvent être stressantes pour les oiseaux. De plus, il y a certains risques encourus par l'oiseau qui subit une anesthésie et une chirurgie. Comme la cavité cœlomique des oiseaux contient de nombreux sacs aériens nécessaires pour le vol et faisant partie du système respiratoire particulier des espèces aviaires, il y a un risque d'emphysème ou encore d'infection suite à l'incision chirurgicale de ces sacs (Griffiths et Phil, 2000). Il existe également un risque commun de déhiscence de plaie ou encore d'hémorragies lors de toute chirurgie.

### 1.3 Stéroïdes fécaux

Chez les vertébrés, des stéroïdes sexuels naturels sont générés via divers organes tels que les gonades et les surrénales ou par conversion à partir d'autres stéroïdes dans le foie ou dans les adipocytes. Ces stéroïdes agissent via des récepteurs et ont divers rôles, entre autres, dans la manifestation des caractères sexuels primaires et secondaires. Chez les mammifères, les œstrogènes sont produits par les follicules de l'ovaire, le corps jaune, le placenta, le foie, les surrénales, les glandes mammaires et le tissu adipeux (Kierszenbaum, 2006). Les œstrogènes (œstrone, œstradiol et œstriol), bien que présents chez les mâles, sont retrouvés normalement en plus grande quantité chez les femelles (Hogan et coll., 2013 ; Kierszenbaum, 2006). L'œstrogène présent dans les matières fécales est un bon indice du genre de l'animal et la mesure de sa concentration permet le sexage de divers vertébrés. Chez la femme, la progestérone est une hormone que l'on retrouve en concentration plus élevée principalement lors de la phase lutéale du cycle menstruel. Elle est également retrouvée avec un taux élevé lorsqu'il y a gestation afin de maintenir, notamment, la vascularisation de l'endomètre. S'il n'y a pas de fécondation lors du cycle reproducteur, le taux de progestérone redescend à la normale en même temps que le corps jaune régresse. La progestérone retrouvée en

quantité élevée dans les matières fécales peut être un bon indice qu'il s'agit d'un animal femelle. Par contre, la progestérone, contrairement à l'œstrogène, s'avère être moins utile au sexage puisqu'elle est plus élevée seulement à des moments précis. Un troisième groupe d'hormones stéroïdiennes sexuelles peut être utilisé pour le sexage. Il s'agit des androgènes comprenant notamment la testostérone. La testostérone est sécrétée, entre autres, par les gonades des mâles et par les glandes surrénales. Elle joue un rôle important dans l'activité sexuelle et le développement de la masse musculaire chez les mâles. Chez les mammifères, le ratio testostérone/œstrogène est plus élevé chez les individus mâles que chez les femelles, ce qui expliquerait le développement des caractéristiques sexuelles primaires et secondaires spécifiques aux mâles. C'est d'ailleurs le calcul de ce ratio à partir des concentrations d'hormones stéroïdiennes retrouvées dans les fèces ou même dans l'urine qui permet l'identification du sexe (Hogan et coll., 2013).

Tel que mentionné précédemment, les stéroïdes se retrouvent en quantité inégale chez le mâle comparativement à la femelle. De ce fait, la mesure des concentrations stéroïdiennes et leur ratio peuvent permettre l'identification du genre, mâle ou femelle, chez les divers vertébrés, notamment chez les oiseaux. L'utilisation de cette méthode est non invasive. Les hormones présentes dans les selles peuvent y rester pendant plusieurs heures selon les espèces (Hogan et coll., 2013 ; Pukazhenthil et Wildt, 2004). De plus, selon Hogan et coll. (2013) les concentrations seraient très similaires chez les juvéniles et chez les adultes n'empêchant donc pas le sexage des jeunes par cette méthode. Comme cette technique entraîne peu ou pas du tout de manipulation de l'animal, l'individu ne ressent pas de stress contrairement aux autres méthodes qui demandent inévitablement des manipulations plus ou moins fastidieuses. Par contre, un des désavantages de cette méthode est qu'il faut avoir une quantité suffisante de matières fécales pour effectuer les mesures de concentration d'hormones (Hogan et coll., 2013). De plus, le prélèvement peut être difficile si l'oiseau est à l'état sauvage puisqu'il faut être en mesure de savoir à qui appartiennent réellement les

fèces servant à l'analyse des stéroïdes. Un autre désavantage notable est que le test doit être élaboré et mis en place au laboratoire et de ce fait, il doit être fiable et à bon prix.

## 1.4 Cytologie

La cytologie, proprement dite, est l'étude morphologique et microscopique des cellules permettant l'observation des structures qui la compose. Il s'agit d'un examen simple, non invasif, généralement indolore et pouvant être refait à de nombreuses répétitions. Il est possible à partir de la cytologie d'effectuer le caryotype de l'individu échantillonné. Un caryotype consiste à photographier les chromosomes à l'aide d'un microscope et, de les classer paire par paire selon leur taille et la position dans lequel se trouve le centromère (Parker et coll., 1992). Comme pour tous les vertébrés ayant des cellules eucaryotes, les chromosomes aviaires se retrouvent dans le noyau des cellules en nombre variant selon l'espèce observée. Il est donc possible de faire l'observation de ces agglomérations d'ADN via l'utilisation d'un étalement cellulaire et l'analyse par microscopie (Griffiths et Phil, 2000). Chez la femelle, hétérogamétique, les deux chromosomes sexuels seront présents, par contre l'un d'entre eux sera plus petit représentant le chromosome W (Parker et coll., 1992). À l'inverse, l'étalement cellulaire du mâle, homogamétique, permettra l'observation de deux chromosomes sexuels similaires, c'est-à-dire deux chromosomes Z (Gilgenkrantz, 2004 ; Griffiths et Phil, 2000 ; Parker et coll., 1992).

La technique permettant l'étalement cellulaire est faite à partir de cellules vivantes mises en croissance, traitées avec de la colchicine, étalées et colorées sur une lame. La colchicine permet de maintenir les chromosomes condensés en phase mitotique du cycle cellulaire afin de les rendre plus visibles pour la microscopie. La coloration Giemsa, permet de faire la distinction entre l'hétérochromatine et l'euchromatine (patron de bandes différent entre le chromosome Z et le W)

(Griffiths et Phil, 2000 ; Parker et coll., 1992). Bien que ce procédé semble efficace et demande peu de manipulations animales, il s'agit d'un processus plutôt laborieux, long et difficile. Les cellules sanguines sont difficiles à mettre en culture (Griffiths et Phil, 2000 ; Parker et coll., 1992). Chez les oiseaux, ce sont les cellules de la pulpe des plumes en croissance qui est idéale pour faire la cytologie. Par contre, cette pulpe est souvent disponible seulement lorsque les plumes sont en croissance après la mue, ce qui rend difficile la collecte d'échantillons adéquats (Griffiths et Phil, 2000). De plus, il est souvent difficile de reconnaître chacun des chromosomes et d'établir le caryotype surtout chez les espèces aviaires qui peuvent détenir un nombre élevé de chromosomes. Les microchromosomes, de par leur petite taille, entraînent également des difficultés pour faire correctement la distinction entre tous les chromosomes des oiseaux (Griffiths et Phil, 2000).

## 1.5 Imagerie

L'échographie (ultrasonographie) utilise les ultrasons de haute fréquence afin d'obtenir des images des structures constituant le corps d'un animal à l'aide d'un appareil qui s'appelle échographe. Le principe est qu'une sonde permet l'émission d'ultrasons qui sont transformés en image, selon la vitesse à laquelle ils reviennent à cette même sonde. En plus de la sonde, l'échographe est généralement muni d'un moniteur, permettant la visualisation de l'image et d'un système numérique ou analogique d'enregistrement des données (Hossack et coll., 1999).

Chez les oiseaux, l'échographie permet, entre autres, la détection des gonades et des structures reproductrices internes (Hildebrandt et coll., 1995). C'est, pour le sexage, une méthode rapide et non invasive qui peut parfois être effectuée sans anesthésie (Planché, 2007). Elle peut permettre, selon Hildebrandt et coll. en 1995, l'observation de l'oviducte gauche confirmant, si présent, le sexe des femelles aviaires. Un désavantage que présente l'utilisation de l'échographie est qu'il peut être difficile d'interpréter les structures reproductrices dues à la présence

de sacs aériens et des plumes. Les sacs aériens occupent l'espace ventralement aux reins et, ventralement au synsacrum (Planché, 2007). Ils peuvent diminuer le passage des ultrasons de l'échographe générant ainsi une image de mauvaise qualité pouvant nuire à la visualisation de l'oviducte. Ainsi, une mauvaise interprétation et une mauvaise détermination du genre peuvent en découler (Vucicevic et coll., 2013).

La radiographie permet, à partir de rayons X qui traversent l'individu, d'observer diverses structures par contraste. Selon l'épaisseur des différentes structures traversées par le faisceau de rayonnements, des images plus ou moins opaques selon l'épaisseur structurale sont formées. La radiographie est une méthode peu utilisée pour le sexage même si, dans certains cas elle permet l'observation des gonades. En effet, l'image obtenue peut être difficile à interpréter puisqu'elle superpose toutes les différentes structures en trois dimensions sur une même image en deux dimensions. De plus, s'il n'y a pas d'autres structures anatomiques visibles, tel que le syrinx chez certains mâles, il peut être difficile de faire une distinction entre un testicule et une grappe ovarienne (Silverman et Tell, 2010). Le syrinx est l'organe vocal de certains oiseaux chanteurs qui se situe à la base de la trachée et qui peut être visualisé à la radiographie entre la deuxième et troisième vertèbre thoracique dans la plupart des oiseaux (McMillan, 2013).

## 1.6 Généralité sur les méthodes classiques

Malgré leur utilisation fréquente, les techniques de sexage décrites précédemment présentent de nombreux désavantages. Certaines méthodes nécessitent des manipulations qui peuvent blesser l'animal, des coûts élevés, des longues interventions pouvant entraîner du stress à l'animal, d'attendre la maturité sexuelle de l'oiseau ou même de grandes quantités d'échantillons. De plus, certaines techniques peuvent donner des résultats plutôt incertains selon l'expertise de l'intervenant. La solution à ces désavantages, qui semble faire l'unanimité et être



la mieux adaptée à l'identification du sexe des oiseaux, est la méthode de sexage par utilisation de l'ADN. Ces techniques par ADN nécessitent peu de manipulations des oiseaux et relativement peu de délais pour le résultat avec un équipement adapté.

## **2. Méthodes de sexage par ADN chez les oiseaux**

Chez les oiseaux, la femelle est hétérogamétique et la détermination du sexe par ADN se fait grâce à l'utilisation de marqueurs moléculaires liés au chromosome W (Cortes et coll., 1999). Les méthodes de sexage par ADN utilisent les différences de séquences entre les chromosomes W et Z d'une façon générale, c'est-à-dire en utilisant l'ensemble des chromosomes pour les méthodes génomiques, ou d'une façon précise en ciblant des séquences spécifiques.

### 2.1 Chromosomes sexuels aviaires

#### *2.1.1 Généralité*

Il existe de nombreuses espèces d'oiseaux (plus de 10 500) et la quantité de chromosomes présente à l'intérieur de leur noyau diffère d'une espèce à l'autre. Le génome des oiseaux est petit, même s'ils détiennent, généralement, un grand nombre de chromosomes (Zhang et coll., 2014 ; Axelsson et coll., 2005). Chez les oiseaux, la taille des chromosomes est très variable ce qui permet de les diviser en trois groupes distincts ; les microchromosomes, les macrochromosomes et les chromosomes intermédiaires (Axelsson et coll., 2005 ; Fillon, 1998). Les microchromosomes sont généralement plus nombreux que les macrochromosomes et ils détiennent une taille inférieure à 20 Mb. Les macrochromosomes, moins nombreux, possèdent une dimension supérieure à 50 Mb. Ainsi, les chromosomes intermédiaires ont généralement une taille se situant entre 20 et 50 Mb. Mise à part leur taille, les groupes de chromosomes détiennent également des différences du point de vue de leur composition génomique. Selon Axelsson et coll. (2005), il est possible de voir plus de divergences au sein des microchromosomes tandis que les deux autres groupes, macrochromosomes et chromosomes intermédiaires, ont des séquences mieux conservées.

En général, les oiseaux détiennent un caryotype avec un nombre de chromosomes se rapprochant de 80 ( $2n = 80$ ) (Stiglec et coll., 2007). Par exemple, la dinde (*Meleagris gallopavo*) détient 40 paires de chromosomes tandis que le poulet (*Gallus gallus*) en détient 39 paires (Griffin et coll., 2008). Chez les oiseaux, il y a la présence de noyau et donc de chromosomes à l'intérieur des érythrocytes tandis que ces derniers sont anucléés chez les mammifères. De ce fait, les prélèvements sanguins d'oiseaux s'avèrent être une source très élevée d'ADN génomique aviaire.

Comme c'est le cas chez les mammifères, la reproduction sexuée des espèces aviaires est au centre de leur descendance et par le fait même, de leur évolution. Cette sexualisation ne se limite pas au système chromosomique XX/XY retrouvé chez les mammifères. Les oiseaux détiennent également des chromosomes sexuels spécifiques à leur classe (*Aves*). Chez ces derniers, la détermination du sexe se fait grâce aux chromosomes sexuels Z et W (système ZZ/ZW) (Gilgenkrantz, 2004). C'est le mâle qui, cette fois-ci, à l'inverse des mammifères, est homogamétique et détient deux chromosomes sexuels Z. La femelle se distingue du mâle puisqu'elle est hétérogamétique et qu'elle détient un seul chromosome sexuel Z et un autre chromosome sexuel W (O'Meally et coll., 2012). L'aneuploïdie (nombre anormal de chromosomes) chez les oiseaux, bien qu'elle existe (triploïdie (ZZW)), est plutôt rare, ce qui laisse croire à un potentiel léthal au stade embryonnaire lorsque cela se produit (Gilgenkrantz, 2004).

Les chromosomes sexuels aviaires et mammaliens sont tous deux essentiels pour la détermination du sexe lors de l'embryogenèse. Bien que les chromosomes mammaliens et aviaires ont des ancêtres communs, les deux systèmes de chromosomes sexuels ne proviennent pas de mêmes paires d'autosomes ancestraux (O'Meally et coll., 2012 ; Fridolfsson et coll., 1998 ; Stiglec et coll., 2007). La position des gènes, déterminée par cartographie chromosomique, est différente et les gènes, communs aux mammifères et aux oiseaux, ne se retrouvent pas sur les mêmes chromosomes (O'Meally et coll., 2012 ; Gilgenkrantz, 2004).

De ce fait, il est possible de retrouver des équivalences de fragments de chromosome sexuel Z du poulet sur les chromosomes 5, 9 et 18 des humains. À l'inverse, des fragments équivalents du chromosome sexuel X humain sont retrouvés sur les autosomes 1 et 4 du poulet (O'Meally et coll., 2012). Le rôle des chromosomes sexuels aviaires dans la détermination du sexe, au niveau de l'embryogenèse, est encore mal connu (Smith et coll., 2009 ; O'Meally et coll., 2012). Certains oiseaux rares sont gynandromorphiques, c'est-à-dire avec un côté mâle et l'autre côté femelle. Ces oiseaux suggèrent que le développement des gonades serait plus lié à des cellules qui agissent de façon autonome, cellule par cellule à la manière des individus chimères, que lié aux rôles des hormones sexuelles (Zhao et coll., 2010).

### *2.1.2 Chromosome W*

Chez les oiseaux, le chromosome W est présent uniquement chez la femelle et ne se retrouve donc pas dans le caryotype des mâles. Il ressemble physiquement au chromosome Y retrouvé chez les mammifères mâles. Tout comme l'Y, le chromosome W est de petite taille et détient beaucoup d'hétérochromatines. Par contre, W est encore plus petit et détient des structures encore plus pauvres en gène que le chromosome Y (Stiglec et coll., 2007 ; Fridolfsson et coll., 1998). Il est estimé que le W représenterait environ seulement 1 % du génome haploïde complet des oiseaux (Gilgenkrantz, 2004). Malgré leur ressemblance en taille, les chromosomes W et Y n'ont rien en commun pour ce qui est des gènes qui y sont retrouvés. Certaines études affirment que le chromosome W serait, en fait, un chromosome Z dégradé puisqu'ils ont plusieurs homologues entre eux (Stiglec et coll., 2007 ; Fridolfsson et coll., 1998 ; Graves, 1995). Certains gènes qui se retrouvent à la fois sur le W et le Z sont très proches génétiquement et peuvent même faire des enjambements lors de méiose. Par contre, ils n'agiraient pas comme des pseudo-autosomes puisque leur position n'est pas la même sur l'un et sur l'autre. Cette proximité génétique entre les deux chromosomes sexuels aviaires

laisse croire qu'ils auraient des ancêtres descendant d'une paire d'autosomes (Fridolfsson et coll., 1998 ; Graves et Shetty, 2000 ; Stiglec et coll., 2007).

Le génome du poulet a été séquencé en 2004 (Consortium ICG, 2004), mais l'identification de gènes et l'assemblage du chromosome W sont restés incomplets. On retrouve beaucoup de séquences répétées sur le W ce qui en fait un chromosome très peu actif génétiquement (Cerit et Avanus, 2006). Le nombre exact de gènes retrouvé sur le chromosome W n'est pas connu. Jusqu'à présent, environ une douzaine de gènes ont été identifiés sur le chromosome W du poulet : CHD-W, ATP5A1-W, HINT-W, UBAP2-W, NIPBL, hnRNP-W, KCMF, SMAD2, SPIN, MIER3, ZFR et ZNF532 (Cerit et Avanus, 2006 ; Stiglec et coll., 2007 ; Ayers et coll., 2013). Chez le poulet (*Gallus gallus*), chacun de ces gènes détient un homologue situé sur le chromosome sexuel Z (Cerit et Avanus, 2006) sauf trois exceptions qui ne s'y retrouvent pas : ETM1/FET1, 2d-2D9 et 2d-2F9. Ces derniers pourraient être de bons candidats afin de jouer un rôle dans le développement ovarien (Stiglec et coll., 2007). Il est estimé que seulement 4 % du chromosome W a été cartographié jusqu'à présent, soit environ 1,2 Mb et qu'il y aurait environ 21 gènes présents, dont certains qui se répètent (Ayers et coll., 2013). La région possédant ces gènes se nomme euchromatine et serait située seulement sur une petite région de la partie terminale du bras court de W (Gilgenkrantz, 2004). Selon Ayers et coll. (2013), le W chez le poulet a une taille d'environ 55 Mb et environ 70 % de ce chromosome sexuel détiendrait des éléments répétitifs faisant partie de la même classe que XhoI, EcoRI et SSP1 ; des enzymes de restriction.

Le rôle du chromosome W dans la féminisation des oiseaux est encore à ce jour mal compris. Certains gènes interviennent spécifiquement dans la différenciation sexuelle aviaire. Par contre, aucun n'a encore été identifié sur le chromosome W des oiseaux femelles, comme c'est le cas pour le gène SRY trouvé sur le chromosome Y, et intervenant dans la différenciation testiculaire chez les mammifères (Gilgenkrantz, 2004 ; Agate et coll., 2003). L'œstrogène détient

évidemment un rôle important dans le phénotype femelle des espèces aviaires tout comme chez les mammifères. Puisque l'aneuploidie est peu fréquente, la détermination des rôles des chromosomes sexuels reste inachevée dans la différenciation des genres chez les oiseaux. Par contre, il y a des exceptions notamment chez certains poulets qui sont triploïdes (ZZW) et qui développent tout d'abord des structures femelles qui se dégradent avec le temps. Ainsi, l'oiseau au stade adulte présente un phénotype mâle (Gilgenkrantz, 2004). Ce phénomène laisse croire que le chromosome W détient effectivement dans son ADN des gènes qui seraient déterminants pour le phénotype femelle puisqu'il y a féminisation au départ. Ces déterminants génétiques permettant le phénotype femelle seraient récessifs puisqu'il y a régression des structures femelles chez ces coqs triploïdes. Le phénotype mâle des coqs triploïdes serait peut-être lié au fait qu'ils détiennent une double dose de gènes portés par les deux chromosomes Z toujours présents (Gilgenkrantz, 2004).

### *2.1.3 Chromosome Z*

Tel que mentionné précédemment, chez les oiseaux, le chromosome Z se retrouve à la fois chez le mâle et chez la femelle. Il se retrouve en deux exemplaires dans le caryotype du mâle et en un seul exemplaire chez la femelle. Comme le chromosome X des mammifères, il est plus grand que le chromosome W et est beaucoup plus riche en gènes (Ayers, 2013). Selon les différentes espèces aviaires, le chromosome Z est généralement le quatrième ou le cinquième plus grand chromosome du caryotype aviaire (Stiglec et coll., 2007). Tout comme le chromosome sexuel X, le chromosome Z semble être grandement conservé entre les espèces (O'Malley et coll., 2012). Chez les oiseaux, il détient toujours une taille à peu près similaire d'une espèce à l'autre et il représente environ de 7 à 10 % du génome total (Stiglec et coll., 2007). Jusqu'à présent, environ 764 gènes codant pour une protéine ont été décrits par Ensembl (2015) à partir du chromosome Z du poulet incluant certains gènes tels que : SMAD2, IFNA3,

AVR2 AVD, TLN1 TPM2, PRLR, GHR, FGF10, ISL1 FST, DMRT1, NTRK2, SYK EFNA5, CHD1, NRG, LPL VCAN et TMOD1. Chacun de ces gènes code pour diverses protéines ayant des rôles, notamment, comme récepteurs, kinases, lipases et interférons.

À l'inverse de ce qui se produit avec les chromosomes sexuels X des femelles mammaliennes, il ne semble pas y avoir d'inactivation d'un des chromosomes Z chez le mâle aviaire (Stiglec et coll., 2007 ; Kuroda et coll., 2001). En effet, contrairement aux mammifères, ce ne serait peut-être pas la présence des gènes en soi qui permettraient la différenciation phénotypique entre les mâles et les femelles chez les oiseaux. Jusqu'à présent, l'hypothèse est que ce serait surtout le dosage, c'est-à-dire le nombre plus élevé de copies des gènes présents, qui permettrait le développement des oiseaux mâles (Smith et coll., 2009 ; O'Meally et coll., 2012). Le gène DMRT1 serait lié au développement testiculaire, puisque s'il est retrouvé en moindre quantité, il engendre un effet de féminisation lors du développement embryonnaire (Smith et coll., 2009). Comme il ne semble pas y avoir d'inactivation du deuxième Z chez les mâles homogamétiques, il y a une plus grande production de protéines engendrée par les gènes du chromosome Z. La femelle, quant à elle, en détenant un seul chromosome sexuel Z produit nécessairement une moins grande quantité de protéines provenant des gènes du chromosome Z (O'Meally et coll., 2012). Jusqu'à présent, la théorie du dosage est encore incertaine. Il pourrait y avoir des facteurs permettant le développement des ovaires liés au chromosome W chez les femelles aviaires. De la même manière, certains facteurs entraînant le développement des testicules seraient associés à des gènes situés sur le chromosome Z (Stiglec et coll., 2007).

## 2.2 Méthode de sexage génomique

Il existe actuellement quelques méthodes permettant le sexage des oiseaux qui utilisent le génome entier de l'espèce. L'amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD) ainsi que le polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP) font partie de ces méthodes génomiques.

### *2.2.1 Amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD)*

La méthode de sexage d'amplification aléatoire d'ADN polymorphe consiste à l'amplification par PCR de plusieurs fragments d'ADN provenant, notamment, des gènes CHD (Z et W) et à l'analyse des profils de bandes sur gel suite à une électrophorèse. Les amorces permettant cette amplification sont choisies aléatoirement et elles ne nécessitent pas la connaissance préalable de la séquence d'ADN matrice (Morinha et coll., 2012). Plusieurs amorces sont utilisées en même temps lors de la PCR (Alatafi et coll., 2013). Le principe de RAPD est que lorsque les amorces sont petites (oligonucléotides) et que la température lors de l'anneauage durant la PCR est basse, les amorces sont en mesure d'effectuer la réplication de nombreux fragments qui engendreront un profil sur gel spécifique pour chacune des matrices d'ADN différentes (Dodgson et coll., 1997). Donc, deux amorces doivent être en mesure de s'hybrider à chaque brin d'une partie de l'ADN génomique originel pour permettre l'amplification d'un ou de plusieurs fragments. Par la suite, le produit de PCR est radio-marqué afin de pouvoir l'identifier visuellement. Il est ensuite mis sur gel, soumis à une électrophorèse et observé sur gel d'agarose ou d'acrylamide afin de détecter tous les fragments polymorphes par un système de détection de la radioactivité (Morinha et coll., 2012 ; Dodgson et coll., 1997). Les motifs de bandes générés sont comparés à des profils connus comme appartenant au chromosome W aviaire, ou cartographié, et s'il y a homologie des bandes, il s'agit d'une femelle. Par la suite, les fragments identifiés comme faisant partie du chromosome W peuvent être isolés, purifiés et séquencés et pourront servir de marqueur, appelé marqueur RADP, pour les futurs sexages



des animaux de cette espèce (Morinha et coll., 2012). L'amplification d'un fragment, s'il y a lieu, à partir de ces marqueurs, indiquera que l'individu sexé est une femelle.

RAPD (Amplification aléatoire d'ADN polymorphe) est une méthode qui une fois établie pour une espèce donnée entraîne peu de coûts, puisque les oligonucléotides et les cartes comparatives fournis par de nombreuses compagnies sont peu dispendieux. De plus, la méthode permet l'utilisation d'un ADN cible présentant une séquence non connue puisque les amorces s'hybrident de façon aléatoire. Par contre, étant donné la nécessité d'effectuer de nombreuses amplifications, afin d'obtenir des marqueurs RADP pour chacune des espèces et l'utilisation de la radioactivité, cela limite la sensibilité et la reproductibilité de la méthode (Morinha et coll., 2012). De plus, vu la déficience de contrôle positif, l'absence de bande sur le gel pourrait laisser supposer que l'individu sexé est un mâle alors qu'en fait l'amplification par PCR n'a tout simplement pas fonctionné ou n'a pas été effectuée correctement (Cortes et coll., 1999).

### *2.2.2 Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP)*

La méthode qui utilise le polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP) implique l'utilisation d'ADN génomique coupé par des enzymes de restriction. Deux enzymes de restriction différentes agiront comme endonucléases et iront, chacune, couper spécifiquement l'une ou l'autre des extrémités des séquences à amplifier. Par la suite, de petites séquences de nucléotides seront ajoutées à chacune des extrémités grâce aux sites de coupure dont la séquence est connue et qui sont engendrés par les endonucléases. Ces ajouts nucléotidiques, appelés adaptateurs, permettront aux amorces de se fixer sur les fragments d'ADN génomique coupé par complémentarité de base. Ces derniers seront ensuite amplifiés par PCR et visualisés sur gel suite à une électrophorèse (Morinha et coll., 2012 ; Griffiths et Orr, 1999). Il y aura comparaison sur gel des deux formes (ZZ et ZW) comme c'est le cas avec d'autres méthodes. Lorsqu'une bande en

surplus est identifiable, cela laisse croire qu'il s'agit d'une séquence retrouvée sur le chromosome W. Les fragments de séquences du chromosome W, extraits du gel, pourront servir par la suite de marqueur pour les futurs sexages des individus de cette espèce aviaire (Griffiths et Orr, 1999).

L'AFLP permet l'isolation des marqueurs, et ce, de façon moins complexe que la technique RAPD (Griffiths et Orr, 1999). L'AFLP présente en partie les mêmes désavantages qu'une comparaison directe des fragments sur gel, c'est-à-dire la longueur identique des allèles Z et W du gène chez une femelle, ainsi que les patrons polymorphiques chez certains mâles entraînant une mauvaise analyse des résultats. Il est possible de ne retrouver aucune différence sur gel entre le mâle et la femelle si les enzymes de restriction ont engendré des fragments de même taille pour tout l'ADN génomique du chromosome Z et du W. De plus, le temps d'exécution de cette méthode est long et onéreux puisqu'il faut développer des marqueurs pour chacune des espèces aviaires ; il s'agit donc d'un test non standard qui n'est pas adapté pour le sexage de routine à grande échelle (Morinha et coll., 2012). Tel que mentionné précédemment, les marqueurs sont liés au W et il peut y avoir une mauvaise analyse des résultats due à l'absence de bande, ce qui pourrait faussement identifier l'individu testé comme un mâle alors que l'amplification n'a tout simplement pas eu lieu correctement. Il faut donc plusieurs amplifications du même échantillon afin d'être certain des résultats. Par contre, la récolte d'une aussi grande quantité d'échantillons peut être fastidieuse et le nombre élevé d'amplifications peut entraîner des coûts élevés (Griffiths et Orr, 1999).

Le plus grand désavantage des méthodes de sexage qui utilisent le génome en entier est qu'elles ne sont pas standardisées puisqu'il faut avoir des séquences qui sont spécifiques à chacune des espèces. De ce fait, bien qu'elles puissent être utilisées pour le sexage en laboratoire et servir à la recherche sur le sujet, elles ne peuvent pas être commercialisées facilement (Morinha et coll., 2012).

## 2.3 Méthode de sexage par amplification d'ADN ciblé

### 2.3.1 *Gène aviaire utilisé pour le sexage*

Afin d'utiliser l'ADN comme méthode ciblée de sexage, il faut être en mesure d'employer une séquence d'un gène, d'un fragment de gène, ou d'une séquence d'ADN spécifique, qui se retrouve sur les chromosomes sexuels. De plus, le gène doit être différent, de par sa longueur ou par sa composition en bases azotées, d'un chromosome sexuel à l'autre (entre Z et W). Il faut être en mesure de distinguer le chromosome W afin de pouvoir sexer avec certitude les femelles aviaires qui sont les seules à le posséder. La séquence d'ADN utilisée pour le sexage doit idéalement être composée d'exons similaires d'une espèce à l'autre pour favoriser la standardisation par PCR. Des différences entre les séquences W et Z (différences homologiques et différences de longueur) devraient s'y retrouver pour ainsi favoriser le sexage aviaire.

#### 2.3.1.1 Microsatellites (STRs ou SSRs ou VNTRs)

Un microsatellite est une ou plusieurs séquences contenues à l'intérieur du génome de nombreux eucaryotes et il se compose de plusieurs nucléotides identiques qui se répètent. Il est possible de se servir de ces séquences répétées comme cible pour une amplification par PCR, de la même manière que lorsque le gène CHD est ciblé. Pour ce faire, il faut être en mesure d'identifier un microsatellite qui se retrouve potentiellement uniquement sur le chromosome W des femelles de chacune des espèces aviaires. Ce microsatellite appartenant seulement aux femelles servira alors de marqueur pour les sexages ultérieurs des individus de cette espèce (Morinha et coll., 2012 ; Glenn et coll., 1997). Un avantage de l'utilisation de la méthode de sexage par microsatellites est que les SSRs peuvent être facilement et rapidement amplifiés par PCR. Il est possible d'utiliser des amorces complémentaires à l'unique séquence d'ADN qui se situe en amont et en aval du microsatellite (Glenn et coll., 1997). Par contre, étant donné que les SSRs

ne sont pas les mêmes d'une espèce à l'autre, cette stratégie ne peut pas être utilisée de routine. Il est nécessaire d'avoir des marqueurs spécifiques pour chacune des espèces aviaires, ce qui demande beaucoup de temps et de travail (Morinha et coll., 2012). De plus, certaines espèces aviaires peuvent être exemptes de microsatellites sur le chromosome W et, de ce fait, ne pourront pas être sexées par l'utilisation de cette technique. Encore une fois, l'absence de contrôle positif, puisque seulement les microsatellites femelles sont amplifiés, peut engendrer des erreurs de type faux négatif dans l'analyse.

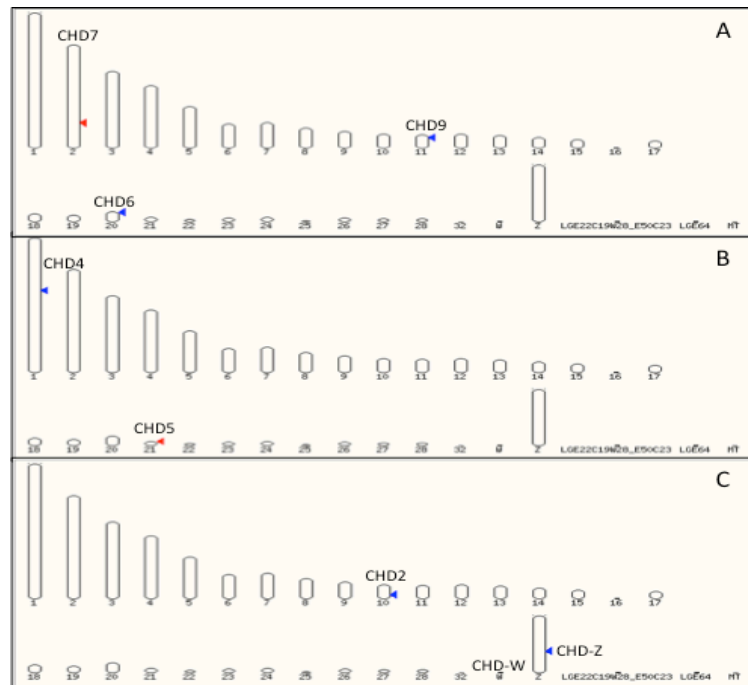
#### 2.3.1.2 PSL « Pheasant Sex-Linked marker »

Différents gènes ont été ciblés pour le sexage des oiseaux lors d'études antérieures. Chez les phasianidés (ex. faisans et paons), on retrouve un fragment d'un gène PSL qui détient une longueur de 202 pb spécifiquement sur le chromosome W et une longueur de seulement 107 pb sur le Z. Cette divergence de longueur de fragment de gène permet alors de faire le sexage par ADN des oiseaux de cette famille (Li et coll., 2012). Le problème est que cette méthode n'est pas standard et ne peut donc pas être utilisée chez toutes les espèces aviaires puisqu'elles ne présentent pas toutes cette différence au sein du fragment PSL.

#### 2.3.1.3 Gènes « Chromodomain-helicase-DNA-binding gene » (CHD)

Le gène qui est présentement préféré pour effectuer le sexage des oiseaux est le CHD retrouvé sur les chromosomes sexuels des oiseaux. Ce gène fait partie de la famille de protéines CHD, dans lesquelles on retrouve un domaine chromo ainsi qu'un domaine hélicase lié à SNF2/ ATPase. Le gène CHD détient notamment des rôles dans la régulation de l'organisation du génome, la recombinaison, l'expression génique et dans la maturation de l'ARN (Hall et Georgel, 2007). Les protéines provenant de ce gène interviennent dans le remodelage de la chromatine dépendante à l'ATP (Hall et Georgel, 2007). De plus, elles peuvent agir comme un activateur ou un répresseur selon leur partenaire d'interaction.

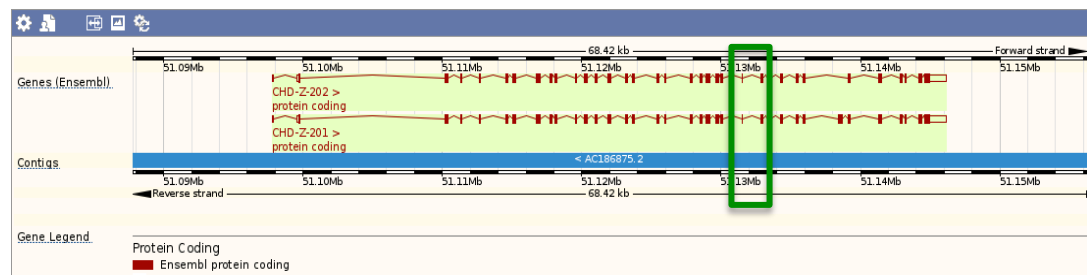
Le CHD est un gène ayant été découvert chez la souris en 1993 (Delmas et coll.). Il se retrouve non seulement chez les oiseaux, mais également chez certains mammifères (NCBI, 2015). Chez le poulet domestique (*Gallus gallus domesticus*) on retrouve 8 gènes décrits qui codent pour des protéines de la famille des CHD. Ils sont regroupés en trois sous-familles. La première contient 3 gènes ; le gène CHD7, situé sur le chromosome 2, le CHD9 sur le chromosome 11 et finalement le CHD6 sur le chromosome 20, tous illustrés dans la figure 1-A. La deuxième sous-famille détient, pour sa part, 2 gènes ; le CHD4 et le CHD5 situés respectivement sur les chromosomes 1 et 21, tous illustrés dans la figure 1-B. Finalement, la famille d'intérêt pour le projet détient non seulement le CHD-Z (CHD1) et le CHD-W, mais également le CHD2 situé sur le chromosome 10, tous illustrés dans la figure 1-C (Ensembl chicken release 80, 2015).



**Figure 1.** Famille de gènes qui codent pour les protéines CHD. A. Sous-famille avec CHD7, CHD9 et CHD6. B. Sous-famille avec CHD4 et CHD5. C. Sous-famille avec CHD-Z, CHD-W et CHD2. Image tirée du site Ensembl chicken release 80, 2015.

Chez les oiseaux, le gène CHD se retrouve à la fois sur le chromosome Z et le W et il subit très peu de variations, au niveau des exons, entre les diverses espèces d'oiseaux et même avec son homologue chez les mammifères (Fridolfsson et Ellegren, 1999). CHD-W a été le premier gène découvert sur le chromosome sexuel W du poulet et il semble être présent chez la plupart des espèces aviaires (Garcia et coll., 2009 ; Griffiths et coll., 1998, Kahn et coll., 1998 ; Ellegren, 1996 ; Griffiths et coll., 1996). Les gènes CHD aviaires ont une grandeur d'environ 5 000 paires de bases et détiennent environ 38 petits exons (Griffiths et Korn, 1997 ; Griffiths et coll., 1998). Malgré sa présence sur les chromosomes sexuels, le gène CHD ne semble remplir aucune fonction au niveau du développement des structures sexuelles, ni chez le mâle ni chez la femelle aviaire (Delmas et coll., 1993).

Le gène CHD remplit mieux les conditions d'un gène adéquat pour le sexage, et ce, chez la majorité des espèces avicoles (exception faite des Struthioniformes) (Griffiths et Tiwari, 1995). Chez le poulet domestique (*Gallus gallus domesticus*), une portion du gène CHD pour le chromosome Z a déjà été séquencée notamment grâce aux amorces P2 et P8 identifiées par Griffiths et coll., en 1998. Ces amorces permettent l'amplification d'environ 350 paires de bases à partir des exons 23 et 24 et de l'intron 23-24 (figure 2).



**Figure 2. Deux transcrits du gène CHD-Z du poulet.** Les exons 23 et 24, ainsi que l'intron 23-24 sont encadrés en vert. Figure tirée de Ensembl chicken release 80, 2015.

Les méthodes de sexage par gène ciblé sont celles qui utilisent, de façon générale, les gènes aviaires CHD amplifiés par PCR. Parmi ces méthodes, on retrouve l'analyse des résultats par comparaison sur gel d'acrylamide, le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP), l'amplification PCR d'allèle spécifique (AS-PCR ou ARMS) ainsi que les PCR en temps réel. Assez souvent, les amorces P2 et P8 sont utilisées (Griffith et coll., 1998).

### *2.3.2 Comparaison de fragments sur gel d'électrophorèse (acrylamide et agarose)*

En général, l'intron 23-24 des séquences du gène CHD, retrouvé sur le chromosome Z diffère en longueur de celui retrouvé sur le chromosome W (Kahn et al, 1998). Bien que les exons soient généralement bien conservés, le nombre de bases azotées retrouvées à l'intérieur des introns varie considérablement d'un chromosome sexuel à l'autre, et ce, à l'intérieur de la même espèce et du même individu. Il est donc possible, par la migration de fragments d'ADN amplifiés avec les mêmes amorces pour le CHD-Z et le CHD-W, de faire la distinction, sur gel, en taille (nombre de paires de bases azotées), entre les gènes CHD retrouvés sur chacun des deux chromosomes (Ellegren, 1996). De cette manière, il y aura deux bandes distinctes lorsqu'il s'agit d'une femelle puisqu'il y en a une qui représentera le fragment amplifié pour l'allèle du chromosome Z et l'autre pour celui du W. Lorsque l'oiseau sexé est un mâle, une seule bande sera présente, représentant les deux allèles, identiques en longueur et en séquence, des gènes CHD-Z (Ong et Vellayan, 2008). Par contre, cette méthode fonctionne difficilement sur un gel d'agarose standard à cause de la faible résolution du gel. Dans le cas de certaines femelles avec un CHD-W comprenant des introns n'ayant pas une grande différence en longueur avec ceux du CHD-Z, il est possible d'y voir seulement une bande sur ce gel (Ong et Vellayan, 2008 ; Fridolfsson et Ellegren, 1999). Il est donc préférable d'utiliser un gel d'acrylamide qui permet une meilleure précision du poids moléculaire de l'ADN migrant. Par contre, il est

possible qu'il y ait, chez la femelle, une amplification préférentielle d'un seul des deux gènes (Dawson et coll., 2001). La migration sur gel peut alors résulter en une seule bande et l'oiseau sera sexé à tort comme étant un mâle (Ong et Vellayan, 2008 ; Fridolfsson et Ellegren, 1999). De la même manière, certains mâles peuvent avoir deux allèles différents d'un chromosome Z à l'autre (patrons polymorphiques) et présenter deux bandes sur gel comme c'est typiquement le cas pour les femelles (Dawson et coll., 2001).

### *2.3.3 Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP)*

L'une des techniques conventionnelles fréquemment utilisées par les compagnies afin d'effectuer le sexage aviaire par l'utilisation du gène CHD, est le P2/P8 PCR RFLP (Polymorphisme de longueur des fragments de restriction). Cette méthode consiste également à comparer la longueur de fragments d'ADN entre les parcelles des gènes CHD-Z et CHD-W amplifiées (Chen et coll., 2012). Comme c'est le cas pour la comparaison simple sur gel d'acrylamide expliquée précédemment, P2/P8 PCR RFLP consiste à amplifier par PCR une partie du gène CHD à partir de l'ADN extrait et purifié à l'aide des amorces P2 et P8 identifiées par Griffiths et coll. (1998). Par la suite, le fragment d'ADN obtenu généralement pour un seul des deux chromosomes sexuels est coupé en plusieurs parcelles par une enzyme de restriction. De ce fait, il est avantageux de connaître la séquence du gène à sectionner afin d'utiliser l'enzyme adéquate. Les fragments de restriction obtenus peuvent être ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose ou d'acrylamide, et migreront plus ou moins rapidement selon les différentes longueurs entre les fragments (Han et coll., 2009b ; Ong et Vellayan, 2008 ; Fridolfsson et Ellegren 1999 ; Griffiths et coll., 1998 ; Kahn et coll., 1998). De cette façon, le gel obtenu à partir d'un échantillon montrera plusieurs bandes à différents niveaux pour le fragment du gène coupé sur un des chromosomes sexuels tandis qu'il y aura une seule bande d'ADN sur le gel pour le fragment qui se situe sur l'autre chromosome sexuel qui n'a pas été coupé par l'enzyme. De cette manière, les



patrons des bandes sur gel permettent le sexage des oiseaux ; il y aura deux patrons de bandes différents chez la femelle et un seul chez le mâle.

Puisque l'enzyme de restriction normalement choisi cible spécifiquement l'un des deux chromosomes sexuels, il y a moins de chance de confusion que la comparaison simple sur gel, même si les introns des gènes CHD-Z et CHD-W sont semblables ou identiques. Malgré tout, cette technique comporte elle aussi quelques désavantages. L'utilisation d'enzymes de restriction ne permet pas la standardisation de la méthode. Les enzymes doivent cibler une séquence retrouvée à l'intérieur des introns afin de couper un seul des deux gènes CHD (Z ou W) puisque les exons sont très similaires chez ces derniers. Par contre, étant donné que les introns sont également différents d'une espèce à l'autre, il est possible que des enzymes différentes soient nécessaires pour l'identification de genre chez quelques espèces aviaires (Morinha et coll., 2012). Un autre problème qui peut survenir est que des sites de restriction se retrouvent à la fois chez le mâle et chez la femelle. Dans ces circonstances, plusieurs fragments seraient présents chez les deux chromosomes sexuels des deux genres, ce qui pourraient être conduire à un mauvais sexage.

#### *2.3.4 Amplification PCR d'allèle spécifique (AS-PCR ou ARMS)*

Une des méthodes permettant l'identification du genre par ADN, employé chez les oiseaux, est l'utilisation d'amorces permettant l'amplification d'un seul des deux allèles du CHD, généralement celui lié au chromosome sexuel W. Chez les oiseaux, les variations à l'intérieur des introns entre le CHD-W et le CHD-Z permettent l'utilisation de cette méthode pour le sexage (Morinha et coll., 2012). Ainsi, lorsque l'amplification par PCR de l'allèle CHD-W aura lieu et qu'un fragment sera visible sur gel suite à l'électrophorèse, cela suggère qu'il s'agit d'un individu femelle puisqu'elles sont les seules à avoir un chromosome W. Par contre, cette technique est peu utilisée puisqu'elle peut porter à confusion au niveau de l'interprétation. Une amplification qui ne fonctionnerait pas pourrait

nous laisser croire que l'échantillon est mâle alors que c'est le processus d'amplification qui n'a pas été effectué comme il se doit (Cortes et coll., 1999). Il est donc utile d'avoir un autre gène amplifié en même temps qui servira de gène contrôle. De cette manière, si le gène contrôle est présent ainsi que celui lié au chromosome W, il est possible de conclure à une femelle avec plus de certitude. Ce processus se nomme aussi PCR multiplex due à l'amplification de plus d'un gène (Griffiths et Orr, 1999).

Une autre méthode multiplex plus utilisée permettant le sexage aviaire consiste à amplifier non seulement l'allèle se trouvant sur le chromosome W, mais également le CHD se trouvant sur les allèles Z. L'amplification du gène commun (CHD-Z) agit comme gène contrôle et évite ainsi les problèmes d'interprétation (Morinha et coll., 2012). De cette manière, l'utilisation d'amorces différentes pour le gène CHD-Z et le CHD-W engendrera des séquences distinctes, de longueurs assez différentes, pour faire la distinction sur gel de chacun des deux gènes (CHD-Z et CHD-W) (Cortes et coll., 1999). À la suite de cette amplification conjointe des gènes CHD-Z et CHD-W par des amorces distinctes, il y a migration sur gel d'acrylamide. De la même manière que ce qui a été décrit plus tôt, il y aura alors deux ou trois bandes distinctes, selon l'espèce, chez la femelle hétérogamétique et une seule bande chez le mâle homogamétique (Morinha et coll., 2012 ; Lee et coll., 2008). Par contre, cette méthodologie implique plusieurs amorces puisqu'il faut amplifier chacun des allèles avec des amorces se situant au niveau des introns, là où il est possible de faire la distinction CHD-Z et CHD-W. Les introns étant variables non seulement d'un chromosome à l'autre, mais également d'une espèce à l'autre, il faut donc produire plusieurs amorces selon l'espèce à sexer. De plus, il faut connaître la séquence de chaque gène CHD-Z et -W afin de cibler spécifiquement, par les amorces, des fragments de différentes longueurs permettant une distinction facile (Morinha et coll., 2012). Cette technique n'est donc pas une méthode pouvant être standardisée pour toutes les espèces aviaires.

### *2.3.5 PCR en temps réel*

#### 2.3.5.1 PCR en temps réel avec sondes TaqMan (qPCR)

La PCR en temps réel implique la possibilité de faire un suivi sur la quantité d'ADN présente dans la réaction lors de l'amplification. Cette mesure est possible, notamment, grâce à l'utilisation de sondes fluorescentes ainsi qu'à la présence d'une séquence cible à l'intérieur du fragment amplifié par PCR (Overbergh et coll., 2010 ; Collot et coll., 2001). L'une des techniques décrites pour le sexage aviaire est la qPCR Taqman (Morinha et coll., 2012 ; Rosenthal et coll., 2010).

La qPCR peut être utilisée pour le sexage par l'emploi de deux sondes avec deux marqueurs différents. L'un des marqueurs permet l'identification du fragment CHD-Z ou du fragment commun CHD-Z et CHD-W. Il agira comme fragment contrôle pour s'assurer que l'amplification se déroule bien. Le second marqueur, avec un spectre d'émission différent du premier, ne permet que l'identification du CHD-W et permet ainsi la détection d'individu femelle et donc, le sexage. C'est une méthode rapide, spécifique grâce à la fois aux amorces et à la sonde, et très sensible puisqu'elle demande une faible quantité d'ADN pour être exécutée. Par contre, certains désavantages y sont reliés : c'est une technique qui entraîne des coûts élevés pour la fabrication des sondes ainsi que l'obligation d'avoir des sondes spécifiques à chacune des espèces puisqu'il faut cibler, encore une fois, le CHD-W seul de chacune des espèces (Morinha et coll., 2012).

#### 2.3.5.2 PCR en temps réel combiné à l'analyse de la courbe de fusion

Une deuxième PCR en temps réel, utilisée pour le sexage est celle qui est combinée à l'analyse de la courbe de fusion. Cette PCR permet, elle aussi, d'effectuer une mesure de la quantité d'ADN présente dans la réaction lors de l'amplification. Par contre, avec cette technique il y a une insertion d'un colorant fluorescent, généralement SYBR Green Save, à l'intérieur des doubles brins de l'ADN lors de sa répllication. De ce fait, chaque fois qu'une double hélice d'ADN

est polymérisée, la fluorescence augmente et elle peut être ainsi mesurée par l'appareil de PCR en temps réel (Morinha et coll., 2012 ; Overbergh et coll., 2010). La fluorescence augmente seulement au cours de la réaction d'extension de l'ADN et la formation de doubles brins. Elle est très faible ou nulle lors de la dénaturation du double brin, et ce, à chaque cycle, puisque les particules qui y étaient additionnées sont libérées et n'émettent plus de fluorescence (Overbergh et coll., 2010).

Par la suite, cette PCR en temps réel est analysée grâce aux températures de fusion de chaque produit de PCR. La température de fusion ( $T_m$ ) est la température nécessaire pour qu'il y ait 50 % de l'ADN sous forme de simple brin lors de la réaction de PCR. Cette température est constante à l'intérieur d'un même amplicon, mais est légèrement différente d'une séquence à l'autre (Morinha et coll., 2012). La  $T_m$  de l'ADN double brin dépend de la longueur de la séquence et de son contenu notamment en bases azotées GC ce qui est propre à chaque fragment pris individuellement (Taylor, 2009). Cette différence de  $T_m$  est habituellement suffisante pour permettre la distinction d'un fragment d'ADN à l'autre. Grâce à la fluorescence, la  $T_m$  peut être mise sous forme de courbe ( $dF/dT$  en fonction de la température) et le point le plus haut du graphique correspondra aux  $T_m$  (Morinha et coll., 2012).

De nombreuses méthodes ont été décrites pour mettre en place ce procédé (PCR en temps réel avec l'analyse de courbe de fusion). Certains utilisent une seule paire d'amorces qui amplifient le CHD-Z et le CHD-W, générant ainsi différentes températures de fusion. D'autres utilisent deux paires d'amorces ; l'une spécifique au CHD-Z et l'autre spécifique au CHD-W (Faux et coll., 2014 ; Morinha et coll., 2012). Dans les deux cas, la présence de deux températures de fusion différentes indiquera que l'échantillon soumis à la PCR est une femelle (deux amplicons ; CHD-Z et CHD-W) alors qu'il s'agira d'un mâle s'il n'y a qu'une seule  $T_m$  (un seul amplicon ; CHD-Z). Cette méthode de sexage est rapide et sensible. C'est une méthode qui nécessite moins de main-d'œuvre et est donc associée à une meilleure

rentabilité. C'est un système qui est dit fermé, ce qui réduit considérablement le risque de contamination (Faux et coll., 2014). Par contre, il faut être en mesure de faire la distinction entre les deux températures de fusion. Lorsque les  $T_m$  sont très rapprochées ou identiques, cette distinction n'est pas évidente (Faux et coll., 2014). De ce fait, il est utile de faire une bonne sélection d'amorces pour chacun des fragments (CHD-Z et CHD-W), mais il est alors nécessaire de désigner des jeux d'amorces pour chaque espèce, rendant cette méthode longue et non standardisée (Faux et coll., 2014 ; Morinha et coll., 2012).

#### 2.3.5.3 L'analyse « High-resolution melting » (HRM)

Comme la méthode de la courbe de fusion décrite ci-haut, l'analyse HRM est une technique de PCR en temps réel, qui utilise l'insertion de substances fluorescentes entre les doubles brins d'ADN et l'analyse des courbes de fusion. Par contre, cette technologie est beaucoup plus performante que la méthode de la courbe de fusion. Il est possible, grâce à une plateforme de PCR équipée pour l'analyse HRM, de faire la distinction entre la  $T_m$  de fragments qui sont légèrement différents, soit en longueur ou en teneur en GC, avec beaucoup plus de précision (Morinha et coll., 2012 ; Taylor, 2009). Il est donc possible d'obtenir de meilleurs résultats pour le sexage, et ce, en utilisant une seule paire d'amorces permettant à la fois l'amplification des fragments CHD-Z et CHD-W (Morinha et coll., 2012). Par contre, la présence de deux allèles différents chez un individu mâle pourrait entraîner la visualisation de deux  $T_m$  provenant des fragments polymorphiques issus de la PCR. Ainsi, une erreur de sexage est possible.

### **3. Identification génétique d'espèces animales**

Au fil du temps, l'évolution des formes de vie sur terre a permis l'établissement de nombreuses espèces animales. En 2011, il y avait un total d'environ 1,2 million d'espèces animales identifiées et répertoriées dans la taxonomie. Tout de même, il est estimé que tout près de 86 % des espèces vivantes sur terre et près de 91 % de celles vivants dans les milieux aquatiques ne seraient pas encore identifiées et décrites (Mora et coll., 2011). Selon Clements (2012), en date du 28 septembre 2012, 10 240 espèces d'oiseaux étaient présentes dans la liste taxonomique, regroupées en 227 familles.

Afin de pouvoir faire un suivi évolutif et pour être en mesure de pouvoir identifier de nouvelles espèces qui ne sont pas encore décrites ou pour effectuer un bilan des espèces présentes, disparues, menacées ou en voies de disparition, il faut être apte à identifier chaque espèce. De nos jours, le meilleur moyen consiste à utiliser l'ADN puisque certains individus au sein d'une même espèce détiennent une morphologie très différente d'un individu à l'autre. Par exemple, entre le mâle, la femelle et le juvénile de la même espèce, le phénotype externe peut être si différent qu'ils pourraient être identifiés comme étant des espèces distinctes et ainsi entraîner une mauvaise identification par la simple observation. De plus, certaines espèces aviaires distinctes se ressemblent beaucoup et ont très peu de différences morphologiques entre elles, ce qui peut entraîner encore une fois, une mauvaise identification par un œil moins expérimenté. De ce fait, l'ADN s'avère être une méthode d'identification de l'espèce plus sûre, efficace, simple et assez rapide (Hébert et coll., 2003a).

Pour faire la spéciation à partir de l'ADN, il faut être en mesure d'utiliser des séquences d'ADN dans une région standard du génome pouvant être utilisées pour tous les individus. Ces séquences doivent être suffisamment différentes entre les espèces afin de pouvoir les différencier. De cette manière, ces séquences serviraient de « codes-barres » génétiques qui peuvent être compilés dans les

banques de données publiques afin de permettre l'identification d'espèce et ainsi permettre une connaissance accrue des taxons, de façon rapide et économique (Hébert et coll., 2004). Woese et Fox en 1977 ont suggéré l'utilisation de gène se situant dans l'ARNr (ARN ribosomal) afin de faire l'identification d'espèces et ainsi, de pouvoir établir des relations évolutives entre ces différentes espèces animales. Les gènes de l'ARNr évoluent lentement ce qui permet d'établir des relations anciennes entre les espèces et ainsi donner un aperçu de l'origine de la vie cellulaire (Woese, 2000). Par contre, il s'avère moins efficace pour les espèces étroitement liées puisqu'il y a très peu de divergence entre elles dans les gènes issus d'ARNr. Dans le même ordre d'idée, les gènes qui évoluent plus rapidement permettent d'établir les divergences et les distinctions entre les espèces génétiquement plus proches. Les gènes issus de l'ADN mitochondrial (ADNmt) font partie de ces gènes qui évoluent plus rapidement que l'ADN nucléaire. Ils présentent davantage d'accumulation de différences entre les espèces étroitement apparentées. Pour cette raison, les gènes mitochondriaux sont utilisés dans l'identification et la distinction des espèces, et même dans les études phylogéniques (Hébert et coll., 2004).

### 3.1 ADN mitochondrial (ADNmt)

Les mitochondries sont le siège du métabolisme cellulaire via la phosphorylation oxydative. Ce sont des organites qui détiennent leur propre ADN probablement issu d'une endosymbiose avec une bactérie ancestrale. Tout comme le génome bactérien, le génome mitochondrial des animaux est de petite taille, circulaire et monoploïde. L'ADNmt est relativement uniforme entre les vertébrés et les invertébrés (Brown et coll., 1979). L'ADNmt humain mesure environ 16,5 kb de long, il est composé d'approximativement 16,5 kilobases (kb) et code pour 13 protéines (Giles et coll., 1980).

L'ADN mitochondrial (ADNmt) est un outil important dans la taxonomie des espèces, car il détient de nombreuses caractéristiques permettant l'identification interspèce. Compte tenu son taux élevé de mutations, l'ADNmt acquiert des divergences plus rapidement au sein de son génome (Elmeier et coll., 2012 ; Hébert et coll., 2003b ; Ingman et coll., 2000). Il est dit que les séquences d'ADNmt changent 5-10 fois plus rapidement que l'ADN nucléaire monoploïde (Giles et coll., 1980), et encore plus rapidement que l'ADN diploïde. Tel que mentionné antérieurement, ce sont ces divergences qui permettent de faire la distinction entre deux espèces même si elles sont rapprochées génétiquement, puisque les différences entre les séquences d'ADNmt de deux espèces sont généralement plus grandes que les dissimilitudes phénotypiques entre ces espèces. De ce fait, plusieurs espèces avaient été mal classées par les méthodes classiques et des révisions taxonomiques au niveau de l'espèce ont dû être faites basées sur les résultats obtenus à partir de l'ADNmt. Ainsi, de nombreuses espèces d'oiseaux nouvellement reconnues ont été définies (Hebert et coll., 2004).

### 3.2 Cytochrome c oxydase

Jusqu'à présent, pour l'identification des espèces, il est suggéré d'utiliser une région de 694 pb du gène mitochondrial cytochrome c oxydase sous-unité I (COX-1) puisqu'il est facile à amplifier avec les amorces standards et qu'il offre une bonne résolution de la spéciation (Hebert et coll., 2004 ; Hebert et coll., 2003a et 2003b). COX-1 (cytochrome c oxydase sous-unité 1) est l'une des 13 protéines codées par le génome mitochondrial humain identifiées jusqu'à présent. Le cytochrome c oxydase est une protéine membranaire de la mitochondrie qui joue un rôle dans le transport des électrons qui s'effectue dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette protéine se retrouve dans les mitochondries à la fois chez les eucaryotes et les procaryotes. Son rôle est essentiellement la réduction de



molécules d'oxygène en eau en utilisant les électrons du cytochrome c (Treuffet, 2010).

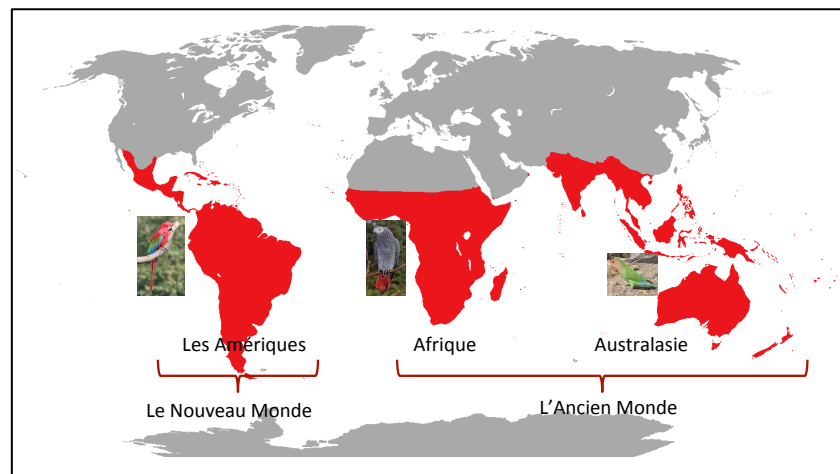
Le gène mitochondrial codant pour COX-1, de par sa diversité en acides aminés, permet l'identification et la catégorisation taxonomiques. La variation entre les espèces est d'en moyenne 11,3 %, et 98 % des espèces détiennent des divergences plus grandes que 2 % avec les autres espèces, mêmes si elles sont rapprochées dans leur taxonomie évolutionnaire (Hebert et coll., 2003a et 2003b). De plus, à l'intérieur d'une même espèce, la variation entre les différents COX-1 est très rarement plus élevée que 2 %. Lorsque la divergence est plus élevée, c'est généralement quand la population est isolée des autres populations de la même espèce entraînant la dérive génétique. La grande majorité des individus au sein d'une même espèce détient une variation du gène mitochondrial COX-1 inférieure à 1 % ce qui permet d'effectuer la distinction d'espèce (Hébert et coll., 2003b). Hébert et coll., en 2004 ont séquencé un fragment standard (694 pb) du gène COX-1 de 260 espèces d'oiseaux d'Amérique du Nord, et toutes ces espèces avaient un COX-1 différent. Ces différences étaient de l'ordre de 18 fois plus élevées interspèce que celles au sein d'une même espèce. De ce fait, par l'utilisation de COX-1, la découverte de nouvelles espèces animales pourrait être accélérée.

### 3.3 Classification aviaire

Les oiseaux représentent un groupe de vertébrés très diversifié avec des caractéristiques morphologiques plus ou moins semblables entre ces espèces sœurs. La classification aviaire a fait l'objet de nombreuses études, et ce, depuis plusieurs années. Les connaissances sur les relations entre espèces déterminées par le COX-1 ont permis l'amélioration de cette classification au cours de ces dernières années. Par contre, compte tenu des nombreuses divergences entre les espèces, les oiseaux sont probablement paraphylétiques, c'est-à-dire que certaines

lignées aviaires ne descendent pas toutes du même ancêtre commun. La position dans l'arbre phylogénétique de chacune des espèces composant ce groupe est donc susceptible de changer dans les années à venir (McCormack et coll., 2013).

Cette thèse concerne les perroquets et les oiseaux de proie susceptibles d'être vus en clinique par les vétérinaires du Québec. L'identification, la classification ainsi que la phylogénie des perroquets ont fait l'objet d'études depuis plusieurs années et ces travaux ont amené une révision importante des relations autrefois établies entre les espèces de perroquets (Joseph et coll., 2012). Les perroquets forment l'Ordre des Psittaciformes. Ils sont séparés selon leur provenance en perroquets de l'Ancien Monde et les perroquets du Nouveau Monde (figure 3). Ceux de l'Ancien Monde comprennent les perroquets de l'Afrique, de l'Asie et de l'Australie. On compte parmi les perroquets africains, les Inséparables, les *Poicephalus* sp. ainsi que les Gris d'Afrique. Les perroquets (Psittacidés) d'Australasie sont, entre autres, les Perruches ondulées, Calopsittes élégantes, les Cacatoès et les Loris. On retrouve parmi les perroquets d'Amérique ; les Conures, les Amazones et les Aras qui sont tous des perroquets du Nouveau Monde (Schodde et coll., 2013). Les perroquets, à la fois du Nouveau Monde et de l'Ancien Monde sont, pour quelques-uns d'entre eux, gardés et même élevés en captivité au Québec.



**Figure 3.** Répartition des perroquets selon la provenance originale de leurs ancêtres. On y voit les perroquets du Nouveau Monde comprenant les oiseaux qui proviennent des Amériques ; et les perroquets de l'Ancien Monde incluant les oiseaux africains, australiens et asiatiques. Image tirée de Wikipédia (modifiée) : <https://en.wikipedia.org/wiki/Parrot>.

Les oiseaux de proie sont des oiseaux carnivores qui se caractérisent par des serres très puissantes puisqu'ils utilisent leurs pattes pour attraper et tuer leur proie. Ils détiennent également un bec tranchant et crochu qui sert à déchiqueter les proies pour faciliter la déglutition. Tout comme les autres espèces aviaires, les oiseaux de proie possèdent une excellente vision ce qui leur permet d'éviter les obstacles en vol. Ils ont généralement une vision supérieure aux autres oiseaux puisqu'ils doivent chasser leur proie.

Les oiseaux de proie sont aussi appelés rapaces et, d'après le Congrès ornithologique international de 2010, ils sont séparés en deux grandes catégories soient les rapaces diurnes, qui chassent le jour, et les rapaces nocturnes, qui se nourrissent la nuit. Au Québec, on peut observer 27 espèces indigènes d'oiseaux de proie (UQROP, 2014). Les oiseaux de proie diurnes regroupent deux Ordres ; les Accipitriformes et les Falconiformes. Les Accipitriformes sont subdivisés en 4 familles qui sont les Cathartidés (les urubus et les condors), les Pandionidés (les balbuzards), les Accipitridés (les aigles, les éperviers et les buses) et finalement, les Sagittariidés dont le seul représentant est le Serpenteaire (*Sagittarius serpentarius*). La famille des Cathartidés détient 5 genres ; *Cathartes* (3 espèces), *Coragyps* (1 espèce), *Sarcoramphus* (1 espèce), *Gymnogyps* (1 espèce) et *Vultur* (1 espèce). Les Pandionidés, quant à eux, détiennent un seul genre incluant deux espèces. En ce qui concerne la famille des Accipitridés, le genre *Accipiter* détient 15 espèces au total, celui de *Buteo* en détient 29, *Haliaeetus* en a 10, *Circus* en a 16, *Parabuteo* en a 2 et finalement le genre *Aquila* détient un total de 11 espèces. L'ordre des Falconiformes comprend la famille des Falconidés avec le genre *Falco*, qui sont les seuls d'intérêt pour ce projet, incluant 40 espèces.

Les rapaces nocturnes forment l'ordre des Strigiformes et se divisent en 2 familles : les Tytonidés et les Strigidés qui regroupent les effraies, les hiboux et les chouettes. La famille des Tytonidés détient 15 espèces d'oiseaux du genre *Tyto* et 3 espèces du genre *Phodilus*. En ce qui a trait à la famille des Strigidés, le genre

*Asio* détient 6 espèces au total, celui *Bubo* en a 19, *Aegolius* en détient 15, *Strix* en a 21, *Megascops* en a 25 et finalement, le genre *Surnia* détient une seule espèce.

## 4. Phylogénie aviaire

L'ADN, les gènes et les génomes sont transmis des ancêtres à leur descendance. L'ADN subit de nombreuses modifications lors de son transfert, ce qui engendre la diversité génétique et phénotypique à l'intérieur d'une population, qui serait elle-même à l'origine de la formation de différentes espèces. Charles Darwin, dans son livre « L'Origine des espèces » (1859), fut l'un des premiers à montrer un lien de parenté entre les diverses espèces par la sélection naturelle. Pour ce faire, il a utilisé l'illustration de l'arbre phylogénétique afin de démontrer la proximité morphologique des espèces entre elles. Il parle alors de « descendances avec modification » (Darwin, 1859).

### 4.1 Phylogénie morphologique et moléculaire

La phylogénie est l'étude des relations qui permet ce rapprochement en établissant un lien de parenté entre les diverses espèces animales. Selon les données paléobiologiques et moléculaires, les oiseaux ancestraux ont subi une radiation explosive, un « Big Bang » biologique suivi de l'extinction massive des espèces, il y a 66 millions d'années (Jarvis et coll., 2014). Cette diversification (la spéciation) rapide a mené à l'apparition de plusieurs groupes à l'intérieur desquels les individus sont généralement morphologiquement semblables (Jarvis et coll., 2014 ; McCormack et coll., 2013). Les relations évolutives des oiseaux modernes sont difficiles à comprendre et ont été débattues pendant des siècles. Des études récentes des génomes aviaires ont démontré qu'ils détiennent une taille plutôt limitée et sont composés de nombreux éléments répétitifs (Zhang et coll., 2014). De plus, il est survenu, au cours de l'évolution du génome aviaire, plusieurs délétions et même des pertes complètes de gènes, ce qui fait de la classe aviaire un défi phylogénique en soi (Zhang et coll., 2014). Jusqu'à présent, deux groupes distincts (superordres) d'oiseaux sont identifiés à la fois par la phylogénie moléculaire et la phylogénie morphologique ; les oiseaux de l'Ancien Monde

(paléognathes) et les oiseaux du Nouveau Monde (néognathes). Bien que les termes Ancien et Nouveau Monde soient les mêmes que ceux utilisés pour la séparation selon leur origine géographique des espèces de Psittaciformes, ils ne sont pas utilisés dans le même contexte ici. Les oiseaux de l’Ancien Monde sont considérés comme des oiseaux anciens qui auraient perdu la faculté de voler et ils sont composés de cinq ordres encore vivants ; les Tinamiformes (ex. tinamous), les Struthioniformes (ex. autruches), les Rheiformes (ex. rheas), les Apterygiformes (ex. kiwis) et les Casuariformes (ex. casoars et émeus). Les oiseaux du Nouveau Monde comprennent tous les autres ordres aviaires et sont subdivisés en deux groupes ; les Galloanserae (ex. poules) et les Neoaves, incluant les perroquets et les oiseaux de proie, pour ne nommer que ceux-là (Hackett et coll., 2008). Il existe très peu de formes intermédiaires entre ces groupes, ce qui rend leur classement taxonomique assez ardu.

Il est possible de faire des études de phylogénie des oiseaux à l’aide de l’alignement des séquences qui composent les gènes ainsi que les génomes des diverses espèces de nos jours (Zhang et coll., 2014 ; Jarvis et coll., 2014). Jusqu’à présent, chez les oiseaux, certains rapprochements phylogéniques ont été obtenus grâce à l’observation de la morphologie et à l’hybridation d’ADN des génomes mitochondriaux, des exons nucléaires, de l’ARN ribosomal, des séquences d’intron et des séquences répétitives comme les rétrotransposons (Jarvis et coll., 2014 ; McCormack et coll., 2013 ; Hackett et coll., 2008). Par contre, certains de ces résultats sont contradictoires. Afin de résoudre ces contradictions, il est recommandé d’utiliser des séquences plus longues de l’ADN mitochondrial et plusieurs loci nucléaires indépendants (Hackett et coll., 2008) ou même les génomes aviaires complets (Jarvis et coll., 2014).

L’étude de phylogénie des oiseaux de Hackett et coll. (2008) a utilisé 169 espèces d’oiseaux. À partir de ces espèces, les chercheurs ont fait l’alignement moléculaire de 32 kb d’ADN nucléaire. Ces 32 kb regroupaient 19 loci indépendants, localisés sur 15 différents chromosomes retrouvés chez le poulet. Parmi ces loci, il y avait

74 % d'introns, 23 % d'exons et 3 % d'UTRs (région de l'ADN non traduite). Ils ont ensuite effectué un arbre algorithmique à partir de ces alignements. Certains de leurs résultats étaient différents de ce qui a été vu dans le passé. Chez les oiseaux de proie, certains oiseaux diurnes auraient évolué avec des ancêtres nocturnes. Les Falconidés et les Psittacidés auraient une relation sœur. De la même manière, les Accipitridés et les Catharidés détiendraient tous deux une relation sœur avec les Strigiformes. Les Catharidés (vautours du Nouveau Monde) ont depuis des années été classés et déclassés dans des ordres aviaires distincts, et leur position taxonomique reste encore débattue. En effet, ils ont tous d'abord, en 1990, été classés parmi les Ciconiidés, puis, certains les plaçaient avec les Falconidés (Sibley et Ahlquist, 1990). Une étude suggère même qu'ils aient leur propre Ordre, par contre cette étude utilisait seulement l'alignement de 5007 pb retrouvées sur 5 gènes différents (Ericson et coll., 2006). Depuis l'étude de Hackett et coll. de 2008, les vautours du Nouveau Monde sont classés parmi les Accipitriiformes.

McCormack et coll., dans une étude phylogénique plus récente (2013), ont utilisé les UCEs (« ultra conserved elements » ou petites séquences ultra-conservées) de 32 oiseaux du Nouveau Monde. Les résultats et les conclusions obtenus sont basés sur l'alignement de 416 loci, complété à 100 % et de 1514 loci, complété à 87 %. Ces loci représentent environ 544 kb, soit 17 fois plus que l'étude de Hackett et coll. (2008). Leur étude démontre, par le fait même, que plus il y a de loci utilisés pour l'alignement, plus il y a de vraisemblances phylogéniques et donc, que l'étude est convaincante. Leurs résultats soutiennent une relation sœur entre les perroquets et les passereaux, ainsi qu'entre les Falconidés et les perroquets. De plus, les faucons et les aigles ne convergeraient pas des mêmes ancêtres. Tout comme dans l'étude de 2008 d'Hackett et coll., l'étude de 2013 classe elle aussi les Catharidés parmi l'ordre des Accipitriiformes.

En 2014, Jarvis et coll., durant une des études les plus avancées jusqu'à présent, ont utilisé les génomes complets de 48 espèces aviaires, représentant tous les ordres des oiseaux du Nouveau Monde (néognathes) et 2 ordres des oiseaux de

l'Ancien Monde (paléognathes), afin de construire un arbre phylogénique et d'y faire des études comparatives. Ils ont utilisé cette fois-ci les exons de 8251 gènes codants, ce qui représente environ 40 % des protéomes (protéines exprimées dans les cellules). De plus, ils ont pris les introns de 2561 gènes et 3769 UCEs, pour un total global de 41,8 millions de paires de bases comparées. Tout ceci (exons, introns et UCEs) représente environ 3,5 % du génome des oiseaux. Ils ont effectué plusieurs arbres phylogéniques à partir d'introns, d'exons et d'UCEs. Par la suite, ils ont fait une compilation de tous ces arbres phylogéniques afin de faire un méga-arbre permettant ainsi une haute résolution phylogénique. Leur étude utilise une à trois espèces d'oiseaux par ordre ; trois espèces pour les Accipitriformes (2 Accipitridés et 1 Cathartidé), 2 espèces pour les psittaciformes et finalement, 1 espèce pour les Strigiformes et les Falconiformes. Les résultats semblent être les mêmes, concernant nos espèces d'intérêt (Falconiformes, Accipitriformes, Strigiformes, et les Psittaciformes), que ce qui a été démontré dans l'étude de Hackett et coll. (2008). Les Falconiformes et les Psittaciformes auraient une relation sœur et les Accipitriformes auraient également une relation sœur avec les Strigiformes. Il est à noter que les Cathartidés se retrouvent encore groupés avec l'ordre des Accipitriformes.



## Chapitre 2- Méthodologie

---

(# d'approbation du CÉUA : 13-Rech-1666)

### 1. Extraction d'ADN

L'ADN génomique est extrait à partir d'échantillons de sang, de tissus, de plumes et de fèces prélevés sur différentes espèces de perroquets (27 espèces ; 23 mâles et 13 femelles) et d'oiseaux de proie (33 espèces ; 30 mâles et 24 femelles) ainsi que sur des poulets et des corneilles, mâles et femelles. Ces échantillons proviennent de la Clinique des oiseaux de proie (COP), de la Clinique des animaux exotiques de compagnie (CAE), du Centre québécois sur la santé des animaux sauvages (CQSAS), de « Chouette à voir », de l'animalerie « Lamifidel », de l'Institut Hagen de recherche en aviculture (HARI), de la Coopérative de solidarité d'entraide pour la survie des perroquets (CO-ESP) ou encore de connaissances personnelles de l'auteure. L'extraction d'ADN a été faite à partir de trousse QIAGEN (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen sciences, Cat. No. 51306, Hilden, RFA) selon le protocole du manufacturier détaillé ci-dessous.

#### 1.1 Sang

Deux à cinq millilitres de sang ont été obtenus par prélèvement sanguin au niveau de la veine jugulaire sans anesthésie. Le sang fut placé dans un tube avec EDTA comme anticoagulant. Contrairement à l'humain, le sang des oiseaux est composé, non seulement de leucocytes nucléés, mais aussi d'érythrocytes nucléés. De ce fait, l'ADN génomique est plus abondant dans le sang des oiseaux que dans le sang de la majorité des mammifères. C'est pour cette raison que lors du traitement des échantillons, il faut d'abord diluer 50µl de sang d'oiseau dans 350µl de tampon

phosphate salin (PBS) placé dans un tube de microcentrifugation de 2,0ml. En effet, une trop forte concentration d'ADN génomique rend difficile la technique d'isolation de l'ADN. Par la suite, 400µl de tampon AL et 40µl de protéinase K sont ajoutés, puis le tout est agité vigoureusement environ 15 secondes. Le tampon AL et la protéinase K servent à la lyse et à la digestion cellulaire afin d'y en extraire l'ADN. La solution doit être maintenue à 56°C un minimum de 30 minutes dans un incubateur (Thermolyne type 16500 dri-bath, Fisher, Dubuque Iowa, É-U). Ensuite, 400µl d'éthanol 100 % sont ajoutés et la solution est agitée. L'éthanol permet l'adhésion de l'ADN à la mini-colonne d'isolation.

## 1.2 Muscles

Les échantillons de muscles ont été utilisés sur les oiseaux morts qui étaient présentés à la salle de nécropsie de la Faculté de médecine vétérinaire de St-Hyacinthe. Ce tissu a été jugé le plus facile à utiliser pour la récupération de l'ADN sur des sujets non vivants. Les muscles soumis ont été coupés de façon à obtenir environ 25mg puis réduits en petits morceaux avec un scalpel afin d'accélérer sa digestion. Par la suite, le tissu est déposé dans un tube de microcentrifugation de 1,5ml avec 180µl de tampon ATL et 40µl de protéinase K pour être passé au mélangeur (Thermolyne, Vortex, Maxi Mix II, Fisher, Dubuque Iowa, É-U) pendant 15 secondes. Le tube est ensuite placé dans un incubateur (Thermolyne type 16500 dri-bath, Fisher, Dubuque Iowa, É-U) à 55°C jusqu'à ce que le tissu soit complètement lysé (de 30 minutes à une nuit entière). Durant cette incubation, un brassage à l'aide du mélangeur Maxi Mix II est fait régulièrement afin de faciliter la lyse des tissus. Ensuite, 200µl de tampon AL sont ajoutés et la solution est mélangée vigoureusement à l'aide du vortex pendant 15 secondes. Le mélange est ensuite mis dans l'incubateur à 55°C pour un autre 10 minutes. Finalement, il faut ajouter 200µl d'éthanol 100 % à l'échantillon afin que l'ADN adhère à la mini-colonne d'isolation.

### 1.3 Plumes

Cinq à six plumes ont été prélevées à partir d'oiseaux vivants, sans anesthésie. Les plumes utilisées peuvent être en croissance ou des plumes matures. Des plumes qui proviennent de la poitrine de l'oiseau sont à privilégier, puisqu'il y a en général moins de pigments et de parties kératinisées qui pourraient agir comme inhibiteur lors de la PCR. Les plumes sont coupées en petits morceaux afin d'accélérer leur digestion. Par la suite, elles sont mises dans un tube de microcentrifugation de 1,5ml avec 300µl de tampon ATL, 20µl de protéinase K et 20µl de DTT (dithiothréitol) à 1 molaire. Le tout est homogénéisé à l'aide d'un mélangeur (Thermolyne, Vortex, Maxi Mix II, Fisher, Dubuque Iowa, É-U) pendant 15 secondes. Le tube est placé dans un incubateur (Thermolyne type 16500 dri-bath, Fisher, Dubuque Iowa, É-U) à 55°C jusqu'à ce que les plumes soient complètement lysées (de une à douze heures environ). Durant cette incubation, un brassage à l'aide du mélangeur Maxi Mix II est fait régulièrement afin de faciliter la lyse. Ensuite, 300µl de tampon AL sont déposés dans le mélange et la solution est brassée vigoureusement à l'aide du vortex pendant 15 secondes. Le mélange est mis dans un autre incubateur, cette fois-ci à 70°C pour un autre 10 minutes en brassant à l'aide du vortex de temps en temps. Finalement, il faut ajouter 150µl d'éthanol 100 % à l'échantillon et mélanger. Les outils utilisés pour couper les plumes sont lavés entre chaque échantillon d'oiseau afin d'éviter les contaminations. Le lavage est effectué avec 2 passages d'environ 15 secondes dans de l'eau de Javel commerciale, suivi de deux passages de 15 secondes à l'eau distillée. Les instruments sont ensuite rincés avec de l'éthanol 100 % pour un minimum d'une minute, puis séchés à l'air.

## 1.4 Fèces

Il est possible d'extraire l'ADN génomique des oiseaux à partir de leurs excréments. Pour ce faire, nous avons utilisé une trousse commerciale de QIAGEN (QIAamp DNA Stool Mini kit, Qiagen sciences, Cat.No.51504, Maryland 20874, É.-U.) et le protocole fourni avec la trousse. Les fèces sont tout d'abord pesées afin de s'assurer qu'il y en ait entre 180mg et 220mg. Elles sont ensuite déposées dans un tube de microcentrifugation de 2ml avec 1,6ml de tampon ASL et ce mélange est brassé grâce à un vortex pour un minimum d'une minute afin de l'homogénéiser. La solution homogène est ensuite centrifugée à 14 000 RPM (20 817 RCF) pour une minute et 1,4ml de surnageant est pipeté et déposé dans un nouveau tube de microcentrifugation de 2ml. Une tablette d'InhibitEX est ajoutée au surnageant et le tout est mélangé grâce à un vortex continuellement pendant une minute, immédiatement après l'ajout. Par la suite, la suspension est incubée à température pièce pour une minute afin que tous les inhibiteurs contenus dans les fèces soient adsorbés par l'InhibitEX. À la suite de l'incubation, une autre centrifugation est effectuée durant 3 minutes à vitesse maximale pour que l'InhibitEX et les particules de fèces se déposent au fond du microtube. Tout le surnageant est alors pipeté et déposé dans un nouveau tube de microcentrifugation de 1,5ml puis centrifugé de nouveau durant trois minutes à vitesse maximale. Dans un tube de 2ml neuf 600µl de surnageant sont ajoutés à 25µl de protéinase K puis 600µl de tampon AL y sont insérés. Le tout est passé au mélangeur (Thermolyne, Vortex, Maxi Mix II, Fisher, Dubuque Iowa, É-U) pendant 15 secondes, puis le tube est placé dans un incubateur (Thermolyne type 16500 dri-bath, Fisher, Dubuque Iowa, É-U) à 70°C pendant 10 minutes. Durant cette incubation, un brassage à l'aide du mélangeur Maxi Mix II est fait régulièrement afin de faciliter la lyse. Ensuite, 600µl d'éthanol 100 % sont déposés dans le mélange et la solution est brassée vigoureusement à l'aide du vortex pendant 15 secondes.

## 1.5 Membrane foetale

Il est possible d'extraire l'ADN génomique des oisillons à partir de leurs coquilles (figure 4). Pour ce faire, les membranes qui se situent à l'intérieur de la coquille sont minutieusement prélevées à l'aide d'une pince à tissus stérile. Les membranes sont déchiquetées en petits morceaux afin de faciliter leur digestion. Elles sont ensuite pesées afin de s'assurer qu'il y en ait entre 15mg et 30mg. Par la suite, les membranes foetales sont séparées en quatre parts environ égales et elles sont déposées dans quatre tubes de microcentrifugation de 1,5ml avec 300µl de tampon ATL, 20µl de protéinase K et 20µl de DTT (dithiothréitol) à 1 molaire dans chacun de ces tubes. Le tout est mélangé à l'aide d'un mélangeur (Thermolyne, Vortex, Maxi Mix II, Fisher, Dubuque Iowa, É-U) pendant 15 secondes. Les tubes sont placés dans un incubateur (Thermolyne type 16500 dri-bath, Fisher, Dubuque Iowa, É-U) à 55°C jusqu'à ce que les membranes soient complètement lysées (environ une à deux nuits entières). Durant cette incubation, un brassage à l'aide du mélangeur Maxi Mix II est fait régulièrement afin de faciliter la lyse. Par la suite, les quatre tubes de microcentrifugation sont centrifugés à vitesse maximale (14 000 RPM (20 817 RCF)) pendant 10 secondes afin que les membranes foetales qui n'ont pas été digérées se retrouvent au fond. Le surnageant est récoltés et remis dans quatre nouveaux tubes de microcentrifugation de 1,5ml. Ensuite, 300µl de tampon AL sont déposés dans le mélange de chacun des tubes et les solutions sont brassées vigoureusement à l'aide du vortex pendant 15 secondes. Les mélanges sont mis dans un autre incubateur à 70°C pour 10 minutes supplémentaires en brassant à l'aide du vortex de temps en temps. Finalement, 150µl d'éthanol 100 % sont ajoutés à chacun des tubes d'échantillons, puis mélangés.



**Figure 4.** Coquille d'œuf d'un oisillon *Pandion haliaetus*.

## 1.6 Procédure commune

Dans tous les cas, que ce soit un échantillon de sang, de tissu, de plumes, de membranes fœtales ou de fèces, il y a une procédure commune qui suit les manipulations énumérées précédemment. Tout d'abord, le mélange obtenu est déposé dans une mini-colonne d'isolation, puis cette dernière est placée dans une centrifugeuse (Eppendorf centrifuge 5417C) pendant une minute à une vitesse de 8000 RPM (6797 RCF). Le liquide dans le tube collecteur est jeté et 500µl de tampon AW1 sont ajoutés à la colonne d'isolation. Le tout est centrifugé à nouveau pendant une minute à 8000 RPM (6797 RCF). La même procédure est répétée une deuxième fois, en retirant d'abord le liquide du tube collecteur. De la même manière, le liquide dans le tube collecteur est jeté et 500µl de tampon AW2 sont ajoutés à la colonne d'isolation, puis le tout est centrifugé une minute à 14 000 RPM (20 817 RCF). Cette dernière opération est également répétée une deuxième fois, mais la durée de la deuxième centrifugation est de trois minutes. La mini-colonne, après que le tube collecteur soit vidé, est centrifugée une autre fois pendant une minute à 14 000 RPM (20 817 RCF) afin d'assécher le plus possible la colonne d'isolation de l'ADN. Les tampons AW1 et AW2 servent à éliminer les impuretés retrouvées dans l'échantillon. Par la suite, afin d'éluer l'ADN génomique, 50µl de tampon AE sont ajoutés à la mini-colonne. Après 10 minutes d'incubation, la mini-colonne est centrifugée à 8000 RPM (6797 RCF) et le 50µl de solution d'ADN est récupéré. Pour les plumes, 40µl de tampon ATE sont utilisés pour éluer l'ADN à la place du tampon AE. De plus, il est à noter que certains pigments de plumes peuvent passer au travers de la mini-colonne et agir comme inhibiteur de la PCR. Il est donc très important de centrifuger l'élution à 14 000 RPM (20 817 RCF) pendant une minute afin que les pigments atteignent le fond du tube pour éviter de les pipetter lors de la préparation de la PCR.

## 2. CHD-Z et CHD-W

### 2.1 PCR

Deux amorces, P2 et P8, sont utilisées afin d'amplifier le fragment du gène CHD à la fois pour le chromosome W et le chromosome Z. Les deux amorces, DIA194 (P2) et DIA195 (P8), ont été prises dans un rapport précédent (Griffiths et coll., 1998). Leurs séquences respectives sont 5'-TCTGCATCGCTAAATCCTTT-3' pour l'amorce anti-sens (P2) et 5'-CTCCCAAGGATGAGRAAYTG-3' pour l'amorce sens (P8) où le **R** peut être soit un A ou un G et le **Y**, un T ou un C. L'amplification par PCR est exécutée dans un volume de réaction de 100µl. Chaque solution contient 10µl de tampon 10X, 1µl d'enzyme (HotStartaq Plus DNA Polymerase, Qiagen GmbH, Hilden, RFA), 1µl de dNTPs (25 mM), 1 µl de chacune des deux amorces (20mM), environ 100ng d'ADN génomique et le reste de la solution est comblée en eau. Par la suite, la solution de réaction est mise dans un thermocycleur (Applied biosystem - GeneAmp® PCR System 9700, Singapour, Asie) selon les conditions suivantes : 95°C durant cinq minutes, 45 cycles à 48°C pour une minute, 72°C pour 45 secondes, 95°C pour 30 secondes et finalement, à 72°C pour 7 minutes. Il est à noter qu'une amorce anti-sens différente a été utilisée pour le CHD-W du perroquet Meyer (*Poicephalus meyeri*) femelle soit DIA275 ; 5'-GC TAAATCCTTTAATCTTTTCG-3'. En effet, le perroquet Meyer détient trop de différence au sein de sa séquence ce qui ne permettait pas son amplification avec les amorces standards.

Deux autres amorces ont été désignées afin de faire l'amplification d'un segment du gène CHD plus long. Ces séquences d'amorces sont 5'-GTTACTGATT CGTCTACGAGA-3' pour l'amorce sens 2550F (DIA365) et 5'-ATTGAAATG ATCCAGTGCTTG-3' pour l'amorce anti-sens 2718R (DIA366) permettant l'amplification d'un fragment d'environ 650 pb compris entre les exons 17 et 18 (Fridolfsson et Ellegren, 1999). L'amplification par PCR est exécutée dans un

volume de réaction de 100µl tel que décrit précédemment pour les amorces P2 et P8. Par la suite, la solution de réaction est mise dans un thermocycleur (Applied biosystem - GeneAmp® PCR System 9700, Singapour, Asie) selon les conditions suivantes : 95°C durant cinq minutes, 45 cycles à 48°C pour une minute, 72°C pour 3 minutes, 95°C pour 30 secondes et finalement, à 72°C pour 7 minutes.

Subséquentement, 20µl de la solution de réaction, amplifiée par PCR, avec 5µl de coloration « *upper* », 25 % de bleu de bromophenol et 30 % de glycérol dans de l'eau sont déposés sur un gel d'agarose 1 % et le tout migre grâce à un appareil à électrophorèse (Thermo Scientific Owl EasyCast™ Minigel System B2). Le gel est ensuite visionné grâce à un appareil à rayonnement UV (FOTODYNE incorporated ; Foto/convertible, Maryland, É.-U.) afin de confirmer la présence du segment d'environ soit 350 pb ou d'environ 650 pb voulu selon les amorces utilisées.

Le produit de PCR est ensuite purifié grâce à un kit de purification QIAGEN (QIAamp DNA Mini Kit, Cat.No.51304, Qiagen Sciences, Maryland, É.-U.). Puis, 80µl de produit de PCR sont mélangés à 400µl de tampon PB dans un tube eppendorf de 1,5ml. Le mélange est ensuite déposé sur une colonne d'isolation et centrifugé une minute à 14 000 RPM (20 817 RCF). Une fois le liquide retiré du tube collecteur, 750µl de tampon PE sont mis sur la colonne et centrifugés une minute à nouveau. Une autre centrifugation est ensuite effectuée à la suite du retrait du liquide du tube collecteur afin d'assécher la colonne d'isolation de l'ADN. La colonne est ensuite déposée dans un nouveau tube eppendorf de 1,5 ml pour pouvoir y éluer l'ADN avec 50µl de tampon EB. Après 10 minutes d'attente minimum, le tout est centrifugé à 8000 RPM (6797 RCF) une minute.

Une réaction de séquençage est faite à partir de 25 à 40ng d'ADN avec la trousse « Big Dye Termination V.3.1 Cycle Sequencing Kit » (Applied Biosystems Foster City, California, É.-U.) selon le protocole de la compagnie. La solution est ensuite mise sur un appareil de séquençage (3500 Genetic Analyzer ; Applied Biosystems/Hitachi, Foster City, California, É.-U.) et la séquence du fragment du



gène en question est visible grâce aux différentes fluorescences des acides nucléiques. Les mêmes amorces P2 et P8 sont utilisées pour le séquençage. Lorsqu'il s'agit d'un mâle, la séquence du fragment CHD-Z voulu est bien visible. De ce fait, une comparaison de la séquence obtenue avec l'amorce sens et celle obtenue avec l'anti-sens est faite afin d'avoir une séquence consensus. Par contre, lorsqu'il s'agit d'une femelle, les deux séquences CHD-Z et CHD-W se chevauchent. Afin de pouvoir séparer ces deux séquences, un sous-clonage (ligation à un plasmide suivi par une transformation bactérienne) est effectué.

## 2.2. Sous-clonage (ligation et transformation)

L'ADN du fragment du gène CHD obtenu par PCR doit être inséré à l'intérieur d'un plasmide p-Drive (QIAGEN PCR cloning Kit, Cat. No. 231124, Qiagen GnbH, Hilden, RFA) ce qui permet une séparation des séquences CHD-Z et CHD-W. Pour ce faire, 1µl de plasmide p-Drive, 4µl du produit de PCR obtenu ainsi que 5µl d'un enzyme (ligation master mix 2x) sont mélangés ensemble et le tout est incubé à 16°C durant toute une nuit.

Ensuite, il faut effectuer une transformation afin de pouvoir inclure le plasmide avec l'insertion à l'intérieur d'une population de bactéries XL-1-Blue (E.coli K12) à 10<sup>8</sup> cellules/ml (Stratagen). Tout d'abord, la population de bactéries est dégelée et environ 96µl sont mis avec le produit de la ligation dans un tube eppendorf de 1,5ml. Après avoir passé 30 minutes dans la glace, la solution de bactéries et de plasmides subit un choc thermique à 42°C pendant 90 secondes puis elle est retournée sur glace pendant deux minutes. Ces manipulations permettent de faciliter l'entrée des plasmides dans les cellules bactériennes. Afin de permettre aux bactéries de se multiplier, 800µl de milieu de culture LB («Lysogeny Broth» aussi dit «Luria-Broth») sont ajoutés à la solution et cette dernière est incubée avec agitation à 37°C pendant une heure. LB est composé de 10g de Bacto-tryptone (Becton, Dickinson and Company, Cat. No. 211 705, Spark É.-U.), 5g de Bacto-

yeast extract (Becton, Dickinson and Company, Cat. No. 0127-17, Spark É.-U.) et 10g de NaCl dans un litre d'eau (Laboratoire MAT inc.).

Par la suite, la solution est centrifugée et seulement environ 150µl de LB, avec le culot contenant les bactéries, sont utilisés pour ensemercer un pétri. Ce dernier est composé de 2,5ml de LB Agar (LB + 15g/L de Bacto-agar (Becton, Dickinson and Company, Cat. No. 214 010, Spark É.-U.)) et d'un antibiotique, la kanamycine à 50µg/ml (Gibco Life Technologies). La présence du plasmide p-Drive permet la résistance à la kanamycine. De ce fait, seules les bactéries détenant un plasmide survivent sur ce milieu de culture. De plus, au moment de l'ensemencement, 40µl de galactoside X-Gal à 20mg/ml (Bio 101 system, lot# 4063-102-R20578) sont ajoutés afin de permettre la discrimination entre les plasmides détenant une insertion et ceux qui n'en ont pas. L'insertion est incluse à l'intérieur d'une séquence codant pour la β-galactosidase, ce qui empêche sa synthèse. La β-galactosidase permet d'hydrolyser le X-Gal libérant ainsi sa partie indolique qui formera par oxydation un composé bleu. En d'autres termes, les bactéries détenant un plasmide avec une insertion n'auront pas de coloration puisque l'insertion empêche la synthèse du β-galactosidase (colonies blanches). De plus, 4µl d'IPTG à 200mg/ml (Stratagen, lot #LC12) sont ajoutés afin d'induire la production de la protéine au moment désiré (active la transcription). Il est à noter que le pétri est ensemercé devant une flamme afin d'éviter toute forme de contamination. De la même manière, les cellules sont étendues à l'aide d'un patin d'ensemencement passé dans l'éthanol 100 % puis dans la flamme.

Suite à cette opération, le pétri ensemercé est incubé toute la nuit à 37°C. Le lendemain, cinq colonies de bactéries blanches (non colorées) sont piquées à l'aide d'un petit bâton de bois stérile. Chacune d'entre elles est mise dans une solution de LB et de kanamycine (3ml LB + 15µl de kanamycine à 50µg/ml) et remise dans l'incubateur (37°C) toute la nuit avec agitation.

## 2.3 Extraction des plasmides

Pour permettre l'extraction des plasmides des bactéries, il faut utiliser un kit mini-prep de QIAGEN (QIAprep spin Miniprep, Cat.No. 27106, Qiagen Sciences, Hilden, RFA) suivant les instructions de la compagnie. Suite à l'incubation, la solution obtenue précédemment est centrifugée (20 secondes à 10 000 RPM (10 621 RCF)) et seulement le culot contenant les bactéries est conservé. Le culot est ensuite remis en solution avec le tampon P1. Puis, l'ajout de 250µl de tampon P2 et de 350µl de tampon N3 permet le bris de la membrane cellulaire des bactéries libérant ainsi le plasmide. La solution est ensuite mise à centrifuger 10 minutes à 13 000 RPM (17 949 RCF) afin que les plasmides restent en solution et les membranes cellulaires se retrouvent dans le culot. Le surnageant est par la suite déposé sur une colonne QIAprep allant sur une source aspirante « *vacuum source* » de QIAGEN (QIAvac 24 Plus vacuum manifold). Afin de laver la colonne, 750µl de tampon PE sont ajoutés et le vide est fait de nouveau pour assécher la colonne. La colonne est ensuite déposée dans un tube à microcentrifugation pour centrifuger une minute à 8000 RPM (6797 RCF). Afin d'éluer l'ADN, 50µl de tampon EB sont ajoutés à la mini-colonne et cette dernière est centrifugée à 8000 RPM (6797 RCF) une minute après 10 minutes d'attente minimum.

Puis, chaque échantillon est séquencé avec l'amorce P8 afin de trouver la séquence du fragment du gène CHD-W (le Z ayant été trouvé grâce au mâle de la même espèce). Si la séquence CHD-W ne sort pas avec les premières 5 colonies bactériennes, 5 autres colonies sont piquées et leur plasmide est séquencé tel que décrit ci-haut. La séquence de CHD-W isolée est séquencée avec l'amorce anti-sens (P2). Une comparaison de la séquence obtenue avec l'amorce sens et celle obtenue avec l'anti-sens est faite afin d'avoir une séquence consensus de CHD-W.

## 2.4 Bio-informatique

Les séquences sont analysées et corrigées au besoin grâce à des programmes de bio-informatique. Le programme « 4Peaks » est utilisé afin de visionner les séquences d'ADN amplifiées par PCR. Ces séquences sont ensuite éditées dans un fichier qui permet l'analyse de la séquence d'ADN. Ceci permet de vérifier la véracité selon les pics de base azotés. Certaines erreurs peuvent être commises par le système d'analyse compris dans le programme notamment lorsqu'il y a des bulles d'air dans le système ou lorsque deux bases azotées se superposent. L'œil humain permet de mieux déceler ces erreurs et nous permet de les corriger au besoin. Pour faire cette correction, le programme « Serial Cloner » est utilisé. Ce logiciel de biologie moléculaire permet de mettre les séquences d'ADN sous forme « FASTA » ce qui permet de lire, de créer et de modifier ces séquences au besoin. Les nouvelles séquences consensus de CHD-Z et CHD-W, isolées et corrigées, sont par la suite déposées dans une banque de données génétiques « GenBank ».

Chaque séquence CHD-Z et chaque séquence CHD-W ont été comparées entre elles. L'homologie des séquences a été effectuée avec le programme « Serial Cloner » pour tous les CHD-Z et tous les CHD-W de chaque espèce. À l'aide du même programme, le CHD-Z et CHD-W de la même espèce a également été comparé afin d'identifier le pourcentage d'homologie des séquences. Les moyennes d'homologies et de longueurs des séquences ont été calculées selon la formule suivante : somme des valeurs des pourcentages d'homologie et des longueurs des séquences divisés par le nombre de valeurs. Chacune des moyennes et chacun des écarts-types ont été calculés à partir du logiciel Excel. Un modèle linéaire à deux facteurs a été utilisé afin de comparer les différentes longueurs de fragments amplifiés. Pour ce faire, la moyenne de longueur des fragments CHD-Z et CHD-W entre les différents ordres soit les Accipitriformes, les Falconiformes, les Psittaciformes et les Strigiformes a été utilisée. Ce même modèle a également permis de comparer la longueur moyenne des fragments CHD-Z et W au sein d'un même ordre. Les variances inégales ont été prises en compte entre les ordres et des

contrastes ont permis de tester les différentes hypothèses en ajustant le seuil alpha de chaque comparaison à la baisse avec la méthode séquentielle de Benjamini-Hochberg. De la même manière, pour l'homologie des fragments, un modèle linéaire à deux facteurs a également été utilisé, soit l'ordre (4) et le type de fragment (Z, W et Z/W). Les variances inégales entre les ordres ont été prises en compte. Des contrastes a priori ont été faits afin de tester les différentes hypothèses en ajustant le seuil alpha de chaque comparaison à la baisse avec la méthode séquentielle de Benjamini-Hochberg.

### 3. COX-1

#### 3.1 PCR

À partir de l'ADN génomique extrait de chaque espèce, une amplification par PCR est exécutée pour identifier précisément de l'espèce. La plupart des études précédentes utilisent des amorces qui amplifient un fragment de COX-1 de seulement 694 pb (Ivanova et coll., 2007). Au cours de cette étude, de nouvelles amorces ont été créées afin d'obtenir une séquence plus longue soit de 944 paires de bases (Amer et coll., 2013). Ce sont les amorces aCOI-1L (DIA406) et aCOI-H (DIA407) qui sont utilisées pour l'amplification de cette nouvelle séquence plus longue. Leurs séquences respectives sont 5'-AACCACAAAGAYATYGGCA-3' pour l'amorce sens et 5'-GGNGGGTCTCATTTRAT-3' pour l'amorce anti-sens. Les **Y** représentent les bases azotées C ou T, le **N** représente soit A, C, G ou T, et finalement le **R** indique les bases azotées A et G. L'amplification par PCR est exécutée dans un volume de réaction de 100µl. Chaque solution contient 1µl d'enzyme (HotStartaq Plus DNA Polymerase, Qiagen GmbH, Hilden, RFA), 1µl de dNTPs (25mM chaque), 10µl de tampon 10X (fourni par la compagnie Qiagen dans la trousse HotStartTaq Plus, Maryland, É.-U.), 1 µl de chacune des deux amorces (20mM), environ 100ng d'ADN génomique et le reste de la solution est comblé par l'eau. Par la suite, la solution de réaction est mise dans un thermocycleur (Applied Biosystem - GeneAmp® PCR System 9700, Singapour, Asie) selon les conditions suivantes : 95°C durant cinq minutes, 5 cycles à 95°C pour une minute, 45°C pour une minute, 72°C pour 30 secondes, suivi par 35 cycles à 95°C pour une minute, 51°C pour une minute, 72°C pour une minute et finalement, 1 cycle à 72°C pour 5 minutes. Quelques séquences ont tout de même dû être séquencées pour seulement 694 pb. Les amorces BirdF1 (DIA143) et BirdR1 (DIA144) sont utilisées pour l'amplification de ces séquences (Hébert et coll., 2004). Les amorces sont 5'-TTCTCCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'

pour l'amorce sens (BirdF1) et 5'-ACGTGGGAGATAATTCCAAATCCTGG-3' pour l'amorce anti-sens (BirdR1). L'amplification par PCR est exécutée dans un volume de réaction de 100µl et la solution de réaction est mise dans un thermocycleur tel que décrit précédemment.

Ensuite, comme pour le gène CHD, 20µl de la solution de réaction avec 5µl de coloration « *upper* » (25 % de bleu de bromophénol et 30 % de glycérol dans de l'eau) sont déposés sur un gel d'agarose 1 % et le tout migre grâce à un appareil à électrophorèse (Thermo Scientific Owl EasyCast™ Minigel System B2) afin de confirmer la présence du segment de 944 pb ou de 694 pb voulu grâce à un appareil UV. Le produit de PCR est ensuite purifié grâce à un kit de purification QIAGEN (QIAamp DNA Mini Kit, Cat.No.51304, Qiagen Sciences, Maryland, É.-U.), selon le protocole du manufacturier décrit précédemment.

Une réaction de séquençage est effectuée de la même manière que ce qui a été décrit précédemment à la section 2.1. La réaction de séquençage est mise sur un appareil de séquençage avec l'amorce DIA406 pour le fragment de 944 pb et avec l'amorce DIA143 pour le fragment de 694 pb. La séquence est ensuite comparée à celles déjà disponibles sur NCBI. Lorsque la séquence de 944 pb ne s'y trouve pas, un séquençage est effectué avec l'amorce anti-sens DIA407, ainsi que les amorces sens DIA478 (5'-TGATTCTTCGGMCACCCAGAAGT-3' ou le **M** représente A ou C) et anti-sens DIA479 (5'-GGAAGTAGTCAGAAGCTTATGTTG-3) pour obtenir correctement le début et la fin des séquences à l'aide du programme « Serial Cloner ». Avec les amorces DIA406 et DIA407, il est difficile d'obtenir la séquence complète par le séquenceur puisque 944 paires de bases est à la limite de ce qu'il peut lire. Une comparaison des séquences alors obtenues avec les amorces sens et anti-sens, DIA478 et DIA479, est faite afin d'avoir une séquence consensus pouvant être éventuellement déposé dans la banque de gènes internet (NCBI : GenBank, Nucleotide). En ce qui concerne les séquences amplifiées pour 694 pb, c'est l'amorce sens DIA143 et l'amorce anti-sens DIA144 qui sont utilisés pour le séquençage et l'élaboration des séquences consensus.

## 4. Phylogénie

### 4.1 Les gènes du projet

Trois gènes qui agissent de façon différente au sein du génome d'un individu sont étudiés dans ce projet. L'ADN génomique qui code pour le gène CHD-Z, chez le mâle, est diploïde. Le fait d'être diploïde augmente la stabilité génétique. La partie utilisée pour le sexage inclut une partie minoritaire codante (exons 23 et 24) et une partie plus grande (entre 57 et 60 %) qui est non codante (intron 23-24). La partie codante est moins sensible aux mutations en lien avec le code génétique. Par contre, la partie non codante est davantage sujette aux mutations. L'ADN génomique qui code pour le gène CHD-W chez les femelles est pour sa part monoploïde, c'est-à-dire présent en un seul exemplaire. Ceci augmente le risque que les mutations soient préservées. Tout comme le CHD-Z, la partie utilisée pour le sexage est majoritairement non codant (entre 57 et 60 %) ce qui implique que les séquences sont moins bien conservées et que le risque de mutations soit alors plus grand. L'ADN mitochondrial du gène COX-1 utilisé pour l'identification d'espèce est monoploïde et il est entièrement codant. Le fait que ces séquences soient monoploïdes augmente le risque que les mutations soient conservées. Par contre, les séquences sont codantes, contrairement aux séquences CHD utilisées, ce qui favorise la conservation des bases azotées.

### 4.2 Bio-informatique

Afin de pouvoir effectuer un rapprochement entre les différentes espèces d'oiseaux, un système de bio-informatique a été utilisé pour cette étude. Il s'agit de « Clustal Omega » de EMBL-EBI (Sievers et coll., 2011), une méthode qui permet l'alignement multiple de séquences de façon progressive et globale. Les



séquences obtenues ont été identifiées grâce à un code standard de nomination (soumission en mode « FASTA ») ; un exemple de soumission en mode « FASTA » est le suivant : *>A.chloroptera ?organism= Ara chloroptera, Green Wing Macaw COX-1?* ; suivi de la séquence. La méthode « Clustal Omega » est une méthode d'alignement qui calcule une matrice de similarité à partir de séquences nucléotidiques. La comparaison de plusieurs séquences, paire par paire, est faite selon un algorithme de type « Needleman-Wunsc ». Cet algorithme permet la recherche du meilleur alignement global afin de construire un arbre phylogénique selon la matrice qui en résulte (Tagu et Risley, 2010). Les séquences des gènes d'une espèce qui ont un alignement qui est très proche génétiquement d'une autre espèce laisseraient croire que ces deux espèces proviendraient d'un même descendant. Le site « Clustal Omega » effectue un arbre phylogénétique sous le format « Newick ». Le « New Hampshire Tree Format » aussi appelé « Newick tree format » est une façon de présenter les données phylogéniques dans des parenthèses imbriquées. Les espèces sœurs ainsi que les groupes d'espèces frères sont réunis dans une même parenthèse. Ils sont tous séparés par des virgules (,) et les parenthèses sont terminées par un point-virgule (;). De plus, la longueur des branches qui séparent les divers groupes d'animaux (un groupe = un nœud) peut être spécifiée par deux points (:) qui sont suivis du chiffre désignant la longueur de la branche (Clustal Omega, s.d.).

Afin d'avoir un arbre qui est plus visuel, le site internet « Phylogendron-Phylogenetic tree printer »<sup>1</sup> a été utilisé. Cette application permet de dessiner des arbres phylogénétiques qui peuvent servir en biologie évolutive. Cet arbre schématisé permet de montrer des relations d'homologie génétique entre les gènes des divers groupes d'oiseaux. Chaque point de contact entre deux branches (les nœuds) représente un ancêtre commun entre deux espèces. Afin de pouvoir concevoir un arbre phylogénétique, cette application a besoin de données sous forme « New Hampshire Tree Format », qui est obtenue grâce à « Clustal Omega » décrit ci-haut.

---

<sup>1</sup> Tree phylogendron : <http://iubio.bio.indiana.edu/treeapp/treeprint-form.html>

### 4.3 Individus utilisés

Les espèces utilisées lors de ce projet sont celles qui sont communément rencontrées en clinique vétérinaire au Québec ou ce sont des espèces qui sont indigènes au Québec susceptibles d'être vues par des vétérinaires de la faune.

L'ordre des Accipitriformes est représenté dans ce projet par 16 espèces. Treize de ces espèces font partie de la famille des Accipitridés, dont 3 des 15 espèces existantes du genre *Accipiter* (*A. cooperii* ; *A. striatus* ; *A. gentilis*), 6 des 29 espèces du genre *Buteo* (*B. jamaicensis* ; *B. lineatus* ; *B. platypterus* ; *B. lagopus* ; *B. regalis* ; *B. swainsoni*), une seule représentante du genre *Haliaeetus* (*H. leucocephalus*) sur les 10 espèces existantes, une seule espèce du genre *Circus* (*C. cyaneus*) sur les 16 espèces totales, une du genre *Parabuteo* (*P. unicinctus*) sur les 2 espèces existantes et une du genre *Aquila* (*A. chrysaetos*) sur les 11 espèces en tout du même genre. Deux espèces des Accipitriformes font partie de la famille des Cathartidés, dont une sur les trois espèces du genre *Cathartes* (*C. aura*) et la seule représentante du genre *Coragyps* (*C. atratus*). Finalement, une seule espèce de la famille des Pandionidés du genre *Pandion* (*P. haliaetus*) fait partie de cette étude.

L'ordre des Strigiformes est, quant à elle, représenté dans ce projet par 11 espèces divisées en deux familles. La première famille, les Tytonidés, est présentée par une seule espèce du genre *Tyto* (*T. alba*) sur les 15 espèces de ce genre. La deuxième famille, les Strigidés, comprend 10 espèces dans cette étude, dont 2 sur 6 espèces totales du genre *Asio* (*A. otus* ; *A. flammeus*), 3 sur 19 espèces du genre *Bubo* (*B. scandiacus* ; *B. virginianus* ; *B. bubo*), 2 sur 21 espèces du genre *Strix* (*S. varia* ; *S. nebulosa*), une des 6 espèces du genre *Aegolius* (*A. acadicus*), une des 25 espèces du genre *Megascops* (*M. asio*) et finalement la seule espèce du genre *Surnia* (*S. ulula*).

Les Falconiformes sont représentés par une seule famille dans ce projet, les Falconidés qui sont représentés par 6 espèces sur les 40 du genre *Falco* (*F.*

*peregrinus* ; *F. rusticolus* : *F. sparverius* ; *F. biarmicus* ; *F. cherrug* ; *F. colombarius*).

L'ordre des Psittaciformes a contribué au développement de cette thèse grâce à 27 espèces faisant partie de deux familles. Parmi celles-ci, on retrouve dans la famille des Psittacidés 2 espèces des 9 existantes du genre *Agapornis* (*A. fischeri* ; *A. roseicollis*), 4 sur 33 espèces du genre *Amazona* (*A. aestiva* ; *A. amazonica* ; *A. ochrocephala* ; *A. viridigenalis*), 2 sur 17 espèces du genre *Ara* (*A. chloropterus* ; *A. macao*) et 2 sur 6 espèces du genre *Aratinga* (*A. acuticaudata* ; *A. jandaya*). De plus, une des 8 espèces existantes du genre *Cyanoramphus* (*C. novaezelandiae*), une des deux *Myopsitta* (*M. monachus*), une des deux *Pionites* (*P. melanocephalus*), deux des 8 *Pionus* (*P. maximiliani* ; *P. menstruus*), deux des 10 *Poicephalus* (*P. meyeri* ; *P. senegalus*), une des trois *Polytelis* (*P. anthopeplus*) et une des trois *Primolius* (*P. maracana*) ont également été incluses dans cette étude. Pour la famille des Psittacidés toujours, il y avait également un représentant des 11 espèces du genre *Psittacara* (*P. leucophthalma*), une des deux *Psittacus* (*P. erithacus*), deux des 24 *Pyrrhura* (*P. frontalis* ; *P. molinae*), une des 4 *Tanygnathus* (*T. megalorynchos*) et une des 13 espèces du genre *Trichoglossus* (*T. haematodus*). Pour conclure, la famille des Cacatuidés comptait deux espèces des 11 du genre *Cacatua* (*C. goffiniana* ; *C. moluccensis*).

Finalement, les espèces, *Gallus gallus* (Galliformes) et *Corvus brachyrhynchos* (Passériformes), ont également été utilisées comme seul représentant de leur ordre respectif.

## Chapitre 3- Résultats

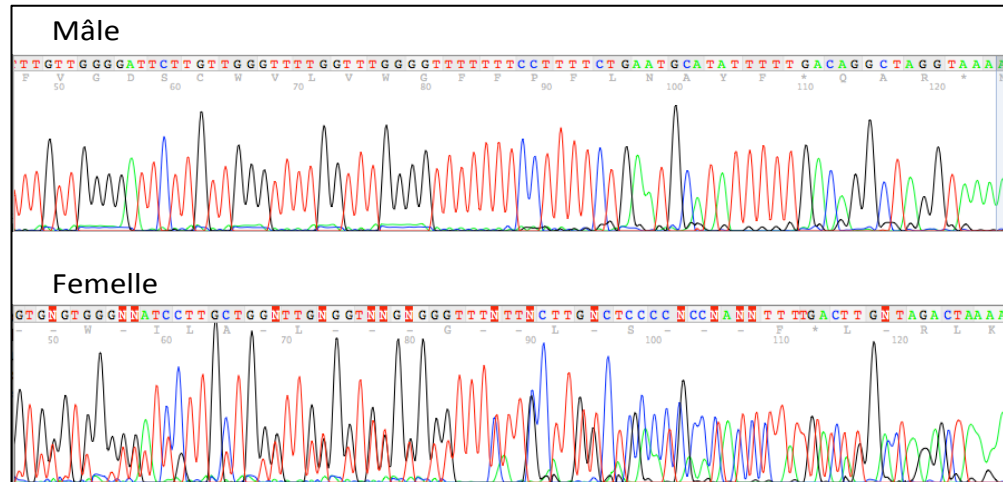
---

### 1. Sexage par séquençage

#### 1.1 Les séquences

Le sexage par séquençage présentera une séquence simple chez le mâle tandis qu'il y aura superposition des bases azotées chez les individus femelles. Le mâle détient deux chromosomes Z ce qui fait en sorte que lors du séquençage, le fragment du gène CHD amplifié est le même pour les deux chromosomes. Donc, la superposition de ces deux fragments identiques permet l'observation d'une séquence qui apparaît simple (homozygote). La femelle détient un chromosome Z et un W sur lesquels les gènes CHD n'ont pas les mêmes séquences d'ADN. De ce fait, il y aura au séquençage une superposition de deux séquences différentes visibles, à la manière d'une hétérozygotie, représentant le CHD-Z et le CHD-W.

La figure 5 représente un exemple de séquençage du fragment CHD amplifié avec les amorces P2 et P8 (Griffiths et coll., 1998). Dans cette figure, il y a un segment du fragment du gène CHD amplifié pour le Harfang des neiges (*Bubo scandiacus*) pour le mâle et la femelle. Il est possible d'y voir une simple séquence pour le mâle et deux séquences superposées pour la femelle. Cette observation de séquençage a été effectuée chez toutes les espèces de perroquets et d'oiseaux de proie qui étaient incluses dans ce projet.



**Figure 5. Séquençage partiel d'un fragment CHD pour *Bubo scandiacus*.** Résultats obtenus suite au séquençage du fragment du gène CHD amplifié par les amorces P2 et P8, pour *Bubo scandiacus*. Mâle → séquence simple (2 chromosomes Z (homozygote)) et femelle → séquence double (un chromosome Z et un W avec des séquences différentes).

Pour ce qui est des oiseaux de proie, 33 espèces ont été séquençées pour le fragment du gène CHD pour un total de 54 oiseaux. Trente de ces oiseaux étaient des mâles et 24 des femelles. De la même manière, 27 espèces de perroquets ont été utilisées pour le séquençage du gène CHD avec 36 oiseaux en tout. Treize d'entre eux étaient des femelles et les 23 autres des mâles. Certains oiseaux utilisés ont été nécropsiés, ce qui permet de confirmer le sexe par visualisation des organes reproducteurs. Vingt-sept oiseaux de proie (11 femelles et 16 mâles) et les 2 corneilles (mâle et femelle) ont été sexés à la nécropsie. Parmi tous les oiseaux utilisés pour ce projet, 39 étaient des femelles. Trente-sept de ces femelles présentaient un chevauchement des séquences qui permettait un sexage par séquençage sans difficulté. Par contre, 3 femelles ont présenté une séquence simple, le Conure de vieillot (*Pyrrhura frontalis*), la Buse à queue rousse (*Buteo jamaicensis*) et le Pygargue à tête blanche (*Haliaeetus leucocephalus*). Le Conure de vieillot (*Pyrrhura frontalis*) présentait seulement la séquence CHD-Z. Cet oiseau a pu être sexé correctement grâce à l'utilisation du sous-clonage qui a permis d'isoler la séquence CHD-W. Pour la Buse à queue rousse (*Buteo jamaicensis*), seulement la séquence CHD-W était visible au séquençage. Le sexe a été confirmé en comparant avec les séquences disponibles dans les banques de

données « GenBank », puisque l'homologie était plus près des séquences W. Le Pygargue à tête blanche (*Haliaeetus leucocephalus*) a eu des séquences qui se chevauchaient lors d'un premier sexage. Par contre, lors du deuxième, alors qu'un sexage de routine était effectué, seule la séquence CHD-W a été mise en évidence.

Les séquences ci-dessous ont permis le sexage des oiseaux utilisés au cours du projet. Les exons 23 et 24 y sont soulignés. Les introns représentent environ 57 % à 60 % des séquences CHD amplifiées. On y retrouve les séquences reconnues par l'enzyme de restriction HAEIII (GGCC) (Han et coll., 2009b ; Miyaki et coll., 1998) surlignées en vert et celles reconnues par l'enzyme DDEI (CTNAG) surlignées en mauve pour chacune des séquences (Miyaki et coll., 1998). Ces deux enzymes font partie de celles qui sont utilisées pour le sexage par polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP ; section 2.2.2).

**GALLIFORMES**

**>G.GALLUS : ORGANISM=GALLUS GALLUS, DOMESTIC CHICKEN CHD-Z**

TGCAAAACAGGTACCTCTGGGTTTTGACTGTCTTGGCTCTTTATGTTGATATTTTCATTTGAGTTTTTGCCTTTTTTCCCCCT  
TCTCTGAATTCATATTTTTGTCAGGCTAGATAAGACTTTACTATGTTTGAGATAATCATGTGGTTTTGAATTCATGCTGAA  
ATTCCAGATCAGCTTAAATGGGAGTGAAGGAAGACGCAGTAGGAGCAGAAGATATCTGGATCTGATAGTGACTCCATCACAG  
AAAGAAAACGGCCAAAAAAGCGTGGAAAGCCTCGAACCATTCCTCGAGAAAATATT

**>G.GALLUS : ORGANISM=GALLUS GALLUS, DOMESTIC CHICKEN CHD-W**

AAGAAACTGGGAAGAAATCATTCCAGAAGTTCAGTGGCGACGAATAGAAGAGGAGAAAGACAAAAAGAAGTTCAGAAATAT  
ATATGCTTCCAAGAATGAGAAACTGTGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTCTGACTGATTTTTTTCTTTGATACTTCTATTGCTG  
ATGTTTTGACTTGTACTTTTGTGTGTGTGGTTTTTCTGGTGTGTTTTTCCCAAAATTTTTTATGGACTAGGTAACACATAAA  
TAAAAATGTTTTAGTCATGTAGCTTTGAAC TAGTTACTCTGAAATTCAGATCAGCTTAAATGGAATGAAGGGAGATGCAGTA  
GGAGCAGAAGATATCTGGATCTGATAGTGATTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTGGACGACCACGAACATT  
CCCCGTGAAAAACATT

**PASSERIFORMES**

**>C.BRACHYRHYNCHOS : ORGANISM= CORVUS BRACHYRHYNCHOS, AMERICAN CROW CHD-Z**

TGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCTGACTGAATTGTAGATCTGTGTTGCTTTTGTGTAGTTTGTGCTTTTTGGGGTTTGGGG  
TTTTTTTACTTCCTTTCTGAACACATTTTTTTGACAGGGCAGATAAAACTTGCCTGTATTTGTTACTGATACAGCTTGCTTA  
CTCTGGAATTCAGATCAGCTTCAATGGCAGCGAAGGGAGGGCGCAGTAGAAGCAGAAGGTACTCTGGATCTGACAGTGACTCC  
ATCTCAGAGAGAAAAAGCCAAAAAACGTGGAAGACCACGAACATTCTCGAGAAAATATT

**>C.BRACHYRHYNCHOS : ORGANISM= CORVUS BRACHYRHYNCHOS, AMERICAN CROW CHD-W**

TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGATTGACTGATTTTTTTTTGTTGTTATTTTGGGGGTTTTTTGCTGTTGTTTTGGC  
TTGTACTTTTTGGTTTGGGTGGTTTTTCATGTGTGGCACCCACACACACACCCCTCTCATTTTTTGACAGGCTAGATAACATAT  
TATTTAAATGTTTTAGTCATGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATTCAGATCAGCTTAAATGGAAGCGAAGGAAACGCA  
GTAGGAGGAGAAGATATCTGGATCTGATAGTGACTCAGCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTGGAAGACCGCGAACT  
ATTCTCGAGAAGATATT

**ACCIPITRIFORMES**

**>A.CHRYSAETOS : ORGANISM=AQUILA CHRYSAETOS, GOLDON EAGLE CHD-Z**

TGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCTGACTGACTTGTACTTTTATATTGCTATTGTTTGTAGTTTTCTTTGTTGGGGTTATTGTT  
GGTTTTTGGTTTTTAAAGTTGTGTTTTGTTTTTTTTTTCTTTTCTGAACACATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAGCTTTATTT  
ATGGTTGTTAATCGGTAGCTTTGAACTACCTATTTCTGAAATTCAGATCAGCTTAAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGG  
AGCAGAAGATACTCTGGATCCGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCTAAAAAACGTGGAAGACCACGAACATTTC  
TCGAGAAAATATT

**>A.CHRYSAETOS : ORGANISM=AQUILA CHRYSAETOS, GOLDON EAGLE CHD-W**  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTGTTGTTGTTGTTGTTTTTTCATGCTGTTGTTTTG  
TCTTTGACTTTTTGGGTTGGGTTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCGTTCCCCCATTTTTGACAGGCTAGATAACACATFAA  
TAAAATGTTTTAGTCACGTAGGTTTTGAAC TACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTA  
GGAGCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGACGACCACGAAC TATT  
CCTCGAGAAAATATT

**>A.STRIATUS : ORGANISM=ACCIPITER STRIATUS, SHARP-SHINNED HAWK CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTTCTTCTGGTTTTGACTGACTTGACTTTTTATATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGGGGTTGTT  
GTTGTTGTTTTGGTCTTAAGTTGTTGATTTTTTTTTTTCTCCTTTTCTGAACACATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAAC TTT  
GTTTTATGGTTGTTAATCAGCTAGCTTTGAACTACCTATTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAG  
TAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCAGATAGTGACTCCGTCTCAGAAAGAAAACGGCTAAAAAACGTTGGAAGACCACGAAC TA  
TTCTTCGAGAAAATATT

**>A.COOPERII : ORGANISM=ACCIPITER COOPERII, COOPER'S HAWK CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTTCTCTGGTCTGACTGACTTTGACTTTTTATATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGGGGTTGTTGTT  
TGTTTTTTGGTCTTAAGTTGTTTTTTTTTTCTCCTTTTCTGAACACATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAAC TTTGTTT  
ATGGTTGTTAATCAGCTAGCTTTGAACTACCTATTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGG  
AGCAGAAGATACTCTGGATCAGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCTAAAAAACGTTGGAAGACCACGAAC TATTTC  
TCGAGAAAATATT

**>A.COOPERII : ORGANISM=ACCIPITER COOPERII, COOPER'S HAWK, CHD-W**  
TGCAAAACAGGTGTTCTCTGGTCTGACTGACTTTGACTTTTTATATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGGGGTTGTTGTT  
GTACTTTTTGGGTTGGGTTGGTTTTTCACATGTTGGCACACCCCCCAATTTCCCATTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
ATGTTTTAGTCACATAGCTTTAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGAG  
CAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGACGACCACGAAC TATTCTC  
GAGAAAATATT

**>A.GENTILIS : ORGANISM=ACCIPITER GENTILIS, NORTHERN GOSHAWK CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTTCTTTGGTCTGACTTGACTTTTACATTTGCTGTTGACTTTGTTGTTGGGGATTCTTGTGGGTT  
TTTTGTTTTGGGTTTTTTTTCTTTTCTGAATGCATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAAC TTTCACTTACATTTGTTGATCACA  
GCTTTGAACTACTTACTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGA  
TCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCTAAAAAACGTTGGAAGACCACGAAC TATTCTTCGAGAAAATATT

**>H.LEUCOCEPHALUS : ORGANISM=HALIAEETUS LEUCOCEPHALUS, BALD EAGLE CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGCTCTTTGGTCTGACTGACTTTGACTTTCTATATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGAGGTTGTTGTT  
GTTGGGTTTTGGTTTTTAAGTTGGGGGTTTTTTTTCTTTTCTGAACACATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAAC TTTATTTATG  
GTTGTTAATCATTTAGCTTTGAACTACCTATTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGGAGC  
AGAAGATACTCTGGATCAGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCTAAAAAACGTTGGAAGACCACGAAC TATTCTC  
GAGAAAATATT

**>H.LEUCOCEPHALUS : ORGANISM=HALIAEETUS LEUCOCEPHALUS, BALD EAGLE CHD-W**  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTTTGTTGTTGTTGTTTTTTTTCATGCTGTTGTTTTGCT  
TGTACTTTTTGGGTTGGGTTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCAATTTCCCATTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
AATGTTTTAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGAGAAACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGACGACCACGAAC TATTCTC  
CGAGAAAATATT

**>P.HALIAEETUS : ORGANISM=PANDION HALIAEETUS, OSPREY CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTTCTCTGGTCTGACTGACTTTGACTTTCTATGTTGCTATTGGTTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGTTGGGTT  
TTTTGGGTTGCTTTTTTCTTTTCTGAACACATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAAC TTTACTTTATGTTTGTAAATCACA TAGC  
TTTTAAACCTATTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGA  
TAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCTAAAAAACGTTGGAAGACCACGAAC TATTCTTCGAGAAAATATT

**>P.HALIAEETUS : ORGANISM=PANDION HALIAEETUS, OSPREY CHD-W**  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAATTAAC TCTGTTTTTTGTTGGTGGTGATTTTTTTTTTTTTTTTATTACTCTTCT  
TTTTGGCTTTGACTTTTTGGGTTGGGTTGACTTTTCACACATGATACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTTGACAGGCTAGA  
TAACACATTAATAAATGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAG  
GAGACACAGTAGGAGCAGAAGATACTCCGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTTGGACGAC  
CACGAAC TATTCTCTGTAATAATATT

**>P.UNICINCTUS : ORGANISM=PARABUTEO UNICINCTUS, HARRIS HAWK CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTTTTTTGGTTTTGACTGACTTTGACTTTGTTGTTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGGGGTTGTTGTT  
GTTGTTGTTTTGGTTTTTAAGTTGTTTTTTTTTTTTCTTTTGTGAACATGATTTTTTTGACAGGCTAGGTAAAAC TTTATTAT  
GGTTGTTAATCAGCTAGCTTTGAACTACCTATTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGGAG  
CAGAAGATACTCTGGATCAGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCTAAAAAACGTTGGAAGACCACGAAC TATTCTC  
GAGAAAATATT

>P.UNICINCTUS : ORGANISM=PARABUTEO UNICINCTUS, HARRIS HAWK CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTTGTGTGTTGTTGTTTTTCATTGCTGTTGTTTTGTCT  
TGTACTTTTTGGGTTGGGTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCATTCCCCATTTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
AATGTTTTAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCT  
CGAGAAAATATT

>B.LAGOPUS : ORGANISM= BUTEO LAGOPUS, ROUGH-LEGGED HAWK CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCTCTGGTTCGACTGACTTGTACTTCTGTATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGGGGTTGTTGTT  
GTTGGGTTTTGGTTTTAAGTTGTTTTTTTTTTTTTTCCTTTTCTGAACACGTATTTTTGACAGGCTAGGTAAACATTTATTTA  
TGTTGTTAATCAGCTAGCTTTGAACTACCTGTTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGAAGACCACGAACATTTCTCT  
CGAGAAAATATT

>B.LAGOPUS : ORGANISM=BUTEO LAGOPUS, ROUGH-LEGGED HAWK CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTTGTGTGTTGTTGTTTTTCATTGCTGTTGTTTTGTCT  
TGTACTTTTTGGGTTGGGTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCATTCCCCATTTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
AATGTTTTAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGAGACCACGAACATTTCTCT  
GAGAAAATATT

>B.JAMAICENSIS : ORGANISM= BUTEO JAMAICENSIS, RED-TAILED HAWK CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCTTTGGTTTTGACTGACTTGTACTTCTGTATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGGGGTTGTTGTT  
GTTGGGTTTTGGTTTTAAGTTGGTTTTTTTTTTTTTTCCTTTTCTGAACACGTATTTTTTGACAGGCTAGGTAAACATTTATTTA  
GGTTGTTAATCAGCTAGCTTTGAACTACCTGTTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGGAG  
CAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGAAGACCACGAACATTTCTCT  
GAGAAAATATT

>B.JAMAICENSIS : ORGANISM=BUTEO JAMAICENSIS, RED-TAILED HAWK CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTTGTGTGTTGTTGTTTTTCATTGCTGTTGTTTTGTCT  
TGTACTTTTTGGGTTGGGTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCATTCCCCATTTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
AATGTTTTAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCT  
CGAGAAAATATT

>B.PLATYPTERUS : ORGANISM=BUTEO PLATYPTERUS, BROAD WINGED HAWK CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGGTTCTCTGGTCTGCTGTTGTTCTTCTGTATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTATTGGGGGTTGTTGTTGTT  
TGGGTTTTGGTTTTAAGTTGTTTTTTTTTTTTTTCCTTTTCTGAACACGTATTTTTTGACAGGCTAGGTAAACATTTATTTA  
TGGTTAATCAGCTAGCTTTGAACTACTTAACTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGGAGCAG  
AAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGAAGACCACGAACATTTCTCTCGA  
AAAATATT

>B.PLATYPTERUS : ORGANISM=BUTEO PLATYPTERUS, BROAD WINGED HAWK CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTTGTGTGTTGTTGTTTTTCATTGCTGTTGTTTTGTCT  
TGTACTTTTTGGGTTGGGTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCATTCCCCATTTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
AATGTTTTAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCT  
CGAGAAAATATT

>B.REGALIS : ORGANISM= BUTEO REGALIS, FERRUGINOUS HAWK CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCTCTGGTTCGACTGACTTGTACTTCTGTATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGGGGTTGTTGTT  
GTTGGGTTTTGGTTTTAAGTTGTTTTTTTTTTTTTTCCTTTTCTGAACACGTATTTTTGACAGGCTAGGTAAACATTTATTTA  
TGTTGTTAATCAGCTAGCTTTGAACTACCTGTTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGAAGACCACGAACATTTCTCT  
CGAGAAAATATT

>B.REGALIS : ORGANISM= BUTEO REGALIS, FERRUGINOUS HAWK CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTTGTGTGTTGTTGTTTTTCATTGCTGTTGTTTTGTCT  
TGTACTTTTTGGGTTGGGTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCATTCCCCATTTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
AATGTTTTAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCT  
GAGAAAATATT

>B.LINEATUS : ORGANISM= BUTEO LINEATUS, RED-SHOULDERED HAWK CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCTCTGGTTCGACTGACTTGTACTTCTGTATTGCTATTGGTTTAGTTTCTTTGTTGGGGGTTGTTGTT  
GTTGGGTTTTGGTTTTAAGTTGGTTTTTTTTTTTTTTCCTTTTCTGAACACGTATTTTTGACAGGCTAGGTAAACATTTATTTA  
TGTTGTTAATCAGCTAGCTTTGAACTACCTGTTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGGA  
GCAGAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGAAGACCACGAACATTTCTCT  
CGAGAAAATATT



>**B.LINEATUS : ORGANISM= BUTEO LINEATUS, RED-SHOULDERED HAWK CHD-W**  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTGTTGTTGTTGTTTTTTCATTGCTGTTGTTTTGTCT  
TGTACTTTTTGGGTTGGGTTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCATTTCCCCATTTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
AATGTTTTAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGA  
GCAGAAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCT  
CGAGAAAATATT

>**B.SWAINSONI : ORGANISM= BUTEO SWAINSONI, SWAINSON'S HAWK CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTCTCTGGTTCGACTGACTTGTACTTCTGTATTGCTATTGGTTTAGTTTTGTTGGGGTTGTTGTT  
GTTGGGTTTTGGTTTTAAGTTGGTTTTTTTTTCTTTTTCTGAACACGTATTTTTGACAGGCTAGGTAAAACCTTTATTTATG  
GTTGTTAATCATGTAGCTTTGAACTACCTGTTCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAGGAGC  
AGAAGATACTCTGGATCAGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCTCTCG  
AGAAAATATT

>**B.SWAINSONI : ORGANISM= BUTEO SWAINSONI, SWAINSON'S HAWK CHD-W**  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTGATTTTTTTGTTGTTGTTGTTTTTTCATTGCTGTTGTTTTGTCT  
TGTACTTTTTGGGTTGGGTTGGTTTTTCACACGTGGCACACCCCCCATTTCCCCATTTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAA  
AATGTTTTAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGA  
GCAGAAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCT  
CGAGAAAATATT

>**C.CYANEUS : ORGANISM= CIRCUS CYANEUS, NORTHERN HARRIER CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTCTCTGGTTCGACTGACTTGTACTTTTTATATTGCTATTGGTTTAGTTTTCTTTGTTGGGGTTGTTGTT  
TGTGTTTTGGTCTTAAAGTTTTTTGGTTTTTTTTTCTCTTTTTCTGAACACATATTTTTTAAACAGGCTAGGTAAAACCTTTGTT  
TATGGTGGTTAATCAGTAGCTTTGAACTACTTATCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGACGCAGTAG  
GAGCAGAAAGATACTCTGGATCAGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCT  
CTCGAGAAAATATT

>**C.CYANEUS : ORGANISM=CIRCUS CYANEUS, NORTHERN HARRIER CHD-W**  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGAAACACTAACTGATTTTTTTGTTGTTGTTGTTTTTTCATTGCTGTTGTTTTGTCTT  
GTACTTTTTGGGTTGGGTTGGTTTTTCACACGTGGCACACTCCCCATTTCCCCATTTTTGACAGGCTAGATAACACATTAATAAA  
ATGTTTTAGTCACATAGCTTTAAACTACTTAATCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGAG  
CAGAAAGATATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCT  
GAGAAAATATT

>**C.ATRATUS : ORGANISM= CORAGYPS ATRATUS, BLACK VULTURE CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTTTCTTTTGGTTTTGACTGACTTGGACTTTTATGGTGCFTGGTTTAGTTTTGTTGTTGGGGTTGTTGTT  
GGGTTTTGGGTTTGTCTTTTTTTTTTCCCTTTTTCTGAACACATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAACCTTTACTTATGTTTGT  
AATCATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGA  
TACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCTCTCGAGAAA  
TATT

>**C.AURA : ORGANISM=CATHARTES AURA, TURKEY VULTURE CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTTTCTCTGGTTCGACTGACTTGGACTTTTATGTTGCTGTTGGTTTAGTTTTGTTGTTGGGGTTGTTGTT  
GGGTTTTGGGTTTGCAGGTTTTTTTTTCCCTTTTTCTGAACACATATTTTTGACAGGCTCGGTAAAACCTTTACTTATGTTTGT  
AATCATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGA  
TACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCTCTCGAGAAA  
TATT

>**C.AURA : ORGANISM=CATHARTES AURA, TURKEY VULTURE CHD-W**  
TGCAAAACAGGTGTCTTTTTTACTTCTTACTGTTCTTTTTTTTTTTTTTCTGTTTCAGTCTTACTGACTTGTCTTTTTTAT  
TCGCTGTTGATTTGTTGGTGGTTGTTGTTGTCGTCGGGTTGGGTTTTTTTTTCCCTTTTTCTGAATACATATTTTTTCT  
AGAGTAGGCAAAAATTTATTTATGTTTGTAAATCATCTGGCTTTGAGCTGCATATTTTGAATTCAGATCAGCTTTAATGGA  
AGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACG  
TGAAGACCACGAACATTTCTCTCGAGAAAATATT

**STRIGIFORMES**

>**B.BUBO : ORGANISM=BUBO BUBO, EURASIAN EAGLE-OWL CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTCTTTTGGTTCGATTGCAACTTCTACATTGCTGTTGATTTAGTTTTGTTGTTGGGGATTCTTGTGGGTT  
TTTGGTTTGGGTTTTTTTTTCTTTTTCTGAATGCATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAACCTTTACTTACATTTGTTGATCACATA  
GCTTTGAACTACTTACTCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGA  
TCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCTCTCGAGAAAATATT

>**B.SCANDIACUS : ORGANISM=BUBO SCANDIACUS, SNOWY OWL CHD-Z**  
TGCAAAACAGGTGTCTTTTGGTTCGATTGCAACTTCTACATTGCTGTTGATTTAGTTTTGTTGTTGGGGATTCTTGTGGGTT  
TTTTGTTTTGGGTTTTTTTTTCTTTTTCTGAATGCATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAACCTTTACTTACATTTGTTGATCACATA  
GCTTTGAACTACTTACTCTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGA  
TCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCTCTCGAGAAAATATT

>B.SCANDIACUS : ORGANISM=BUBO SCANDIACUS, SCREECH OWL CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTTTGATTATTTTGTGTTGTTGGTTGGTTGGTTTTTCGTTGCTGTTT  
TGGGTTGGGTTGTTTCATGCATGGCACCCACCACCCATTTTTGACAGACTAGATAACACATTAACAAAATTTTTTAGTC  
ACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGAGCAGAAGATATT  
CTGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>B.VIRGINIANUS : ORGANISM=BUBO VIRGINIANUS, GREAT HORNED OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCCTTTGGTTCGTATACGAACCTTACGTTGCTGTTGATTTAGTTTGTGTTGGGGATTCTTGTGGGT  
TTTGGTTTTGGGTTTTTTTCTTTTCTGAATGCATATTTTGGACAGGCTAGGTAAAACCTTACTTACATTTGTTGATCACATA  
GCTTTGAACTATTTACTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGA  
TCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>B.VIRGINIANUS : ORGANISM=BUBO VIRGINIANUS, GREAT HORNED OWL CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTTTGATTATTTTGTGTTGTTGGTTGGTTGGTTTTTCGTTGCTGTTT  
TGGGTTGGGTTGTTTCATGCATGGCACCCACCACCCATTTTTGACAGACTAGATAACACATTAACAAAATTTTTTAGTC  
ACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGAGCAGAAGATATT  
CTGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>S.NEBULOSA : ORGANISM= STRIX NEBULOSA, GREAT GRAY OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCCTTTGGTTCGACTTGACTCTTTTAGTTGCTGATGTTTAGTTTGTGTTGGGATTCTTGTGGGT  
TTTTGGTTTTGGGTTTTTTTCTTTTCTGAATGCATATTTTGGACAGGCTAGGTAAAACCTTACTTATATTTGTTGATCACATA  
AGCTTTGAACTACTTACTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGA  
ATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>S.VARIA : ORGANISM= STRIX VARIA, BARRED OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCCTTTGGTTCGACTTGACTCTTTTAGTTGCTGTTGATTTAGTTTGTGTTGGGGATTCTTGTGGGT  
TTTTGGTTTTGGGTTTTTTTCTTTTCTGAATGCATATTTTGGACAGGCTAGGTAAAACCTTACTTATATTTGTTGATCACATA  
GCTTTGAACTACTTACTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGA  
TCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>S.VARIA : ORGANISM=STRIX VARIA, BARRED OWL CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTTTGATTATTTTGTGTTGTTGGTTGGTTTTTCGTTGCTGTTGTTTT  
GGGTTGGGTTGTTTCATGCATGGCACCCACCACCCCTATTTTTGACAGACTAGATAACACATTAACAAAATTTTTTAGTCA  
CGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAATGCAGTAGGAGCAGAAGATATT  
TGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>T.ALBA : ORGANISM= TYTO ALBA, BARN OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTCTTGGTTCGACTTGAACTTTTATGTTGCTGTTGGTTTATTTTGTGTTGGGGATTTTTTCTGGGTTTTG  
GTTTTAGGTTTTTTTTTCTTTTCTGAACAGATATTTGATAGGATAGGTAAAACCTTACTTACGTTGTTGACCAGTAGCT  
GTGAACTACTTATTTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGCAGGCGCAGTAGGAACAGAAGATACTCTGGATCC  
GATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>T.ALBA : ORGANISM=TYTO ALBA, BARN OWL CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTTTGATTATTTTTTGTGTTGTTGGTTGTTTTTTGTTGCTGTTGTT  
TTTTGGCTTGTTACCTTTGGGTTGGGTTGTTTCACACATGGCACCCACCACCCCTATTTTTGACTGGCTAGATAACACATTA  
TAAAATTTTTTAGTCAGTAGCTTTGAACTACTTATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAATA  
GGAGTAGAAGATATTTCTGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTT  
CCTCGAGAAAATATT

>A.OTUS : ORGANISM= ASIO OTUS, LONG-EARED OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCCTTTGGTTCGACTTGACTTTTACATTGCTGTTGACTTTGTTGTTGGGGATTCTTGTGGGT  
TTTTGGTTTTGGGTTTTTTTCTTTTCTGAATGCATATTTTGGACAGGCTAGGTAAAACCTTACTTACATTTGTTGATCACATA  
GCTTTGAACTACTTACTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGA  
TCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>A.OTUS : ORGANISM= ASIO OTUS, LONG-EARED OWL CHD-W  
TGTAACACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTTTGATTGTTTTGTTGTTGTTGCTTGGTTGGTTTTTTGTTGCTGTTG  
TTTTGGGTTGGGTTGTTTCATGCATGGCACCCACCACCCCTATTTTTGACAGACTAGATAACACATTAACAAAATTTTTTA  
GTCACGTAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGAGCAGAAGAT  
ATTCTGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTTGGACGACCACGAACATTTCTCGAGAAAAT  
ATT

>A.FLAMMEUS : ORGANISM=ASIO FLAMMEUS, SHORT EARED OWL CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCCTTTGGTTCGACTTGACTTTTACATTGCTGTTGATTTAGTTTGTGTTGGGGATTCTTGTGGGTT  
TTGGTTTTGGGTTTTTTTCTTTTCTGAATGCATATTTTGGACAGGCTAGGTAAAACCTTACTTACATTTGTTGATCACATA  
GCTTTGAACTACTTACTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGA  
TCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCCAAAAAACGTTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>A.FLAMMEUS : ORGANISM=ASIO FLAMMEUS, SHORT EARED OWL CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTTTTCATTGTTTTGTTGTTGGTTGGTTGGTTTTTTGTTGCTGTTG  
TTTTGGGTTGGGTTGTTTTCATGCATGGCACCCACCCCTATTTTTGACAGACTAGATAACACATTAACAAAATTTTTTA  
GTCACGTAGCTTTGAACTACTCAATCTGAAATCCAGATCAGCTTCAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGAGCAGAAGAT  
ATTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTGGACGACCACGAACTATTCCTCGAGAAAAT  
ATT

>M.ASIO : ORGANISM=MEGASCOPS ASIO, EASTERN SCREECH OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCCTTTGGTTCGACTTGTACTTTTACATTGCTGTTGGTTTAGTTTGTGTTGGGATTCTGTTGGGT  
TTTTGGTTTTGGGTTTTTTTCTTTTCTGAATGCATATTTTTGACAGGCTAGGTAAAACCTGTATTTGTTGATCAGATAGCTTT  
GAACTACTTACTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGA  
TAGTGACTCTATCTCAGAAAGAAAACGGCAAAAAACGTGGAAGACCACGAACTATTCCTCGAGAAAATATT

>S.ULULA : ORGANISM=SURNIA ULULA, NORTHERN HAWK OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCCTTTGGTTCGACTTGTACTTTTACATTGCTGTTGGTTTAGTTTGTGTTGGGATTGTTGTTGGTT  
TTTTGGTTTTGGGTTTTTTTCTTTTCTGAATGTGATTTGTGACAGCTCAGTAAATCTTTACTTGTATTTGTTGATCGCAT  
AGCTTTGAACTACTTATTTTAAAATGACAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGG  
ATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCAAAAAACGTGGAAGACCACGAACTATACCTCGAGAAAATATT

>A.ACADICUS : ORGANISM=AEGOLIUS ACADICUS, NORTHERN SAW-WHET OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCCTTTGACTTTTACATTGCTGTTGGTTTAGTTTGTGTTGGGGATTGTTGTTGGGTTTTGGTTTTGGG  
GTTTTTTTCTTTTCTGAATGCGTATTTTTGACAGGCTAAGTAAAACCTTACTTACATTTGTTGATCAGATAGCTTTGAACTC  
CTTATTTCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGA  
CTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCAAAAAACGTGGAAGACCACGAACTATACCTCGAGAAAATATT

>A.ACADICUS : ORGANISM=AEGOLIUS ACADICUS, NORTHERN SAW-WHET OWL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAACTAACTTTGATTATTTTTGTTGTTGTTGTTGTTGGTTGGTTTTTTGTTGCTGT  
TGTTTTGGGTTGGATGTGTTTTCATGCATGTCACCCACCCCTATTTTTGACAGACTAGATAACACATTAACAACTTTTT  
TAGTCACGTAGCTTTGAACTACTTAACTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAACGCAGTAGGAGCAGAAG  
ATATTTCTGGATCTGATAGTGACTCAATCTCAGAAAGAAAACGACCAAAAAACGTGGACGACCACGAACTATTCCTCGAGAAA  
ATATT

**FALCONIFORMES**

>F.BIARMICUS : ORGANISM= FALCO BIARMICUS, LANNER FALCON CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTTGTTTTTACTTCTTACTGTTTCTTTTTTTTTTTTACTGTTTACAGTTCTTACTGACTTGTCTTTTTATT  
TTGCTGTTGATTTGTTTGGTGGTTGTTGTTGTCAGGTTTTGGGGTTTTTTTTCCCACTTTTCTGAACACATATTTTTTTTCAGAG  
TAAGCAAAAATTTATTTATGTTTGTAAATCATCTGGCTTTGAACTGCATATTTTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGA  
AAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCAAAAAACGTGGA  
AGACCACGAACTATTCCTCGAGAAAATATC

>F.COLUMBARIUS : ORGANISM= FALCO COLUMBARIUS, MERLIN CHD-Z  
TGCAAGACAGGTGTTGTTTTTACTTCTTACTGTTTCTTTTTTTTTTTTACTGTTTACAGTTCTTACTGACTTGTCTTT  
TTATTTCCCGTTGATTTGTTTGGTGGTTGTTGTTGTCGCGGTTGGGTTTTTTTTTCCCACTTTTCTGAATACATATTT  
TTTTCAGAGTAGGCAAAAATTTATTTATGTTTGTAAATCATCTGGCTTTGAACTGCATATTTTGAAATCCAGATCAGCTTTAA  
TGGAAGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCAAAAA  
AACGTGGAARACCACGAACTATTCCTCGAGAAAATATC

>F.RUSTICOLUS : ORGANISM= FALCO RUSTICOLUS, GYRFALCON CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTTGTTTTTACTTCTTACTGTTTCTTTTTTTTTTTTACTGTTTACAGTTCTTACTGACTTGTCTTTTTATT  
TTGCTGTTGATTTGTTTGGTGGTTGTTGTTGTCAGGTTTTGGGGTTTTTTTTCCCACTTTTCTGAACACATATTTTTTTTCAGAG  
TAAGCAAAAATTTATTTATGTTTGTAAATCATCTGGCTTTGAACTGCATATTTTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGA  
AAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCAAAAAACGTGGA  
AGACCACGAACTATTCCTCGAGAAAATATT

>F.RUSTICOLUS : ORGANISM=FALCO RUSTICOLUS, GYRFALCON CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAAAAACCTTAACTTTGAGGTTGGGTTTTTGGTTGTTTTTTTTGTTGTTGTTG  
GGTTTTTTTTGGGGGGGGGGTGTGTTGCTGCTATTTGGCTTGTACTTTTTGGGTTGGGTTGGTTTTTCAAATGTGGCACCCTCC  
ACACACACACCCCTTCTCCTCCCCCCCATTTTTGACAAATGTTTGTATGATAGCTTTGAACTGCTTAACTGAAATCCCA  
GATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAAATGCGGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGATTTCCATCTCAGAAAGAA  
AACGACCAAAAAACGTGGACGACCACGAACTATTCCTCGAGAAAATATT

>F.PEREGRINUS : ORGANISM= FALCO PEREGRINUS, PEREGRINE FALCON CHD-Z  
GTGTGTTTTTTTACTTCTTACTGTTTCTTTTTTTTTTTTACTGTTTACAGTTCTTACTGACTTGTCTTTTTATTGTTGTTG  
ATTTTGTGTTGGTGTGTTGTTGTCAGGTTTTGGGGTTTTTTTTCCCACTTTTCTGAACACATATTTTTTTTCAGAGTAGGCAAAA  
ATTTATTTATGTTTGTAAATCATCTGGCTTTGAACTGCATATTTTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCG  
CAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCAAAAAACGTGGAAGACCACGAA  
A

>F.PEREGRINUS : ORGANISM=FALCO PEREGRINUS, PEREGRIN FALCON CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAAAAACCTTAAACTTTGAGGTTGGGGTTTTGGTTGTTTTTTTTGTTGTTG  
GTTTTTTTTTTGGGGGGGGGTTGNGCTGCTATTTGGCTGTACTTTTGGGTTGGGTTGGTTTCAAATGTGGCACCCTCC  
ACACACACCCCTTCTCCTCCCCCCCCATTTTGGACAAATGTTTGTATGTACCTTTGAACCTACTTAATCTGAAATCCA  
GATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGAAATGCGGTAGGAGCAGAAGATATTTGGATCTGATAGTGATCCATCTCAGAAAGAA  
AACGACCAAAAAACGTGGACGACCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>F.SPARVERIUS : ORGANISM= FALCO SPARVERIUS, AMERICAN KESTREL CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTGTTTTTTACTTCTTACTGTCTTTTTTTTTTTTTTTTACTGTTTACAGTTCTTACTGACTGTCTTT  
TATTTTGGCTGTTGATTTGTTTGGTGGTTGTTGTTGTTGGGTTTTTTTTTCCACTTTCTGAACACGTATTTTTTTC  
AGAGTAGGCAAAAATTTATTTATGTTTGTAAATCCCTGGCTTTGAACGCATATTTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGA  
AGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGCCAAAAAACGG  
TGGAAGACCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>F.SPARVERIUS : ORGANISM= FALCO SPARVERIUS, AMERICAN KESTREL CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAAAAACCTTAAACTTTGAGGTTGGGGTTTTTTGGGTTTTTTGTTGGTTTTT  
TTTTTGGGGGGGTTGGGGGTTGTTGCTGCTATTTGGCTGTACTTTTGGGTTGGGTTGGTTTCAAATGTAGCACCCTC  
CACACACACCCTTTCTCCTCCCCCCCCATTTTGGACAAATGTTTGTATGTAGCTTTGAACCTACTTAATCTGAAATTC  
CAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGAAATGCGGTAGGAGCAGAAGATATTCCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAG  
AAAACGACCAAAAAACGTGGGCGACCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>F.CHERRUG : ORGANISM=FALCO CHERRUG, SHAKER FALCON CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTGTTTTTTACTTCTTACTGTCTTTTTTTTTTTTTTTTACTGTTTACAGTTCTTACTGACTGTCTTTTAT  
TTTTGCTGTTGATTTGTTTGGTGGTTGTTGTTGCTAGGTTTTGGGGTTTTTTTCCACTTTTCTGAACACATATTTTTTTT  
GTAAGCAAAAATTTATTTATGTTTGTAAATCATCTGGCTTTGAACGCATATTTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGT  
GAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGGCAAAAAACGTGG  
AAGACCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

**PSITTACIFORMES**

>A.AESTIVA : ORGANISM=AMAZONA AESTIVA, BLUE FRONTED AMAZON CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCGTACTTTTACGTTGCTTGTGGTTAGCTAGTTTGTGGGGTTGTTGGG  
TTTTGGGTTTTGGGTTTTTTTCCCTCTTTCTAGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAAAACCTTACTTATCTTTGTTAATAA  
TGTAGCTTTGAACCTACTTATCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTC  
TGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCGAAAGGAAACGGCAAAAAGCGTGAAGACCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>A.AESTIVA : ORGANISM= AMAZONA AESTIVA, BLUE-FRONTED AMAZON CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAATTAACCTTTGTTTTTGTGTTGGTATGTTGGTTGTTTTTTTATTACTCT  
TCTTTTGGCTTGTACTTTTGGGTTGGGTTGATTTTACACATATGATACCACCACACCTACTCCCTCCCTGATTTTTGACAGGCT  
AGATAACACATTAACAATGTTTGTACATAGCTTTGAACCTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAG  
GGACACACAGTAGGAGCAGAAGATACTCCGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGCCAAAAAACCGTGGACGA  
CCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>A.OCHROCEPHALA : ORGANISM= AMAZONA OCHROCEPHALA, YELLOW-CROWNED AMAZON CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCGTACTTTTACGTTGCTTGTGGTTAGCTAGTTTGTGGGGTTGTTGGG  
TTTTGGGTTTTGGGTTTTTTTCCCTCTTTCTAGACACATATTTTGMACAGGCTGTATAAAAACCTTACTTATCTTTGTTAATAA  
TGTAGCTTTGAACCTACTTATCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTC  
TGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCGAAAGGAAACGGCAAAAAGCGTGAAGACCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>A.OCHROCEPHALA : ORGANISM= AMAZONA OCHROCEPHALA, YELLOW-CROWNED PARROT CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGTTTTGACCAATTAACCTTTGTTTTTGTGTTGGTATGTTGGTTGTTTTTTTATTACTCT  
TCTTTTGGCTTGTACTTTTGGGTTGGGTTGATTTTACACATATGATACCACCACACCTACTCCCTCCCTGATTTTTGACAGGCT  
AGATAACACATTAACAATGTTTGTACATAGCTTTGAACCTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAG  
GGACACACAGTAGGAGCAGAAGATACTCCGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGCCAAAAAACCGTGGAAAG  
CCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>A.AMAZONICA : ORGANISM= AMAZONA AMAZONICA, ORANGE-WINGED AMAZON CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTAGTTAGTTTGTGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTTGGGTTTTTTTCCCTCTTTCTAGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAAAACCTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACCTACTTATCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCGAAAGGAAACGGCAAAAAGCGTGAAGACCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>A.VIRIDIGENALIS : ORGANISM= AMAZONA VIRIDIGENALIS, RED-CROWNED AMAZON CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTAGTTAGTTTGTGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTTGGGTTTTTTTCCCTCTTTCTAGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAAAACCTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACCTACTTATCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGGAAACGGCAAAAAGCGTGAAGACCACGAATATTCCTCGAGAAAATATT

>P.MELANOCEPHALUS : ORGANISM=PIONITES MELANOCEPHALUS, BLACK HEADED PARROT CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCCAACCTGACCTGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTGGGTTTTTTCCTTCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGACTGTATAAAACTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CCGGATCTGATAGTACTCCATCTCGGAAAGGAAACGGCCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATA

>P.MELANOCEPHALUS : ORGANISM=PIONITES MELANOCEPHALUS, BLACK HEADED PARROT CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGGTTTGACCAATTAACCTCGTTTTTGTGGTGGTGGTATTTTTTTTTTTTTTATTACTCTTCT  
TTTGGCTTGTACTTTTGGGTTGGGTGATTTTCACACATGATACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTTGACAGGCTAGA  
TAACACATTAATAAATGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAG  
GAGACACAGTAGGAGCAGAAGATATTCGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTGGACGAC  
CACGAACATTTCTCGTGAATAATTT

>P.MEYERI : ORGANISM=POICEPHALUS MEYERI, MEYER'S PARROT CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCCAACCTGACCTGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGGG  
TTTTGGTTTGGGTTTTTTCCTTCTTTCTAGACGATTTTTTGGACAGGCTGTGTAATAACTTACTTATCTTTGTTAATA  
TGTGGCTGTGAACACTTATCTGACATTCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
TGGATCTGATAGTACTCTGTCTCGGAAAGGAAACGGCCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATA

>P.MEYERI : ORGANISM=POICEPHALUS MEYERI, MEYER'S PARROT CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGGTTTGACCAATTAACCTTTGTTTTTGTGGTGGTGGTATTTTTTTTTTTTATTACTCTTCT  
TCTTTTGGCTTGTACTTTTGGGTTGGGTGATTTTCACACATGACACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTTGACAGGCT  
AGATAACACATTAATAAATGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGA  
AAGGACACAGTAGGAGCAGAAGATATTCGGCTCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTGGAC  
GACCACGAACATTTCTCT

>A.ACUTICAUDATA : ORGANISM=ARATINGA ACUTICAUDATA, BLUE CROWNED PARAKEET CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCCAACCTGGCTGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTGGGTTTTTTCCTTCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAAACTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGATCTGATAGTACTCCATCTCGGAAAGGAAACGGCCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATA

>A.JANDAYA : ORGANISM=ARATINGA JANDAYA, JANDYANA PARAKEET CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCCAACCTGACCTGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTGGGTTTTTTCCTTCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAAACTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGATCTGATAGTACTCCATCTCGGAAAGGAAACGGCCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATA

>A.MACAO : ORGANISM=ARA MACAO, SCARLET MACAW CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCCAACCTGACCTGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTGGGTTTTTTCCTTCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAAACTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGATCTGATAGTACTCCATCTCGGAAAGGAAACGGCCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATA

>A.MACAO : ORGANISM=ARA MACAO, SCARLET MACAW CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGGTTTGACCAATTAACCTTAGTTTTTGTGGTGGTGGTATTTTTTTTTTTTTTATTACTCTTCT  
TTTTGGCTTGTACTTGTGGGTTGGGCGATTTTCACACATGATACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTTGACAGGCTAGA  
TAACACATTAATAAATGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAG  
GAGACACAGTAGGAGCAGAAGATATTCGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTGGACGAC  
CACGAACATTTCTCGTGAATAATTT

>A.CHLOROPTERUS : ORGANISM=ARA CHLOROPTERUS, GREEN-WINGED MACAW CHD-Z  
TGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCCAACCTGACCTGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTGGGTTTTTTCCTTCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAAACTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGATCTGATAGTACTCCATCTCGGAAAGGAAACGGCCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATA

>A.ROSEICOLLIS : ORGANISM=AGAPORNIS ROSEICOLLIS, ROSY-CHEEKED LOVEBIRDS CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCTGACTGACCTGTACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGGG  
TTTTAGTTTTGGGTTTTTTCCTTCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGACTGTATAAAACTTACTTATTTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACTACTTAACTGACATTCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAAGGAAACGGCCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATA

>A.ROSEICOLLIS LUTINO : ORGANISM=AGAPORNIS ROSEICOLLIS LUTINO, ROSY-FACED  
LOVEBIRD CHD-W  
CACAAAACAGGTATCTCTGGGGTTTGACATTAGCTTTGTTTTTGTGGTGGTGGTATTTTTTTTTTTTATTACTCTTCT  
TTTTGGCTTGTACTTTTGGGTTGGGTGATTTTCACACATAACCCCCCTACACTACTCCCTCCCTCATTTTTGGCAGGTTAG  
ATAACACATTAATAAATGTTTTAGTCGCATAGCTTTGAACTACTTAACTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAG  
GGAGACACAGTATGAGCAGAAGATATTCGGATCTGATAGTACTCCATCTCAGAAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTGGACGAC  
CCACGAACATTTCTCGCGAAAATATA

>**A.FISCHERI** : ORGANISM= **AGAPORNIS FISCHERI, FISCHER'S LOVEBIRD CHD-Z**  
CGCAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATGTTGCTGTTGGTTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGGG  
GTTTGTAGTTTGGGGTTTTTTCCTCCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGACTGTATAAACTTTACTTATTTTGTAAATA  
ATGTAAGCTTTGAACACTTAATCTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**M.MONACHUS** : ORGANISM=**MYIOPSITTA MONACHUS, MONK PARROT CHD-Z**  
TGCAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATGTTGCTGTTGGTTAGTTAGTTTGTGGGGTTGTTGGTT  
TGGTTTTTTTTTCTACTTTTCTGGATACATATTTTGGACAGGCTGTATAAAGCTTACTTATCTTTGTTAATAATGGAGCTTT  
GAACACTTATTCTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGCGAAGGGAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTCTGGATCTGA  
TAGTGACTCCATCTCGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**M.MONACHUS** : ORGANISM=**MYIOPSITTA MONACHUS, MONK PARROT CHD-W**  
TGCAAACAGGTATCTCTGGGGTTTGACCAATTAACCTTTGTTTTATGTTGTTGGTGATGGTTGGTTGGTTTTTTTACTCT  
TCTTTTGGCTTGTACTTTTGGTGGTGGTGATTTTACACATGACACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTGGACAGGCT  
AGATAACACGTTAAAAAATATTTTGTAGTCACAAAACCTTGAACACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGA  
AAGGAGACACAGTAGGAGCAGAAGATATTTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTGGAC  
GACCACGAACATTTCTCGGAAAATATT

>**P.ERITHACUS** : ORGANISM=**PSITTACUS ERITHACUS ERITHACUS, AFRICAN GREY CHD-Z**  
CGCAAACAGGTGTCTGTTGGTTCATCTGACCTGACTTTTATGTTGCTGTTGGTTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGGG  
TTTTGGTTTTGGGGTTTTTCTCCTTTTCTAGACGATTTTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATAA  
TGTGGCTGTGAACACTTAATCTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTC  
TGGATCTGATAGTGACTCCGCTCGGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**P.ERITHACUS** : ORGANISM=**PSITTACUS ERITHACUS, AFRICAN GREY PARROT CHD-W**  
CGCAAACAGGTGTCTCTGGGGTTTGACCAATTAACCTTTGTTTTTGTGTTGGTGATGGTTGGTTGTTTTTTCATTGCTCT  
TCCTTTGTCTTGTACTTTTGGTGGTGGTGATTTTACACATGACACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTGGACAGGCT  
AGATAACACATTAATAAATGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGA  
AAGGAGACACAGTAGGAGCAGAAGATATTTCCGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTGGAC  
GACCACGAACATTTCTCGGAAAATATT

>**T.MEGALORYNCHOS** : ORGANISM=**TANYGNATHUS MEGALORYNCHOS, GREAT-BILLED PARROT CHD-Z**  
TGCAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATGTTGCTGTTGGTTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGGG  
TTTTGGTTTTGGATTTTTTTCCTCCTTTTCTGGACAGATATTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATAA  
TGTAGCTTTGAACACTTACTCTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGAAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTC  
TGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**C.GOFFINIANA** : ORGANISM=**CACATUA GOFFINIANA, TANIMBAR CORELLA CHD-Z**  
CGCAAACAGGTGTTTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATCTGCTGTTGGTTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGTT  
GGTTTTGGTGTGGGGCTTTTTTCTCCTTTTGGACACATTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATG  
ATGTAAGCTTTGAACACTTACTCTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**C.MOLUCCENSIS** : ORGANISM=**CACATUA MOLUCCENSIS, SALMON-CRESTED COCKATOO CHD-Z**  
CGCAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATCTGCTGTTGGTTAGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGTT  
GGTTTTGGTGTGGGGCTTTTTTCTCCTTTTGGACACGTTTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATG  
ATGTAAGCTTTGAACACTTACTCTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACT  
CTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**C.NOVAEZELANDIAE** : ORGANISM=**CYANORAMPUS NOVAEZELANDIAE, RED-CROWNED PARAKEET CHD-Z**  
CGCAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTACGTTGCTGTTGGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGAGTTTT  
GGTTTTGGGGTTTTTCTCCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATAATGTTG  
CTTTGAACACTTAACTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTCTGGAT  
CTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**T.HAEMATODUS** : ORGANISM=**TRICHOGLOSSUS HAEMATODUS, RAINBOW LORIKEET CHD-Z**  
CGCAAACAGGTCTCTTGGTTCGACTGACTGACTTTTATGTTGCTGTTGGTTGGTTAGTTTGTGGTGGCTGTTGGGTTT  
TGGTTTTGGGGTTTTTCTCCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGACTGTATAAACTTTAATATCTTTGTTAATAATGTT  
AGCTTTGAACACTTAACTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTCTGG  
ATCTGATAGTGACTCCATCTCGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**P.FRONTALIS** : ORGANISM=**PYRRHURA FRONTALIS, MAROON-BELLIED PARAKEET CHD-Z**  
CGCAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATGTTGCTGTTGGTTGGTTAGTTTGTGGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTGGGTTTTTCTCCTTTTCTAGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATAA  
TGTAGCTTTGAACACTTAACTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTC  
TGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>P.FRONTALIS : ORGANISM= PYRRHURA FRONTALIS, MAROON-BELLIED PARAKEET CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTTGGGCTTTGACCAAAACTTTAACTTTGAGGTTGGGGTTTTGGGTTTTTTTTTTGGTTGTTTTT  
TTTGGGGGGGGGGGGGGTGTGCTGCTATTTTGGCTTGACTTTTGGGTTGGGTGGTTTCAAAATGTGGCACCCTCCACA  
CACACACACACACACCCACCACCCATTTTGCACAAATGTTTGTGCTGATGACTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGAT  
CAGCTTTAATGGAAGTGAAGGAAATGCGGTAGGACGAGAAGATATCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAC  
GACCAAAAAACGTGGACGACCACGAGCTATTCCTCGAGAAAATATT

>P.MOLINAE : ORGANISM= PYRRHURA MOLINAE, GREEN-CHEEKED CONURE CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTGTTGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTGGGTTTTTTCCTCCTTTTCTAGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATGCT  
CTGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAACGGCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTCCTCGAGAAAATATT

>P.MOLINAE : ORGANISM= PYRRHURA MOLINAE, GREEN-CHEEKED CONURE CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTTGGGGTTTGGCAATTAACCTTAGTTTTTTTGGTGGTGGTATTTTTTTTTTTTTTATTACTCTTCTTT  
TGGCTTGTACTTTTGGGTTGGGTTGATTTTACACATGATACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTTGACAGGCTAGATA  
ACACATTAATAAAATGTTTTTAGTCGCATAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATTCAGATCAGTTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATAC  
GACACAGTAGGAGCAGAAGATATCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAACGACCAAGAAACGTTGGACGACCA  
CGAATATTCCTCGTGAATAATTT

>P.MARACANA : ORGANISM= PRIMOLIUS MARACANA, BLUE-WINGED MACAW CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTAAAGTTAGTTTGTGGGGTTGTTGG  
GGTTTAGTTTTGGGGTTTTTTCCTCCTTTTCTGGACACATATTTTGGACAGACTGTATAAACTTTACTTATTTTTGTTAAT  
AATGTAGCTTTGAACTACTTAACTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATAC  
TCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAACGGCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTCCTCGAGAAAATATT  
T

>P.MARACANA : ORGANISM= PRIMOLIUS MARACANA, BLUE-WINGED MACAW CHD-W  
TGCAAAACAGGTGTGTTTTTTTACTTCTTACTGTTCTTTTTTTTTTTTACTGTTTACAGTTCTTACTGACTTGTCTTTTTATT  
TCGCTGTGTGATTTGTTTGGTGGTGTGTTGTGCTCGGGTTTGGGGTTTTTTTTTCCCCACTTTTCTGAATACATATTTTTTTC  
AGAGTAGGCCAAAAATTTATTTATGTTTGTAAATCATCTGGCTTTGAACTGCATATTTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGA  
AGTGAAGGGAGGCGCAGTAGGAGCAGAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAACGGCAAAAAAGCGT  
GGAAGACCCACGAACATTCCTCGAGAAAATATT

>P.ANTHOPEPLUS : ORGANISM= POLYTELIS ANTHOPEPLUS, REGENT PARROT CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATTTAAGTTGCTGTTGGTTTGTAGTTAGTTTTTTTGGGGTTG  
TTGGGTTTTGGTGGGTTGTTTTTCTTCTTTTCTGGACATATATTTTGGACAGGCTGTATAAACTACTTATCTTTGTTA  
ATAATGTAGCTTTGAACTACTTACTCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGGT  
ACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCGAAAGGAAACGGCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTCCTCGAGAAAAT  
ATT

>P.ANTHOPEPLUS : ORGANISM= POLYTELIS ANTHOPEPLUS, REGENT PARROT CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCCTGGGTTTGGACAGTTAACTTTGTTTTTTTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG  
TCTTCTTTTGGCTTGTACTTTTGGGTTGGGTTGATTTTACACAGACACCCCCACACCTACTCCCTCCCTTATTTTTGTCAGGC  
TAGATAACACATTAATAAAATGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACTACTTAACTGAAATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGA  
AAAGGAGACACAGTAGGAGCAGAAGATATTCGGATCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAACGGCAAAAAAGCGTGAAG  
CGACCACGAACATTCCTCGTGAATAATTT

>P.MENSTRUUS : ORGANISM= PIONUS MENSTRUUS, BLUE-HEADED PIONUS CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTTGGTTCGACTGACCTGTGCTTTTATGCTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTGTTGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTGGGTTTTTCTCCTCTTTTCTAGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTAACTGTCAATAA  
TGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGAAGTAGGAGTAGAAGATACTC  
TGGATCTGATAGTGACTCTATCTCGAAAGGAAACGGCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTCCTCGAGAAAATATT

>P.MAXIMILIANI : ORGANISM= PIONUS MAXIMILIANI, SCALY-HEADED PARROT CHD-Z  
CGCGAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGTGCTTTTATGAGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTGTTGGGGTTGTTGGG  
TTTTGGGTTTTGGGTTTTTTCCTCCTTTTCTAGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATAA  
TGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGAAGTAGGAGTAGAAGATACTC  
TGGATCTGATAGTGACTCTATCTCGAAAGGAAACGGCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTCCTCGAGAAAATATT

>P.LEUCOPHTHALMA : ORGANISM= PSITTACARA LEUCOPHTHALMA, WHITE-EYED CONURE CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCGACTGACCTGACTTTTATGTTGCTTGTGGTTTGTAGTTAGTTGTTGGGGTTGTTGG  
GTTTTGGGTTTGGGTTTTTTCCTCCTTTTCTAGACACATATTTTGGACAGGCTGTATAAACTTTACTTATCTTTGTTAATA  
ATGTAGCTTTGAACTACTTATCTGACATTCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAAGGGAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATGCT  
CTGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAACGGCAAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTCCTCGAGAAAATATT

>**P.SENEGALUS** : ORGANISM= POICEPHALUS SENEGALUS, SENEGAL PARROT CHD-Z  
CGCAAAACAGGTGTCTCTTGGTTCCGACTGACCTGTACTTTTATGTGCTGTTGGTTTAGTTAGGTTGTTGGGGGTTGTTGGG  
TTTTGGTTTGGGGTTTTTTTCTTCCTTTTCTAGACGTATTTTTTTGACAGGCTGTGTAACCTTTACTTATCTTTGTTAATAA  
TGTGGCTGTGAACACTTATTTCTGACATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGAGGGCAGGCGGAGTAGGAGTAGAAGATACTC  
TGGATCTGATAGTACTCTGTCTCGAAAGGAAACGGCCAAAAAGCGTGAAGACCACGAACATTTCTCGAGAAAATATT

>**P.SENEGALUS** : ORGANISM= POICEPHALUS SENEGALUS, SENEGAL PARROT CHD-W  
TGCAAAACAGGTATCTCTGGGGTTGACCAATTAACCTTTGTTTTTGGTTGTTGGTGATGGTTGGTTGTTTTTTCATTACTCT  
TCTTTTGGCTGTACTTTTTGGGTTGGGTGATTTTCACACATGACGCCCCACACACCTACTCCCTCCCTCATTTTTGACAGGTA  
AGATAACACATTAATAAAATGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACTACTTAATCTGAAATCCAGATCAGCTTTAATGGAAGTGA  
AAGGAGACACAGTAGGAGCAGAAGATATTCCGGCTCTGATAGTGACTCCATCTCAGAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTTGGC  
GACCACGAACATTTCTCGGAAAATATT

Quelques séquences ont été obtenues à partir des amorces 2550F et 2718R pour amplifier les exons partiels 17 et 18, ainsi que l'intron 17-18 (Fridolfsson et Ellegren, 1999). Pour les oiseaux de proie, l'amplification a eu lieu correctement pour 13 oiseaux sur les 22 au total. En ce qui concerne les perroquets, une seule séquence d'oiseaux sur les 5 testées a été amplifiée adéquatement avec 2550F et 2718R. Ces séquences de CHD-Z qui ont fonctionné convenablement se retrouvent ci-dessous. Les exons 17 et 18 y sont soulignés.

#### ***PSITTACIFORMES***

>**A.OCHROCEPHALA** : ORGANISM= AMAZONA OCHROCEPHALA, YELLOW-CROWNED PARROT CHD-Z  
ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGGATGCTGGACATCTTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTTCAGGTAGGAATCTTGGTTTGTAGTAGCCAAGAGCCCTTGATCTTGAATATTAGAAAAATCTTTTCTTTATCTGAGGGTGA  
CAACTTGTTCAGAGGATATGAGCTATGTGCTCTGTGACATTCAGAAGCCACCTGGACATGACACTGGGCAACCTGCTTTTGTG  
GTCCCAAGTTAAGTTGGGGAATTAGATGATATCACTGCAGAGGTCCTTCCAACCTAAATCTCTTTTGTGAATATGATCTGT  
ACCACCTTGTCTTAAGAAAAGATGGAAGAAAACGTTCTTTTTTGTATAAAAATCTGGCAATGCTATATGCTAATAATAAATTTGA  
TGTTAAATAGATGAATTAATAAAAAATACGAGAATTGATACATCAGGGTTTCTTTTGTATCATAACAGGTTTGACATT  
TGAGAAATTTGGGGTGTCTGATTTTGAATATAAGAATTGCTTTTTAAGTGTAGCATTCAATCTCTTTAGAGGCTTGACGGATC  
AATAAAGGGGAATTGAGGAAA

#### ***FALCONIFORMES***

>**F.SPARVERIUS** : ORGANISM= FALCO SPARVERIUS, AMERICAN KESTREL CHD-Z  
ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGGATGCTGGATATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTTCAGGTAAAGAAATCTTGGTAGTAGTAGCCATGAAGCTTTGATCTTGAATACAAAGARTATTTTCTTTACTCTGAGGATAC  
AGAGCAACGTATCAAGTTGTCAGAAAGTTGGAATCTCCATCCTCTGTAACACTTAAAAGCCATGTGGACAAGACCTTGGGC  
AACCTGCTTTTAGCTGTCCCATCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACCTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAGCTGTTTTGT  
GATATGTGATCTTTACCACCTTGGTTAAGAAAAGATGTAAGAAAATTTGTTCTTTTTCTAGAAAGACTAGCACTTGTATGTG  
CTAAGTAGTATTTTGAATTAACAGGTGAATTAATAAAATTTGATCAAGTGTGCACTACTCTTTCTCCTCACGTAATCGTT  
TTGGCAGGTGAAAATCAAGTTGCTGTTATTTGAATATAAGAATTACTTTTTAAGTGTGCACTGTTCAATCTCTCTAGAGACTT  
GATGGATCAATAAAGGGGAATTGAGGAAA

>**F.COLUMBARIUS** : ORGANISM= FALCO COLUMBARIUS, MERLIN CHD-Z

ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGGATGCTGGATATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTTCAGGTAAAGAAATCTTGGTAGTAGTAGCCATGAAGCTTTGATCTTGAATACAAAGARTATTTTCTTTACTCTGAGGATAC  
AGAGCAACGTACAAAGTTGTCAGAAAGTTGCGGAATCTCCATCCTCTGTAACACTTAAAAGCCATGTGGACGAGACCTTGGGC  
AACCTGCTTTTAGCTGTCCCATCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACCTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAGCTGTTTTGT  
GATATGTGATCTTTACCACCTTGGTTAAGAAAAGATGTAAGAAAATTTGTTCTTTTTCTAGAAAGACTAGCACTTGTATGTG  
CTAAGTAGTATTTTGAATTAACAGGTGAATAAATAAATTTATACATCAAGTGTGCACTACTCTTTCTCCTCACGTAATGGTT  
TTGGCAGGTGAAAATCAAGTTGCTGTTATTTGAATATAAATAAATTACTTTTTAAGTGTGCACTGTTCAATCTCTCTAGAGACTT  
GATGGATCAATAAAGGGGAATTGAGGAAA



**>F.RUSTICOLUS : ORGANISM=FALCO RUSTICOLUS, GYRFALCON CHD-Z**

ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGGATGCTGGATATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTCAGGTAAGAATCTTGGTAGTAGTAGCCATGAAGCTTTGATCTTGAATACAAGAGTATTTTCTTTACTCTGAGGATTAC  
AGAGCAACGTCACAAGTTGTCAGAAAGTTGCGGAATCTCCATCCTCTATAACATTTAAAAGCCATGTGGACAAGACCTTGGGC  
AACCTGCTTTAGCTGCCCATCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACCTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAGCTGTTTCGT  
GATATGTGATCTTTACCACTTGGTTAAGAAAAGTTGTAAGAAAATTTGTTCTTTTCTAGAAAGACTAGCACTTGTATGTG  
CTAAGTAGTATTTTGAATTAACAGGTGAAATAAAAATATTACATCAAGTGTTCATTACTCTTTCCGTCACGTAATGGTT  
TTGGCAGGTGAAAATCAAGTTGCTGTTATTTTGAATATGAGAATTAAGTTAACTGCCTGTTCAATCTCTCTAGAGACTT  
GATGGATCAATAAAAAGGGAATTGAGGAAA

**>F.PEREGRINUS : ORGANISM=FALCO PEREGRINUS, PEREGRIN FALCON CHD-Z**

ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGGATGCTGGATATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTCAGGTAAGAATCTTGGTAGTAGTAGCCATGAAGCTTTGATCTTGAATACAAGAGTATTTTCTTTACTCTGAGGATTAC  
AGAGCAACGTCACAAGTTGTCAGAAAGTTGCGGAATCTCCATCCTCTATAACATTTAAAAGCCATGTGGACAAGACCTTGGGC  
AACCTGCTTTAGCTGCCCATCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACCTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAGCTGTTTCGT  
GATATGTGATCTTTACCACTTGGTTAAGAAAAGATGTAAGAAAATTTGTTCTTTTCTAGAAAGACTAGCACTTGTATGTG  
CTAAGTAGTATTTTGAATTAACAGGTGAAATAAAAATATTACATCAAGTGTTCATTACTCTTTCCGTCACGTAATGGTT  
TTGGCAGGTGAAAATCAAGTTGCTGTTATTTTGAATATGAGAATTAAGTTAACTGCCTGTTCAATCTCTCTAGAGACTT  
GATGGATCAATAAAAAGGGAATTGAGGAAA

**>F.CHERRUG : ORGANISM=FALCO CHERRUG, SHAKER FALCON CHD-Z**

ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGGATGCTGGATATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTCAGGTAAGAATCTTGGTAGTAGTAGCCATGAAGCTTTGATCTTGAATACAAGAGTATTTTCTTTACTCTGAGGATTAC  
AGAGCAACGTCACAAGTTGTCAGAAAGTTGCGGAATCTCCATCCTCTATAACATTTAAAAGCCATGTGGACAAGACCTTGGGC  
AACCTGCTTTAGCTGCCCATCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACCTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAGCTGTTTCGT  
GATATGTGATCTTTACCACTTGGTTAAGAAAAGATGTAAGAAAATTTGTTCTTTTCTAGAAAGACTAGCACTTGTATGTG  
CTAAGTAGTATTTTGAATTAACAGGTGAAATAAAAATATTACATCAAGTGTTCATTACTCTTTCCGTCACGTAATGGTT  
TTGGCAGGTGAAAATCAAGTTGCTGTTATTTTGAATATGAGAATTAAGTTAACTGCCTGTTCAATCTCTCTAGAGACTT  
GATGGATCAATAAAAAGGGAATTGAGGAAA

***STRIGIFORMES***

**>S.NEBULOSA : ORGANISM= STRIX NEBULOSA, GREAT GRAY OWL CHD-Z**

ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGAATGCTGGACATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTCAGGTAAGAATCTTGGTAGTAGTAGCCATGAAGCTTTGATCTTGAATATAAGAAAACCTTCTTCTTACTCTGAGGGT  
GACAGAGCACTGGAACGAGTTGTCAGAAATCTCCATCCTCTGAGACATTCAGAAGTCACCTGGTCAACCTTGGGCAACCTG  
TTTTAGCTGTCCTGCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACTTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAACATTTTGTCAATAAT  
GTGATCTTTACGGCTTTGCTTAAGAAAAGATATAAGAAAATGTGTTCTTTTCTAGAAAGACTGGCAATTTGCTATATGCTATA  
TAGTATTTTGAATGAAACATAAATTAATAATATTATGTGAAGTGTTCATTACTTTCACATAACAGTTTGGCAGTTGGGAATT  
CAGGTTGCTCAGATTTTGAATATAGTATAAGAATTAAGTTAACTGTTAGTATCAATCTCTTTCAGAGACTTGACGGATCAATA  
AAAGGGAATTGAGGAAA

**>A.FLAMMEUS : ORGANISM=ASIO FLAMMEUS, SHORT EARED OWL CHD-Z**

ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGAATGCTGGACATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTCAGGTAAGAATCTTGGTAGTAGTAGCCAGGAACTTTGATCTTGAATATAAGAAAACCTTCTTCTTACTCTGAGGGT  
GACAGAGCACTGGAACGAGTTGTCAGAAATCTCCATCCTCTGAGACATTCAGAAGTCACCTGGTCAACCTTGGGCAACCTG  
TTTTAGCTGTCCTGCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACTTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAACATTTTGTCAATAAT  
TGATCTTTACCACTTYGCTTAAGAAAAGATATAAGAAAATGTGTTCTTTTCTAGAAAGACTGGCAATTTGCTATATGCTATA  
AGTATTTTGAACGAAACATAAATTAATAATATTATGTGAAGTGTTCATTACTTTTCTTTCACATAACAGTTTGGCAGTTGG  
GAATTCAGGTTGCTCAGATTTTGAATATAGTATAAGAATTAAGTTAACTGTTAGTATCAATCTCTTTCAGAGACTTGACGGAT  
CAATAAAAAGGGAATTGAGGAAA

**>B.SCANDIACUS : ORGANISM=BUBO SCANDIACUS, SCREECH OWL CHD-Z**

ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGAATGCTGGACATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTCAGGTAAGAATCTTGGTAGTAGTAGCCAGGAACTTTGATCTTGAATATAAGAAAACCTTCTTCTTACTCTGAGGGT  
GACAGAGTACTGGAATGAGTTGTCAGAAATCTCCATCCTCTGAGACATTCAGAAGTCACCTGGTCAACCTTGGGCAACCTG  
TTTTAGCTGTCCTGCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACTTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAACATTTTGTCAATAAT  
GTGATCTTTACCACTTGCTTAAGAAAAGATATAAGAAAATGTGTTCTTTTCTAGAAAGACTGGCAATTTGCTATATGCTATA  
TAGTATTTTGAATGAAACATAAATTAATAATATTATGTGAAGTGTTCATTACTTTCACATAACAGTTTGGCAGTTGGGAATT  
CAGGTTGCTCAGATTTTGAATACAGTATAAGAATTAAGTTAACTGTTAGTATCAATCTCTTTCAGAGACTTGATGGATCAATA  
AAAGGGAATTGAGGAAA

**>M.ASIO : ORGANISM=MEGASCOPS ASIO, EASTERN SCREECH OWL CHD-Z**

ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGAATGCTGGACATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTCAGGTAAGAATCTTGGTAGTAGTAGCCAGGAACTTTGATCTTGAATATAAGAAAACCTTCTTCTTACTCTGAGGGT  
GACAGCACTGGAACAAGTTGTCAGAAATCTCCATCCTCTGAGACATTCAGAAGTCACCTGGTCAACCTTGGGCAACCTGTT  
TTAGCTGCTGTCCTGCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACTTCCAGAGGTCCTTCCAACCTCAACATTTTGTGTTATGT  
GATCTATTTACCACTTCCTTAAGAAAAGATACAAGAAAATGTGTTCTTTTGAAGAAAGACTGGCAATTTGTTATATGCTATA  
TAGTATTTTGAATGAAACATAAATTAATAATATTATGTGAAGTGTTCATTACTTTCACATAACAGTTTGGCAGTTGGGAATT  
CAGGTTGCTCAGATTTTGAATATAGTATAAGAATTAAGTTAACTGTTAGTATCAATCTCTTTCAGAGACTTGACGGATCAATA  
AAAGGGAACTGAGGAAA

**>A.ACADICUS : ORGANISM=AEGOLIUS ACADICUS, NORTHERN SAW-WHET OWL CHD-Z**  
ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGAATGCTGGACATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTTCAGGTAAGAGTCTTGGTGATAGTAGCCAAGAACTTTGATCTTGAATATAAGAAAAACCTTCTTTACTCTGAGGGT  
GACAGAGCACTGGAACAAGTTGTCAGAGGTTATGGAATCTCCATCCTCTGAGACATTCAAAAGTCACCTGGTCAATGACCTTG  
GGCAACGTGCTTTAGCTGTCTGTGCTGAGTAGGGGAGTTAGACAAGATGACCTTCAGAGGTCCCTCCCAACCTCACATTTTG  
TCATTATGTGATCTTTACCCTTTACTTAAAGAAAAGATGCAAGAAAATGTGTTCTTTTCTAGAAAACACTGGCGATTGCTAT  
ATAGGTAGTATTTTGAATGAAACATAAAATATTATGTGAAGTGTGGCATTACTTTTCTTCACATAACGGTTTTTGGCAGTTGG  
GAATTCAGGTTGCTCAGATTTTGAATATAGTATAAGAATTACTCTTTAACTGTAGTATCAATCTCTTCAGAGACTTGACGGAT  
CAATAAAAGGGGAATTGAGGAAA

**ACCIPITRIFORMES**

**>A.COOPERII : ORGANISM=ACCIPITER COOPERII, COOPER'S HAWK, CHD-Z**  
ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGGATGCTGGACATCCTAGCAGAATATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTTCAGGTAAGAGCTTGGTAGTAGCCAATAAGCTTTGATCTTGAATATTAATAAAAAATAAAAAATCTTTCTTTACTG  
TGAGGGTGACAGAGCACTGGAACAAGTTGACCAGAGGTTATGGAATCTCCATCCTCTGTGACATTCAAAACCCACCTGGCGAT  
GACCTTGGCAACCTGCTTTAGCTGTGCTGCTGCTGAGTAAACAGGGTTAGACAAGACGATAGCCAGAGGTCCTTCCAATATCA  
GCTGGTTTTGTGATTTGTGATCTGCACCCTTTGCTTAAAGAAAAGATACAGAAAATGTGTTCTTTTCTAGAAAAGACTGTGA  
ATTGTATGTGCTAACCACTATTTTGAAGTGAACAGATGAATTAATAATATGTGAAGTGTGCATTACTTTTTTCCCTTAA  
CATAACAGTTTTTGGCAGTTGAGAATTCAGTTGCTCTGATTTTGAATATAGTATAAGAATTAATTTTTTAACTATAGTATTTGA  
ATCTCTTTAGAGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAATTGAGGAAA

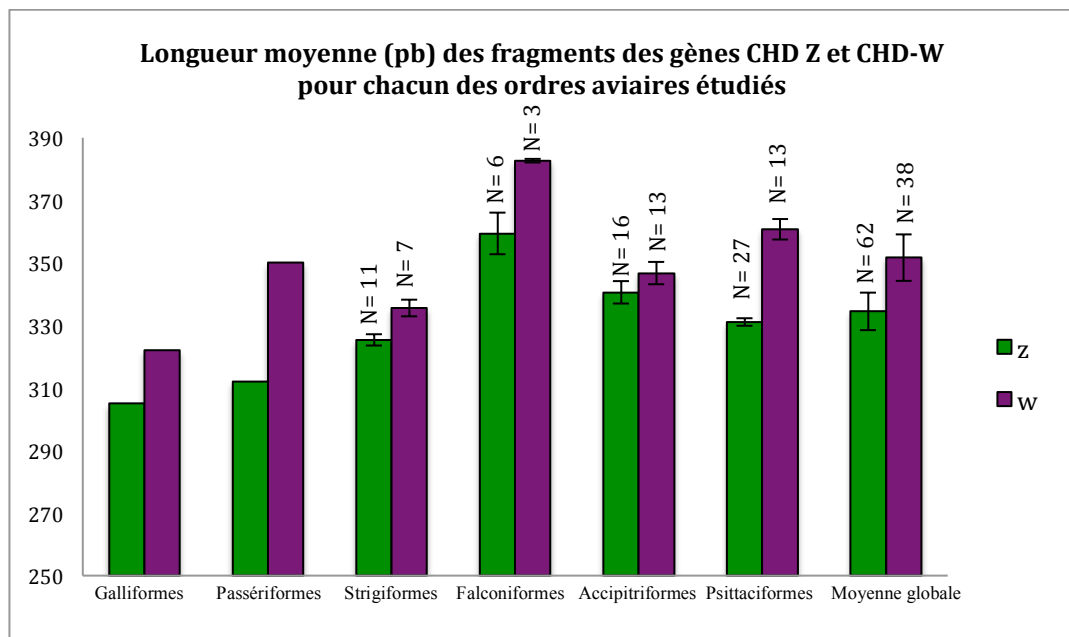
**>B.PLATYPTERUS : ORGANISM=BUTEO PLATYPTERUS, BROAD WINGED HAWK CHD-Z**  
ACGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGAATGCTGGACATCCTAGCAGAGTATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTTCAGGTAAGAGCTTGGTAGTAGCCAAGAACTTGGTAGTAGCCAAGAACTTTAATCTTGAATATAAAAAACAAAAACA  
AAACAAATCTTTTCTTTACTCTGAGGCTGACAGAGCACTGGAACAAGTTGCTGGAGGTTATGGAATCTCCATCCTCTGTGAC  
ATTCAAAAGCCACCTGGGCATGACCTTGGCAACCTGCTTTAGCTGTTGTGCTGAGTAGGCGGGTTAGACAAGACGATAGC  
CAGAGGTCCTTCCAATATCAGCTAGTTTGTGATTTATGTGATCTGCACCCTTCGCTTAAAGAAAAGATACAGAAAATGTGTT  
CTTTTCTAGAAAAGACTGGCAATTGCTATATGCTAACCACTATTTTGAAGTGAACAGATGAATTAATAATTAATGTGAAGTG  
TTGCATTACTTTTTTTTCTTACATAACAGTTTTTGGCAGTTGAGAATTCAGTTGCTCTGATTTTGAAGATAGTATAAGAAT  
TATTTTTTAACTATAGTATTCATCTCTTTAGAGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAATTGAGGAAA

**>C.AURA : ORGANISM=CATHARTES AURA, TURKEY VULTURE CHD-Z**  
GCGTGGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCACAGATGGTGAGGATGCTGGACATCCTAGCAGAGTATCTGAAGTATCGTCAGTTTC  
CCTTTTCAGGTAAGAGCTTGGTAGTAGCCAAGAACTTTGATCTTGAATATAAGGAAAAATCTTTTCTTTAGTCTGAGGGT  
GACAGAGCACTGGAACAAGTTGTCAGAGGTTATGGAATCTCCATGCTCTGTGACATTCAAAACCCACCTGGACATGACCTTG  
GGCAACCTGCTTTAGCTGTCCCTGCTGAGTAGGGATGTTAGACAAGATGACCTCCAGAGGTCCCTTCCAACCTCAACTGGTT  
TGTAATTATGTGATCTTTACCCTTTGCTTAAAGAGAAGATATAAGAAAATGTGTTCTTTTCTAGAAAAGACTGGCAATGCTG  
TATGCGAAAATAGTATTTTGAATGAAACAGATGAATTAATAATTAATGATGCGAAGTGTGTCATTACATTTTTTTTCTTACATA  
AGTTTTGGCAGTTGAGAATTCAGTTGCTCTGATTTTGAATGTAGTATAAGAATTAATTTTCACTGCAGTATTCATCTCTT  
TAGAGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAATTGAGGAAA

## 1.2 Longueur CHD-Z et -W des fragments séquencés (pb)

La figure 6 (ci-bas) illustre la moyenne de la longueur des fragments des gènes CHD-Z (représentée en vert) et celle de CHD-W (représentée en mauve) pour les différents ordres d'oiseaux étudiés. Pour les fragments des gènes CHD-Z, les Galliformes (un seul représentant ; *Gallus gallus*) ont une longueur de 305 pb; les Passeriformes (un seul représentant ; *Corvus brachyrhyncos*) de 312 pb; les Strigiformes ont une longueur moyenne de 325 pb avec un écart-type de 4; les Accipitriformes de 341 pb (écart-type de 7); les Psittaciformes de 331 pb (écart-type de 2) et finalement, les Falconiformes ont une longueur moyenne de 360 pb (écart-type de 13). La moyenne pour toutes les espèces analysées dans cette étude

est de 335 pb pour le CHD-Z séquencé. En ce qui concerne la moyenne de la longueur des fragments des gènes CHD-W, les Galliformes (un seul représentant ; *Gallus gallus*) ont une longueur de 322 pb; les Passeriformes (un seul représentant ; *Corvus brachyrhyncos*) de 350 pb; les Strigiformes ont une longueur moyenne de 336 pb (écart-type de 6); les Accipitriformes de 347 pb (écart-type de 7); les Psittaciformes de 361 pb (écart-type de 7); et finalement, les Falconiformes ont une longueur moyenne de 383 pb (écart-type de 1). La longueur moyenne pour le W, pour toutes les espèces analysées dans cette étude, est de 352 pb et elle est plus élevée que celle du CHD-Z pour tous les ordres. La différence entre la longueur moyenne des fragments CHD-Z et CHD-W chez les Psittaciformes est plus grande comparativement aux Strigiformes et aux Accipitriformes.



**Figure 6.** Longueur moyenne (pb) des fragments des gènes CHD-Z et CHD-W pour chacun des ordres aviaires étudiés. La longueur moyenne des CHD-Z de chacune des espèces est représentée en vert pour chacun des ordres étudiés (Galliformes, Passeriformes, Strigiformes, Falconiformes, Accipitriformes et Psittaciformes). La longueur moyenne des CHD-W des divers ordres est illustrée en mauve.

La figure 7 (p :87) représente la longueur de la portion du gène CHD-Z et du gène CHD-W séquencée à l'aide des amorces P2/P8 pour les différentes espèces utilisées dans cette étude. Les différents ordres analysés (Psittaciformes, Accipitriformes, Strigiformes et Falconiformes) ont des longueurs de séquences (Z et W) qui se rapprochent au sein des espèces du même ordre.

Les Strigiformes, représentés en vert dans la figure 7, détiennent longueur moyenne pour la portion du gène CHD-Z séquencé de 325 pb (figure 6). Parmi ceux-ci (N=11), 5 espèces ont des fragments de longueur identique avec 327 pb et 2 avec 328 pb. Un des oiseaux de cet ordre, *Aegolius acadicus*, ressort du lot avec une longueur de CHD-Z de 316 pb, ce qui entraîne un écart-type à la hausse. Pour ce qui est de la portion du gène séquencée de CHD-W (figure 7, en blanc), les Strigiformes détiennent une longueur moyenne (voir figure 6) de 336 pb et parmi ceux-ci (N=7), 2 espèces ont un fragment identique avec 332 pb et 2 autres avec 335 pb. Un des oiseaux de cet ordre, *Tyto alba*, s'éloigne de la moyenne avec une longueur du fragment CHD-W amplifié de 347 pb, ce qui est plus près de la longueur moyenne pour les Accipitriformes.

Les Psittaciformes, en jaune dans la figure 7, ont une longueur moyenne du fragment CHD-Z de 331 pb (figure 6) dont 9 d'entre eux (N= 27) ont une longueur de 331 pb et 13 de 332 pb. Cette fois-ci, deux oiseaux ont une longueur de fragment qui s'éloigne de la moyenne et qui augmente encore une fois l'écart-type. *Myiopsitta monachus* et *Cyanoramphus novaeseelandiae* ont respectivement une longueur de fragment de 322 et 326 pb qui sont des longueurs qui se rapprochent plus de l'ordre des Strigiformes. L'écart-type de 2 diminue à 1 sans ces deux valeurs. En ce qui concerne la longueur moyenne de fragments CHD-W, représentés en blanc dans la figure 7, elle est pour les Psittaciformes de 361 pb (voir figure 6). Trois d'entre eux (N= 13) ont une longueur de 358 pb, 3 de 359 pb et 3 de 366 pb pour ne nommer que ceux qui ont des longueurs de fragment identiques. Cette fois-ci, un seul oiseau a une longueur de fragment qui s'éloigne

de la moyenne, *Pyrhura frontalis* avec une longueur de 379 pb (près de la moyenne obtenue pour les Falconiformes).

Les Accipitriformes, démontrés en bleu dans la figure 7, ont une moyenne de longueur de CHD-Z de 341 pb (N=16) (voir figure 6). Ils ont des séquences avec des longueurs plus dissemblables, mais tout de même près de la moyenne. En effet, deux oiseaux ont une longueur de fragment de 336 pb, deux autres de 342 pb, deux de 343 pb, trois de 344 pb et finalement deux de 346 pb pour ne nommer que ceux qui ont des longueurs similaires. Encore une fois, deux oiseaux ont une longueur de fragment qui s'éloigne de la moyenne. *Pandion haliaetus* et *Accipiter gentilis* détiennent respectivement une longueur de fragment de 322 et 327 pb, ce qui est plus près des Strigiformes. Sans ces données, l'écart-type passe de 4 à 7. Les Accipitriformes ont une longueur moyenne de CHD-W de 347 pb (N=13) (voir figure 6). Ils ont des séquences de CHD-W, en blanc dans la figure 7, avec des longueurs identiques pour plusieurs espèces (4 = 343 pb et 6 = 344 pb). Deux oiseaux ont une longueur de fragment qui s'éloigne de la moyenne : *Pandion haliaetus* et *Cathartes aura*. Ils détiennent respectivement une longueur de fragment de 358 et 366 pb ; plus près des Psittaciformes.

Finalement, les Falconiformes (en mauve dans la figure 7) détiennent la plus grande longueur moyenne de fragments pour le CHD-Z avec une moyenne de 359 pb (N=6) (figure 6). Le *Falco peregrinus* détient un fragment de gène de 333 pb qui se rapproche plus de la moyenne des Psittaciformes que de celle de son propre ordre. De plus, les Falconiformes détiennent la plus grande longueur moyenne de fragments également pour le CHD-W (en blanc dans la figure 7) avec 383 pb (N=3 et écart-type de 1).

Les tests statistiques démontrent qu'il y a plus de variation de longueurs de fragments chez les Falconiformes que chez les autres ordres. De plus, il y a une différence significative entre les moyennes de longueurs des différents ordres comparés entre eux et entre les moyennes de longueurs des fragments Z et W au sein d'un même ordre (voir annexe 5).



### 1.3 Homologie CHD-Z et -W des fragments séquencés (%)

L'homologie entre deux séquences d'ADN est le reflet de la séquence, mais aussi de la longueur de la séquence. La figure 8 (p :89) illustre le pourcentage moyen d'homologie entre le CHD-Z et le CHD-W d'une même espèce ainsi que le pourcentage moyen d'homologie entre tous les Z et tous les W retrouvés pour toutes les espèces étudiées des divers ordres aviaires. Le graphique représente les espèces séquencées des ordres suivant : Psittaciformes, Accipitriformes, Strigiformes et Falconiformes.

Le pourcentage moyen d'homologie entre la portion du gène CHD-Z et celle du CHD-W pour les espèces de l'ordre des Strigiformes est 68,7 % avec un écart-type de 2,2 (N=7). Ce même pourcentage est 58,2 % pour les Psittaciformes avec un écart-type de 3,22 (N=13), il est 69 % pour les Accipitriformes avec un écart-type de 2,1 (N=13) et finalement le pourcentage moyen d'homologie est 55,6 % pour les Falconiformes avec un écart-type de 5,3 (N=3). La poule (*Gallus gallus*) de l'ordre des Galliformes détient 42,09 % d'homologie entre son CHD-Z et son CHD-W. Pour sa part, la corneille (*Corvus brachyrhynchos* ; Passériformes) a une ressemblance de 54,29 % entre son CHD-Z et son CHD-W. Au total, la moyenne d'homologie entre le Z et le W pour toutes les espèces étudiées est de 58 %.

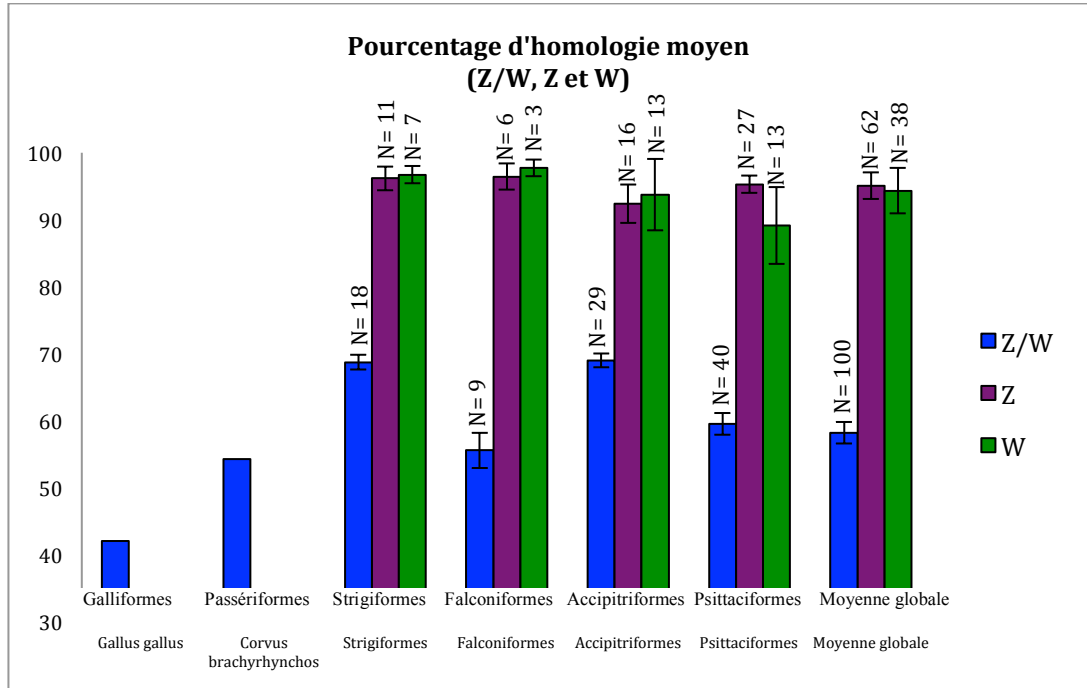
La moyenne d'homologie des CHD-Z est 96,44 % pour les espèces de l'ordre des Falconiformes avec un écart-type de 3,87 (N=6) et il est 95,30 % pour les Psittaciformes avec un écart-type de 2,63 (N=27). Pour les Accipitriformes ce pourcentage est 92,41 % avec un écart-type de 5,75 (N=16) et il est 96,17 % pour les Strigiformes avec un écart-type de 3,52 (N=11). Au total, la moyenne d'homologie de tous les CHD-Z chez tous les individus est de 95 %.

En ce qui concerne le CHD-W, le pourcentage moyen d'homologie est 96,72 % pour les espèces de l'ordre des Strigiformes avec un écart-type de 2,55 (N=7) et il est 89,14 % pour les Psittaciformes avec un écart-type de 11,45 (N=13). Ce pourcentage moyen d'homologie est 93,74 % pour les Accipitriformes avec un

écart-type de 10,63 (N=13) et il est 97,74 % pour les Falconiformes avec un écart-type de 2,5 (N=3). La moyenne d'homologie des CHD-W chez tous les individus est de 94 %. Il est à noter que les séquences de CHD-Z ont plus d'homologie entre les espèces qu'avec les séquences de CHD-W au sein d'une même espèce. De la même manière, les séquences CHD-W détiennent plus d'homologie entre les espèces qu'avec les séquences de CHD-Z de la même espèce.

Les tests statistiques révèlent qu'il y a moins de variation de l'homologie des fragments chez les Strigiformes que chez les autres ordres. De plus, il y a une différence significative entre les moyennes d'homologie des ordres chez seulement quelques-uns d'entre eux. Pour la moyenne d'homologie des fragments CHD-W, il y a une différence significative entre les Psittaciformes et les Falconiformes ( $p=0,01$ ) ainsi qu'entre les Strigiformes et les Psittaciformes ( $p=0,0003$ ). En ce qui concerne les moyennes d'homologie des fragments CHD-Z, il n'y a aucune différence significative entre les divers ordres étudiés. La moyenne d'homologie des fragments CHD-Z et CHD-W a également été comparée au sein de leur ordre respectif et une différence significative a été remarquée seulement pour la moyenne d'homologie des CHD-Z et CHD-W pour l'ordre des Psittaciformes ( $p=0,002$ ) (voir annexe 6).





**Figure 8. Pourcentage d'homologie moyen (Z/W, Z et W).** L'homologie entre la portion du gène CHD-Z et CHD-W est représentée en bleu sous forme de moyenne pour chacun des ordres étudiés (Galliformes, Passeriformes, Strigiformes, Falconiformes, Accipitriformes et Psittaciformes). Le pourcentage moyen d'homologie entre les CHD-Z des divers ordres est illustrée en mauve tandis que celui du CHD-W qui y est démontrée en vert.

## 2. Identification des espèces

### 2.1 COX-1

Au cours de ce travail, les séquences de COX-1 ont servi à l'identification (vérification) des espèces. Ces séquences ont été obtenues à partir des amorces DIA406 et DIA407. Elles ont été soumises dans la banque de données « GenBank ». De plus, de nouvelles séquences (N=60) ont été soumises dans « GenBank » afin de compléter les banques de données génétiques. Pour tous les oiseaux étudiés, les séquences de COX-1 de 944 pb ont été déposées dans « GenBank », sauf pour *F. rusticolus*, pour qui la séquence était déjà présente. Les séquences de COX-1 se retrouvent ci-dessous.

#### **STRIGIFORMES**

##### **>T.ALBA : ORGANISM= TYTO ALBA, BARN OWL COX-1**

```
CCTGTACCTAGTCTCGGGCGATGGGCTGGCATAAGTAGGCACAGCCCTCAGCCTCCTAATCCGGGCAGAAGTAGGACAACCCAG
GAACCCCTCTGGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTCACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTCATGGTAATACCC
ATCATGATCGGGGATTTGGAACTGACTAGTCCCCCTCATAATCGGAGCCCCGGACATAGCATTCCCCGCATAAATAACAT
AAGCTTCTGACTACTTCCCCCTCCTTCTGCTACTGCTCGCATCTTCCACAGTTGAAGCCGGAGCAGGCACAGGATGGACTG
TCTACCCACCATTGGCCAGCAACATAGCCACGCCGGGGCCTCAGTTGATCTGGCCATTTTTTCGCTCCACTTGGCAGGTGTC
TCATCCATCCTCGGAGCAATCAACTTCATTACAACCGCCATTAACATAAAAACCCCGGCCCTGTACAGTACAAAACCCACT
GTTTGTATGGTCACTTTCATCACCAGCAATTCCTACTATCGCTCCAGTACTAGCCGGCCGATTACCATGCTCTTAA
CCGACCGAAACCTAAACACCACATCTTTGACCCCTGCCGGGGGAGGGCAGCCCTGTCTGTACCAGCACCTTTTCTGATTCTTT
GGTCAACCCAGAAGTGTACATCCTAATCCTC
```

##### **>B.VIRGINIANUS : ORGANISM= BUBO VIRGINIANUS, GREAT HORNED OWL COX-1**

```
CCTATACCTAATCTTCGGGGCATGAGCAGGAATAGTTGGCACTGCCCTTAGCCTACTCATCCGAGCCGAAGTAGGACAACCTG
GAACCCCTCTTGGCGATGACCAAATCTACAATGTAATCGTCAACCCCATGCCTTCGTAATAATCTTCTTCATGGTCATAACA
ATCATGATTGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCCCTAATAATCGGAGCCCCGGACATGGCCTTCCCCGCATGAACAATAT
GAGCTTTTGGACTACTCCACCCCTACTCCTACTCCTACTAGCCTCCTCCACCGTAGAAGCTGGAGCAGGTACAGGATGGACCG
TCTACCCCCACTGGCTGGCAACCTGGCCACGCAGGGCCCTCAGTAGACCTGGCCATCTTCTCCCTCCATCTGGCTGGAGTG
TCCTCCATCCTAGGGCAATTAACTTCATCACCCTGCCATTAACATAAAAACCCCGGCCACTGTACAATACCAAACCCCTT
ATTTGTATGATCCGTCCTCATCACCCTGTTCTCCTCCTATTATCACTCCAGTCTCGCTGCTGGCATTACCATGCTACTGA
CTGACCGTAACCTAAACACCACATCTTTCGACCCCGCCGGGAGGGCAGCCCGTCTATACCAACACCTTCTTCTGATTCTTT
GGTCAACCCGAAGTCTATATCCTAATCCTT
```

##### **>B.BUBO : ORGANISM=BUBO BUBO, EURASIAN EAGLE-OWL COX-1**

```
CCCTCTACCTAATCTTCGGGGCATGAGCAGGCATAGTTGGCACTGCCCTCAGCCTACTTATCCGAGCCGAAGTAGGACAACCC
GGGACCCCTCTTGGCGACGACCAAATCTACAACGTAAGTTGTCAACCCCATGCCTTTGTAATAATCTTTTATGGTCATACC
CATCATGATCGGAGGATTTGGAACTGATTAGTCCCACTAATAATTTGGAGCCCCAGACATAGCCTTCCCCGCATAAACAACA
TAAGCTTCTGACTACTCCACCCCTACTCCTACTCCTACTAGCCTCCTCCACTGTAGAAGCCGGAGCGGGCACCAGGATGAAC
GTCTACCCCCATTAGCTGGCAACCTAGCCATGCGGGCCCTCAGTAGACCTGGCTATCTTCTCCCTCCACTTGGCTGGAGT
ATCATCCATCCTAGGGCAATTAACTTCATCACCCTGCCATTAACATAAAAACCCCGGCCCTGTACAATACCAAACCCCTT
TATTTGTATGATCTGTCCTCATCACCCTGTTCTCCTCCTACTATCCCTCCAGTTCTCGCCCGCCGATTACCATACTACTA
ACCGACCGCAACTTAAACACCACATCTTTCGACCCCGCCGGAGGGGGCAGCCCAATCCTATATCAACACCTTCTTCTGATTCTT
CGGCCACCCAGAAGTCTACATCCTAATCCTCCAGGATTTGGAATTTATCTCCACGTTAGTTCGCTACTACGCAGGCAAAAAAG
AACCATTCGTTACATGGGCATAGTCTGGCCATACTGTCAATCGGATTCTTAGGCTTTATTTGTATGAGCCACCATATATTT
ACAGTAGGCATAGATGTAGACACTCGACCTACTTACATCCGCCACCATAATCATCGCCATCCCCACAGGAATTAAGTCTT
CAGCTGACTCGCTACTCCACGGAGGACC
```

**>B.SCANDIACUS : ORGANISM= BUBO SCANDIACUS, SNOWY OWL COX-1**

CCCTATACCTAATCTTCGGGAGCATGAGCAGGCATAGTCGGCACCCGCTCAGCCTACTCATCCGAGCCGAACCTAGGCCAACCC  
GGAACCCCTTCTGGTGACGACCAGATCTACAATGTAGTTGTCACCGCCCATGCTTCGTAATAATCTTCTTCATGGTCATACC  
AATCATGATTGGAGGATTTGGAAACTGACTAGTCCCCCTAATAATCGGGGCCAGACATAGCCTTCCCCCGCATAAAACAATA  
TAAGCTTCTGACTACTCCCACCCTCATTCCTCCTCTACTAGCCTCCTCTACCGTAGAAGCTGGGGCAGGCACCCGGATGAACC  
GTCTACCCCCATTAGCTGGCAACCTAGCTACGCGGGCCCTCTGTAGACCTGGCCATCTTCTCCTCCACCTAGCTGGAGT  
ATCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTTTATCACTACTGCCATTAACATAAAAACCCAGCACTATCAACAATACAGACCCCC  
TATTTGTATGATCTGCCTCATCACCGCCGTCTCTCTACTATCACTCCCAGTCTCGCCGCTGGCATCACCATGCTACTA  
ACTGACCGCAACCTAAACACCACATTTCTCGACCCCGCGGGGAGGCGACCCAGTCTATACCAACACCTTCTTGATTTCT  
CGGCCACCCGGAAGTCTACATCCTAATCCTCCAGGCTTTGGAAATCATCTCCACGTAGTCGCCCTACTATGCAGGTAAAAAG  
AACCATTTGGCTACATGGGCATAGTCTGAGCCATACTATCAATTGGATTCTGGGGTTTATTGTATGGGCCACCCACATATTC  
ACAGTAGGTATGGACGTGGACACCCGAGCCTACTTCACATCTGCCACCAATAATCATCGCCATCCCAACAGGAATTAAGTCTT  
CAGCTGACTGGCTACTTACGGAGAAC

**>M.ASIO : ORGANISM= MEGASCOPS ASIO, EASTERN SCREECH-OWL COX -1**

CCCTATACCTAATCTTTGGTGACATGAGCAGGAATAGTTGGTACTGCCCTTAGCCTCCTCATCCGAGCCGAATTAGGACAACCA  
GGGACACTCCTGGGGATGACCAAACTATAATGTAACTGTTACCGCCACGCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATGATCGGGGATTTGGAAACTGATTAGTCCCACTGATAATCGGAGCCCAAGACATGGCCTTCCCCCGCATAAAACA  
TAAGCTTTGACTACTCCCACCATCATTCTGCTTACTAGCCTCCTTACAGTAGAAGCTGGGGCAGGCACCTGGGTGAACA  
GTATACCCCCATTGGCCAGCAACCTAGCCACGCGGGCCCTCAGTTGACCTCGCCATCTTCTCATTACATCTAGCCGGGT  
GTCATCTATCTAGGTGCAATCAACTTTATCACCCTGCCATCAACATAAAAACCCCATCCTAACCCAATACCAAAACCCCC  
TATTTGTATGATCAGTCTCATCTGCTATCCTCCTCTACTATCCCTCCAGTACTCGCTGCAGGCATCACCATGTTGCTA  
ACGGACCCCAACTGAACACTACGTTCTTTGACCCCTGCTGGCGGAGCGAACCTGTATTATACAGCAGCCTTCTGTTCTT  
TGGTCACCCGGAAGTTTATATCCTCATCCTCCCTGGCTTCGGAATATCTCTCACGTAGTAGCCTACTATGCAGGCAAAAAAG  
AGCCATTCGCTACATAGGCATAGTCTGAGCCATGTTATCTATTGGATTCTTAGCCTTTTATTGTATGAGCCCATCACATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGTGGACACCCGAGCCTATTTACATCCGCCACCATAATCATTTGCAATCCCAACGGGAATTAAGTATT  
CAGCTGACTAGCCACCTCCACGGAGAAC

**>A.FLAMMEUS : ORGANISM= ASIO FLAMMEUS, SHORT-EARED OWL COX-1**

CCTTATACTAATCTTTGGTGACATGAGCCGGCATGGTTGGCACTGCCCTAAGCCTGCTCATCCGAGCTGAACTAGGTCAACCC  
GGAACACTCCTAGGCGATGACCAGATCTATAATGTAGTAGTCACCGCCCATGCTTCGTTATAAATCTTCTTCATAGTCATACC  
TATCATAAATGGCGGATTTGGAAACTGACTAGTCCCCCTAATAATTTGGAGCCCAAGACATAGCCTTCCCACGCATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTCCCACCCTCATTCCTTCTCTTAGCCTCTTCCACAGTAGAAGCCGGAGCCTACAGGATGAAC  
GTCTACCCCTCAGCAGCAACCTAGCCACGCGAGGCTTCCAGTAGACCTAGCAATTTCTCCCTCAGCTTGTGGAGT  
ATCCTCTATTTAGGTGCAATCAATTTCTATCACCACCTCCATCAACATAAAAACCCAGCCCTCTCACAAATACAAACCCCC  
TATTTGTATGATCGGTCCTTATCCTGCAATCCTTCTTACTATCACTCCAGTCTCGCTGCAGGCATCACCATACTACTG  
ACAGACCCGAACCTAAACACCACATTTCTCGACCCAGCTGGCGGAGGTGACCCATTTCTCTACCAGCACCTATTTGATTTCT  
TGGTCACCCGGAAGTCTACATCCTCATTTCTACAGGTTTCGGAATCATCTCCACGTAGTAGCCTACTATGCAGGCAAGAAAG  
AACCATTTGGCTATATGGGCATAGTTGAGCCATGCTATCTATCGGATTCCTAGGTTTCATTTGTCTGAGCCACCCACATATTC  
ACAGTGGCATAGACGTAGATACCCGAGCCTATTTTACATCCGCCACCATAATCATTTGCCATCCCTACAGGAATTAAGTCTT  
TAGCTGATTAGCCACTTCCACGGAGAAC

**>A.OTUS : ORGANISM= ASIO OTUS, LONG-EARED OWL COX-1**

CCTTATACTAATCTTCGGTGACATGAGCCGGCATGGTTGGTACCGCCCTCAGCCTACTCATCCGGGCTGAACTAGGTCAACCC  
GGAACACTTCTAGGCGATGACCAGATCTATAATGTAGTAGTTACCGCCACGCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTCATACC  
TATCATGATTGGTGGTTTCGGAATTTGATTAGTCCCAATTAATAATTTGGAGCCCAAGACATAGCCTTCCCGGCTATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTTCTTCCCCCTCATTCTACTTCTACTAGCCTCCTCCACAGTAGAAGCAGGAGCAGGCACAGGATGGACC  
GTCTACCCCCACTAGCCAGCAACCTAGCCATGCAGGAGCCTCAGTAGACCTAGCAATTTTCTCCTCCATCTGGCTGGGT  
ATCCTCTATCCTAGGTGCAATCAATTTCTATCACCACCCGCTCAACATAAAAACCCCAACCCATACAGTACCAAAACCCCC  
TATTTGTATGGTGGTCTTATCCTGCAATCCTGCTACTACTACTACTACTACTACTACTACTACTACTACTACTACTACTACTA  
ACCGACCGCAACCTAAATACCACATTTCTCGACCCAGCTGGCGGAGGTGACCCATCTCTCTACCAACACCTATTTCTGATTTCT  
CGGCCACCCAGAGGTCTACATCCTCATTTCTCAGGATTTGGAAATTTATCTCCACGTGGTAGCTTACTACGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTCGGTTACATGGGCATGGTCTGAGCAATACTATCAATTGGATTTCCTAGGTTTCATCGTCTGAGCCCATCACATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCCTATTTTACATCCCGCTACCATAAATCATTTGCCATCCCAACAGGGATCAAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCCACTTCCATGGAGAAC

**>A.ACADICUS : ORGANISM= AEGOLIUS ACADICUS, NORTHERN SAW-WHET OWL COX-1**

CCCTATACCTCATCTTCGGGCGCATGAGCCGGCATAGTAGGAACAGCCCTCAGTCTACTCATCCGGGCTGAACTAGGTCAACCC  
GGCACACTCCTTGGAGACGACCAAACTATAATGTAAATTTGAACCGCCACGCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTCATGCC  
TGTCATGATTGGAGGATTCGGTAACTGACTTGTACCCCTGATAATCGGAGCCCGGACATGGCCTTTCACGCATAAAACA  
TAAGTTCTGACTGCTACCCTCCTTTTACTCCTCTAGCTTCTCCTCACCCTAGAAAGCCGGAGCAGGTACAGGATGAACA  
GTCTACCCCCATTAGCCAGCAACCTAGCCACGCTGGAGCCTCAGTAGACCTGGCTATTTTCTCCTTACACCTGGCCGGAGT  
CTCCTCTATCCTAGGAGCAATTAACCTTTATCAACCCGCTCAACATAAAAACCTCCATCCTGTCACAATATCAAAACCCAC  
TATTCGTATGATCTGACTCATCTGCTATCCTCTACTGCTATCTCTCCAGTACTAGCTGCAGGAATACCATACTCTCTC  
ACAGATCCGAACCTAAACACCACATTTCTTTGACCCCGCTGGCGGGGTGACCAATCCTCACTACCAACCTTTCTGATTTCT  
CGGACACCCGGAAGTATACATCCTCATTTTACCAGGTTTCGGAATTTATCTCGCACGTAGTAGCCTACTATGGGGCAAAAAAG  
AGCCATTCGCTACATAGGCATAGTGTGAGCCATACTGTCAATTGGCTTCTGGGCTTTTATTGTATGAGCACATCATATATTC  
ACAGTGGCATAGACGTGACACCCGAGCATACTTCACATCCGCCACCATAATCATCGCCATCCCAACTGGCATCAAAGTATT  
CAGCTGACTAGCCACTCTGCACGGAGGAC

**>S.VARIA : ORGANISM= STRIX VARIA, BARRED OWL COX-1**

CCCTTATCTAGTCTTCGGCACATGAGCCGGTATAGTTGGCACCCGCTTAGCCTGCTCATCCGAGCCGAACCTGGGTCAACCC  
GGGACTCTCTAGGCGACGACCAAACTATAATGTAATCGTCACCGCCATGCTTTGTAATAATTTCTTTATGGTCAATGCC  
AATCATGATCGGAGGATTTGGAACTGGCTAGTTCCGCTAATAATCGGAGCCAGACATGGCCCTCCCCCGTATGAACAACA  
TAAGTCTCTGACTTCTCCACCCTCATCTCTACTCTGCTAGCCTCCTCTACAGTAGAAGCCGGAGCAGGTACCGGGTGAAC  
GTCTACCCCCACTAGCCAGCAACCTAGCCACGCTGGAGCCTCAGTAGACCTGGCCATTTCTCTCCACCTAGCAGGGGT  
ATCCTCCATCCTCGGGCAATCAACTTTATTACCACCGCTATTAACATAAAAACCCCATCCCTATCACAGTACCAAAACCC  
TGTTTGTGTTGATCTGTTCTCATCACCGCCATTTCTCTACTCCTATCGCTCCAGTCCCTGCTGCAGGCATCACCATACTA  
ACTGACCGCAACCTAAACACTACATTTCTCGACCTGCTGGGGAGGCGACCCAGTCTGTATCAGCACCTCTTTGATTTCT  
CGGACACCCGAACTACATCCTTATCCTGCGGGCTTTCGGAATCATCTCTCACGTAGTAGCCTACTACGCAGGTAAAAAG  
AACCATTCGGCTACATGGGCATAGTTTGGCCATACTATCGATCGGATTCCTAGGCTTTATCGTATGGGCCCATCACATATT  
ACAGTAGGAATAGAGTAGACACCCGAGCCTACTTTACATCCGCCACCATAATCATTTGCCATCCCTACTGGAATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGTACCCTCCACGGAGGACC

**>S.NEBULOSA : ORGANISM= STRIX NEBULOSA, GREAT GREY OWL COX-1**

CCCTCTATCTAGTCTTTGGCACATGAGCTGGCAGTACGCGCACTGCCCTTAGCCTACTCATCCGAGCCGAACCTAGGCCAACCC  
GGGACTCTCTAGGAGGATCAAACTTACAACGTAATCGTTACCGCTCATGCCCTTTGTAATAATTTCTTTCATGGTCAATACC  
CATCATGATCGGAGGGTTTGGAACTGACTGGTCCCCTAATAATTTGGAGCCAGACATGGCCCTTCCCCGTATAAAATAACA  
TAAGTCTTTGACTCCTCCACCCTATTTCTACTCTACTAGCCTCCTCTACAGTAGAGGCTGGAGCAGGCACCGGATGAAC  
GTCTACCCCCACTAGCCAGCAACCTAGCCACGCTGGAGCCTCAGTAGATCTGGCCATCTTTCCCTCCACCTAGCCGGAGT  
GTCATCCATCCTAGGAGCAATCAACTTCACTACCCTGCCATCAACATAAAAACCCCATCCCTATCGCAATACCAAAACCCCTC  
TATTTGATGATCGGCTCCTCATCACTGCTATTTCTCTACTCCTATCCCTCCAGTCTCGCTGCAGGCATCAATACTACTA  
ACTGACCCCAACTAAATACCACTTTCTTCGACCTGCTGGCGGGCGATCCAGTCTTATACCAACCTCTTCTGATTTCTT  
TGGGCACCCAGAAGTCTACATCCTCATCTACCAGGCTTCGGAATCATCTCCACGTAGTAGCCTACTACGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTTGGCTACATGGGCATAGTCTGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGCTTTATCGTATGAGCCACCATATATTC  
ACAGTCGGAATAGAGTAGACACCCGAGCCTATTTACATCTGCCACCATAATCATTTGCCATCCCCACGGGAATTAAGTCTT  
CAGTACTAGTACCCTCCACGGAGGACC

**>S.ULULA : ORGANISM= SURNIA ULULA, NORTHERN HAWK OWL COX-1**

CCCTTACCTAATTTTGGTGCATGGCCGGCAGTAGTAGGAACAGCCCTAGCCTACTCATCCGAGCTGAACTTGGACAACCA  
GGAACCCCTAGTGGGGGACGACCAAACTACAACGTAAGTCTGCTGACCCATGCCCTTCGTGATGATCTTCTTCATAGTTATACC  
AGTTATGATCGGGGCTTTGGAACTGGCTAGTCCCACTAATAATCGGAGCCAGACATGGCCCTCCCCCGCATAAAACAACA  
TAAGTCTTCTGATTACTACCCCTCCTTCTACTCCTTCTAGCCTCCTCTACAGTAGAAGCCGGAGCCGCTACTGGATGAACT  
GTCTACCCCTCTAGCCAGCAACATTTGCCACGAGGACCTCAGTTGATCTAGCTATCTTCTCCCTCCACCTAGCCGGAGT  
ATCCTCCATCCTAGGGGCCATTAACCTTCACTACAACCGCCATCAACATAAAAACCTATCCCTTCAACAATACCAAAACCC  
TCTTTGTGATGATCTGACTACTTACTGCTCCTTCTACTATATCCCTCCCGTCTTAGCTGCAGGAATACCATGCTCCTC  
ACGACCCGCAACTTAAACACCACTTCTTTGACCCAGCTGGGGGGCGGACCCCTATCCTATACCAACACCTATTCTGGTTCTT  
CGGGCACCCAGAAGTTACATCCTTATCCTTACTCTGGCTTCGGAATCATCTCACAGTGGTAGCCTACTACGCAGGTAAAAAG  
AACCTTTTGGCTACATGGGCATAGTCTGGGCTATACTATCAATCGGGTTCCTAGGCTTCATCGTATGAGCACACCATATGTTT  
ACAGTGGGCATAGATGTGGATACCCGTGCTACTTCACTCAGCTACCATAATTTATGCAATTCACAGGCATTAAGTATT  
TAGCTGATTAGTACCCTCCATGGCGGACC

**FALCONIFORMES**

**>F.RUSTICOLUS : ORGANISM= FALCO RUSTICOLUS, GYRFALCON COX-1**

CTACTCTTCGGAGCATGAGCAGGCATAGTCCGCACTGCCCTTAGCCTCCTTATTGAAACAGAACTTGGCCAAACCGGACTCT  
CCTAGGAGATGACCAAACTACAATGTCAATGTCACCGCCATGCTTCGTAATAATCTTTTTCATAGTCATACCATTATGA  
TCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCCCTTATAATTTGGAGCCAGACATAGCATTCCCCCGCATAAAACAACATGAGTTTC  
TGACTGCTCCCCATCCTTTCTACTACTCTAGCATCTTCCACAGTAGAAGCCGGAGTTGGAACAGGATGAACCGTATACCC  
CCCCCTAGCAGGCAACCTAGCCATGCCGGTGTCTCAGTAGACCTCGCCATTTCTCCTACACCTTGCAGGTGATCTTCCA  
TCTTAGGGGCAATCAACTTTATCAACAACGACCTTAAACATAAAAACCCCGCCCTATCAACAATCAAAACCCCACTATTGTA  
TGATCCGTACTTATCAGCCGTACTCCTGCTTCTCTACTTCCAGTTCCTAGCTGCTGGCATCACCATACTACTAACCGACCC  
AAACCTAAACACTACATTTCTGACCCCGCGGAGAGGAGACCCATTCTATCAACACTTATTC

**>F.CHERRUG : ORGANISM= FALCO CHERRUG, SAKER FALCON COX-1**

CCCTATACCTACTCTTCGGAGCATGAGCAGGCATAGTCCGCACTGCCCTTAGCCTCCTTATTGAAACAGAACTTGGCCAAACCA  
GGGACTCTCTAGGAGATGACCAAACTACAATGTCAATGTCACCGCCATGCTTCGTAATAATCTTTTTCATAGTCATACC  
CATTATGATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCCCTTATAATTTGGAGCCAGACATAGCATTCCCCCGCATAAAACAACA  
TGAGTTTCTGACTGCTCCCCCATCCTTTCTACTACTCTTAGCATCTTCCACAGTAGAAGCCGGAGTTGGAACAGGATGAACC  
GTATACCCCCCTTAGCAGGCAACCTAGCCATGCCGGTGTCTCAGTAGACCTCGCCATTTCTCCTACACCTTGCAGGTGT  
ATCTTCCATCTTAGGGCAATCAACTTTATCAACAACGACCTTAAACATAAAAACCCCGCCCTATCAACAATCAAAACCCCA  
TATTCTGATGATCCGTAATCCTACTTATCAGCCGCTACTCCTGCTTCTCTGCTTCCAGTTCCTAGCTGCTGGCATCACCATACTA  
ACCGACCGAAACCTAAACACTACATTTCTCGACCCCGCGGAGGAGACCCATTCTCTATCAACACTTATTTCTGATTTCT  
CGGCCACCCGAAAGTTACATCCTAATCCTCCCTGGCTTTGGAATCATCTCACAGTAGTAACATATTACGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTCGGCTATATAGGAATAGTCTGAGCTATACTATCAATTTGATTCCTAGGCTTTATGATGAGCCACCATATTC  
ACCGTAGGAATAGATGAGACACCCGAGCATATTTCACTTCCGCTACTATAATCATCGCTATCCCAACCCGATTAAGTATT  
CAGCTGACTAGCAACTACATGGAGGACC

**>F.BIARMICUS : ORGANISM= FALCO BIARMICUS, LANNER FALCON COX-1**

CCCTATACCTACTCTTCGGAGCATGGGCAGGCATAGCCGAGTACGCCCTCAGCCTCCTTATTCGAGCAGAAGCTGGCCAACC  
AGGAACCTCTTAGGAGACGACCAAAATCTACAATGTCATCATCACCGCCATGCTTCGTAAGAATCTTCTTCACAGTTATAAC  
CATTATAATCGAAGGGTTTGGAACTGACTAGTCCCTTATAACTGGAGCCCCAGACATAGCATTCCTCCGCATAAACAA  
TCAGTTTCTGAACTACTTCTCCGTCCTCCTACTGCTCCTAGCGTCTCCACAGTAGCAGCTGGAGTCGGAACAGGATGAAC  
CATATACCCGCCCTAGCAGGCAACCTAGCCCATGCTGGCGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCCTACACCTCGCAGGTG  
TGCTTCCATCTTAGGGGCCATCAACTTTAACACAACAGCCATTAACATAACCCCCCTGCCTTATCGCAATATCAAACCCCA  
CTATTCGTATGATCCGTACTTATCACCGCCGTACTCCTGCTTCTCTCACTTCCAGTCTAGCTGCTGGCATCACCATACTACT  
AACCGACCGAAAACCTAAACTACTACTTCTTCGACCCCGCGGAGGAGACCCCATCTCTATCAACACTTATTTCTGATTTCT  
TCGGCCACCCAGAAGTTTACATCCTAATCCTCCCTGGCTTTGGATATATCTCACACGTAGTAACATATTACGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTCGGCTATATAGGAATAGTCTGAGCTATACTATCAATTGGATTCTTAGGCTTTATTGTATGAGCCCATCACATATTC  
ACCGTAGGAATAGATGTAGACACCCGAGCATATTTCACTTCCGCTACTATAATCATCGCTATCCCAACCGGCATTAAGTATT  
CAGCTGACTAGCAACTACATGGGGCACC

**>F.PEREGRINUS : ORGANISM= FALCO PEREGRINUS, PEREGRINE FALCON COX-1**

CCCTATACCTACTCTTCGGAGCATGAGCAGGCATAGTCGGTACTGCCCTAGCCTCCTTATTCGAACAGAAGCTGGCCAACCA  
GGAACCTCTCTAGGAGATGACCAAAATCTACAATGTCATCGTCACGCCCCATGCTTCGTAATAATCTTTTTCATAGTTATACC  
CATTATGATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCTTATAATTTGGAGCTCCAGACATAGCATTTCCCCGCATAAACAA  
TGAGTTCTGACTACTTCCCCCATCTTTTACTGCTCCTAGCATCTTCCACAGTAGAAGCTGGAGTTGGAACAGGATGAAC  
GTATACCCCCCTTAGCAGGCAACCTAGCCACGCGGTCTTCCAGTAGACCTGGCTATCTTCTCCCTACACCTTGCAGGTGT  
ATCTTCCATCTTAGGGGCAATCAACTTTATCACAACAGCCATTAACATAAAACCACCCGCCCTATCACAGTACCAAAACCCAC  
TATTCGTATGATCCGTACTTATTACCGCGTACTCCTACTGCTCCTCACTTCCAGTCTTGGCCGCTGGCATCACCATACTACTA  
ACCGACCAACCTGAACACTACATCTTTCGACCCCGCGGAGGGGAGACCCATTTCTCTATCAACACTTATTTCTGATTTCT  
CGGCCACCCAGAAGTTTATATCCTAATCCTCCAGGCTTTGGAATCATCTCACACGTAGTAACATATTACGCAGGTA AAAAAG  
AACCATTCGGCTATATAGGAATAGTCTGAGCTATACTATCAATTGGATTCTTAGGCTTTATCGTATGAGCCCATCACATATTT  
ACCGTAGGAATAGATGTAGATACCCGAGCATATTTCACTTCCGCCACTATAATCATCGCTATCCCAACCGGCATTAAGTATT  
CAGCTGATTAGCAACTACACGGAGCACC

**>F.SPARVERIUS : ORGANISM= FALCO SPARVERIUS, AMERICAN KESTREL COX-1**

CCCTATACCTACTCTTCGGAGCATGAGCAGGCATAGCCGCGACTGCCCTCAGCCTCCTTATCCGAGCAGAAGCTGGACAACCA  
GGAACCTCTCTAGGAGATGACCAAAATCTACAATGTCATCGTCACCGCCCCAGCCTTTGTAATAATCTTCTTCATAGTTATACC  
CATTATGATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCTTATAATTTGGAGCCCCAGACATAGCGTTTCCACGCATAAACAA  
TAAGCTTCTGACTCTTCCCCCATCTTCTACTACTCTTAGCATCTTCCACAGTAGAAGCTGGGGTTGGGACAGGATGAAC  
GTATACCCCCCTTAGCAGGCAACCTAGCCATGCTGGCGCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCCTACACCTCGCAGGTGT  
ATCTTCCATCTTGGGGCAATCAACTTTATCACAACAGCCATTAACATAAAACCACCCGCCCTATCACAAATACCAAAACCCAC  
TATTCGTATGGTCCGTTCTCATCACGCGCTCCTCTACTGCTTTCCTCCAGTACTAGCTGCGGGCATCACCATACTATTA  
ACTGACCGAAACCTAAACACTACATCTTTGACCCCTGCTGGAGGAGGAGACCCATTTCTCTATCAACACCTGTTCTGATTTCT  
CGGCCACCCAGAAGTCTACATCTTAATTTCCCGGCTTTGGAATCATCTCCCATGTTGGTAGCATATTACGCAGGTA AAAAAG  
AACCATTCGGCTATATAGGAATAGTCTGAGCCATATTTCAATTGGATTCTTAGGCTTTCATCGTATGAGCCACCCACATATTT  
ACCGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTCACTTCCGCCACTATAATCATTCGCTATCCCAACCGGCATTAAGTATT  
CAGCTGACTAGCCACTACACGGAGGAAAC

**>F.COLUMBARIUS : ORGANISM= FALCO COLUMBARIUS, MERLIN COX-1**

CCCTGTACCACTCTTCGGAGCATGAGCAGGTATAGCCGCGACTGCCCTCAGCCTCCTCATTCGAGCAGAAGCTGGACAACCA  
GGAACCTCTCTAGGAGATGACCAAAATCTACAATGTCATCGTCACCGCCCCATGCTTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTTATACC  
CATCATGATTTGGGGGATTTGGAACTGACTAGTCCCTTATAATTTGGAGCCCCAGACATAGCATTTCCCCGCATAAACAA  
TGAGCTTCTGACTACTTCCCTCCATCTTCTACTACTCTTAGCATCTTCCACAGTAGAAGCTGGAGTCGGAACAGGATGAAC  
GTATACCCCCCTTAGCAGGCAACCTAGCCATGCGGGTCCCTCAGTAGACCTGGCCATCTTCTCCCTACACCTCGCAGGTGT  
ATCTTCCATCTTAGGGGCAATCAACTTTCATCAGCAGCCATTAACATAAAACCACCCGCCCTATCACAAATACCAAAACCCAC  
TATTCGTATGGTCCGTTCTCATCACGCGCTCCTCTACTGCTTTCCTCCAGTACTAGCTGCGGGCATCACCATACTATTA  
ACTGACCGAAACCTAAACACTACATCTTTGACCCCTGCTGGAGGAGGAGACCCATTTCTCTATCAACACCTGTTCTGATTTCT  
CGGCCACCCAGAAGTCTACATCTTAATTTCCCGGCTTTGGAATCATCTCCCATGTTGGTAGCATATTACGCAGGTA AAAAAG  
AACCATTCGGCTATATAGGAATAGTCTGAGCCATATTTCAATTGGATTCTTAGGCTTTCATCGTATGAGCCACCCACATATTT  
ACCGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTCACTTCCGCCACTATAATCATTCGCTATCCCAACCGGCATTAAGTATT  
CAGCTGACTAGCCACTACACGGAGGAAAC

**PSITTACIFORMES**

**>A.JANDAYA : ORGANISM= ARATINGA JANDAYA, JANDAYA PARAKEET COX-1**

TGTAAACGACGGCCAGTTTCTCCAACCACAAAGACATTTGGCACCTCTACCTAATCTTTCGGTGCATGAGCAGGTATAGTCGG  
CACTGCCTTAAAGCCTACTCATTCGTGCAGAACTAGGTCAACCGGGGACCTCCTAGGAGACGACCAAAATTTACAACGTGATCG  
TCACAGCCCATGCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATACCAATCATGATTTGGGGGATTTGGAACTGACTAGTCCCTCTC  
ATAATTTGGTGCCCCGACATAGCATTTCCACGCATAAACAAACATAAGCTTCTGACTACTCCTCCATCTTCTCCTCTACT  
TGCTTCTCCACAGTAGAAGCAGGTGCTGGTACGGGTGGAACAGTCTACCCCTTAGCCGGAACCTAGCCCATGCTGGAG  
CATCAGTAGACCTGGCCATCTTCTCCCTCACCTAGCAGGAATCTCTCCATTTAGGAGCAATCAACTTTATCACCACAGCC  
ATCAACATAAAACCACCCGCACTGTCAACAATATAAACCCCACTATTTGCTGGTCCGCTCTAATCACAGCCGATTTGCTCCT  
ACTTTCTTACCAGTCTTAGCTGCTGGAATCACCATGCTCCTTACAGACCGTAACCTAAACACCACATTTCTTGGCCCTGCCG  
GAGGGGGGACCCAAATCTTGTACCAACACCTCTTCTGATTTCTTGGACACCCGAAGTATACATCTCTACTTACCAGGATTT  
GGAATATCTCCAGTGTACATAGCTGTTTCTGAAATC

**>A.CHLOROPTERA : ORGANISM= ARA CHLOROPTERA, GREEN WING MACAW COX-1**

CCCTTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCAGGCATAGTTGGTACCGCCTTACCGTGCAGAACTCGGTACGCCA  
GGAACCCCTTAGGAGACGACCAGATCTATAATGTAGTTGTTACAGCCCATGCGCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATGCC  
AATCATGATCGGAGGGTTTCGGAACTGACTAGTCCCCCTATAAATFGGTGCCCGACATAGCATTCACCGCATAAAACA  
TAAGTCTCTGACTACTTCCCCATCCTTCCCTCCTACTGGCCCTCCTACGGTGGAAGCAGGTGCTGGTACGGGTGAACG  
GTCTACCCCCCTTAGCCGAAACCTAGCCCATGCTGGGGCATCAGTGGACCTAGCCATCTTCTCCCTTACCTAGCAGGGGT  
ATCCTCCATCCTAGGGCAATTAACCTTTATFACCAGGCCATCAACATAAAACCACCTGTACTATCAAAATACCAACCCCGC  
TATTTGTCTGATCTGCTAATCACAGCCGTATTACTTCTGCTATCCCTACCAGTCCCTCGTGCAGTGCAGGAACTACCACTCCTT  
ACAGACCGTAACCTAAATACCACATTTCTCGACCTGCTGGAGGAGGAGACCCAGTCTTGTACCAACACCTCTTCTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCTTACCGGGTTTGGGATCATCTCCCATGTAGTAGCCATCATGCAGGTAAAAAGG  
AGCCATTTGGCTACATGGGCATAGTATGAGCAATACTATCAATCGGATTCCTAGGGTTCATTGTATGGGCCCATCATATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCTACCATAAATATCGCCATCCCAACAGGAATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCCACTGCATGGAGGACT

**>A.AESTIVA : ORGANISM= AMAZONA AESTIVA, BLUE-FRONTED AMAZON COX-1**

CACCTTACCTAATTTTCGGCGCATGAGCTGGCATAAATGGCACCGCCCTAAGCTACTCATTCGCGCAGAGCTTGGCCAACCA  
GGAACCCCTTGGAGACGACCAATCTACACGTAATCTGACGGCCCATGCGCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATAATCGGAGGGTTTCGGAACTGGCTAGTCCCCCTATAATFGGGCCCCCGACATAGCATTCACCGCATAAAACA  
TAAGTCTCTGACTACTTCCCCATCCTTCCCTCCTTATTAGCCCTCCACAGTAGAAGCAGGAGCGGGCAGGATGAACA  
GTCTACCCCCCTTAGCCGCAACCTAGCTCAGCCGAGCCCTCAGTAGACCTAGCTATTTCTCCCTCCACCTGGTGTGT  
ATCCTCCATCCTAGGGCAATCAACTTCTACTACAGCCATCAACATAAAACCACCGCCCTATCACAATACCAACCCCGC  
TATTCGTATGATCCGTCCTAATCACAGCCGTACTACTACTAGCAGTACCAGTCTTAGCTGCTGGAATTACCATACTCCTC  
ACAGATCGTAACCTAAACAACAATCTTTCGACCCCTGCTGGGGAGGAGACCAATCCTATACCAACACCTATTCTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTTATCCTACCGGGATTGGAATATCTCACACGTGGTAGCCTACCACGAGGTAAAAAG  
AACCGTTTGCTACATAGGCATGGTATGGCCATACTGTCAATTGGATTCTAGGGTTTATCGTATGGGCCACCCACATATTC  
ACAGTGGAAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACAGTCCGCCACAATAATCATCGCCATTCACACTGGAATCAAAGTCTT  
CAGCTGACTCGCCACTACACGGAGAAC

**>A.MACAO : ORGANISM= ARA MACAO, SCARLET MACAW COX-1**

CCCTTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCAGGCATAGTTGGTACCGCCTTACCGTGCAGAACTAGGTACGCCA  
GGAACCCCTTAGGAGACGACCAGATTTATAATGTAGTTGTACAGCCCATGCGCTTGTATAAATCTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATGATGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCCCTATAATFGGGCCCCCGACATAGCATTCACCGCATAAAACA  
TAAGTCTCTGACTACTTCCCTCCATCCTTCCCTCCTACTAGCCCTCCTTACAGTAGAAGCAGGTGCTGGTACGGGTGAACA  
GTCTATCCCCCTTAGCCGAAACCTAGCCATGCTGGGGCATCAGTGGACCTAGCCATCTTCTCCCTCACCTAGCAGGGGT  
ATCCTCCATCCTAGGGCAATCAACTTTATFACCAGCCATCAACATAAAACCACCTGTACTATCACAATACCAACCCCGC  
TATTTGTCTGATCTGCTAATCACAGCCGTATTGCTTCTACTATCCCTACCAGTCTCCTGCTGCGGAATCACCATACTCCTT  
ACAGATCGTAACCTAAATACCAATCTTTCGACCCCTGCTGGAGGAGGAGACCCAGTCTTGTATCAACACCTCTTCTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCTTACCAGGGTTTGGGATCATCTCCCATGTAGTAGCCATCATTGAGGTAAAAAG  
AGCCATTTGGCTACATGGGTATGGTATGAGCAATACTATCAATCGGATTCCTAGGGTTCATTGTATGGGCCCATCATATATTC  
ACGGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCTACCATAAATATCGCCATCCCAACAGGAATTAAGTTTT  
CAGCTGACTAGCCACTACATGGAGGACT

**>P.FRONTALIS : ORGANISM= PYRRHURA FRONTALIS, MAROON-BELLIED PARAKEET COX-1**

CCCTTACCTAATCTTTCGGCGCATGAGCGGCATAATCGGTACCGCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAACTAGGCCAACCC  
GGGACCCCTTAGGAGACGACCAGATCTATAATGTAAATGTACAGCCCATGCGCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATGCC  
AATCATGATCGGAGGGTTTGGAACTGACTAGTCCCCCTATAAATCGGTGCCCGACATGGCATTCACCGCATAAAACA  
TAAGTCTCTGGTTACTCCCCCATCCTTCCCTCCTACTAGCCCTCCTTACAGTAGAGGCAGGCGGGCAGGATGAACA  
GTCTATCCCCCTTAGCCGAAACCTAGCCACGCGGGGCATCAGTAGACCTGGCCATCTTCTCCCTTACCTAGCAGGAGT  
ATCCTCCATCCTAGGTGCAATCAACTTTATFACCAGCCATCAACATAAAACCACCGCACTATCACAATACCAACCCCGC  
TATTCGTCTGATCCGTCCTAATCACAGCAGTACTACTCCTGCTATCTCTCCAGTCTTAGCTGCGGGAATCACCATACTCCTT  
ACAGACCGCAACCTAAACACCACATCTTTGACCTGCCGGAGGAGAGACCAATCTTATACCAACACCTCTTTTGTATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCTTACCAGGATTTGGAATCATCTCCACGTAGTAGCCATCACCACGAGGTAAAAAG  
AACCATTTGGCTACATGGGCATGGTATGGGCAATACTATCAATCGGATTCCTAGGATTCATCGTATGAGCCACCCACATATTC  
ACAGTAGGAATGACGTGGATACCCGAGCATACTTACATCTGCTACCATAAATATCGCCATCCCAACAGGAATCAAAGTTTT  
CAGCTGACTGGCTACTGCACGGAGAAC

**>P.MELANOCEPHALUS : ORGANISM= PIONITES MELANOCEPHALUS, BLACK HEADED PARROT COX-1**

CCCTTACCTAATCTTTCGGTGCATGAGCAGGCATAGTTGGTACCGCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAACTCGGCCAGCCA  
GGGACCCCTTAGGAGACGATCAGATCTACAACGTAATCTGACAGCCCATGCGCTTCGTAATAATTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATGATCGGAGGGTTTCGGAACTGACTAGTACCCCTATAAATCGGTGCCCGACATAGCATTCACCGCATAAAACA  
TAAGTCTCTGACTACTTCCCCCTCCTTCCCTCCTACTAGCCCTCCTTACAGTAGAGGCAGGCGGGCAGGATGAACA  
GTCTATCCCCCTTAGCTGGAAACCTAGCCACGCTGGAGCCCTCGTGGACTTAGCCATCTTCTCCCTCCACCTAGCCGGAAT  
TTCTCCATCCTAGGAGCAATCAACTTTATFACCAGCCATCAACATAAAACCACCGCCCTATCAGATACCAACCCCGC  
TATTCGTCTGATCCGTCCTAATCACGGCCGTATTACTCCTGCTATCCCTACCAGTCTTAGCCCGGGAATCACTATGCTCCTC  
ACAGACCCGTAACCTAAACACCACATCTTTCGACCCCTGCGGGAGGAGAGACCAATCCTATACCAACACCTCTTCTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTATATATCTCATCTTACCAGGGTTTGGGATATCTCCACGTAGTAGCCATCATTGAGGTAAAAAG  
AACCATTTGGCTACATGGGCATAGTATGAGCAATAATATCAATCGGATTCCTAGGGTTCATTGTATGGGCCACCCACATATTC  
ACAGTAGGAATAGATGTAGACACTCGGCATACTTACATCTGCTACCATAAATATCGCCATCCCAACAGGAATCAAAGTTTT  
CAGCTGACTAGCCACTACACGGAGAAC

>A.FISCHERI : ORGANISM= AGAPORNIS FISCHERI, FISCHER'S LOVEBIRD COX-1  
CCCTATACCTAATCTTTGGCGCATGAGCTGGCATAATGGCACAATCCCTAAGCCTCCTCATCCGCGCAGAACTAGGCCAACCA  
GGAACCCCTACTAGGAGACGACCAGATCTACAACGTAATCGTTACCGCCATGCCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTCATACC  
AATTATAATCGGGGATTCGGAACTGATTAGTCCCACTATAAATCGGGCCCCAGACATGGCCCTCCCCCGCATAAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTCCCACCCTCATTTCTCCTCTACTAGCCTCATCTACAGTAGGGGCAGGCGCAGGCACAGGATGAACT  
GTATACCCCTCTAGCTGGAAACCTAGCCACGCTGGGGCATCAGTCGACTTAGCCATCTTCTCCTTACACCTAGCAGGCGT  
ATCCTCCATCTCGGGCAATCAACTTCAATACCCTGCCATCAACATAAAAACCCAGCCCTATCTCAATACCAAAACCCCTC  
TATTCGTTTTGATCCGTCCTAATTACAGCCGTAATCTCCTGCTCCTCCTACCAGTCCCTAGCTGCCGGAATTACAATACTCCTC  
ACCGACCGCAACCTTAAACACCCTTCTTCGACCCGCGGGAGGAGACCCAATCCTATACCAACACCTATTTGATTTCTT  
TGGCCACCCAGAAATATATATCCTTATCCTCCAGGATTTGGAATCATCTCCACGTTGGTAGCATACTACTCCGCAAAAAGG  
AACCTTTGGCTATATAGGCATAGTATGAGCCATACTGTCAATCGGGTTCCTAGGATTCATTGTATGAGCCACCACATGTTT  
ACAGTAGGAATGGAGTAGATACCCGAGCATACTTACCTCCGCCACAATAATCATTTGCTATCCCAACCGGAATTAAGGTTCT  
CAGCTGATTAGCCACCTACACGGAGGCGC

>C.MOLUCCENSIS : ORGANISM= CACATUA MOLUCCENSIS, SALMON-CRESTED COCKATOO COX-1  
CACTCTACCTTATTTTGGCGCATGAGCTGGCATAATCGTACCGCCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAACTTGGTCAACCA  
GGAACCTTACTGGGAGACGACCAGATCTACAATGTAATCGTCACGCCCATGCCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTTATACC  
AATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCCCTTATAATTTGGTCCCGCAGATAGCATTTCCACGCATAAACAAACA  
TAAGCTTCTGGCTTCTCCCCCTTCTCCTCCTCCTACTAGCCTCATCCACAGTTGAAGCGGGAGCGGGCAGGGTGGACT  
GTTTTACCCCTTACTAGCTGGAAACCTAGCCATGCTGGAGCATCAGTAGACCTGGCCATTTTTCCTCCACTTAGCAGGCGT  
ATCTTCCATCTGGGGCTATCAACTTTATCACCCTGCCATCAACATAAAAACCCCGCCCTATCAGTACCAGACCCCTC  
TATTCGTTGATCCGTCCTTACTGCGGTACTACTTCTACTATCTCCTCCTAGCTGCTGGTATCACCATACTCCTC  
ACAGCCGCAACCTAAACACTACATTTCTTTGATCCGCTGGAGGGGAGATCCAATCCTATACCAGCACCTTTCTGATTTCT  
TGGCCACCCAGAAATATACATCCTTATCCTCCAGGATTCGGAATCATTTACACGTTAGTAGCCTACTACGAGGCAAAAAG  
AACCTTTGGCTATATAGGCATAGTATGAGCCATACTGTCAATCGGGTTCCTAGGATTCATTGTATGAGCCACCACATGTTT  
ACAGTAGGAATGGAGTAGATACCCGAGCATACTTACATCCGCCACTATAATCATCGCCATCCCAACTGGAATCAAAGTCTT  
TAGCTGACTAGCCACTACATGCGGAGCT

>C.NOVAEZELANDIAE : ORGANISM= CYANORAMPHUS NOVAEZELANDIAE, RED-CROWNED PARAKEET  
COX-1  
CTCTCTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCAGGTATAATGGCACCGCCCTAAGCCTACTCATTCGAGCAGAACTAGGACAACCC  
GGAACACTCCTCGGAGACGACCAAACTATAACGTAATTTGTAACCGCCACGCCCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATGCC  
AATCATAATTTGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCCTCATAATCGGGCCCCCGCAGATAGCATTTCCACGTAATAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTTCTCCCCATCCTTCTCCTCCTCCTACTAGCCTCATCCACAGTAGAAGCAGGAGGCACAGGATGAACT  
GTCTACCCCTTACTAGCTGGAAACCTGGCCACGCTGGAGCTTACAGTAGACCTAGCTATCTTCTCCCTAGCAGCTTAGGTTGT  
ATCCTCCATCCTTGGAGCAATTAATTTATCACCCTGCTATTAACATAAAAACCCCGCCCTATCACAATACCAAAACCCAC  
TGTTCGTTGATCCGTTCTAATCAGAGCTGTTCTCCTCCTCCTATCCCTGCCTGCTTAGCTGCAGGCATTAATATACTCCTT  
ACAGCCGCAACCTAAACACCACCTTCTTTCGACCCAGCCGAGGAGGAGACCCAATCCTATACCAACACCTTTCTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAATATACATCCTTAATCCTCCAGGATTTGGAATTTATTTTCGACGTTAGTAGCCTACTACGAGGTAAAAAG  
AACCTTTGGCTATATAGGCATAGTATGAGCCATACTGTCAATCGGGTTCCTAGGATTTATCGTATGAGCCACCACATATTC  
ACCGTCGGAATAGACGTTAGACCCGAGCATACTTACATCTGCCACCATAATCATCGCTATCCCTACAGGGATCAAAGTCTT  
CAGCTGATTAGCCACTACATGCGGAAACC

>P.LEUCOPHTHALMA : ORGANISM= PSITTACARA LEUCOPHTHALMA, WHITE-EYED CONURE COX-1  
CCCTTTACCTAATCTTCGGTGCATGAGCAGGCATAATCGGACCCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAGCTCGGCCAACCA  
GGGACCCCTCTAGGAGACGACCAAACTATAAATGTTGTTGTCACAGCCCATGCTTCGTAATAAATCTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATGATTTGGGGGTTTGGAAATGATTTAGTTCCTCCTCATAATTTGGTCCCGCAGATAGCATTTCCACGCATAAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCCTTCTCCTCCTACTAGCCTCCTCCACAGTAGAGGCAGGTTGCCGCGCAGGTTGAAACA  
GTCTACCCCTCCTTACTAGCTGGAAACCTAGCCATGCTGGAGCATCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTTACCTGGCAGGGGT  
ATCCTCCATCCTTAGTGCAATCACTTTTATACCACAGCTATCAACATAAAAACCCCGCACTATCAACAATACCAAAACCCCTC  
TATTTGCTGATCTGTCCTAATCAGGCAGTGCTACTCCTATTATCTTTACCAGTCTTAGCTGCTGGAATCACCATACTCCTC  
ACAGACCCGTAACCTAAACACCACATTTCTTTGACCTGCTGGGGAGGAGACCCAATCCTATACCAACACCTTCTTGTATTTCT  
CGGACACCCAGAAATATACATCCTCCTATCTGCGAGGTTTGGGATCATCTCCACGTTAGTGGCTTACCATGCAGGCAAAAAG  
AACCTTTGGCTATATAGGATAGGATGAGCAATACTATCAATTTGGATTCCTAGGTTTCATCGTATGGGCTCATCACAATTC  
ACAGTGGAAATAGACGTTAGACCCGAGCATACTTACAGTCCGCTACTATAATCATCGCCATCCCAACAGGAATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCTACGCTACATGAGGAGCA

>P.MENSTRUUS : ORGANISM= PIONUS MENSTRUUS, BLUE-HEADED PIONUS COX-1  
CCCTTTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCAGGCATAATGGCACCCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAGCTCGGCCAACCA  
GGGACTCTCCTTGGAGACGACCAAACTACAACGTAATCGTCACAGCCCATGCCTTCGTAATAAATTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATAATCGGGGTTTCGGAACTGATTAGTTCCTCCTCATAAATCGGGCCCCCGACATAGCATTTCCACGCATAAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCTCCATCATCTCCTCCTACTAGCCTCCTCCACAGTAGAAGCAGGAGGGGCACAGGATGAAACA  
GTCTACCCCTCCTTACTAGCTGGCAACCTAGCCACGCGGACCCCTCAGTAGACCTGGCCATCTTTTCTTCTCATCTAGCTGGCGT  
ATCCTCCATCCTGGGAGCAATCAACTTTATCACCACAGCCATCAACATAAAAACCCCGCCCTATCACAATACCAAAACCCCTC  
TATTCGTTGATCTGTCCTAATCAGAGCCGTAATCTTACTGCTAGCCTACCAGTCCCTAGCCGCGGAATCACCAATCCTCCTC  
ACAGACCCGTAATCTAAACACAACATTTCTTCGACCCGCTGGAGGAGGAGACCCAATCCTATACCAACATCTATTTCTGGTTCTT  
CGGGACCCAGAAATATACATCCTCCTATCCTACCAGGATTCGGAATTTATCTCGCATGTTAGTGGCTTACCAGCAGGCAAAAAG  
AACCTTTGGCTATATGGGATAGTGTGAGCTATATTAATCAATTTGGATTCCTAGGTTTCATCGTATGAGCCACCACATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGTTAGATACCCGAGCATACTTTACATCCGCCACAATAATCATCGCCATCCCAACTGGAATTAAGGTTCT  
CAGCTGACTGCCACTGCACGGAGGAAACC

**>P.MARACANA : ORGANISM= PRIMOLIUS MARACANA, BLUE-WINGED MACAW COX-1**

CCCTCTACCTAATCTTCGGTGCATGAGCGGCATAGTTGGTACCGCCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAGCTAGGCCAGCCA  
GGGACTCTCTAGGGGACGACCAAAATCTATAATGTAGTTGTCACAGCCCATGCCCTTGTAAATAATCTTCTTCATAGTAATGCC  
AATCATGATCGGGGGTGGGAACTGACTAGTCCCTCATAATTTGGTGCCTCCCGAGCTTCCAGGCATAAAATAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCCTCTTCTCTCTCTACTAGCCTCCTCCACAGTAGAAGCAGGTGCTGGCACGGGTGAACA  
GTCTACCCCTCCCTGGTGGAAACCTAGCCATGCTGGGGCATCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCCTTACCTAGCAGGTGT  
ATCCTCCATCCTGGGGCAATCAACTTTTACTACAGCCATCAACATAAAACCACCCGCACTATCAATAACCAAAACCCAC  
TATTTGTCTGATCCGTCCTAATCACAGCCGATTGCTTCTGCTATCCTTACCAGTCTAGCTGCTGGAATCACCATGCTCCTT  
ACAGATCGCAACCTAAATACCACATTTCTTACCTGCTGGGGAGGAGACCAGTCTTGTATCAACATCTTCTGATTTCTT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCCTACCGGATTGGGATCATCTCCCATGTGGTGGCCACCATGCAGGTAATAAAG  
AACCATTTGGCTATATGGGCATTGTATGGGCAATATTGTCAATCGGATTCCTAGGGTTTCATTGTATGGGCCACCCACATGTTT  
ACAGTAGGAATGGATGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCCACCATAATATCGCCATCCCAACGGGAATTAAGTCTT  
TAGCTGACTAGCTACACTACAGGAGGACT

**>P.SENEGALUS : ORGANISM= POICEPHALUS SENEGALUS, SENEGAL PARROT COX-1**

CCCTCTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCTGGCATAATTGGTACAGCCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAATTAGGCCAACCA  
GGAACCTGTGGGAGACGACCAAAATCTACAACGTAATTTGTACTGCTCAGCCCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATAATTTGGAGGATTTGGAACTGATTAGTCCCTCATAATCGGTGCCCTTGACATAGCATTTCCCCGCATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCTTCTCTCTCTACTAGCCTATCCACAGTAGAGGAGGAGACCCATCCTATACCAACCTTCTGATTT  
GTCTACCCCTAGCCGAAACCTAGCTCAGCCGGAGCTTCACTGGACCTGGCTATCTTCTCCCTTACCTGGCAGGTGT  
ATCCTCCATCCTAGGGCAATTAATTTTATCACCCTGCCATCAACATAAAACCCTGCCCTATCAGTACCAAAACCCCT  
TGTTCTGCTGATCTGCTAATCACCGCTACTTCTCTACTATCCCTACCCGCTCCTAGCTGCCGCACTACCATACTCCTT  
ACAGACCCCAACCTAAACAACAATTTCTTTGACCCCTGCTGGAGGAGAGACCCATCCTATACCAACCTTCTGATTTCTT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCCTCCAGGGTTTGGAAATCATCTCACACGTAGTGGCCACCCAGCAGGCAAAAAG  
AGCCCTTCGCTACATGGGTATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGATTCATTGTATGAGCACACCATATATTC  
ACAGTAGGAATAGAGCTAGACACCCGAGCATACTTACATCCGCCACCATAATCATTGCCATCCCAACGGGAATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCCACTGCACGGAGGACT

**>P.MEYERI : ORGANISM= POICEPHALUS MEYERI, MEYER'S PARROT COX-1**

CCCTCTACCTAATCTTCGGGCGCATGAGCTGGCATAATTGGCAGCCCTAAGCCTACTTATTCGTCAGAGTTAGGCCAACCA  
GGAACCTGTGGGAGACGACCAAAATCTACAACGTAATTTGTACTGCTCATGCCCTTCGTAATAATCTTTTTCATAGTAATACC  
AATCATAATTTGGAGGATTTGGAACTGATTAGTCCCTCATAATCGGTGCCCTTGACATGGCATTTCCCCGTATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCTTCTCTCTCTACTAGCCTCATCCACAGTAGAAGCAGGGCGCCGACAGGGTGAACC  
GTCTACCCCTAGCCGAAACCTAGCCACGCGGAGCTTCACTGGACTTAGCCATCTTCTCCCTGACCTGGCAGGTGT  
ATCCTCCATCCTAGGGCAATTAATTTTATCACCCTGCCATCAACATAAAACCCTGCCCTATCGCAGTACCAAACTCCCT  
TGTTCTGCTGATCTGCTAATCCTGCGTACTCTACTACTATCCCTACCCGCTCCTAGCTGCCGCGCATACCATACTCCTT  
ACAGACCCCAACCTAAACAACAATTTCTTTGACCCCGCCGGAGGAGAGACCCATCCTATACCAACCTTCTTCTGATTTCTT  
CGGGCACCCAGAAGTATACATCCTCATCCTCCAGGATTTGGAAATCATCTCGCACGTGGTGGCCACCCAGCAGGCAAAAAG  
AACCGTTTCGCTATATGGGTATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGATTCATTGTATGAGCACACCATATTC  
ACAGTAGGAATAGAGCTGGACACCCGAGCATACTTACATCCGCCACCATAATCATTGCCATCCCAACGGGAATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCCACTACAGGAGGACT

**>A.ROSEICOLLIS : ORGANISM= AGAPORNIS ROSEICOLLIS, ROSY-FACED LOVEBIRD COX-1**

CCCTGTACCTAATCTTCGGGCGCATGAGCTGGCATAATTGGTACATCCCTAAGCCTCCTCATCCGCGCAGAACTAGGCCAGCCA  
GGAACCTGTAGGAGACGACCAAAATCTACAACGTAATCGTACCGCCCATGCCCTTCGTAATAATCTTTTTCATAGTATAGCC  
AATTAATTCGGCGGATTCGGAACCTGACTAGTTCCACTATAATTTGGTGCCTCCAGATATAGCCTTCCCCCGCATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCACCCTCATTTCTCTCTACTAGCCTCATCCACAGTAGAAGCAGGGCGCCGACAGGATGAACC  
GTGTACCCCTCTAGCTGGAAACCTGGCCACGCGGAGCCTCGGTGCACTTAGCCATCTTCTCCCTACACTAGCAGCGGT  
ATCCTCCATCCTGGAGCCATCACTTCACTACTGCCATCAACATAAAACCCTGCCCTATCCCAATACCAAAACCCCT  
TATTCGCTGATCCGTCCTAATACAGCCGCTTCTCTCTCTCTCCTGCGAGTCTAGCTGCCGGAATTAACAATACTCCTC  
ACCGACCGCAACCTTAACACTACTTCTTTCGACCTGCGGGAGGAGACCCAACTCCTATACCAACACTGTTCTGATTTCTT  
CGGCCACCCAGAAGTATATATCCTCATCCTCCAGGATTTGGAAATTAATCTCCACGTAGTAGCACTACTCTGGCAAAAAG  
AGCCCTTTGCTACATGGGCATAGTATGGCCATGCTTCACTCGGATTCCTAGGATTTATCGTATGAGTCCACCATATTC  
ACAGTAGGAATGAGCTAGACACTCGAGCATACTTCACTCCGCCACAATAATCATTGCAATCCCAACGGGAATTAAGTCTT  
CAGCTGATTAGCCACCTGCACGGAGGACT

**>A.OCHROCEPHALA : ORGANISM= AMAZONA OCHROCEPHALA, YELLOW-CROWNED PARROT COX-1?**

CACCTTACCTAATTTTCGGTGCATGAGCTGGCATAATTGGTACCGCCCTAAGTTTACTCATTCGCGCAGAACTGGCCAACCA  
GGAACCTCTCTGGAGACGACCAAAATCTACAACGTAATCGTACCGCCCATGCCCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATAATTCGGAGGTTTCGGAACCTGACTAGTCCCTCATAATTTGGTGCCTCCAGATATAGCCTTCCCCCGCATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCTTCTCTCTCTACTAGCCTCATCCACAGTAGAAGCAGGGCGCCGACAGGATGAACA  
GTCTACCCCTAGCTGGCAACCTAGCTCAGCCGGAGCCTCAGTAGACCTAGCTATTTTCTCCCTCCACTAGCCGGTGT  
ATCCTCCATCCTAGGGCAATCACTTCACTACTACAGCCATCAACATAAAACCCTGCCCTATCACAATAACCAAAACCCCT  
TATTCGATGATCCGTCCTAATCACAGCCGTACTACTACTAGCACTACCAGTCTAGCTGCTGGAATTAACATACTCCTC  
ACAGTCGTAACCTAAACAACAATTTCTTTCGACCTGCTGGGGAGGAGACCCAACTCCTATACCAACACTTCTGATTTCTT  
CGGACACCCAGAAGTGTACATCCTTATCCTACCGGATTTGGAAATTAATCTCACATGTGGTAGCCTACCACGAGGTAATAAAG  
AACCGTTTGGCTACATAGGCATAGTGTGGCCATACTGTCAATGGATTCCTAGGGTTTCATTGTATGGGCCACCCACATATTC  
ACAGTAGGAATGAGCTAGACACTCGAGCATACTTCACTCCGCCACAATAATCATTGCAATCCCAACGGGAATTAAGTCTT  
CAGCTGACTCGCCACTACAGGAGGACT



**>P.MOLINAE : ORGANISM= PYRRHURA MOLINAE, GREEN-CHEEKED CONURE COX-1**

CCCTTTACCTAATCTTTGGCGCATGAGCGGCATAATCGGCACCGCCTAAGCCTTCTTATCCGCGCAGAACTAGGCCAACCC  
GGGACCCCTCCTAGGAGACGACCAAACTATAAATGTAATTTGTCACAGCCCATGCTTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATACC  
GATCATGATTGGAGGGTTTGGAACTGACTAGTCCCTCATAATCGGCCTCCCGACATGGCATTCACGCATGAACAACA  
TAAGCTTCTGGTTACTCCCCCATCTTCTCCTCTACTAGCCTCCTCCGACGTAGAAGCAGGCGCGGCACAGGATGAACA  
GTCTATCCTCCCTGGCCGAAACCTAGCCACCGTGGGCATCAGTAGACCTGGCCATCTTCTCTTACCTAGCAGGAGT  
ATCCTCCATCCTAGGCGCAATCAACTTTATCACCACAGCCATCAACATAAAAACCCCGCACTATCAAAATATCAAAACCCAT  
TATTCGTCTGATCCGTCCTAATCACAGCAGTACTACTCTACTATCCCTCCAGTCTTAGCTGCCGGAATCACCATACTCCTT  
ACAGACCGCAACCTAAACACCACATTTCTTTGACCTGCGGGAGGGGGGACCAATCTTATACCAACACCTCTTTGATTTCTT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCCTACCTGGATTGGAAATCATCTCCACGTGGTAGCCTACCACGCAGGTAAAAAAG  
AACCATTCGGCTACATGGGCATGGTATGGCAATACTATCAATCGGATTCCTAGGATTCATTGTATGAGCCACCACATATTC  
ACAGTAGGAATGGAGTGGATACCCGACATACTTACATCCGCCACCAATAATCATCGCCATCCCAACAGGGATTAAGGTCTT  
CAGCTGACTGGCTACTGCACGGAGGACC

**>A.VIRIDIGENALIS : ORGANISM= AMAZONA VIRIDIGENALIS, GREEN CHEEKED AMAZON COX-1**

CCCTTTACCTAATTTTCGGCGCATGAGCTGGCATAAATGGTACTGCCCTAAGCCTACTCATTCGCGCAGAGCTCGGCCAACCA  
GGAATCTCCTCGGAGATGACCAAACTATAACGTAATCGTCACGGCTCATGCTTTCGTAATAATCTTCTTATAGTAATACC  
AATCATAATCGGAGGGTTCCGAACTGACTAGTTCCTCATAAATGGGCGCCCCGACATAGCATTTCCACGCATAAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCTTCTCCTCTACTAGCCTCCTCACAGTAGAAGCAGGAGTAGGTACAGGGTGGACA  
GTCTACCCCCCTAGCCGCAACCTAGCCACCGCGGAGCCTCAGTGGACCTGGCTATCTTCTCCTCCATTTAGTGTGTGT  
ATCCTCCATTTCTAGGGGCAATCAACTTTATCAGTACAGCCATCAACATAAAAACCCCTGCCTTATCACAATACCAAAACCCAC  
TATTCGTATGATCTGTCTAATCACAGCTGTACTGCTACTACTAGCCTACCAGTCTTAGCCGCTGGAATTTACCATACTCCTC  
ACAGACCGTAACCTAAACACAACATTTCTTCGACCCCGCTGGAGGAGGAGACCAATCCTATACCAACACTTATTCATCTT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCCTACCAGGATTCGGAATTTATCTCACATGTAGTAGCCTACCACGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTTGGTTACATAGGCATAGTATGGCCATACTATCAATTTGGATTCTTAGGATTCATTGTATGGGCCACCACATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACTCGAGCATACTTACATCTGCCACAATAATCATTCGCATTCACCCTGGAATCAAAGTCTT  
CAGCTGACTCGCCACTACACGGAGGAAACC

**>A.AMAZONICA : ORGANISM= AMAZONA AMAZONICA, ORANGE WING AMAZON COX-1**

CCCTTTACCTAATTTTCGGCGCATGAGCTGGCATAAATGGTACC GCCCTAAGCCTACTCATCCGCGCAGAACTCGGCCAACCA  
GGAACCCCTCCTCGGAGATGACCAAACTATAACGTAATCGTCACGGCCCATGCTTTCGTAATAATCTTCTTTCATAGTAATACC  
AATCATAATCGGAGGATTCGAACTGACTAGTTCCTCATAAATGGTGGCCCCGACATAGCATTTCCACGCATAAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCTTCTCCTCTACTAACCCTCCTCCACAGTAGAAGCAGGAGCGGTACAGGATGAACA  
GTCTACCCCTCCCTAGCCGCAACCTAGCCACCGCGGGCCTCAGTAGACCTAGCTATTTTCTCCTCCACTAGCCGGCT  
ATCCTCCATCCTAGGGGCAATCAACTTTATCACCACAGCCATCAACATAAAAACCCCGCCCTATCACAATACCAAAACCCAC  
TGTTTGTATGATCTGTCTAATCACAGCTGTACTACTACTACTAGCCTACCAGTCTTAGCCGCGGGAATTTACCATACTCCTC  
ACAGACCGTAACCTAAACACAACATTTCTTCGACCCCGCTGGAGGAGGAGACCAATCCTTATACCAACACTTATTTCTGATTTT  
CGGACACCCAGAAGTATACATCCTTATCCTGCGAGGATTTGGGATTTATCTCACATGTAGTAGCCTACTACGCAGGTAAAAAAG  
AACCATTCGGCTACATAGGCATAGTATGGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGATTTATCGTGTGAGCTACCACATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCTACAATAATCATTCGCATTCACCCTGGAATCAAAGTCTT  
CAGCTGACTCGCCACTACACGGAGGAAACC

**>P.ERITHACUS : ORGANISM= PSITTACUS ERITHACUS, CONGO AFRICAN GREY PARROT COX-1**

CCCTTTACCTAATCTTTGGCGCATGGGCTGGCATAAATGGCAGCCCTGAGCCTACTTATCCGTCGAGAGCTGGGCCAACCA  
GGAACCCCTGCTGGGAGACGACCAAACTATAAATGTAATTTGTCACAGCCCATGCTTTCGTAATAATCTTTTTTATAGTAATACC  
GATCATAAATGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCTCATAAATGGTGGCCCCGACATAGCATTTCCCGCATAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCTTCTCCTCTACTAGCCTCCTCCACAGTAGAGGCGGGAGCAGGCACAGGATGAACC  
GTCTACCCCCCTCCTAGCCGAAACCTAGCCATGCGGAGCCTCAGTAGACCTGGCCATCTTCTCCTCCACTAGCAGGTGT  
ATCCTCCATCCTAGGAGCAATCAACTTATCACCACCGCCATCAACATAAAAACCCCGCCCTATCAGTACCAAAACCCCTC  
TATTCGTCTGATCCGTCCTAATCACAGCCGTAATCTTCTGTTATCCCTACCCGTCCTAGCCGCGGCAATACCATACTCCTC  
ACGGACCGTAACCTAAACACAACATTTCTTCCGACCTGCGGGAGGAGGAGACCCATCCTATACCAACACCTCTTCTGATTTCTT  
TGGGCACCCAGAAGTTTATATCCTTATCCTCCAGGATTTGGAAATTTATCTCACAGTAGTAGCCTATTACGCAGGCAAAAAAG  
AACCTTCGGATACATAGGTATAGTATGAGCCATACTACTCAATCGGATTCCTAGGATTTATCGTATGAGCACCACATATTC  
ACAGTAGGGATAGATGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCCACCATAATCATTCGCATTCACCCTGGAATCAAAGTCTT  
TAGCTGACTAGCTACGCTACACGGAGGAACT

**>C.GOFFINIANA : ORGANISM= CACATUA GOFFINIANA, TANIMBAR CORELLA COX-1**

CACCTTACCTAATTTTCGGCGCATGAGCTGGCATAAATGGCAGCCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAACTGGTCAACCA  
GGGACCTTACTAGGAGACGACAGATCTATAAATGTAATTTGTTACTGCCCCATGCTTTCGTAATAATTTTCTTTCATAGTTATACC  
AATCATAAATGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCTCATAAATGGTGGCCCCGACATAGCATTTCCACGCATAAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTTCTCCCTCCTCTCCTCTACTAGCCTCCTCCACAGTAGAGGCGGGAGCAGGCACAGGATGAACC  
GTTTACCCCCCTTAGCCGAAACCTAGCTCATGCTGGAGCATCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTTCCACTAGCAGGTGT  
ATCTTCCATCCTAGGGGCTATCAACTTTATCACCACCTGCCATCAACATAAAAACCCCGCTCCTATCACAATATCAAAACCCAC  
TGTTCTGCTGATCAGTCTTATACCCGCTACTACTCTACTACTCTTCCAGTCTTAGCTGCTGGCATCACCATGCTCCTC  
ACAGACCCGCAACCTAAACACCACATTTCTTCGACCCCGCTGGCGGAGGAGACCAAGTCTTATACCAACACCTCTTCTGATTTCTT  
TGGCCACCCAGAAGTGTATATCCTCATCCTTCCAGGGTTCGGAATTTTACACAGTAGTAGCCTACTATGCAGGTAAAAAAG  
AACCATTCGGCTACATAGGCATAGTATGGCCATACTATCTATTGGGTTCTTAGGCTTTTATTGTATGAGCCACCACATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGTAGATACTCGAGCATACTTACATCCGCCACTATAATCATTCGCATTCACCCTGGAATCAAAGTCTT  
CAGCTGATTGGCCACTACATGCGGAAACC

**>A.ACUTICAUDA : ORGANISM= ARATINGA ACUTICAUDA, BLUE-CROWNED CONURE COX-1**  
CCCTTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCAGGCATAGTTGGTACTGCCCTAAGCCTACTTATTCGTCGAGAACTTGGCCAACCG  
GGGACCCCTCCTAGGAGACGATCAGATCTATAATGTAATCGTCCAGCCCATGCCCTTCGTAATAATCTTCTTTATGGTAATACC  
AATCATAATCGGAGGGTTTGGAACTGATTAGTCCCTCATAAATGGCGCCCTGACATAGCATTCACCAGTATAAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCTCCCTCCTTCTCCTATTGGCCCTTCCACAGTAGAAGCAGGTGCTGGCACGGGTGAACA  
GTCTACCCCTCCTTAGCAGGAAACCTAGCCCATGCCGGGCATCAGTGGACCTGGCCATCTTCTCCCTTACCTGGCAGGAGT  
GTCCTCCATCTAGGGGCAATCAACTTTATCACCACAGCCATTAACATAAAAACCCCGCACTATCAATAACCAAAACCCAC  
TATTTGTCTGATCCGTCCTAATCACAGCTGACTACTTCTACTATCTCTGCCAGTCTAGCTGCTGGAATCACCATGCTCCTT  
ACAGATCGTAATCTAAACACCACATTTCTTTGACCTGCTGGAGGAGGAGACCAATCTTATACCAACACCTTCTTGATTTCT  
CGGACACCCAGAGGTATATATCCTCATCTTACCAGGATTGGGATCATCTCCCATGTAGTGGCCTACCATGCAGGTA AAAAGG  
AACCATTTGGCTACATAGGCATGGTGTGAGCAATACTATCAATTGGATTCTAGGATTCATTGTATGAGCCACCAATATTC  
ACAGTGGGAATGGAGCTAGACACCCGAGCATACTTCACTCCGCTACCATAATCATCGCCATCCCAACAGGAATTA AAGT TTT  
CAGCTGACTAGCTACGCTACATGGAGTACC

**>T.MEGALORYNCHOS : ORGANISM= TANYGNATHUS MEGALORYNCHOS, GREAT-BILLED PARROT COX-1**  
CCCTTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCCGGCATAAATGGCACCCCTAAGCCTACTTATCCGCGCAGAACTTGGCCAACCT  
GGAACCTTACTAGGAGATGATCAAAATTTACAATGTAATCGTCCAGCCCATGCCCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATAATCGGAGGATTTCGGAACTGATTGGTTCCCTTATAATCGGTGCCCCCGACATAGCATTTCCACGCATAAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCCTTCTCCTCCTACTAGCTTATCCACAGTAGAAGCGGGAGCAGGCACAGGATGAACA  
GTCTATCCCTCCTTAGCAGGAAACCTAGCCACGCTGGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCCTCCACCTAGCAGCGT  
ATCATCCATCCTTGGAGCAATTAATTTCACTACTGCCATCAACATAAAGCCCCCGCCTATCACAATATCAAACTCCAC  
TGTTCTGATGATCAGTACTAATACAGCCGACTCCTCCTACTATCCCTACCAGTCTAGCCGCTGGCATCACCATACTCCTT  
ACAGCCGCAACTAAATACCACCTTCTTTGACTCTGAGGAGGAGACCAATCCTATACCAACACCTTCTTGATTTCT  
CGGGCACCCAGAAGTATACATCCTAATTTCCAGGATTGGAAATATCTCCACGCTAGTAGCCTACTATGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTTGGCTACATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCAATTGGATTCTAGGTTTATCGTATGAGCCACCAATATTC  
ACAGTGGGATAGACGCTAGACACCCGAGCATACTTCACTCCGCACTATAATATTCGCCATCCCAACAGGAATCAAGTCTT  
CAGCTGATTAGCCACGCTACACGGGGAGCC

**>M.MONACHUS : ORGANISM= MYIOPSITTA MONACHUS, QUAKER PARROT COX-1**  
CCCTTACTTAATCTTCGGCGCATGAGCAGGCATAAATCGGTACCCTGAGCCTTCTTATCCGTGAGAACTTGGCCAACCA  
GGAACCTTACTAGGAGATGACCAAAATCTACAATGTAATCGTTACAGCACATGCCCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTAATACC  
AATCATAATCGGAGGGTTTGGAACTGATTAGTTCCCTTATAAATGGTGGCCCTGACATAGCATTTCCACGCATAAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCCTTCTCCTTCTACTAGCCTCCTCCACAGTAGAAGCAGGAGCCAGGCACAGGATGAACA  
GTCTATCCCTCCTTAGCCGAAACCTAGCCATGCCGAGCTTCACTGGACTTAGCCATCTTCTCCCTCCACCTGGCAGGTGT  
CTCTTCTATTTAGGAGCAATTAACCTTTATCACTACAGCTATTAACATAAAAACCCCAACCTTACACAATATCAAAACCCAC  
TATTCGTTTGTATCCGCTTAAATCACAGCCGACTGCTCCTACTGGCATTACCAGTCTTAGCCGCGGGAATCACAATACTCCTT  
ACAGATCGCAACCTAAACACCACATTTCTTCGACCCGCTGGGGGAGGAGACCAATCCTGTACCAACACCTTCTTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTCTATATTTCTAATCCTCCAGGATTGGAAATCATCTCACAGCTAGTAGCCTACTATGCAGGAAAAAAG  
AACCATTTGGCTACATAGGCATAGTATGAGCTATACTGTCTATTGGATTCTTGGGTTTCTGTCTGAGCCATCAGATGTTT  
ACAGTAGGAATAGACGCTAGACACCCGAGCATACTTCACTCCGCCACCAATATCATCGCCATCCCAACAGGAATCAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCTACACTGCACGGAGGAACC

**>T.HAEMATODUS : ORGANISM= TRICHOGLOSSUS HAEMATODUS, RAINBOW LORIKEET COX-1**  
CCCTTACTTAATCTTCGGCGCATGAGCTGGCATAGTCCGACCCCTAAGCCTCCTCATCCGAGCAGAGCTAGGCCAACCA  
GGAACCTGCTAGGAGACGACCAAAATCTACAACGTAATGTTACCGCCCATGCCCTTGTAAATAATCTTCTTCATGGTAATACC  
GATTATAATCGGAGGGTTTCGAACTGATTAGTCCCTTATAAATCGGGCCCGGATAGCATTTCCACGAAATGAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCCTTCTCCTCCTTAGCCTCATCCACCGTAGAGGCAGGCGTGGCACAGGATGGACA  
GTCTACCCCTCCTTAGCCGAAACCTCGCCACGCGGAGCTTCACTAGACCTGGCCATCTTCTCCCTCCATCTGGCCGGAGT  
ATCATCCATCCTCGGAGCAATTAACCTTTATCACCAGCCATTAACATAAAAACCCCGCCTATCACAATACCAAAACCCAC  
TATTCGATGATCCGTCCTAATCACAGCAGTACTCCTCCTACTCTCCCTACCAGTCTTAGCCGCGGCACTACGATACTCCTC  
ACAGACCCGAACCTAAATACCACCTTCTTTCGACCTGCGAGGAGGAGACCCATCCTATACCAACACCTATTTCTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTGTATATTTCTAATTTCCAGGATTGGAAATATCTCACACGCTCGTAGCTTACCACGCAAAAAAAG  
AACCATTTGGCTACATAGGAATAGTATGAGCTATACTACTCACTCCGATTCCAGGATTCTTAGGTTTATCGTATGAGCCACCAATTC  
ACTGTAGGAATAGACGCTAGACACCCGAGCATACTTCACTCCGCCACCAATATCATCGCCATCCCAACAGGAATCAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCTACACTGCACGGAGGAACC

**ACCIPITRIFORMES**

**>A.GENTILIS : ORGANISM= ACCIPITER GENTILIS, NORTHERN GOSHAWK COX-1**  
CCCTATATTTAATCTTTGGCGCTTGGAGCCGGCATAGTAGGCACTGCCCTTAGCCTCCTCATCCGCGCAGAACTCGGTCAACCA  
GGTACACTCCTAGGCGACGACCAAAATCTACAACGTAATCGTCCAGCCACATGCCCTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTTATACC  
AATCATAATGGAGGCTTCGAACTGACTCGTTCCACTCATAAATGGCGCCCGGATAGCATTTCCACGCAATGAACAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCTCCATCTTCTCCTCCTACTAGCCTCCTCAACCGTAGAAGCAGGAGCCGAACTGGATGAACT  
GTTTACCCTCATTAGCCGCAACATAGCTCATGCCGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCCTACATCTAGCTGGAGT  
CTCATCCATCTGGGGCAATTAACCTTATCACAACCCCATTAACATAAAAACCCCGCCCTTTCCCAATACCAAACTCCCT  
TATTCGATGATCAGTCTCCTCATACCCGCGCTACTACTACTCTCACTTCCAGTCTAGCTAGCTAGCTAGCTAGCTAGCTAGCT  
ACAGATCGAAACCTCAACACAACATTTCTTCGACCTGCGGGTGGAGGAGATCCCATCCTATATCAACATCTTCTTGATTTCT  
CGGCCACCCAGAAGTCTATCTAATTTCCAGGATTGGAAATATCTCACACGCTCGTAGCTTACCACGCAAAAAAAG  
AACCTTTGGTTATATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCACTCCGATTCTTAGGTTTATCGTATGGGCACCAATATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGCTAGACACTCGAGCATACTTCACTCCGCTACTATAAATATTGGCCATCCCAACAGGAATTA AAGT TTT  
CAGCTGATTAGCAACTCCACGGAGGAACC

**>A.STRIATUS : ORGANISM= ACCIPITER STRIATUS, SHARP-SHINNED HAWK COX-1**

CCTTATACTTAATCTTTGGCGCTTGAGCCGGCATAGTTGGCACTGCCCTTAGCCTACTCATTCGCGCAGAACTTGCCCAACCA  
GGCACACTCCTAGGCGATGACCAAAATCTATAATGTTATCGTACCCGCACATGCCCTTCGTAATAATTTTTCATAGTTATACC  
AATCATAATTGGAGGCTTCGGAACTGACTCGTCCGCTCATAAATGGCGCTCCTGATATAGCTTCCACGTATAAAATAACA  
TAAGCTTCTGACTACTCCCCCATCATTCCTCCTTACTAGCCTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACCGGATGAACT  
GTCTACCCCTCATTAGCTGGTAATATAGCCCATGCCGGAGCCTCAGTAGACCTAGCTATCTTCTACTACACCTAGCAGGAAT  
TTCATCCATCCTAGGGGCAATTAACCTTTATCACAACCGCTATTAACATAAAAACCCCTGCCCTCTCCCAATACCAAAACACCC  
TATTCGTATGATCCGTCCTCATCACTGCTGCTCCTACTACTCTCACTACCAGTCCCTAGCTGCTGGCATFACTATACTACTA  
ACAGATCGAAACCTCAATACAACATTTCTCGATCCTGCTGGTGGAGGCGACCTATCCTATATCAACACCTCTTCTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTCTACATTTCTATTCTACAGGCTTTGGAAATATATCCCATGTAGTAACCTACTATGCAGGAAAAAAG  
AACCTTTCCGATATATAGGAATAGTATGAGCCATGCTATCAATCGGATTCCTAGGCTTTATCGTATGAGCTCACCATATATTC  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACTCGACATACTTCACATCAGCTACTATGATCATCGCCATCCCAACCGGCATCAAAGTTT  
CAGCTGACTAGCAACTCCACGGAGAAC

**>A.COOPERII : ORGANISM= ACCIPITER COOPERII, COOPER'S HAWK COX-1**

CCCTTTACCTAATCTTCGGCGCTTGAGCTGGCATAGTAGTACTGCCCTTAGCCTCCTCATCCGCGCAGAACTCGGCCAACCA  
GGCACACTACTAGGCGACGACCAAAATCTACAATGTAATCGTACCCGCACATGCCCTTCGTAATAATTTTCTTATAGTTATACC  
AATCATAATCGGAGGCTTCGGAAATGACTCGTTCACACTCATAATGGCGCCCCGACATAGCCTTCCCACGCATAAAACA  
TAAGTTCTGATTACTACCCCATCCTTCCCTCCTACTAGCCTCAACAGTAGAAGCAGGAGCTGGTACAGGATGAACT  
GTTTACCCTCATTAGCTGGTAATATAGCCACGCCGGAGCCTCAGTAGACCTAGCTATCTTCTCTTTACATCTAGCCGGAAT  
CTCATCCATCCTAGGAGCAATCACTTTCATCACAACCGCCATCAACATAAAAACCCAGTCTCTCCCAATACCAAAACACCC  
TATTCGTATGATCTGCTCCTCATCACCGCTCCTACTACTGCTCTCACTTCCAGTCCCTAGCTGCTGGCATFACTATACTACTA  
ACAGTTCGAAACCTCAACAACAATTTTCGACCCTGCCGGTGGAGGTGATCCTATCCTATACCAACATCTTTTCTGATTTCT  
TGGCCACCCAGAAGTCTACATCCTAATTTTACAGGGCTTCGGATTATCTCTCATGTGCGTAACCTATTATGCAGGTA AAAAAG  
AACCTTTCCGCTATATAGGAATAGTATGAGCTATACTATCAATCGGATTCCTAGGCTTTCATCGTATGAGCTCACCATATATTT  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTCACATCCGCCACTATAAATTATGCTATCCCAACTGGCATTAAGTCTT  
CAGCTGATTAGCAACTCCACGGAGAAC

**>B.LINEATUS : ORGANISM= BUTEO LINEATUS, RED-SHOULDERED HAWK COX-1**

CCCTATACCTAATCTTCGGTGCCTGAGCCGGTATAGTCGGCACCGCCCTCAGCCTACTTATTCGTGCAGAACTCGGCCAACCA  
GGCACACTCCTAGGTGACGACACAGATCTACAACGTAATTTGTACCGCACATGCCCTTCGTAATAATTTTCTTATAGTATACC  
AATTATGATCGGAGGATTCGAAACTGACTTGTCCACTCATAATCGGCGCCCCGACATAGCCTTCCCACGCATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCCTTCCCTCCTCCTAGCCTCCTCAACAGTAGAAGCAGGACCGGCACTGGATGAACT  
GTCTATCCCCACTGGTGGCAACATAGCCCATGCCGGAGCTTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCCTCACTTAGCCGGAGT  
CTCATCCATTTAGGAGCAATCACTTTATCACAACCGCCATCAACATAAAAACCCAGCCCTCTCCAGTACCAAAACACCC  
TATTTGTATGATCTGCTCCTATTACGCTGCTTCTACTACTCTCACTCCAGTCCCTAGCCGCGGATTACTATGCTGCTT  
ACAGACCCGAAACCTAAACAACATTTCTTTGACCCCGCTGGCGGAGGAGATCCCATCCTATACCAACATCTCTTTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTTACATCCTAATCCTGCCCCGCTTCGGAATTTATCTCCACGTAGTAACATACTATGCAGGCAAAAAG  
AACCATTCGGTTACATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGTTTCATGATGAGCTCATCATATTT  
ACAGTGGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTCACATCTGCCACCAATCATTGCTATCCCAACTGGCATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCAACGCTCCACGGAGGACT

**>B.LAGOPUS : ORGANISM= BUTEO LAGOPUS, ROUGH-LEGGED HAWK COX-1**

CCCTATACCTAATCTTCGGTGCCTGAGCCGGTATAGTCGGCACCGCCCTCAGCCTACTTATTCGTGCAGAACTCGGCCAACCA  
GGTACACTCCTAGGTGACGACACAGATCTACAACGTAATCGTACCCGCACATGCCCTTCGTAATAATTTTCTTATAGTATACC  
AATTATGATCGGAGGCTTCGAAACTGACTTGTCCACTCATAATCGGCGCCCCGATATAGCCTTCCCACGCATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCTCATCCTTCCCTCCTTCTCCTAGCCTCCTCAACAGTAGAAGCAGGACCGGTAAGTGA  
GTCTATCCCCACTAGCTGGCAACATAGCCCATGCCGGAGCTTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTTACTAGCCGGAGT  
CTCATCCATTTAGGAGCAATCACTTTATCACAACCGCCATCAACATAAAAACCCAGCCCTCTCCAGTACCAAAACACCC  
TATTCGTATGATCTGCTCCTATTACGCTGCTTCTACTACTCTCACTTCCAGTCCCTAGCCGCGGCAATACCATACTACTT  
ACAGACCCGAAACCTAAACAACATTTCTTTGACCCCGCCGGGAGGTGATCCCATCCTATACCAACATCTCTTCTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTTACATCCTAATCCTGCCCCGCTTCGGAATTTATCTCCACGTAGTAACATACTATGCAGGCAAAAAG  
AACCATTCGGTTACATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGTTTCATGATGAGCTCATCATATTT  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTCACATCTGCCACTATAATCATTGCTATCCCAACTGGTATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCAACGCTCCACGGAGGACT

**>B.JAMAICENSIS : ORGANISM= BUTEO JAMAICENSIS, RED-TAILED HAWK COX-1**

CCCTATACCTAATCTTCGGCGCTGGGCCGGTATAGTCGGCACCGCCCTCAGCCTACTTATTCGTGCAGAACTCGGCCAACCA  
GGCACACTTCTAGGCGACGACACAGATCTACAACGTAATCGTACCCGCACATGCCCTTCGTAATAATTTTCTTATAGTATACC  
AATTATGATCGGAGGCTTCGAAACTGACTTGTCCACTCATAATCGGCGCCCCGATATAGCCTTCCCACGCATAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCTCATCCTTCCCTCCTTCTCCTAGCCTCCTCAACAGTAGAAGCAGGACCGGCACTGGATGAACT  
GTCTATCCCCACTAGCTGGCAACATAGCCCATGCCGGAGCTTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTTACTAGCCGGAGT  
CTCGTCCATTTAGGGGCAATCACTTTATCACAACCGCCATCAACATAAAAACCCAGCCCTCTCCCAATACCAAAACACCC  
TATTCGTATGATCTGCTCCTATTACGCTGCTTCTACTACTCTCACTCCAGTCCCTAGCCGCTGGCATCACTATACTACTC  
ACAGACCCGAAACCTAAACAACATTTCTTTGACCCCGCCGGGAGGTGATCCCATCCTATACCAACATCTCTTTGATTTCT  
CGGACACCCAGAAGTTACATCCTAATCCTGCCCCGCTTCGGAATTTATCTCCACGTAGTAACATACTATGCAGGCAAAAAG  
AACCATTCGGTTACATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGTTTCATGATGAGCTCATCATATTT  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTCACATCTGCCACTATAATCATTGCTATCCCAACTGGTATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCAACGCTCCACGGAGGACT

**>B.REGALIS : ORGANISM= BUTEO REGALIS, FERRUGINOUS HAWK COX-1**

CCCTATACCTAATCTTCGGTGCCTGAGCCGGTATAGTCGGCACCCGCCCTCAGCCTACTTATTCGCGCAGAAGCTCGGCCAACCA  
GGCAGACTCCTAGGTGATGACACAGATCTACAACGTAATCGTTACCGCACATGCTTTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATACC  
AATTATGATCGGAGGCTTCGGAACTGACTTGTCCACTCATAATCGGGCCCCCGACATAGCCTTCCCACGCATAAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCATCCTTTCTCCTCCTAGCCTCCTCAACAGTAGAAGCAGGAGCTGGCACTGGATGAACT  
GTCTATCCCCACTAGCTGGTAACATAGCCCATGCGGAGCTTCAGTAGACCTAGCTATCTTCTCCTACACTTAGCCGGAGT  
CTCGTCCATCTAGGAGCAATCAACTTTATCAACAACCCGCATCAACATAAAAGCCCCAGCTCTCTCCCAATATCAAAACCCCC  
TATTCGTATGATCTGCCTCATTACCGCTGCCTTCTACTACTTTCACTCCCAGTCCTAGCCGCCGGCATTACCATACTACTT  
ACAGACCGAAACCTAAACACAACATTTCTTTGACCCCGCCGGGGAGGTGACCCCATCCTATACCAACATCTCTTTGATTTCTT  
CGGGACCCAGAAGTTTACATCCTAATCCTGCCCCGCTTCGGAATTATCTCCACGTAGTAACATACTACGCAGGTAAAAAAG  
AACCATTCGGTTACATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGGTTTCATCGTATGAGCTCATCATATTT  
ACAGTAGGGATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCCACTATAATCATTGCTATCCCAACTGGTATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCAACGCTCCACGGAGAACT

**>B.SWAINSONI : ORGANISM= BUTEO SWAINSONI, SWAINSON'S HAWK COX-1**

CCCTATACCTAATCTTCGGTGCCTGAGCCGGTATAGTCGGCACCCGCCCTCAGCCTACTTATTCGTCGAGAAGCTCGGCCAACCA  
GGCAGACTCCTAGGTGACGACAGATCTACAACGTAATCGTTACCGCACATGCTTTCGTAATAATTTCTTTCATAGTTATACC  
AATATGATTCGGAGGCTTCGGAACTGACTTGTCCACTCATAATCGGGCCCCCGACATAGCCTTCCCACGCATAAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCATCCTTTCTCCTCCTCCTAGCCTCCTCAACAGTAGAAGCAGGAGCCGGCACTGGATGAACT  
GTCTATCCCCACTAGCTGGCAATATAGCCCATGCGGAGCTTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTACACTTAGCCGGAGT  
CTCGTCCATCTAGGAGCAATCAACTTTATCAACAACCCGCATCAACATAAAACCCCGCCTCTCCCAATACCAAAACCCCC  
TATTCGTATGATCTGCCTCATTACCGCTGCCTTCTACTACTTCACTCCCAGTCCTAGCCGCCGGCATTACTATACTGCTT  
ACAGACCGAAACCTAAACACAACATTTCTTTGACCCCGCCGGGGAGGTGATCCCATCCTATACCAACATCTCTTTGATTTCTT  
CGGACACCCAGAAGTTTACATCCTAATCCTACCTGGCTTCGGAATTATCTCCACGTAGTAACATACTATGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTCGGTTACATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGGTTTCATCGTATGAGCCCATCATATATTT  
ACAGTAGGGATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCCACTATAATCATTGCTATCCCAACTGGTATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCAACGCTCCACGGAGAACT

**>B.PLATYPTERUS : ORGANISM= BUTEO PLATYPTERUS, BROAD-WINGED HAWK COX-1**

CCCTATACCTAATCTTCGGTGCCTGAGCCGGTATAGTCGGCACCCGCCCTCAGCCTACTTATTCGTCGAGAAGCTCGGCCAACCA  
GGCAGACTCCTAGGTGATGACCAAAATCTACAACGTAATCGTTACCGCACACGCCCTTCGTAATAATTTTCTTTCATAGTTATACC  
AATCATGATCGGAGGCTTTGGAACTGACTTGTCCACTCATAATCGGGCCCCCGACATAGCCTTTCACGCATAAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCATCCTTTCTCCTCCTCCTAGCCTCCTCAACAGTAGAAGCAGGAGCCGGCACTGGATGAACT  
GTCTATCCCCACTAGCTGGCAACATAGCCCATGCGGAGCTTCAGTAGACCTGGCCATCTTCTCCTACACTTAGCCGGAGT  
CTCATCCATCTAGGAGCAATCAACTTTATCAACAACCCGCATCAACATAAAACCCCGCCTCTCCCAATACCAAAACCCCTC  
TATTCGTATGATCTGCCTCATTACCGCGCTCCTTCTACTACTTTCACTCCCAGTCCTAGCCGCCGGCATTACTATACTGCTT  
ACAGACCGAAACCTAAACACAACATTTCTTTGACCCCGCCGGGGAGGTGATCCCATCCTATACCAACATCTCTTTGATTTCTT  
CGGACACCCAGAAGTTTACATCCTGATCCTACCCGGCTTCGGAATCATTCTCCACGTAGTAACATACTATGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTCGGCTACATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGGTTTCATCGTATGAGCTCACCACATATTT  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCCACCATAATCATTGCTATCCCAACTGGTATCAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCAACGCTCCACGGAGGAACT

**>C.CYANEUS : ORGANISM= CIRCUS CYANEUS, NORTHERN HARRIER COX-1**

CCCTATACCTAATCTTCGGCGCTTTCGAGCTGGCATAGTCGGCACCCGCCCTCAGCTACTCTATTCGCGCAGAAGCTCGGTCAACCA  
GGCAGACTCCTAGGTGATGACCAAAATCTATAACGTAATCGTACCGCACATGCTTTCGTAATAATTTTCTTTCATAGTTATACC  
AATCATGATCGGAGGCTTCGGAACTGACTTGTCCACTCATAATCGGGCCCCCGACATAGCCTTTCACGCATAAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTACTACCCCATCTTTCTCCTCCTTACTAGCCTCCTCAACAGTAGAAGCAGGAGCTGGTACCGGATGAACT  
GTTTACCCCATAGCTGGCAATATAGCCCATGCTGGCCCTCAGTAGACTTGGCTATCTTCTCCTTACATTTAGCTGGAGT  
TTCATCCATCCTAGGAGCAATTAATCTCATTACAACCCGCATTAACATAAAACCCCGCCTCTCTCAATACCAAAACCCCTC  
TATTCGTATGATCTGTTCTCATTACTGCTGCCTACTATTACTATCACTTCCAGTCCTAGCTGCCGGCATACCATACTACTA  
ACGGACCGAAACCTTAATACAACATTTCTTGCACCTGCTGGCGGGGGCGATCCTATCCTATACCAACACCTCTTCTGATTTCTT  
TGGCCACCCAGAAGTTTACATCCTAATCCTACAGGATTTGGAATTTATTTCTCATGTAGTAACATACTATGCAGGCAAAAAAG  
AACCTTTGGCTACATAGGAATAGTATGAGCTATACTATCAATCGGATTCCTAGGCTTCATCGTATGAGCCACCATATATTT  
ACAGTAGGAATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCCACCATAATCATTGCTATCCCAACTGGTATCAAGTCTT  
CAGCTGACTGGCAACACTCCATGGAGAACT

**>P.UNICINCTUS : ORGANISM= PARABUTEO UNICINCTUS, HARRIS HAWK COX-1**

CCCTATACCTAATTTTCGGCGCCTGAGCTGGTATAGTCGGCACCCGCCCTCAGCTACTCTATTCGTCGAGAAGCTCGGCCAACCC  
GGCAGACTCCTAGGTGACGACCAAAATTTATAACGTAATCGTTACCGCACATGCTTTCGTAATAATTTCTTTCATAGTTATACC  
AATCATGATCGGAGGATTCGGAACTGACTTGTTCCTACTCATAATTCGGCGCTCCCAGACATAGCCTTTCACGCATAAAACAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCCATCTTCTCCTCCTACTAGCCTCCTCAACAGTAGAAGCAGGAGCCGGTACTGGATGAACT  
GTCTATCCTCCTTAGCTGGCAACATAGCCCATGCGGAGCTTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTACACTTAGCCGGAGT  
TTCATCCATCTAGGGGCGATCAACTTTCATCAACAACCCGCATTAATATAAAACCCCGCCTCTCCAGTACCAAAACCCCTC  
TGTTTGTATGATCTGACTACTACTGCGCTCCTTCTACTACTTCACTCCCAGTCCTAGCCGGCATCCTATACACTACTACTT  
ACAGACCGAAACCTAAACACAACATTTCTTTGACCCCGCCGGGGAGGTGATCCCATCCTATACCAACATCTCTTTGATTTCTT  
CGGACACCCAGAAGTCTACATCTTAATCCTACCCGGTTTCGGAATTATCTCCACGTAGTAACATACTATGCAGGCAAAAAAG  
AACCATTCGGCTACATAGGAATAGTATGAGCCATATTAATCAATCGGATTCCTAGGTTTTATCGTATGAGCCACCCACATATAT  
ACAGTAGGGATAGACGTAGACACCCGAGCATACTTACATCTGCCACCATAATCATTGCTATCCCAACTGGTATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCAACCCCTCCACGGAGGAACT

**>P.HALIAETUS : ORGANISM= PANDION HALIAETUS, OSPREY COX-1**

CACATATATCTAATCTTCGGCGCCTGAGCCGGCATAGTTGGTACCGCTCTTAGCCCTACTCATCCGTCAGAACTAGGCCAACCT  
GGCACCCCTACTAGGCGACGACCAAACTTACAATGTAGTCGTCACAGCCCATGCATTCGTAATAATCTTCTTCATAGTCATACC  
AATCATAAATCGGAGGCTTCGGTAACTGACTTGTCCACTCATAAATCGGCGCCCCAGACATAGCCCTCCACGTAATAACAACA  
TAAGCTTCTGACTATTACCTCCATCCCTACTACTCTACTAGCCCTCAACAGTAGAAGCAGGTGCTGGCACAGGGTGAACA  
GTATATCCACCCTAGCCAGCAACATAGCTCACGCCGGAGCCTCAGTAGACCTGGCTATCTTCTCCCTCCACCTAGCCGGCT  
ATCATCCATCCTAGGTGCAATCACTTTCATCACACTGCTATTAACATAAAAACCCAGCCCTCTCAACAATCAAAAACCCCT  
TATTCGTATGATCTGACTTATCACTGCTGATTACTACTACTCTCACTTCCAGTTCCTCGCCGCTGGTATACAATACTCTTA  
ACAGACCGAAACCTCAACACCACATTTTGGACCCAGCTGGAGGAGGTGACCCTATCCTATACCAACACCTCTTCTGATTTTT  
TGGACACCCAGAAAGTGTACATCCTAATTTTACAGGCTTCGGAATATATCTCTCACGTAGTAACATACTACTCAAGCAAAAAG  
AACCATTCGGCTATATAGGGATAGTATGAGCCATGCTATCAATCGGATTCCTAGGTTTCATCGTATGAGCCACCACATATTT  
ACAGTTGGGATAGAGTAGACACCCGAGCATACTTACATCCGCCACTATAATCATCGCCATCCCAACCCGGCATTAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCAACATTACACGGAGGAACA

**>H.LEUCOCEPHALUS : ORGANISM= HALIAETUS LEUCOCEPHALUS, BALD EAGLE COX-1**

CCTTATATCTAATCTTCGGTGTCTGAGCTGGCATAGTCGGCACCCCTCAGCTTACTCATCCGCGCAGACCTCGGCCAACCA  
GGCACACTCTTAGGGGACGACCAAACTTACAACGTAGTCGTCACCGCACATGCTTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTCATACC  
TATCATAATCGGAGGATTTCGAAACTGACTTGTTCCTACTCATAATTCGGCGCCCCGACATAGCCCTCCACGCAAAAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCTCCCTCCTCTTACTAGCCCTCAACTGTAGAGGCAGGAGCTGGCACCCGGATGAAT  
GTTTTATCCCCATTAGCAGGCAACATAGCCCATGCGGAGCCTCAGTAGACTTAGCCATCTTCTCCCTACACCTAGCTGGAA  
CTCATCCATCCTAGGAGCAATTAACCTTTATCAACCCGCTATCAACATAAAAACCCAGCCCTCTCCCAATACAGACACCC  
TATTTGTATGATCCGTTCTCATCACCGGCTCCTACTACTGCTCTCACTTCCAGTTCCTAGCCCGCCGATCACCATACTACT  
ACAGCTCGAAACCTCAATAACAACATTTCTTACCCCGCTGGTGGAGGTGACCCATCCTATACAGCCAGGATCTTCTGATCTT  
CGGACATCCAGAAGTTTACATCCTAATTTACCCGGCTTCGGAATATATCTCCCATGTAGTAACATACTATGCAGGCAAAAAG  
AACCATTCGGCTACATAGGAATAGTATGAGCCATACTATCAATCGGATTCCTAGGTTTCATCGTATGAGCCACCACATATTT  
ACAGTAGGATAGATGTAGACACCCGAGCATACTTACATCCGCCACTATAATCATTCGCATCCCAACTGGTATTAAGTTTT  
CAGCTGATTAGCGACGCTCCACGGAGGAACC

**>C.ATRATUS : ORGANISM= CORAGYPS ATRATUS, BLACK VULTURE COX-1**

CCCTGTAATTTTCGGGCGCATGAGCTGGCATAGTCGGCACCCGCTCTTAGCCCTACTCATTCGCGCCGAGCTCGGACAACCT  
GGAACCTCTTCGGGGATGATCAAATCTACAATGTAATTTGCTACTGCCCATGCCCCGTAATAATTTCTTCATAGTAATACC  
CATCATAATTCGGAGGATTTCGAAACTGATTAGTCCCTTATAATCGGCGCCCCGATATAGCATTTCCGCGTATAAACAA  
TGAGCTTCTGACTACTTCCCCCTCTTTTACTCCTATTTGGCCTCTTCTACAGTAGAAGCTGGAGCAGGACAGGATGAAC  
GTATACCCCCACTAGCTGGTAACCTTGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCTCACCTAGCTGGTGT  
ATCATCCATTCAGGTGCAATCACTTTCATCAACTGCCATCAACATAAAAACCCAGCCTCTCAACAATATAAACACCTC  
TATTCGTATGATCTGTTCTCATTACCGCAGTATTACTTCTCTCACTCCAGTCTTGTGCGGGAATACCATGCTGCTA  
ACAGATCGCAACCTAAACACCACATTTCTTGGACCCGCTGGAGGAGGTGATCCTGTCTTATATCAACACCTCTTCTGATTTCT  
CGGCCATCCAGAAGTCTACATCCTAATCCTACAGGCTTTGGAAATCATCTCGCAGTAGTAACATACTATGCGCGTAAGAAAG  
AACCTTCGGCTATATAGGAATAGTATGAGCTATACTGTCCATCGGGTTTTAGGCTTTATCGTATGGGCCACCACATATTT  
ACAGTAGGAATAGATGTAGACACCCGAGCATACTTACATCCGCCACCATAATCATTCGCATTCCAACTGGCATCAAAGTCTT  
CAGCTGACTAGCCACATTACATGGAGGAACC

**>C.AURA : ORGANISM= CATHARTES AURA, TURKEY VULTURE COX-1**

CCTTATACTTAAATTTTCGGGCGCATGAGCTGGCATAGCCGCTACTGCCCTTAGCTGCTAATTCGGGCAGAGCTCGGACAACCC  
GGAACCCCTTAGGAGATGACCAAACTTATAACGTAATTTGCTACTGCCCATGCCCCGTAATAATTTCTTCATAGTAATACC  
CATCATAAATTCGGAGGATTTGGAAACTGATTAGTCCCACTATAAATCGGCGCCCCGATATAGCATTTCCACGAAATAACA  
TAAGCTTCTGACTACTTCCCCATCTTCTACTCTACTAGCCCTTCTACAGTAGAAGCTGGGGGGGACAGGATGAAC  
GTATACCCCCACTAGCTGGCAACCTTGCCCATGCTGGGCATCGGTAGACCTAGCTATTTCTCCCTTACCTAGCTGGAGT  
ATCGTCCATCTTAGGTGCAATCACTTTTATCAACCCGCTATCAACATAAAAACCCAGCCCTCTCAACAGTACCAACCCCT  
TATTCGTATGATCCGCTCCTCATCACCGCAGTACTACTCTCTCACTTCCAGTCTTGTGCTGGAATCACTATGCTACTA  
ACAGACCGAAACTTAAACACCACATTTTGGACCTGCTGGAGGAGCGATCCGGTCTTATCAACACCTCTTCTGATTTCT  
CGGCCACCCAGAAAGTCTATATCCTGATTTACAGGCTTTGGAAATCATCTCACACGTAGTAACATAATTTGCTGCAAAAAG  
AACCATTCGGTTACATGGGAATAGTATGGGCCATGCTATCCATCGGATTCCTAGGCTTTATCGTATGAGCTCACCACATGTTT  
ACAGTAGGAATAGATGTAGACACCCGAGCATACTTACAGTCTGCCACTATAATCATCGCCATTCCAACTGGCATTAAGTATT  
CAGTTGACTAGCCACTGCATGGAGGAACC

**>A.CHRYSAETOS : ORGANISM= AQUILA CHRYSAETOS, GOLDEN EAGLE COX-1**

CTCTATACCTAATCTTCGGCGCATGGGCTGGCATAGTCGGCACCCGCTTAGCCCTTCTTATCCGCGCAGAACTGGCCAACCT  
GGCACCCCTTAGGGGATGACCAAACTTACAATGTAATCGTCACCGCTCATGCTTTCGTAATAATCTTCTTCATAGTCATACC  
AATCATAAATTCGGAGGCTTTGGAAACTGACTTGTCCACTCATAATTCGGCGCCCCGACATAGCCCTCCACGCAAAAACA  
TGAGCTTCTGACTACTTCCCCATCTTCTCTCTACTAGCCCTTCAACAGTAGAAGCAGGCTGGCACCCGGTGGACT  
GTCTACCCCCACTAGCCGCAACATAGCCACCGCGGCTTCGGTAGACCTAGCTATCTTTCTCCCTCATCTAGCAGGTAT  
CTCATCCATCTTAGGGGCCATTAACCTTTATCAACAGCCATTAACATAAAAACCCAGCCCTCTCCCAATACCAACACCCCT  
TATTCGTATGATCCGTTCTTATACCGCTGCTACTATTACTCTCACTCCCGTCTAGCTGCTGGCATCACTATATTA  
ACAGACCGAAACCTCAACACAACATTTCTTCCAGCCGCTGGCGGCTGACCCAAATTCGTATACCAACACCTCTTCTGATTT  
CGGACACCCGAAAGTCTACATCCTAATTTCCAGGATTTGGAAATATCTCCACGTAGTAACATAATTCAGCAGGCAAAAAG  
AGCCATTTGGCTACATAGGAATAGTCTGAGCCATACTCTCCATCGGATTCCTAGGCTTTCATCGTATGAGCCACCACATATTT  
ACAGTAGGAATAGATGTAGACACCCGAGCATACTTACAGTCTGCCACTATAATCATCGCCATTCCAACTGGCATTAAGTATT  
CAGCTGACTGGCAACACTACATGGAGGACT

**PASSERIFORMES**

>**C.BRACHYRHYNCHOS** : ORGANISM= CORVUS BRACHYRHYNCHOS, AMERICAN CROW COX-1

```
CTCTGTACCTAATCTTCGGAGCGTGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTCATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCA
GGCGCTCTGTAGGAGACGATCAAATCTATAATGTAATCGTTACAGCTCATGCCCTTGTGCATAAATCTTCTTTATAGTAATGCC
AATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTCCCTCTAATGATTTGGTGCCTCCAGACATAGCATTTCCACGAATAAACAAACA
TAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCCTTCTCTCTCTAGCCCTTCCACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACT
GTGTACCACCACACTAGCTGGCAACCTAGCCACGCTGGAGCCTCAGTCGACCTAGCCATCTTCTCGTACATCTAGCAGGTAT
CTCCCTCATCTAGGGCAATTAACCTTCATCACCACAGCAATTAACATAAAAACCCCGCCCTCACAATACCACCAACCCCTC
TGTTCTGATGATCCGTACTAATTACCGCAGTACTACTCTTCTCTCCCTACCTGTACTTGTCTGCCGGAATTACTATGCTTCTA
ACAGACCGTAACCTCAACACCACATCTTTCGATCCAGCAGGAGGAGACCCAGTACTATACCAACACCTGTTCTGATTCTT
TGGACATCCTGAAGTTTATATCCTAATTTACCAGGATTTGGTATCATCTCCCACGTTGTAGCATACTACGCAGGAAAAAAG
AACCATTTGGCTACATAGGAATAGTATGAGCCATGCTATCCATCGGATTCTTAGGCTTCATTGTCTGAGCACACCACATGTTT
ACTGTCCGAATGGACGTAGACACTCGAGCATACTTCACATCTGCCACCATAATCATTGCTATCCCAACCGGAATTAAGTGT
TAGTGTACTAGCAACCCCTCACGGAGGGACA
```

**GALLIFORMES**

>**G.GALLUS** : ORGANISM= GALLUS GALLUS, CHICKEN COX-1

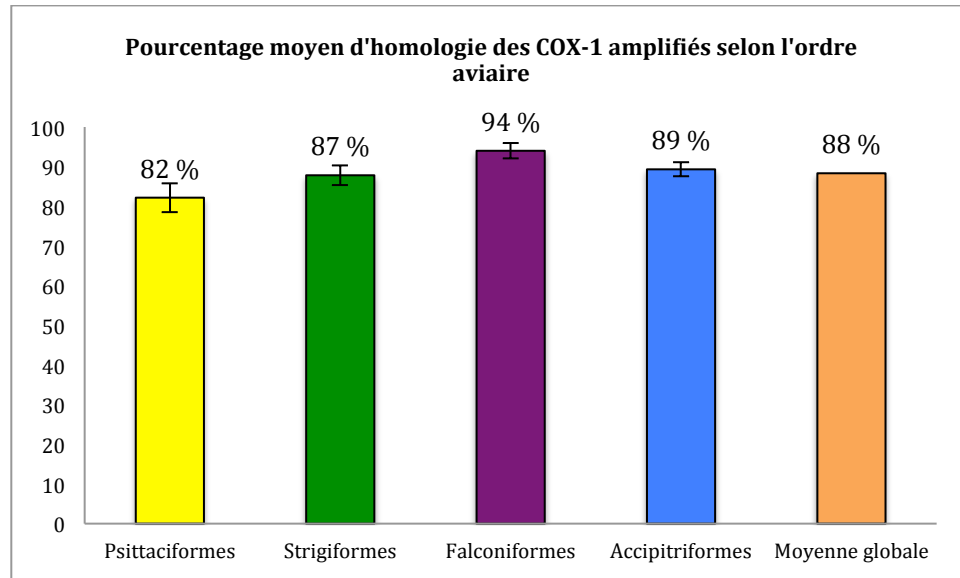
```
CTCTTTACCTAATTTTCGGCACATGGGCGGGCATAGCCGGCACAGCACTTAGCCCTTCTAATTCGGCGAGAACTAGGACAGCCC
GGAACCTCTCTAGGAGACGATCAAATTTACAATGTAATCGTFCACAGCCCATGCTTTCGTACATAAATCTTCTTTATAGTTATACC
CATCATGATCGGTGGCTTCGGAACTGACTAGTCCCACTATAATCGGTGCCCCAGACATAGCATTTCCCCCGCATAAAATAACA
TAAGCTTCTGACTCCTCCCTCCCTCCTTCTCTCTACTAGCCCTCATCTACCGTAGAAGCTGGGGCCGGCACAGGATGGACA
GTTTACCCCTTTAGCCGGAACCTAGCCACGCTGGCGCATCAGTAGACCTAGCCATCTTTCATTACTTAGCAGGTGTTTC
CTCCATTTAGGAGCCATCAACTTTATCACTACCATCATCAACATAAAAACCCCGCACGTGCAATAACCAAAACCCCTAT
TCGTATGATCCGTCCTCATCTACTGCCATCTACTACTCTCTCTTACCCGTCCTAGCAGCTGGGATTACCATACTACTTACC
GACCGCAACCTTAACACCACATTTCTGACCCAGCTGGAGGAGGAGACCAATCTTATACCAACACCTATTTCTGATTTCTCGG
TCACCCCGAAGTTTACATCCTCATCTCTCCAGGTTTCGGAATAATTTCCACGCTAGTAGCATACTATGCAGGAAAAAAGAAC
CATTCGGATACATAGGAATAGTCTGAGCCATACTGTCAATCGGATTCCTTGGCTTCATTGTATGAGCCACCATATATTACA
GTCCGAATGGACGTAGACACCCGAGCCTACTTTACATCAGCCACAATAATCATCGCCATCCCACTGGTATTAAAGTCTTCAG
CTGACTAGCAACCCCTGCACGGAGGAACAATT
```

La figure 9 (p.103) présente une séquence du fragment du gène COX-1 de l'*Ara macao*. Une comparaison (« BLAST ») de la séquence a été effectuée avec les séquences disponibles sur le site internet « NCBI ». Pour l'*Ara macao*, cette comparaison a mené à une homologie de 100 % avec l'*Ara macao* (bonne espèce) et de 97 % avec l'*Ara chloropterus* (espèce sœur). Cet exercice d'identification a été répété avec toutes les espèces de perroquets et d'oiseaux de proie incluses dans cette étude.

Description		Ident		
Ara macao voucher 1B-6 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial		100%		
Ara macao voucher USNM:Birds:541324 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial		100%		
Ara chloropterus voucher HARI-GWM cytochrome oxidase subunit 1 (COX1) gene, partial cds; mitochondrial		97%		
Ara macao voucher 1B-6 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial				
Sequence ID: gbjJN801493.1   Length: 872   Number of Matches: 1				
Range 1: 44 to 749 GenBank Graphics <span style="float: right;">▼ Next Match ▲ Previous Match</span>				
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1304 bits(706)	0.0	706/706(100%)	0/706(0%)	Plus/Plus
Query 1	TTGGCACCCCTTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCAGGCATAGTTGGTACCCGCTTGAGCC			60
Sbjct 44	TTGGCACCCCTTACCTAATCTTCGGCGCATGAGCAGGCATAGTTGGTACCCGCTTGAGCC			103
Query 61	TGCTCATCCGTGCAGAACTAGGTGAGCCAGAAACCCCTTAGGAGACGACAGATTATA			120
Sbjct 104	TGCTCATCCGTGCAGAACTAGGTGAGCCAGAAACCCCTTAGGAGACGACAGATTATA			163
Query 121	ATGTAGTTGTCACAGCCCATGCCCTTGTAAATAATCTTTCATAGTAATACCAATCATGA			180
Sbjct 164	ATGTAGTTGTCACAGCCCATGCCCTTGTAAATAATCTTTCATAGTAATACCAATCATGA			223
Query 181	TTGGAGGATTTGGGAACTGACTAGTCCCCCTTATAATTTGGCGCCCCGACATAGCATTC			240
Sbjct 224	TTGGAGGATTTGGGAACTGACTAGTCCCCCTTATAATTTGGCGCCCCGACATAGCATTC			283
Query 241	CGCGCATAAACAAACATAAGCTTCTGACTACTTCCATCCCTTCCCTCCCTACTAGCCT			300
Sbjct 284	CGCGCATAAACAAACATAAGCTTCTGACTACTTCCATCCCTTCCCTCCCTACTAGCCT			343
Query 301	CCTCTACAGTAGAAGCAGGTGCTGGTACGGGCTGAACAGTCTATCCCCCTTAGCCGAA			360
Sbjct 344	CCTCTACAGTAGAAGCAGGTGCTGGTACGGGCTGAACAGTCTATCCCCCTTAGCCGAA			403
Query 361	ACCTAGCCCATGCTGGGGATCAGTGGACCTAGCCATCTTCTCCCTTACCTAGCAGGGG			420
Sbjct 404	ACCTAGCCCATGCTGGGGATCAGTGGACCTAGCCATCTTCTCCCTTACCTAGCAGGGG			463
Query 421	TATCCTCCATCTTAGGGGCAATCAACTTTATTACCACAGCCATCAACATAAAACCACTG			480
Sbjct 464	TATCCTCCATCTTAGGGGCAATCAACTTTATTACCACAGCCATCAACATAAAACCACTG			523
Query 481	TACTATCACAAATACCAAACCCACTATTGTCTGATCTGTCTAATCACAGCCGTTATGC			540
Sbjct 524	TACTATCACAAATACCAAACCCACTATTGTCTGATCTGTCTAATCACAGCCGTTATGC			583
Query 541	TTCTACTATCCCTACCAGTCCCTCGCTGCTGGAATCACCATACTCCTTACAGATCGTAACC			600
Sbjct 584	TTCTACTATCCCTACCAGTCCCTCGCTGCTGGAATCACCATACTCCTTACAGATCGTAACC			643
Query 601	TAAATACCACATCTTCGACCTGCTGGAGGAGAGACCCAGTCTTGTATCAACACCTCT			660
Sbjct 644	TAAATACCACATCTTCGACCTGCTGGAGGAGAGACCCAGTCTTGTATCAACACCTCT			703
Query 661	TCTGATCTTCGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCTTACCAGG		706	
Sbjct 704	TCTGATCTTCGGACACCCAGAAGTATACATCCTCATCTTACCAGG		749	

**Figure 9.** Séquençage d'un fragment COX-1 pour *Ara macao*. Résultats obtenus suite au séquençage du fragment du gène COX-1 amplifié par les amorces DIA143 et DIA144 pour *Ara macao*, et comparés avec « NCBI ».

La figure 10 (p.104) représente l'homologie moyenne du gène mitochondrial COX-1 (944 pb) pour les espèces séquençées, et ce, pour les différents ordres d'oiseaux analysés (Psittaciformes, Accipitriformes, Strigiformes et Falconiformes). La moyenne d'homologie pour les espèces de l'ordre des Falconiformes est de 94 % +/- 3,94 (N=6). Pour les Psittaciformes, la moyenne d'homologie inter-espèces est de 82,19 % +/- 7,33 (N=27). Les Accipitriformes détiennent une moyenne d'homologie de fragment de 89,33 % avec un écart-type de 3,48 (N=16). Finalement, les Strigiformes ont une moyenne de 87,83 % +/- 4,93 (N=11). Pour tous les ordres, la moyenne d'homologie entre les espèces est de 88,34 %.



**Figure 10.** Homologie moyenne des séquences COX-1 pour chaque ordre d'espèces aviaires sexées. Les Psittaciformes sont représentés en jaune, les Strigiformes en vert, les Falconiformes en mauve et les Accipitriformes en bleu. La moyenne globale est illustrée en orangé.

## 2.2 CHD-Z

La séquence du fragment du gène CHD-Z de l'*Ara macao* est présentée dans la figure 11 (p.105). Comme pour le gène COX-1, une comparaison (« BLAST ») de la séquence a été effectuée avec les séquences disponibles sur le site internet « NCBI ». Cette comparaison a permis de démontrer une homologie de 100 % avec l'*Ara macao* (bonne espèce) et de 99 % avec l'*Ara chloropterus* et l'*Arantiga acuticaudata*. Les séquences de CHD-Z amplifiées et séquencées au cours de ce projet n'étaient pas disponibles dans « NCBI » sauf pour celle de la poule qui était déjà présente. Ces nouvelles séquences ont été déposées dans « GenBank » afin de compléter les banques de données génétiques.



Description		Ident		
<a href="#">Ara macao chromo-helicase-DNA binding protein-Z (CHDZ) gene, exons 23, 24 and partial cds</a>		100%		
<a href="#">Ara chloropterus chromo-helicase-DNA binding protein-Z (CHDZ) gene, exons 23, 24 and partial cds</a>		99%		
<a href="#">Aratinga acuticaudata chromo-helicase DNA-binding protein (CHDZ) gene, exons 9, 10 and partial cds</a>		99%		
Ara macao chromo-helicase-DNA binding protein-Z (CHDZ) gene, exons 23, 24 and partial cds Sequence ID: <a href="#">gb KF412778.1 </a> Length: 332 Number of Matches: 1				
Range 1: 1 to 332 <a href="#">GenBank</a> <a href="#">Graphics</a> <span style="float: right;">▼ Next Match ▲ Previous Match</span>				
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
614 bits(332)	4e-172	332/332(100%)	0/332(0%)	Plus/Plus
Query 12	TGCAAAACAGGTGTCCTTGGTTCCAACGACCTGTAC	tttatggtgcttgggttta	71	
Sbjct 1	TGCAAAACAGGTGTCCTTGGTTCCAACGACCTGTACTTTATGTGCTTGTGGTTA	60		
Query 72	gtagtttgggtgggttgggtttgggtttgggtttttt	CCTTCTTCTGGACA	131	
Sbjct 61	GTTAGTTTGTGGGGTGTGGGTTTGGGTTTGGGTTT	TTCCTTCTTCTGGACA	120	
Query 132	CATATTTTGACAGGCTGTATAAACTTACTTATCTT	TGTTAATAATGTAGCTTGAAC	191	
Sbjct 121	CATATTTTGACAGGCTGTATAAACTTACTTATCTT	TGTTAATAATGTAGCTTGAAC	180	
Query 192	TACTTATTCGACATTCAGATCAGCTTAAATGGAAG	TGAAGGAGCGGAGTAGGAGTA	251	
Sbjct 181	TACTTATTCGACATTCAGATCAGCTTAAATGGAAG	TGAAGGAGCGGAGTAGGAGTA	240	
Query 252	GAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCG	GAAAGAAACGGCCAAAAAGCGTG	311	
Sbjct 241	GAAGATACTCTGGATCTGATAGTGACTCCATCTCG	GAAAGAAACGGCCAAAAAGCGTG	300	
Query 312	GAAGACCACGAACTATTCCTCGAGAAAATATA	343		
Sbjct 301	GAAGACCACGAACTATTCCTCGAGAAAATATA	332		

**Figure 11.** Séquençage d'un fragment CHD-Z pour *Ara macao*. Résultats obtenus suite au séquençage du fragment du gène CHD-Z amplifié par les amorces DIA194 et DIA195 pour *Ara macao*, et comparés avec « NCBI ».

## 2.3 CHD-W

La figure 12 montre, encore une fois pour l'*Ara macao*, la séquence du fragment du gène CHD-W. La comparaison (« BLAST ») de la séquence avec les séquences disponibles sur le site internet « NCBI » a permis d'obtenir une homologie de 100 % avec l'*Ara macao* (bonne espèce) et une homologie de 99 % avec le *Pionites melanocephalus* et le *Pandion haliaetus*. Cette dernière espèce fait partie de l'ordre des Accipitriformes, contrairement aux autres qui font partie de l'ordre des Psittaciformes. Comme c'est le cas pour les séquences CHD-Z, les séquences de CHD-W n'étaient pas disponibles dans « NCBI », notamment celle du poulet (*Gallus gallus*) pour qui le génome a été séquencé en 2004 à l'exception du CHD-W. Ces nouvelles séquences ont donc été déposées dans « GenBank » afin de compléter les banques de données génétiques.

Description		Ident		
<a href="#">Ara macao chromo-helicase-DNA binding protein-W (CHDW) gene, exons 23, 24 and partial cds</a>		100%		
<a href="#">Pionites melanocephalus chromo-helicase DNA-binding protein (CHDW) gene, exons 9, 10 and partial cds</a>		99%		
<a href="#">Pandion haliaetus chromo-helicase-DNA binding protein-W (CHDW) gene, exons 23, 24 and partial cds</a>		99%		
Ara macao chromo-helicase-DNA binding protein-W (CHDW) gene, exons 23, 24 and partial cds Sequence ID: <a href="#">gb KF425691.1 </a> Length: 358 Number of Matches: 1				
Range 1: 1 to 358 <a href="#">GenBank</a> <a href="#">Graphics</a> <span style="float: right;">▼ Next Match ▲ Previous Match</span>				
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
662 bits(358)	0.0	358/358(100%)	0/358(0%)	Plus/Plus
Query	21	TGCAAAACAGGTATCTCTGGGGTTGACCAATTAACCTAGTTTTTTGGTGGTGGTGA	80	
Sbjct	1	TGCAAAACAGGTATCTCTGGGGTTGACCAATTAACCTAGTTTTTTGGTGGTGGTGA	60	
Query	81	tttttttttttttATTACTCTCTTTTGGCTTGTACTGTGGGTGGGGCATTTTCACACA	140	
Sbjct	61	TTTTTTTTTTTTTATTACTCTCTTTTGGCTTGTACTGTGGGTGGGGCATTTTCACACA	120	
Query	141	TGATACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTGGACAGGCTAGATAACACAT	200	
Sbjct	121	TGATACCCCCACACCTACTCCCTCCCTAATTTTGGACAGGCTAGATAACACAT	180	
Query	201	aaTGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACFACCTAATCTGAAATCCAGATCAGCTT	260	
Sbjct	181	AATGTTTTAGTCACATAGCTTTGAACFACCTAATCTGAAATCCAGATCAGCTT	240	
Query	261	AAGTGAAGGAGACACAGTAGGAGCAGAAGATATCCGGATCTGATAGTACTCCATCTC	320	
Sbjct	241	AAGTGAAGGAGACACAGTAGGAGCAGAAGATATCCGGATCTGATAGTACTCCATCTC	300	
Query	321	AGAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTGGACGACCACGAATATCCCTCGTAAAAATAT	378	
Sbjct	301	AGAAAGAAAACGACCAAGAAAACGTGGACGACCACGAATATCCCTCGTAAAAATAT	358	

**Figure 12.** Séquençage d'un fragment CHD-W pour *Ara macao*. Résultats obtenus suite au séquençage du fragment du gène CHD-W amplifié par les amorces DIA194 et DIA195 pour *Ara macao*, et comparés avec « NCBI ».

### 3. Phylogénie

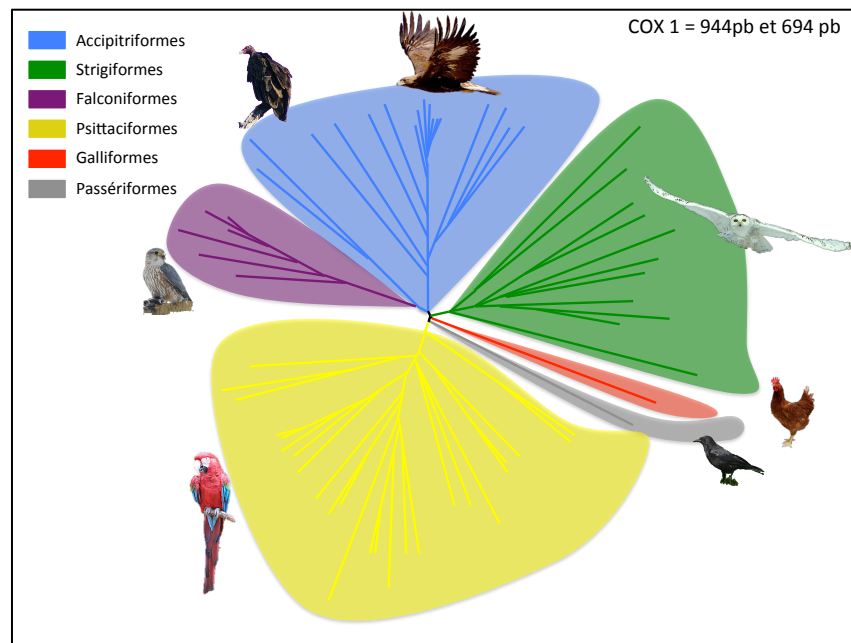
Les séquences des gènes COX-1, CHD-Z et CHD-W, isolées et amplifiées par PCR durant ce projet permettent de faire un rapprochement phylogénique entre chacune des espèces. Grâce aux sites internet « Clustal Omega » et « Tree phylodendron », un arbre phylogénique a pu être créé à partir du gène mitochondrial monoploïde COX-1, du gène nucléaire diploïde CHD-Z et du gène nucléaire monoploïde CHD-W afin d'observer le rapprochement génétique entre les diverses espèces aviaires. De cette manière, les espèces qui possèdent une plus grande homologie des divers gènes entre elles se retrouvent plus près les unes des autres. Dans un arbre phylogénique, chacune des espèces parentes sont reliées entre elles par une branche. Le lien entre deux branches se nomme le nœud et représente un potentiel ancêtre commun entre les deux espèces reliées. Les espèces avec un ancêtre commun forment un clade.

#### 3.1 COX-1

Le gène COX-1 est, tel que mentionné précédemment, un gène mitochondrial monoploïde. Les séquences de COX-1 utilisées dans cette étude sont entièrement codantes. Pour le COX-1, il y a très peu de variation des séquences à l'intérieur d'une même espèce. C'est pour cette raison que ce gène un bon candidat pour la taxonomie des espèces par ADN. Les séquences utilisées pour l'élaboration de l'arbre phylogénique de cette étude sont majoritairement d'une longueur de 944 pb, sauf pour *Bubo virginianus*, *Falco rusticolus*, *Aratinga jandaya* et *Tyto alba* qui ont une longueur de 694 pb. Les données sous format « New Hampshire tree format » se retrouvent en Annexe 2.

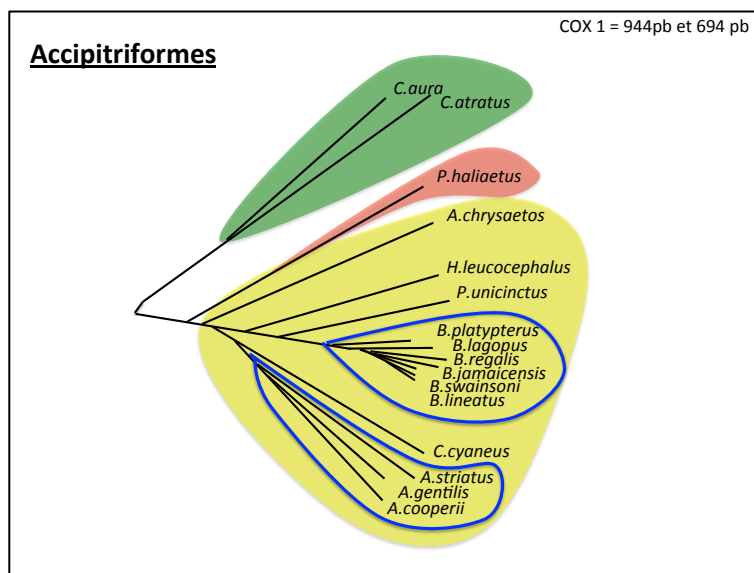
La figure 13 (p.108) présente l'arbre phylogénique fait par « Clustal Omega » à partir des gènes COX-1 des diverses espèces aviaires identifiées dans ce projet. Dans cet arbre, tous les ordres aviaires sont bien séparés ; Accipitriformes en bleu,

Strigiformes en vert, Falconiformes en mauve, Galliformes en rouge, Passeriformes en gris et Psittaciformes en jaune. De plus, les espèces individuelles, même ceux qui sont proches génétiquement, sont relativement bien séparées. Chacun des ordres sera vu de plus près à l'aide des figures présentées ultérieurement. Par contre, il est possible d'estimer la phylogénie profonde à partir de cette figure ; les Falconiformes forment un clade avec les vautours du Nouveau Monde (*Cathartes aura* et *Coragyps atratus*). Ces derniers forment également un clade avec les Accipitriformes et les Strigiformes. Les Psittaciformes forment dans cette figure un clade à part.



**Figure 13.** Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des oiseaux séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les Accipitriformes sont représentés en bleu ; les Strigiformes en vert ; les Falconiformes en mauve ; les Psittaciformes en jaune ; les Galliformes en rouge et finalement, les Passeriformes en gris.

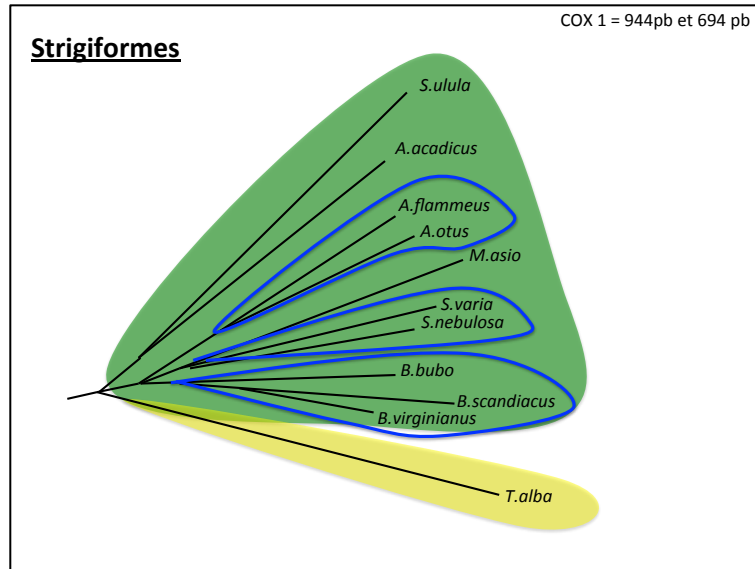
La figure 14 ci-dessous permet de distinguer les trois familles retrouvées dans l'ordre des Accipitriformes et utilisées dans ce projet grâce à leur homologie du gène COX-1 (944 pb). Certaines espèces aviaires se retrouvent divisées en familles telles que les Cathartidés en vert, les Accipitridés en jaune et le seul représentant des Pandionidés en rouge. De plus, certains genres sont regroupés dans cet arbre par des cercles bleus dans la figure. C'est le cas des buses (*Buteo*) (*B.platypterus*, *B.lagopus*, *B.regalis*, *B.jamaicensis*, *B.swainsoni* et *B.lineatus*) ainsi que des *Accipiter* (*A.striatus*, *A.gentilis* et *A.cooperii*).



**Figure 14.** Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des Accipitriformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les espèces de la famille des Accipitridés sont représentées en jaune, les Cathartidés en vert et l'individu de la famille des Pandionidés en rouge. Les espèces ayant le même genre sont encerclées en bleu.

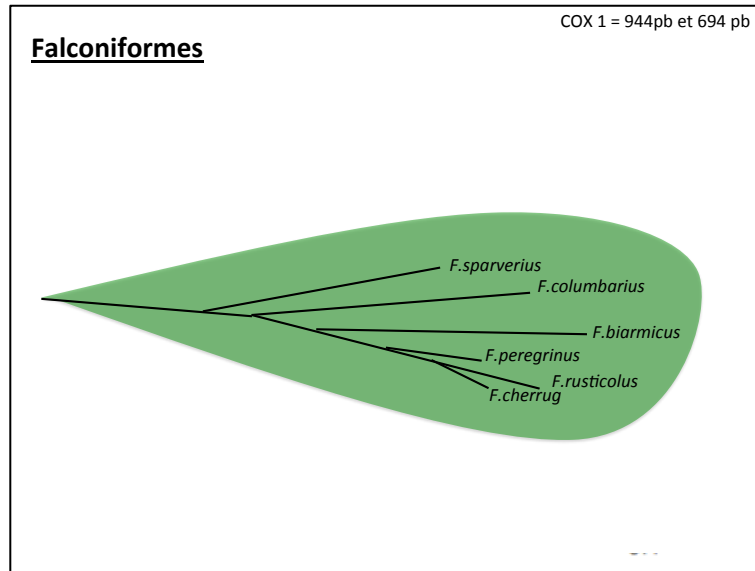
Pour l'ordre des Strigiformes, deux familles se retrouvent dans l'arbre fait à partir du gène COX-1 (944 pb et 694 pb pour *Tyto alba* et *Bubo virginianus*), celle des Strigidés en vert et celle des Tytonidés en jaune. La figure 15 permet la distinction

des trois genres représentés en cercles bleus ; les *Asio* (*A.otus* et *A.flammeus*), les *Strix* (*S.varia* et *S.nebulosa*) et les *Bubo* (*B.bubo*, *B.scandiacus* et *B.virginianus*).



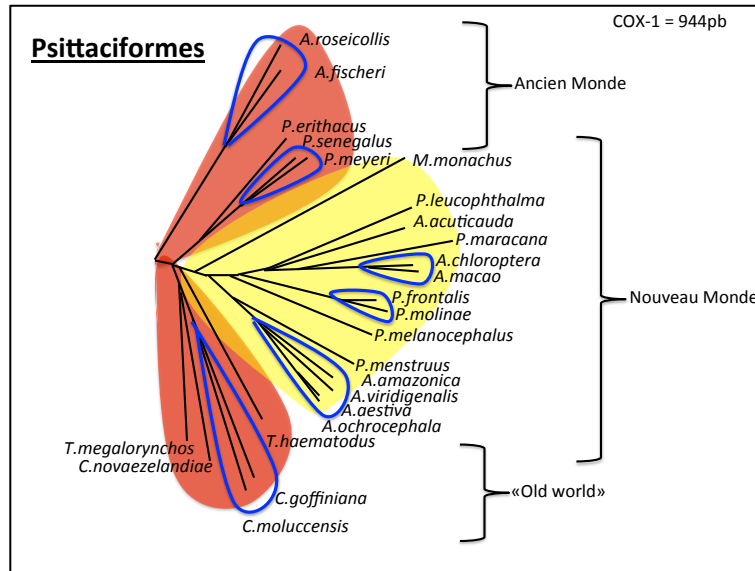
**Figure 15.** Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des Strigiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les espèces font partie de la famille des Strigidés encadrée en vert et une espèce de la famille des Tytonidés en jaune. Les genres *Bubo*, *Strix* et *Asio* sont encadrés en bleu.

La figure 16 présente l'arbre phylogénique des Falconiformes conçu à l'aide du gène COX-1 (944 pb et 694 pb pour *Falco rusticolus*). Une seule famille y est démontrée soit celle des Falconidés. De la même manière, un seul genre s'y trouve, celui des *Falco*.



**Figure 16.** Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des Falconiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Ils font tous partie de la famille des Falconidés représentés en vert.

Tel que mentionné précédemment, les perroquets sont séparés en deux mondes selon leurs origines géographiques. Il y a donc les perroquets du Nouveau Monde (provenant des Amériques) et ceux de l’Ancien Monde (provenant de l’Afrique, de l’Australie et de l’Asie). Dans la figure 17, présentée ici-bas, il est possible de distinguer ces deux sous-groupes grâce à leur homologie du gène COX-1 séquencé pour 944 pb et pour 694 pb (*A.jandaya*). De la même manière, il est possible de séparer les espèces aviaires en divers clades représentés par des cercles bleus. Ainsi, parmi les perroquets de l’Ancien Monde (en rouge), on y retrouve les *Agapornis*, communément appelés inséparables (*A. roseicollis* et *A. fisheri*), les *Cacatua* (cacatoès) (*C.goffina* et *C.mollucensis*) et les *Poicephalus* (*P.meyeri* et *P.senegalus*). Les perroquets du Nouveau Monde (en jaune) tels les amazones (*Amazona amazonica*, *A.ochrocephala*, *A.viridigenalis* et *A.aestiva*), les aras (*Ara chloropterus* et *A.macao*), ainsi que les *Pyrrhura* (*P.frontalis* et *P.molinae*) sont également regroupés.



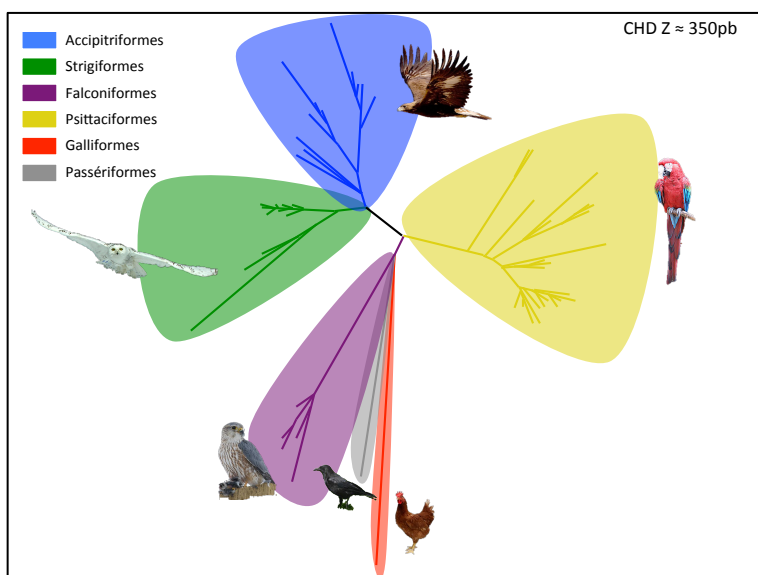
**Figure 17.** Arbre phylogénique représentant les gènes COX-1 des perroquets séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les perroquets de l'Ancien Monde sont représentés en rouge et les perroquets du Nouveau Monde en jaune. Les espèces ayant le même genre sont encerclées en bleu.

### 3.2 CHD-Z

Le gène CHD-Z est un gène provenant de l'ADN génomique diploïde. La partie séquencée d'environ 350 pb est représentée majoritairement (57 à 60 %) par un intron (intron 23-24) non codant. Seule une petite partie des exons 23 et 24 est séquencée (parties codantes). L'arbre phylogénique généré par « Clustal Omega » à partir des gènes CHD-Z des diverses espèces aviaires identifiées est présenté à la figure 14. Dans cet arbre, tous les ordres aviaires sont relativement bien séparés ; Accipitriformes en bleu, Strigiformes en vert, Falconiformes en mauve, Galliformes en rouge, Passeriformes en gris et Psittaciformes en jaune. Il est possible d'observer la phylogénie profonde à partir de cette figure. Les Falconiformes forment cette fois-ci un clade avec les Galliformes et les Passeriformes. Ces derniers forment également un clade avec les Psittaciformes. Les Accipitriformes sont regroupés en clade avec les Strigiformes. Les vautours du



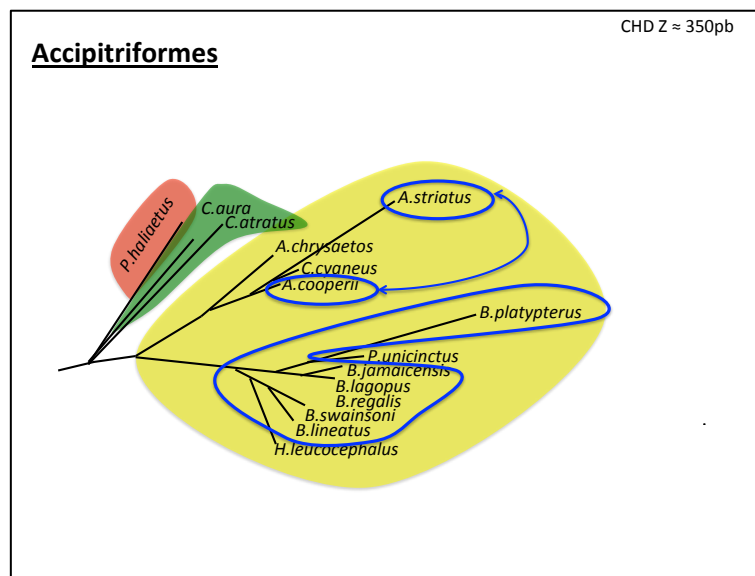
Nouveau Monde font partie du clade des Accipitriformes. Les données sous format « New Hampshire tree format » se retrouvent en annexe 3. Seulement un individu n'est pas bien regroupé dans l'arbre (voir figure 20). Chacun des ordres sera vu de plus près à l'aide des figures qui suivent (figure 19, 20, 21 et 22).



**Figure 18.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z de divers oiseaux séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les Accipitriformes sont représentés en bleu ; les Strigiformes en vert ; les Falconiformes en mauve ; les Psittaciformes en jaune ; les Galliformes en rouge et finalement, les Passeriformes en gris.

La figure 19 représente l'arbre phylogénique de l'ordre des Accipitriformes. Le pourcentage d'homologie du gène CHD-Z permet de distinguer les trois familles retrouvées dans cet ordre. Ces familles sont, les Cathartidés représentés en vert, les Accipitridés en jaune et le seul représentant des Pandionidés en rouge. Le membre des Pandionidés et les Cathartidés (vautour du Nouveau Monde) forment un clade. Certains genres sont regroupés dans cet arbre (cercles bleus) tel que les buses (*Buteo lagopus*, *B.regalis*, *B.jamaicensis*, *B.swainsoni* et *B.lineatus*). Il est à noter

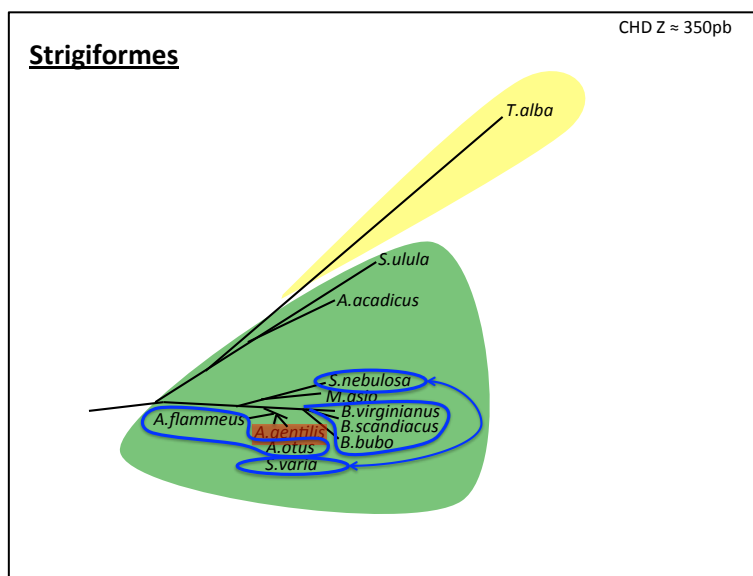
que *B.platypterus* semble être plus rapproché du genre *Parabuteo* (*P.unicinctus*) que des autres membres du genre *Buteo*. Les *Accipiter* ne forment pas un regroupement distinct dans cet arbre. *A.striatus* et *A.cooperii* se retrouvent regroupés avec le genre *Circus*.



**Figure 19.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z des Accipitriformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les espèces de la famille des Accipitridés sont représentées en jaune, les Cathartidés en vert et l'individu de la famille des Pandionidés en rouge. Les espèces ayant le même genre sont encerclées en bleu.

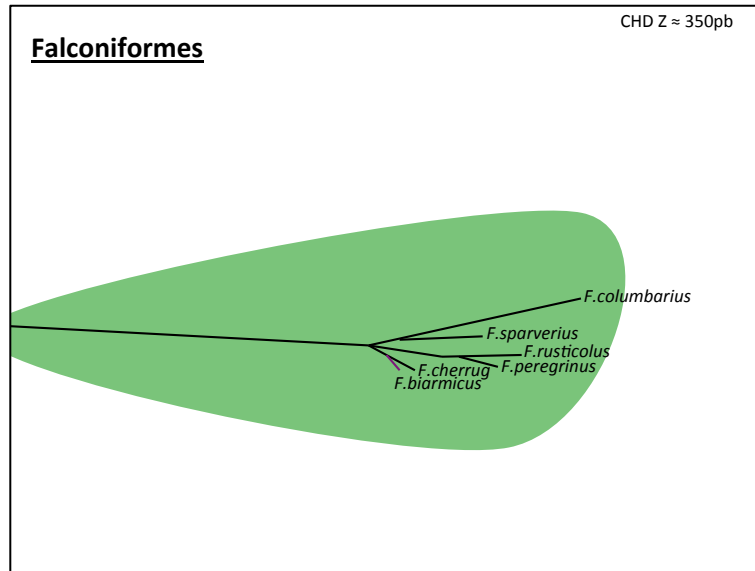
Les deux familles de l'ordre des Strigiformes sont illustrées dans l'arbre fait à partir du fragment amplifié du gène CHD-Z séquencé (figure 20). Les Strigidés sont encerclés en vert et les Tytonidés, en jaune. Il est possible de distinguer trois genres encerclés en bleu. Toutefois, les *Asio* (*A.otus* et *A.flammeus*), qui se retrouvent regroupés avec un oiseau du genre *Strix* et *Accipiter gentilis* de l'ordre des Accipitriformes, représenté en rouge dans la figure. Les *Strix* (*S.varia* et

*S.nebulosa*) ne sont pas rassemblés dans cet arbre. Les *Bubo*, quant à eux, sont regroupés en *B.bubo*, *B.scandiacus* et *B.virginianus*.



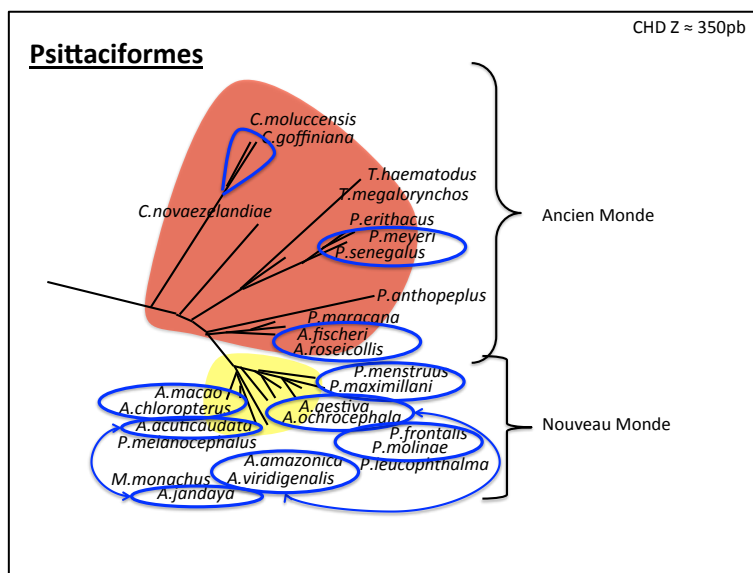
**Figure 20.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z des Strigiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les espèces qui font partie de la famille des Strigidés sont représentées en vert et l'individu de la famille des Tytonidés en jaune. Les genres *Bubo*, *Strix* et *Asio* sont encerclés en bleu. De plus, un oiseau de l'ordre des Accipitriformes (*A.gentilis*) se retrouve mélangé avec les Strigiformes et il est représenté en rouge.

La seule famille de Falconiformes utilisée dans ce travail, soit le genre *Falco*, est représentée à la figure 21. Cet arbre phylogénique fût conçu à l'aide des séquences du gène CHD-Z.



**Figure 21.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z des Falconiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Ils font tous partie de la famille des Falconidés représentés en vert.

Dans la figure 22, le pourcentage d'homologie des fragments du gène CHD-Z séquencé pour environ 350 pb a été utilisé pour produire un arbre phylogénique représentant l'ordre des Psittaciformes. Les Psittaciformes sont séparés en deux mondes : perroquets du Nouveau Monde (en jaune) et ceux de l'Ancien Monde (en rouge). Diverses familles sont représentées par des cercles bleus. Par exemple, les *Agapornis* (*A.roseicollis* et *A.fisheri*), les *Cacatua* (*C.goffina* et *C.mollucensis*) et les *Poicephalus* (*P.meyeri* et *P.senegalus*), pour les perroquets de l'Ancien Monde. Pour les perroquets du Nouveau Monde, la séparation des genres n'est pas aussi bien établie. Les *Amazona* sont séparés en deux groupes, l'un avec *A.amazonica* et *A.viridigenalis*, l'autre avec *A.ochrocephala* et *A.aestiva*. Les deux groupes sont séparés par le groupe des *Pyrrhura* (*P.frontalis* et *P.molinae*) et par *Psittacara leucophthalma*. De la même manière, les *Arantiga* (*A.jandaya* et *A.acuticaudata*) sont eux aussi divisés, mais cette fois-ci par *Pionites melanocephalus*. Les aras (*A.chloropterus* et *A.macao*) ainsi que les *Pionus* (*P.maximiliani* et *P.menstruus*) sont pour leur part bien regroupés.

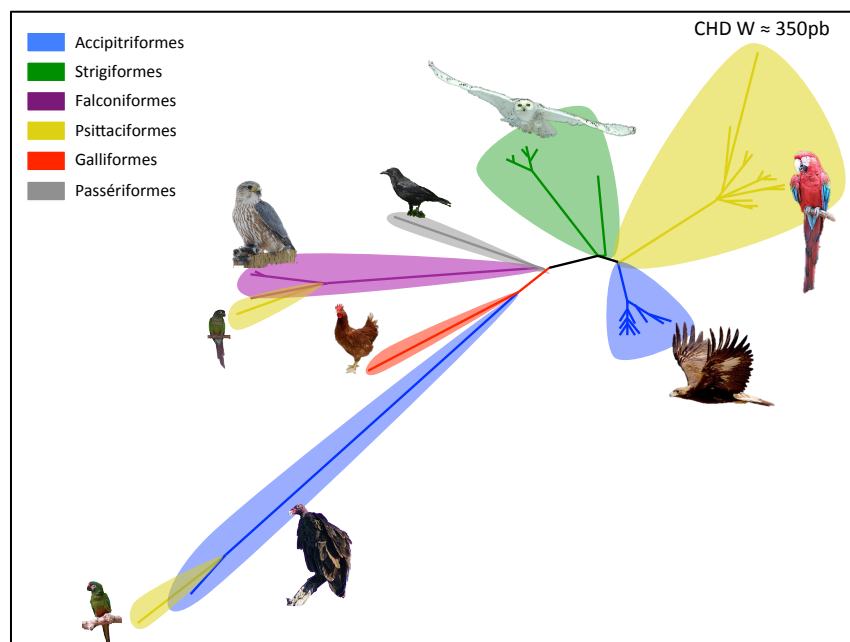


**Figure 22.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-Z des perroquets séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les perroquets de l'Ancien Monde sont représentés en rouge et les perroquets du Nouveau Monde en jaune. Les espèces ayant le même genre sont encerclées en bleu.

### 3.3 CHD-W

Le gène CHD-W est un gène monoploïde provenant de l'ADN génomique. La partie séquencée est d'environ 350 pb et elle est représentée majoritairement (57 à 60 %) par une partie non codante, l'intron 23-24. Les exons 23 et 24 sont partiellement séquencés (parties codantes). La figure 23 montre l'arbre phylogénique résultant des gènes CHD-W des diverses espèces aviaires séquencés au cours de cette étude. Tous les ordres aviaires sont partiellement bien séparés ; Accipitriformes en bleu, Strigiformes en vert, Falconiformes en mauve, Galliformes en rouge, Passeriformes en gris et Psittaciformes en jaune. Il est possible d'estimer la phylogénie profonde à partir de cette figure (figure 23). Les Falconiformes forment un clade avec les Galliformes, les Passeriformes et cette fois-ci, avec les vautours du Nouveau Monde. Les Accipitriformes sont regroupés en clade avec les Strigiformes et les Psittaciformes. Les données sous format

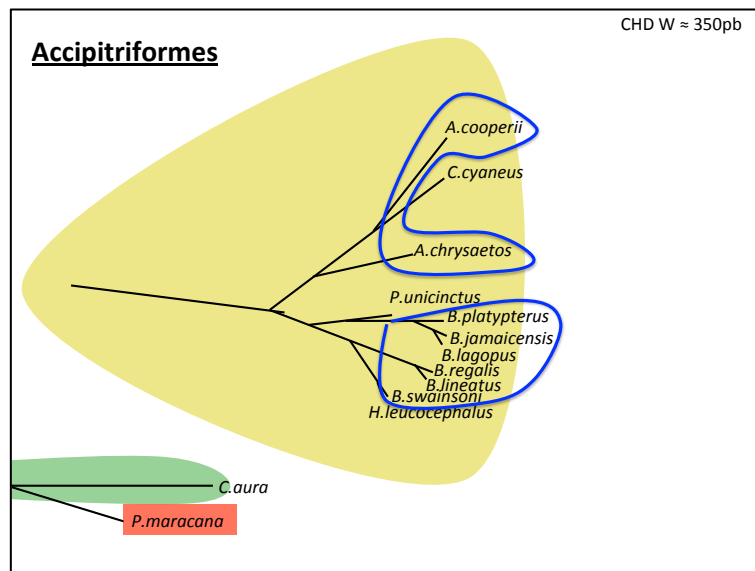
« New Hampshire tree format » se retrouvent en annexe 4. Quelques individus ne sont pas bien placés au sein de cet arbre (voir figure 24, figure 26 et figure 27). Chacun des ordres sera vu de plus près grâce aux figures suivantes (figure 24, 25, 26 et 27).



**Figure 23.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W de divers oiseaux séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les Accipitriformes sont représentés en bleu ; les Strigiformes en vert ; les Falconiformes en mauve ; les Psittaciformes en jaune ; les Galliformes en rouge et finalement, les Passeriformes en gris.

L'arbre phylogénique de l'ordre des Accipitriformes, construit à l'aide du fragment (exons partiels 23 et 24 et intron 23-24) du gène CHD-W, est représenté par la figure 24. Deux familles sont visibles au sein de l'arbre, soit les Cathartidés représentés en vert et les Accipitridés en jaune. Les cercles bleus illustrent le regroupement de certains genres. Les buses (*Buteo lagopus*, *B.platypterus*, *B.regalis*, *B.jamaicensis*, *B.swainsoni* et *B.lineatus*) forment un

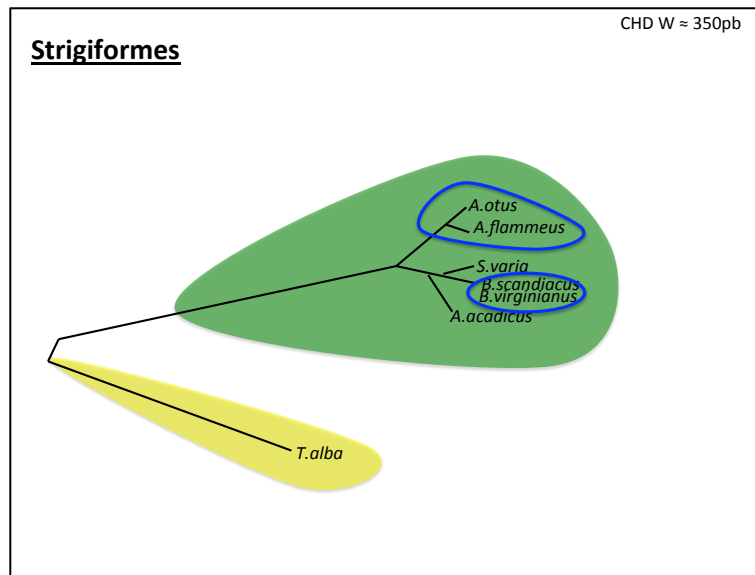
regroupement distinct. Les genres *Parabuteo* (*P.unicinctus*) et *Haliaeetus* (*H.leucocephalus*) sont très rapprochés homologiquement des *Buteo*. Les *Accipiter* (*A.striatus* et *A.cooperii*) sont rassemblés avec le genre *Circus*. En ce qui concerne la famille de Cathartidés, représentée ici par *Cathartes aura*, elle n'est pas regroupée avec les autres Accipitriformes. *C.aura* et *Primolius maracana*, un perroquet (représenté en rouge), sont regroupés, et ce, avec une proximité génétique du CHD-W du poulet (*Gallus gallus*) (voir figure 19).



**Figure 24.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W des Accipitriformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les espèces de la famille des Accipitridés sont représentées en jaune et l'individu de la famille des Cathartidés en vert. Les espèces ayant le même genre sont encerclées en bleu. De plus, un oiseau de l'ordre des Psittaciformes (*P.maracana*) se retrouve mélangé avec les Accipitriformes à proximité de *C.aura* et il est représenté en rouge.

L'arbre phylogénique des Strigiformes construit à partir du fragment amplifié du gène CHD-W séquencé est illustré à la figure 25. Les deux familles de l'ordre c'est-à-dire les Strigidés encerclés en vert et les Tytonidés en jaune se retrouvent distinctement séparées. À l'intérieur de la famille des Strigidés, il est possible de

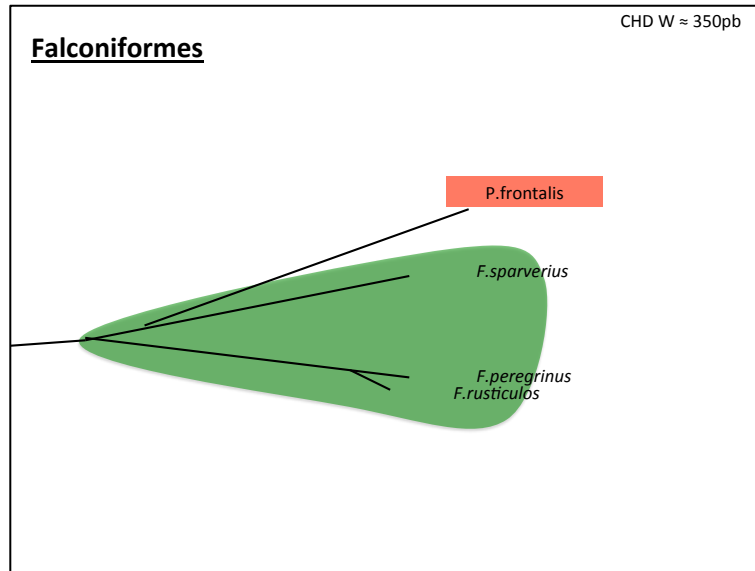
faire la distinction de deux genres, encerclés en bleu, les *Asio* (*A.otus* et *A.flammeus*) et les *Bubo* (*B.scandiacus* et *B.virginianus*).



**Figure 25.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W des Strigiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les espèces qui font partie de la famille des Strigidés sont représentées en vert et l'individu de la famille des Tytonidés en jaune. Les genres *Bubo* et *Asio* sont encerclés en bleu.

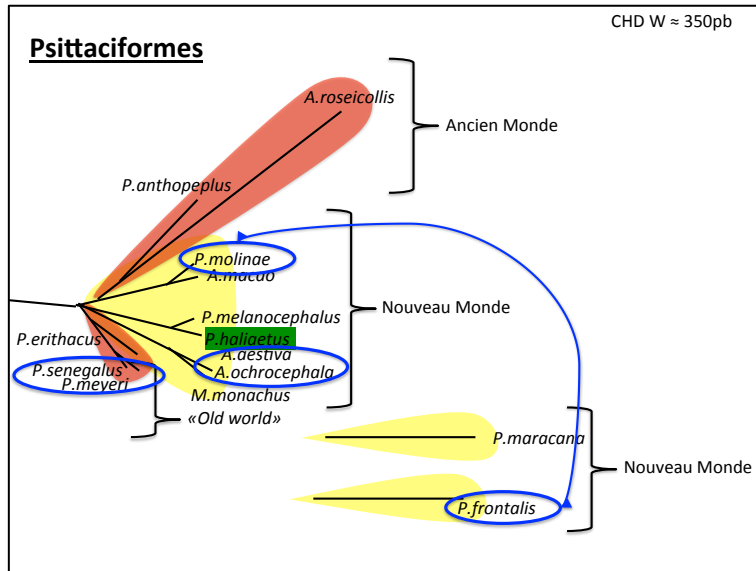
Une seule famille de Falconiformes, le genre *Falco*, se retrouve dans ce travail et elle est représentée en vert à la figure 26. *Pyrrhura frontalis*, un perroquet, représenté ici en rouge, se rapproche génétiquement, pour le CHD-W, de *F.sparverius*.





**Figure 26.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W des Falconiformes séquencés en fonction de leur proximité génétique. Ils font tous partie de la famille des Falconidés représentés en vert. De plus, un oiseau de l'ordre des Psittaciformes (*P.frontalis*) se retrouve mélangé avec les Falconiformes et il est représenté en rouge.

L'arbre phylogénique des psittaciformes représentant les homologies du gène CHD-W (environ 350 pb) est imagé à la figure 27. Les perroquets du Nouveau Monde sont en jaune et ceux de l'Ancien Monde sont en rouge. Diverses familles sont entourées par des cercles bleus. Les *Amazona* (*A.ochrocephala* et *A.aestiva*) ainsi que les *Poicephalus* (*P.meyeri* et *P.senegalus*) sont regroupés dans cette figure. Par contre, pour les *Pyrrhura* (*P.frontalis* et *P.molinae*) qui font partie des perroquets du Nouveau Monde, leur regroupement n'est pas bien illustré dans cet arbre. Ils se retrouvent complètement séparés. *P.frontalis*, tel qu'illustré à la figure 23, se retrouve plus près des Falconiformes. De la même manière, *P.maracana*, qui devrait se situer avec les perroquets du Nouveau Monde, se trouve à proximité de l'urubu à tête rouge (*C.aura*) tel qu'illustré à la figure 23 également. Enfin, *Pandion haliaetus*, en vert, est un oiseau de proie de l'ordre des Accipitriformes qui se retrouve tout près de *Pionites melanocephalus*, un Psittacidé du Nouveau Monde.



**Figure 27.** Arbre phylogénique représentant les gènes CHD-W des perroquets séquencés en fonction de leur proximité génétique. Les perroquets de l'Ancien Monde sont représentés en rouge et les perroquets du Nouveau Monde en jaune. Deux perroquets du Nouveau Monde ne sont pas liés avec les autres (*P. maracana* et *P. frontalis*). De plus, un oiseau de proie (*P. haliaetus*) de l'ordre des Accipitriformes se retrouve mélangé avec les Psittaciformes et il est représenté en vert. Les espèces du même genre sont encerclées en bleu.

## Chapitre 4- Discussion

---

### 1. Sexage par séquençage

#### 1.1 Les séquences

Le sexage par séquençage permet de résoudre certains problèmes rencontrés avec les méthodes de sexage actuelles qui utilisent ou qui n'utilisent pas l'ADN. Tout comme les autres techniques qui utilisent l'ADN, cette méthode nécessite peu de manipulations de l'animal, diminuant ainsi les risques de blessures et de stress associés. Cette méthode ne requiert pas la maturité sexuelle des oiseaux. Elle demande une faible quantité d'échantillons, seulement quelques millilitres de sang (environ 0,2 à 0,5ml), quelques milligrammes de muscles (environ 25mg), de fèces (environ 180 à 220mg), ou encore quelques plumes (environ 5 à 6). De plus, c'est une méthode qui est plutôt rapide et efficace lorsque l'équipement adéquat est disponible.

La méthode de sexage par séquençage permet une standardisation et ainsi, une commercialisation de la technique, contrairement aux méthodes de sexage génomiques (RAPD, AFLP et SSR). C'est une méthode qui utilise des amorces qui se retrouvent à l'intérieur d'exons du gène CHD. Ces amorces se retrouvent à la fois sur le chromosome Z et le W. Elles sont très bien conservées entre les espèces et entre le Z et le W d'une même espèce. De ce fait, elles permettent l'amplification des fragments du gène CHD chez une grande proportion d'oiseaux, notamment ceux qui sont d'intérêt vétérinaire au Québec, notamment les perroquets et les oiseaux de proie de la faune ou ceux utilisés pour la fauconnerie. De plus, c'est une méthode qui ne nécessite pas de connaître la composition détaillée des fragments de CHD utilisés comme c'est le cas avec les méthodes qui

utilisent des enzymes de restrictions ou encore celles qui utilisent un allèle spécifique (CHD-W).

Le sexage par séquençage possède un contrôle positif interne, car que ce soit pour le mâle ou pour la femelle, il devrait toujours y avoir de l'ADN amplifié vu que les deux genres détiennent un CHD-Z. Donc, si rien n'a été amplifié après la PCR c'est que la PCR n'a pas fonctionné correctement et que la réaction doit être recommencée. De plus, le séquençage pourrait entraîner moins d'erreurs au point de vue de l'interprétation des résultats. Les méthodes qui utilisent la comparaison de fragments sur gel directement peuvent, comme mentionnées précédemment, entraîner des erreurs (par exemple : deux bandes chez un mâle avec un patron polymorphique, une seule bande chez une femelle avec des CHD de mêmes longueurs ou encore l'amplification préférentielle du CHD-W ou du CHD-Z chez la femelle). La méthode de sexage par séquençage, pour sa part, permet une visualisation directe des séquences donc une meilleure interprétation de ce qui se passe à ce niveau. Il est ainsi possible, contrairement aux méthodes d'interprétation sur gel d'acrylamide, de voir si les séquences que l'on voit représentent un patron polymorphique de mâle (deux CHD-Z différents) ou si seulement le fragment CHD-W a été amplifié chez une femelle.

Tout comme les autres méthodes de sexage par ADN, le sexage par séquençage utilise les mêmes amorces, c'est-à-dire P2 et P8 déjà décrites par Griffiths et coll., en 1998, car elles permettent l'amplification du gène CHD qui se retrouve à la fois sur le Z et sur le W, de façon adéquate la plupart du temps. Par contre, le séquençage a permis de voir quelques problèmes en ce qui concerne ces amorces. Lors des séquençages effectués au cours de ce travail, il a été possible de constater que les amorces n'agissaient pas de façon constante pour toutes les espèces d'oiseaux. Pour le Conure de vieillot (*Pyrrhura frontalis*), chez la femelle, seule la séquence CHD-Z a été amplifiée en quantité suffisante pour permettre d'être séquencée et visualisée adéquatement. Le fragment du gène CHD retrouvé sur le W avait l'apparence de bruit de fond, c.-à-d. des pics de nucléotides plus petits que

ceux de la séquence CHD-Z. Ceci peut-être lié à l'amorce qui priorise le CHD au niveau du Z et moins sur le W. Il est à noter que l'amplification du gène a été effectuée via de l'ADN provenant d'une extraction faite à partir de fèces. Le Conure de vieillot est le seul oiseau qui a été sexé à partir de l'ADN prélevé au niveau des fèces durant ce projet. Lors du sous-clonage des séquences amplifiées par PCR, il a été possible d'en ressortir la séquence CHD-W. De ce fait, le séquençage, qui au premier coup d'œil, semblait être celui d'un mâle, s'est avéré être celui d'une femelle. De la même manière, pour la femelle Buse à queue rousse (*Buteo jamaicensis*), seulement la séquence CHD-W était visible au séquençage. L'ADN génomique provenait d'échantillon de muscles. Cette fois-ci, il a tout de même été possible de sexer correctement l'oiseau en faisant un « BLAST » pour la comparaison avec les séquences disponibles dans les banques de données « GenBank », puisque l'homologie était plus près des séquences W et que seule la femelle détient cette séquence. Le même genre de problème est également arrivé au sein d'une même espèce ; les CHD-Z et -W du Pygargue à tête blanche ont été amplifiés de façon égale lors d'un premier sexage par séquençage de la femelle. Par contre, lors d'un deuxième sexage sur un autre individu, seule la séquence CHD-W a pu être ressortie. Il est à noter que les deux échantillons étaient des spécimens sanguins. L'oiseau a tout de même pu être sexé adéquatement puisque le W se retrouve seulement chez la femelle. Par contre, pour les autres méthodes qui utilisent les mêmes amorces sans effectuer le séquençage, ce genre de problème (une seule séquence) aurait pu engendrer une mauvaise interprétation de résultats et donc, un mauvais sexage puisqu'un seul fragment du gène CHD a été amplifié préférentiellement. Il est à noter que 36 femelles sur les 38 séquencées (environ 95 %) ont présenté un bon chevauchement des séquences CHD-W et CHD-Z pour procéder au sexage.

Lors de l'extraction d'ADN via les plumes la présence de pigments a compliqué la technique. Les pigments qui donnent la coloration aux plumes aviaires sont très petits et passent à travers la mini-colonne à élution en même temps que l'ADN génomique. Ces pigments semblent agir comme inhibiteur de réaction de PCR.

Ainsi, il faut centrifuger le mini tube (1,5ml) contenant les pigments et l'ADN afin que les pigments plus lourds se retrouvent au fond du tube. Par la suite, il suffit de pipetter le surnageant, contenant l'ADN, afin de s'en servir pour effectuer les PCR (CHD et COX-1).

Le sexage a pu être fait grâce à cette méthode pour 30 espèces de perroquets, 34 espèces d'oiseaux de proie, la poule (*Gallus gallus*) et la corneille (*Corvus brachyrhynchos*). Par contre, pour certaines femelles, la séquence W n'a pas pu être isolée. Lors de la visualisation de la séquence primaire (c.-à-d. les allèles non séparés), les deux allèles, CHD-Z et CHD-W, étaient visibles. Ceci permettait de dire qu'il s'agissait de femelles. Parmi toutes les espèces sexées par séquençage au cours de cette étude, trois espèces ont été correctement séquencées sans l'obtention du fragment du gène CHD retrouvé sur leur W et ce pour des raisons inconnues. Chez le Faucon émerillon (*Falco columbarius*), le kakariki (*Cyanoramphus novaezelandiae*) et le conure de Jandaya (*Aratinga jandaya*), une double séquence a été mise en évidence, mais, il n'a pas été possible d'isoler la séquence qui se trouvait sur le W et ce même après de nombreux sous-clonages (environ 15 chacun).

Certains oiseaux mâles qui présentaient des séquences superposées lors du séquençage complexifiaient le sexage. Parmi ces espèces, on retrouve la crécerelle d'Amérique (*Falco sparverius*), le Faucon émerillon (*Falco columbarius*), le Faucon gerfaut (*Falco rusticolus*), le Faucon sacré (*Falco cherrug*), l'Épervier brun (*Accipiter striatus*) et la Perruche moine (*Myopsitta monachus*). Chez ces oiseaux, on retrouve un microsatellite de poly-T (thymine) dans leurs séquences CHD du chromosome Z. Les faucons (Falconiformes) séquencés détiennent tous un microsatellite poly-T en début de séquence. Ils sont donc plus susceptibles aux superpositions de leur séquence CHD-Z. Il y a deux explications possibles pour le chevauchement des séquences CHD-Z. La première est biologique ; il s'agirait d'allèles de CHD-Z différents avec un nombre de T différent dans le site poly-T. La deuxième explication proviendrait de la technique de PCR ; les poly-T nuisent



Au cours de ce travail, il a été possible de sexer plus de mâles que de femelles, ce qui fait en sorte que plus de fragments de gène CHD-Z ont pu être déposés dans les banques de données « GenBank » comparativement aux fragments de gène CHD-W. Pour les espèces qui avaient seulement des mâles disponibles à l'étude, il n'a pas été possible de comparer les patrons de séquences entre le mâle et la femelle.

Deux amorces, 2550F et 2718R, ont également été créées lors de ce travail afin de tenter d'avoir des séquences de CHD plus longues (Fridolfsson et Ellegren, 1999). Ces amorces ont été efficaces seulement dans environ 52 % des cas de ce projet (13/22 oiseaux de proie et 1/5 perroquets). Plusieurs tentatives ont été effectuées afin d'obtenir une séquence pour les oiseaux chez qui l'amplification n'a pas fonctionné et, même après ces nombreuses tentatives, certaines ne fonctionnaient toujours pas (chez 14 espèces). De ce fait, les amorces 2550F et 2718R n'ont pas été utilisées de routine et ce sont les amorces P2 et P8 qui ont été utilisées de façon standard pour le sexage par séquençage dans cette étude.

## 1.2 Longueur CHD-Z et -W des fragments séquencés (pb)

Les fragments du gène CHD amplifiés, bien qu'ils aient les mêmes amorces pour leur amplification, n'ont pas la même longueur puisqu'il y a des différences au niveau de leur intron amplifié (intron 23-24). Par contre, la longueur de leur fragment se ressemble au sein des espèces d'un même ordre (Figure 6). Ce sont les Falconiformes qui détiennent la plus grande variabilité quant à la longueur de fragment du gène CHD retrouvé sur le chromosome Z comme en témoigne un plus grand écart-type (13). Par contre, le nombre de représentants de cet ordre était petit. À l'inverse, les Psittaciformes, l'ordre pour qui le plus grand nombre d'espèces furent incluses dans cette étude, ont le plus petit écart-type (2). Ces derniers ont donc moins de variabilité de longueur des fragments de gène CHD-Z entre les diverses espèces. En ce qui concerne le fragment du gène CHD retrouvé



sur le chromosome W, ce sont les Accipitriformes qui, cette fois-ci, détiennent le plus grand écart-type et donc une plus grande variabilité de longueur. Les Falconiformes, quant à eux, détiennent le plus petit nombre d'espèces utilisées lors de cette étude et ont le plus petit écart-type. Il est à noter que c'est complètement l'inverse pour la longueur des fragments CHD-Z où les Falconiformes ont le plus grand écart-type.

Les espèces aviaires ne peuvent pas être identifiées en se basant seulement sur la longueur de leur fragment CHD puisque plusieurs espèces ont la même longueur de fragment. Il serait par contre possible d'avoir une idée de l'ordre auquel un oiseau appartient. En effet, la longueur de fragment est relativement constante au sein d'un ordre et différente des autres ordres. Par contre, certains oiseaux ne détiennent pas une longueur de fragment de gène CHD qui est près de la moyenne de leur ordre. Ainsi, l'utilisation de la longueur de fragment de gène CHD peut mener à une identification imprécise ou inexacte de l'espèce. Il aurait été intéressant d'avoir un plus grand nombre d'oiseaux pour chacun des ordres afin d'avoir une meilleure exactitude de chaque moyenne. De plus, un plus grand échantillon aurait permis de mieux cibler les genres ou les espèces d'oiseaux qui ont des longueurs de fragment du gène CHD qui divergent de la moyenne au sein de leur ordre.

La longueur moyenne des fragments CHD-W est plus grande que les CHD-Z pour tous les ordres étudiés ici. Il est à noter que le sexage sur gel se fie à ces longueurs de fragment afin de déterminer le sexe des oiseaux. Pour les Strigiformes, l'écart entre les deux moyennes (CHD-Z et CHD-W) est de 10 pb. Elle est de 23 pb pour les Falconiformes, de 6 pb pour les Accipitriformes et de 30 pb pour les Psittaciformes. De plus, la différence de longueur entre le Z et le W de la poule (*Gallus gallus*) est de 17 pb et de 38 pb pour la corneille (*Corvus brachyrhynchos*). De ce fait, ce sont les Accipitriformes qui détiennent la plus faible différence de longueur entre les fragments CHD-Z et CHD-W. En observant les données, une à une, on remarque que dans l'ordre des Accipitriformes, il y a un

oiseau avec CHD-Z et CHD-W de la même longueur : *Buteo lineatus*. Cette espèce détient 344 pb sur ses fragments du gène CHD pour les deux chromosomes sexuels. De plus, 4 espèces étudiées ici ont un W plus court que le Z. Dix d'entre eux ont seulement 3 pb et moins qui différencient le Z et le W l'un de l'autre. Ainsi, on peut conclure que le sexage par séquençage serait plus utile et standard que celle qui utilise seulement la longueur de fragment pour le sexage aviaire. En effet, dans quelques cas, la différence de longueur de fragment entre le Z et le W est très petite. Toutefois, puisque la différence de longueur de fragments entre le Z et le W est plus grande au sein des Psittaciformes, il est possible que la méthode de sexage par longueur de fragment puisse convenir à cet ordre. De plus, les tests statistiques de cette étude démontrent qu'il y a une différence significative de la longueur moyenne des fragments entre les CHD-Z et CHD-W chez tous les ordres. Malgré tout, certains cas de sexage erroné sont survenus chez les perroquets en utilisant cette méthode (G. Fitzgerald, J. Bermingham (HARI), É. Maccolini et D. Vachon (CO-ESP) communication personnelle, mai 2013).

### 1.3 Homologie CHD-Z et -W des fragments séquencés (%)

Les séquences des fragments CHD-Z se ressemblent entre elles. Pour chacun des ordres, la moyenne d'homologie entre les espèces se situe entre 92,41 % et 96,44 %. Ce sont les Accipitriformes qui détiennent la moins grande homologie entre leurs CHD-Z. En ce qui concerne les séquences des fragments CHD-W, leur homologie se situe, pour chacun des ordres étudiés, entre 89,14 % et 97,74 %. Cette fois-ci, ce sont les Psittaciformes qui possèdent la plus grande différence entre leurs séquences CHD-W. Les séquences CHD-Z et CHD-W comparées pour chacune des espèces présentent beaucoup plus de différence. Pour chacun des ordres, l'homologie moyenne entre le CHD-Z et le CHD-W se situe entre 55,6 % et 69 %, ce qui est considérablement moins d'homologie que lorsqu'on compare l'homologie d'un même chromosome.

Certaines études ont utilisé les différences de séquences entre le CHD-Z et le CHD-W pour élaborer des méthodes de sexage (allèles spécifiques et enzymes de restriction). Bien que les différences entre les CHD-W des différentes espèces ne soient pas énormes en moyenne (94 % de ressemblance), les séquences présentent suffisamment de différences pour que les méthodes qui utilisent des allèles spécifiques de W ne puissent pas être standards chez tous les oiseaux, contrairement à la méthode de sexage par séquençage. Tel que mentionné précédemment, les tests statistiques effectués au cours de cette étude démontrent que pour la moyenne d'homologie des fragments CHD-W, il y a une différence significative seulement entre les Psittaciformes et les Falconiformes ainsi qu'entre les Strigiformes et les Psittaciformes.

En ce qui concerne les enzymes de restrictions, HAEIII et DDE1, cette étude a permis d'observer si toutes les séquences détenaient ou non ces enzymes qui sont souvent utilisées par les laboratoires commerciaux pour le sexage aviaire. La séquence coupée par l'enzyme HAEIII ne se retrouve généralement pas sur le fragment CHD-W aviaire. Trois exceptions ont pu être mises en évidence dans cette étude. L'Accipitriforme, *Cathartes aura*, et deux des perroquets (*Poicephalus senegalus* et *Primolius maracana*) détiennent la séquence reconnue par HAEIII. À l'inverse, la séquence coupée par l'enzyme HAEIII est généralement présente sur le CHD-Z sauf pour trois espèces étudiées ici, deux faucons (*Falco sparverius* et *Falco rusticolus*) et un Strigiforme (*Strix varia*). De plus, la séquence reconnue par cette enzyme se retrouve deux fois sur le Z d'un perroquet (*Aratinga acuticaudata*).

En ce qui concerne DDE1, la séquence qu'elle reconnaît peut se retrouver au niveau du Z ainsi qu'au niveau du W chez la majorité des espèces. Cet enzyme est plutôt utilisé lorsque le gène CHD est amplifié avec les amorces P1 et P2 afin de couper le fragment CHD-W (Miyaki et coll., 1998). Ici, elle pourrait plutôt servir de contrôle positif pour la réaction enzymatique. Par contre, pour certaines espèces, la poule (*Gallus gallus*) et de nombreux perroquets (*Psittacus erithacus*,

*Amazona aestiva*, *Pionites melanocephalus*, *Poicephalus meyeri*, *Aratinga acuticaudata*, *Aratinga jandaya*, *Myiopsitta monachus*, *Amazona ochrocephala*, *Ara macao*, *Ara chloropterus*, *Poicephalus senegalus*, *Amazona amazonica*, *Trichoglossus haematodus*, *Polytelis anthopeplus*, *Pionus menstruus* et *Pionus maximilianila*), la séquence reconnue par l'enzyme n'est pas présente sur le CHD-Z. De plus, on la retrouve deux fois sur le fragment CHD-Z de trois espèces d'oiseaux de proie (*Accipiter gentilis*, *Aegolius acadicus* et *Asio otus*) ainsi que chez l'*Ara macao*. La séquence reconnue par l'enzyme DDE1 se retrouve dans tous les fragments CHD-W amplifiés durant ce projet, mais elle se retrouve deux fois à l'intérieur de la séquence CHD-W de la corneille (*Corvus brachyrhynchos*). La variation entre les espèces des sites de restriction laisse croire que la méthode de sexage RFLP qui utilise des enzymes de restriction comporte certains problèmes et doit être calibrée pour chaque espèce. On peut donc conclure que la méthode de sexage par séquençage s'avère être une bonne solution à ces problèmes puisqu'elle n'utilise pas d'enzyme de restriction.

## 2. Identification

L'identification des oiseaux demeure malheureusement quelque chose d'assez subjectif, malgré les connaissances récentes dans ce domaine, surtout en ce qui concerne l'identification des perroquets. Certaines espèces de perroquets sont difficiles à distinguer phénotypiquement, les unes des autres. Ainsi, des erreurs au niveau de l'identification morphologique peuvent avoir lieu. Il est à noter que, les données qui ont été déposées sur « GenBank » au cours de ce projet de même que celles qui étaient déjà présentes sont rapportées en se basant sur la connaissance qu'a l'auteur à propos de l'espèce. Donc, une personne qui identifie un oiseau comme étant une espèce, dépose la séquence COX-1 sous le nom de cette espèce. Chez les perroquets, il y a de nombreuses espèces qui se ressemblent et qui pourraient être confondues. Ceci est particulièrement vrai pour les Amazones qui ont parfois seulement une petite tache d'une couleur différente pour les distinguer. De plus, certaines espèces de perroquets ont la capacité de se reproduire entre elles, ce qui engendre des oiseaux hybrides. L'identification de ces oiseaux est encore plus complexe. Actuellement, tout un débat existe quant à la définition exacte d'une espèce. Ainsi, le fait que deux espèces soient capables de se reproduire entre elles amène un débat quant au fait qu'elles devraient peut-être être considérées comme une seule et unique espèce. C'est le cas, notamment, pour les perroquets Amazones qui pour la majorité peuvent faire de la reproduction inter-espèce d'Amazones.

Tel que mentionné précédemment, le gène mitochondrial COX-1 est un gène monoploïde. COX-1 comporte très peu de différence entre les individus d'une même espèce, alors qu'il est suffisamment différent entre les espèces pour permettre leur identification (Hebert et coll., 2004 ; Hebert et coll., 2003a et 2003b). Lors de cette étude, il a été possible de constater qu'effectivement toutes les espèces détiennent des divergences suffisantes au niveau de leur gène COX-1 pour permettre précisément leur identification. Ce sont les Psittaciformes qui, au cours de ce projet, ont montré le moins d'homologie entre leurs séquences COX-1.

Globalement, le moyenne de ressemblance entre les séquences COX-1 amplifiées des diverses espèces est d'environ 88 %, tandis que celle entre les séquences CHD-Z et CHD-W amplifiées sont respectivement d'environ 94 % et 95 %. Le fait que l'homologie moyenne des séquences COX-1 soit plus petite, comparativement au fragment CHD, permettraient une meilleure identification des espèces. De nombreuses séquences de COX-1 aviaires n'étaient pas disponibles dans les banques de données « GenBank ». Ainsi, ce projet a permis de bonifier ces banques avec l'ajout de 60 séquences COX-1 (694 pb et de 944 pb) provenant d'espèces différentes.

Ce projet démontre que l'identification d'espèce est possible grâce au fragment de gène CHD-Z et CHD-W. Par contre, cette identification est moins précise, car certaines espèces détiennent des séquences de CHD qui sont très similaires. Par exemple, *Buteo regalis* et *Buteo lagopus* ont, sur leur CHD-Z, une seule base de différence. Toutefois, il faut rappeler l'*Ara macao* (figures 6, 7 et 8) qui lors de la comparaison de ses séquences avec les banques de données, présentait 100 % d'homologie avec les séquences de l'*Ara macao*. Pour le COX-1, l'autre séquence la plus près était une autre variété d'*Ara* (*A. chloropterus*) avec une homologie moindre de 97 %. Une différence de 3 % entre les deux espèces est suffisante pour une identification précise. Lorsqu'on regarde ce qui arrive lors de la comparaison du fragment CHD-Z avec les banques de données pour cette même espèce, on retrouve encore une homologie de 100 % avec l'*Ara macao*. Par contre, cette fois-ci, l'homologie est de 99 % avec l'*Ara chloropterus* et l'*Arantiga acuticaudata*, ce qui ne s'avère pas être une différence suffisante (1 %) pour permettre de faire une bonne distinction entre les deux espèces. De la même manière, la comparaison du CHD-W avec les données disponibles dans « GenBank » démontre une homologie de 100 % avec l'*Ara macao*, mais également une homologie de 99 % avec *Pionites melanocephalus* et *Pandion haliaetus* (différence de seulement 1 %).

Il est à noter que des contaminations peuvent survenir lors de la collecte d'échantillons et lors des manipulations en laboratoire, ce qui pourrait engendrer

des résultats erronés. Lors de la collecte d'échantillons, une mauvaise identification des échantillons ou la prise d'instruments contaminés par l'ADN d'une autre espèce pour le prélèvement d'échantillon peuvent entraîner de la contamination. Au laboratoire, des erreurs de manipulations ainsi que des instruments non stériles font partie des contaminations possibles. De bonnes pratiques d'échantillonnage, d'étiquetage et une rigueur exemplaire au laboratoire devraient minimiser ces problèmes potentiels.

### 3. Phylogénie

Dans cette étude, seulement 3 fragments de gènes sont utilisés dont un mitochondrial, entièrement codant et monoploïde (COX-1), un nucléaire et diploïde (CHD-Z) et un nucléaire et monoploïde (CHD-W), contenant une plus grande portion non codante, intron 23-24 (environ 57 à 60 %) et une moins grande partie codante (exons partiels 23 et 24). L'ADN utilisé dans cette étude représente environ 1600 pb, ce qui est peu, comparativement à l'étude de Jarvis et coll. de 2014. En effet, tels que mentionnés antérieurement, ces auteurs ont utilisé 41,8 millions de paires de bases ce qui représente environ 3,5 % du génome aviaire. Hackett et coll. en 2008 utilisent 32 kb d'ADN nucléaire alors que McCormack et coll. (2013) en ont utilisé 544 kb, ce qui représente beaucoup plus de paires de bases que l'étude ici présente. En comparaison, pour notre étude, nous avons utilisé 0,00013 % du génome aviaire (environ 1600 pb) pour effectuer notre analyse.

Selon notre étude, le gène COX-1 permettrait une meilleure identification, séparation et classification des espèces que les séquences CHD. Dans les arbres phylogéniques construits à partir de COX-1, les ordres aviaires sont bien séparés ainsi que les familles et les genres à l'intérieur de chacun des ordres. De ce fait, il est possible de constater que le gène mitochondrial COX-1 est meilleur pour effectuer une spéciation d'espèce individuellement.

L'arbre fait à partir du fragment du gène CHD du chromosome Z contient quelques erreurs de classement au niveau des genres, ce qui laisse croire que l'utilisation de ce gène est moins bonne que le COX-1 pour la spéciation individuelle. Toutefois, les ordres ainsi que les familles y sont bien divisés. Lorsque l'on regarde la phylogénie profonde, c'est cet arbre qui permet un meilleur classement de clades puisque les clades rassemblés sont identiques à l'étude de Jarvis et coll. de 2014, l'étude la plus complète à ce jour. Tout comme dans cette étude, les Psittaciformes forment un clade avec les Falconiformes et les



Passeriformes dans ce projet. De la même manière, les Accipitriformes contenant les vautours du Nouveau Monde sont regroupés en clade avec les Strigiformes. Puisque le gène CHD-Z est diploïde, il y a une meilleure stabilité génétique. Toutefois, puisqu'il est majoritairement non codant, il est moins protégé contre les mutations, ce qui entraîne une variabilité qui serait suffisante pour une meilleure représentation de la phylogénie profonde.

En ce qui concerne l'arbre phylogénique construit avec les séquences CHD-W, c'est celui qui semble être le moins utile, car il comporte de nombreuses erreurs à la fois dans le classement des ordres, des familles et des genres, mais aussi au niveau de la phylogénie profonde. La monoploïdie de ce gène ainsi que sa majorité de séquence non codante entraînent trop de variation, ce qui fait en sorte que le focus au niveau des espèces est perdu.

Les urubus (Cathartidés) sont présentement classifiés dans l'ordre des Accipitriformes. Par contre, ils ont été longtemps classés dans l'ordre des Falconiformes et avant, dans celui des Ciconiiformes. Ils ont même déjà eu leur propre ordre les Cathartiformes (Hackett et coll., 2008). Leur position taxonomique reste encore incertaine. D'après la Figure 10, l'homologie des deux urubus séquencés (l'urubu à tête rouge (*Cathartes aura*) et l'urubu noir (*Coragyps atratus*)) à partir de leur gène COX-1, suggère qu'ils semblent être effectivement assez proches des Accipitriformes. Par contre, leur rapprochement avec les Falconiformes ressort également de cette image et ils semblent en être plus près génétiquement. L'arbre phylogénique construit à partir de l'homologie des fragments des gènes CHD- Z (figure 14) regroupe, correctement les urubus avec les Accipitriformes et est conforme à ce qui est présenté dans l'étude de Jarvis et coll. (2014).

Au cours de notre étude, 66 espèces aviaires (N=104) ont servi pour le séquençage des trois fragments des gènes utilisés représentant 6 ordres. Plusieurs espèces étaient incluses dans un même ordre, mis à part les Passeriformes et les Galliformes représentés par une seule espèce. De la même manière, plusieurs

espèces ont parfois servi à représenter une même famille. Les études précédentes ont surtout utilisé une seule espèce par famille (McCormack et coll., 2013 ; Hackett et coll., 2008), ou encore une à trois espèces par ordre (Jarvis et coll., 2014), ce qui fait un survol large (mais pas profond) des ordres aviaires. Notre étude permet donc de faire un survol moins large, mais plus en profondeur afin de visualiser plus spécifiquement la relation entre plusieurs espèces d'une même famille ou d'un même ordre, pour les oiseaux vus en clinique vétérinaire au Québec.

## Conclusion

En conclusion, cette étude démontre que la méthode de sexage des oiseaux par séquençage pourrait être plus efficace que les autres méthodes de sexage actuellement utilisées par les laboratoires commerciaux pour faire le sexage. Toutefois, quelques problèmes méritent encore notre attention. Le sexage par séquençage a pu être fait de façon adéquate chez 66 espèces aviaires qui sont vues en cliniques vétérinaires au Québec.

L'identification de l'espèce par ADN, bien qu'elle puisse être effectuée à partir des gènes de l'ADN nucléaire, est faite plus efficacement avec les COX-1 provenant de l'ADN mitochondrial. L'écart qui sépare deux espèces est plus grand lors de la comparaison de séquence COX-1 de deux espèces proches, ce qui permet une identification plus précise. Par contre, l'identification de l'espèce par « BLAST » avec les séquences CHD du sexage est un atout dans la méthode de sexage par séquençage.

L'arbre phylogénique qui utilise le CHD-Z au cours de ce projet a permis de conclure, tout comme l'étude de Jarvis et coll. (2014) que les Falconiformes avaient une relation sœur avec les Psittaciformes ainsi qu'avec les Passeriformes. De plus, les Accipitriformes et les Strigiformes ont aussi une relation sœur. Tout comme l'étude de Jarvis et coll. (2014), les Cathartidés font partie intégrante de l'ordre des Accipitriformes dans cet arbre. Par contre, en ce qui concerne le classement de façon plus individuel, l'arbre phylogénique qui utilise les COX-1 semble plus adéquat.

Les données génétiques présentées dans ce projet permettront d'accélérer les futures études dans plusieurs domaines notamment en ce qui a trait aux études phylogéniques et aux méthodes de sexage aviaires. Ce projet permettra le développement d'une méthode de sexage plus standardisée pour toutes les espèces

aviaires. Il serait donc pertinent de continuer ce projet à plus grande échelle avec d'autres ordres d'oiseaux d'attrait vétérinaire et avec d'autres espèces au sein d'un même ordre. Le projet pourrait également être effectué avec un territoire de recherche agrandi en faisant le projet à l'extérieur du Québec. Cette étude a permis et les études futures permettront certainement de séquencer des fragments de gène CHD se retrouvant sur le chromosome sexuel W pour les espèces femelles. Le chromosome W est actuellement très peu séquencé. Par exemple, chez la poule dont le séquençage génomique a été publié en 2004, le CHD-W n'était pas disponible dans les banques de données avant cette étude. D'autres séquences pourraient éventuellement servir au sexage des oiseaux de manière plus standard. De plus, l'utilisation d'un fragment plus long du gène CHD permettrait peut-être d'établir une meilleure méthode. En conclusion, d'autres études permettront de raffiner la méthode de sexage par séquençage, de compléter et d'utiliser les banques de données « GenBank » pour permettre l'identification de plus d'espèces, d'utiliser les séquences CHD maintenant disponibles et d'améliorer la classification aviaire.

## Bibliographie

- Agate R.J., Grisham W., Wade J., Mann S., Wingfield J., Schanen C., Palotie A. et Arnold A.P. (2003). Neural, not gonadal, origin of brain sex differences in a gynandromorphic finch. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 100 (8), 4873-4878.
- Alatafi A.K., Saleem H.D., Singh R.P., Herbert S. et Singh V.K. (2013). DNA polymorphism among three native Indian chickens using RAPD markers. *Research opinion in animal and veterinary sciences* 3(4), 117-122.
- Amer S.A.M. Ahmed M.M. et Shobrak M. (2013). Efficient newly designed primers for the amplification and sequencing of bird mitochondrial genomes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 77(3), 577-581.
- Andersson S., Örnborg J. et Andersson M. (1998). Ultraviolet sexual dimorphism and assortative mating in blue tits. *Proceedings of the Royal Society*. 265(1395), 445-450.
- Axelsson E., Webster M.T., Smith N.G.C., Burt D.W. et Ellegren H. (2005). Comparison of the chicken and turkey genomes reveals a higher rate of nucleotide divergence on microchromosomes than macrochromosomes. *Genome Research* 15, 120-125.
- Ayers K.L., Davidson N.M., Demiyah D., Roeszler K.N., Grutzner F., Sinclair A.S., Oshlack A. et Smith C.A. (2013). RNA sequencing reveals sexually dimorphic gene expression before gonadal differentiation in chicken embryos and allows comprehensive annotation of W-chromosome genes. *Genome Biology* 14 (26), 1-35.
- Bermúdez-Humarán L.G., Garcíagarcía A., Leal-Garza C.H. Riojas-valdes V.M. Jaramillo-Rangel G. et Montes-de-Oca-Luna R. (2002). Molecular Sexing of Monomorphic Endangered Ara Birds, *Journal of Experimental Zoology* 292, 677-680.
- Birkhead T.R., Veiga J.P. et Moller A.P. (1994). Male sperm reserves and copulation behaviour in the house sparrow, *Passer domesticus*. *Proceedings of the Royal Society* 256, 247-251.
- Birkhead T. (2014). L'Oiseau et ses Sens. éd. Buchet-Castel, 24 ; 57-59.
- Boersma P.D. et Davies E.M. (1987). Sexing Monomorphic Birds by Vent Measurements. *The Auk* 104 (4), 779-783.

- Brown W.M., George M. Jr. et Wilson A.C. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 76 (4), 1967-1971.
- Burr E.W., Huchzermeyer F.W. et Riley A.E. (1981). Laparoscopic examination to determine sex in monomorphic avian species. *Journal of the South African Veterinary Association* S2 (1), 45-47.
- Cerit H. et Avanus K. (2007). Sex identification in avian species using DNA typing methods. *World's Poultry Science Journal* 63, 91-99.
- Cerit H. et Avanus K. (2006). Sex Determination by CHDW and CHDZ Genes of Avian Sex Chromosomes in *Nymphicus hollandicus*. *Turkish Journal of Animal sciences* 31 (6), 371-374.
- Chen C.C., Liu Y.S., Cheng C.C., Wang C.L., Liao M.H., Tseng C.N., et Chang H.W. (2012). High-throughput sex identification by melting curve analysis in blue-breasted quail and chicken. *Theriogenology* 77, 1951–1958.
- Clements J. (2012). The Clements Checklist of birds of the world. The Cornell Lab of Ornithology. Repéré à <http://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/corrections/Oct2012>. Consulté en juin 2014.
- Clustal Omega (s.d.). Multiple sequence Alignment. Repéré à <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>. Consulté de 2013 à 2015.
- Collot S., Alain S., Denis F. et Ranger-Rogez S. (2001). Quantification par PCR en temps réel, technologie TaqMan et applications en virologie. *Virologie* 5 (6), 439-448.
- Congrès ornithologique international (2010). Repéré à <http://www.internationalornithology.org/> Consulté en mai 2014.
- Consortium ICG. (2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 432, 695-716. Doi : 10.1038/nature03154
- Cortes O., Barroso A. et Dunner S. (1999). Avian sexing: an optimized protocol using polymerase chain reaction–single-strand conformation polymorphism. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11, 297–299.
- Darwin C. (1859). L'origine des espèces. *Traduction d'Edmond Barbier. Flammarion edition.*
- Dawson D.A. Darby S. Hunter F.M. Krupa A.P. Jones I.L. et Burke T. (2001) A critique of avian CHD-based molecular sexing protocols illustrated by a Z-

- chromosome polymorphism detected in auklets. *Molecular Ecology Notes* 1, 201-204.
- Delmas V., Stokes D.G. et Robert P. (1993). A Mammalian DNA-Binding Protein that Contains a Chromodomain and an SNF2/SW12-Like Helicase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (6), 2414-2418.
- Dodgson J.B., Cheng H.H. et Okimoto R. (1997). DNA Marker Technology: A Revolution in Animal Genetics. *Poultry Science* 76, 1108–1114.
- Dubiec A. et Zagalska-Neubauer M. (2006). Molecular techniques for sex identification in birds. *Biological Letter* 43 (1), 3-12.
- Ellegren H. (1996). First Gene on the Avian W Chromosome (CHD) Provides a Tag for Universal Sexing of Non-Ratite birds. *Proc. Biological Sciences* 263 (1377), 1635-1641.
- Ellegren H. et Sheldon B.C. (1997). New tools for sex identification and the study of sex allocation in birds, *Trends in Ecology and Evolution* 12 (7), 255-259.
- Elmeer K., Almalki A., Mohran K.A., AL-Qahtani K.N. et Almarr M. (2012). DNA barcoding of *Oryx leucoryx* using the mitochondrial cytochrome C oxidase gene. *Genetics and Molecular Research* 11 (1), 539-547.
- Ensembl chicken release 80. (2015). *Gallus gallus*. Repéré à : [http://useast.ensembl.org/Gallus\\_gallus/Search/Results?q=CHD ;site=ensembl ;facet\\_species=Chicken ;page=1 ;facet\\_feature\\_type=Protein%20Family](http://useast.ensembl.org/Gallus_gallus/Search/Results?q=CHD;site=ensembl;facet_species=Chicken;page=1;facet_feature_type=Protein%20Family). Consulté de 2013 à 2015.
- Ericson P.G.P., Anderson C.L., Britton T., Elzánowski A., Johansson U.S., Kallersjö M., Ohlson J.I. , Parsons T.J., Zuccon D. et Mayr G. (2006). (*Diversification of Neoaves: integration of molecular sequence data and fossils*). *Biology Letters* 2, 543-547.
- Faux C.E., McInnes J.C. et Jarman S.N. (2014). High-throughput real-time PCR and melt curve analysis for sexing Southern Ocean seabirds using fecal samples. *Theriogenology* 81, 870-874.
- Fillon V. (1998). The chicken as a model to study microchromosomes in birds : a review. *Genetics Selection Evolution* 30, 209-219.
- Fridolfsson A.K., Cheng H., Copeland N.G., Jenkins N.A, Liu H.C., Raudsepp T., Woddage T., Chowdhary B. Halverson J. et Ellegren H. (1998). Evolution of the avian sex chromosomes from an ancestral pair of autosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95, 8147–8152.

- Fridolfsson A.-K. et Ellegren H. (1999). A simple and universal method for molecular sexing non-ratite birds. *Journal of Avian Biology*, 30 (1), 116-121.
- Garcia C.B., Gill J.A., de Frutos A., Alcantara M., González J., Cortés M.R., Bonafonte J.I. et Arruga M. V. (2009). Comparison of different procedures of DNA analysis for sex identification in the endangered bearded vulture (*Gypaetus barbatus*). *Molecular Ecology Notes*, 1 (3), 201-204.
- Giles R. E., Blanc H., Cann H.M. et Wallace D.C. (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA (genetic polymorphism/restriction endonuclease cleavage map/blood platelets). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77 (11), 6715-6719.
- Gilgenkrantz S. (2004). Le sexe des oiseaux. *Médecine Sciences* 20 (11), 1004-1008.
- Gill F.B. (1995). Ornithology. W.H. Freeman and Company. USA. 766 p.
- Gill F. et Donsker D. (2015). (Eds). IOC World Bird List (version 5.2).
- Glenn T.C., Ojerio R.S., Stephan W. et Braun M.J. (1997). Microsatellite DNA Loci for genetic studies of cranes. *Proceedings of the Sixth North American Crane Workshop* 7, 36-45.
- Graves J.A. (1995). The evolution of mammalian sex chromosomes and the origin of sex determining genes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 350, 305–312.
- Graves J.A.M. et Shetty S. (2000). The evolution of sex chromosomes in higher vertebrates, Clark M (ed): Comparative Genomics, *Kluwer Academic Publishers*, 153–205.
- Griffin D.K., Robertson L.B., Tempest H.L., Vignal A., Fillon V., Crooijmans R.P., Groenen M.A., Deryusheva S., Gaginskaya E., Carré W., Waddington D., Talbot R., Völker M., Masabanda J.S. et Burt B.W. (2008). Whole genome comparative studies between chicken and turkey and their implications for avian genome evolution. *BMC Genomics* 9, 168.
- Griffiths, R., Daan, S. et Dijkstra, C. (1996) Sex identification in birds using two CHD genes. *Proceeding of the Royal Society of London Series B-biological Sciences*. 263 (1374), 1251-1256.
- Griffiths R., Double M.C., Orr K. et Dawson R.J.G. (1998). A DNA test to sex most birds, *Molecular Ecology* 7 (8), 1071-1075.
- Griffiths R. et Korn R.M. (1997). A CHD1 gene is Z chromosome linked in the chicken *Gallus domesticus*. *Gene* 197, 225-229.



- Griffiths R. et Orr K. (1999). The use of amplified fragment length polymorphism (AFLP) in the isolation of sex-specific markers. *Molecular Ecology* 8, 671-674.
- Griffiths R. et Phil D. (2000). Sex Identification in Birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 9 (1), 14-26.
- Griffiths R. et Tiwari B. (1995). Sex of the last wild Spix's macaw. *Nature* 175, 454.
- Hackett S.J., Kimball R.T., Reddy S., Bowie R.C.K., Braun E.L., Braun M.J., Chojnowski J.L., Cox W.A., Han K.-L., Harshman J., Huddleston C.J., Marks B.D., Miglia K.L., Moore W.S., Sheldon F.H., Steadman D.W., Witt C.C. et Yuri T. (2008). A Phylogenomic Study of Birds Reveals Their Evolutionary History. *Science* 320, 1763-1768.
- Hall J.A. et Georgel P.T. (2007). CHD proteins : a diverse family with strong ties. *Biochemistry and Cell Biology* 85, 463-476.
- Han J.-I., Kim J.-H., Kim S., Park S.-R. et Na K.-J. (2009a). A Simple and Improved DNA Test for Avian Sex Determination. *The Auk*, 126 (4), 779-783.
- Han J.-I., Jang H.J., Cheong S., Kim S., Park S.R. et Na K.J. (2009b). Sex Determination by PCR-RFLP in the Oriental White Stork *Ciconia boyciana*. *Zoological Studies* 48 (5), 619-624.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L. et DeWaard J.R. (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society* 270, 313–321.
- Hebert P.D.N., Ratnasingham S. et DeWaard J.R. (2003b). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society* 270, S96–S99.
- Hébert P.D.N., Stoeckle M.Y., Zemplak T.S. et Francis C.M. (2004). Identification of Birds through DNA Barcodes. *Public Library Of Science Biology* 2 (10), e312.
- Hildebrandt T., Pitra C., Sömmer P. et Pinkowski M. (1995). Sex Identification in Birds of Prey by Ultrasonography. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 26 (3), 367-376.
- Hogan L.A., Lisle A.T., Johnston S.D., Goad T. et Robertston H. (2013). Adult and Juvenile Sex Identification in Threatened Monomorphic *Geocrinia* Frogs Using Fecal Steroid Analysis. *Journal of Herpetology*, 47(1), 112-118.
- Hossack J.A., Bhaskar S.R., Wang J.S., Ustuner K.F., Chou C.-H., Arenson J.W. et Jain A. (1999) Ultrasound imaging system and method for improving

resolution and operation. *United States Patent*. 6,014,473.

- Ingman M., Kaessmann H., Pääbo S. et Gyllensten U. (2000). Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature* 408, 708-713.
- Ivanova N.V., Zemlak T.S., Hanna R.H. et Hebert P.D.N. (2007). Universal primer cocktails for first DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7, 544-548.
- Jarvis E.D., Mirarab S., Aberer A.J., Li B., Houde P., Li C., Ho S.Y., Faircloth B.C., Nabholz B., Howard J.T., Suh A., Weber C.C., da Fonseca R.R., Alfaro-Núñez A., Narula N., Liu L., Burt D., Ellegren H., Edwards S.V., Stamatakis A., Mindell D.P., Cracraft J., Braun E.L., Warnow T., Jun W., Gilbert M.T. et Zhang G. (2014). Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds. *Science* 346 (6215), 1320-1331.
- Joseph L., Toon A., Schirtzinger E.E. Wright T.F. et Schodde R. (2012). A revised nomenclature and classification for family-group taxa of parrots (Psittaciformes). *Zootaxa* 3205, 26–40.
- Kahn N.W., St. John J. et Quinn T.W. (1998). Chromosome-specific Intron Size Differences in the Avian CHD Gene Provide an Efficient Method for Sex Identification in Birds. *The Auk* 115 (4), 1074-1078.
- Ketterson E.D. et Nolan V. JR. (1994). Male parental behavior in birds. Annual Review of Ecology. *Evolution and Systematic* 25, 601-628.
- Kierszenbaum A.L. (2006). Histologie et Biologie Cellulaire. *DeBoeck supérieur*. 638p.
- Kuroda Y., Arai N., Arita M., Teranishi M., Hori T., Harata M. et Mizuno S. (2001). Absence of Z-chromosome inactivation of five genes in male chickens. *Chromosome Research* 9, 457-468.
- Lee M.Y., Hong Y.J., Park S.K., Kim Y.J., Choi T.Y., Lee H. et Min M.S. (2008). Application of Two Complementary Molecular Sexing Methods for East Asian Bird Species. *Genes & Genomics* 30 (4), 365-372.
- Lee J. C.-I., Tsai L.-C., Hwa P.-Y., Chan C.-L., Huang A. Chin S.C., Wang L.-C. Lin J.-T. Linacre A. et Hsieh H.-M. (2010). A novel strategy for avian species and gender identification using the CHD gene, *Molecular and Cellular Probes* 24, 27-31.
- Li W., Xue F., Li L., Li X., Yue B. et Li J. (2012). A triple-primer PCR approach for the sex identification of endangered Phasianidae birds. *European Journal of Wildlife Research* 58 (1), 289-294.

- Liu H. Li J. Yang F. et Cai Y. (2011). Molecular sexing of endangered cranes based on CHD-W gene. *Journal of Applied Animal Research* 39 (3), 212-217.
- Lunn J.H. (1948). Chick sexing. *American Scientist* 36 (2), 280-287.
- McCormack J.E., Harvey M.G., Faircloth B.C., Crawford N.G., Glenn T.C. et Brumfield R.T. (2013). A Phylogeny of Birds Based on Over 1,500 Loci Collected by Target Enrichment and High-Throughput Sequencing. *Plosone* 8 (1), e54848.
- McCracken K.G. (2000). The 20-cm spiny penis of the argentine lake duck (*oxyura vittata*). *The Auk* 117 (3), 820-825.
- McGibbon W.H. (1977). A sex-linked mutation affecting rate of feathering in chickens. *Poultry Science* 56, 872-875.
- McMillan M.C. (2013). Imaging techniques. Dans Ritchie, Harisson et Harisson. *Avian Medicine: Principles and Applications*, p. 246 à 326.
- Miyaki C.Y., Griffiths R., Orr K., Nahum L.A., Pereira S.L. et Wajntal A. (1998). Sex Identification of Parrots, Toucans, and Curassows by PCR: Perspectives for Wild and Captive Population Studies. *Zoo Biology* 17, 415–423.
- Mora C., Tittensor D.P., Adl S., Simpson A.G.B., et Worm B. (2011). How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *Public Library Of Science Biology* 9 (8), 1-8.
- Morinha F., Cabral J.A. et Bastos E. (2012). Molecular sexing of birds: A comparative review of polymerase chain reaction (PCR)-based methods. *Theriogenology* 78, 703–714.
- Moss S. (2003). *Understanding Bird Behaviour*. New Holland : New Holland Publishers. 160p.
- NCBI (2015). Gène CHD Repéré à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=1105>. Consulté de 2013 à 2015.
- Overbergh L., Giulietti A.P., Valckx D. et Mathieu C. (2010). Real-Time Polymerase Chain Reaction. *Molecular Diagnostics (Second Edition)*, Chapitre 7, 87–105.
- O’Meally D., Ezaz T., Georges A., Sarre S.D. et Marshall Graves J.A. (2012). Are some chromosomes particularly good at sex? Insights from amniotes. *Chromosome Research* 20, 7–19.
- Ong A.H.K. et Vellayan S. (2008). An Evaluation of CHD-Specific Primer Sets for Sex Typing of Birds from Feathers. *Zoo Biology* 27, 62–69.

- Parker T.R., Birkhead T.R., Joshua S.K., Taylor S. et Clark M.S. (1992). Sex ratio in a population of guillemots *Uria aalge* determined by chromosome analysis. *Ibis* 133, 423-425.
- Parr M. et Juniper T. (2010) Parrots: A Guide to Parrots of the World. *Bloomsbury Publishing*, p : 39 à 215.
- Payne, R. B. et Sorensen M.D. (2005). The Cuckoos. Oxford : *Oxford University Press*. p : 127-129.
- Périquet J.-C. et Latimer J. (2010). Petit atlas des poules : Reconnaître 70 races communes. *Delachaux et Niestlé*.
- Phylodendron. (s.d.). Phylodendron-Phylogenetic tree printer. Repéré à <http://iubio.bio.indiana.edu/treeapp/treeprint-form.html> Consulté de 2013 à 2015.
- Planché, A. (2007). Pathologie urinaire des oiseaux exotiques de compagnie. (Grade de Docteur Vétérinaire, *Université CLAUDE-BERNARD - LYON I, Villeurbanne*), p : 45.
- Pukazhenthil B.S. et Wildt D.E. (2004). Which reproductive technologies are most relevant to studying, managing and conserving wildlife? *Reproduction, Fertility and Development* 16, 33-46.
- Reynolds R.D. et Flegel C.L. (2000). Method and apparatus for avian pre-hatch sex determination. *United States Patent 6029080*, 1-14.
- Rosenthal N.F., Ellis H., Shioda K., Mahoney C., Coser K.R. et Shioda T. (2010). High-throughput applicable genomic sex typing of chicken by TaqMan real-time quantitative polymerase chain reaction. *Poultry Science* 89, 1451–1456.
- Sauveur B. et De Reviere M. (1988). Reproduction des volailles et production d'œufs. *Editions Quae*. P : 45-47
- Schodde R., Renssen J.D. JR., Schirtzinger E.E., Joseph L. et Wright T.F. (2013). Higher classification of New World parrots (Psittaciformes ; Arinae), with diagnoses of tribes. *Magnolia Press. Zootaxa* 3691 (5), 591-596.
- Sibley C.G. et Ahlquist J.E. (1990). Phylogeny and Classification of Birds: A Study in Molecular Evolution, *Yale University Press*.
- Sievers F., Wilm A., Dineen D., Gibson T.J., Karplus K., Lopez R., McWilliam H., Remmert M., Soding J., Thompson J.D. et Higgins D.G. (2011). Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology* 7 : 539.

- Silva K.V., Lobo-Hadju G. et Alves M.A.S. (2011). Sex determination in *Turdus amaurochalinus* (Passeriformes: Muscicapidae): morphometrical analysis supported by CHD gene. *Revista de Biologia Tropical* 59 (2), 789-794.
- Silverman S. et Tell L. (2010). Radiology of birds: an atlas of normal anatomy and positioning. *Missouri : Elsevier Health Sciences*. P : 2.
- Smith C.A., Roeszler K.N., Ohnesorg T., Cummins D.M., Farlie P.G., Doran T.J. et Sinclair A.H. (2009). The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken. *Nature* 461, 267-271.
- South J.M. et Wright T.F. (2002). Nestling sex ratios in the Yellow-Naped Amazon : No evidence for adaptive modification. *The Cooper Ornithological Society* 104, 437-440.
- Stiglec R., Ezaz T. et Graves J.A.M. (2007). A new look at the evolution of avian sex chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research* 117, 103-109.
- Tagu D. et Risler J.L. (2010). Bio-informatique : Principe d'utilisation des outils. *Editions Quae*, p. 88-92.
- Taylor C.F. (2009). Mutation scanning using high-resolution melting. *Biochemical Society Transactions* 37, 433-437.
- Taylor M. (2015). Endoscopic examination and biopsy techniques. Dans Ritchie, Harisson et Harisson. *Avian Medicine: Principles and Applications*, p. 327 à 354.
- Treuffet J. (2010). Transfert de ligand dans la cytochrome c oxydase observé par des expériences femtosecondes infrarouge intégrées et résolues spectralement. (Thèse de doctorat), *École Polytechnique*, p :10-24.
- UQROP. (2014). Qu'est-ce qu'un oiseau de proie? Repéré à <http://www.uqrop.qc.ca/fr/rehabilitation/biologie-generale>. Consulté le 20 juin 2014.
- Vucicevic M., Stevanov-Pavlovic M., Stevanovic J., Bosnjak J., Gajic B., Aleksic N. et Stanimirovic Z. (2013). Sex Determination in 58 Bird Species and Evaluation of CHD Gene as a Universal Molecular Marker in Bird Sexing. *Zoo Biology* 32 (3), 269-276, p : 1-13.
- Woese C.R. et Fox G.E. (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms (archaeobacteria/eubacteria/urkaryote/16S ribosomal RNA/molecular phylogeny). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74 (11), 5088-5090.

- Woese C.R. (2000). Interpreting the universal phylogenetic tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (15), 8392–8396.
- Wu Y., Feng R., Zhang Q., Zhao C., Wang M. et Zhang F. (2011). A simple and reliable molecular method for sex identification of the Brown-eared pheasant (*Crossoptilon mantchuricum*) from non-invasively collected samples. *Biology Animal* 61 (2), 163-173.
- Zhang G., Li B., Li C., Gilbert M.T., Jarvis E.D. et Wang J. (2014). Comparative genomic data of the Avian Phylogenomics Project. Avian Genome Consortium. *Gigascience* 3(1):26.
- Zhao D., McBride D., Nandi S., McQueen H.A., McGrew M.J., Hocking P.D., Sang H.M. et Clinton M. (2010). Somatic sex identity is cell autonomous in the chicken. *Nature* 464, 237-243.

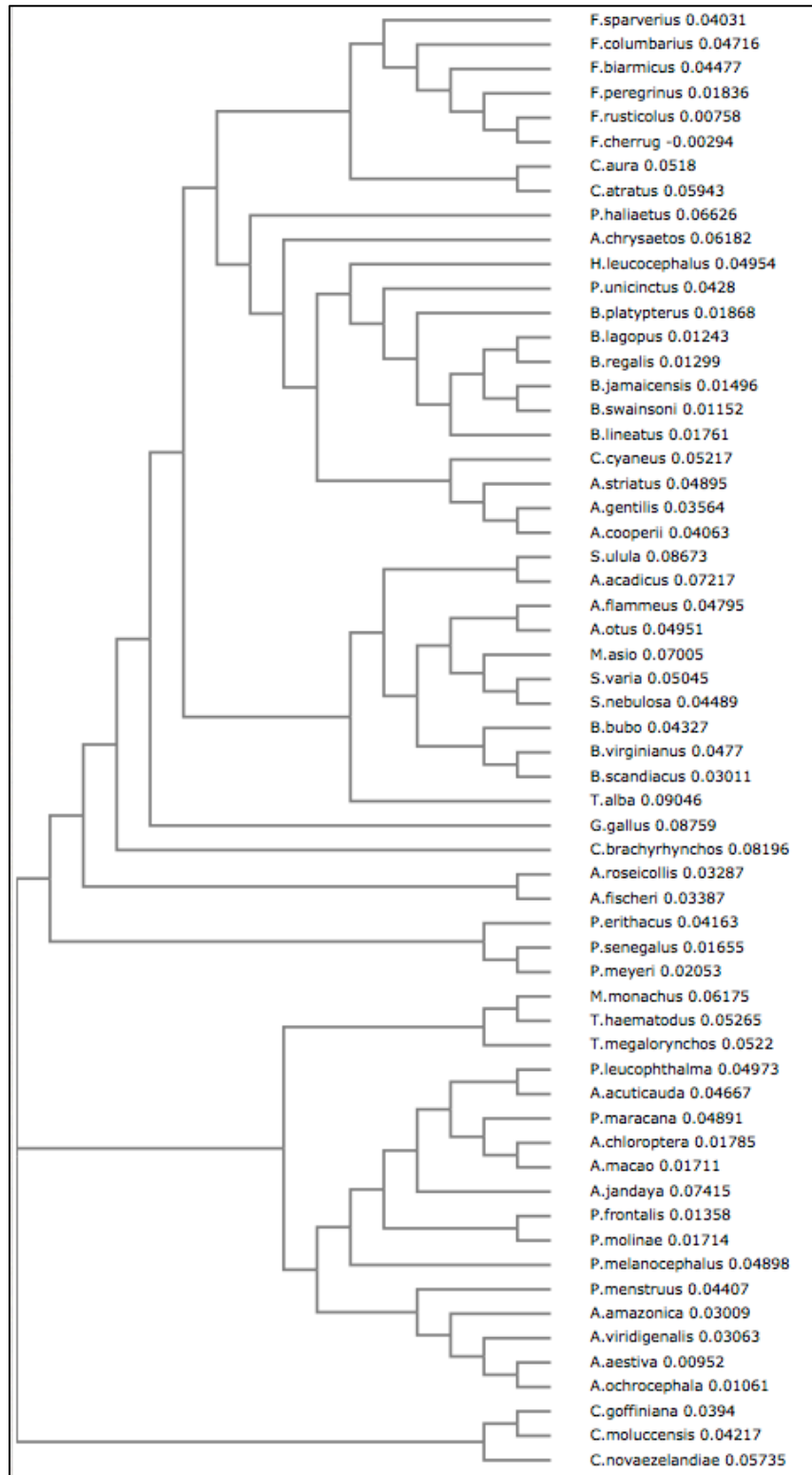
## **Annexe 1 : Séquences soumises dans GenBank**

	<b>CHD-Z</b>	<b>CHD-W</b>	<b>COX-1</b>
<b><u>Accipitriformes</u></b>			
<i>Accipiter cooperii</i>	JX460774	JX460775	KF525371
<i>Accipiter gentilis</i>	KF412790		
<i>Accipiter striatus</i>	JX460773		KR017977
<i>Aquila chrysaetos</i>	JX460770	JX460771	KR017975
<i>Buteo jamaicensis</i>	KF412787	KF425685	KR017962
<i>Buteo lagopus</i>	KF412785	KF425684	KR017965
<i>Buteo lineatus</i>	KF412794	KF425696	KR017961
<i>Buteo platypterus</i>	JX460784	JX460785	
<i>Buteo regalis</i>	KF412793	KF425695	KF525369
<i>Buteo swainsoni</i>	KF412795	KF425697	KF525376
<i>Cathartes aura</i>	JX460791	JX460792	KF537264
<i>Circus cyaneus</i>	KF412784	KF425686	KR017963
<i>Coragyps atratus</i>	KF525341		KR017973
<i>Haliaeetus leucocephalus</i>	JX460789)	JX460790	KF525373
<i>Parabuteo unicinctus</i>	KF412786	KF425683	KR017964
<i>Pandion haliaetus</i>	KF412783	KF425682	KR017966
<b><u>Strigiformes</u></b>			
<i>Aegolius acadicus</i>	JX460787	JX460788	KR017972
<i>Asio flammeus</i>	JX460782	JX450783	KR017968
<i>Asio otus</i>	KF412791	KF425693	KR017969
<i>Bubo bubo</i>	KR019949		KR017967
<i>Bubo platyoterys</i>			KR017971
<i>Bubo scandiacus</i>	JX460780	JX460781	KR017970
<i>Bubo virginianus</i>	JX460778	JX460779	
<i>Megascops asio</i>	JX460786		KR017974
<i>Strix nebulosa</i>	KF412789		KF525370
<i>Surnia ulula</i>	JX460772	KF425687	KR017979
<i>Strix varia</i>	KF412792		KT022232
<i>Tyto alba</i>	KF412788	KF425688	
<b><u>Falconiformes</u></b>			
<i>Falco biarmicus</i>	KR019954		
<i>Falco cherrug</i>	JX460777		KR017980
<i>Falco columbarius</i>	KF412774		KF537263
<i>Falco peregrinus</i>		JX460776	KR017981
<i>Falco rusticolus</i>	KF412776	KF425689	KF525372
<i>Falco sparverius</i>	KF412775	KR108202	KR017978

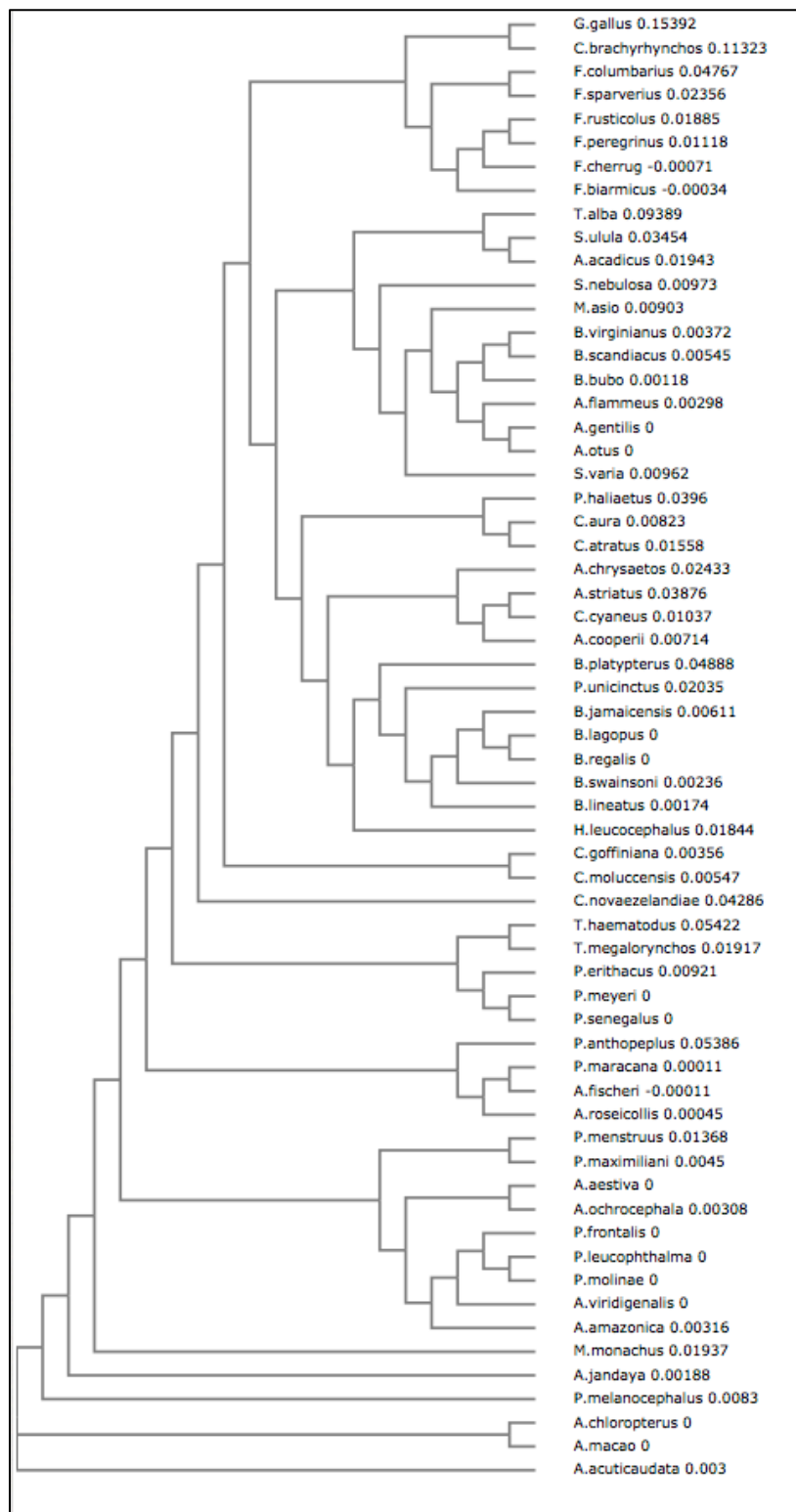
	<b>CHD-Z</b>	<b>CHD-W</b>	<b>COX-1</b>
<b><u>Psittaciformes</u></b>			
<i>Agapornis fischeri</i>	KR019963		KR017996
<i>Agapornis roseicollis</i>	KF412781	KR108201	
<i>Amazona aestiva</i>	JX460794	KF425690	KR017984
<i>Amizona amizonica</i>	KR019950		KR017994
<i>Amazona ochrocephala</i>	KF412777	KR108203	KR017991
<i>Amazona viridigenalis</i>	KR019952		KR017993
<i>Ara chloropterus</i>	KF412779		KR017982
<i>Ara macao</i>	KF412778	KF425691	KR017985
<i>Aratinga jandaya</i>	JX460800		KF525368
<i>Aratinga acuticaudata</i>	JX460799		
<i>Cacatua goffiniana</i>	KT022229		
<i>Cacatua moluccensis</i>	KR019958		KT022233
<i>Cyanoramphus novaezelandiae</i>	KR019959		KR017998
<i>Myiopsitta monachus</i>	JX460801	JX460802	
<i>Pionites melanocephalus</i>	JX460795	JX460796	KF525374
<i>Pionopsitta caica</i>			KR017989
<i>Pionus menstruus</i>	KR019961		KR017999
<i>Pionus maximiliani</i>	KR019962		
<i>Poicephalus meyeri</i>	JX460797	JX460798	KR017988
<i>Poicephalus senegalus</i>	KF412780	KF425692	KR017987
<i>Polytelis anthopeplus</i>	KR019960	KR108204	
<i>Psittacara acuticaudatus</i>			KT022235
<i>Psittacara leucophthalmus</i>	KT022230		KT022234
<i>Psittacus erithacus</i>	JX460793	KF425694	KR017995
<i>Polytelis anthopeplus</i>		KR108204	
<i>Primolius maracana</i>	KR019957	KR108205	KR018000
<i>Pyrrhura frontalis</i>	KR019956	KT022228	KR017986
<i>Pyrrhura molinae</i>	KR019953	KR108199	KR017992
<i>Tanygnathus megalorynchos</i>	KF412782		KR017990
<i>Trichoglossus haematodus</i>	KR019951		KR017983
<b><u>Passeriformes</u></b>			
<i>Corvus brachyrhynchos</i>	KR019955	KR108200	KR017976
<b><u>Galliformes</u></b>			
<i>Gallus gallus</i>		KF551860	



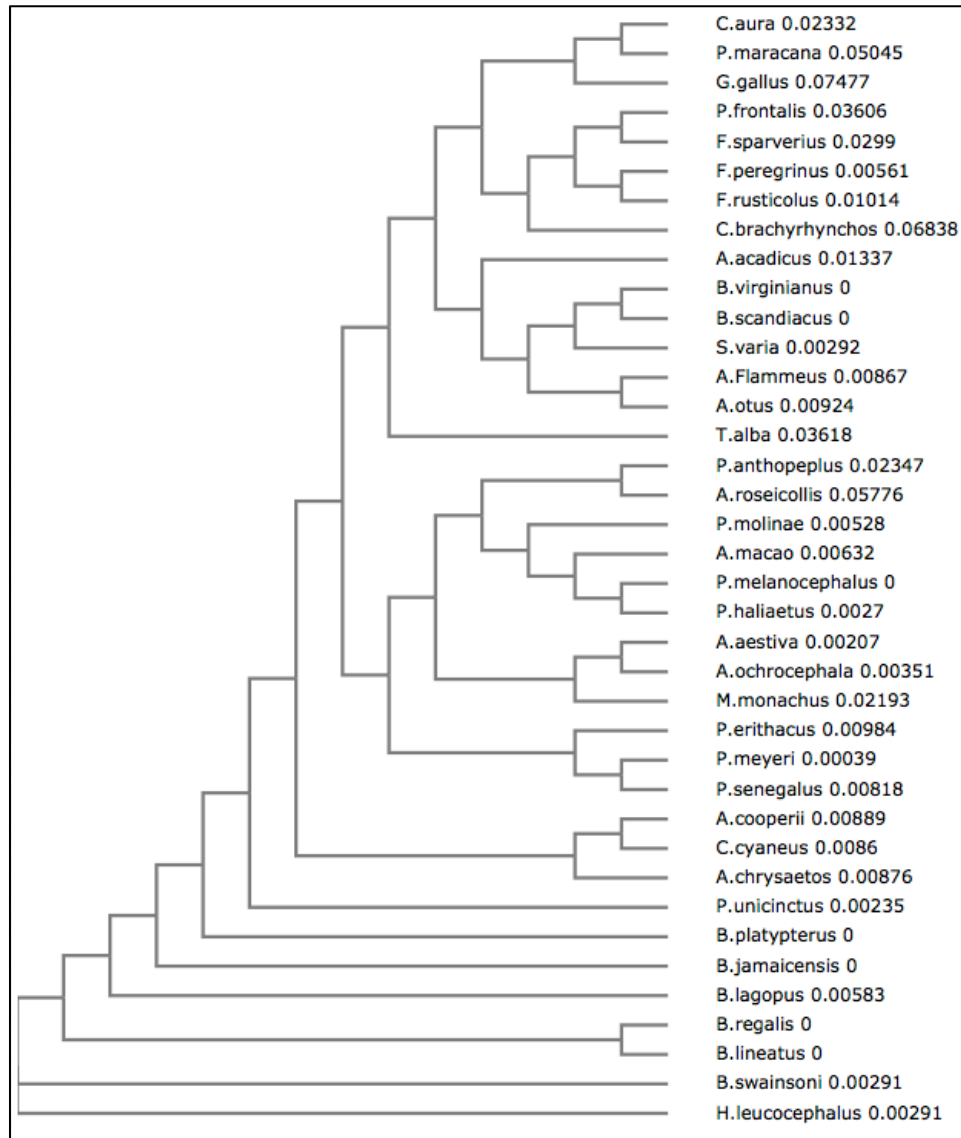
## Annexe 2 : Alignements de séquences multiples ; COX-1



### Annexe 3 : Alignements de séquences multiples ; CHD-Z



## Annexe 4 : Alignements de séquences multiples ; CHD-W



## Annexe 5 : Données statistiques des longueurs moyennes des fragments CHD-Z, CHD-W et CHD-Z/W

Libellé	Estimation	Erreur type	DDL	Valeur du test t	Pr >  t
fw v. aw	35.9744	8.8056	8.76	4.09	0.0029
pw v. aw	14.3910	2.2250	47.1	6.47	<.0001
sw v. aw	-11.1209	2.4906	41.3	-4.47	<.0001
pw v. fw	-21.5833	8.6941	8.33	-2.48	0.0369
sw v. fw	-47.0952	8.7658	8.6	-5.37	0.0005
sw v. pw	-25.5119	2.0620	33.7	-12.37	<.0001
fz v. az	13.3143	5.8943	9.55	2.26	0.0486
pz v. az	-10.3615	1.9191	38	-5.40	<.0001
sz v. az	-16.0364	2.1777	42	-7.36	<.0001
pz v. fz	-23.6758	5.6960	8.35	-4.16	0.0029
sz v. fz	-29.3506	5.7882	8.89	-5.07	0.0007
sz v. pz	-5.6748	1.5632	29.1	-3.63	0.0011
w v. z acci	5.2923	2.5380	26	2.09	0.0470
w v. z falc	27.9524	10.2878	8	2.72	0.0264
w v. z psit	30.0449	1.4805	36	20.29	<.0001
w v. z stri	10.2078	2.1222	16	4.81	0.0002

f= Falconiformes  
 p= Psittaciformes  
 s= Strigiformes  
 a= Accipitriformes

z= fragments CHD-Z  
 w= fragments CHD-W

## Annexe 6 : Données statistiques des moyennes d'homologie des fragments CHD-Z, CHD-W et CHD-Z/W

Libellé	Estimation	Erreur type	DDL	Valeur du test t	Pr >  t
fw v. aw	2.8692	3.0239	22.7	0.95	0.3527
pw v. aw	-4.9883	2.6631	78.6	-1.87	0.0648
sw v. aw	2.9475	2.3245	54.6	1.27	0.2102
pw v. fw	-7.8575	2.8523	19.2	-2.75	0.0125
sw v. fw	0.07833	2.5390	12.5	0.03	0.9759
sw v. pw	7.9358	2.0964	67	3.79	0.0003
fz v. az	3.8187	2.5093	27.3	1.52	0.1395
pz v. az	3.2096	2.1550	66.2	1.49	0.1411
sz v. az	3.8757	2.0129	51.8	1.93	0.0597
pz v. fz	-0.6091	2.1119	16.4	-0.29	0.7766
sz v. fz	0.05700	1.9667	12.5	0.03	0.9773
sz v. pz	0.6661	1.4885	65.6	0.45	0.6560
z v. w acci	-1.3135	2.7001	37	-0.49	0.6295
z v. w falc	-0.3640	2.8548	8	-0.13	0.9017
z v. w psit	6.8844	2.1085	47	3.27	0.0020
z v. w stri	-0.3853	1.4713	20	-0.26	0.7961

f= Falconiformes  
p= Psittaciformes  
s= Strigiformes  
a= Accipitriformes

z= fragments CHD-Z  
w= fragments CHD-W

