

Etologuía



Boletín de la Sociedad Española
de Etología y Ecología Evolutiva
2019

25

Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva

La Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva (SEEEE) es una entidad de carácter no lucrativo fundada en 1984 para favorecer una estrecha colaboración entre los etólogos y ecólogos evolutivos, promoviendo y coordinando el estudio del comportamiento animal desde un punto de vista evolutivo, así como promocionando la difusión de los conocimientos etológicos y de ecología evolutiva a través de publicaciones y docencia en los diversos planes de estudios.

Sede: Museu de Ciències Naturals de Barcelona
Parc de la Ciutadella, Psg. Picasso s/n., 08003 Barcelona
seeecretaria@gmail.com

Junta directiva

Presidente: Pilar López
Vicepresidente (Presidente entrante): Juan Carlos Senar
Presidente saliente: Adolfo Cordero
Secretario: Jordi Figuerola
Tesorera: Paola Laiolo

Vocalías

Redes sociales: Josué Martínez de la Puente, Estación Biológica de Doñana, CSIC, Sevilla
Publicaciones: Juan José Soler, Estación Experimental de Zonas Áridas, CSIC, Almería

Etologuía

Etologuía es el boletín de información, contacto y divulgación científica de la Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva. En él tienen cabida todas las contribuciones acerca de temas y actividades relativas al comportamiento y la ecología evolutiva, de interés para los socios e interesados en la etología y la ecología evolutiva en general.

Comité Editorial

Editor jefe: Juan José Soler, Estación Experimental de Zonas Áridas, CSIC, Almería
Editor asociado: Juan Carlos Senar, Museu de Ciències Naturals de Barcelona, Barcelona
Editor Etoimágenes: Josué Martínez de la Puente, Estación Biológica de Doñana, CSIC, Sevilla
Editor Tesis en Etología y Ecología Evolutiva: Francisco Valera, Estación Experimental de Zonas Áridas, CSIC, Almería

Etologuía, nº 25 2019

Maquetación: Montse Ferrer
Diseño portada: Eva Porcuna
Foto portada: pareja de abejarucos realizando una cópula cerca de su colonia en Avinyó (Bages, Barcelona), mayo de 2019. Autor: Antoni Borràs.

Edita: Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva
© Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva y los autores
ISSN: 1135-6588
Depósito legal: BA-415-1997
Fotomecánica e impresión: CEVAGRAF SCCL

ÍNDICE

CARTA EDITORIAL

Juan José Soler

ETOIMAGEN

- 7 **Canibalismo**
Eva De Mas Castroverde
- 9 **Protección bajo tierra**
Francisco J. Oficialdegui

BUSCANDO RESPUESTAS, HISTORIAS DE LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN ACTUALES

- 11 **Información social en la toma de decisiones por los animales**
Deseada Parejo

METODOLOGÍAS

- 27 **Aplicaciones actuales de la genómica y la bioinformática para el estudio del comportamiento**
David Martín-Gálvez

VOLVIENDO A LOS CLÁSICOS

- 57 **La Tragedia de los (bienes) Comunes Garrett Hardin (1968)**
Carmen Zamora Muñoz

TESIS EN ETOLOGÍA

- 65 **Ecology and population dynamics of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) in Spain**
Francisco José Buenestado Malfeito
- 67 **Role of uropygial gland volume in the host-parasite interaction**
Sergio Magallanes Argany
- 69 **Waterbird populations role in anthropogenic wetlands of south Europe**
Manuel Parejo Nieto
- 71 **Behavioral, physiological and reproductive effects of predation and avian brood parasitism risk on the reproduction of birds: does fear matter?**
Mónica Expósito Granados
- 73 **Defences against brood parasitism in the common blackbird (*Turdus merula*): plasticity, physiology and evolution**
Francisco Ruiz Raya

- 75 **Assessment of the culture conditions of breeding wedge soles (*Dicologlossa cuneata*) and integrative study on its physiology and behavior in captivity**
Elena De la Roca Marchena
- 77 **Evolutionary responses to the independent and interacting action of sexual selection and population spatial structure: insights from experimental evolution in a species with sexual conflict**
Eduardo Rodríguez Expósito
- 81 **Detoxification and sublethal effects of neurotoxic insecticides in tortricid moths**
Miguel Ángel Navarro Roldán
- 83 **Trade-off between the risk of overheating and camouflage on eggs of ground-nesting birds**
Jesús Gómez Esteban
- 85 **Cooperation and conflict among white stork (*Ciconia ciconia*) nest mates**
José María Romero López
- 87 **The white-throated dipper *Cinclus cinclus* L., 1758 in Gipuzkoa: distribution and demographic parameters**
José María Sánchez Sánchez
- 89 **Consequences of the individual variation of the chemical signals of males of the Carpetan lizard (*Iberolacerta cyreni*) for their reproductive success, social organization, females' preferences and offspring's phenotype**
Gonzalo M. Rodríguez Ruiz
- 91 **Fine-scale population differentiation: ecological and evolutionary mechanisms involved**
Carlos Camacho Olmedo
- 95 **Impact of the interactions between hosts, vectors and pathogens on the transmission of avian malaria and flavivirus by mosquitoes**
Rafael Gutiérrez López
- 97 **Ecology of vector-borne diseases: effects of host traits on mosquito feeding preferences and its implications for disease transmission**
Jiayue Yan
- 99 **Canine welfare: veterinary perception assessment and study of the relationship between eating behavior and stress and emotions**
Isabel Luño Muniesa

NOTICIAS DE LA SOCIEDAD

- 103 **Congreso de la Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva Mieres 4–8 septiembre 2018**
Paola Laiolo y Juan José Soler
- 109 **Bases del Concurso Internacional de fotografía e ilustración científica sobre comportamiento animal**

CARTA EDITORIAL

Con este número de *Etología*, retomamos la publicación de la revista de la Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva después de unos años de parada. Hace ya casi un año que la nueva Directiva de la Sociedad me invitó a que liderara la edición y el nuevo arranque de la revista, y que acepté sin dudar.

Aunque en general hemos seguido la línea editorial de anteriores números de la Revista, para esta nueva etapa hemos incluido dos apartados nuevos. Uno de ellos sobre carreras investigadoras de etólogos y ecólogos evolutivos españoles en las que se aborden, no solo los logros científicos, sino también aspectos más personales de los investigadores en la búsqueda de respuestas a sus inquietudes científicas. A este (sub)apartado, que hemos encuadrado dentro del ya existente “Temas Actuales en Etología”, lo hemos denominado “**Buscando Respuestas. Historias de Líneas de Investigación Actuales**”. Lo inaugura la investigadora Deseada Parejo Mora (Desi) y, en su artículo, nos cuenta su interés por conocer y poner de manifiesto la importancia de la información que unos individuos pueden obtener del comportamiento de otros para entender sus decisiones y sus efectos ecológicos y evolutivos a nivel local, poblacional y de comunidades. Es interesante conocer de primera mano cómo el plantearse preguntas interesantes y obtener respuestas adecuadas desemboca en nuevas preguntas que, en la mayoría de los casos, son aún más interesantes que las primeras. Desi ejemplifica muy bien este proceso en su artículo.

El segundo apartado nuevo que hemos incluido en este número de *Etología* lo hemos denominado “**Volviendo a los Clásicos**”. La idea es que en esta sección se repasen algunos de los artículos más influyentes en Etología y Ecología Evolutiva, resaltando la influencia del artículo y, sobre todo, su importancia en la ciencia actual. La decisión de incluir esta sección fue la sensación de que existen muchos temas actuales, candentes, sobre los que ya se realizaron investigaciones muy influyentes en décadas pasadas y que, actualmente, se tienen un poco olvidados o, incluso, pueden estar siendo malinterpretados en algunos foros científicos. En este número, la investigadora Carmen Zamora Muñoz nos explica “La Tragedia de los (bienes) Comunes”, uno de los artículos más impactantes y directos en el que el autor, utilizando argumentos de optimización de beneficios económicos o biológicos a distintos niveles de organización (individuo *versus* población), llegaba a la conclusión de que los bienes que fueran comunes a sociedades humanas llegarían a extinguirse en un futuro próximo. Garrett Hardin publicó su artículo en 1968 y predijo la pérdida, esquilación, deterioro y/o desaparición de muchos de los recursos naturales, y, aunque propuso una serie de medidas que podrían paliar o retrasar la tragedia, su efecto en las políticas gubernamentales ha sido muy reducido. Carmen nos explica, de forma sencilla, los argumentos devastadores utilizados por Hardin para alertarnos sobre los problemas que actualmente alarman a la sociedad y que no se deberían olvidar, ni por políticos y

técnicos con responsabilidad sobre los bienes comunes, ni por investigadores en biología de la conservación.

Los otros apartados siguen la línea editorial ya comenzada en números anteriores e incluye una sección sobre **Etoimagen**, de la que se encarga el investigador Josue Martínez De la Puente, y que incluye dos magníficas imágenes junto a una breve explicación del comportamiento que se muestra. En un intento de reforzar esta sección se va a organizar un concurso en el que las fotos finalistas se publicaran en el siguiente número de Etologuía, y se invitara a los autores (mediante el pago de la inscripción al congreso) a la presentación de las mismas en el próximo Congreso de la Sociedad. **Las bases del concurso** se exponen al final de este número. Desde aquí, animo a todos los interesados en el comportamiento animal y la fotografía a que se presenten y den a conocer sus fotos a la Sociedad.

Otro apartado ya clásico en la revista Etologuía es el de reseñas de **Tesis Doctorales** defendidas en los dos últimos años en el Área de la Etología. De esta sección se ocupa el investigador Francisco Valera. Estos resúmenes los hemos preferido publicar en inglés por dos razones. La primera es porque partimos de que todos los miembros de la Sociedad conocen este idioma lo suficiente como para poder entender estos resúmenes y, la segunda, por abrir la posibilidad de que interesados de otros

países en las tesis doctorales que se defienden en España, puedan también consultar esta sección desde la Web de la Sociedad. Esta sección es una oportunidad para nuevos doctores de dar a conocer el trabajo realizado en su tesis doctoral y, por tanto, animo a todos ellos a que se pongan en contacto con Paco y le envíen los resúmenes y el material gráfico que crean conveniente.

El apartado de "**Metodologías en temas de Etología y Ecología Evolutiva**" es quizás el más clásico de todos los abordados en este número de Etologuía. Como el subapartado de carreras científicas, éste se encuadra dentro del apartado de "*Temas Actuales en Etología*". En este número el investigador David Martín Gálvez hace una magnífica y pormenorizada revisión sobre las posibilidades que las nuevas técnicas moleculares nos brindan a los investigadores interesados en el comportamiento animal. Creo que todos aprenderemos mucho de su lectura y puede que nos sirva para diseñar nuevos proyectos.

No quiero terminar esta carta de presentación sin ofrecer a los lectores y Socios de la SEEEE la posibilidad de que me envíen sugerencias de temas a tratar en los nuevos números de la revista, o cualquier otra propuesta que consideren que podría mejorar la calidad de la revista o que la hiciera aún más atractiva.

Saludos,

Juan José Soler

Editor: Josue Martínez de la Puente

Estación Biológica de Doñana (EBD-CSIC), c/Américo Vesputio s/n, Sevilla E-41092, España

Canibalismo

Autora: Eva De Mas Castroverde

Especie: *Mantis religiosa*

Localización: La Boca de los Frailes, Níjar, Almería

En canibalismo en los artrópodos es un comportamiento muy frecuente que supone una importante fuente de recursos. El canibalismo sexual es quizás el más conocido pero también es frecuente el canibalismo entre individuos adultos o juveniles, donde los de mayor tamaño se comen a los más pequeños.

En la imagen podemos ver una mantis comiéndose a otro individuo de la misma especie, del que solo queda una parte del abdomen. En esta especie se conoce el canibalismo sexual, pero probablemente los individuos de la imagen sean dos juveniles.



Protección bajo tierra

Autor: Francisco J. Oficialdegui

Especie: *Procambarus clarkii*

Localización: Arrozales de Isla Mayor, Sevilla

El cangrejo rojo americano, *Procambarus clarkii*, pasa la mayor parte de su vida en el agua; sin embargo, tiene un comportamiento excavador construyendo galerías en sustratos blandos. El uso de madrigueras permite a esta especie soportar condiciones ambientales extremas durante el periodo seco con altas temperaturas y deshidratación, protegiéndoles además de los depredadores y es clave durante el período reproductivo. De hecho, el éxito de la reproducción depende de la capacidad de la hembra para mantener húmedos los huevos fertilizados al pasar la estación seca. En general, las madrigueras son simples morfológicamente, con un único túnel y una sola entrada. Las partes superiores de las galerías suelen estar cubiertas con un tapón de lodo o una chimenea, y las partes inferiores de las galerías generalmente se agrandan en una cámara terminal. El adulto de cangrejo rojo americano puede sobrevivir en las madrigueras hasta un año sin ningún alimento debido a su reducción del metabolismo, siempre y cuando todavía haya algo de agua. Cuando la excavación es muy intensa, las galerías ocasionan enormes daños en las infraestructuras de los campos de arroz provocando el colapso de los diques.



Información social en la toma de decisiones por los animales

Deseada Parejo^{1,2}

¹ Departamento de Anatomía, Biología Celular y Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad de Extremadura, Avenida de Elvas, s/n, 06006, Badajoz, España.

² Departamento de Ecología Funcional y Evolutiva, EEZA–CSIC, Carretera de Sacramento s/n, 04120, La Cañada de San Urbano, Almería, España

Resumen

En su toma de decisiones los animales usan frecuentemente información social, que es aquella información extraída de la observación de la interacción de otros individuos con el ambiente. Se ha mostrado que el uso de esta información social es un método rápido y eficaz para evaluar recursos y amenazas y que está ampliamente extendido en el reino animal. Además, su uso tiene diversas implicaciones ecológicas y evolutivas. En esta revisión se muestra cómo la línea de investigación de la autora se ha centrado poco a poco en el estudio del uso de información social en la toma de decisiones por los animales. Se describen las aportaciones más relevantes hechas en este campo de forma cronológica, mostrándose las diversas aproximaciones usadas en los distintos estudios hechos tanto a nivel intra– como inter–específicamente. Todo esto pone de manifiesto la importancia de entender el comportamiento animal a la hora de profundizar en cuestiones clásicas ecológicas como el estudio de las interacciones o el de la dinámica poblacional y de las comunidades. También se muestra que es en este campo, en la interfase entre comportamiento y ecología, donde queda más por hacer en el estudio de la información social.

Los animales a lo largo de su vida continuamente deben tomar decisiones que tienen una enorme influencia sobre su eficacia biológica. Estas decisiones implican decidir, por ejemplo, dónde y qué comer o dónde y con quién reproducirse, y todas ellas deben basarse en información. Por tanto, la información que cada individuo use en su toma de decisiones es crucial determinando su eficacia biológica (Owen et al., 2017), de forma que cuanto mejor informado está un individuo mejor puede ajustar su comportamiento para hacer frente a los desafíos de un mundo cambiante (Dall et al., 2005).

La información que necesitan los animales para llevar a cabo cualquier decisión deben captarla del medio en el que viven porque no es posible heredar genéticamente información útil sobre el medio a no ser que este sea absolutamente estable, y, además, debe ser actualizada continuamente pues el medio cambia espacial y temporalmente. Los individuos pueden obtener información directamente usando técnicas de ensayo y error al interactuar con su ambiente, lo que se llama información personal, o bien a partir de la observación de la interacción de otros individuos con el ambiente, es decir, obteniendo in-

formación social (Danchin et al., 2004) (**Figura 1**). Así, por ejemplo, un oso que quiere pescar salmones y debe elegir dónde hacerlo, puede evaluar directamente la cantidad de salmones que hay en un tramo de río y obtener información personal, u observar el éxito de caza de otros osos, o incluso de otras especies como las águilas pescadoras en ese tramo del río. A este último tipo de información se le denomina información social y su uso se asume que proporciona un método rápido y eficaz para evaluar recursos y amenazas. Además, es menos costoso que la obtención de información personal, dado que interactuar directamente con el medio conlleva tiempo y podría exponer a los animales a riesgos (Laland, 2004; Morand-Ferron et al., 2019). Así, parece menos costoso y peligroso evaluar el riesgo de depredación en un parche mediante la observación de las llamadas de alarma de congéneres u otras especies amenazadas por los mismos depredadores que evaluar de forma directa dicho riesgo mientras se pone en peligro la vida. Por otro lado, la información social en muchas ocasiones es más integradora que la información personal ya que es capaz de reflejar los efectos de múltiples factores, evitando por tanto los costes de evaluar cada factor de manera independiente (Danchin et al., 1998; Morand-Ferron et al., 2019) (**Figura 1**). Por ejemplo, el éxito reproductor de una serie de individuos viviendo en un parche es una pista integradora de la calidad de hábitat que informa sobre la disponibilidad trófica, la disponibilidad de sitios de cría, la presión de depredación y parasitismo, etc. Por ello, parece menos costoso recolectar información a partir de esta pista que hacerlo evaluando de forma independiente cada uno de estos factores. Por otra parte, la información social puede ser producida de

forma intencionada o no intencionada (**Figura 1**). En el primero de los casos la información se obtiene de rasgos que han sido específicamente diseñados por la selección natural para transmitir información, es decir, a partir de señales que son aquellos rasgos implicados en la comunicación (Danchin et al., 2004) (**Figura 1**). Un ejemplo clásico son las llamadas de alarma de las aves que son vocalizaciones producidas por individuos en peligro para avisar a familiares, entre otros, del riesgo de depredación. Estas señales además pueden informar de forma no intencionada sobre el riesgo de depredación local a congéneres no emparentados o individuos de otras especies que compartan depredadores, quienes se aprovecharían del intercambio de información entre familiares. Alternativamente, la información social puede también ser producida de forma no intencionada cuando se extrae de hechos que los organismos no pueden evitar mostrar y pueden ser detectados y usados por otros organismos para mejorar su toma de decisiones (Danchin et al., 2004) (**Figura 1**). Así, por ejemplo, el éxito reproductor no puede ocultarse y esta pista puede informar a los congéneres sobre la calidad de hábitat local en términos de alimento, sitios de nidificación y riesgo de depredación y parasitismo (Danchin and Wagner, 1997). En cualquiera de los casos, tanto si se produce de forma intencionada o no, la información social revela el resultado de las actividades y/o decisiones de otros individuos en un ambiente determinado y, por tanto, proporciona una estima de la calidad ambiental. Estas y otras ventajas hacen que el uso de información social sea un mecanismo común y eficaz para mejorar la evaluación de la calidad de los recursos (Seppänen et al., 2007; Schmidt et al., 2010) que está ampliamente extendido en el reino ani-

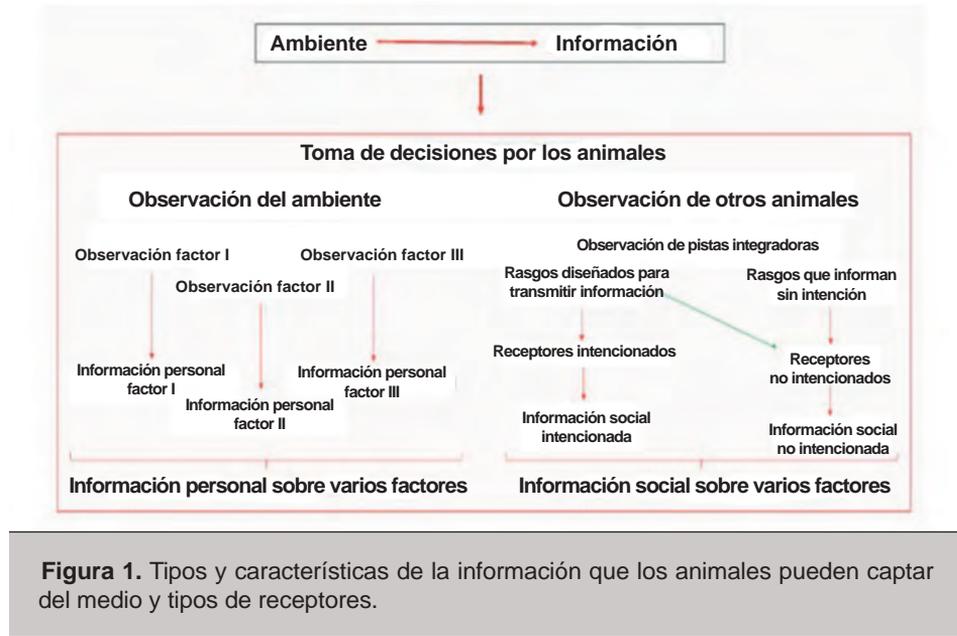


Figura 1. Tipos y características de la información que los animales pueden captar del medio y tipos de receptores.

mal en contextos tan diversos como la elección de pareja, la selección de hábitat de reproducción, la selección de parches de alimentación y la evitación de la depredación (Danchin et al., 2004; Blanchet et al., 2010; Schmidt et al., 2010). Por ello, las implicaciones ecológicas del uso de información social por los animales en sus decisiones vitales son diversas y profundas. Así, puede afectar a la ecología poblacional favoreciendo, por ejemplo, las agregaciones de individuos (Danchin and Wagner, 1997), también proporciona un mecanismo que explica la ausencia de efectos denso-dependientes (Blanchet et al., 2010) y podría ayudar a entender la coexistencia de especies competidoras (Parejo and Avilés, 2016) y, por tanto, la biodiversidad. Tiene también consecuencias a nivel evolutivo, por ejemplo en la evolución de pistas y señales (Danchin et al., 2004) y puede afectar al solapamiento de nicho entre especies (Parejo and Avilés, 2016).

La colonialidad en aves como punto de partida

Mi primer contacto con la información social fue durante el desarrollo de mi tesis doctoral. Estudiando la biología reproductora de 3 especies de garzas que se reproducían en colonias mixtas me interesé por los factores que podían determinar la colonialidad en aves. Quería indagar en las razones que llevaban a individuos competidores a agruparse en un espacio reducido en el que tenían que luchar por el espacio y los recursos alimenticios y donde la probabilidad de transmisión de enfermedades y parásitos era alta. Casi al final de la escritura de mi tesis doctoral llegó a mis manos un artículo que fue determinante en mi búsqueda de respuestas en este campo. Este artículo, publicado en TREE (Danchin and Wagner, 1997), proponía nuevas hipótesis para explicar la evolución de la colonialidad. En él se enfrentaban las

hipótesis clásicas (ventajas en la obtención del alimento, ventajas al reducir la depredación o la combinación de los dos tipos de ventaja) a una nueva hipótesis que proponía que los animales para elegir sus sitios de reproducción evaluaban una serie de factores ecológicos fijándose en la distribución de congéneres exitosos y compañeros potenciales, lo cual conduciría a la agregación de individuos en determinados sitios. En otras palabras, proponían que las colonias de reproducción pueden ser simplemente el subproducto de la elección de comodidades, como son hábitat o compañeros idóneos (pero también otros como seguridad, salud, fertilidad y sitios de nidificación) por parte de muchos individuos. En un trabajo posterior, algunos de los autores de este trabajo ya propusieron que una de las pistas integradoras que podría mostrar todas las comodidades requeridas por los individuos para reproducirse (disponibilidad de alimento, sitios de reproducción, densidad de depredadores y parásitos,...) podría ser el éxito reproductor de los congéneres, pues al ser un componente del fitness integra el efecto de muchos de los factores que lo determinan (Danchin et al., 1998).

Estos trabajos me hicieron tener una visión diferente de los datos sobre colonias de ardeidos que yo tenía tomados, y me permitieron reevaluar mis resultados desde la perspectiva de estas hipótesis que ahí proponían: la hipótesis de la selección de las comodidades, por un lado, y la hipótesis de la atracción a con-específicos basada en el éxito, por el otro. Ambas hipótesis se basaban en el uso de información pública, entendida ésta como la información obtenida de observar el comportamiento de otros individuos una vez que han evaluado los recursos disponibles (Valone and Templeton, 2002), para evaluar la calidad de

los hábitats de reproducción. Esta idea, que comenzó siendo propuesta y evaluada en un contexto de selección de hábitat de reproducción principalmente con aves coloniales (Schjorring et al., 1999; Brown et al., 2000; Frederiksen and Bregnballe 2001), pronto fue también testada en aves territoriales (Doligez et al., 1999; Doligez et al., 2002).

Mi aportación al conocimiento del uso de información social por los animales

Aprendiendo sobre información social

En este marco, una vez defendida mi tesis doctoral, contacté con Etienne Danchin, en aquel momento investigador del CNRS en el departamento de Ecología de la Universidad de Paris. A Etienne, que fue uno de los promotores de estas ideas en un contexto de selección de hábitat de reproducción, le propuse solicitar financiación para poder formarme con él. La financiación llegó en forma de un contrato postdoctoral de la UE y comencé a trabajar con este investigador en un macroproyecto que pretendía poner de manifiesto la importancia de la información pública en un ave pequeña, el herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*). El herrerillo es una especie para la que se esperaba que la información pública no fuera relevante por ser territorial, sedentaria y de pequeño tamaño. Uno de los objetivos principales del proyecto era comprobar si el éxito reproductor local de los congéneres en una temporada podría determinar la selección de hábitat de reproducción al año siguiente. En unas 500 ha de bosque donde teníamos instaladas 759 cajas nido para páridos distribuidas en distintos parches, realizamos un experimento que consistió en la manipulación del éxito reproductor global

al alza o a la baja a escala de parches. De acuerdo con la hipótesis del uso de información pública en la elección del parche reproductivo, encontramos que al año siguiente los individuos prefirieron los sitios en los que los congéneres parecían haber tenido mayor éxito el año precedente (Parejo et al., 2007a).

Durante este periodo, también me interesé por los factores que afectaban al valor de la información pública, investigando esto en sistemas diferentes. Así, por ejemplo, estudiamos el efecto de la edad en la propensión a usar información pública en el herrerillo (Parejo et al., 2007b). Encontramos que, para seleccionar los sitios en los que reproducirse, los juveniles sólo se fijaban en la densidad local de congéneres en el año que iban a reproducirse, mientras que los adultos usaban el éxito local de congéneres en el año previo. Esto parece apuntar a la existencia de una limitación temporal en los juveniles para captar este tipo de información. Por otro lado, colaborando con Daniel Oro, del IMEDEA (CSIC-UIB) mostramos algunas evidencias que indicaban que la información pública era poco útil en especies que viven en ambientes inestables como la gaviota de Audouin (*Larus audouinii*), pues el éxito local de los congéneres un año no puede predecir el éxito al año siguiente (Parejo et al., 2006).

En todo este tiempo se publicaron revisiones que desarrollaron las bases teóricas del uso de información pública y ampliaron las miras proponiendo el término de información social, que incluiría toda aquella información que procede de la interacción de otros con el ambiente (Danchin et al., 2004), y que es susceptible de ser usada en la toma de decisiones por los animales. La información social incluye tanto la proporcionada por pistas que revelan el éxito o la presencia de otros individuos (información social

no intencionada), como aquella que se origina a través de las señales que han sido diseñadas por la selección natural para proporcionar información (información social intencionada) (Danchin et al., 2004) (**Figura 1**).

A pesar de todos estos avances en el estudio del uso e importancia de la información social en la toma de decisiones por los animales, yo seguía intrigada por las agrupaciones multiespecíficas de individuos y por la coincidencia en tiempo y espacio de especies competidores. Así que, a la vez que desarrollaba mi trabajo en el equipo del Dr. Danchin, empecé a darle vueltas a una idea central en mi investigación, que es el hecho de que la información pública sobre el éxito de una especie pudiera determinar también el comportamiento de individuos de otras especies, siempre que las especies implicadas compartieran requerimientos o amenazas. Esta idea se basa en el hecho de que cuanto mayor es el solapamiento de nicho entre los individuos mayor es la competencia pero también mayor es el valor de la información que ellos proporcionan sobre los recursos compartidos (Parejo et al., 2005). La idea de que los individuos de una especie pudieran influir en la selección de hábitat de reproducción de otras especies no era nueva (Cody, 1985), pero la mayor parte de los estudios sobre el tema se centraban en la evitación de los heteroespecíficos mediante competencia interespecífica (Gustafsson, 1987; Martin and Martin, 2001b, 2001a) y menos frecuentemente en la atracción hacia los heteroespecíficos (Monkkönen et al., 1990; Forsman et al., 1998; Whiting and Greef, 1999; Forsman et al., 2002). De hecho, había evidencias fuertes de atracción de algunas especies por otras, incluso entre especies competidoras. Este es el caso de los papamoscas collarinos

(*Ficedula albicollis*) que eran atraídos hacia zonas donde criaban distintas especies de páridos y, al instalarse en ellas, mejoraban su fitness (Forsman et al., 2002). Por otro lado, también había evidencias recientes que mostraban el uso de información social procedente del éxito de individuos de otras especies en un contexto de búsqueda de alimento (Coolen et al., 2003). Todo ello me llevó a proponer que la información social procedente del éxito de individuos de una especie también podría ser usada por individuos de especies competidoras para evaluar los hábitats de reproducción y, por tanto, modificar su comportamiento. Hice un primer test de esta idea usando como modelo de estudio dos especies de aves, carracas (*Coracias garrulus*) y cernícalos vulgares (*Falco tinnunculus*), que compartían sitios de reproducción y alimento en la zona de estudio. Con datos previamente recogidos en Extremadura y en colaboración con Jesús M. Avilés, de la EEZA (CSIC), encontramos algunos resultados que parecían indicar que la información sobre el éxito reproductor de los individuos de una especie (**Figura 2**) podría ser usada por individuos de otra especie para evaluar la calidad de los hábitats de reproducción (Parejo et al., 2005). El primer test experimental de esta idea lo llevamos a cabo usando los datos obtenidos del experimento que previamente habíamos llevado a cabo en el bosque francés manipulando del éxito reproductor de los herrerillos (Parejo et al., 2008a). Aprovechamos que en el bosque también se reproducían carboneros (*Parus major*) en las mismas cajas nido, y estudiamos si el éxito reproductor manipulado de los herrerillos un año era la pista usada por los carboneros para evaluar el hábitat de reproducción al año siguiente y decidir en consecuen-

cia. No encontramos ninguna evidencia que mostrara que los carboneros usaban el éxito reproductor de la otra especie en este contexto. Sin embargo, sus decisiones de dispersión sí se relacionaron con la densidad tanto de congéneres como de heteroespecíficos. La densidad poblacional de las distintas especies es también información social y, al estar íntimamente relacionada en la naturaleza con el éxito reproductor, podría tener un efecto confuso sobre los individuos que podrían evaluar sólo una de las dos pistas (Parejo et al., 2008a).

Durante mi periodo postdoctoral comencé también a trabajar con una especie de insecto, la mosca del vinagre (*Drosophila melanogaster*) en colaboración con Etienne Danchin y Agnes Lefranc, que era la persona que dirigía la línea de investigación sobre la especie. Interesados en profundizar en los factores endógenos que afectaban al uso de información social en los animales, me dediqué a producir líneas de moscas que diferían en rasgos de calidad fenotípica, visualmente distinguibles, para posteriormente usarlos en experimentos de uso de información social en distintos contextos. Una vez conseguidas estas líneas de moscas, nos pusimos en contacto con Frederic Mery, del CNRS en Francia, que lideraba un grupo de investigación sobre el estudio de la memoria en *Drosophila* y le propusimos llevar a cabo una batería de experimentos para comprobar si las hembras podían evaluar la calidad de los machos observando el éxito de emparejamiento de estos. Para aceptar esta hipótesis las hembras deberían preferir a los machos que hubieran sido capaces de conseguir una pareja frente a los solteros. Mostramos por primera vez que esta estrategia, que ya había sido descrita en otros taxones (e.g. Nor-



Figura 2. Pollos de cernícalo vulgar justo antes de volar. El número medio de pollos producidos por nido en una zona constituye información social para congéneres y heteroespecíficos, pudiendo indicar de forma fiable la calidad de hábitat local.

dell and Valone, 1998; Witte and Nolte-meier, 2002), también podía funcionar en un invertebrado pues vimos que las hembras copiaban la elección de otras, incluso cuando había inconsistencia entre la información personal y la social. En un primer experimento, las hembras pasaron de preferir a los machos de buena calidad a preferir por igual a los machos de buena y mala calidad después de haber visto a los machos de mala calidad copulando con otras hembras (**Figura 3**). Esto incluso ocurría cuando los machos ofrecidos a las hembras tenían distinto fenotipo no relacionados con la calidad, y simplemente eran diferentes porque estaban pintados de dos colores diferentes. Así, en

un segundo experimento a cada hembra prospectora le dejábamos observar un macho de uno de estos colores en compañía de una hembra receptiva y al macho del color alternativo después con una no receptiva. Después dejábamos elegir a la hembra prospectora entre dos machos, uno de cada color. El resultado que obtuvimos es que cuando la hembra prospectora no ve qué macho tiene éxito de emparejamiento elige por igual a todos, pero que cuando lo ve prefiere a los machos del color de los que tuvieron éxito de emparejamiento independientemente del color. Esto indica que se da copia de elección de pareja incluso cuando el rasgo fenotípico usado como información no indica

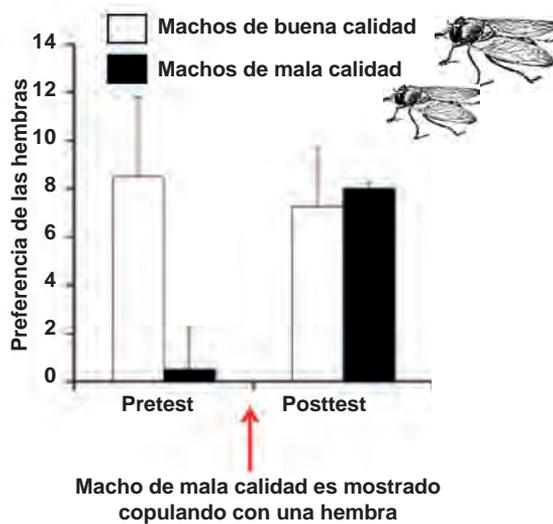


Figura 3. Modificada de Mery et al. 2009. Porcentaje medio del tiempo pasado por cada hembra prospectora cerca de los machos de buena y mala calidad antes (pretest) y después (posttest) de mostrar a una hembra modelo copulando con un macho de mala calidad.

calidad (Mery et al., 2009).

Profundizando en el estudio de la información social

Durante la redacción de estos manuscritos yo ya estaba de vuelta en España intentando hacerme un hueco en el sistema español. Al llegar continué trabajando en Extremadura con carracas y cernícalos, aunque en una zona de estudio diferente a donde habíamos obtenido los datos con los que habíamos testado en primer lugar la idea del uso de información social basada en el éxito reproductor de los heteroespecíficos. Allí, en colaboración con Nadia Silva (mi estudiante de tesis desde 2005 hasta 2008), usando una aproximación experimental, comprobamos en primer lugar que el cernícalo vulgar usaba información social proporcionada por el éxito de los congéneres

para elegir sus sitios de reproducción, y después aportamos la primera evidencia correlativa en este contexto del uso de la coloración del plumaje de los congéneres como otra fuente de información social. En concreto, nuestros resultados mostraron que los cernícalos usan el éxito de reproducción de los congéneres en sus decisiones de emigración y que podrían fijarse en la coloración del plumaje de las hembras como señal de calidad de las hembras residentes para las decisiones tanto de emigración como de inmigración. Por tanto, parece que esta especie puede usar ambas fuentes de información, el éxito de los congéneres y las señales que indican calidad, en su elección de hábitat (Parejo et al., 2017).

En paralelo a la toma de datos con cernícalos y carracas, colaboré con el grupo de Juan Soler de la EEZA (CSIC), que estaban estudiando la

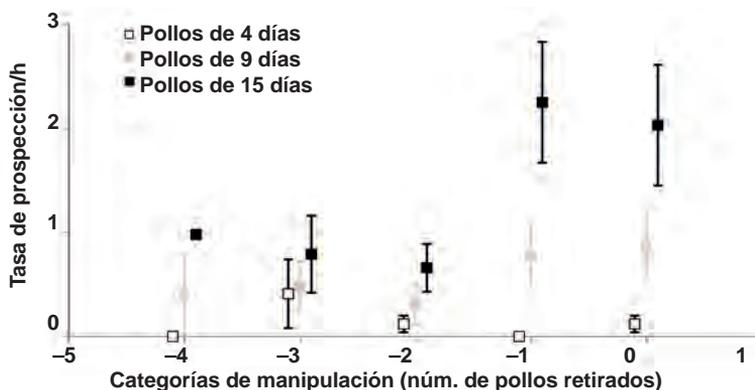


Figura 4. Modificada de Parejo et al. (2008b). Tasa de visitas de prospectores/h (media \pm error estándar) en cada momento de estancia de los pollos en el nido en nidos de estorninos de nidadas control o experimentalmente reducidas. La manipulación experimental consistió en retirar 0, 1, 2, 3 y 4 pollos recién nacidos.

reproducción de estorninos negros (*Sturnus unicolor*) en cajas nido en la provincia de Granada. Estudiamos los mecanismos comportamentales de captación de la información social en la especie. En el grupo habían observado que en esta especie muchos individuos visitaban las cajas nido ya ocupadas, y que los visitantes eran ajenos a la pareja reproductora. Hicimos un experimento para investigar el papel de estas visitas manipulando el tamaño de nidada en distintos nidos y observando el número de visitas por extraños a los mismos en tres momentos diferentes del periodo de estancia de los pollos en nido. Encontramos que la tasa de visitas era mayor al final del periodo de estancia de los pollos en nido que es cuando la información que se puede obtener es más fiable y predictiva y en los nidos con mayor éxito reproductor (**Figura 4**), lo que confirma que los individuos prospectan para recolectar información sobre el éxito reproductor (Parejo et al., 2008b).

Independientemente de todos estos trabajos a nivel intraespecífico, yo seguía planteándome cuestiones sobre el uso de información social a nivel interespecífico. Así que, por un lado, extendí la idea que proponía que la información social extraída del éxito de individuos de otras especies que comparten necesidades y amenazas pueden también ser utilizadas como una fuente de información social a un caso particular de selección de hábitat de reproducción que es la selección de hospedadores por parásitos de cría aviares (Parejo and Avilés, 2007). Los parásitos ponen sus huevos en los nidos de los hospedadores y, por tanto, parásitos y hospedadores comparten nido. Por ello, la selección de hospedador es la selección de hábitat de reproducción por parte de los parásitos. En este sistema propusimos que los parásitos podrían elegir los mejores nidos a los que parasitar fijándose en los caracteres sexuales secundarios de los hospedadores que son los que indicarían la calidad de sus portadores y, por tanto, las

posibilidades de éxito para los parásitos (Parejo and Avilés, 2007).

Encontramos unos pocos estudios con resultados que apoyaban esta hipótesis pues mostraban relaciones entre la expresión de rasgos de los hospedadores que previsiblemente funcionaban como señales sexuales y la tasa de parasitismo (Soler et al., 1995; Moskat and Honza, 2000; McLaren and Sealy, 2003). Por nuestro lado testamos esta idea en colaboración con el grupo de Csaba Moskát, de la Hungarian Academy of Sciences en Hungría, en el sistema de hospedador–parásito carricero–cuco. Miramos primero si el canto de los machos y el tamaño del nido de los carriceros tordales (*Acrocephalus arundinaceus*) revelaba información sobre sus habilidades parentales y de defensa contra los cucos (*Cuculus canorus*). Además, analizamos si las preferencias de las hembras de cuco por los nidos de hospedador se asociaban al grado de expresión del canto y al tamaño del nido de los carriceros. Encontramos que el volumen de los nidos predice la calidad parental y se relaciona con la tasa de canto de los machos. Sin embargo, los cucos no eligieron los nidos de hospedador en base a estas variables, lo cual puede explicarse si se tiene en cuenta que el volumen de los nidos, además de la calidad parental, también predice la habilidad discriminatoria contra el parasitismo, es decir el rechazo (Avilés et al., 2009). Posteriormente se han aportado más evidencias de parásitos de cría aviáres usando rasgos sexuales de sus hospedadores como el volumen de sus nidos para elegir los mejores nidos de parásitos (e.g. Soler et al., 2014).

Por otro lado, en colaboración con Jesús Avilés, empecé a seguir una comunidad de aves cavernícolas de mediano tamaño que se reproducían en cajas nidos situadas en los alrededores

del parque natural de la Sierra de Baza. Esta comunidad suponía una oportunidad única para trabajar con información social a nivel interespecífico dado que incluye especies que comparten sitios de reproducción, presas y depredadores como mochuelos (*Athene noctua*), autillos (*Otus scops*) y carracas y que, además, una de estas especies emite llamadas de alarma cuando detectan un depredador. Estas llamadas de alarma tienen como objeto alertar a los congéneres, normalmente a los familiares, del riesgo potencial de depredación (Weary and Kramer, 1995), reclutar vecinos para hacer defensa comunal (Curio et al., 1978), o avisar al depredador de que ha sido detectado (Hasson, 1991); bien para confundirlo o para mostrarle que la presa está preparada para escapar. Además, como se ha señalado previamente, las señales de alarma pueden proporcionar información sobre el riesgo de depredación local a receptores no intencionados, tales como congéneres no familiares y muchos individuos de otras especies que comparten depredadores con los emisores de las señales. Por tanto, estas señales de alarma constituyen una fuente de información social valiosa. En el año 2010, antes del inicio de la reproducción, llevamos a cabo un experimento manipulando a escala de parcela la información social sobre el riesgo de depredación proporcionada por las llamadas de alarma de los mochuelos. Hicimos tres tratamientos experimentales, uno de riesgo de depredación simulado por llamadas de alarma de mochuelo, otro de no riesgo de depredación simulado mediante llamadas de contacto de mochuelo, y un último tratamiento de control en el que no poníamos cantos. Vimos que los autillos evitaban instalarse en los sitios donde el mochuelo señaliza un alto riesgo de depredación

mediante sus llamadas de alarma. Prefirieron nidificar en zonas en las que, o bien no hay llamadas de mochuelo, o bien son llamadas de contacto y por tanto no señalizan riesgo. Es decir, los autillos usaban la información social en relación al riesgo de depredación proporcionada por otra especie para sus decisiones de selección de hábitat de reproducción (Parejo et al., 2012). Hasta ese momento había evidencias de que las llamadas de alarma de individuos de una especie podían modular el comportamiento antidepredador de otras especies (Templeton and Greene, 2007; Fallow and Magrath, 2010), pero no se conocía el papel de las llamadas de alarma de individuos de una especie sobre la toma de decisiones a la hora de elegir hábitats de reproducción de individuos de otras especies y, por tanto, sobre la organización y estructura de las comunidades.

Por otro lado, la importancia de estas señales de alarma como información social puede variar para distintas especies dentro de una comunidad, de modo que la información social sobre la presencia de depredadores en una comunidad puede afectar a miembros de distintos niveles tróficos y hacerlo de manera diferente sobre ellos, por ejemplo, a través de los efectos cascada. Así, las llamadas de alarma emitidas por una especie pueden modificar el comportamiento antidepredatorio de individuos de su misma especie y de todos aquellos individuos con las que la especie emisora comparte depredadores. Pero las llamadas de alarma de una especie también pueden afectar a sus especies presa pues el cambio inducido en el comportamiento de los congéneres y de individuos de otras especies del mismo nivel trófico puede afectar indirectamente a las presas a través de los efectos cascada. Tenemos algunos

resultados que muestran que esto es así en la comunidad de aves cavernícolas descrita previamente, y en la que también se incluyen otras especies de aves que son presas de mochuelos y autillos (**Figura 5**). En este sistema, estudiamos cómo la información social sobre el riesgo de depredación por depredadores superiores afectaba a los mesodepredadores (mochuelos y autillos), y también a las presas dentro de una cadena trófica. Realizamos un experimento en parches, similar al anteriormente descrito, y cuantificamos las consecuencias para todas las especies de aves que se reproducen en el sistema, tanto mesodepredadores como presas. Encontramos que los mesodepredadores se instalan donde hay información social, independientemente de lo que esta transmita. Sin embargo, las especies presa del mochuelo, que es la especie informadora, prefieren instalarse donde los mochuelos indican alto riesgo de depredación, probablemente porque esto significa estrés para los mochuelos (Parejo et al., 2018). Esto confirma que la información social puede ser interpretada de forma diferente en función de la especie que la reciba en este caso a través de efectos indirectos que se generan sobre los niveles basales de las cadenas tróficas.

Todos estos resultados a nivel interespecífico pueden tener enormes implicaciones en la estructura de las comunidades naturales y en la coexistencia de especies pues muestran cómo la información social puede determinar la organización de las comunidades a través de los cambios inducidos en el comportamiento de los individuos. La coexistencia de especies competidoras, que ocurre siempre que dos o más especies que comparten recursos comparten también espacio y tiempo, sigue siendo un enigma a resolver importante

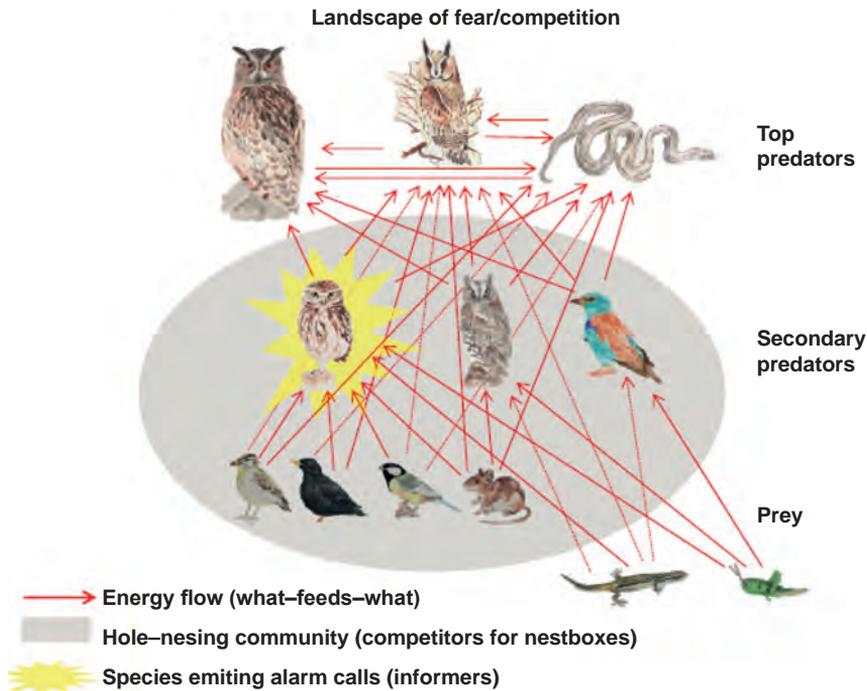


Figura 5. Extraída de Parejo et al. (2018). Simplificación de la red trófica en la que estudiamos la comunidad de aves cavernícolas. El mochuelo, que es la especie que emite llamadas de alarma, está marcado en amarillo. Las carracas, los mochuelos y autillos compiten por las cavidades para reproducirse y comparten depredadores potenciales como los búhos más grandes. Carboneros (*Parus major*), estorninos y gorriones chillones (*Petronia petronia*) también compiten por las cavidades con carracas, mochuelos y autillos y son presas comunes de las dos especies últimas. Las flechas de distinta anchura indican la importancia de cada especie en la dieta de los depredadores. Las ilustraciones fueron hechas por Mónica Expósito.

para los ecólogos (Clark et al., 2007). La paradoja viene de que, por un lado, el principio de exclusión competitiva establece que las especies limitadas por los mismos factores no pueden compartir espacio y tiempo (Gause, 1934). Por otro lado, cuestionando este paradigma, los estudios empíricos frecuentemente muestran la coexistencia de competidores en comunidades naturales. Para resolver este enigma se han propuesto varias soluciones (Wilson, 1990; Holt, 2001; Sommer and Worm, 2002), pero

todas ellas han dado una importancia capital a los efectos negativos de las interacciones, olvidando los posibles aspectos positivos de las mismas. No obstante, recientemente hay una demanda general para incluir las interacciones positivas cuando se estudie la estructura de las comunidades, principalmente en plantas (Bertness and Callaway, 1994; Stachowicz, 2001; Bruno et al., 2003; Crowley and Cox, 2011; McIntire and Fajardo, 2014). Uno de los mecanismos positivos que podría determinar decisio-

nes en los animales que hicieran posible la coexistencia entre competidores podría ser el uso de información social procedente de heteroespecíficos (Parejo and Avilés, 2016). La cuestión es si el uso de información social es uno de los mecanismos potenciales por los que las especies que comparten factores limitantes pueden cambiar su comportamiento y aumentar su tolerancia hacia las otras especies. La base de esto es que sólo los competidores pueden proporcionar información sobre factores limitantes compartidos y que cuanto más sea el solapamiento de nicho entre los individuos mayor es la competencia, pero también mayor es el valor de la información que ellos proporcionan (Parejo et al., 2005). Así, por ejemplo, Eckardt and Zuberbuhler (2004) estudiando dos especies de monos, el mono diana (*Cercopithecus diana*) y el mono de nariz blanca (*Cercopithecus nictitans*), vieron que, aunque mostraban una competencia intensa por el alimento, coexistían y formaban asociaciones multiespecíficas semi-permanentes. No obstante, en estas asociaciones siempre había mayor número de individuos del competidor más fuerte, el mono diana, mientras que el mono de nariz blanca estaba en densidades muy bajas. En base a observaciones hechas en el campo y a una serie de experimentos se confirmó que los monos de nariz blanca tenían un papel vital en la defensa contra el principal depredador de las dos especies de monos, el águila coronada, pues eran muy eficaces detectándolas y emitiendo llamadas de alarma. Esto sugiere que los monos de nariz blanca obtienen acceso a los árboles con alimento gracias a las ventajas antidepredadoras en forma de información social que reportan a los monos diana, de forma que estos últimos toleran la presencia de los monos de nariz blanca (subordinados) sólo para

parasitar su sistema defensivo contra el águila coronada.

Los ecólogos, por tanto, podrían mejorar su comprensión de la estructura de las comunidades de competidores si consideran la naturaleza recíproca de las interacciones debido a que los competidores comparten factores limitantes. Tanto la disponibilidad y el valor de la información social como la intensidad de la competencia es probable que se vean afectados por factores como el nivel de solapamiento de recursos entre los competidores, la simetría de la información social, la densidad de competidores, el tipo de factor limitante sobre el que la información social comunica y las condiciones ambientales. La dinámica propuesta tiene consecuencias ecológicas evidentes porque el uso de información social podría estar teniendo un papel importante estructurando las comunidades animales a través de la compensación de la competencia. Además en tiempo evolutivo, el uso de información en comunidades de competidores podría promover el solapamiento de nicho, al menos bajo condiciones ambientales favorables (Parejo and Avilés, 2016).

De forma general, es pues evidente que el marco conceptual basado en el estudio del uso de información social por los animales puede proporcionar una comprensión más integral de cómo se comportan los animales en sus entornos sociales (Bonnie and Earley, 2007). Así, la información social proporciona un mecanismo común a través del cual los comportamientos de muchos individuos llegan a estar correlacionados en el espacio y en el tiempo. Por tanto, la información social, y su uso por con- y hetero-específicos afectaría a la dinámica y estructura de las poblaciones y de las comunidades.

En conclusión, mi trayectoria estudiando el uso de información social en

los animales subraya la importancia de entender el comportamiento animal para profundizar en cuestiones ecológicas clásicas como el estudio de las interacciones y la dinámica, estructura y funcionamiento de las poblaciones y comunidades. En la interfase entre comportamiento y ecología es, precisamente, donde queda más por hacer en el estudio de la información social puesto que hay actualmente mucho desconocimiento sobre cómo se da la transmisión de información en función de la estructura de las comunidades. La estructura de las comunidades puede determinar la calidad y disponibilidad de información social puesto que el número de interacciones (informativas) inter- e intra-específicas que se establecen y el grado de transmisión de información va a depender de características de las comunidades. Plantearse preguntas sobre procesos ecológicos y evolutivos considerando posibles flujos de información entre los miembros de las comunidades sólo puede conllevar ventajas. Los flujos de información pueden ser determinantes en la toma de decisiones, en la distribución espacial y en la expresión de los rasgos por los animales.

Bibliografía

- Avilés, J. M., Moskat, C., Ban, M., Hargitai, R., Parejo, D., 2009. Common Cuckoos (*Cuculus canorus*) do not rely on indicators of parental abilities when searching for host nests: the importance of host defenses. *Auk*, **126**: 431–438.
- Bertness, M. D., Callaway, R., 1994. Positive Interactions in Communities. *Trends in Ecology & Evolution*, **9**: 191–193.
- Blanchet, S., Clobert, J., Danchin, E., 2010. The role of public information in ecology and conservation: an emphasis on inadvertent social information. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1195**: 149–168.
- Bonnie, K. E., Earley, R. L., 2007. Expanding the scope for social information use. *Animal Behaviour*, **74**: 171–181.
- Brown, C., Brown, M. B., Danchin, E., 2000. Breeding habitat selection in cliff swallows: the effect of conspecific reproductive success on colony choice. *Journal of Animal Ecology*, **69**: 133–142.
- Bruno, J. F., Stachowicz, J. J., Bertness, M. D., 2003. Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**: 119–125.
- Clark, J. S., Dietze, M., Chakraborty, S., Agarwal, P. K., Ibanez, I., LaDeau, S., Wolosin, M., 2007. Resolving the biodiversity paradox. *Ecology Letters*, **10**: 647–659.
- Cody, M., 1985. *Habitat selection in birds*. Academic Press, New York.
- Coolen, I., Bergen, Y. V., Day, R. L., Laland, K. N., 2003. Species difference in adaptive use of public information in sticklebacks. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **270**: 2413.
- Crowley, P. H., Cox, J. J., 2011. Intraguild mutualism. *Trends in Ecology & Evolution*, **26**: 627–633.
- Curio, E., Ernst, U., Vieth, W., 1978. Cultural Transmission of Enemy Recognition – One Function of Mobbing. *Science*, **202**: 899–901.
- Dall, S. R. X., Giraldeau, L. A., Olsson, O., McNamara, J. M., Stephens, D. W., 2005. Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, **20**: 187–193.
- Danchin, E., Boulinier, T., Massot, M., 1998. Conspecific reproductive success and breeding habitat selection: implications for the study of coloniality. *Ecology*, **79**: 2415–2428.
- Danchin, E., Giraldeau, L. A., Valone, T. J., Wagner, R. H., 2004. Public information: from nosy neighbors to cultural evolution. *Science*, **305**: 487–491.
- Danchin, E., Wagner, R., 1997. The evolution of coloniality: the emergence of new perspectives. *Tree*, **12**: 342–347.
- Doligez, B., Danchin, E., Clobert, J., 2002. Public information and breeding habitat selection in a wild bird population. *Science*, **297**: 1168–1170.
- Doligez, B., Danchin, E., Clobert, J., Gusta-

- fsson, L. 1999. The use of conspecific reproductive success for breeding habitat selection in a non-colonial, hole-nesting species, the collared flycatcher. *Journal of Animal Ecology*, **68**: 1193–1206.
- Eckardt, W., Zuberbuhler, K., 2004. Cooperation and competition in two forest monkeys. *Behavioral Ecology*, **15**: 400–411.
- Fallow, P. M., Magrath, R. D., 2010. Eavesdropping on other species: mutual interspecific understanding of urgency information in avian alarm calls. *Animal Behaviour*, **79**: 411–417.
- Forsman, J. T., Monkkönen, M., Helle, P., Inkeroinen, J., 1998. Heterospecific attraction and food resources in migrants' breeding patch selection in northern boreal forest. *Oecologia*, **115**: 278–286.
- Forsman, J. T., Seppanen, J. T., Monkkönen, M., 2002. Positive fitness consequences of interspecific interaction with a potential competitor. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **269**: 1619–1623.
- Frederiksen, M., Bregnballe, T., 2001. Conspecific reproductive success affects age of recruitment in a great cormorant, *Phalacrocorax carbo sinensis*, colony. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **268**: 1519–1526.
- Gause, G. F., 1934. *The struggle for existence*, Baltimore.
- Gustafsson, L., 1987. Interspecific Competition Lowers Fitness in Collared Flycatchers *Ficedula-Albicollis* – An Experimental Demonstration. *Ecology*, **68**: 291–296.
- Hasson, O., 1991. Pursuit-Deterrent Signals-Communication Between Prey and Predator. *Trends in Ecology & Evolution*, **6**: 325–329.
- Holt, R. D., 2001. Species Coexistence. In: *The encyclopedia of biodiversity*: 413–426 (S. Levin, Ed.). Academic Press, New York.
- Laland, K. N., 2004. Social learning strategies. *Learning & Behavior*, **32**: 4–14.
- Martin, P. R., Martin, T. E., 2001a. Behavioral interactions between coexisting species: Song playback experiments with wood warblers. *Ecology*, **82**: 207–218.
- 2001b. Ecological and fitness consequences of species coexistence: A removal experiment with wood warblers. *Ecology*, **82**: 189–206.
- McIntire, E. J., Fajardo, A., 2014. Facilitation as a ubiquitous driver of biodiversity. *New Phytologist*, **201**: 403–416.
- McLaren, C. M., Sealy, S. G., 2003. Factors influencing susceptibility of host nests to brood parasitism. *Ethology Ecology & Evolution*, **15**:343–353.
- Mery, F., Varela, S. A. M., Danchin, E., Blanchet, S., Parejo, D., Coolen, I., Wagner, R. H., 2009. Public Versus Personal Information for Mate Copying in an Invertebrate. *Current Biology*, **19**: 730–734.
- Monkkönen, M., Helle, P., Soppela, K., 1990. Numerical and Behavioral-Responses of Migrant Passerines to Experimental Manipulation of Resident Tits (*Parus* spp.) – Heterospecific Attraction in Northern Breeding Bird Communities. *Oecologia*, **85**: 218–225.
- Morand-Ferron, J., Hermer, E., Jones, T. B., Thompson, M. J., 2019. Environmental variability, the value of information, and learning in winter residents. *Animal Behaviour*, **147**: 137–145.
- Moskat, C., Honza, M., 2000. Effect of nest and nest site characteristics on the risk of cuckoo *Cuculus canorus* parasitism in the great reed warbler *Acrocephalus arundinaceus*. *Ecography*, **23**: 335–341.
- Nordell, S. E., Valone, T. J., 1998. Mate choice copying as public information. *Ecology Letters*, **1**: 74–76.
- Owen, M. A., Swaisgood, R. R., Blumstein, D. T., 2017. Contextual influences on animal decision-making: Significance for behavior-based wildlife conservation and management. *Integrative Zoology*, **12**: 32–48.
- Parejo, D., Avilés, J. M., 2007. Do avian brood parasites eavesdrop on heterospecific sexual signals revealing host quality? A review of the evidence. *Animal Cognition*, **10**: 81–88.
- 2016. Social information use by competitors: resolving the enigma of species coexistence in animals? *Ecosphere*.
- Parejo, D., Avilés, J. M., Expósito-Granados, M., 2018. Receivers matter: the meaning of alarm calls and competition for nest sites in a bird community. *Oecologia*, **187**: 707–717.
- Parejo, D., Aviles, J. M., Rodriguez, J.,

2012. Alarm calls modulate the spatial structure of a breeding owl community. *Proc. R. Soc. Lond. B-Biological Sciences*, **279**: 2135–2141.
- Parejo, D., Danchin, E., Avilés, J. M., 2005. The heterospecific habitat copying hypothesis: can competitors indicate habitat quality? *Behavioral Ecology*, **16**: 96–105.
- Parejo, D., Danchin, E., Silva, N., White, J. F., Dreiss, A. N., Avilés, J. M., 2008a. Do great tits rely on inadvertent social information from blue tits? A habitat selection experiment. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **62**: 1569–1579.
- Parejo, D., Oro, D., Danchin, E., 2006. Testing habitat copying in breeding habitat selection in a species adapted to variable environments. *Ibis*, **148**: 146–154.
- Parejo, D., Pérez-Contreras, T., Navarro, C., Soler, J. J., Avilés, J. M., 2008b. Spotless starlings rely on public information while visiting conspecifics nests: an experiment. *Animal Behaviour*, **75**: 483–488.
- Parejo, D., White, J., Clobert, J., Dreiss, A., Danchin, E., 2007a. Blue tits use fledgling quantity and quality as public information in breeding site choice: an experiment. *Ecology*, **88**: 2373–2382.
- Parejo, D., White, J., Danchin, E., 2007b. Settlement decisions in blue tits: difference in the use of social information according to age and individual success. *Naturwissenschaften*.
- Schjorring, S., Gregersen, J., Bregnballe, T., 1999. Prospecting enhances breeding success of first-time breeders in the great cormorant, *Phalacrocorax carbo sinensis*. *Animal Behaviour*, **57**: 647–654.
- Schmidt, K. A., Dall, S. R. X., van Gils, J. A., 2010. The ecology of information: an overview on the ecological significance of making informed decisions. *Oikos*, **119**: 304–316.
- Seppänen, J. T., Forsman, J. T., Monkkönen, M., Thomson, R. L., 2007. Social information use is a process across time, space, and ecology, reaching heterospecifics. *Ecology*, **88**: 1622–1633.
- Soler, J. J., Aviles, J. M., Martin-Galvez, D., de Neve, L., Soler, M., 2014. Eavesdropping cuckoos: further insights on great spotted cuckoo preference by magpie nests and egg colour. *Oecologia*, **175**: 105–115.
- Soler, J. J., Soler, M., Moller, A. P., Martinez, J. G., 1995. Does the Great Spotted Cuckoo Choose Magpie Hosts According to Their Parenting Ability. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **36**: 201–206.
- Sommer, U., Worm, B., 2002. *Competition and coexistence – Introduction*. Springer-Verlag Berlin, Berlin.
- Stachowicz, J. J., 2001. Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. *Bioscience*, **51**: 235–246.
- Templeton, C. N., Greene, E., 2007. Nuthatches eavesdrop on variations in heterospecific chickadee mobbing alarm calls. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**: 5479–5482.
- Valone, T. J., Templeton, J. J., 2002. Public information for the assessment of quality: a widespread social phenomenon. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **357**: 1549–1557.
- Weary, D. M., Kramer, D. L., 1995. Response of Eastern Chipmunks to Conspecific Alarm Calls. *Animal Behaviour*, **49**: 81–93.
- Whiting, M. J., Greef, J. M., 1999. Use of heterospecific cues by the lizard *Platysaurus broadleyi* for food location. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, **45**: 420–423.
- Wilson, J. B., 1990. Mechanisms of species coexistence: 12 explanations for hutchinson paradox of the plankton. Evidence from New Zealand plant communities. *New Zealand Journal of Ecology*, **13**: 17–42.
- Witte, K., Noltemeier, B., 2002. The role of information in mate-choice copying in female sailfin mollies (*Poecilia latipinna*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **52**: 194–202.

Aplicaciones actuales de la genómica y la bioinformática para el estudio del comportamiento

David Martín–Gálvez

Departamento de Biodiversidad Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España.

E-mail: dmartingalvez@ucm.es

Resumen

El gran avance que en los últimos años ha experimentado la bioinformática y la genómica ha revolucionado la investigación en todos los campos de la biología. Varios aspectos de esta revolución han propiciado que algunas de las aproximaciones utilizadas tradicionalmente en estudios con especies modelos y/o bajo condiciones controladas, puedan aplicarse en individuos de especies silvestres viviendo en su medio natural. Estas nuevas aproximaciones están empezando a dar sus frutos, determinando la base molecular de algunos comportamientos complejos en especies ecológicamente relevantes. En este artículo se describen las principales posibilidades que nos brinda actualmente la bioinformática y la genómica para el estudio del comportamiento. El artículo está principalmente encaminado a iniciar al lector interesado en esta temática al uso de estas aproximaciones, así como a guiarlo entre la multitud de técnicas, de recursos y de software disponibles actualmente.

Palabras clave: Bioinformática, Bases de datos biológicas, Comportamiento, Genómica, GWAS, mapeo QTL, NGS, SNV, RNAseq.

Introducción

Comprender la base molecular del comportamiento animal es en muchas ocasiones importante para determinar la potencialidad del efecto de la selección natural en este tipo de rasgos, y por tanto, su evolución (Grozinger et al., 2010; Rittschof and Robinson, 2014; Rausher and Delph, 2015). Los comportamientos animales son a menudo complejos, potencialmente regulados por muchos genes, e influenciados significativamente por las condiciones ambientales en las que los individuos los llevan a cabo (Flint et al., 2010). Este hecho, especialmente

en estudios en condiciones naturales y con especies silvestres, ha provocado que el estudio del comportamiento haya estado en gran parte fuera del alcance de los análisis genéticos tradicionales (Zuk and Balenger, 2014; Bengtson et al., 2018).

El estudio sobre la asociación directa entre genes y determinados comportamientos complejos ha estado restringida principalmente a genes con un gran efecto en el comportamiento y en un número reducido de especies animales, que por sus características particulares (ej. cría en condiciones controladas y/o por la disponibilidad de recursos gené-

ticos), han permitido llevar a cabo este tipo de estudios (Weitekamp and Keller, 2019). Una de estas especies modelo es la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*), en la que se han identificado un número considerable de genes influyendo en comportamientos complejos, tales como el cortejo o la búsqueda de alimento (revisado en Sokolowski, 2001; Hosken et al., 2019a). Los insectos sociales son un grupo en el que también se han realizado interesantes estudios sobre la base genética de algunas diferencias comportamentales (Weitekamp et al., 2017), por ejemplo, en la regulación del comportamiento social en la abeja melífera (*Apis mellifera*, Page Jr et al., 2012), o en relación con la organización de las colonias en la hormiga de fuego (*Solenopsis invicta*, Wang et al., 2013). Los genes caracterizados en estas y otras especies, se han utilizado a su vez, y muchos casos exitosamente, como genes candidatos en estudios con nuevas especies asumiendo que comportamientos similares pueden tener un origen común, o al menos, compartir la misma base genética (Fitzpatrick et al., 2005; Ekblom and Galindo, 2011). Sin embargo, en la mayoría de los casos, las asociaciones directas entre genes y comportamientos no se han podido aún determinar, aunque, en algunos de estos casos, se dispone de evidencias indirectas que confirman su componente genético. En este grupo, entraría las diferentes aproximaciones para estimar la heredabilidad en comportamientos (ver por ejemplo, Hosken et al., 2019b). Otras veces, en cambio, ante la imposibilidad de detectar y/o abordar el estudio del componente genético de un comportamiento, se ha optado por asumir la existencia del componente genético, pero menoscabando el papel que pueda éste tener en la determinación o limitación de las

posibles trayectorias evolutivas que el comportamiento pueda experimentar (revisado en Springer et al., 2011; Rittschhof and Robinson, 2014).

Los avances relativamente recientes en las tecnologías de secuenciación (Shendure et al., 2017), el incremento en las capacidades de computación y en el desarrollo de herramientas y recursos bioinformáticos, está revolucionando la investigación en todos los campos de la biología (Ari and Arikan, 201; Immler, 2019). El estudio del comportamiento animal no se está quedando al margen de esta revolución, siendo una buena prueba de ello las revisiones que se han publicado en los últimos años sobre trabajos utilizando aproximaciones genómicas para estudiar comportamientos (ej., Grozinger et al., 2010; Springer et al., 2011; Ledón-Rettig et al., 2012; Rittschhof and Robinson, 2014; Zuk and Balenger, 2014; Bengston et al., 2018; Immler, 2019). Estos avances están permitiendo examinar con gran detalle la variación del comportamiento a nivel molecular utilizando todo el genoma, y asociar estas diferencias a comportamientos específicos o diferencias sutiles en el comportamiento en una amplia variedad de especies ecológicamente relevantes (Bengston et al., 2018). Estas aproximaciones están, además, permitiendo a los investigadores comenzar a comprender cómo la variación genética natural contribuye a la vasta cantidad de variación en el comportamiento de los individuos, poblaciones y especies (Grozinger et al., 2010; Bengston et al., 2018).

El objetivo de este artículo es introducir al lector menos familiarizado con esta temática, al uso de las herramientas más utilizadas actualmente para la generación y análisis de datos genómicos en el estudio de la base genética

del comportamiento. Para una revisión más exhaustiva de los trabajos científicos aplicando estas metodologías al estudio del comportamiento animal, remito a lector a las revisiones citadas en el párrafo anterior. En este artículo se dará una idea del tipo de información que se puede generar, de la que ya está accesible, y del tipo de preguntas que se pueden abordar con esta información. También se mencionarán algunas consideraciones prácticas para la generación y análisis de estos datos, así como información a la hora de la elección de las herramientas y software disponibles.

Técnicas y recursos disponibles para el estudio del componente genético del comportamiento

Actualmente el tipo de información procedente de la genómica y bioinformática se puede clasificar principalmente en i) datos sobre variación genética, ii) datos de expresión de genes, iii) datos de regulación de la expresión génica, e iv) información derivada de la secuenciación, anotación y comparación de las especies cuyos genomas han sido completamente secuenciados. En este apartado, se explicarán brevemente las aproximaciones que utilizan este tipo de información para abordar el estudio de la base genética del comportamiento. Además de la genómica, hay otras disciplinas “ómicas” que están empezando a utilizarse en el estudio de comportamientos, pero que por motivos de espacio no serán descritas aquí. El lector interesado puede consultar Valcu and Kempenaers (2015) para una revisión de los estudios sobre comportamiento y proteómica, y los estudios de Kapranas et al. (2016) y Oromí Farrús et al.

(2017) como ejemplos de aplicaciones de la metabolómica para el estudio del comportamiento.

Variación genética y comportamiento

Las diferencias en los rasgos entre individuos, incluido su comportamiento, pueden ser debidas a las diferencias en la secuencia del ADN. A cada una de estas diferencias presentes en un lugar determinado del genoma se denomina variante genética o polimorfismo genético; los alelos serían cada una de las formas de una variante presente en la población. El polimorfismo genético se suele reservar para aquellas variantes cuya frecuencia en la población es mayor al 1%. La mutación es el proceso que origina los cambios en la secuencia del ADN y puede deberse a diversas causas, como fallos durante la replicación o al efecto de agentes mutágenos (ej. radiaciones ionizantes o determinados químicos). El conjunto de variantes genéticas que existe entre individuos de una misma población es lo que se denomina variación genética, y la variación genética de una especie entera a menudo se denomina diversidad genética. La variación genética es la base necesaria para que ocurra evolución, ya que permite que la selección natural cambie la frecuencia de los alelos de las variantes genéticas que ya existen en la población en función de su efecto en el éxito reproductivo de los individuos.

Las variantes genéticas más utilizadas actualmente en los estudios genómicos son los llamados polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*), o de forma general también referidas como variantes de un solo nucleótido (SNV, *Single Nucleotide Variant*) para evitar así la limitación de la frecuencia del 1% del polimorfismo en la

población (**Figura 1A**). La presencia de una SNV, u otro tipo de variante genética, puede no tener un efecto evidente en el fenotipo (SNV neutral), diferenciándola de una que sí tiene un efecto en el fenotipo (SNV funcional) (**Figura 1B**). La mayoría de las SNVs se encuentran en la región no codificante del genoma (ej., Telenti et al., 2016). Hasta hace relativamente poco tiempo, se consideraba que esta región del genoma no tenía una función definida (de ahí el término de ADN basura, del inglés *junk DNA*); sin embargo, cada vez hay más evidencias de que estas regiones tienen un papel importante en la estabilidad del genoma y en la regulación de la expresión de genes, entre otras posibles funciones (Encode Project Consortium, 2012).

Los estudios que utilizan datos de variación genética para la identificación de la base genética de un comportamiento tratan de identificar asociaciones significativas entre variantes genéticas y las diferentes alternativas comportamentales. Este tipo de asociación puede deberse a (i) que la variante genética es en sí misma responsable de las diferencias en el comportamiento (variante causal, por ejemplo la SNV-3 en **Figura 1A**); o bien, (ii) que la variante genética no tiene un efecto directo en el comportamiento (variante neutral) pero está cerca físicamente de la región del genoma donde se encuentra la variante o variantes responsables de las diferencias en el comportamiento (SNV-2 en **Figura 1A**) y, por tanto, con una probabilidad baja de que ocurra recombinación genética entre la variante neutral y la causal durante la meiosis que evite que se transmitan conjuntamente a la siguiente generación (SNVs ligados o en desequilibrio de ligamiento, SNV-2 y SNV-3 en **Figura 1A**).

Las técnicas actuales utilizadas para identificar SNVs, como otros tipos

de variantes genéticas, hacen uso de las plataformas de secuenciación de próxima generación (NGS, *Next Generation Sequencing*, **Cuadro 1**). Estas técnicas permiten caracterizar una gran cantidad de SNVs a lo largo de todo genoma (de miles a millones). Lo destacable en relación con este artículo, es que se puede llevar a cabo en especies con pocos o ningún recurso genómico disponible previamente (Ekblom and Galindo, 2011), por ejemplo aquellas especies para las que no se dispone aún del genoma de referencia (ver **Cuadro 2**), las cuales son todavía la gran parte de las especies silvestres utilizadas en los estudios en ecología del comportamiento. Estas técnicas posibilitan la realización de estudios genómicos en estas especies, como aquellos encaminados a asociar las diferencias observadas en un determinado comportamiento con la presencia de una o varias variantes genéticas, a fin de abordar el estudio de su base genética (Bengston et al., 2018).

Entre este tipo de técnicas, está la secuenciación del genoma completo (WGS, *Whole Genome Sequencing*) y aquellas técnicas que por el contrario tratan de secuenciar sólo una selección de regiones del genoma. En este último caso, la selección de las regiones puede realizarse de forma dirigida mediante estrategias de enriquecimiento para la selección de determinados genes o regiones del genoma. Un ejemplo de esta aproximación es la secuenciación del exoma (WES, *Whole Exome Sequencing*), donde solo la parte codificante de proteínas del genoma (equivalente al 1–2% del genoma) es secuenciada mediante la selección de todos los exones. Por otra parte, tenemos aquellas técnicas que seleccionan las zonas del genoma a secuenciar de forma más o menos aleatoria, mediante

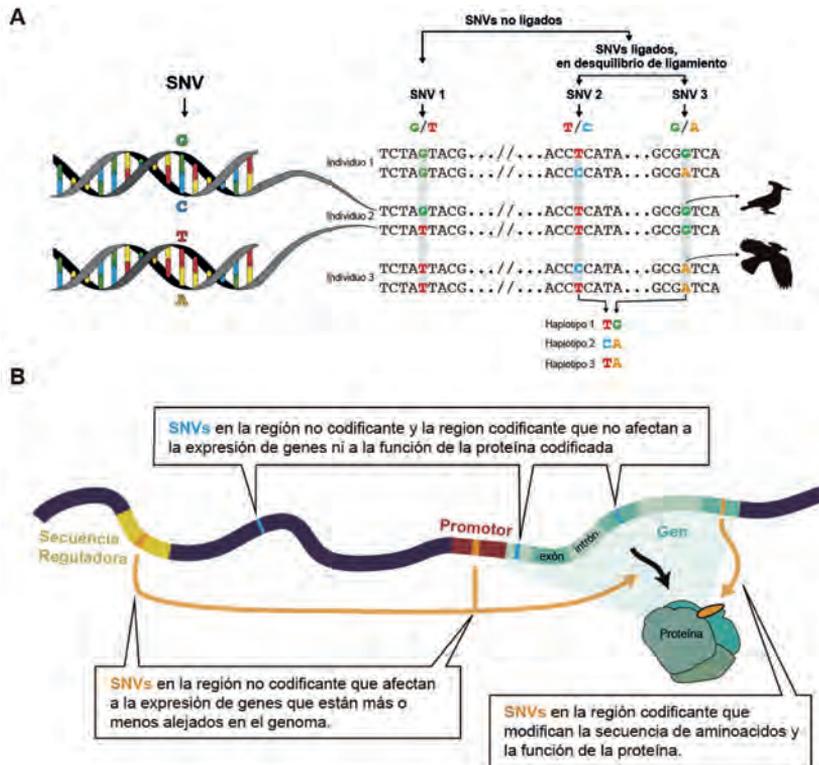


Figura 1. (A) Una SNV (*Single Nucleotide Variant*) es una variante genética que afecta a una única posición en la secuencia del ADN, la cual puede tener 4 posibles formas (alelos) debido a que hay cuatros tipos de nucleótidos que forma la cadena del ADN. Sin embargo, la gran mayoría tienen solo dos alelos, siendo las SNVs de tres o cuatros alelos muy poco frecuentes (ej., Phillips et al. 2015). Las SNVs son la principal fuente de variación en el genoma (ej., The Genomes Project Consortium et al. 2015). La presencia de una SNV, u otro tipo de variante genética, puede no tener un efecto evidente en el fenotipo (SNV neutral, ej., SNV-1 y SNV-2), diferenciándola de una SNV funcional, que sí tiene un efecto en el fenotipo (ej., SNV-3, influyendo si un individuo es migrador o residente). **(B)** Las **SNVs funcionales** en la región no codificante del genoma tienen su efecto principalmente en la regulación de la expresión de genes que se pueden encontrar más o menos alejados en el genoma, ya sea por modificar los sitios de unión de moléculas reguladoras de la expresión de genes (factores de transcripción, potenciadores (*enhancers*) o inhibidores), o por afectar a las marcas epigenéticas en esa región del genoma. Las **SNVs neutrales** presentes en la región codificante del genoma se deben a que el cambio en la secuencia de ADN no afecta a la función de su producto; en el caso de genes codificantes de proteínas, puede pasar que *i*) la mutación dé lugar al mismo aminoácido (SNVs sinónimas) o *ii*) que haya un cambio de aminoácido (SNVs no sinónimas) pero no tenga un efecto en la función, por no estar ese aminoácido localizado en un centro activo de la molécula resultante, o por no afectar significativamente a la estructura tridimensional de la proteína. En cuanto a las **SNVs funcionales** de la región codificante, serían aquellas SNVs no sinónimas que implica un cambio en la función de la proteína. Ver por ejemplo http://bit.ly/SNV_efecto, para una lista completa de los tipos de SNVs dependiendo de su efecto.

la selección de los fragmentos del genoma obtenidos después del uso de una o varias enzimas de restricción. En este grupo estaría la secuenciación del ADN asociado a sitios de restricción (RAD-seq, *Restriction site Associated DNA Sequencing*) y el genotipado por secuenciación (GBS, *Genotyping by sequencing*); aunque ambas técnicas son similares, difieren en algunos aspectos (ver por ejemplo, Davey et al., 2011). La principal ventaja de la secuenciación de una selección de regiones es que se reduce considerablemente el coste por muestra en comparación con el precio por muestra del WGS (ver una comparativa de precios en Bengston et al., 2018). De esta forma se obtiene un número suficiente de variantes genéticas, permitiendo incluir en el estudio a un número mayor de individuos de la población, o de más poblaciones. Además, una vez caracterizadas las variantes, y determinadas la secuencia circundante, se puede recurrir a la creación de un chip de genotipado específico (ver <http://bit.ly/chipADN>) con una selección de las variantes detectadas, y determinar sin necesidad de secuenciación, los genotipos de más individuos a un coste mucho más reducido. No obstante, estas técnicas de selección de regiones del genoma descartan gran parte del genoma (en torno al 90% al 99% del genoma), pudiendo estar en la parte no observada la región de interés asociada con las diferencias en el comportamiento estudiado. Como resultado de la secuenciación utilizando estas técnicas se obtiene de millones a cientos de millones de secuencias, o también llamadas lecturas (*reads*), de una longitud variable dependiendo de la plataforma de secuenciación (**Cuadro 1**). El análisis posterior de las secuencias permite identificar los diferentes tipos

de variantes genéticas, incluidas las SNVs (**Cuadro 3**).

En cuanto a las aproximaciones para determinar la asociación entre genotipo y comportamiento, destacamos dos, el mapeo de loci de rasgos cuantitativos (*Quantitative Trait Loci, QTL*) y los estudios de asociación genética (*Genome Wide Association Studies, GWAS*). Ambas aproximaciones asumen que las diferencias comportamentales observadas entre individuos están influenciadas por una o más variantes genéticas.

Mapeo QTL

El mapeo QTL ha sido ampliamente utilizado en técnicas de mejora genética (ver por ejemplo, Hu et al., 2018) y en animales modelo de laboratorio, por ejemplo la rata (*Rattus norvegicus*, Aitman et al., 2016). En estudios sobre comportamiento animal, esta aproximación implica el cruce entre individuos (o especies) que muestren diferencias en un determinado comportamiento (**Figura 2A**). Aquellos marcadores genéticos que están cerca de las variantes causales en el genoma tenderán a pasar conjuntamente a las siguientes generaciones, ya que la probabilidad de que la recombinación genética durante la meiosis rompa esas combinaciones es baja. Este hecho provoca también que se generen correlaciones en los valores de desequilibrio de ligamiento entre los marcadores que están cercanos en el genoma. Además, puede ocurrir que uno (o varios) de los marcadores utilizados sea en sí mismo la variante causal de las diferencias observadas en el comportamiento. El poder de mapeo QTL dependerá consecuentemente de la densidad de marcadores utilizados, del número de meiosis que barajen las asociaciones entre los marcadores

y alelos, así como del número de regiones del genoma y su efecto en las diferencias observadas en el comportamiento. Otro aspecto importante es que el mapeo QTL tiene que ser llevado a cabo en sistemas donde se puedan controlar los cruces y el seguimiento de los descendientes (por ejemplo, en animales en cautividad), y se necesita de tamaños de muestra del orden de varios cientos a miles de individuos de segunda generación filial para detectar loci con un efecto medio en el comportamiento (Erickson et al., 2004). Estas desventajas limitan sin duda su aplicación a un mayor número de sistemas. Un ejemplo de esta aproximación es el trabajo realizado por Weber et al. (2013), que mediante el mapeo QTL en los individuos F2 híbridos resultantes del cruce de dos especies hermanas de ratones del género *Peromyscus*, desveló tres regiones del genoma implicadas en la construcción de un túnel de escapada en las madrigueras de la especie *P. maniculatus*, el cual está ausente en *P. polionotus*. En este estudio se utilizaron 272 individuos F2 y 576 SNPs con alelos que diferían entre las dos especies y que fueron identificados mediante el uso de una modificación de la técnica RAD-seq (ddRAD-seq). En un estudio posterior utilizando también estas dos especies y el mapeo QTL, Bendesky et al. (2017) encontró 12 regiones responsables de las diferencias en varios aspectos en el cuidado parental que presentan estas especies. En este caso, utilizaron 769 híbridos F2 y 1779 marcadores genéticos.

Por otra parte, existen variaciones del mapeo QTL que tratan de determinar la asociación de regiones del genoma con la variación en la expresión de genes. En este caso se habla de eQTL (ej., Vandiedonck, 2018). Estas regiones están potencialmente implicadas

en la regulación de la expresión génica y pueden estar relativamente cerca de los genes a los que influye (cis-eQTL) o relativamente alejadas en el genoma (trans-eQTL). Este tipo aproximación integra información de variación genética con datos de expresión y de regulación génica. Ver por ejemplo Fallahsharoudi et al. (2017) donde se aplica esta aproximación en gallinas (*Gallus gallus*) para el estudio de los cambios durante la domesticación en respuesta al estrés. Igualmente, esta aproximación puede ser de utilidad para asociar regiones del genoma con variación en otros de tipos de moléculas, ej. proteínas (pQTL) o metabolitos (metQTL) (ej., Vandiedonck, 2018).

Estudios de asociación de genoma completo (GWAS)

Los estudios de asociación de genoma completo o GWAS (del inglés, *Genome Wide Association Studies*) al contrario que el mapeo QTL, no requieren de la realización de cruces específicos entre individuos con comportamientos diferentes y pueden llevarse a cabo en poblaciones naturales no manipuladas. En ese caso, lo que se hace es analizar las combinaciones entre cada uno de los marcadores genéticos y las variantes del comportamiento utilizando un gran número de individuos de una población (preferiblemente) o más poblaciones (Hirschhorn and Daly, 2005). Al igual que el mapeo QTL, el GWAS permite la identificación de asociaciones significativas entre comportamientos y uno o más marcadores genéticos (**Figura 2B**). Las asociaciones significativas son indicativas de una cercanía física entre el marcador y el gen responsable de las diferencias en el comportamiento. Sin embargo, otros factores pueden generar asociaciones entre marcadores

y comportamientos que no impliquen cercanía en el genoma, como es el parentesco genético entre individuos, las diferencias genéticas entre grupos de individuos de la población, diferencias genéticas entre poblaciones o apareamientos no aleatorios en relación con el comportamiento estudiado. Estos factores tienen que ser controlados en el análisis, y normalmente se hace incluyendo en el modelo estadístico que analiza la asociación entre cada marcador y el comportamiento, la matriz de parentesco genético entre todos los individuos calculada con todos o una parte de los marcadores. Estos estudios implican un gran número de comparaciones (uno por cada marcador genético utilizado) por lo que la posibilidad de obtener asociaciones erróneas entre el comportamiento y marcadores debidas al azar (i.e. falsos positivos por realización de múltiples análisis) es muy elevada y tiene que ser corregida (por ejemplo, con Bonferroni o FDR, Brzyski et al., 2017). Todo esto hace que a menudo el tamaño recomendado para este tipo de aproximación sea extremadamente grande, del rango de las decenas de miles individuos (Hirschhorn and Daly, 2005). Sin embargo, a veces se pueden obtener resultados satisfactorios con un tamaño de muestra bastante más reducido (ver abajo). Una posibilidad es utilizar alguna técnica de priorización de las comparaciones a llevar a cabo, como podría ser utilizar solo las regiones cercanas a genes diferencialmente expresados entre variantes comportamentales. Habitualmente, los marcadores asociados significativamente con el comportamiento no están aislados (**Figura 2B**), ya que marcadores cercanos en el genoma tendrán valores de significación correlacionados, al igual que pasa en el mapeo QTL. Igualmente, puede ocurrir que uno de

estos marcadores sea en sí mismo la variante causal responsable de las diferencias en el comportamiento. Los GWAS han sido ampliamente utilizados en humanos para detectar variantes asociadas a fenotipos de interés, especialmente con enfermedades (Buniello et al., 2019). También se han utilizado con comportamientos, por ejemplo, con hábitos alimenticios (Cornelis et al., 2016) o con comportamientos arriesgados (Linner et al., 2019). Un ejemplo de uso de esta aproximación para el estudio de rasgos comportamentales en animales en su medio natural es el trabajo llevado a cabo por Purcell et al. (2014) en la hormiga *Formica selysi*. En esta especie, al igual que en la especie *Solenopsis invicta*, coexisten en las poblaciones colonias con una sola reina y colonias con múltiples reinas. Además del número de reinas, hay otras diferencias comportamentales de las hormigas obreras procedentes de estos dos tipos de colonias. Los análisis genéticos identificaron una gran región del genoma donde no ocurre recombinación, como responsable de estas diferencias. Esta región, además, mostraba ciertas similitudes con la región identificada en *Solenopsis invicta* previamente (Wang et al. 2013). Purcell et al. (2014) utilizó 18.199 SNPs en sus análisis obtenidos por GBS, de los cuales, 643 se asociaron significativamente con la organización social de la colonia.

De forma similar a lo que ocurría en el mapeo QTL, las variantes identificadas por GWAS pueden ser posteriormente utilizadas para determinar su influencia en la variación en la expresión de genes entre las variantes comportamentales, es decir determinar si una variante GWAS es también un eQTL (ej., Vandiedonck, 2018). Ver Higgins et al. (2018) para un ejemplo donde utilizan esta aproximación para el estudio

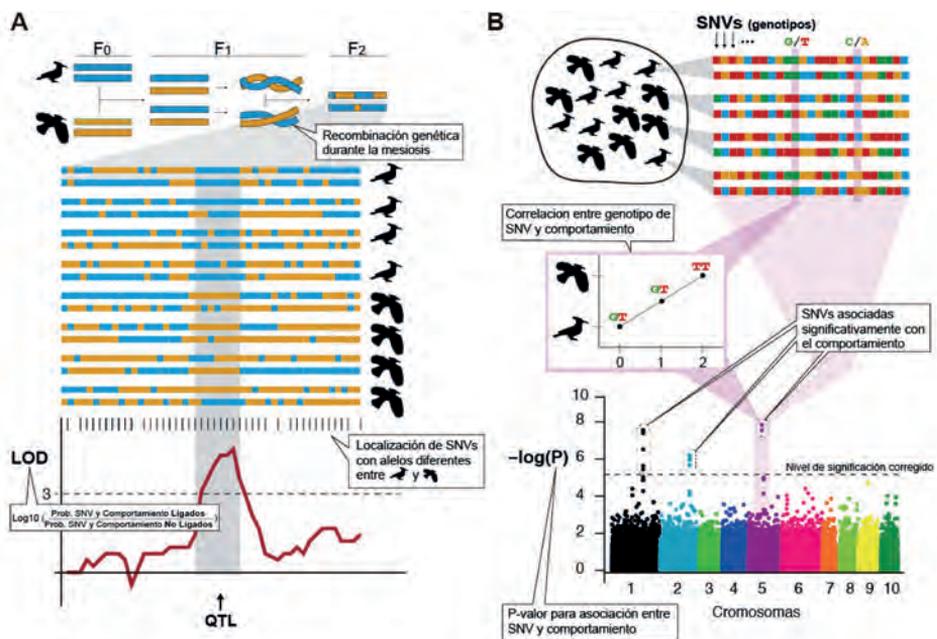


Figura 2. (A) El mapeo QTL en estudios sobre comportamiento animal implica el cruce entre individuos (o especies) que muestren diferencias en un determinado comportamiento (ej. F₀ migrador y F₀ no migrador). Posteriormente, mediante el uso de variantes genéticas distribuidas por el genoma (ej. SNVs) y cuyos alelos son diferentes en los individuos F₀, se determina durante una o varias generaciones la segregación conjunta en los descendientes de las SNVs y el comportamiento estudiado. Aquellos SNVs cercanos en el genoma a las variantes causales responsables del comportamiento tenderán a pasar conjuntamente a las siguientes generaciones. Para cada SNV se determina el número de individuos recombinantes (ej., alelo de individuo F₀ migrador en individuo F₂ no migrador) y de individuos no recombinantes (ej., alelo de individuo F₀ migrador en individuo F₂ migrador). Con estos datos se determinan las probabilidades de que esa SNV esté o no ligada al comportamiento. El logaritmo en base 10 de la división de estas dos probabilidades es lo que se denomina el valor LOD (*logarithm of odds ratios*), valores iguales o mayores a 3 indican ligamiento. **(B)** En los estudios de asociación de genoma completo (GWAS) se analizan las combinaciones de alelos de cada uno de los marcadores genéticos (ej. SNVs) y las variantes del comportamiento (ej. migrador y no migrador) en un gran número de individuos, y preferiblemente de una población. Las asociaciones (regresiones lineales entre comportamiento y el marcador genético) significativas son indicativas de una cercanía física en el genoma de los marcadores y la/s variante/s responsable/s de las diferencias en el comportamiento. Los resultados de un GWAS normalmente se presentan un tipo de gráfico denominado *Manhattan plot*, por la similitud con el horizonte de una gran ciudad. En este gráfico se muestra cada marcador ordenado por su posición en el genoma (eje X) y el grado de asociación con el comportamiento (eje Y). Los puntos que destacan del horizonte por encima de un umbral de significación (rascacielos) son los que muestran una asociación significativa con el comportamiento.

de la ingesta de alimento en terneras (*Bos primigenius taurus*).

Expresión de genes y comportamiento

Las diferencias en el comportamiento entre individuos pueden ser debidas a diferencias en la expresión de determinados genes o a la activación o inhibición de determinadas redes de expresión. Esta es la premisa que utilizan los estudios sobre comportamiento que utilizan datos de expresión de genes, los cuales, son hasta la fecha, la mayoría de los estudios que han aplicado una aproximación genómica para el estudio de comportamiento en organismos no modelo (Rittschof and Robinson, 2014; Zuk and Balenger, 2014; Bengston et al., 2018).

La expresión de genes es el proceso por el cual la información de un gen da lugar a un producto funcional. La mayoría de los genes codifican proteínas, aunque hay otros que su producto final es una molécula funcional de ARN, llamada en general ARN no codificante, (ARNnc). En este grupo estarían los genes que codifican ARN ribosómico (ARNr) o ARN de transferencia (ARNt) y otros más, algunos de los cuales se han descubierto relativamente hace poco tiempo y cuya función es todavía tema de debate. Volviendo a los genes que codifican proteínas, la transcripción de esos genes da lugar a una molécula de ARN mensajero (ARNm), que después de una serie de transformaciones (maduración) son utilizados por los ribosomas para la síntesis de proteínas (traducción). En eucariotas, durante el proceso de maduración del ARNm se eliminan los intrones, que, a diferencia de los exones, son trozos del gen cuya información no es utilizada para la síntesis de proteínas. A veces, durante la maduración del ARNm se pueden des-

cartar algunos exones o incluso retener intrones (empalme alternativo, *alternative splicing*), y este hecho, junto con la posibilidad de la existencia en un gen de más de un sitio de iniciación de la transcripción (TSS, *transcription start site*), es la base de la existencia de distintas variantes de una misma proteína (isoformas) codificadas por un mismo gen y cuya regulación puede afectar a comportamientos complejos, como es el cortejo en las mocas de la fruta (Salvemini et al., 2010).

En la secuenciación del ARN mediante RNA-seq se utiliza todo el ARNm que se está produciendo en un conjunto de células en un determinado momento, o lo que es lo mismo, el transcriptoma. El ARNm es filtrado del resto de moléculas de ARNnc mediante la captación de la cola poli(a) que los ARNm poseen. Existen diferentes modificaciones de la técnica de RNA-seq para la selección y secuenciado de moléculas de ARNnc. Normalmente el ARNm seleccionado es pasado a ADN complementario (ADNc) antes de su secuenciación mediante la transcriptasa inversa, aunque hay plataformas (ej. Oxford Nanopore, **Cuadro 1**) capaces ya de secuenciar directamente moléculas de ARNm y eliminar así el posible sesgo que parece que hay del paso de ARNm a ADNc (Conesa et al. 2016).

En comparación con el RNA-seq, las otras técnicas disponibles para el estudio de la expresión de genes, PCR cuantitativa (qPCR) y los chips (*microarrays*) de expresión, tienen el inconveniente que se necesita conocer al menos parte de la secuencia de los genes a analizar, y además, solo se puede analizar simultáneamente una selección de los genes que se expresan y, en el caso de la PCR cuantitativa, este número es muy escaso. No obstante, la PCR cuantitativa y los chips de expresión

tiene algunas ventajas frente al RNA-seq, que hace que puedan ser utilizados como complemento en los estudios que utilizan RNA-seq; por ejemplo, se suele recurrir a la PCR cuantitativa para la validación de los resultados de unos pocos genes de interés seleccionados previamente en los análisis de los datos de RNA-seq o de chips de expresión, ya que los resultados de la qPCR son mucho más precisos.

Como resultado del análisis de las secuencias obtenidas del RNA-seq (**Cuadro 4**) sabremos qué genes se están expresando en las muestras de individuos que difieren en su comportamiento. Además, podemos cuantificar el nivel de expresión, tanto a nivel de gen o de exón, ya que el número de secuencias obtenidas de cada gen o exón es proporcional al número de moléculas de ARNm procedentes de ese gen o que contengan un determinado exón. A diferencia de lo que ocurre con los datos de variación genética, la expresión de genes es dependiente del tejido de donde procede la muestra y del ambiente en el que se encontraba el individuo o el estado de desarrollo. Este aspecto tiene tanto ventajas como inconvenientes en lo referente al uso de RNA-seq para el estudio del comportamiento. En cuanto a las ventajas, tenemos que normalmente los comportamientos animales, a diferencia de otros rasgos físicos, no se manifiestan en todo momento, sino que lo hacen en determinadas condiciones o bajo ciertos estímulos (plasticidad fenotípica), lo cual es potencialmente provocado por cambios en la expresión de genes. En esos casos, puede ser útil el estudio de la expresión de genes en presencia y ausencia de un determinado estímulo, y determinar si los cambios en expresión que están asociados a ese estímulo explican la ausencia o presencia del comportamiento.

En cuanto a los inconvenientes, el principal es que el tejido a muestrear para el estudio de expresión de genes debería ser aquel directamente relacionado con el fenotipo de interés. En algunos casos, el muestreo de ese tejido (ej. cerebro) implicaría el sacrificio del animal, con los inconvenientes que esto acarrea: éticos, de conservación en especies amenazadas, o la imposibilidad del seguimiento o muestreo seriado-temporal de estos individuos. Una posibilidad de evitar el sacrificio del animal es la utilización de tejidos periféricos que permitan el muestreo no invasivo, principalmente la sangre, o tejido adiposo o muscular. No obstante, la expresión en estos tejidos periféricos puede no reflejar la expresión de genes que ocurre en el tejido responsable directo de las diferencias comportamentales observadas (ej., Witt et al., 2013; Melé et al., 2015) que, en caso de los comportamientos complejos, es probable que se encuentre en el cerebro, en determinados circuitos neuronales. Sin embargo, es posible que cambios en expresión en estos tejidos periféricos puedan estar directamente relacionados con la expresión del comportamiento estudiado. Este podría ser el caso de la activación de determinadas rutas metabólicas en el tejido adiposo o muscular y la expresión del comportamiento migrador en aves. Incluso en el caso de que detectáramos una asociación, sería complicado separar la causa y el efecto ya que, por un lado, los cambios en expresión en esos tejidos periféricos pueden estar influenciados por los mismos estímulos que provoca la expresión del comportamiento y, además, la expresión del comportamiento puede en sí misma afectar a la expresión de genes en el tejido periférico muestreado. Como ejemplo del uso de RNA-seq para el estudio del

comportamiento en poblaciones silvestres, está el estudio llevado a cabo por Franchini et al. (2017) en una población de mirlo común (*Turdus merula*) parcialmente residente. Estos autores compararon la expresión génica en sangre de individuos migradores ($n = 6$) y residentes ($n = 6$) poco tiempo antes de la fecha prevista de la migración invernal. Los análisis desvelaron sólo 4 genes diferencialmente expresados entre residentes y migradores, cuya función está relacionada con la hiperfagia, la muda, y la replicación y transcripción del ADN. Sin embargo, la mayoría de las diferencias en expresión fueron encontradas dentro del grupo de los individuos migradores, al comparar los migradores tempranos y los migradores tardíos. En concreto, detectaron 156 genes que se expresaban diferencialmente; algunos de los cuales estaban en la lista de genes candidatos elaborada de estudios anteriores sobre la migración en otras especies de aves.

Además del análisis de expresión génica, las secuencias obtenidas por RNA-seq pueden a su vez ser utilizadas para la obtención de datos de variación genética (revisado en Wolf 2013, Coneasa et al., 2016), ya que las variantes genéticas presentes en los exones pasarán del ADN al ARNm, y éstas pueden ser identificadas mediante la comparación con el resto de las secuencias obtenidas de otros individuos, o mediante la utilización del genoma de referencia o datos de variación para esa especie, si esta información está disponible. No obstante, y como ya se ha mencionado anteriormente, solo las variantes genéticas presentes en la parte codificante del genoma podrán ser analizadas a partir de las muestras de RNA-seq, es decir aquellas que pueden (no sinónimas) o no (sinónimas) afectar a la secuencia de aminoácidos de la proteína, y por

tanto a su función. Este tipo de aproximación fue la utilizada en el trabajo de Franchini et al. (2017), citado en el párrafo anterior, obteniendo un total de 141.462 variantes que utilizaron para confirmar la no existencia de diferencias genéticas entre individuos migradores y residentes.

Regulación de la expresión génica y comportamiento

Otro tipo de información que se puede obtener con las técnicas genómicas actuales está en relación con los mecanismos de regulación de la expresión génica. Este tipo de información es proporcionado, por ejemplo, por las técnicas empleadas para detectar diferentes tipos de modificaciones epigenéticas del ADN. La metilación del ADN, por ejemplo, se detecta principalmente mediante el uso de bisulfito, que hace que las citosinas que no están metiladas pasen a ser uracilo y, al comparar las secuencias obtenidas de la muestra con y sin el tratamiento con bisulfito, se pueden detectar aquellas citosinas que estaban metiladas (ver por ejemplo, Wreczycka et al., 2017).

El grado de metilación de una región del genoma influye en su hidrofobicidad y, en general, cuanto más metilada está una región, más empaquetada estará la cromatina y menos expuesta a la maquinaria enzimática de la transcripción (ej., Ledón-Rettig et al., 2012; Roth, 2013). La metilación del ADN ha sido la marca epigenética más utilizada en estudios sobre la base genética de rasgos complejos, incluidos los comportamientos, aunque principalmente se han llevado a cabo en humanos o animales modelo de laboratorio (Ledón-Rettig et al., 2012). Estos trabajos ponen de manifiesto un efecto del ambiente en el grado de

metilación del ADN, y este efecto suele ser a largo plazo, abarcando incluso a más de una generación (Roth, 2013). Por ejemplo, en ratas, el tipo de cuidado experimentado poco después del nacimiento influye en el grado de metilación de algunos genes en el hipocampo y otras partes del cerebro. Este grado de metilación influyen a su vez en la expresión de estos genes durante toda la vida de las ratas, afectando de forma decisiva a la capacidad de aprendizaje, de memoria y a algunos comportamientos relacionados con la ansiedad y el estrés (revisado en Roth, 2013). En abejas, también hay varios ejemplos que asocian patrones de metilación en el cerebro con la expresión de determinados comportamientos (revisado en Ben-Shahar, 2017). Ver Ledón-Rettig et al. (2012) para más ejemplos de asociaciones entre patrones de metilación y comportamientos.

A parte de la metilación del ADN, hay otros aspectos que pueden ser estudiados también por las técnicas genómicas actuales y que influyen en qué genes se expresan y cuáles permanecen en silencio en un determinado tejido y en un momento determinado. Las modificaciones de las proteínas histonas que empaquetan el ADN, tal como la metilación o acetilación de algunos de sus residuos, son también otro tipo de marca epigenética que puede ser detectada a nivel de todo el genoma. Esta detección se hace actualmente mediante la secuenciación masiva de los fragmentos de ADN adheridos a las proteínas a estudiar después de ser inmunoprecipitadas. La técnica se denomina ChIP-seq (ver por ejemplo, Furey, 2012). Algunas de estas modificaciones de histonas pueden ser utilizadas para estimar la localización y la actividad de elementos reguladores

como promotores o potenciadores (Kimura, 2013). La técnica ChIP-seq también se emplea para identificar la unión de otras proteínas al ADN, como son los factores de transcripción y también otras proteínas que influyen en la estructura tridimensional de la cromatina (ej. cohesina o CTCF). El grado de accesibilidad de la cromatina puede ser directamente detectado mediante ATAC-seq (Buenrostro et al., 2013) o DNase-seq (Boyle et al., 2008), y la accesibilidad a la cromatina determina el grado de expresión de los genes (Klemm et al., 2019).

También se puede determinar la estructura tridimensional de la cromatina mediante la identificación de las regiones alejadas del genoma que interactúan físicamente en el espacio, por ejemplo, mediante el uso de Hi-C (Lieberman-Aiden et al., 2009). Estas regiones potencialmente pueden compartir el mismo tipo de regulación de la expresión de sus genes (Evans et al., 2018). Aunque el número de estudios utilizando estas técnicas para la determinación de la base molecular de comportamientos es aún escaso, incluso en especies modelo (Ledón-Rettig et al., 2012), los investigadores están empezado a integrar estos datos con datos de expresión génica y datos de variación genética para llevar a cabo sus objetivos (ver por ejemplo, Bengston et al., 2018).

Recursos bioinformáticos disponibles

Una vez identificados los marcadores, regiones o genes potencialmente implicados en las diferencias observadas en comportamiento entre individuos, el empleo de los recursos bioinformáticos disponibles, ya sea de esa misma especie o de especies distintas, puede ser de gran ayuda para acceder a in-

formación de diverso tipo, por ejemplo, aquella relacionada con la ubicación, identidad o función de los genes asociados con el rasgo estudiado.

Actualmente hay multitud de bases de datos biológicas que almacenan una gran variedad de información. Gracias a los avances en las tecnologías de secuenciación, generar datos genómicos es cada vez más fácil, rápido y barato (**Cuadro 1**). Este avance, aunque en menor medida, también se extiende a otro de tipo de datos biológicos, como son datos metabolómicos o proteómicos. Los datos biológicos, ya sea por su cantidad o por su naturaleza, no se suelen publicar con los artículos científicos asociados. En cambio, antes de la publicación de los artículos, los autores envían los datos a bases de datos públicas junto con una serie de metadatos describiendo su naturaleza y el contexto en el que fueron generados. A los datos enviados se les asigna un número de acceso en la base de datos, que es el que se publica en el artículo que se han usado. Este tipo de bases de datos son las denominadas base de datos primarias o archivos de datos biológicos, ya que son las que reciben la información directamente de los autores y donde se depositan los datos tal y como fueron generados. En la actualidad hay varios tipos de bases de datos primarias según la naturaleza de los datos que almacenan. Encontramos, por ejemplo, the European Nucleotide Archive, ENA (Hussein et al., 2018) (<https://www.ebi.ac.uk/ena>) para secuencias de nucleótidos, y ArrayExpress Archive (Tikhonov et al., 2014) (<https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>) para datos de genómica funcional (datos de experimentos de expresión y regulación de genes y de marcas epigenéticas). Por otra parte, también existen bases de datos secundarias o depuradas, que almacenan

datos derivados del análisis de otros datos. A menudo estos análisis implican numerosas fuentes, incluidas bases de datos primarias y secundarias y artículos científicos. Algunas bases de datos primarias también pueden contener información resultante de análisis de sus datos primarios, por lo que también son en cierta medida bases de datos secundarias.

Las bases de datos secundarias suponen una herramienta extremadamente útil en biología molecular, ofreciendo una enorme cantidad de información de referencia sobre cualquier gen o producto génico que haya sido estudiado. La información almacenada en este tipo de bases de datos secundarias es a la que normalmente tendremos que recurrir para profundizar más sobre los marcadores genéticos o lista de genes resultantes de los análisis que emplean las técnicas descritas en los apartados anteriores. Como ejemplo de este tipo de bases de datos, tenemos el catálogo de GWAS (NHGRI–EBI (Buniello et al., 2019) (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>), donde se almacena información depurada de los estudios GWAS llevados a cabo en humanos, incluidos los asociados a rasgos comportamentales. Otro ejemplo sería la base de datos de ontologías de genes, the Gene Ontology Resource (Ashburner et al. 2000, The Gene Ontology Consortium, 2019) (<http://geneontology.org/>) donde, utilizando un vocabulario controlado y jerarquizado (GO terms), se asigna la función y localización celular a los productos de todos los genes conocidos. Esta información, junto con otra procedente de otras bases de datos similares, se puede utilizar para analizar si en nuestra lista de genes seleccionados (ej. genes diferencialmente expresados entre dos comportamientos) existe un enriquecimiento

de determinados términos funcionales que pudieran arrojar luz sobre las rutas metabólicas o procesos biológicos que estuvieran detrás de esas diferencias. Este tipo de análisis, y otros similares, pueden ser llevados a cabo utilizando la información y herramientas proporcionadas por bases de datos como DAVID (Huang da et al., 2009b, 2009a) (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>), donde se integra información de multitud de base de datos de anotaciones funcionales de genes. Por ejemplo, este tipo análisis de enriquecimiento fue llevado a cabo por Franchini et al. (2017), citado anteriormente, sobre las listas de genes diferencialmente expresados por los mirlos que diferían en su comportamiento migrador, aunque en este caso, ningún término funcional resultó significativamente enriquecido.

Un tipo especial de base de datos secundaria son los denominados navegadores genómicos (*Genome Browsers*) en los que se engloban información de múltiples fuentes en torno a los genomas de referencia (**Cuadro 2**). Los navegadores de genomas permiten el acceso a toda la información relativa a los genomas de referencia normalmente a través de una interfaz gráfica, aunque también de forma programática. Estos navegadores pueden ser específicos para una especie o un grupo reducido de especies relacionadas (ej., Flybase the FlyBase Consortium et al., 2018) (<https://flybase.org/>), o pueden integrar la información de multitud de especies, y multitud de datos de otras bases de datos biológicas disponibles, como es el caso de Ensembl (Cunningham et al., 2019) (<https://www.ensembl.org/>), y USCS Genome browser (Kent et al., 2002) (<https://genome.ucsc.edu/>). En el caso del Ensembl, se realiza la anotación automática de los genomas de referencia y se integra esa anotación con una

gran variedad de datos, como aquellos relacionados con resultados de estudios sobre variación, expresión y regulación de la expresión, GWAS, etc... También genera y analiza diferentes tipos de alineamientos de las secuencias de las especies que aloja, aportando información muy útil sobre genómica comparada, como familias de genes, estimas de conservación de las regiones del genoma, huellas de la selección, efecto predicho de las variantes en las proteínas, etc. Toda esa información (incluidas secuencias, anotaciones, variantes genéticas), es fácilmente accesible a través de su web o programáticamente. Además, permite la subida y visualización en la web del Ensembl de varios tipos de datos por parte del usuario, así como la búsqueda de la localización de secuencias concretas en los genomas que aloja (ej. BLAST). Para una descripción más completa de lo que se puede hacer en Ensembl, consulte por ejemplo http://bit.ly/ensembl_tutoriales. Todo este tipo información y herramientas que proporciona este tipo de bases de datos es sin duda de mucha utilidad para la determinación de los mecanismos detrás del comportamiento bajo estudio, ver por ejemplo los estudios revisados en Grozinger et al. (2010) y Bengston et al. (2018) aplicando este de tipo de información.

A principios de cada año, la revista *Nucleic Acids Research*, publica un número especial dedicado a las principales bases de datos biológicas disponibles, y donde se muestran sus principales características y las herramientas disponibles para el uso de sus datos (Rigden and Fernández, 2019). También se puede acceder a un catálogo bastante completo de las bases de datos biológicas publicadas por esta revista, a través de esta página web http://bit.ly/NAR_db

Aplicaciones futuras

Es esperable que en los próximos años se continúe reduciendo el coste y el tiempo en la generación de datos genómicos. Estas mejoras posibilitarán aún más la realización de estudios donde se combinen e integren datos genómicos de diversa naturaleza. Esta integración, sin duda, facilitará el análisis de los fundamentos genéticos de los rasgos comportamentales complejos. Por otra parte, el número de especies animales con el genoma totalmente secuenciado, ensamblado y anotado aumentará rápidamente en los próximos años. La generación de esta información facilitará sustancialmente los análisis bioinformáticos en un gran número especies, incluyendo caracteres comportamentales de gran interés. Por otra parte, también habrá un aumento significativo del número de especies disponibles para los estudios en genómica comparada.

En cuanto a las aproximaciones que esperaríamos que tuvieran un desarrollo notable en los próximos años con posibles aplicaciones en estudios en comportamiento, destacaríamos seis.

i) Aquellas aproximaciones encaminadas al estudio de la función del genoma no codificante en la regulación de la expresión génica, en especial en relación con el papel de los elementos genéticos móviles y elementos repetitivos (Lippman et al., 2004), la función de los diferentes tipos de ARNnc (Palazzo and Lee, 2015) y el efecto de la variación genética en el número de copias (CNV) en el comportamiento (ej., Thapar and Cooper, 2013).

ii) La manipulación genética de la expresión de genes mediante CRISPR-Cas9 y ARNi, que, aunque aún presenta bastantes dificultades para su aplicación en el estudio del comportamiento, ya se

ha utilizado con éxito en animales modelo en condiciones controladas (revisado en Bengston et al., 2018).

iv) Las metodologías que tratan de caracterizar la expresión de genes en células concretas dentro de un tejido (single cell RNA-seq) o en zonas dentro de un órgano (hibridación *in situ*, Morris et al., 2009; Olson et al., 2015). Esto será por ejemplo especialmente útil en la identificación de circuitos neuronales específicos asociados a comportamientos (ver por ejemplo, <http://www.zebrafinchatlas.org/>).

v) Aproximaciones encaminadas a determinar el efecto a nivel genómico de los simbioses (ej, microbiota o parásitos) en el fenotipo del hospedador, incluido el comportamiento (ej., Wong et al., 2017; Schretter et al., 2018), mediante la integración de datos metagenómicos y expresión o regulación de la expresión en el hospedador, o mediante el estudio de la expresión conjunta de simbioses y hospedador, por ejemplo, mediante *dual RNA-seq* (Westermann et al., 2012, 2017).

vi) Finalmente, destacaríamos una aproximación, relativamente reciente, para la determinación de la base genética de las diferencias fenotípicas que presentan los individuos de dos o más poblaciones de una misma especie que están adaptados a ambientes diferentes (revisado en Rellstab et al., 2015; Hoban et al., 2016; Ahrens et al., 2018). Esta aproximación se denomina *landscape genomics* y consiste en la realización de escaneos de la variación genética a lo largo del genoma para la identificación de regiones bajo selección divergente en distintas poblaciones. Estos estudios asumen que la diferenciación genómica neutral entre poblaciones abarca zonas relativamente amplias en el genoma donde las variantes neutrales se distribuyen

de forma más o menos homogénea. La acumulación de las variantes neutrales en estas zonas dependerá del tiempo que hace que las poblaciones están separadas, así como del flujo genético que mantienen entre ellas. La selección divergente en las diferentes poblaciones es la responsable de la diferenciación adaptativa de los fenotipos y del proceso de adaptación local. Las huellas de la selección divergente se manifiestan en forma de picos de diferenciación en determinadas zonas del genoma, donde se acumulan un mayor número de variantes específicas de cada población, algunas de las cuales son las responsables de las diferencias en el fenotipo de los individuos. A pesar de que en los últimos años se han realizado varias decenas de estudios utilizando esta aproximación en animales, por lo que he podido determinar, ninguno de ellos estuvo encaminado a determinar la base genética de las diferencias de un determinado comportamiento entre individuos de distintas poblaciones. Es esperable que esta aproximación se empiece a utilizar en el futuro para tal objetivo.

Conclusiones

Los comportamientos se encuentran entre los rasgos animales más complejos. Entender cómo los mecanismos moleculares y los factores ambientales los modulan requieren de la combinación de multitud de enfoques diferentes. El auge actual de las herramientas genómicas y bioinformáticas está haciendo que este objetivo esté un poco más cerca. La aplicación de las técnicas descritas en este artículo a un mayor número de especies animales hace que especies tradicionalmente utilizadas en la ecología del comporta-

miento, empiecen a disponer también de importantes recursos genómicos y bioinformáticos que ayuden a responder a las preguntas realizadas sobre sus interesantes comportamientos, y a plantear nuevas. No obstante, el estudio genómico del comportamiento presenta también grandes desafíos y consideraciones que deben ser tenidas en cuenta con cautela. Espero que después de la lectura de este artículo el lector tenga una idea más clara del tipo de información que se puede generar con este tipo de aplicaciones y de las ventajas e inconvenientes de su utilización. Espero también haber transmitido la idea de que la existencia de estas aplicaciones y recursos conforma actualmente un magnífico escenario para adentrarse en el estudio de la influencia de los genes en el comportamiento.

Agradecimientos

Agradezco a Juan J. Soler por la invitación y por la confianza depositada en mí para la escritura de este artículo. También agradezco a Elena Arriero y Juan J. Soler, por sus acertadas sugerencias y comentarios que han ayudado a mejorar el manuscrito. Este artículo ha sido escrito mientras disfrutaba de un contrato del Programa de Atracción al Talento Investigador de la Comunidad de Madrid, Modalidad 1 (ref. 2017-T1/AMB-5368).

Bibliografía

- Afgan, E., Baker, D., Batut, B., van den Beek, M., Bouvier, D., et al., 2018. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Res.*, **46**: W537–W544.
- Ahrens, C. W., Rymer, P. D., Stow, A., Bragg,

- J., Dillon, S., et al., 2018. The search for loci under selection: trends, biases and progress. *Mol. Ecol.*, **27**: 1342–1356.
- Aitman, T., Dhillon, P., Geurts, A. M., 2016. *A RATIONAL choice for translational research?* The Company of Biologists Ltd.
- Altmann, A., Weber, P., Bader, D., Preuss, M., Binder, E. B., et al., 2012. A beginners guide to SNP calling from high-throughput DNA-sequencing data. *Hum. Genet.*, **131**:1541–1554.
- Ari, Ş., Arikan, M., 2016. Next-generation sequencing: advantages, disadvantages, and future. In: *Plant Omics: Trends and Applications*: 109–135. Springer.
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., et al., 2000. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat. Genet.*, **25**: 25–29.
- Ben-Shahar, Y., 2017. Epigenetic switch turns on genetic behavioral variations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **114**: 12365–12367.
- Bendesky, A., Kwon, Y. M., Lassance, J. M., Lewarch, C. L., Yao, S. Q., Peterson, B. K., He, M. X., Dulac, C., Hoekstra, H. E., 2017. The genetic basis of parental care evolution in monogamous mice. *Nature*, **544**: 434–439.
- Bengston, S. E., Dahan, R. A., Donaldson, Z., Phelps, S. M., Van Oers, K., et al., 2018. Genomic tools for behavioural ecologists to understand repeatable individual differences in behaviour. *Nat. Ecol. Evol.*, **2**: 944–955.
- Bolger, A. M., Lohse, M., Usadel, B., 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics (Oxford, England)*, **30**: 2114–2120.
- Boyle, A. P., Davis, S., Shulha, H. P., Meltzer, P., Margulies, E. H., et al., 2008. High-resolution mapping and characterization of open chromatin across the genome. *Cell*, **132**: 311–322.
- Bray, N. L., Pimentel, H., Melsted, P., Pachter, L., 2016. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nat. Biotechnol.*, **34**: 525–527.
- Browning, B. L., Zhou, Y., Browning, S. R., 2018. A One-Penny Imputed Genome from Next-Generation Reference Panels. *Am. J. Hum. Genet.*, **103**: 338–348.
- Brzyski, D., Peterson, C. B., Sobczyk, P., Candès, E. J., Bogdan, M., et al., 2017. Controlling the Rate of GWAS False Discoveries. *Genetic*, **205**: 61–75.
- Buenrostro, J. D., Giresi, P. G., Zaba, L. C., Chang, H. Y., Greenleaf, W. J., 2013. Transposition of native chromatin for fast and sensitive epigenomic profiling of open chromatin, DNA-binding proteins and nucleosome position. *Nat. Methods*, **10**: 1213–1218.
- Buniello, A., MacArthur, J. A. L., Cerezo, M., Harris, L. W., Hayhurst, J., et al., 2019. The NHGRI–EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Res.*, **47**: D1005–D1012.
- Catchen, J., Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Amores, A., Cresko, W. A., 2013. Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Mol. Ecol.*, **22**: 3124–3140.
- Conesa, A., Madrigal, P., Tarazona, S., Gomez-Cabrero, D., Cervera, A., et al., 2016. A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome Biol.*, **17**: 13.
- Cornelis, M. C., Flint, A., Field, A. E., Kraft, P., Han, J., et al., 2016. A genome-wide investigation of food addiction. *Obesity*, **24**: 1336–1341.
- Cunningham, F., Achuthan, P., Akanni, W., Allen, J., Amode, M. R., et al., 2019. Ensembl 2019. *Nucleic Acids Res.*, **47**: D745–D751.
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., et al., 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, **27**: 2156–2158.
- Davey, J. W., Hohenlohe, P. A., Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., et al., 2011. Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nat. Rev. Genet.*, **12**: 499.
- Dobin, A., Davis, C. A., Schlesinger, F., Drenkow, Zaleski, C., et al., 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*, **29**: 15–21.
- Eklom, R., Galindo, J., 2011. Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms.

- Heredity*, **107**: 1–15.
- Encode Project Consortium, 2012. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*, **489**: 57.
- Erickson, D. L., Fenster, C. B., Stenøien, H. K., Price, D., 2004. Quantitative trait locus analyses and the study of evolutionary process. *Mol. Ecol.*, **13**: 2505–2522.
- Evans, S. A., Horrell, J., Neretti, N., 2018. The three-dimensional organization of the genome in cellular senescence and age-associated diseases. *Semin. Cell. Dev. Biol.*
- Ewels, P., Magnusson, M., Käller, M., Lundin, S., 2016. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics*, **32**: 3047–3048.
- Fallahsharoudi, A., de Kock, N., Johnsson, M., Bektic, L., Ubhayasekera, S. J. K. A., et al., 2017. Genetic and Targeted eQTL Mapping Reveals Strong Candidate Genes Modulating the Stress Response During Chicken Domestication. *G3*, **7**: 497–504.
- Fitzpatrick, M. J., Ben-Shahar, Y., Smid, H. M., Vet, L. E. M., Robinson, G. E., et al. 2005. Candidate genes for behavioural ecology. *Trends Ecol. Evol.*, **20**: 96–104.
- Flint, J., Greenspan, R. J., Kendler, K. S., 2010. *How genes influence behavior*. Oxford University Press.
- Franchini, P., Irisarri, I., Fudickar, A., Schmidt, A., Meyer, A., et al., 2017. Animal tracking meets migration genomics: transcriptomic analysis of a partially migratory bird species. *Mol. Ecol.*, **26**: 3204–3216.
- Furey, T. S., 2012. ChIP-seq and beyond: new and improved methodologies to detect and characterize protein-DNA interactions. *Nat. Rev. Genet.*, **13**: 840.
- Gordon, D., Huddleston, J., Chaisson, M. J., Hill, C. M., Kronenberg, Z. N., et al., 2016. Long-read sequence assembly of the gorilla genome. *Science*, **352**: aae0344.
- Grabherr, M. G., Haas, B. J., Yassour, M., Levin, J. Z., Thompson, D. A., et al., 2011. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nat. Biotechnol.*, **29**: 644–652.
- Grozinger, C. M., Westneat, D. F., Fox, C. W., 2010. Genomic approaches to behavioral ecology and evolution. *Evolutionary Behavioral Ecology*: 488–505.
- Higgins, M. G., Fitzsimons, C., McClure, M. C., McKenna, C., Conroy, S., et al., 2018. GWAS and eQTL analysis identifies a SNP associated with both residual feed intake and GFRA2 expression in beef cattle. *Sci. Rep.*, **8**:14301.
- Hirschhorn, J. N., Daly, M. J., 2005. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat. Rev. Genet.*, **6**: 95–108.
- Hoban, S., Kelley, J. L., Lotterhos, K. E., Antolin, M. F., Bradburd, G., et al., 2016. Finding the genomic basis of local adaptation: pitfalls, practical solutions, and future directions. *Am. Nat.*, **188**: 379–397.
- Hosken, D. J., Bretman, A., Goodwin, S. F., Ruth Archer, C., 2019a. Genes and Environments in *Drosophila* Sex. *Genes and Behaviour: Beyond Nature–Nurture*: 111–129.
- Hosken, D. J., Hunt, J., Wedell, N., 2019b. Nature, Nurture, and Nature-by-Nurture—Killing the Dichotomy. *Genes and Behaviour: Beyond Nature–Nurture*: 1–9.
- Hsi-Yang Fritz, M., Leinonen, R., Cochrane, G., Birney, E., 2011. Efficient storage of high throughput DNA sequencing data using reference-based compression. *Genome Res.*, **21**: 734–740.
- Hu, Z.-L., Park, C. A., Reecy, J. M., 2018. Building a livestock genetic and genomic information knowledgebase through integrative developments of Animal QTLdb and CorrDB. *Nucleic Acids Res.*, **47**: D701–D710.
- Huang da, W., Sherman, B. T., Lempicki, R. A., 2009a. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Res.*, **37**: 1–13.
- Huang da, W., Sherman, B. T., Lempicki, R. A., 2009b. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat. Protoc.*, **4**: 44–57.
- Harrison, P. W., Alako, B., Amid, C., Cerdeno-Tarraga, A., et al., 2019. The Eu-

- ropean Nucleotide Archive in 2018. *Nucleic Acids Res.*, 47: D84–D88, <https://doi.org/10.1093/nar/gky1078>
- Immler, S., 2019. Next-Gen and the Study of Behaviour. In: *Genes and Behaviour: Beyond Nature–Nurture*: 223–243 (J. Hunt, D. J. Hosken, N. Wedell). John Wiley & Sons Ltd.
- Jax, E., Wink, M., Kraus, R. H. S., 2018. Avian transcriptomics: opportunities and challenges. *Journal of Ornithology*.
- Kapranas, A., Snart, C. J. P., Williams, H., Hardy, I. C. W., Barrett, D. A., 2016. Metabolomics of aging assessed in individual parasitoid wasps. *Sci. Rep.*, 6: 34848.
- Kebschull, J. M., Zador, A. M., 2015. Sources of PCR-induced distortions in high-throughput sequencing data sets. *Nucleic Acids Res.*, 43: e143–e143.
- Kent, W. J., Sugnet, C. W., Furey, T. S., Roskin, K. M., Pringle, T. H. et al., 2002. The human genome browser at UCSC. *Genome Res.*, 12: 996–1006.
- Kim, D., Pertea, G., Trapnell, C., Pimentel, H., Kelley, R. et al., 2013. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biol.*, 14: R36.
- Kimura, H., 2013. Histone modifications for human epigenome analysis. *J. Hum. Genet.*, 58: 439–445.
- Klemm, S. L., Shipony, Z., Greenleaf, W. J., 2019. Chromatin accessibility and the regulatory epigenome. *Nat. Rev. Genet.*, 20: 207–220.
- Kolesnikov, N., Hastings, E., Keays, M., Melnichuk, O., et al., 2015. ArrayExpress update, simplifying data submissions. *Nucleic Acids Res.*, 43: D1113–1116. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1057>.
- Langmead, B., Salzberg, S. L., 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat. Methods*, 9: 357–359.
- Ledón-Rettig, C. C., Richards, C. L., Martin, L. B., 2012. Epigenetics for behavioral ecologists. *Behav. Ecol.*, 24: 311–324.
- Li, B., Dewey, C. N., 2011. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC bioinformatics*, 12: 323.
- Li, H., 2011. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics*, 27: 2987–2993.
- Li, H., Durbin, R., 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25: 1754–1760.
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J. et al., 2009. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25: 2078–2079.
- Lieberman–Aiden, E., van Berkum, N. L., Williams, L., Imakaev, M., Ragozcy, T. et al., 2009. Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*, 326: 289–293.
- Linner, R. K., Biroli, P., Kong, E., Meddens, F. W., Wedow, R. et al., 2019. Genome-wide association analyses of risk tolerance and risky behaviors in over 1 million individuals identify hundreds of loci and shared genetic influences. *Nat. Genet.*, 51: 245–257.
- Lippman, Z., Gendrel, A. V., Black, M., Vaughn, M. W., Dedhia, N. et al., 2004. Role of transposable elements in heterochromatin and epigenetic control. *Nature*, 430: 471–476.
- Love, M. I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.*, 15: 550.
- Luo, R., Liu, B., Xie, Y., Li, Z., Huang, W. et al., 2012. SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read de novo assembler. *GigaScience*, 1: 18–18.
- Martin, M., 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal*, 17: 10–12.
- McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K. et al., 2010. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res.*, 20: 1297–1303.
- Melé, M., Ferreira, P. G., Reverter, F., DeLuca, D. S., Monlong, J. et al., 2015. Human genomics. The human trans-

- criptome across tissues and individuals. *Science (New York, N.Y.)*, **348**: 660–665.
- Morris, C. A., Benson, E., White–Cooper, H., 2009. Determination of gene expression patterns using in situ hybridization to *Drosophila* testes. *Nat. Protoc.*, **4**: 1807–1819.
- Olson, C. R., Hodges, L. K., Mello, C. V., 2015. Dynamic gene expression in the song system of zebra finches during the song learning period. *Dev. Neurobiol.*, **75**: 1315–1338.
- Oromí Farrús, N., Jové Font, M., Pascual Pons, M., Royo Sánchez–Palencia, J. L., Rocaspana, R. et al., 2017. Differential metabolic profiles associated to movement behaviour of stream–resident brown trout (*Salmo trutta*). *Plos One*, **12** (7): 1–13.
- Page Jr, R. E., Rueppell, O., Amdam, G. V., 2012. Genetics of reproduction and regulation of honeybee (*Apis mellifera* L.) social behavior. *Annu. Rev. Genet.*, **46**: 97–119.
- Palazzo, A. F., Lee, E. S., 2015. Non–coding RNA: what is functional and what is junk? *Front. Genet.*, **6**: 2.
- Phillips, C., Amigo, J., Carracedo, A., Lareu, M. V., 2015. Tetra–allelic SNPs: informative forensic markers compiled from public whole–genome sequence data. *Forensic Sci. Int. Genet.*, **19**: 100–106.
- Purcell, J., Brelsford, A., Wurm, Y., Perrin, N., Chapuisat, M., 2014. Convergent Genetic Architecture Underlies Social Organization in Ants. *Curr. Biol.*, **24**: 2728–2732.
- R Core Team, 2019. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria.
- Rausher, M. D., Delph, L. F., 2015. Commentary: When does understanding phenotypic evolution require identification of the underlying genes? *Evolution*, **69**: 1655–1664.
- Rellstab, C., Gugerli, F., Eckert, A. J., Hancock, A. M., Holderegger, R., 2015. A practical guide to environmental association analysis in landscape genomics. *Mol. Ecol.*, **24**: 4348–4370.
- Rigden, D. J., Fernández, X. M., 2019. The 26th annual Nucleic Acids Research database issue and Molecular Biology Database Collection. *Nucleic Acids Res.*, **47**: D1–D7.
- Rittschof, C. C., Robinson, G. E., 2014. Genomics: moving behavioural ecology beyond the phenotypic gambit. *Anim. Behav.*, **92**: 263–270.
- Robinson, M. D., McCarthy, D. J., Smyth, G. K., 2010. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*, **26**: 139–140.
- Roth, T. L., 2013. Epigenetic mechanisms in the development of behavior: advances, challenges, and future promises of a new field. *Dev. Psychopathol.*, **25**: 1279–1291.
- Salvemini, M., Polito, C., Saccone, G., 2010. Fruitless alternative splicing and sex behaviour in insects: an ancient and unforgettable love story? *J. Genet.*, **89**: 287–299.
- Schneider, V. A., Graves–Lindsay, T., Howe, K., Bouk, N., Chen, H. C. et al., 2017. Evaluation of GRCh38 and de novo haploid genome assemblies demonstrates the enduring quality of the reference assembly. *Genome Res.*, **27**: 849–864.
- Schretter, C. E., Vielmetter, J., Bartos, I., Marka, Z., Marka, S. et al., 2018. A gut microbial factor modulates locomotor behaviour in *Drosophila*. *Nature*, **563**: 402–406.
- Shendure, J., Balasubramanian, S., Church, G. M., Gilbert, W., Rogers, J. et al., 2017. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature*, **550**: 345–353.
- Sokolowski, M. B., 2001. *Drosophila*: genetics meets behaviour. *Nat. Rev. Genet.*, **2**: 879.
- Springer, S. A., Crespi, B. J., Swanson, W. J., 2011. Beyond the phenotypic gambit: molecular behavioural ecology and the evolution of genetic architecture. *Mol. Ecol.*, **20**: 2240–2257.
- Telenti, A., Pierce, L. C. T., Biggs, W. H., Di Iulio, J., Wong, E. H. M. et al., 2016. Deep sequencing of 10,000 human genomes. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **113**: 11901–11906.
- Thapar, A., Cooper, M., 2013. Copy number variation: what is it and what has it

- told us about child psychiatric disorders? *Am. Acad. Child and Adolesc. Psychiatry*, **52**: 772–774.
- The FlyBase Consortium, Thurmond, J., Goodman, J. L., Kaufman, T. C., Strelets, V. B. et al., 2018. FlyBase 2.0: the next generation. *Nucleic Acids Res.*, **47**: D759–D765.
- The Gene Ontology Consortium, 2019. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Res.*, **47**: D330–D338.
- The Genomes Project Consortium, Auton, A., Abecasis, G. R., Altshuler, D. M., Durbin, R. M. et al., 2015. A global reference for human genetic variation. *Nature*, **526**: 68.
- Trapnell, C., Hendrickson, D. G., Sauvageau, M., Goff, L., Rinn, J. L. et al., 2013. Differential analysis of gene regulation at transcript resolution with RNA-seq. *Nat. Biotechnol.*, **31**: 46–53.
- Trapnell, C., Williams, B. A., Pertea, G., Mortazavi, A., Kwan, G. et al., 2010. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nature Biotechnol.*, **28**: 511–515.
- Valcu, C.-M., Kempnaers, B., 2015. Proteomics in behavioral ecology. *Behav. Ecol.*, **26**: 1–15.
- Vandiedonck, C., 2018. Genetic association of molecular traits: A help to identify causative variants in complex diseases. *Clinical Genetics*, **93**: 520–532.
- Wang, J., Wurm, Y., Nipitwattanaphon, M., Riba-Grognuz, O., Huang, Y.-C. et al., 2013. A Y-like social chromosome causes alternative colony organization in fire ants. *Nature*, **493**: 664.
- Weber, J. N., Peterson, B. K., Hoekstra, H. E., 2013. Discrete genetic modules are responsible for complex burrow evolution in *Peromyscus* mice. *Nature*, **493** (7432): 402–405.
- Weitekamp, C. A., Keller, L., 2019. Genes and Behaviour. *Genes and Behaviour: Beyond Nature–Nurture*: 93–109.
- Weitekamp, C. A., Libbrecht, R., Keller, L., 2017. Genetics and evolution of social behavior in insects. *Ann. Rev. Genet.*, **51**: 219–239.
- Westermann, A. J., Barquist, L., Vogel, J., 2017. Resolving host–pathogen interactions by dual RNA-seq. *Plos Pathog.*, **13**: e1006033.
- Westermann, A. J., Gorski, S. A., Vogel, J., 2012. Dual RNA-seq of pathogen and host. *Nat. Rev. Microbiol.*, **10**: 618–630.
- Witt, S. H., Sommer, W. H., Hansson, A. C., Sticht, C., Rietschel, M., Witt, C. C., 2013. Comparison of gene expression profiles in the blood, hippocampus and prefrontal cortex of rats. *In Silico Pharmacol.*, **1**: 15.
- Wolf, J. B., 2013. Principles of transcriptome analysis and gene expression quantification: an RNA-seq tutorial. *Mol. Ecol. Resour.*, **13**: 559–572.
- Wong, A. C., Wang, Q. P., Morimoto, J., Senior, A. M., Lihoreau, M., Neely, G. G., Simpson, S. J., Ponton, F., 2017. Gut Microbiota Modifies Olfactory-Guided Microbial Preferences and Foraging Decisions in *Drosophila*. *Curr. Biol.*, **27**: 2397–2404.
- Wong, G. K.-S., Wu, G., He, G., Tang, J., Patterson, J. et al., 2014. SOAPdenovo-Trans: de novo transcriptome assembly with short RNA-Seq reads. *Bioinformatics*, **30**: 1660–1666.
- Wreczycka, K., Godschan, A., Yusuf, D., Gruning, B., Assenov, Y. et al., 2017. Strategies for analyzing bisulfite sequencing data. *J. Biotechnol.*, **261**: 105–115.
- Zuk, M., Balenger, S. L., 2014. Behavioral ecology and genomics: new directions, or just a more detailed map? *Behav. Ecol.*, **25**: 1277–1282.

Cuadro 1. Plataformas de secuenciación de nueva generación más utilizadas actualmente.

El desarrollo de las tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS) ha contribuido sustancialmente a la producción de datos de secuenciación de forma masiva, permitiendo secuenciar millones de moléculas simultáneamente a un coste cada vez más reducido y en un menor tiempo (Ari and Arkan 2016, Shendure et al. 2017). Aunque hay más tipos, las plataformas NGS más utilizadas actualmente son principalmente cuatro: la secuenciación por síntesis de Illumina (<https://www.illumina.com/>), la secuenciación por Ion Torrent de ThermoFisher (<https://www.thermofisher.com/>), la secuenciación de única molécula en tiempo real (SMRT, *Single Molecule Real Time*) de Pacific Biosciences (PacBio, <https://www.pacb.com/>), y la secuenciación por nanoporos de Oxford Nanopore Technologies (<https://nanoporetech.com/>). Las dos primeras, Illumina e Ion Torrent, pertenecen al tipo de secuenciación masiva en paralelo o de segunda generación y generan lecturas de corta longitud (*short reads*, de hasta 400bp). PacBio y Nanopore son plataformas denominadas de tercera generación y pueden producir lecturas de una longitud mucho mayor (*long reads*, hasta 2Mb). A continuación, se muestra una breve descripción de estas metodologías. Ver por ejemplo Ari and Arkan (2016) y Shendure et al. (2017) para una revisión más exhaustiva de estas y otras tecnologías de secuenciación y sus principales ventajas e inconvenientes.



NextSeq 550, uno de los equipos más potentes que Illumina posee actualmente. Imagen cortesía de Illumina, Inc.

En la **secuenciación por síntesis de Illumina** la muestra de ADN se fragmenta, se le une unos adaptadores a cada extremo y se descarta una de las dos hebras de ADN. En esta y otras plataformas, se puede también secuenciar de forma conjunta muestras procedentes de diferentes librerías (*multiplexing sequencing*) mediante la adición durante el proceso de creación de la librería de un pequeño oligonucleótido (barcode) para así identificar el origen una vez obtenidas las secuencias. Una vez creada la librería, los fragmentos de una sola hebra se distribuyen a través de una superficie de un cristal (*flowcell*) donde se fijan por uno de sus extremos. Antes de empezar los ciclos de secuenciación, los fragmentos se clonan por un tipo de PCR llamada PCR en puente (*PCR bridge*) generando copias idénticas de fragmentos concentrados en clústers y fijados por uno de los extremos. En cada ciclo de secuenciación se añaden los cuatro tipos de nucleótidos del ADN marcados con distintos fluoróforos, estos nucleótidos se van incorporando en la síntesis de la hebra complementaria y dicha incorporación es detectada por la emisión del tipo de fluorescencia asociada a cada nucleótido, obteniéndose así las secuencias. Los fragmentos no son secuenciados en su totalidad, sino que se obtienen la secuencia de uno de los extremos del fragmento en el caso de la secuenciación con lecturas simples (*single-end reads*), o de los dos extremos del fragmento en el caso de secuenciación con lecturas pareadas (*paired-end reads*). La longitud de las secuencias dependerá del número de ciclos de secuenciación. A medida que la longitud de las lecturas aumenta, la calidad de la secuenciación disminuye, y este es el motivo principal de porque se obtienen secuencias de corta longitud con esta tecnología (*short reads*), la cual actualmente permite longitudes máximas de 150bp o 300bp, dependiendo del modelo de máquina (http://bit.ly/Illumina_equipos). Por otro lado, en la secuenciación con lecturas pareadas se dispone de la información que enlaza las lecturas de los dos extremos para cada fragmento, esta información es muy

útil y es utilizada para obtener mejores resultados en los análisis posteriores de las secuencias. En este video se explica el funcionamiento de este tipo de secuenciación (http://bit.ly/llumina_video). Como principales ventajas de esta plataforma están el bajo coste de la secuenciación y la alta precisión. Las principales desventajas están en relación con la longitud de las lecturas y que la ampliación de los fragmentos por PCR puede estar sesgada en función del contenido GC de la región del genoma (Keschull and Zador, 2015).



Ion GeneStudio S5, uno de los equipos más versátiles de secuenciación IonTorrent. Imagen cortesía de ThermoFisher Scientific Inc.

En la **secuenciación por Ion Torrent** una de las hebras de cada fragmento de los millones que compone la librería es fijada a una nanoporla. Posteriormente, este fragmento es clonado por un tipo de PCR llamada de emulsión. Como resultado, la nanoporla queda cubierta de fragmentos idénticos y fijados a su superficie por uno de sus extremos. Cada nanoporla es alojada en una pequeña celdilla provista de un minúsculo detector de pH. Los fragmentos fijados a las nanoporlas son utilizados como plantillas de la hebra complementaria durante los ciclos de secuenciación. En cada ciclo, uno de los cuatro tipos de nucleótido es administrado. En aquellas celdillas donde se incorporen esos nucleótidos se desprenderán uno o más protones como consecuencia de la creación de uno o más

enlaces fosfodiéster, dependiendo del número de nucleótidos de un tipo que están seguidos en la secuencia (homopolimeros). La liberación y el número de los protones que son liberados en la celdilla provoca un cambio en el pH que es detectado por el detector. Ver este video donde se explica cómo funciona esta plataforma (http://bit.ly/IonTorrent_video). Debido a que los nucleótidos en los homopolimeros son incorporados en un único paso, esta plataforma no suele funcionar muy bien con secuencias con gran número de repeticiones. ThermoFisher Scientific dispone de varios equipos con diferentes capacidades (http://bit.ly/IonTorrent_equipos). Al igual que Illumina, Ion Torrent produce lecturas de corta longitud, actualmente con longitudes máximas de entre 200–400bp y puede también haber un sesgo producido por la PCR en regiones con alto contenido en GC.



El nuevo modelo de PacBio, Sequel II (<http://bit.ly/Sequel2>). Imagen cortesía de Pacific Biosciences of California, Inc., Menlo Park, CA, USA.

La **secuenciación SMRT de PacBio**, a diferencia de las anteriores, es capaz de generar fragmentos de una gran longitud, con una mediana de longitud de 45Kb y con lecturas máximas de más de 300Kb (http://bit.ly/PacBio_lengths). Estas longitudes de lectura facilitan el proceso de ensamblado *de novo* de secuencias y permiten el secuenciado de los ARN mensajeros en toda su totalidad (full length mRNA-seq). Otra de las ventajas de PacBio, es que es capaz de secuenciar cada fragmento más de una vez con la creación de un ADN circular. El funcionamiento de este tipo de secuenciación se basa en la existencia de una célula de detección denominada SMRT, con decenas de miles de pequeños compartimientos denominados guías de onda de modo cero (ZMW, *Zero mode waveguide*). En el fondo de estos compartimientos se encuentra anclada una ADN polimerasa. Los fragmentos de ADN de una única hebra son captados por esta ADN polimerasa. De forma secuen-

cial, y de forma similar a la secuenciación por síntesis de Illumina, se añaden los cuatro tipos de nucleótidos marcados con diferentes fluoróforos. La adición por la ADN polimerasa de cada uno de los nucleótidos a la cadena complementaria es detectada por la emisión de la fluorescencia asociada a cada tipo de nucleótido. Visite esta página para ver un video explicando la tecnología que PacBio utiliza para este tipo de secuenciación (http://bit.ly/PacBio_video). Una de las principales desventajas de esta plataforma es la alta tasa de error en la secuenciación.



MinION es el único dispositivo portátil para la secuenciación de ADN y ARN en tiempo real. Imagen cortesía de Oxford Nanopore Technologies.

Por último, la **secuenciación por nanoporos** se basa en la detección de las perturbaciones que se genera en un potencial eléctrico al pasar un fragmento de ADN o ARN por un nanoporo creado por una proteína en una membrana sintética con alta resistencia eléctrica. Estas perturbaciones son específicas de cada tipo de nucleótido, pudiéndose inferir la secuencia del fragmento conforme éste va pasando por el nanoporo (visite, por ejemplo, http://bit.ly/ON_video). Las plataformas de Oxford Nanopore, aunque no son las únicas que utilizan esta tecnología, sí son las más populares. A diferencia de las tecnologías anteriores, se puede secuenciar ADN o ARN directamente sin necesidad de conversión alguna. Al igual que PacBio, este tipo de secuenciación está exenta de un paso de amplificación por PCR. Además, la totalidad del fragmento de la librería es secuenciado, pudiéndose generar longitudes de lecturas de hasta 2Mb se puede secuenciar sólo una de las hebras del fragmento (secuenciación 1D) o las dos hebras a hacer que el extremo opuesto del fragmento pase por el nanoporo terminada la secuenciación de la primera hebra (secuenciación 2D). Otro aspecto llamativo de esta plataforma es que existen modelos muy pequeños y portátiles que pueden ser conectados al puerto USB de un ordenador (MinION <http://bit.ly/ONminion>) o próximamente al teléfono móvil (SmidgION, <http://bit.ly/smidgion>). Esta portabilidad abre la posibilidad de llevar a cabo la secuenciación fuera del laboratorio y cerca tanto temporal como físicamente de donde se realice la toma de muestras (ver por ejemplo, http://bit.ly/ON_fieldkit). Al igual que ocurre con PacBio, la longitud de secuencia obtenidas hace esta tecnología muy útil para el ensamblado *de novo* y la secuenciación completa de los ARNm. Sin embargo, también al igual que PacBio, la tasa de error en la secuenciación es todavía elevada.

Cuadro 2. Genomas de referencia.

Uno de los principales recursos bioinformáticos para los estudios que aplican aproximaciones genómicas es el genoma de referencia de la especie estudiada, o al menos el de una especie relativamente emparentada. Aunque la mayoría (si no todas) de las técnicas y aproximaciones descritas en este artículo (WGS, RAD-seq, GBS, RNA-seq, ChIP-seq, etc.) pueden llevarse a cabo sin el genoma de referencia, su existencia facilita en gran medida los análisis e interpretación de los resultados.

Un genoma de referencia es una versión digitalizada y normalmente haploide de la secuencia completa del genoma de un organismo. En su creación puede haberse utilizado las secuencias de ADN de único individuo, ej. el genoma del gorilla (*Gorilla gorilla*), Gordon et al., 2016), o las de varios individuos, ej. el genoma humano (Schneider et al., 2017). Dependiendo de la especie (tamaño del genoma, poliploidía, heterozigocidad), la construcción de un genoma de referencia es un proceso relativamente arduo y costoso, e implica i) la generación de un elevado número de lecturas, a veces con distintas metodologías, ii) el ensamblado de estas secuencias y iii) la anotación del genoma con diversos elementos funcionales (genes, elementos repetitivos, elementos reguladores, variantes genéticas, etc...). El ensamblado consiste en la localización de las partes solapantes de las lecturas generadas para lograr secuencias de mayor longitud (contigs, supercontigs, scaffolds, cromosomas). Este ensamblado es a veces complejo, especialmente en ciertas regiones del genoma con muchas repeticiones o el caso de copias idénticas o parecidas en varias localizaciones del genoma (genes y pseudogenes, o genes con más de una copia en el genoma). Las lecturas de mayor longitud generadas con las plataformas de 3ª generación (**Cuadro 1**) se utilizan normalmente para asistir en el ensamblado de grupos de secuencias no conectadas. Otras técnicas microscópicas (ej. *chromosome painting*), pueden ser también utilizadas para el ensamblado de las secuencias a niveles superiores (scaffolds, cromosomas). Se utiliza el valor N50 para estimar el grado de ensamblaje que tiene un genoma. El valor N50 es la longitud que indica que el 50% del genoma ensamblado se encuentra en bloques de igual o mayor longitud que el N50. Para la anotación de un genoma se suele también utilizar información de especies cercanas cuyos genomas están ya anotados, así como la generación de otros datos complementarios, por ejemplo, de lecturas de RNA-seq para la localización de los genes. En la creación y mejora los genomas de referencia suelen estar implicados consorcios que normalmente agrupan a varios centros de investigación (ej. International Chicken Genome Consortium). Estos consorcios se hacen responsables de ir completando y mejorando las versiones de ensamblado y anotación de los genomas de referencia, y hacerlos públicamente disponibles a través de repositorios especializados. En la actualidad se están llevando a cabo proyectos muy ambiciosos encaminados a secuenciar de decenas a miles de especies de determinados grupos de organismos (ej. aves, <https://b10k.genomics.cn/>, insectos <http://i5k.github.io/>) y en los que participan un gran número de centros de investigación. Estos proyectos están a su vez englobados en megaproyectos que tratan de secuenciar a la totalidad de las especies de varios de estos grupos de organismos (ej. vertebrados <https://vertebrategenomesproject.org/>, invertebrados, <http://giga-cos.org/>) incluso uno de estos proyectos tiene como objetivo la secuenciación de la totalidad de las especies eucariotas conocidas (<https://www.earthbiogenome.org/>). Todo apunta a que, gracias a este tipo de iniciativas, en los próximos años habrá descubrimientos muy interesantes en el campo de genómica comparada.

Cuadro 3. Análisis de datos NGS – Identificación de variantes de un solo nucleótido (SNVs).

Consideraciones generales sobre el análisis de datos NGS

Una vez generadas las secuencias mediante algunas de las técnicas descritas en el texto, el desafío consiste en manejar y analizar la gran cantidad de datos generada. El volumen de datos depende no solo del número de individuos, sino de la extensión de la región secuenciada (ej. WGS vs. WES) y de la profundidad de cobertura, que sería el número promedio de veces que una región determinada ha sido secuenciada por lecturas independientes (es decir, descartando las lecturas que han sido duplicadas erróneamente durante la secuenciación). Para la detección de SNVs, se recomienda en general una profundidad de cobertura entre 10x y 30x, aunque esto también depende de otros factores como grado de heterocigocidad de la especie y la tasa de error de la plataforma utilizado en la secuenciación (ver **Cuadro 1**). Esto hace que se necesite del rango de decenas de Gigabytes para WES, o de centenas de Gigabytes para WGS, para solo almacenar los datos en bruto. Consecuentemente, el análisis de estas secuencias hace necesario de un equipamiento informático, local o remoto (ej. un clúster o una plataforma de cloud computing), con una serie de requerimientos de espacio y poder computacional. Si bien hay plataformas, como Galaxy (Afgan et al., 2018) (<https://usegalaxy.org/>), que ofrecen el uso gratuito de servidores de computación a través de una interfaz web fácil de usar y estupendamente documentada, en la mayoría de las ocasiones hay que recurrir a la ejecución de diferentes aplicaciones a través de la línea de comandos, principalmente utilizando sistemas operativos UNIX. También es frecuente la creación de scripts para el tratamiento y análisis específicos de nuestros datos, utilizando lenguajes de programación como R (R Core Team, 2019) (<https://www.r-project.org/>) o Python (<https://www.python.org/>), para los cuales además existen repositorios específicos de programas desarrollados para el análisis de datos bioinformáticos en esos lenguajes, por ejemplo bioconductor para R (<https://www.bioconductor.org/>), biopython para Python (<https://biopython.org/>) o bioconda para varios lenguajes de programación (<https://bioconda.github.io/>). Sin duda, es recomendable familiarizarse con la bioinformática o bien buscar colaboraciones al diseñar un proyecto de este tipo.

Identificación de variantes de un solo nucleótido (SNVs)

La **Figura 3** muestra un esquema general de cada de los pasos necesarios para la identificación SNVs con una breve descripción del objetivo. También se especifica el tipo de información de entrada, una selección de los programas más utilizados para llevar a cabo ese paso y el tipo de información de salida. Los primeros pasos del análisis suelen ser comunes a la mayoría de los tipos de datos NGS y el resto son específicos para este tipo de análisis. Ver por ejemplo (Altmann et al., 2012) para un tutorial donde se explica cada uno de los pasos para la identificación de SNVs. Recomiendo también al lector más interesado, la consulta y realización de los magníficos tutoriales y tours interactivos disponibles en la plataforma de Galaxy para la identificación de SNVs (<http://bit.ly/2PJGeYX>), por ejemplo, a partir de datos RAD-seq con genoma de referencia y sin genoma de referencia.

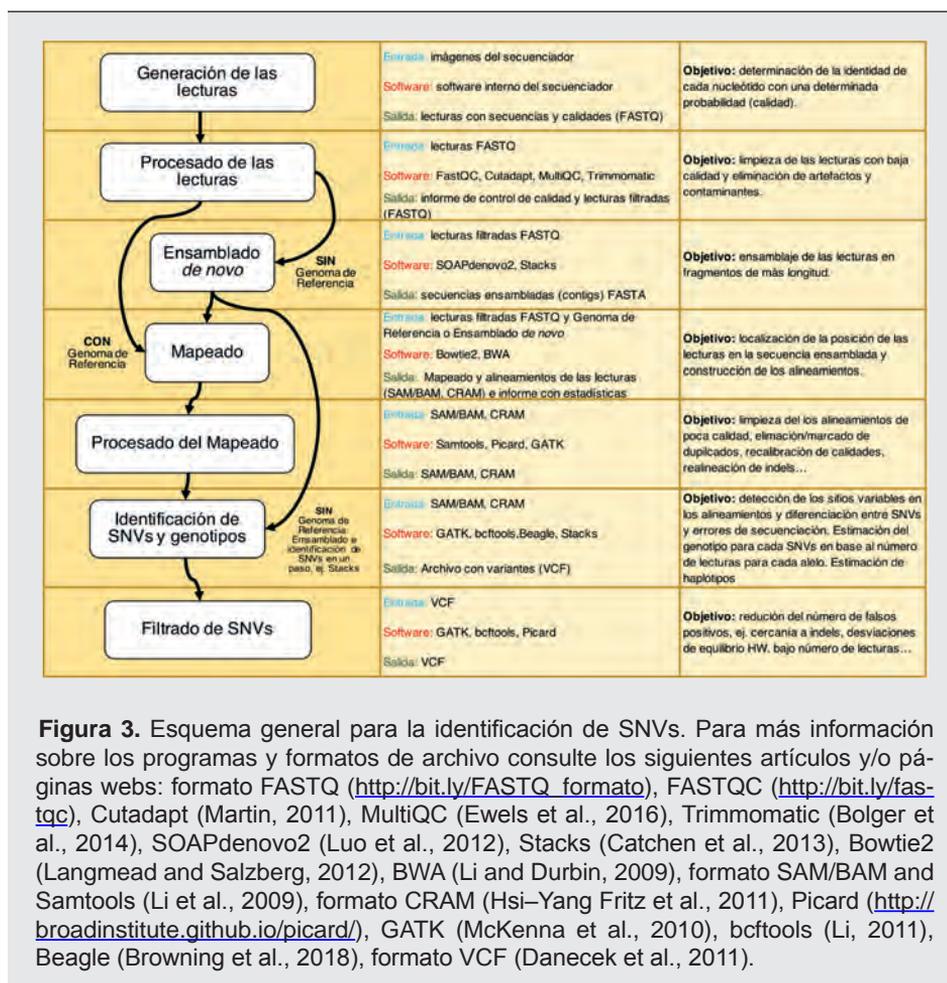


Figura 3. Esquema general para la identificación de SNVs. Para más información sobre los programas y formatos de archivo consulte los siguientes artículos y/o páginas webs: formato FASTQ (http://bit.ly/FASTQ_formato), FASTQC (<http://bit.ly/fastqc>), Cutadapt (Martin, 2011), MultiQC (Ewels et al., 2016), Trimmomatic (Bolger et al., 2014), SOAPdenovo2 (Luo et al., 2012), Stacks (Catchen et al., 2013), Bowtie2 (Langmead and Salzberg, 2012), BWA (Li and Durbin, 2009), formato SAM/BAM and Samtools (Li et al., 2009), formato CRAM (Hsi-Yang Fritz et al., 2011), Picard (<http://broadinstitute.github.io/picard/>), GATK (McKenna et al., 2010), bcftools (Li, 2011), Beagle (Browning et al., 2018), formato VCF (Danecek et al., 2011).

Cuadro 4. Análisis de datos RNA-seq, cuantificación de la expresión de genes y determinación de los genes diferencialmente expresados entre dos condiciones / comportamientos.

Consideraciones generales en estudios utilizando RNA-seq

El diseño experimental y los procedimientos en los estudios con datos RNAseq depende en gran medida del organismo estudiado y de los objetivos específicos de la investigación. No obstante, hay una serie de consideraciones generales que se pueden aplicar a la mayoría de estos estudios. A continuación, se describen brevemente estas consideraciones. Para más información, consulte Wolf (2013), Conesa et al. (2016), Jax et al. (2018) y RNA-seqlopedia (<https://rnaseq.uoregon.edu>).

En cuanto al diseño experimental, hay tres factores importantes que hay que tener en cuenta, el número de réplicas, el tipo de librería y la profundidad de cobertura. La reproducibilidad técnica en los análisis de RNA-seq es normalmente alta durante la fase de secuenciación, pero se puede introducir algún tipo de sesgo en la fase de preparación de la librería. Es por ello, que es recomendable planear hacer una o varias réplicas técnicas (mismas muestras biológicas procesadas en más de una ocasión). En cuanto las réplicas biológicas, va depender de la variabilidad biológica en el carácter, de si se pretende hacer alguna inferencia en la población, y del poder estadístico deseado para la estimación de diferencias significativas en la expresión de genes entre los grupos. Se recomienda un mínimo de tres réplicas por grupo (Conesa et al., 2016). En relación con el tipo de librería, además de lo comentado en el texto sobre la selección del tipo de ARN a secuenciar, hay que tener en cuenta otros factores como son la especificidad de la hebra y el tipo de lecturas generadas dependiendo de la plataforma de secuenciación (ej. longitud, lecturas pareadas, ver **Cuadro 1**). Por ejemplo, las lecturas pareadas de Illumina o lecturas largas de PacBio y OxfordNanopore son útiles para el descubrimiento de nuevos transcritos e identificación de la expresión de diferentes isoformas. En el caso de la profundidad de cobertura (ver **Cuadro 3**) en el caso del RNA-seq se suele hablar del número total de lecturas generadas, es decir, el tamaño total de la librería. Puesto que el número de lecturas obtenidas del gen es indicativo del grado de expresión de ese gen, una librería con mayor tamaño hace que se aumente la probabilidad de detectar la expresión de genes con expresión baja. El tamaño de librería necesario también depende de la complejidad del transcriptoma.

Respecto al análisis del laboratorio, este implicaría la extracción y purificación del ARN, la selección del tipo de ARN y conversión a ADNc, la creación de la librería mediante la fragmentación y la adición de los adaptadores específicos de la plataforma de secuenciación, y finalmente la secuenciación. Todos estos pasos con las diferentes opciones son explicados con detalle en la página RNA-seqlopedia (<https://rnaseq.uoregon.edu/>).

Cuantificación de la expresión de genes y determinación de los genes diferencialmente expresados entre dos condiciones / comportamientos

En la **Figura 4** se muestra un esquema general simplificado con los pasos necesarios para calcular los niveles de expresión génica a partir de datos RNAseq y la determinación de los genes expresados diferencialmente entre dos condiciones / comportamientos. Para cada uno de los pasos se describe brevemente el objetivo, la información de entrada, una selección de los programas más utilizados para llevar a

cabo ese análisis y el tipo de información de salida. De forma similar a lo mencionado en el **Cuadro 3**, los tutoriales y tours interactivos disponibles en la plataforma de Galaxy para el análisis datos RNA-seq son un buen punto de partida para el lector interesado en profundizar en esta temática (<http://bit.ly/2WnS7qe>, <http://bit.ly/2JdLByE>); por ejemplo, los tutoriales para el análisis de datos de RNA-seq con genoma de referencia y sin genoma de referencia (reconstrucción *de novo* del transcriptoma).

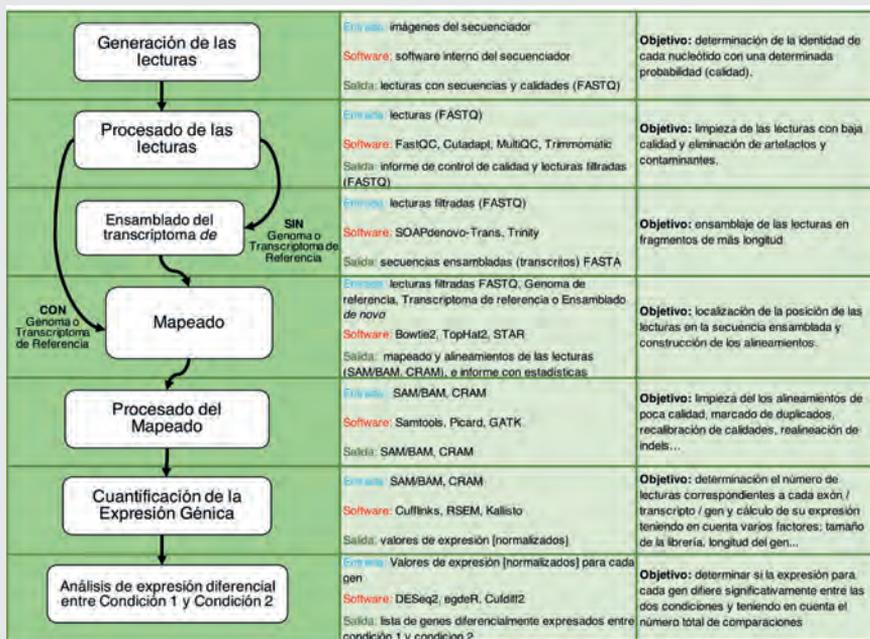


Figura 4. Esquema general para la cuantificación de la expresión de genes y estimación de los genes diferencialmente expresados entre dos condiciones. Para más información sobre los programas y formatos de archivo consulte los siguientes artículos y/o páginas webs: formato FASTQ (http://bit.ly/FASTQ_formato), FASTQC (<http://bit.ly/fastqc>), Cutadapt (Martin, 2011), MultiQC (Ewels et al., 2016), Trimmomatic (Bolger et al., 2014), SOAPdenovo-Trans (Wong et al., 2014), Trinity (Grabherr et al., 2011), Bowtie2 (Langmead and Salzberg, 2012), TopHat2 (Kim et al., 2013), STAR (Dobin et al., 2013), formato SAM/BAM and Samtools (Li et al., 2009), formato CRAM (Hsi-Yang Fritz et al., 2011), Picard (<http://broadinstitute.github.io/picard/>), GATK (McKenna et al., 2010), Cufflinks (Trapnell et al., 2010), RSEM (Li and Dewey, 2011), Kallisto (Bray et al., 2016), DESeq2 (Love et al., 2014), egdeR (Robinson et al., 2010), Cuffdiff2 (Trapnell et al., 2013).

VOLVIENDO A LOS CLÁSICOS

La Tragedia de los (bienes) Comunes Garrett Hardin (1968)

Carmen Zamora–Muñoz

Dpto. Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071 Granada, España.

E-mail: czamora@ugr.es

Resumen

La Tragedia de los (bienes) comunes es un ensayo científico publicado en 1968 que no ha dejado de estar de actualidad. El autor, utilizando argumentos de optimización de beneficios económicos o biológicos a distintos niveles de organización (individuo vs población), llegó a la conclusión de que los bienes comunes en las sociedades humanas se extinguirán en un futuro próximo. Predijo la pérdida, destrucción, deterioro y/o desaparición de muchos de los recursos naturales, y, aunque propuso una serie de medidas que podrían paliar o retrasar la tragedia, su efecto en las políticas gubernamentales ha sido muy reducido. En este artículo explico brevemente las bases del mensaje de este clásico que no debería ser obviado. Si queremos encontrar solución a gran parte de los problemas medioambientales que actualmente alarman a la sociedad, ni los políticos ni técnicos con responsabilidad sobre los bienes comunes, ni los investigadores en biología de la conservación, deberían olvidar el mensaje de la *tragedia*.

Hardin escribió su ensayo en 1968, *The Tragedy of the Commons*, para describir el dilema por el cual los individuos, de forma independiente y motivados por las ventajas individuales, llegan a agotar o destruir un recurso común. La publicación del mismo provocó un amplio debate sobre el comportamiento humano y sus implicaciones en áreas tan diversas como ecología de poblaciones, medioambiente, biología de la conservación, salud, economía, derecho, ciencias políticas, filosofía, ética, geografía, psicología y sociología (Hardin, 1998; Lant et al., 2008; Boyd et al., 2018). Este trabajo lleva acumuladas actualmente más de 10.000 citas (abril 2019: 10.107 en Web of Science, 12.900 en Scopus) y, cada aniversario desde su publicación, es objeto de

números especiales, revisiones o comentarios en revistas tan prestigiosas como Science o BioScience (p. ej., Boyd et al., 2018). Aunque existe un cierto consenso científico en la veracidad y contundencia de sus argumentos y conclusiones, y ha sido el trabajo más citado en economía ecológica (Costanza et al., 2004), su mensaje no ha sido incorporado de forma general a políticas gubernamentales. Quizás por esta razón, las sociedades humanas están hoy mucho más cerca de la “tragedia” que hace 50 años.

Para el título de su ensayo utilizó de forma metafórica las palabras *tragedy* con el sentido de que (con esa acción) ocurren acontecimientos inevitables y *commons* para referirse a bienes comunes. Precisamente tuvo que matizar, no

sin sorna, el significado de este último término 25 años más tarde por las críticas recibidas. Tuvo que aclarar que no se refería a los *manage commons*, que los textos socialistas utilizan para referirse a la gestión común de un recurso, o en la privatización de empresas, sino a bienes comunes “no administrados” (Hardin, 1998). Hardin consideraba que su pensamiento era contrario al del economista Adam Smith quien, en el siglo XVIII, sentó las bases del capitalismo moderno e inspiró a los defensores del mercado libre con su idea de la “mano invisible”. Es decir, un individuo (un carnicero o un panadero, p. ej.) “buscando solamente su propio beneficio” logra “dejarse llevar por una mano invisible que promueve... el interés público” (al procurarnos nuestro sustento; Smith, 1776). Sin embargo, el punto crucial de la idea de Hardin, es que las decisiones tomadas de forma individual sobre bienes de la comunidad no son las óptimas para la sociedad en su conjunto. Dicho de otra forma y usando un lenguaje más ecológico, los óptimos de explotación de los recursos comunes difieren para los individuos y las comunidades.

La idea desarrollada en “La tragedia de los comunes” partió de la lectura de la publicación en 1833 de una conferencia impartida por William Forster Lloyd, profesor de economía política, sobre el uso excesivo de un bien común por parte de los plebeyos (*commoners*; aquellos con derechos de uso y acceso a él) que afectaría necesariamente a la sostenibilidad del mismo. Podemos ilustrar el conflicto de intereses individuales vs. comunes y la sostenibilidad o no de un recurso con un ejemplo. Imaginemos un pastizal cuyo uso es compartido por varios pastores. Supongamos que el llevar el ganado a pastar implica unos beneficios ($f(v)$) en términos de producción total de le-

che, y unos costes de pastoreo ($p_v v$). Los beneficios netos irán aumentando conforme aumenta el número de vacas que se llevan a pastar. Sin embargo, los beneficios no crecerán de forma lineal, sino de forma asintótica. Una vez que el consumo sobrepase la producción de pastos ($p_v v$ ”, i.e. pastos no sostenibles), los beneficios por cabeza de ganado irán disminuyendo conforme aumente el rebaño. Si el dueño del ganado y del pasto fuera el mismo, optimizaría las ganancias netas maximizando el número de vacas que permitieran la sostenibilidad del pasto (en la **Figura 1**, sería el número de vacas que maximizan la distancia entre la curva de beneficios y la de costos, v'). Sin embargo, si el pasto es comunal, y todos los ganaderos llevaran allí sus vacas, el óptimo de explotación para cada una de ellos sería llevar tantas vacas como pudieran mientras que el coste de pastoreo fuera menor que las ganancias (punto de corte en la **Figura 1**, v''). Por tanto, la optimización desde el punto de vista individual llevaría inevitablemente al agotamiento de los recursos comunes. En nuestro ejemplo, cada pastor observa que, a pesar de ese uso que hace, queda suficiente pasto no consumido como para pensar que podría alimentar aún a más cabezas de ganado, obteniendo así una mayor rentabilidad individual (los pastos son comunes pero los beneficios son individuales). Consecuentemente, uno tras otro, cada pastor podría ir aumentando el número de vacas (v''). Para cada pastor llevar una vaca más a pastar produce un beneficio económico positivo y seguirá añadiendo más vacas al campo comunal hasta que el beneficio de llevar una vaca más sea cero ($f(v)/v - p_v = 0$). Durante este proceso, cada uno de los pastores ha ido optimizando su economía utilizando un recurso común, llegando a un con-

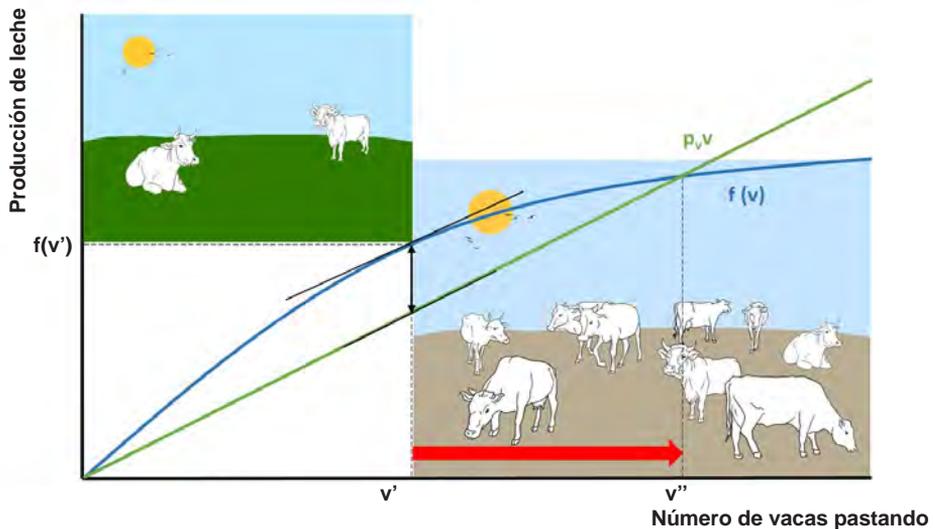


Figura 1. Representación del conflicto de intereses individual vs. común y la sobreexplotación de un recurso (dibujos: Cristina Soler Zamora). Abreviaturas: $f(v)$ beneficios individuales en términos de producción total de leche por vaca; $p_v v$, costes de pastoreo por vaca; v' , número de vacas que maximiza la distancia entre la curva de beneficios y la de costes; v'' , número de vacas que iguala los beneficios y los costes.

flicto individual de intereses y, si esto ocurre sin tener en cuenta el óptimo de explotación del recurso (sostenibilidad del recurso), éste se agotará irremediablemente. Consecuentemente, todos los animales pueden perecer debido al agotamiento o sobreexplotación del recurso. Según Hardin, la libertad de uso de los recursos comunes resulta en la “ruina para todos”.

Esta idea de que la sobreexplotación de los recursos comunes (ganaderos, pesqueros, etc.) como consecuencia de la libre explotación individual produce la ruina para todos puede extenderse a la generación de problemas por contaminación del aire, del agua o el suelo, y finalmente al cambio global. Es fácil argumentar que verter desechos propios en el medio ambiente común es menos costoso para el que los produce que depurarlos o reciclarlos; los

costos de la contaminación se reparten entre los miembros de la comunidad, mientras que los beneficios de la producción asociada son privados. Como en el caso de la sobreexplotación de un recurso, el problema de la contaminación es una consecuencia de la densidad de la población. Cuando un solo individuo, o unos pocos, contaminan o aprovechan un recurso común, los procesos naturales regeneran ese recurso de manera más o menos rápida pero, si la densidad poblacional es elevada, el recurso colapsa o se agota. Un ejemplo esclarecedor es el, hasta hace pocas décadas, erróneo pensamiento de los inagotables recursos de los océanos, que actualmente está llevando cerca de la extinción a diferentes especies de peces y ballenas y al deterioro de forma irreversible del conjunto de la vida marina. La explicación de que la causa del ago-

tamiento de recursos se encuentre en la superpoblación (tanto humana como de cualquier otro ser vivo) parte del conocido *Essay on Population* de Malthus (1798). Malthus expuso que, mientras que la producción de alimentos aumenta de manera aritmética, el número de organismos lo hace exponencialmente, llegándose a producir el agotamiento de los recursos; lo que se conoce como catástrofe malthusiana (**Fig. 2**).

Hardin llamaba la atención sobre la posibilidad de que la catástrofe malthusiana y la tragedia de los bienes comunes estuvieran relacionadas estrechamente. La superpoblación en sí misma podría ser interpretada en escenarios de explotación de bienes comunes que, según Malthus, provocarían el agotamiento de los recursos en un proceso de la tragedia de los comunes muy similar al ejemplificado con las vacas y los pastos. La tasa de reproducción óptima para el individuo es mayor que la tasa de reproducción óptima para la población y, en algunos sistemas, tiene efectos negativos para la población, que puede verse drásticamente reducida como consecuencia del agotamiento de los recursos y ser determinante en la dinámica poblacional. Por ejemplo, en la oveja de Soay en la isla de Hirta, un modelo ideal de estudio en la dinámica planta–herbívoro, pues no hay depredadores de gran tamaño ni competidores por el alimento, la disminución de recursos en invierno es la causa principal de la elevada mortalidad de las ovejas. Las estimas realizadas en una subpoblación de la isla, en base a los requerimientos energéticos de las ovejas y de los cambios en la biomasa de plantas observada, sugería que la disponibilidad de vegetación por individuo en invierno era insuficiente para cubrir los requerimientos de los animales cuando el número de hembras

en verano excedía de 300 ovejas. Las ovejas y la vegetación de Hirta están en un equilibrio estable producto de la interacción dinámica de los animales y las plantas, en la que la productividad y la composición de la vegetación determinan la densidad de población media de la oveja de Soay (Clutton–Brock and Pemberton, 2004). Para evitar dicha catástrofe malthusiana en humanos, Hardin planteó la posibilidad de limitar la natalidad (consideraba “intolerable” la libertad de reproducción en los humanos). Con ello se podría lograr una población óptima ya que, “en un mundo finito, la población que puede albergar debe ser también finita” y se mantendría una explotación de los recursos constante, cercana a la que permitiera la sostenibilidad de los mismos. Sin embargo, este “comportamiento consciente” de restringir la natalidad sólo funcionaría si no existiera un sesgo en el comportamiento reproductor que maximizara la reproducción individual. Con una argumentación claramente darwiniana, Charles Galton Darwin, nieto de Charles Darwin, concluía que los individuos que no atendieran a los llamamientos de limitar la reproducción (a los que denominaba *Homo progenitivus*) tendrían más hijos que los más conscientes del problema (llamados *Homo contraciens*), que tendrían una paternidad responsable, y que las diferencias en esas estrategias se acentuarían con el tiempo (Tax, 1960). Ese “comportamiento consciente” implicaría producir un número reducido de hijos. Si ahora imaginamos que no se expresara en todos los individuos de la población con la misma fuerza y que se heredara de padres a hijos, la limitación del número de descendientes a nivel poblacional, limitando el número de habitantes, no resolvería el problema, solo lo atrasaría. En ese caso, la proporción de hijos

de *Homo progenitivus* iría aumentando exponencialmente de generación a generación en relación a las de individuos con el carácter “comportamiento consciente” hasta que estos desaparecieran y, con ellos, la estrategia de limitar el número de habitantes. Es decir, el tener consciencia de estas tragedias, implicaría la autoeliminación de los individuos con este carácter (*Conscience is self-eliminating*) ya que los procesos evolutivos seleccionarían un comportamiento egoísta, no solidario en relación con la reproducción.

La relación entre natalidad y tragedia de los bienes comunes ocurre más raramente en poblaciones naturales ya que tienen más difícil explotar los recursos hasta su agotamiento y existen mecanismos de ajuste de la natalidad a los recursos disponibles para cada individuo. Por ejemplo, en aves, se ha seleccionado un tamaño de puesta óptimo para cada especie ya que puestas demasiado grandes conducirían a una menor supervivencia de la descendencia, por los costos que conlleva cuidarlos adecuadamente a todos (Lack, 1954). Sin embargo, en nuestra sociedad, comprometida con el estado de bienestar, no se permite que la reproducción excesiva castigue a los padres no previsores dejando morir de hambre a los hijos que no pudieran alimentar, ya que iría en contra de la Declaración Universal de los Derechos Humanos por las Naciones Unidas de 1967, que ve en la familia la unidad fundamental de la sociedad y en su derecho de decidir el tamaño familiar. Hardin se preguntaba cómo debería tratarse a cualquier grupo (familia, religión, raza...) que utilizara la sobre-reproducción como norma para asegurar su expansión aprovechando los bienes comunes.

Aunque, a lo largo del texto original, el autor incide varias veces sobre

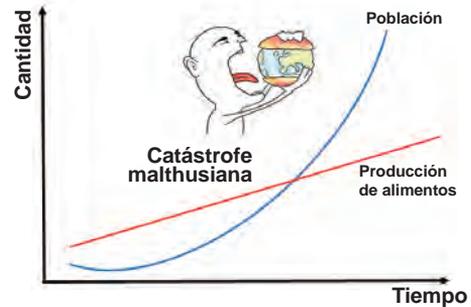


Figura 2. Representación de la forma de crecimiento de los alimentos y de la población según Malthus (1798). La ley de Malthus predecía la ocurrencia en el futuro de la llamada catástrofe malthusiana en la que los recursos alimentarios serían insostenibles para mantener la población mundial (dibujo: Cristina Soler Zamora).

el problema demográfico producido por la libertad de reproducción de los humanos, su argumentación es válida para cualquier situación en la que la sociedad inste a un individuo que explota los recursos comunes a que, por conciencia social y por el bien general, deje de hacerlo. “El individualismo es apreciado porque produce libertad, pero el don es condicional: cuanto más supera la población la capacidad de carga del medio ambiente, más libertades deben ser abandonadas” (Hardin, 1998). De ahí que otras soluciones esgrimidas por Hardin para mantener una explotación de recursos constantes, cercanos a la sostenibilidad se basan en el control gubernamental. Mediante la imposición de leyes coercitivas (de coerción mutua entre los implicados) o de mecanismos fiscales que protejan los recursos comunes se podría conseguir la sostenibilidad de los bienes comunes. Los ejemplos que Hardin utiliza son fácilmente entendibles y a menudo

son aplicados con nuestro beneplácito. A muchos ciudadanos les gustaría robar bancos, pero no están dispuestos a permitir que otros lo hagan. Así, la mayoría de nosotros, actuando juntos, aprobamos leyes que coartan la libertad del individuo para robar bancos. También se utiliza el cobro de impuestos como medio coercitivo para moderar el uso de un recurso común. En el centro de las ciudades se usan parquímetros que cobran el estacionamiento para periodos cortos, pero se ponen multas para evitar que el periodo sea excesivamente largo. No se prohíbe sino que se persuade (o coarta) al ciudadano para que no abuse del recurso.

A lo largo de estos 50 años desde la publicación de *The tragedy of the Commons*, el ensaño ha influido en las discusiones de distintas disciplinas, pero no sin albergar críticas. Las críticas principales partieron de la politóloga Elinor Ostrom, quien cuestionó las soluciones achacadas a Hardin para proteger los recursos comunes: *either socialism or the privatism of free enterprise* (Ostrom et al., 1999). Sin embargo, ni la lectura de su artículo de 1968 ni el de 1998 dejan claro que esas sean las únicas soluciones que propone. Simplemente Hardin argumentaba que las soluciones podrían ser cualquiera que limitaran el libre uso para evitar la destrucción del recurso común. Ostrom estudió a lo largo de su carrera numerosos casos que mostraban cómo gestionar y disponer colectivamente de recursos escasos y ha sido la primera (y única) mujer en recibir el Nobel de Economía en 2009. Fue elegida por “proporcionar evidencias sobre las reglas y mecanismos de ejecución que rigen la explotación de los recursos compartidos” (<https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/popular-economicsciences2009.pdf>). A pesar de las críticas, hay bastante

consenso en que, en sociedades de pequeño tamaño y cuando los problemas colectivos son locales, las normas que benefician a la comunidad se expanden y se mantienen entre los individuos que las componen. Los problemas más difíciles de solucionar son aquellos que, como el cambio global, se extienden a muchas comunidades diferentes y requieren que las poblaciones que comparten pocas normas o instituciones políticas creen nuevas para solucionarlos (Barrett, 2018; Boyd et al., 2018).

La metáfora de Hardin puso de manifiesto los problemas y consecuencias que la superpoblación y la explotación incontrolada de los recursos podrían llegar a tener hace ya más de 50 años. Desde entonces, “tragedias”, ya detectadas entonces, se han ido agravando tal y como se predecían. Ejemplos de ello son la sobre-explotación de algunos importantes recursos comunes, como el colapso de la pesca del bacalao en el Atlántico Norte y la emisión excesiva de contaminantes, tanto a nivel global (p. ej., gases de efecto invernadero) como a niveles regional o local (p. ej., vertidos de fertilizantes y desechos urbanos a los cursos de agua) (Lant et al., 2008; Boyd et al., 2018). Así, las principales amenazas de la pérdida de un recurso común, como es la biodiversidad (destrucción, fragmentación y degradación de hábitats, sobrexplotación, especies invasoras, transmisión de enfermedades y cambio climático), son todas causadas por un continuo incremento del uso de los recursos naturales del planeta, como resultado de las actividades y expansión de las poblaciones humanas (Primack, 2014). Hemos olvidado, o poco se ha tenido en cuenta, lo que se nos explicaba en este artículo clásico, en el que se llamaba la atención sobre la urgencia para las sociedades humanas de poner a punto

mecanismos que permitan aproximar los óptimos de uso de los recursos comunes por parte de los individuos y de las comunidades hasta que coincidan.

¿Qué papel jugamos los científicos (ecólogos, etólogos, biólogos de la conservación, etc.) en buscar y encontrar una solución real a esa pérdida o sobreexplotación de los recursos comunes? Debemos partir del problema de que los recursos naturales están a menudo infravalorados por la sociedad moderna. Y que, en una sociedad capitalista como la nuestra, los gobiernos y agencias oficiales centran sus decisiones políticas sobre estimaciones económicas, principalmente. De ahí que, para poder conservar los recursos comunes, se vea como necesario dar un giro en el pensamiento político y social para que se reconozca la verdadera importancia de los recursos comunes y su papel para la humanidad. En una sociedad de libre mercado, y como consecuencia de las actividades económicas humanas, se pasan a menudo por alto costes ocultos (denominados externalidades) que producen efectos medioambientales negativos sobre los recursos de acceso común. El desarrollo de dos áreas de investigación relativamente recientes y estrechamente relacionadas (economía ambiental y economía ecológica) ayudan a incluir análisis de costes económicos en la pérdida de los recursos comunes con el argumento de que, como a menudo las causas últimas de un daño medioambiental son económicas, la solución debe incorporar principios económicos (Kubiszewski et al., 2013). Además del valor directo que un recurso ofrece a un individuo o a la comunidad que lo explota, los valores de uso indirecto deben ser tenidos cada vez más en cuenta. Son los llamados servicios ecosistémicos (Primack, 2014) que consieran qué valores pre-

sentes y futuros que se pueden asignar a un recurso sin que se vean destruidos o aprovechados durante su uso. El valor de estos bienes públicos es enorme y los cálculos económicos de sus valores de uso indirecto son cada vez más precisamente ajustados por los economistas. Pero, volviendo de nuevo al ensayo de Hardin, el mismo tipo de soluciones, coercitivas y fiscales, que él esgrimía en su ensayo, son los que están aplicando actualmente muchos gobiernos para evitar la degradación y destrucción de dichos servicios ecosistémicos: tasas por contaminación del aire mediante combustibles fósiles; cargos por uso del agua y vertidos de aguas residuales; compensación del uso de un terreno con otro sin cultivar; pagos por daños causados por insecticidas, herbicidas y fertilizantes vertidos al medioambiente, etc. (Bateman et al., 2013). Parece que incluir los servicios ecosistémicos en las ecuaciones de costos beneficios de distintas actividades económicas es una solución moderna a problemas de conservación, pero en realidad no es más que un método que permite repartir los costos de uso de un recurso común en función del uso individual. Es importante no olvidarnos de los clásicos para no creer que esta es una solución definitiva ya que, por ejemplo, los servicios ecosistémicos y las tasas medioambientales no se pagan en la misma moneda (recursos biológicos vs. recursos monetarios). Si lo que se pretende es disuadir de la sobreexplotación, la solución no puede plantearse solo en términos monetarios de compensación económica, sino que ésta debe de considerarse en términos de restitución de los recursos comunes sostenibles. Hasta que no se consiga, la “tragedia de los comunes” seguirá vigente. Las tendencias actuales sobre el deterioro de distintos tipos de recursos

comunes no nos hacen ser optimistas. Es importante volver a los clásicos para no olvidar la naturaleza del problema y de las soluciones.

Garrett Hardin y su esposa practicaban lo que predicaban, recolectaban agua de lluvia para beber, reciclaban, compostaban, y evitaban a los periodistas porque malgastaban el papel de periódico. Se suicidaron en 2003 a la edad de 88 y 81 años, respectivamente, en su casa (Holden, 2003). The Garrett Hardin Society (<http://www.garretthardinsociety.org/index.html>) está dedicada a la preservación de los escritos e ideas de Garrett James Hardin. Una de las frases que se recogen en dicha página web expresa su clara preocupación por el futuro de la humanidad: *That's what I am trying to do: shake people up so that our grandchildren will live in a better world.*

Bibliografía

- Barrett, S., 2018. Choices in the climate commons. *Science*, **362**(6420): 1217, Doi: 10.1126/science.aaw2116.
- Bateman, I. J., Harwood, A. R., Mace, G. M., Watson, R. T., Abson, D. J., Andrews, B., Binner, A., Crowe, A., Day, B. H., Dugdale, S., Fezzi, C., Foden, J., Hadley, D., Haines–Young, R., Hulme, M., Kontoleon, A., Lovett, A. A., Munday, P., Pascual, U., Paterson, J., Perino, G., Sen, A., Siriwardena, G., van Soest, D., Termansen, M., 2013. Bringing Ecosystem Services into Economic Decision–Making: Land Use in the United Kingdom. *Science*, **341**: 45–50.
- Boyd, R., Richerson, P. J., Meinzen–Dick, R., De Moor, T., Jackson, M. O., Gjerde, K. M., Harden–Davies, H., Frischmann, B. M., Madison, M. J., Strandburg, K. J., McLean, A. R., Dye, C., 2018. Tragedy revisited. *Science*, **362**(6420): 1236–1241, Doi: 10.1126/science.aaw0911.
- Costanza, R., Stern, D., Fisher, B., He, L., Ma, C., 2004. Influential publications in ecological economics: A citation analysis. *Ecological Economics*, **50**: 261–292.
- Clutton–Brock, T., Pemberton, J., 2004. *Soay Sheep. Dynamics and selection in an Island population*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hardin, G., 1968. The tragedy of the commons. *Science*, **162** (3859): 1243–1248, Doi: 10.1126/science.162.3859.1243.
- 1998. Extensions of “The tragedy of the commons”. *Science*, **280** (5364): 682–683, Doi: 10.1126/science.280.5364.682.
- Holden, C., 2003. ‘Tragedy of the Commons’ author dies. *Science*, **302** (5642), 32, Doi: 10.1126/science.302.5642.32b.
- Kubiszewski, I., Costanza, R., Franco, C., Lawn, P., Talberth, J., Jackson, T., Aylmer, C., 2013. Analysis Beyond GDP: Measuring and achieving global genuine progress. *Ecological Economics*, **93**: 57–68, Doi: 10.1016/j.ecolecon.2013.04.019.
- Lack, D., 1954. *The Natural Regulation of Animal Numbers*. Clarendon Press, Oxford.
- Lant, C. L., Ruhl, J. B., Kraft, S. E., 2008. The Tragedy of Ecosystem Services. *BioScience*, **58**(10): 969–974.
- Lloyd, W. F., 1833. *Two Lectures on the Checks to Population*. Oxford University Press, Oxford.
- Malthus, T. R., 1798. *An Essay on the Principle of Population*. John Murray, London.
- Ostrom, E., Burger, J., Field, C. F., Norgaard R. B., Policansky, D., 1999. Revisiting the commons: Local lessons, global challenges. *Science*, **284**: 278–282.
- Primack, R. B., 2014. *Essentials of Conservation Biology*. Sinauer Associates, Incorporated.
- Smith, A., 1776. *An Inquiry into the Nature and Causes of the Wealth of Nations*. William Strahan & Thomas Cadell, London. https://en.wikisource.org/wiki/The_Wealth_of_Nations.
- Tax, S. (Ed.), 1960. *Evolution after Darwin. Vol. 2*. University of Chicago Press, Chicago.

TESIS EN ETOLOGÍA

Editor: Francisco Valera

Departamento de Ecología Funcional y Evolutiva, EEZA–CSIC, Carretera de Sacramento s/n, 04120 La Cañada de San Urbano, Almería, España.

E-mail: pvalera@eeza.csic.es

PhD Dissertation Reviews in Ethology

This section includes the abstracts of some of the PhD dissertations submitted in Spain during the 2017–2018 academic year. They are in alphabetical order by University where they were defended and, then, by year and alphabetical order of the author's surname. This section also includes a link to access the full version of the reviewed thesis when available. In order to achieve an adequate view of the ethological research developed in our country, it is necessary the collaboration of supervisors and doctoral students, for which we appreciate the submission of summaries of the work carried out to the editorial committee (pvalera@eeza.csic.es).

Esta sección incluye los resúmenes de algunas de las Tesis Doctorales defendidas en España en el curso 2017–2018, con el fin de informar acerca del estado actual de la investigación etológica en nuestro país. Se presentan en inglés para facilitar la difusión de esta información. Se ha seguido una ordenación alfabética por Universidades y, dentro de ellas, por año y autor. El resumen incluye un vínculo que permite acceder a la versión completa de la tesis reseñada en caso de que esté disponible. Para lograr una visión adecuada de la investigación etológica desarrollada en nuestro país es necesaria la colaboración de directores y doctorandos por lo que agradecemos el envío de resúmenes de los trabajos realizados al comité editorial (pvalera@eeza.csic.es).

Ecology and population dynamics of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) in Spain

Author: Francisco José Buenestado Malfeito
(paco.buenestado@gmail.com)

Supervisors: R. Villafuerte Fernández, F. Sánchez Tortosa

Academic year: 2017–2018

Universidad de Córdoba

Summary

The red-legged partridge is classified as Species of European Conservation Concern category 2 based on its marked population declines, particularly in the second half of the 20th century, and its limited distribution. Habitat quality plays an important role in the population dynamics of this species. We radio tracked for the first time free-living individuals from four different populations in southern and central Spain. This enabled us to define the spectrum of habitats used by the species and their relative importance, what allows a better understanding of the causes of mortality and the population dynamics and, therefore, a proper management of this species. Habitat selection at two levels (home range and landscape) and the descriptors influencing home range were studied considering gender, age, body condition, season, landscape structure, agricultural management and species daily cycles. The intensity of habitat selection was affected by the average patch size in each study area. Three variables affected home range: patch size and agricultural disturbance increased home range whereas the abundance of edges decreased it. Food availability and type of vegetal cover (the latter being important as an anti-predatory defence) were key for habitat selection. Our models showed that, after controlling the effects of pesticides and herbicides, marginal areas and edges were particularly important during the breeding season, probably because these habitats provide both food and refuge. The home range of a red-legged partridge population can be a good indicator of habitat quality at least in natural populations. The decline of this species in Spain was preceded by agricultural transformations such as land concentration and an increase in cultivated surface, which increased patch size and decreased edge and marginal areas. Regardless the spatial scale considered, any management action neglecting habitat quality is doomed to failure or will not produce satisfactory results for the conservation of this species. Four causes of death were recorded during this study: hunting, predation, disease and trauma. Body condition, the diversity of vegetation and the number of edges were positively related to the survival of the red-legged partridge, whereas the last two variables were negatively related to predation and disease risks. The survival rates in agricultural areas with low management were

more constant and higher all year round than the ones found in intensely managed areas. Predation was commoner in the first ones whereas losses due to disease were more frequent in heavily managed areas during the annual cycle. Diseases played an important role in the population dynamics of the red-legged partridge, being the most important cause of death for females in our study areas. This was related to the high density of individuals that favoured contact and aggregation. Hunting was also an important cause of mortality that can lead to the decline of populations. Casualties due to hunting increased with low cover of scrubland and with high frequency of agricultural practices. The likelihood of disease losses decreased with landscape diversity, and increased with low occurrence of scrubland and edges. Thus, landscape diversity was important for the survival of partridges and, consequently, is a key factor in the population dynamics of this species. This study reports for the first time an outbreak of avian pox in a dense, free-living red-legged partridge population in an agricultural area, affecting 41% of the juveniles. Infected individuals belonged to family groups and were not distributed randomly. The prevalence of avian pox was 30.3% in June and 60.6% at the end of the summer. The gregarious behaviour of young partridges at night could facilitate contagion by physical contact within a family group. None of the 45 radio-tagged adults recaptured throughout the study period showed injuries. We stress the need of knowing the potential negative effects derived from animal manipulation in to determine its likely influence in the information sought. The location of the radio transmitter (in our case on the neck), weather conditions and the method and timing of capture are risk factors that should be considered in further studies.

Key words: *Alectoris rufa*, management-conservation, radio tracking, Spain, wild populations

Palabras clave: *Alectoris rufa*, manejo-conservación, poblaciones silvestres, radioseguimiento, España

[*Ecología y dinámica poblacional de la perdiz roja (Alectoris rufa) en España.*]
https://www.researchgate.net/publication/329071992_ECOLOGIA_Y_DINAMICA_POBLACIONAL_DE_LA_PERDIZ_ROJA_Alectoris_rufa_EN_ESPANA_Memoria_presentada_por

Role of uropygial gland volume in the host–parasite interaction

Author: Sergio Magallanes Argany (sergioma@unex.es)

Supervisors: A. Marzal Reynolds, L. García–Longoria Batanete

Academic year: 2017–2018

Universidad de Extremadura

Summary

The general aim of this thesis was to explore the role of the uropygial secretion on host–parasite interactions in different bird species. We specifically investigated the role of the preen gland as a defensive barrier against malaria parasites and its potential contribution to bird fitness. Our outcomes showed that malaria–infected house sparrows (*Passer domesticus*) had larger uropygial gland and higher antimicrobial activity on its secretion than uninfected ones. We also found that the effect of gland size on survival prospects of house martins (*Delichon urbicum*) depended on malaria infection, so that infected house martins with larger uropygial glands were better able to survive to the next breeding season. In addition, we showed that reproductive success of barn swallows (*Hirundo rustica*) varied with the interaction term between uropygial gland volume and abundance of conspecifics: individuals with larger uropygial gland had higher breeding success



Bird collecting its uropygial secretion for grooming and maintenance of the plumage.
Author: Luna García–Longoria Batanete.

when living in environments with higher abundance of conspecifics. Moreover, we revealed that invasive house sparrows from Peru had larger uropygial gland and higher antimicrobial activity of the uropygial secretion than native, Spanish house sparrows, thus suggesting a role of this defensive mechanism on invasion success. Finally, we found that mean corrected uropygial gland volume was significantly larger in bird species from the tropics than from temperate areas, which is consistent with the idea that the relative size of this defensive organ is driven by selection imposed by parasites.

Key words: antimicrobial activity, avian malaria, uropygial secretion.

Palabras clave: actividad bactericida, malaria aviar, secreción uropigial.

[El papel de la glándula uropigial en la interacción hospedador–parásito.]

<https://www.researchgate.net/publication/327824357> El papel de la glándula uropigial en la interacción hospedador–parásito

Waterbird populations role in anthropogenic wetlands of south Europe

Author: Manuel Parejo Nieto (mparejonieto@unex.es)

Supervisors: J. A. Masero Osorio, C. Corbacho Amado

Academic year: 2017–2018

Universidad de Extremadura

Summary

Waterbird use of rice fields has increased as natural wetlands continue to decline, and currently many migratory waterbird species on several flyways depend on the former cropland. The aim of this thesis was to deepen knowledge of the foraging ecology of waterbirds in rice fields, with emphasis on dabbling ducks (*Anas* spp.). Information on the geographical origin of dabbling ducks overwintering in rice fields of southern Europe is scarce and mostly limited to ringing recoveries. Male and female dabbling ducks differ in the distance covered between the breeding and wintering grounds. Thus, understanding the geographical origin of both sexes would provide a range-wide perspective of migratory connectivity in dabbling ducks. Furthermore, as many waterfowl species pair up in winter, determining the geographical origin of both sexes would also be useful to explain gene flow and population structure. Within this context, we used intrinsic isotopic markers to assess the geographical origin of male and female Northern pintails *Anas acuta* and Eurasian teal *Anas crecca* wintering in rice fields of Extremadura, a key wintering area for both species that use the Eastern Atlantic Migratory Route. Additionally, we fitted Northern pintails with GPS–GSM tags to complement the isotopic data. Isotopic values ($\delta^2\text{H}$) varied significantly between male and female Northern pintails, suggesting different geographical origins. However, male and female Eurasian teal showed marginal differences in their geographical origin. Data from tagged individuals supported the isotopic data, showing that males can migrate more than 5,000 km to reach their breeding areas. Accordingly, for Northern pintails, pair formation could occur between individuals with different geographical origins, which could contribute to the genetic variability of their offspring. The nocturnal foraging behaviour of migratory dabbling ducks has hampered the study of micro- and macro-habitat use and selection by ducks in the rice fields, which is imperative to design appropriate management strategies for their conservation. Using the cosmopolitan Northern pintail as a model species, we monitored home-range and fine-scale resource selection by GPS-tagged individuals throughout the winter season. Our findings showed that nocturnal space use of Northern pintails is influenced by availability of flooded fields and moonlight levels, whereas nocturnal foraging within rice fields is driven primarily by straw manipulation, water level and

substrate pebble size. Food abundance, rice paddy size, and other environmental and landscape features were not significant predictors. The presence of standing stubble in flooded paddies (water depth range: 9–21 cm) with soft bottoms should therefore be prioritized to improve foraging areas for dabbling ducks. Our findings are of global importance because these management procedures would not increase economic costs or affect rice production, and could be applied for dabbling–duck conservation throughout the world. Lastly, many conservation plans of waterbirds have focused on the conservation of diurnal roosting areas, but these plans should also consider the large areas that these birds may use at night. It is assumed that long–distance migratory dabbling ducks overwintering in south or western Europe store large amounts of fat and, to a lesser extent, proteins as fuel for successful migration. The physiological changes of dabbling ducks at wintering or stopover sites in relation to sex and their next non–stop flights have seldom been studied. We studied body mass changes in wintering male and female Northern pintails. We also measured changes in the levels of plasma triglycerides and total proteins as indices of lipid and protein metabolism, respectively. Both sexes increased their body mass in late winter (pre–migration period) and showed a similar increasing pattern of body mass and plasma metabolites, albeit they did not follow the general pattern described by the “wintering strategy” for migratory dabbling–ducks wintering in western Europe. This was most likely due to the milder environmental conditions (i.e. weather and food availability) in southern Europe, compared to wintering areas at northern latitudes. Lastly, waterbirds can reallocate a considerable amount of nutrients within agroecosystem landscapes. However, their effects on biogeochemical cycles have rarely been quantified. We estimated bird numbers, diet, food supply, and food consumption on rice fields by various overwintering waterbirds species (migratory and resident) in Extremadura’s rice fields. Herein, we modelled the nutrient (N and P) recycling in rice fields, and their transport to reservoirs. The energy consumption by waterbirds ($96,605 \pm 18,311$ birds) on rice fields during winter averaged 89.9 ± 39.0 kJ·m⁻², most of it (89.9%) belonging to foraging on rice seeds (birds removed about 26% of seeds leftover after harvest). Waterbird foraging and roosting in the rice fields recycled more than 24.1 and 5.0 tons of N and P, respectively. Additionally, we estimated that 2.3 tons of N and 550 kg of P were removed from rice fields and transported to reservoirs. The seasonal foraging of wildlife should result in a direct benefit for rice farmers by improving nutrient recycling through defecation by waterbirds. The results shown in this thesis may therefore be especially helpful to implement landscape–scale conservation plans involving management decisions in areas that are important for the conservation of migratory waterbirds.

Key words: anthropogenic wetlands, Extremadura, long–distances migratory dabbling ducks, rice fields, waterbirds

Palabras clave: ánades de superficie migratorios de largas distancias, aves acuáticas, campos de arroz, Extremadura, humedales antrópicos

[Papel de las poblaciones de aves acuáticas en humedales antrópicos del sur de Europa.]

Behavioral, physiological and reproductive effects of predation and avian brood parasitism risk on the reproduction of birds: does fear matter?

Author: Mónica Expósito Granados (moexposit@gmail.com)

Supervisors: J. M. Avilés Regodón, D. Parejo Mora

Academic year: 2017–2018

Universidad de Granada

Summary

Predation and inter-specific avian brood parasitism are two fundamental selective forces that have contributed to modulate the reproductive behavior and life-history strategies of birds. Recently, it has been suggested that, in addition to the direct effects of predation, the risk of suffering predation (fear) could have sub-lethal effects on prey affecting behavioral and reproductive traits in ecological and evolutionary time. In addition, it has not been studied yet whether the fear of suffering brood parasitism could also affect reproductive traits of the hosts or behaviors other than those involved in the defense against parasites. The main objective of this thesis is to identify the indirect or sub-lethal effects of fear of predation and inter-specific brood parasitism in several bird species. To address this objective, we studied possible changes in behaviors, life-history traits and physiology in response to a series of experimental manipulations of predation and inter-specific brood parasitism risk before and during reproduction. Experimental procedures were designed at different spatial scales in a community of non-excavating birds breeding in nest-boxes, and in a population of magpie *Pica pica* parasitized by the great spotted cuckoo *Clamator glandarius*. We evaluated the response to perceived risk through different cues that can be noticed by different communication channels (i.e. olfactory, acoustic and visual cues). This thesis first provides new evidence of the sub-lethal effects of predation and inter-specific brood parasitism on decisions prior to the reproduction of birds in natural environments. These effects have been shown through changes in nest-site choice in host and prey species and have indirect effects on community structure, composition and level of interaction between guilds. We also found effects of the risk of nest predation perceived during reproduction through changes in parental care. However, we did not find clear evidence of the effects of the risk of parasitism on reproductive and physiological traits in a host of an obligate brood parasite, once reproduction had begun. The results also suggest that human activity can be perceived as a risk factor modulating the physiological state of species under population decline, as

a consequence of the alteration and disturbances in their habitats. Therefore, this thesis offers new advances in the study of the risk of predation and the risk of cuckoo parasitism in ecological time of great interest both in the field of Evolutionary Ecology and Behavior with application in Animal Conservation and Management. In addition, I suggest that the study of multiple cues is necessary to fully understand the effects of risk, given that birds may evaluate threats perceived by cues through different communication channels.

[*Efectos comportamentales, fisiológicos y reproductivos del riesgo de depredación y del parasitismo de cría en la reproducción de las aves: ¿importa el miedo?*]
<http://digibug.ugr.es/>



Participants in the interactions of predation and parasitism studied in the thesis (from left to right): the European roller (*Coracias garrulus*), the little owl (*Athene noctua*), the Eurasian scops owl (*Otus scops*), the ladder snake (*Zamenis scalaris*), the magpie (*Pica pica*) and the great spotted cuckoo (*Clamator glandarius*).
Author: Mónica Expósito-Granados.

Key words: birds, ecology of fear, parasitism risk, predation risk, sub-lethal effects
Palabras clave: aves, ecología del miedo, efectos sub-letales, riesgo de depredación, riesgo de parasitismo

Defences against brood parasitism in the common blackbird (*Turdus merula*): plasticity, physiology and evolution

Author: Francisco Ruiz Raya (ruizraya@ugr.es)

Supervisor: M. Soler Cruz, J. D. Ibáñez Álamo

Academic year: 2017–2018

Universidad de Granada

Summary

The severe fitness costs imposed by avian brood parasitism select for the evolution of anti-parasitic defences in hosts, setting the stage for a co-evolutionary arms race where brood parasites evolve adaptive counter-defences, which select for improved host defences, further parasitic adaptations, and so on. Though these adaptations can be found in all stages of the breeding cycle, the main defence against brood parasitism is the rejection of the parasitic egg. Egg rejection is a complex process where several stages can be differentiated: egg recognition, decision-making and egg-rejection itself. Throughout this thesis, the study of egg rejection is approached by focusing on those factors that govern each of these stages. Egg ejection can be carried out by deserting the parasitized nest, ejecting the foreign egg, or burying it in the nest. The potential costs associated with each of these egg-rejection mechanisms are very different, so that the host's choice is modulated by a balance between costs and benefits of the anti-parasitic response. Chapter 1 explores whether nest desertion can be considered an egg-rejection mechanism in medium or large-sized hosts, who would be able to eject the parasitic egg. Results prove that nest desertion cannot be considered a response unequivocally directed to brood parasitism in the common blackbird *Turdus merula*, a medium-sized potential host of the common cuckoo *Cuculus canorus*. Therefore, future studies on egg rejection using similar species should cautiously consider nest desertion as a response to brood parasitism. Different traits of parasitic eggs (mass, colour and size) affect specific stages of the egg-rejection process including the host decision-making, which may result in the acceptance of previously recognized eggs. Chapter 2 shows that hosts are not willing to assume the potential costs associated to the ejection of a slightly heavier egg. This low motivation turns out in acceptance decisions, confirming that egg recognition is not necessarily followed by egg rejection. Chapter 3 goes one step further showing how the different stages of the egg-rejection process are independently impacted by different characteristics of parasitic eggs. This chapter evidences that colour mimicry hampers egg recognition (the first stage of the process) and leads to egg acceptance. Though egg size does not seem to affect recognition, it does delay the decision to eject (the second stage of

the process) and imposes mechanical restrictions on the action stage (the third stage). The existence of such acceptance decisions implies that the egg–rejection rate does not necessarily reflect the egg–recognition abilities of hosts. Given its importance in regulating animal behaviour, endocrine pathways are excellent candidates to continue unravelling the proximate mechanisms underlying egg rejection. Thus, chapter 4 investigates how hosts adjust their hormonal state to deal with parasitic eggs, as well as the potential effects of these adjustments on the physical state of hosts. Results show that parasitic eggs can be a hormonal stressor for hosts. Parasitized individuals showed higher corticosterone levels and lower body condition than non–parasitized ones. Furthermore, prolactin levels indicated that blackbirds tend to maintain the parental effort even when parasitized, which might explain the absence of nest desertion in response to experimental parasitism. The key role that host decision–making play in anti–parasitic defences suggests that plastic responses are common among hosts. Chapter 5 reviews the evidence of plastic defences against parasitic eggs, showing that phenotypic plasticity in egg rejection is less widespread than might be expected. This chapter examines the factors that favour the evolution of phenotypic plasticity, as well as the importance of plastic defences in the co–evolutionary relationship between brood parasites and their hosts. On the other hand, chapter 6 provides experimental evidence on the evolutionary origin of the egg–rejection abilities exhibited by potential host species not currently impacted by interspecific brood parasitism, as is the case of blackbirds. According to the results, the most probable origin of the egg–rejection abilities in blackbirds is a past exploitation by interspecific brood parasites. Current absence of interspecific brood parasitism in some potential host species might be due to their successful anti–parasitic defences, which can persist even after speciation events. In chapter 7, we investigated whether there are sex differences in egg rejection, which is particularly relevant in species in which incubation relies exclusively on females. Contrary to conventional theory, we found that male blackbirds are able to recognize and eject parasitic eggs. However, recognition abilities of males are less developed than those of females, probably because they do not participate in egg incubation. According to the new theoretical framework in the field of animal decision–making, the results of this thesis highlight the need to update some terms frequently used in egg–rejection studies, as well as the inclusion of new concepts to future studies. In chapter 8, we propose an updated terminology advocating for the consistent use of terms in future studies on egg–rejection. Overall, this thesis provides significant advances in our understanding of the co–evolutionary interactions between brood parasites and hosts, particularly in relation to the main anti–parasitic defences: egg rejection. All these results show egg–rejection is a complex and potentially plastic process that is modulated by the cognitive abilities of hosts, the environmental context, host’s physiology and the characteristics of the parasitic egg.

Key words: avian brood parasitism, co–evolution, common blackbird, eco–physiology, egg ejection

Palabras clave: coevolución, ecofisiología, expulsión de huevos, mirlo común, parasitismo de cría

[*Defensas frente al parasitismo de cría en el mirlo común (Turdus merula): plasticidad, fisiología y evolución.*]

Assessment of the culture conditions of breeding wedge soles (*Dicologlossa cuneata*) and integrative study on its physiology and behavior in captivity

Author: Elena de la Roca Marchena (elenalaroca@hotmail.com)

Supervisors: M. Herrera Rodríguez, A. Canalejo Raya

Academic year: 2017–2018

Universidad de Huelva

Summary

In recent years, aquaculture is gaining an increasing importance because natural populations of commercial species are being strongly threatened by uncontrolled fishing activity, marine pollution and other factors that could lead to the extinction of certain species. However, in Spain only seven species are reared on a commercial scale: sea bass (*Dicentrarchus labrax*), sea bream (*Sparus aurata*), turbot (*Scophthalmus maximus*), red tuna (*Thunnus thynnus*), meagre (*Argyrosomus regius*), Senegalese sole (*Solea senegalensis*) and eel (*Anguilla anguilla*). Thus, it is necessary to diversify the species to be cultivated by the Spanish marine aquaculture, and the wedge sole (*Dicologlossa cuneata*) appears as a convenient candidate due to its



Detail of the infrared sensor to activate the self-demand feeders.
Author: Elena de la Roca.

high commercial value and its high growth rate and fertility. This requires a comprehensive research to reach the effective zootechnical knowledge of the species. In this context, the general aim of this PhD thesis is to study and develop new knowledge on the culture of the wedge sole, based mainly on the physiological and behavioral responses to stress as related to the culture conditions. Thus, my thesis tries to evaluate the culture conditions during the breeding of the wedge sole, focusing on two important parameters, density and feeding, and their consequences on stress physiology of the wedge soles. I also intend an integrated study of the physiology and behavior of this species in captivity, because of its importance for culture optimization. The effects of different culture densities were studied in diverse phases of the life cycle of the species, concluding that the high cortisol values detected from the larval phase of *D. cuneata* seem to be related to the captivity conditions and that the high culture density can be a stressor from 45 days after hatching. In addition, for studies focused on culture density cortisol was a good indicator of stress in short-term studies, but not for chronic stress situations. For this type of studies, muscle enzymes hexokinase (HK) and glutamate dehydrogenase (DH) were considered as good stress indicators. Plasma metabolites were not good markers in any of the cases. Concerning the daily rhythms of locomotion of the species, wedge soles were characterized by nocturnal activity. Nonetheless, and unlike to that observed in other flatfishes, *D. cuneata* showed some swimming activity during the day, seeming to be a behavior inherent to the species and not caused by the captivity conditions. With regard to the feeding strategy, although the wedge sole was able to activate and use self-feeders, this type of strategy did not result adequate in terms of growth and welfare. By contrast, a nocturnal feeding schedule was associated with higher levels of growth and lower levels of stress; hence, it appears as the most appropriate feeding strategy for *D. cuneata*. Finally, based on the integrated responses (physiology and behavior), different coping styles (CS) with specific behavioral and physiological responses were identified: the CS1 group (reactive fishes), which take longer to recover the appetite in a new environment, with a fighting character against a stressor (exposure to air) and high levels of plasma cortisol after the stressor; and the CS2 group (proactive fishes), which recover faster the food intake, fight less in the net and have lower levels of plasma cortisol after exposure to the stressor. Furthermore, differences were detected between both groups in the levels of some enzymatic activities related to energy metabolism such as the glycogen phosphorylase (GPase), which acts on glycogenolysis. In conclusion, this study provides valuable information to improve the methodology of the wedge sole culture and its welfare, which will have a positive impact on the aquaculture productivity and the preservation of this species threatened by overfishing.

Key words: coping style, cortisol, daily rhythms, enzymatic activity, high stocking density

Palabras clave: actividad enzimática, alta densidad de cultivo, *coping style*, cortisol, ritmos diarios

[*Evaluación de las condiciones de cultivo durante la cría de la acedía (Dicologlossa cuneata) y estudio integrado de su fisiología y comportamiento en cautividad.*]
<http://rabida.uhu.es/dspace/handle/10272/14817>

Evolutionary responses to the independent and interacting action of sexual selection and population spatial structure: insights from experimental evolution in a species **with sexual conflict**

Author: Eduardo Rodríguez Expósito (edroex@gmail.com)

Supervisor: F. García González

Academic year: 2017–2018

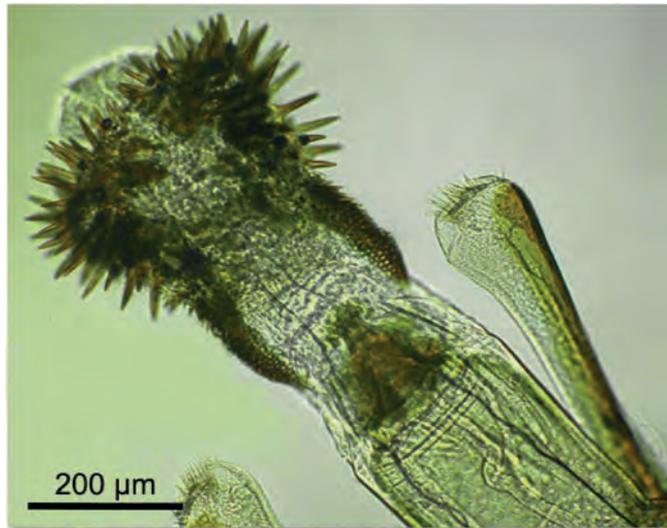
Universidad de La Laguna

Summary

Sexual selection is widely accepted as one of the most potent forces driving the evolution of numerous behavioural, ecological and physiological traits involved in sexual interactions, and consequently, as a force with critical implications for population viability and for evolutionary processes such as reproductive isolation and speciation. An increasing body of research in the last decades has proved that sexual selection operates not only before copulation (pre-copulatory sexual selection) but also after ma-



Callosobruchus maculatus on mung beans: during copulation, male (left) approaches female (right) from the rear. Over the last third of the mating event, females kick males using their hind legs to terminate copulation. Author: Eduardo Rodríguez Expósito.



Male genitalia of *Callosobruchus maculatus*: In this species, males possess a spiny intromittent organ (aedeagus) which damage female reproductive tract during copulation, triggering sexual conflict dynamics. Author: Eduardo Rodríguez Expósito.

ting (post-copulatory sexual selection). Female multiple mating behaviour (polyandry) opens the gates for sexual selection to operate after copulation through mechanisms such as sperm competition, cryptic female choice, and post-copulatory sexually antagonistic selection resulting from differences in the evolutionary interests of the two sexes (sexual conflict). Bearing in mind the costs that mating entails for the organisms, especially for females, the causes underlying the origin and maintenance of polyandry have remained an evolutionary conundrum. It has been hypothesized that polyandry may be a side effect of the selection acting on males to be more competitive and successful in the face of strong competition for access to females. On the other hand, polyandry may also have an adaptive origin rooted on the direct (material) and/or indirect (genetic) benefits that females may accrue through multiple mating with different males. Many of the hypotheses related to the benefits of multiple mating are based on the existence of reliable female mate choice. Notwithstanding, assessing the quality of potential mates and making a good choice can be difficult under some circumstances. Polyandry has been also hypothesized to work as a bet-hedging strategy spreading the risk of mating with unsuitable (e.g., infertile, or genetically incompatible) mates. By sampling more males, polyandrous females may minimize the consequences of assessment errors in mate choice, reducing the risk for of complete reproductive failure for females, preventing inbreeding depression and extinction. This may be highly relevant under certain ecological and demographical conditions, for example in small populations in which stochastic changes may have a deep impact and where sexual selection cannot operate effectively. Interestingly, recent theoretical findings suggest that mating system evolution, and the influence of mating system, and therefore sexual se-

lection, on population persistence over time are closely related to the level of population subdivision. However, while population spatial structure is accepted as an important factor mediating critical features of population dynamics as well as population viability and the population's probability of extinction, we know very little about the implications of population spatial subdivision for sexual selection and sexual conflict dynamics, and empirical studies into the connections between population spatial structure and sexual selection are lacking. This thesis was aimed to address this gap of knowledge. To this purpose, we used the seed beetle *Callosobruchus maculatus*, a model for the study of sexual selection and sexual conflict, in combination with experimental evolution, one of the most powerful methodological approaches in the study of evolution, to gain insights into the independent and interactive effects of mating system and population spatial structure selection treatments on the evolution of sexual selection and sexual conflict dynamics. The main results of this thesis inform that, in some cases, population spatial structure is able to reverse the evolutionary pattern imposed by sexual selection in undivided populations, for example, regarding the female longevity in this species. These results may have far-reaching implications for the conservation of species whose populations are small or fragmented. In addition, our research also determines that while selection arising from variation in population spatial structure seems not to have a significant effect on the evolution of the individuals' body size, this phenotypic trait responds to the presence or absence of sexual selection. We found a sex-specific response regarding the evolution of body size that leads to a variation in the magnitude of sexual size dimorphism among our selection regimes with sexual size dimorphism increasing in populations that evolved under enforced monogamy, compared to their polygamous counterparts. Finally, our findings suggest that, in this species, genital traits respond to selection in both sexes and population spatial structure is also able to trigger a reversal in the patterns expected under sexual conflict for the female genital trait (amount of connective tissue in the copulatory tract). However, the lack of differences in regard to mating rates, the propensity to remate or the remating interval between populations evolving under monogamy or polygamy suggests that sexual conflict in *C. maculatus* is not as clear-cut as previously thought and that the reproductive outcomes of mating events depend on a delicate balance between benefits and costs accrued through sexual interactions.

Key words: *Callosobruchus maculatus*, experimental evolution, population spatial structure, sexual conflict, sexual selection

Palabras clave: *Callosobruchus maculatus*, conflicto sexual, estructura espacial poblacional, evolución experimental, selección sexual

[*Respuestas evolutivas a los efectos de la selección sexual, la estructura espacial poblacional y su interacción: profundizando a través de la evolución experimental en una especie con conflicto sexual.*]

Detoxification and sublethal effects of neurotoxic insecticides in tortricid moths

Author: Miguel Ángel Navarro Roldán (m.navarro.rolدان@gmail.com)

Supervisors: C. Gemeno Marín, J. Avilla Hernández

Academic year: 2017–2018

Universidad de Lérida

Summary

Basic knowledge on lethal and sublethal insecticide effects on pest insects is particularly important for optimization and continuous improvement of Integrated Pest Management (IPM) strategies, especially when insecticides are used as the main crop-protection strategy. My PhD thesis provides thorough dose-mortality curves for three neurotoxic insecticides with different modes of action [chlorpyrifos (organophosphate, acetylcholinesterase inhibitor), λ -cyhalothrin (pyrethroid, sodium channel modulator), and thiacloprid (neonicotinoid, nicotinic acetylcholinesterase receptor agonist)] on three key fruit pest species [*Cydia pomonella* (L.), *Grapholita molesta* (Busck), and *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller)]. Subsequently I analyzed the detoxification mechanisms of the three species against the three insecticides by studying the most common enzymatic detoxification groups [carboxylesterases (EST), glutathione-S-transferases (GST), and mixed-function oxidases (MFO)]. Finally, I explored if the sublethal doses of thiacloprid estimated in the first part of the thesis affect the sex-pheromone communication system of these species. A singular aspect of my thesis is that I focused on the adult stage, which is poorly represented in the toxicological scientific literature of Lepidoptera, probably because most insecticides are mainly designed to kill egg or larval stages. However, this choice ultimately led to some unexpected findings that I explain next. On the first part of my thesis (chapter 1) significant differences in mortality were found among insecticides and species. However, the most remarkable result was the significantly larger mortality of males than females to chlorpyrifos. This result was unexpected because females are larger than males and therefore should be more resistant than the latter. This result suggested that metabolic detoxification mechanisms could be involved in the different susceptibility of males and females to insecticides. However, when I explored this aspect using enzyme inhibitors (chapter 2), the differences in enzymatic activity, although partially explained differences among species and insecticides, did not explain differential mortality between sexes. The experiments, nevertheless, indicated that incubation time of the enzyme inhibitor, a factor often overlooked in these studies, could be important, and so I carried out a final experiment that showed that kinetic inhibition of one of the enzyme families played an important role in explaining sex differences. In the

second half of my thesis I used the dose–mortality curves to explore if sublethal doses of thiacloprid affect the sex–pheromone communication system of the three moth species. In chapter 3, I explored the signaller (female calling behaviour) and the signal (pheromone gland content) and found significant effects on one or both parameters in the three species, but with substantial differences among species. The most remarkable finding was that doses as low as $LC_{0.001}$, which would kill only 1 in 10^5 individuals, are sufficient to significantly affect the calling behaviour in at least one of the species. The effects on pheromone production were less substantial. In chapter 4 I assessed if sublethal doses of thiacloprid affected males, which are the receiver in the pheromone communication system. When male behavioural response to the sex pheromone was recorded in a flight tunnel and the flight track was analysed with the triangle of velocities, I found that, as with females, the lowest insecticide dose ($LC_{0.001}$) significantly impaired the ability of males to fly towards the pheromone source. When treated with insecticide fewer males took flight or reached the pheromone source, and they flew more slowly and with a lower thrust. When I explored if male’s pheromone sensing was affected by recording antennal electrical responses (EAG) to biologically realistic pheromone doses, I found that not even the highest insecticide doses (LC_{20}) altered male EAG responses. Therefore, the abnormal behavioural response of insecticide–treated males to the sex pheromone is not due to an effect on pheromone sensing. The results of my thesis have important implications in pest control. They suggest that residual insecticide doses could alter the outcome of semiochemical control methods (like mating disruption) because they alter the pheromone communication system of moths. In addition, they reveal the biochemical mechanisms involved in insecticide detoxification in a phylogenetically close group of species. Future studies should explore if sublethal doses of insecticide affect semiochemical control under field conditions, and if they alter reproductive parameters. In addition, the role of detoxification should be further pursued to explain the striking sex differences in insecticide susceptibility. Finally, the neural mechanisms potentially involved in male and female impairment by sublethal doses of insecticide deserves further research.

Key words: dose–response, neurotoxic insecticides, pheromone communication, sublethal effects, Tortricidae

Palabras clave: dosis–respuesta, efectos subletales, feromonas, neurotóxicos, Tortricidae

[*Detoxificación y efectos subletales de insecticidas neurotóxicos en insectos plaga de la familia Tortricidae.*]

<http://hdl.handle.net/10803/462995>

Trade-off between the risk **of overheating and camouflage** on eggs of ground-nesting birds

Author: Jesús Gómez Esteban (j.gomez@ebd.csic.es)

Supervisor: J. Aguilar-Amat Fernández

Academic year: 2017–2018

Universidad Pablo de Olavide

Summary

Many Charadriiform birds (shorebirds and allies) nest on the ground in sites with no vegetation, receiving in that case direct solar radiation. Thus, when incubating adults depart from nests, the eggs may reach critical temperatures for embryos. Nest predation is also an important cause of breeding failures, thus having well camouflaged nests may be critical to reduce the risk of predation while the nests are unattended. Eggshell pigmentation and spottiness have been suggested to improve camouflage, but making the eggs darker may increase the rates of overheating. Then, this may lead to a trade-off between both factors (camouflage and temperature) on eggshell coloration. The aim of this thesis was to show whether there is such a trade-off, and to analyse whether ground-nesting birds mitigate the adverse thermal conditions of their nesting sites in hot environments by means of biophysical mechanisms (e.g., egg colour and spottiness, use of nest materials with favourable thermal properties), as well as by behavioural mechanisms (e.g., risk-taking by incubating birds in relation to nest camouflage, choice of sites where eggs are better camouflaged). First, we showed that darker eggs of shorebirds were better camouflaged when the nests were not attended by adults, but suffered quicker overheating than light-coloured eggs due to direct solar radiation. We also showed that, after controlling for environmental temperatures, eggs overheated more in the Tropics, likely because of a more intense solar radiation than in the Mediterranean region. Thus, the benefits of increasing pigmentation and spottiness for a better camouflage are counteracted by the increased risks of overheating when eggs remain exposed to direct solar radiation. Accordingly, we found that eggshell reflectance in the Kentish plover (*Charadrius alexandrinus*) is primarily determined by latitudinal variations in solar radiation, with eggshells of lower reflectance (darker) found at higher latitudes. However, in the southern localities (nearer to the equator), where solar radiation is very intense, eggshells are darker in spite of high ambient temperatures, likely to protect embryos (through pigmentation acting as a parasol) from the dangerous UV radiation. We also tested the hypothesis that eggshell coloration and spottiness are related to pigments content in the Kentish plover. As expected, we found that protoporphyrin was more abundant than biliverdin in eggshells. However, eggshell coloration was not related to pigment concentrations, which may be due to a different allocation of pigments either

between eggshell's background and spots, or between different eggshell's layers. Besides eggshell coloration, the use of nest materials may be another biophysical mechanism with which to counteract the adverse effects of high ambient temperatures on egg overheating. We found that Kentish plovers added into their nests lighter materials (pebbles) than those available around nest sites. Because light materials are thermally reflective (having lower heating rates), the microclimate of nests was likely improved. However, light materials worsened egg camouflage. In a field experiment, we found that the plovers removed most of the experimental materials independently of their thermal properties, so that egg camouflage returned within a week to the original values of the experimental treatments. Although the thermal environment may affect the choice of nest materials by the plovers, at our study sites it was not likely too stressful as to determine the acceptance of the lightest experimental materials. Beyond those biophysical mechanisms, ground-nesting birds may use behavioural strategies to enhance egg camouflage and mitigate the risk of overheating when eggs are not attended. By applying predator visual models, we analysed whether microhabitat and nest material selection by three ground-nesting birds (pied avocet *Recurvirostra avosetta*, Kentish plover, and little tern *Sternula albifrons*) facilitated camouflage. Plovers and avocets selected microhabitats and nest materials that matched their individual egg appearance. In contrast, the lighter and less spotted eggs of the terns did not effectively match nest microhabitats and nesting materials, despite choosing lighter substrates, and their eggs matched worse their background than eggs of the other two species. The paler and poorer camouflaged eggs of the terns could reflect a trade-off between thermal protection and camouflage, because this species breeds later in the season, facing a greater risk of egg overheating. Finally, we tested whether incubating birds decide when to leave or return to the nest when predators approach their nests depending on the camouflage of the eggs and their risk of overheating. We found experimentally that terns allowed closer approaches to their nests at midday, when the eggs appeared better camouflaged, than at the morning. Return times to the nests were affected by ambient temperature, with the terns shortening such times at high ambient temperatures (i.e., in midday), thus diminishing the risk of egg overheating. As a whole, these results show that the decisions of the birds on when to leave or return to their nests depended on shifting payoffs, as a consequence of diurnal variations in both the thermal risks (incurred by embryos) and egg camouflage. In conclusion, our observational and experimental studies can help to understand trade-offs among factors involved in the evolution of coloration and patterning of eggshells of ground-nesting birds that also affect embryo performance. This thesis may then be useful to understand the evolution of eggshell appearance and to predict the responses of ground-nesting birds under a scenario of global warming.

Key words: eggshell coloration, Kentish plover, nests, pigments, spottiness

Palabras clave: coloración de la cáscara de huevo, chorlito patinegro, nidos, pigmentos, moteado

[*Compromiso entre el riesgo de sobrecalentamiento y camuflaje en huevos de aves que nidifican en el suelo.*]

Cooperation and conflict among white stork (*Ciconia ciconia*) nestmates

Author: José María Romero López (jmromlop@gmail.com)

Supervisor: T. C. Redondo Nevado

Academic year: 2017–2018

Universidad Pablo de Olavide

Summary

Genetic conflicts among siblings in species with sexual reproduction and parental care, such as birds, manifest as sibling rivalry when nestmates compete for parental resources. Sibling competition is implemented through a diverse array of behavioural mechanisms, ranging from overt aggression and fratricide through non-virulent forms of scramble competition (e.g. begging signals) which may include a high level of tolerance among broodmates or even mutualism. Previous studies suggested that white stork (*Ciconia ciconia*) nestlings showed little or no aggression or physical interference because parents feed nestlings simultaneously, by regurgitating food on the nest floor. This pattern, which is shared by other stork species, is however exceptional among other bird families with close ecological and phylogenetic affinities, such as herons, ibises or pelicans. In these groups, nestmates usually compete despotically, often by overt aggression. The aims of this study were: (i) to elucidate the precise behavioural mechanisms regulating nestmate competition and communication within white stork broods, and (ii) to unravel the ultimate evolutionary causes underlying variation in levels and mechanisms of nestmate competition among the highly diverse clade of subaltricial birds. First, we obtained behavioural samples from video recordings of natural feeding events involving 108 nestlings from 46 broods less than four weeks old, as well as data from three experimental setups. Second, we performed a phylogenetic comparative study based on a dataset including 192 species belonging to 16 families of altricial birds to determine ecological, behavioural and life-history predictors of the level of interference competition among nestmates. Results showed that white stork broods are characterized by a high level of broodmate tolerance, where interference competition is weak if not completely absent. Moreover, white stork nestlings display an elaborate repertoire of signals containing information about chick nutritional state, which seems to be involved in cooperative begging and sibling negotiation. This suggests a highly prosocial evolutionary scenario. The comparative study revealed that the observed diversity in levels of interference competition among subaltricial birds is closely linked to a species' life history: more virulent sibling rivalry is associated with a slow life history pace (low fe-

cundity and mortality rates). It is suggested that this association is mediated by both short- and, specially, long-term effects of early nestling behaviour upon viability and fecundity later in life.

Key words: parent-offspring conflict, begging, life history, cooperation, sibling rivalry

Palabras clave: conflicto paterno-filial, petición, historia vital, cooperación, agresión fraternal

[*Cooperación y conflicto entre hermanos de nidada de cigüeña blanca (Ciconia ciconia).*]

<https://rio.upo.es/xmlui/handle/10433/5665>

The white-throated dipper *Cinclus cinclus* L., 1758 in Gipuzkoa: distribution and demographic parameters

Author: José María Sánchez Sánchez (jmsanchez@aranzadi.eus)

Supervisor: J. Arizaga Martínez

Academic year: 2017–2018

Universidad del País Vasco–Euskal Herriko Unibersitatea (UPV–EHU)

Summary

Birds are known to respond rapidly to environmental changes what makes them good indicators of the conservation status of the ecosystem they inhabit. The evaluation of their distribution, abundance and other aspects of their life cycle can be readily used to monitor environmental changes at various spatial and temporal scales. The white-throated dipper *Cinclus cinclus* (hereafter, dipper), is a semi-aquatic riparian bird which meets the necessary conditions to act as a good indicator for disturbances in aquatic ecosystems, mainly due to its low tolerance threshold to the alteration of its habitat and, especially, to its environmental preferences (well-preserved rivers). The occurrence and abundance of dippers may indicate the extent of the environmental alteration given an adequate identification, detection and reliable censusing what, in turns, requires an accurate knowledge of this species' biology. The fluvial network of the Historical Territory of Gipuzkoa, as well as the Autonomous Community of the Basque Country, is under anthropological alteration. This, together with Global Change requires an evaluation of their consequences on this habitat type. To address this concern, I performed this thesis, that has two main objectives: (i) develop an effective and long-term method for censusing dippers at the Autonomous Community scale, so as to detect changes in its distribution and population size; (ii) describe the main demographic parameters of the dipper population in Gipuzkoa and establish their relationships with biotic characteristics and habitat quality, including the possible effects of climate change. Regarding the first objective, we developed a method to study the population of dippers in Gipuzkoa, based on occupancy models that, in the long term, allow the assessment of the population's trends. These models are suitable for species that naturally occur at low densities or with low detectability due to the habitat they dwell on (e.g. impaired visibility owing to the orography and dense vegetation along the banks). This censusing methodology was also applied to model the occurrence of the species for the whole Basque Country. Additionally, the method was conceived to be used by volunteers (citizen science). In the case

of Gipuzkoa, our results show that a combination of 60 sampling points with 4 annual visits of 20 minutes each, is optimal for an accurate census. In the case of the Autonomous Community of the Basque Country, the total number of sampling points raises to 199. This network would provide information on common but little-known species, thus contributing to increasing our knowledge about the distribution and conservation of the Basque Country's biodiversity. Regarding the second objective, a ringing campaign was carried out in several rivers of Gipuzkoa during the breeding period (March–August) of seven consecutive years (2008–2014). Capture and recapture data were analysed using the Cormack–Jolly–Seber models to estimate the apparent annual survival of the population under study and its relationship with the variations of extreme winter water flow. Winters with heavy floods negatively influence the interannual survival of the studied population. This is discussed in a context of climate change. Additionally, the reproductive biology of dippers in Gipuzkoa is described as well as the influence of food availability on their reproductive parameters. We found that the average clutch size (4.3 eggs/nest) was significantly lower than that described for the species in the rest of Europe (4.6 eggs/nest), while the average reproductive success (number of nests where at least one nestling fledges) (72 %) was significantly higher than the European average (62 %), which suggests that the breeding conditions of the studied population are better than the ones of populations located to the north of the Palearctic. The relationship of productivity with food availability is weak, probably due to the interference of other factors that also influence reproduction. The analysis of the recaptures and sightings of marked birds allowed to estimate for the first time natal dispersal of this species in the Iberian Peninsula. The data obtained suggests a very high dispersal, with only 3 % of the ringed chicks recaptured after three years (2014–2016), that agrees with the results obtained in the continent for this species. It is necessary to continue the long-term monitoring of the abundance and reproduction of this species to determine more accurately the dipper population in Gipuzkoa, its demographic parameters and life history strategies and the main factors that influence this population. All this information will also be crucial to better understand how dippers could respond to climate change.

Key words: *Cinclus cinclus*, demography, distribution, Gipuzkoa, long term monitoring

Palabras clave: *Cinclus cinclus*, demografía, distribución, Guipúzcoa, monitorización a largo plazo

[*El mirlo acuático Cinclus cinclus L., 1758 en Guipúzcoa: distribución y parámetros demográficos.*]

<https://www.dropbox.com/s/7kagouyyzg927tl/Tesis%20doctoral%20JMSanchez.pdf?dl=0>

Consequences of the individual variation of the chemical signals of males of the Carpetan lizard (*Iberolacerta cyreni*) for their reproductive success, social organization, females' preferences and offspring's phenotype

Author: Gonzalo M. Rodríguez Ruiz (gmrrodriguezruiz@gmail.com)

Supervisors: P. López, J. Martín

Academic year: 2017–2018

Universidad de Salamanca

Summary

In this thesis, we studied the effects of the variability of males' Carpetan lizard (*Iberolacerta cyreni*) chemical signals on reproductive success, social organization, female's preferences and offspring's phenotype. In the first chapter, we analysed the effect of an immune challenge (bacterial lipopolysaccharide) on the expression of chemical and visual ornaments of males. The results suggested the existence of a trade-off between the physiological regulation of the immune system and the production of chemical and visual ornaments. In the second chapter, we checked if the immune challenge caused a decrease in reproductive success. Our results showed that reproductive success increased with body size (or age) but not with the experimental treatment. This suggests the existence of a reproductive strategy of "terminal inversion" in the "suboptimal" males. In the third chapter, we tested whether an experimental increase in the quality of males' chemical signals influenced the use of space by females and the social hierarchy among males. We supplemented a group of males with vitamin D3 before the mating season and released them together with a group of females in a semi-natural enclosure so that they could copulate and interact freely. The results suggested that, despite the role of signals in sexual selection, competition between males is a key factor in accessing females. In the fourth chapter, we checked whether the preference of females for provitamin D3 is because this molecule is a valuable resource for females in gestation. We supplemented two groups of pregnant females with provitamin and vitamin D3 and we studied the potential benefits they could have for them, for their eggs and their offspring. Our results suggested that the potential sensory bias of females could be related to their physiological needs. In the fifth chapter, we verified the existence of maternal effects induced by the



Copula of Carpetan lizards (*Iberolacerta cyreni*): the male, green, bites the ventral area of the female, brown, to prevent it from escaping while copulating.
Author: Gonzalo M. Rodríguez Ruiz.

availability of provitamin and vitamin D during pregnancy. We tested the locomotor performance and tendency to disperse of offspring of mothers supplemented with provitamin and vitamin. Our results showed the existence of an anticipatory maternal effect in response to postnatal habitat conditions. In the sixth chapter, we assessed whether the quality of the maternal environment during pregnancy and the existence of a stressful post-natal environment affect the personality of the offspring. We treated the offspring of females supplemented with vitamin D with corticosterone, simulating a stressful situation. We evaluated the coherence and the repetitiveness of its activity, use of refuge and assumption of risks. Our results suggested that the mother's diet and postnatal environment conditions affect the expression of personality.

Key words: dispersal, locomotor performance, maternal effects, sexual selection, stress

Palabras clave: desempeño locomotor, dispersión, efectos maternos, selección sexual, estrés

[*Consecuencias de la variación individual de las señales químicas de los machos de lagartija carpetana (Iberolacerta cyreni) para su éxito reproductor, la organización social, las preferencias de las hembras y el fenotipo de la descendencia.*]
<https://www.dropbox.com/s/7kagouyyzg927tl/Tesis%20doctoral%20JMSanchez.pdf?dl=0>

Fine-scale population differentiation: ecological and evolutionary mechanisms involved

Author: Carlos Camacho Olmedo (ccamacho@ebd.csic.es)

Supervisor: J. Potti Sánchez

Academic year: 2017–2018

Universidad de Sevilla

Summary

Dispersal and gene flow have traditionally been thought to counteract the effects of divergent selection and thus prevent evolutionary differentiation. However, recent research suggests that, if non-random, dispersal may promote population differentiation even at microgeographic scales. Examples of the eco-evolutionary consequences of non-random dispersal are still very scarce in the literature, possibly because long-term data from continuously monitored populations of marked individuals are needed. I document the effect of phenotype-dependent dispersal with respect to body size (tarsus length) on the evolutionary dynamics of a wild population of pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*) between 1988 and 2016. I characterized the natal dispersal patterns and phenotypic trajectories of dispersers and philopatric individuals originating from ecologically distinct (coniferous vs. deciduous), adjacent (1 km) habitats, and investigated the genetic architecture of, and patterns of selection on, tarsus length. Pied flycatchers breeding in the oak and the pine forest showed strong divergence in tarsus length during the colonization phase of the pinewood, despite geographic proximity and extensive dispersal (ca. 25% of each cohort change habitats). However, the initial degree of differentiation was not sustained over the 29-year period. Differential dynamics of phenotype-dependent dispersal between habitats seem to be the key force shaping the phenotypic trajectories of the study populations. Males moving from the pine to the oak forest tended to be smaller over time, whereas those that remained in the pine forest tended to be larger. Dispersers from the oak to the pine forest also tended to be larger over time, and thus the positive trend of philopatric birds was furthermore reinforced. No clear evidence of phenotype-dependent dispersal was found in females but, importantly, an analysis of both sexes combined confirmed the patterns observed for males alone. Temporal changes in breeding density and the level of nest-site competition likely provided the ecological mechanism for the habitat segregation of size classes. Breeding density increased in both habitats following nest-box addition. Nevertheless, due to the lack of natural cavities, nest-site competition –and therefore the relevance of body size in territorial contests– was probably magnified in the pinewood. Based on density and dispersal rates dynamics, it seems that the pine forest became progressively



Male and female pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*).
Author: Lorenzo Pérez-Rodríguez.

more attractive for pied flycatchers at the expense of a decrease in the attractiveness of the oakwood. Because large–dominant and small–subordinate males are generally sorted into preferred and non–preferred habitats, the steep increase in breeding density in the pinewood resulted in a shift in the patterns of phenotype–dependent dispersal. No evidence of adaptive habitat choice in relation to body size was found in this population possibly because, as demonstrated here, most pied flycatchers, regardless of their phenotype, return to the habitat they imprinted on as fledglings. Quantitative genetic analyses revealed a substantial component of additive genetic variance underlying tarsus length, although there were substantial differences among pools of dispersers and philopatric birds. Specifically, individuals genetically predisposed to be larger preferentially dispersed into the oak forest. However, selection gradients on this group, unlike the other groups, were negative and, therefore, resulted in a negative response to selection. Dispersers to the oak forest actually showed a decline in tarsus length over time that, nevertheless, deviated from the lack of trend observed in the entire oak population. No such discrepancy was found in the pine forest, indicating a greater genetic contribution of dispersers to the pine forest in shaping the distribution of phenotypes within their recipient population. Examination of the breeding success of each group suggested that this unusual asymmetry resulted from uncoupled patterns of dispersal and gene flow in the oak forest, since the reproductive output of immigrants into the oakwood was lower than that of the other groups. Overall, these re-

sults indicate that the effect of dispersal on microevolutionary processes may vary from being positive to non-existent depending on the habitat type, although the ecological factors responsible for such discrepancy remain to be elucidated. Collectively, the five chapters presented in this thesis represent a major step forward in our understanding of the specific role of gene flow on eco-evolutionary dynamics and phenotypic evolution.

Key words: dispersal, evolutionary dynamics, habitat selection, morphological differentiation, population structure

Palabras clave: dispersión, dinámica evolutiva, selección de hábitat, diferenciación morfológica, estructura poblacional

[Diferenciación de poblaciones a pequeña escala: mecanismos ecológicos y evolutivos implicados.]

Impact of the interactions between hosts, vectors and pathogens on the transmission of avian malaria **and flavivirus by mosquitoes**

Author: Rafael Gutiérrez López (rgutierrez@ebd.csic.es)

Supervisors: J. Figuerola Borrás, J. Martínez-de la Puente,
L. Gangoso de la Colina

Academic year: 2017–2018

Universidad de Sevilla

Summary

Vector-borne pathogens cause important diseases such as malaria and are nowadays a major public health concern, because they cause human fatalities worldwide and have a significant impact on local economies. These pathogens also affect wildlife playing a role as ecological and evolutionary drivers of animal populations. Factors associated to global change have largely contributed to the spread of potential insect vectors and the pathogens they are able to transmit, thus creating novel epidemiological scenarios. Therefore, it becomes essential to understand the factors that modulate the transmission risk of these disease agents, which involve the interactions between vertebrate hosts (humans and other animals), pathogens, and insect vectors in natural ecosystems. In this thesis, I used a multidisciplinary approach that combines molecular tools, observational studies and experimental behavioural assays to assess the ecological and evolutionary factors that affect the transmission success of two mosquito-borne pathogens. In particular, I studied the interactions between insect vectors, vertebrate hosts, the avian malaria parasites and the Zika virus. I focused on two major steps directly influencing the pathogen transmission success by mosquitoes: (i) their blood-feeding behaviour on infected/susceptible vertebrate hosts, and (ii) the development of the pathogen in the mosquito and its consequences for subsequent transmission to vertebrates. To this end, firstly I assessed the impact of three host-related traits (i.e. body mass, gender, and infection status by avian malaria) on the biting behaviour of two mosquito species with different feeding preferences. I found clear interspecific differences in the biting behaviour of mosquitoes, which were also influenced by variation in hosts' traits, although these effects differed depending on the particular mosquito-host assemblage. Therefore, the biting behaviour of mosquitoes is far from being generalizable. Secondly, I assessed the vector competence of different mosquito species for the transmission of avian malaria parasites and Zika virus. I found that the ability of mosquito-borne pathogens to develop in mosquitoes differed between insect species, which may be the result of

complex co-evolutionary processes. In addition, I assessed the consequences of parasite development in the mosquito vectors. I found that host parasite load and parasite identity had independent effects on the survival of infected mosquitoes finally determining the transmission risk of the parasites. While these previous results were mostly derived from experiments under controlled conditions, I studied the environmental and genetic factors determining avian malaria prevalence and transmission in a wild population of Eleonora's falcons (*Falco eleonora*). I found that the characteristics of the insular breeding grounds determined the low prevalence of blood parasites in nestlings, probably due to the low abundance of insect-vectors in the breeding areas. Moreover, the prevalence of *Plasmodium* parasites in the colour polymorphic Eleonora's falcon was lower in the pale than in the dark morph, likely due to host-related factors such as morph-specific immune-competence or differences in the attraction to insect-vectors. Finally, I studied the parasite transmission networks between Eleonora's falcons, louse flies that parasitize the falcons, and haemosporidians in an insular system. The lack of infection in nestlings and the mismatch between the lineages isolated in adult falcons and louse flies were the most plausible reasons explaining the unsuccessful transmission of the parasites from louse flies to raptors. Surprisingly, most of the haemoparasites found in the louse flies derived from opportunistic feeding on the migratory passerines hunted by falcons. Altogether, in this thesis I identified key factors affecting the transmission success of vector-borne pathogens, allowing a better understanding of the complex interactions and transmission dynamics of these widespread pathogens affecting humans and wildlife.

Key words: House sparrows, mosquito feeding patterns, parasite transmission, pathogen ecology, *Plasmodium*, vector-borne diseases

Palabras clave: gorrión común, patrones de alimentación de mosquitos, transmisión de parásitos, ecología de patógenos, *Plasmodium*, enfermedades transmitidas por vectores

[*Impacto de las interacciones entre hospedadores, vectores y patógenos sobre la transmisión de malaria aviar y flavivirus por mosquitos.*]

Ecology of vector-borne diseases: effects of host traits on mosquito feeding preferences and its implications for disease transmission

Author: Jiayue Yan (jiayueyan@ebd.csic.es)

Supervisors: J. Figuerola Borrás, L. Gangoso de la Colina,
J. Martínez-de la Puente

Academic year: 2017–2018

Universidad de Sevilla

Summary

Last decades have seen an accelerated emergence or re-emergence of vector-borne diseases (VBDs) worldwide, representing a major threat to public health and biodiversity conservation involving human, wildlife and domestic animals. Despite the medical and economic impact of VBDs, the ecology of VBDs, especially the interaction between hosts and vectors is still poorly understood. Previous studies on epidemiology assumed a random host-vector interaction and ignored the potential effects of heterogeneity in host traits on the transmission rates of pathogens. Failure to recognize and incorporate the potential effects of host traits into epidemiological models could result in biased estimates of disease transmission dynamics. Therefore, this thesis explores the effects of host trait heterogeneity on host-vector interactions at both inter- and intra-specific levels. Given the importance of mosquitoes and wildlife hosts in the transmission cycle of vector-borne pathogens (VBPs), this thesis mainly used a mosquito-borne pathogen, i.e. avian *Plasmodium*, as the study system, including some of their natural vectors *Culex pipiens* and *Culex restuans* and vertebrate hosts, i.e. the house sparrow (*Passer domesticus*). Host traits may have profound influence on avian host-mosquito vector interaction, as host-seeking mosquitoes may rely on certain host traits to locate potential hosts, resulting in mosquito feeding preferences that produce heterogeneous host-vector contact rates. In this thesis, I first reviewed the role of host morphological, behavioural and physiological traits in mosquito attraction. This chapter identified knowledge gaps on the role of different host traits in mosquito feeding preference, and highlighted the need of both theoretical and empirical studies on such topic. In chapter 2 I conducted a comparative study by combining data of mosquito forage ratios in an avian community with data of avian morphology and behaviour. Birds with lighter colors, bigger body size and solitary roosting behaviour were bitten more often than expected from their relative abundance in the community. This study highlights the role of host morphological and

behavioural traits in interspecific differences in host use patterns of mosquitoes. To figure out the role of host physiological traits in mosquito blood-feeding preference, I performed dual-choice experiments by exposing house sparrows with different metabolic rates to blood-seeking *C. pipiens* and analyzed the relationship between mosquito feeding preference and host metabolism. Individual birds with lower resting metabolic rates were bitten more often than their conspecific counterparts by mosquitoes. This represents the first experimental evidence of a link between host metabolism and vector feeding preference. In addition, birds with greater body mass were bitten more frequently by mosquitoes. To assess the impact of host infection on blood feeding patterns of mosquitoes, I carried out two dual-choice experiments by exposing house sparrows with different infection status (i.e. *Plasmodium*-infected vs. uninfected) and with different infection intensity (i.e. higher *Plasmodium* load vs. lower *Plasmodium* load) to blood-seeking mosquitoes respectively. Individual birds with higher parasite loads were bitten more often than their counterparts with lower loads. However, the infection status of birds did not significantly affect mosquito feeding pattern, with *Plasmodium*-infected and uninfected birds bitten similarly by mosquitoes. Our findings partially support the parasite manipulation hypothesis and highlight the importance of considering parasite load in studies on host-vector-pathogen interactions. By using interdisciplinary approaches that combine comparative methods, molecular analyses as well as empirical bioassays, this thesis identifies several key links between host traits and mosquito feeding preferences at both inter- and intra-specific levels, which may help to better understand the dynamics of host-vector contact rates and hence, the transmission dynamics of VBPs. Incorporating heterogeneity from host traits in future studies may improve our understanding on the ecology of VBDs as well as the surveillance and control efforts in the complex transmission network of VBDs.

Key words: host selection, vector attraction, phenotypic traits, host metabolism, avian *Plasmodium*

Palabras clave: selección de hospedador, atracción vectorial, rasgos fenotípicos, metabolismo de hospedador, *Plasmodium* aviar

[Ecología de las enfermedades transmitidas por vectores: efectos de los rasgos del hospedador sobre las preferencias de alimentación de los mosquitos y sus implicaciones para la transmisión de enfermedades.]

Canine welfare: veterinary perception assessment and study of the relationship between eating behavior and stress and emotions

Author: Isabel Luño Muniesa (isalumu@hotmail.com)

Supervisors: B. Rosado Sánchez, J. Palacio Liesa

Academic year: 2017–2018

Universidad de Zaragoza

Summary

This thesis focuses on the study of canine welfare and has three main objectives: (i) to survey the perception of 12 issues affecting canine welfare by veterinary students and veterinary professionals in Spain; (ii) to investigate the owners' perception of the presence of emotional eating in their dogs by using a questionnaire, and to analyze its relation to the animal feeding habits chosen by the owners, the dog eating behavior and emotional state, and (iii) to study the relation between cortisol and ghrelin in dogs showing chronic stress-related behavior problems and the effect of the administration of high energy palatable food on both parameters. Regarding the first objective, a scale-based questionnaire including 12 issues affecting canine welfare was distributed to first-year students ($n = 50$), fifth-year students ($n = 50$), veterinary surgeons ($n = 260$) and specialists in behavioral medicine ($n = 50$). For each issue, respondents were asked to rate how much, on average, they thought the particular problem affected canine welfare. Importance was rated from 0 (a completely unimportant issue) to 4 (an extremely important issue). The results showed that there were significant differences in scoring depending on the level of training and professional experience and specialization. In general, specialists in behavioral medicine assigned significantly higher scores, while fifth-year students assigned significantly lower scores to most items. First-year students tended to assign very high scores to the issues under study. These findings suggest that desensitization to animal welfare occurs as veterinary students reach the end of their studies. Raising awareness regarding canine welfare, including concern for breed- or behavior-related problems, should be emphasized within university programs. To accomplish the second objective, a self-elaborated questionnaire was distributed via social media to dog owners ($n = 1099$), including general information, feeding habits, eating behavior and related problems and temperament and emotional state. The most frequent food administration pattern was feeding the dogs exclusively with commercial food (54.7%), mostly dry food (82.5%), rationed (80%), twice a day (62.6%) and adding (96.7%) frequently (daily or almost daily, 61.0%) extra food apart from the regular rations, most of them (62.0%) by using both commercial dog treats as well as human food. These extras were administered after the dog responding to a command (76.5%), at the

owner's discretion (48.3 %) and the dog's request (15.0 %). A specific question for assessing the perception of owners on emotional eating in their dogs (0 to 4 score) was included. The majority of the respondents (82.7 %) perceived that their dog showed emotional eating at some level, with more than 40 % of the surveyed owners giving a 3 or 4 score. Significant associations were found between the intensity of emotional eating and many variables. Thus, achieving the maximum score for owner-perceived emotional eating was associated with the dog being diagnosed with a medical condition, with the owners' awareness of the ideal weight of his/her dog and with particular feeding habits (feeding the dog exclusively with home-made food, once a day, and giving extras as a reward). Furthermore, high perceived emotional eating was related with being a dependent and unhappy dog, as well as with not eating during the absence of the owner. On the other hand, being a calm dog, both as a general condition as well as during greetings or walk, and not presenting fear to other dogs or any kind of aggression was associated with the absence of owner-perceived emotional eating in the studied dogs. In a second approach, a stochastic regression model was designed, with the aim of detecting emotional eating in dogs by means of an objectively, short and easy-to-respond checklist directed to the owners based on a previously published questionnaire. The variables included in the final model could be well understood and properly assessed by the owners. Interestingly, part of the variables did act as risk factors whereas others might be considered as protective factors. Finally, the third objective was achieved by measuring baseline and post-prandial serum levels of cortisol and ghrelin in a group of dogs showing chronic stress related to behavior problems, in particular social conflict-related aggression (SCA) and separation anxiety (SA) ($n = 16$), in comparison with a group of normally behaved control dogs ($n = 16$). Mean values for baseline cortisol both before and after eating were higher in the stressed than in the control group, this difference being only statistically significant for post-prandial cortisol. When considered the diagnosis category, only SCA dogs differed from the control group in this measure. In this group, the variation of cortisol increased, differing from the SA and control group, which decreased their cortisol values after eating. These results suggest that dogs showing SCA but not SA were more stressed than control dogs in basal conditions and that their cortisol and ghrelin levels did not decrease after eating, suggesting the possibility of a failure to suppress ghrelin after meals in these dogs and, consequently, to decrease cortisol. On the contrary, both cortisol and ghrelin decreased in the SA dogs after the intake of food, suggesting a positive effect of eating in decreasing stress. Thus, the results suggest that even grouped together as "stressed" dogs, the different nature of SCA and SA problems may affect animals in their hypothalamic-pituitary-adrenal response to the administration of a particular food, intentionally selected as a possible comfort food for dogs.

Key words: behaviour, dog, emotional eating, stress, welfare

Palabras clave: alimentación emocional, bienestar, comportamiento, estrés, perros

[Bienestar en la especie canina: valoración de la percepción en el ámbito veterinario y estudio de la relación de la conducta de alimentación con el estrés y las emociones.]

NOTICIAS DE LA SOCIEDAD

Congreso de la Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva

Mieres 4–8 septiembre 2018

Paola Laiolo¹ y Juan José Soler²

¹ Unidad Mixta de Investigación en Biodiversidad (UO, CSIC, PA), Campus de Mieres de la Universidad de Oviedo, Mieres, España.

² Depto. Ecología Funcional y Evolutiva, Estación Experimental de Zonas Áridas (CSIC), La Cañada de San Urbano, Almería, España.

El último congreso de la Sociedad Española de Etología y Ecología Evolutiva S.E.E.E.E fue organizado por la Unidad Mixta de Investigación en Biodiversidad (Universidad de Oviedo, CSIC, Principado de Asturias) en Mieres, Asturias, del 4 al 8 septiembre de 2018. El congreso se celebró en la Escuela Politécnica del Campus de Mieres de la Universidad de Oviedo y contó con 135 inscritos, en su mayoría de instituciones científicas nacionales (Universi-

dades, CSIC y otras OPIs), y algunas internacionales, de Universidades de Colombia, Chile, Italia, Suecia, Holanda, y Japón.

El atractivo programa científico del Congreso incluía novedosos e innovadores estudios en el campo de la Etología y Ecología Evolutiva. Se contó con ponentes invitados de reconocido prestigio internacional, como los investigadores Pat Monaghan y Neil Metcalfe, de la Universidad de Glasgow,



Foto 1. Los ponentes invitados Pat Monaghan y Neil Metcalfe durante el congreso. Foto: Juan Carlos Senar.



Foto 2. Pat Monaghan impartiendo la conferencia *Environmental effects that shape individual life histories: time scales, trade-offs and mechanisms*. Foto: Germán Orizaola.

ambos galardonados con los Advanced Grants del Consejo Europeo de Investigación, y que impartieron las plenarios inaugurales y de clausura del Congreso (**Foto 1**). **Pat Monaghan (Foto 2)** explicó cómo las condiciones ambientales experimentadas al inicio del ciclo de vida de un organismo, cómo el acceso a los recursos y la exposición a condiciones estresantes, pueden influir en los procesos de envejecimiento y en la longevidad. Presentó datos de poblaciones naturales no manipuladas, y de poblaciones experimentales, tanto en el laboratorio como en el campo, y ahondó en los mecanismos que podrían mediar los efectos que se observan a largo plazo. Entre estos, Pat destacó los efectos del ambiente en las respuesta al estrés, en el daño oxidativo y en la dinámica de los telómeros como los mecanismos responsables. La ponencia de **Neil Metcalfe (Foto 3)** se centró en la variabilidad intraespecífica de la tasa metabólica en animales. Este parámetro refleja la tasa a la que un individuo consume alimentos para generar ATP,

el combustible de los procesos celulares. A nivel intraespecífico, este parámetro suele relacionarse muy estrictamente con la masa corporal. A nivel intraespecífico, sin embargo, existe una variación importante en la tasa metabólica entre individuos del mismo tamaño, que varía con el estado nutricional, el sexo o la edad. Las causas intrínsecas de esta variación se encuentran tanto a nivel celular como a nivel de organismo, y las consecuencias se observan en la selección de hábitat, las relaciones de dominancia, y en la supervivencia. La variación que la tasa metabólica induce en el comportamiento puede finalmente tener un efecto sobre los ecosistemas, por ejemplo en el flujo de nutrientes.

El Congreso contó además con otras cinco plenarios. **Deseada Parejo (Foto 4)**, investigadora de la Universidad de Extremadura, habló de la importancia de las señales sociales proporcionadas por con- y hetero-específicos en la toma de decisiones en animales. Estas señales influyen por ejemplo en la elección de pareja, la se-



Foto 3. Neil Metcalfe impartiendo la conferencia *The causes and consequences of individual variation in metabolic rate*. Foto: Juan Carlos Senar.

lección de hábitat de reproducción, la selección de parches de alimentación y la reducción del riesgo de depredación. **Sim–Yeon Kim**, investigadora de la Universidad de Vigo, se centró en la evolución de los ciclos de vida y en los efectos del cambio climático en poblaciones del extremo sur de su dis-

tribución geográfica. Nos explicó cómo el estudio de estas poblaciones puede ayudar a entender la importancia de la variación genética en las respuestas fisiológicas y los rasgos de la historia de vida en la viabilidad de las poblaciones naturales. **Patrick Fitze (Foto 5)**, investigador del Museo Nacional



Foto 4. Deseada Parejo impartiendo la plenaria *Información social y toma de decisiones*. Foto: Juan Carlos Senar.



Foto 5. Patrick Fitze impartiendo la plenaria *Drivers of sexual selection and consequences for the maintenance of genetic polymorphism*. Foto: Juan Carlos Senar.

de Ciencias Naturales habló del papel de la selección sexual en el mantenimiento del polimorfismo genético y en los procesos de especiación. **Elena Angulo**, investigadora de la Estación Biológica de Doñana, examinó las características que facilitan a algunas especies invadir y colonizar nuevos ecosistemas. Habló del ejemplo de la hormiga argentina, *Linepithema humile*, una de las 100 peores especies invasoras a nivel mundial. Se trata de una especie muy agresiva, que desplaza al resto de especies de hormigas de la comunidad y que puede ser favorecida por la presencia de nichos vacíos. **Vittorio Baglione**, profesor de la Universidad de León, habló de las teorías que explican el altruismo y cómo se pueden aplicar al estudio de la cooperación en animales sociales. Ofreció como ejemplo el caso de la corneja negra *Corvus corone*, cuyas poblaciones presentan individuos sexualmente maduros que posponen su propia reproducción para colaborar en los cuidados de pollos que no son sus hijos.

Los beneficiarios y las beneficiarias de la beca de la SEEEE para desarrollar proyectos de investigación en 2017 también impartieron una comunicación oral. Martina Ferraguti analizó el comportamiento de alimentación hematófago de los mosquitos, Mario Garrido habló de las respuestas de parásito y huésped en el sistema roedor–Mycoplasma, Josué Martínez de la Puente explicó el papel de la microbiota intestinal de los mosquitos hematófagos en la transmisión de patógenos, y Alejandro Cantarero analizó los mecanismos de coloración roja en aves usando el piquituerto *Loxia curvirostra* como modelo de estudio. Además de estas presentaciones, el programa contó con otras 68 comunicaciones orales y más de 40 pósters. Los temas han sido muy variados: los mecanismos de aprendizaje, el comportamiento sexual y sus determinantes, la relación entre comportamiento y hormonas, la variación geográfica genética y fenotípica, los mecanismos de adaptación, la selección de parentesco, la evolución de las historias de

vida, el cuidado parental, el comportamiento social, el impacto antrópico (urbanización, vías de comunicación, radiación, especies invasoras, pérdida de hábitat) sobre comportamiento y fisiología, las personalidades en animales, los determinantes del parasitismo, etc..

Durante el congreso se celebró también la asamblea de la SEEEE. Tomó posesión Pilar López como nueva Presidenta de la Sociedad, relevando a Adolfo Cordero. Jordi Figuerola y Juan Carlos Senar constituyen respectivamente el nuevo Secretario y Vicepresidente (presidente-electo) (**Foto 6, 7 y 8**).



Foto 6. La presidenta, Pilar López, y el vicepresidente, Juan Carlos Senar, celebraron y discutieron los nuevos retos de la sociedad con varios miembros fundadores y ponentes. Foto: Juan Carlos Senar.



Foto 7. La nueva presidenta Pilar López es recibida en el Ayuntamiento de Mieres por el alcalde Aníbal Vázquez (derecha) y el Vicerrector de Investigación de la Universidad de Oviedo José Ramón Obeso (izquierda). Foto: Paola Laiolo.



Foto 8. El vicepresidente Juan Carlos Senar durante la excursión al Jardín Botánico Atlántico con ponentes y miembros del comité organizador. Foto: Juan Carlos Senar.

Bases del Concurso Internacional **de fotografía e ilustración científica** sobre comportamiento animal

La revista *Etología* vuelve a lanzarse, y con ella, comienza una nueva iniciativa con la sección ETOIMAGEN; un concurso de fotografía e ilustración científica. En cada número de la revista se publicarán dos fotografías o ilustraciones científicas originales e inéditas que representen un aspecto del comportamiento animal. Las imágenes deberán ir acompañadas de la información del autor/a así como un pequeño texto en el que se describa, en un lenguaje riguroso pero divulgativo, aspectos del comportamiento representado, la especie de que se trata, y todos los detalles que se consideren oportunos en un texto de aproximadamente 150–200 palabras.

La iniciativa pretende difundir el conocimiento sobre el comportamiento animal a través de imágenes innovadoras e inspiradoras dando nuevas visiones de sus protagonistas. Entre las imágenes recibidas se seleccionarán dos que serán publicadas en cada

volumen de *Etología*, en los perfiles de las redes sociales de la sociedad, y presentadas en la siguiente edición del congreso de la SEEEE. Además, entre las imágenes publicadas en la revista *Etología*, se seleccionará anualmente un/a ganador/a al que se le cubrirán los gastos de la cuota de socio durante un año.

El envío de imágenes para el volumen anual de la revista será hasta el primero de febrero del año que corresponda, en formato digital de alta calidad (.TIFF), que facilite su posterior publicación. Las imágenes deberán enviarse mediante correo electrónico al correo seeecretaria@gmail.com con el asunto ETOIMAGEN. El formato de las imágenes es libre, pero no se admitirán aquellas con alteración digital más allá de correcciones de color, contraste, luminosidad o conversiones a blanco y negro. Las imágenes no deberán tener marcos, bordes, marcas de agua ni pies de foto.

Etologuía

Boletín de la Sociedad Española
de Etología y Ecología Evolutiva

Volumen nº 25 2019 ISSN: 1135-6588

- 3 ÍNDICE
- 5 CARTA EDITORIAL, *Juan José Soler*
- 7 ETOIMAGEN
Canibalismo, *Eva De Mas Castroverde*
Protección bajo tierra, *Francisco J. Oficialdegui*
- 11 BUSCANDO RESPUESTAS, HISTORIAS DE LÍNEAS DE
INVESTIGACIÓN ACTUALES
Información social en la toma de decisiones por los animales,
Deseada Parejo
- 27 METODOLOGÍAS
Aplicaciones actuales de la genómica y la bioinformática para el
estudio del comportamiento, *David Martín-Gálvez*
- 57 VOLVIENDO A LOS CLÁSICOS
La Tragedia de los (bienes) Comunes Garrett Hardin (1968),
Carmen Zamora Muñoz
- 65 TESIS EN ETOLOGÍA
- 103 NOTICIAS DE LA SOCIEDAD
- 109 BASES DEL CONCURSO INTERNACIONAL DE FOTOGRAFÍA

