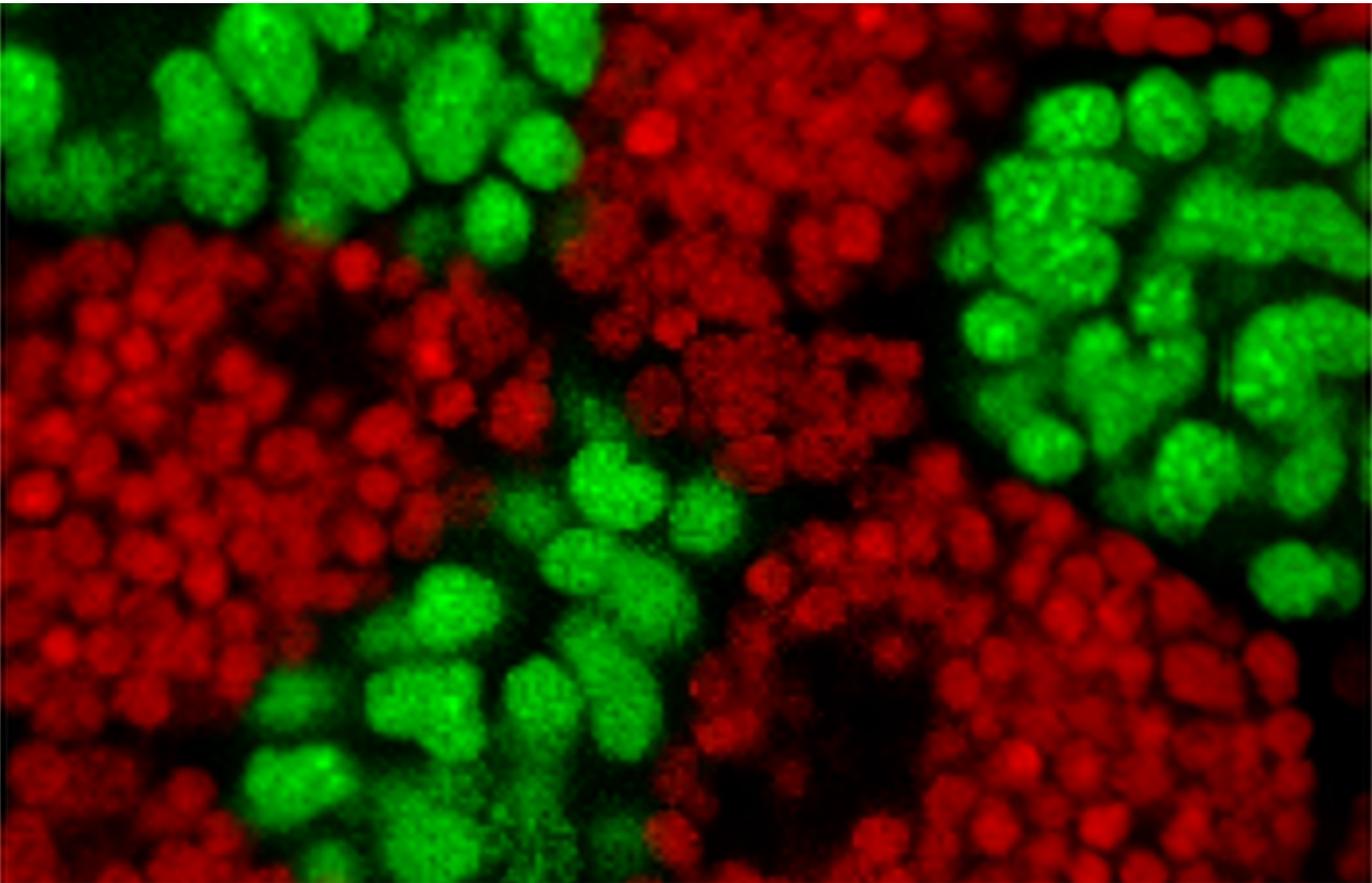


eVOLUCIÓN

Boletín de la Sociedad Española de Biología Evolutiva
Vól. 16(1) Marzo 2022



Sumario

Carta del Presidente de la SESBE	3
<i>Toni Gabaldón</i>	
Agresividad humana recurrente: Engranajes Biológicos.....	5
<i>Adolf Tobeña, Catedrático Emérito de Neurociencias de la UAB</i>	
Consanguinidad, censo efectivo de población y variación funcional en la era genómica.....	24
<i>Armando Caballero, Universidade de Vigo</i>	
Grafos evolutivos: una estructura de datos que maximiza la información evolutiva contenida en las secuencias genómicas.....	36
<i>Sònia Casillas y Antonio Barbadilla, Universidad Autónoma de Barcelona</i>	
Simbiosis en insectos: un ejemplo de evolución de la convivencia entre diferentes	47
<i>Amparo Latorre y Rosario Gil, Universitat de Valencia</i>	
An Interview with Axel Meyer.....	67
<i>Darío Lupiáñez, Universität Konstanz, Alemania</i>	
Entrevista a Cristian Cañestro, Ricard Albalat y Alfonso Ferrández-Roldán (Universitat de Barcelona).....	77
First Pere Alberch prize to the best PhD thesis from the Spanish Society of Evolutionary Biology.....	85
Resumen del congreso SESBE VIII (2-4 febrero 2022) en Vigo.....	92
Libros de la colección SESBE	95
Cómo hacerse miembro de la SESBE.....	99

Carta del Presidente de la SESBE

Toni Gabaldón

Os doy la bienvenida a este nuevo número de la revista eVOLUCIÓN dónde, como siempre, encontraréis artículos e información de gran interés. El pasado Febrero tuvo lugar nuestro congreso en Vigo, el cual fue todo un éxito, y más considerando las circunstancias en las que se produjo, en plena bajada de una sexta ola de covid-19 que nos pilló a todos por sorpresa. Sin embargo, pese a alguna cancelación de última hora y alguna ponencia que tuvo que ser virtual el congreso se pudo celebrar con normalidad. Desde aquí quiero reiterar mis felicitaciones y agradecimiento a Emilio Rolán y a todas las personas que se entregaron en la organización de este congreso. Os emplazamos para el siguiente, que tendrá lugar en 2024 en Málaga. Durante el congreso celebramos la asamblea general de la SES-



BE donde aprobamos ciertos cambios en los estatutos, entre los que se encuentra la adaptación a un lenguaje más inclusivo y la clarificación del procedimiento de nombrar socios y socias de honor. En esa asamblea se aprobaron las dos nominaciones recibidas, la del Dr. Anders Pape Møller y la Dra. Montserrat Aguadé Porrés, ambas grandes figuras de gran valía y prestigio en el campo de la biología evolu-

tiva. El honor es nuestro. También fue un honor entregar los premios de la primera edición del premio Pere Alberch a la mejor tesis en evolución, que fueron dos primeros premios *ex aequo*, debido a la alta calidad de las tesis doctorales presentadas y la consideración de que el periodo considerado era mayor de dos años. La investigación en biología evolutiva en nuestro país es de muy alta calidad y prueba de ello son las tesis doctorales que se hacen en ese ámbito. Con este premio la SEBE propone dar visibilidad al gran trabajo de investigación que realizan las doctorandas y doctorandos. En el pasado congreso también tocó renovar la Junta Directiva y quiero agradecer a los vocales salientes, Emilio Rolán y Jordi García, y felicitar a las dos nuevas entradas, Rosalía Piñeiro y Borja Figueirido.

Me gustaría recordar el programa de Mentoría puesto en marcha por la SESBE y que va dirigido a personas en etapa postdoctoral o dando los primeros pasos como investigador/a independiente. Hemos dotado a este programa de unas ayudas económicas a visitas y actividades

entre las personas que participen del programa. La información sobre este y otros programas de la SESBE se encuentra en nuestra página web. La SESBE cuenta actualmente con 385 socios y socias. Un número considerablemente más alto que hace unos años, pero que creo que debería poder crecer para poder realizar más actividades. Además del congreso y el apoyo que venimos brindando con becas a otros encuentros sobre evolución, es intención de la SESBE organizar otras actividades como jornadas específicas o cursos. Cualquier persona socia puede tomar la iniciativa y hacernos llegar una propuesta a la SESBE, que podría dar apoyo logístico y económico a actividades organizadas por personas asociadas en nombre de la SESBE que se alineen con los objetivos de la sociedad.

Como siempre, os animo a seguir estos y otros desarrollos de la SESBE en esta revista, en nuestra web y en nuestra cuenta de Twitter, así como a participar en las actividades de la sociedad. Pero sobre todo a sentirnos parte de ella. Si quieres contribuir no dudes en escribirnos.

Toni Gabaldón

Presidente de la SESBE

Agresividad humana recurrente: Engranajes Biológicos

Adolf Tobeña, Instituto de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona. Cerdanyola, Spain.

Cuando se enumeran los móviles de la violencia más perniciosa hay protagonistas que sobresalen con rotundidad. La codicia, la ambición, el anhelo vengativo, la envidia, los celos, la adicción a estupefacientes, las banderías fanáticas y otras pasiones ofuscadoras se llevan la palma de la letalidad. Existe una vasta evidencia de ello en las crónicas de los desmanes humanos.

Resulta curioso, sin embargo, que la agresividad¹ acostumbre a faltar en ese elenco de pulsiones lesivas. Ello se debe, creo, a

una confusión sobre la naturaleza del carácter humano que alcanzó incluso a los profesionales de la Criminología y no pocos ámbitos de la Biología. El desconcierto viene de lejos, aunque se acrecentó con el progreso tecnológico y las mejoras del confort vital. Sospecho que esa confusión proviene de la peculiar maquinaria neurocognitiva que nos caracteriza: la formidable capacidad de escrutinio y autocontrol lleva a considerar la agresión como una herramienta auxiliar. Una reminiscencia al servicio de otros vectores mucho más complejos que intervienen en las disensiones. Las tácticas ofensivas o defensivas más primarias serían procedimientos utilizables a voluntad y de ninguna manera una imposición del legado biológico. Ese tipo de reliquias del pasado animal habrían quedado muy atrás, aparentemente, en nuestro devenir evolutivo.

1 En este ensayo no se hacen distinguos entre violencia y agresión. La agresividad denota el rasgo comportamental de ser violento o agresivo. Se usan esos términos de modo indistinto sin entrar en definiciones, delimitaciones o gradaciones que han tenido entretenidas a las ciencias sociales, durante más de un siglo, sin llegar a ningún acuerdo.

No obstante, la sabiduría más común siempre ha distinguido entre la gente de temple pendenciero y el personal plácido y afable. Y las elegías dedicadas a la mansedumbre y la templanza que reiteran, con perseverancia, las tradiciones religiosas deberían alertar sobre la proclividad dañina “de base” de no pocos primates sabios. Pero como las manifestaciones de la agresividad suelen ser episódicas, es decir, pasajeras y volátiles, se relega esa prudencia y se prefieren destacar, por el contrario, las tendencias a la cooperación y la confraternización que son también rasgos insoslayables del carácter humano. Si pueden permitírsele los primates sabios prefieren jugar, conversar, danzar, comerciar o emprender proyectos en común, entre otras muchas ocupaciones donde la presencia de la agresividad es tenue o inaprensible. Ese es el resquicio, inadvertido, aunque pertinaz, a través del cual germina el olvido o el autoengaño en relación con las predisposiciones violentas de los individuos de nuestra especie. Pero cuando se detectan amenazas o surge un conflicto de intereses los dispositivos al servicio de la

agresividad primordial pueden activarse sin necesidad de deliberación. Porque responden, en realidad, a engranajes de base biológica tanto si se trata de reacciones “en caliente” para contrarrestar intimidaciones ofensivas (agresión reactiva o afectiva), como si irrumpen las maquinaciones que conducen a ataques calculados (agresión instrumental), dirigidos a debilitar o eliminar competidores (Blanchard y Blanchard 2003; Lishinsky y Din, 2020; Wrangham 2018).

“Cuando se enumeran los móviles de la violencia más perniciosos hay protagonistas que sobresalen con rotundidad... Resulta curioso, sin embargo, que la agresividad acostumbre a faltar en ese elenco de pulsiones lesivas”

Tan grande llegó a ser la confusión sobre la naturaleza de la agresividad humana, que instituciones de prestigio se dedicaron, durante décadas, a vehicular doctrinas erróneas sobre la

cuestión. La declaración de la UNESCO sobre la violencia humana firmada en Sevilla en 1986 y asumida como documento oficial en 1989, es el ejemplo más conspicuo de ello. Uno de sus puntos programáticos sostenía que *“las afirmaciones sobre la existencia de un cerebro violento son científicamente incorrectas”*, y postulaba asimismo que *“La violencia no está ni en nuestro legado evolutivo ni en nuestros genes; nada hay en nuestra neurofisiología*

que nos conduzca a actuar violentamente". Eso concluyó el selecto grupo internacional de expertos en biología y ciencias sociales que le dio curso.

En 1986 los datos a favor de la existencia de engranajes neurales dispuestos para dar salida a diferentes formas de agresividad eran muy firmes. Ahora son abrumadores (Lorenz 1966; Nelson y Tra-

inor 2007; Niehoff 1999). Cabe conceder que durante largo tiempo las discusiones sobre la génesis de la violencia se vieron lastradas por la escasez de datos sobre el "armamento neural y endocrino" que los humanos reciben, en mayor o menor grado, en la lotería genética o cultivan con mayor o menor dedicación en su periplo vital. Es decir, por la ignorancia sobre el peso de las interacciones entre la herencia

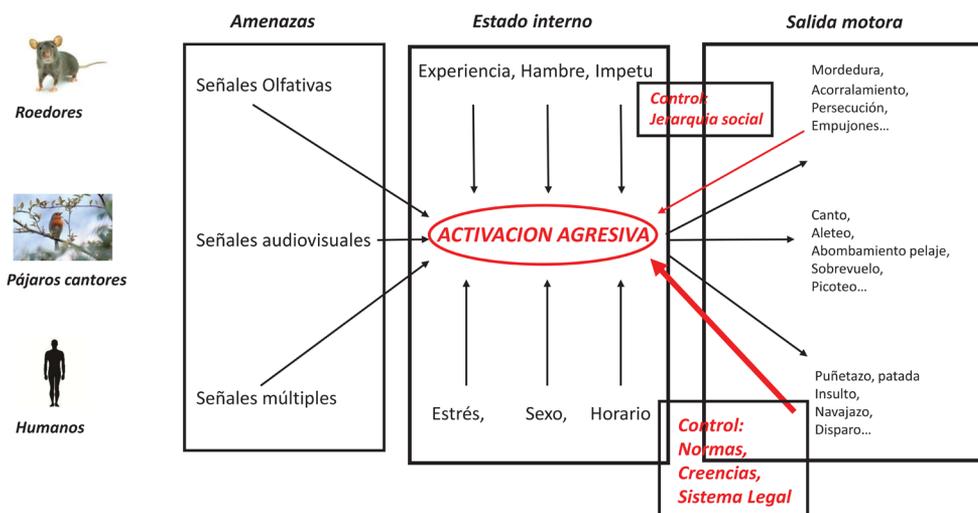


Figura 1. El proceso biológico que media las agresiones en roedores, pájaros cantores y humanos.

Las amenazas inducen una activación agresiva que está sujeta a modulación por varios estados internos y la experiencia previa (p.e.: el estatus del oponente o las consecuencias de un ataque anterior). La activación agresiva dispara las salidas hostiles o violentas. En humanos, esa activación agresiva suele acompañarse de vivencias de rabia o cólera. Aunque el proceso es similar, las especies difieren en el desencadenante, en la expresión motora y en el grado de control cognitivo sobre las acciones agresivas. La potencia del control cognitivo sobre esas salidas se denota, en el esquema, por el grosor de las líneas rojas en la parte derecha del esquema. (Modificada a partir de Lishinsky y Lin 2020).

genética, la maduración neuroendocrina y los surcos del aprendizaje en la eclosión del perfil violento o plácido que mostrará cada cual a lo largo de la vida. Hace tiempo, sin embargo, que no valen excusas porque el conocimiento de los resortes básicos de la agresividad es formidable y el traslado al ámbito de las aplicaciones creciente. Esos resortes (Figura 1) son, en primerísima instancia, de índole biológica (Blanchard y Blanchard 2003; Lishinsky y Din, 2020; Lorenz 1966; Nelson y Trainor 2007; Niehoff 1999).

El bagaje es incipiente, no obstante, cuando hay que abordar el sinfín de tipologías lesivas que la conducta antisocial puede adoptar en nuestra estirpe. Los tramposos, los ladrones, los farsantes, los corruptos, los manipuladores, los parásitos, los traidores, los abusadores y una legión de sinvergüenzas, rufianes y malvados de toda condición saben escapar, con facilidad, a los radares para detectar indicios del temple violento (Tobeña 2018). Pero hay ingredientes discernibles en los temperamentos proclives a la agresividad que van asociados, además, con una alta peligrosidad y resulta conveniente conocerlos.

Neuroanatomía de la irritación colé-rica, el enfado y los impulsos vengativos

En Medicina jamás fue novedad el señalar que existen dispositivos neurales al servicio de la agresividad. Hay un amplio abanico de trastornos neurológicos y psiquiátricos, así como de otros cuadros clínicos, que cursan con erupciones abruptas o episodios reiterados de agitación, hostilidad y violencia. Existen, además, herramientas farmacológicas bastante selectivas para atenuar o corregir esos desajustes. Debiera colegirse, por consiguiente, que esos arietes moleculares actúan sobre engranajes neurales o endocrinos particulares. La evidencia que se había reunido, en mamíferos, para acotar la neuroanatomía de la agresividad era solidísima a finales de la década de los sesenta del siglo anterior (Blanchard y Blanchard 2003; Nelson y Trainor 2007; Niehoff 1999). Las observaciones descritas en pacientes sugerían, asimismo, que el mapa esencial de las regiones neurales que promueven las eclosiones ofensivas o defensivas era consonante con el de los animales. Pero esos hallazgos no convenían a los escépticos.

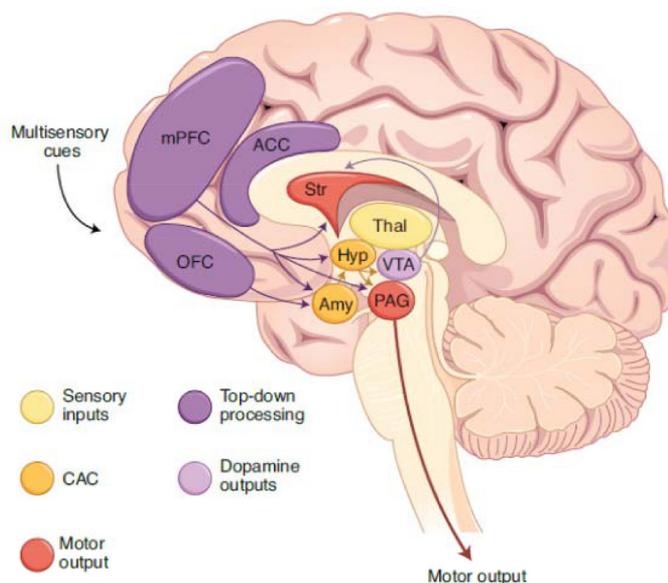
“Las observaciones descritas en pacientes sugerían, asimismo, que el mapa esencial de las regiones neurales que promueven las eclosiones ofensivas o defensivas era consonante con el de los animales”

Un estudio del equipo de Antonio Damasio permitió zanjar la cuestión (Damasio et al 2000). Analizaron las variaciones de actividad neural durante la autoinducción de cuatro vivencias emotivas (tristeza, alegría, miedo y rabia). Para ello pidieron a sujetos normativos que rememoraran un episodio autobiográfico impregnado con alguna de esas reacciones. Mientras evocaban la vivencia auto-inducida obtuvieron escaneos PET del trabajo cerebral (tomografía de emisión de positrones). El objetivo era detectar cambios de la actividad neural

para cada uno de esos estados emotivos “revividos”, en el equipo de neuroimagen, comparándolos con el recuerdo de una vivencia personal anodina. Tomaron precauciones para dar por buena la autoinducción emotiva: los 41 sujetos procedían de una bolsa mayor de voluntarios que hicieron evocaciones autobiográficas mientras se registraba su actividad fisiológica. Los resultados PET revelaron unos patrones de activación neural peculiar para cada una de aquellas vivencias emotivas en varios territorios del encéfalo. Para el recuerdo

Figura 2. Circuitos de la agresión en humanos.

Las amenazas del entorno son procesadas por el tálamo para enviarlas a los circuitos nucleares de la agresividad (Core Agresion Circuits-CAC), donde disparan salidas agresivas mediante proyecciones hacia los ganglios basales y el tallo encefálico. Los haces que van desde la corteza prefrontal a múltiples regiones CAC intervienen en el control cognitivo de las salidas agresivas. En amarillo= regiones para el procesamiento sensorial; naranja= regiones primordiales CAC; rojo= regiones para las salidas motoras; violeta= áreas para el control descendente de impulsos; lila= zonas donde nacen los circuitos de dopamina. Las flechas indican conexiones bien establecidas. Amy: amígdala; Hyp: hipotálamo; Str: estriado; Thal: tálamo; OFC, corteza orbitofrontal; mPFC: corteza prefrontal medial; ACC: corteza cingulada anterior. (Modificada a partir de Lishinsky y Lin 2020: véanse ahí esquemas detallados de los circuitos CAC en roedores y pájaros cantores).



iracundo o colérico se detectaron activaciones específicas en las áreas dorsales del mesencéfalo y la protuberancia del tallo encefálico (región donde se encuentra la sustancia gris periacueductal), así como en zonas ventrales y posteriores del hipotálamo, en la circunvolución cingulada anterior y en áreas de la corteza insular. Había, además, una ostensible desactivación o silenciamiento neural de amplias regiones orbitofrontales y ventromediales de la corteza prefrontal (Figura 2).

Ese patrón para la rememoración colérica genuina confirmaba, de una parte, la implicación de diversas regiones cruciales que ya habían sido vinculadas con la expresión de la agresividad reactiva en estudios en animales y en diversos tipos de pacientes (Lishinsky y Din 2020; Nelson y Trainor 2007; Niehoff 1999). La única región relevante y ausente en esos hallazgos era ambas amígdalas cerebrales: deberían estar activadas y no ocurrió así. El reclutamiento amigdalario interviene, sobre todo, en los automatismos ultra rápido y preconscientes ante señales amenazantes. Es muy probable, por consiguiente, que la rememoración deliberada no requiera su implicación. La participación de las regiones del tallo encefálico donde residen las columnas dorsales y laterales de la sustancia gris periacueductal señalaba los resortes que dan salida a la orquestación motora de la agresividad (gestos faciales,

patrones posturales, irrigación acentuada de partes cefálicas del cuerpo), ya que la experimentación animal sitúa en esas encrucijadas el *crescendo* agresivo de tipo reactivo (Blanchard y Blanchard 2003; Lishinsky y Din 2020; Nelson y Trainor 2007; Niehoff 1999).

Ese estudio zanjó la cuestión porque: 1. confirmó los mapas de la neuroanatomía agresiva que se habían delimitado mediante experimentación invasiva en mamíferos; 2. dio fuerza a las observaciones de los biólogos comportamentales que habían detectado regularidades entre las expresiones gestuales y posturales de la agresividad en humanos y en otros primates; 3. corroboró los datos obtenidos en pacientes neurológicos sobre regiones cerebrales susceptibles de estar vinculadas con la expresión y control de la agresividad; 4. confirmó la noción de que hay una maquinaria neural, en el cerebro humano, al servicio del disparo de reacciones ofensivas y defensivas que tienen una orquestación compleja aunque discernible (Lishinsky y Din 2020; Nelson y Trainor 2007; Niehoff 1999). No obstante, la circuitería detallada que conecta los sistemas defensivos y ofensivos del cerebro humano con la expresión abierta de la irritación o la hostilidad (gestos faciales y corporales, descargas verbales, cambios humorales), está todavía por culminar, con la minuciosidad requerida (Lishinsky y Din 2020).

El ánimo vengativo, por poner un ejemplo conspicuo, fue pronto trasladado a los laboratorios de neuroimagen. Tania Singer lideró trabajos pioneros de un equipo suizo-británico (Singer et al 2006): escanearon los cerebros de personas normativas que habían sido “estafadas” durante un juego económico en el que había un emolumento a percibir, siempre y cuando se reiteraran los intercambios cooperativos. Varios participantes que decidieron primar la confianza mutua fueron comprobando que sus colegas se asignaban la parte del león de las ganancias. Luego, mientras eran escaneados, tenían la oportunidad de contemplar cómo esos abusos eran castigados con corrientes eléctricas. Los hallazgos esenciales fueron dos: los circuitos que se activan, de ordinario, ante el sufrimiento físico ajeno (algunos territorios de la corteza insular y áreas prefrontales anteriores, sobretodo) se mantenían con poca actividad o en silencio ante el castigo infringido a un “sinvergüenza” y ello se acompañaba, además, de una efervescencia añadida en zonas de modulación del placer. Es decir, tenemos dispositivos neurales primados para dar salida e incluso disfrutar, automáticamente, al contemplar una venganza cumplida. Ese vínculo entre la retribución agresiva y los circuitos neurales del placer se ha podido corroborar en diversos tipos de montaje de “*provocación agresiva*”, en laboratorios de neuroimagen (Chester y DeWall 2016).

Por último, los estudios con estimulación eléctrica transcraneal, suave y no-invasiva, en zonas pre-frontales del cerebro, han mostrado que al incrementarse el trabajo de las regiones prefrontales mediales y orbitofrontales se atenúan las salidas hostiles o violentas. Ello supone una sólida corroboración del control sobre la agresividad que tienen esas zonas cerebrales, por haberse comprobado tanto en pacientes hiperagresivos como en los montajes de provocación agresiva en gente normativa (Sergiou et al 2020).

Hormonas y violencia

La circuitería neural al servicio de la combatividad trabaja mediante un arsenal de sustancias que se encargan de activar o desactivar resortes durante las disputas por recursos, estatus o privilegios. Esos moduladores de los engranajes de la agresividad pertenecen a diversos sistemas de neuroregulación química: moléculas que disparan o frenan diálogos intersinápticos. Algunas ejercen su acción de manera directa en las regiones del cerebro ofensivo/defensivo mientras que otras (la mayoría, en realidad) comparten esos efectos con acciones en otras zonas neurales y del resto del organismo. Las hormonas sexuales, por ejemplo, tienen una importancia capital en la modulación agresiva

“Se ha comprobado, por ejemplo, que los individuos que protagonizan episodios frecuentes de violencia destructiva que les conducen al encarcelamiento con la catalogación como delincuentes peligrosos, suelen tener un perfil caracterizado por índices anormalmente altos de testosterona y bajos de serotonina y cortisol”

aunque para ello deban llegar al cerebro desde su lugar de origen (las gónadas, pero también las glándulas suprarrenales y territorios dérmicos), y ejercen acciones variadas en el propio tejido encefálico, en los músculos y en otros lugares del cuerpo. Junto a ellas, los corticoides, la serotonina, la vasopresina, los opioides, la dopamina, la insulina, la noradrenalina, el ácido gamma-amino-butírico, el óxido nítrico, la oxitocina y otros muchos neuromoduladores regulan las salidas agresivas, de tal manera que unos favorecen su expresión frecuente e intensa mientras que otros actúan como frenos o atenuadores (Lishinsky y Din 2020; Nelson y Trainor 2007; Niehoff 1999).

El mero hecho de que exista un abanico de sustancias endógenas para acentuar o moderar las salidas agresivas denota la versatilidad de esa estrategia comportamental. Sus pormenores permiten trazar perfiles neurohormonales que distinguen a los individuos aunque no son invaria-

bles: están sujetos, por ejemplo, a oscilaciones en función de la edad (Steinberg 2013) o de las cambiantes exigencias vitales. No obstante, el meollo del talante combativo o dócil suele tener estabilidad y depende, en primera instancia, de los patrones neurohormonales basales y reactivos. Durante décadas esa noción motivó desacuerdos muy vivos. Sin embargo, las mejoras en la consistencia de unas estimaciones hormonales que han devenido accesibles y baratas, contribuyeron a clausurar la polémica.

Se ha comprobado, por ejemplo, que los individuos que protagonizan episodios frecuentes de violencia destructiva que les conducen al encarcelamiento con la catalogación como delincuentes peligrosos, suelen tener un perfil caracterizado por índices anormalmente altos de testosterona y bajos de serotonina y cortisol. Esos patrones también se han reproducido, de manera atenuada, en pendenciosos más comunes. En lo que atañe a la tes-

tosterona, esos resultados han recibido corroboración experimental: cuando se administran dosis diarias de preparados de testosterona (u otros andrógenos) para remedar las que toman los adictos al crecimiento de la masa muscular en los gimnasios, se han documentado incrementos de la agresividad, de los brotes violentos e incluso de la expresión de sentimientos hostiles. Es decir, se han reproducido, en gente normativa y sin historia de abuso de hormonas, los accesos violentos que se observan, a menudo, en los atletas que se dopan con esteroides androgénicos. En cuanto a la combinación de testosterona alta y cortisol bajo detectada, repetidamente, en varones de temple irascible existen resultados que confirman ese patrón en muchachas adolescentes con proclividad a la conducta antisocial. Con el flujo creciente de datos de ese tipo (Yildirim y Derksen 2012), no resulta descabellado predecir que los informes forenses irán incorporando el análisis minucioso de los perfiles hormonales.

Por otra parte, los datos sobre la implicación de la serotonina como dispositivo atenuador de la agresividad impulsiva son más concluyentes si cabe. Además de múltiples resultados convergentes en pacientes y en individuos normativos que indican una vinculación potente entre el fracaso del funcionalismo serotoninérgico y la eclosión de tendencias violentas

(Lishinsky y Din 2020; Nelson y Trainor 2007; Niehoff 1999), se dieron avances a partir de la modificación de estirpes animales mediante ingeniería génica. Son datos que robustecieron la relación (negativa o de contención) entre la serotonina y la agresión, al tiempo que se deslindaban sus mecanismos. Los roedores que carecen, por ejemplo, del receptor 5-HT1b de la serotonina muestran una proclividad a la agresión territorial (los machos) y defensivo-maternal (las hembras) que los distingue de manera meridiana de sus controles no manipulados genéticamente. Junto a la ferocidad presentan una elevada impulsividad y nulo temor ante el peligro. Tienden a disparar acciones con prontitud ante todo tipo de incentivos o provocaciones. Se comportan, por consiguiente, como si carecieran de alguno de los dispositivos que permiten la inhibición de impulsos. Ese patrón remeda perfiles de las anomalías de la agresividad humana que cursan con mayor peligrosidad: violencia desmedida, alta impulsividad y poco o nulo miedo. Se trata, en realidad, de una combinación prototípica en los delincuentes catalogados como dañinos y crueles (Tobeña 2018). El estudio de esos mutantes llegó al punto de caracterizar estirpes en las que el silenciamiento o la sobreexpresión del receptor 5-HT1b se da en territorios particulares del cerebro agresivo. Un receptor abundante, por cierto, en la amígdala basolateral, el

hipotálamo ventro-lateral y la sustancia gris periacueductal. Es decir en los nodos de la circuitería neural de la agresividad redondeando, de paso, los datos neuroanatómicos obtenidos mediante procedimientos cada vez más selectivos (Lishinsky y Din 2020).

Mutantes disruptivos

Esas aproximaciones moleculares fueron desbrozando la descripción de los engranajes de la conducta agresiva en el cerebro, al tiempo que corroboraban la poderosa contribución genética a la cristalización de esos dispositivos neurales (Zhang-James et al 2019). Además de los hallazgos sobre la heredabilidad de la proclividad violenta y delictiva, derivados de comparaciones de los itinerarios antisociales de miles de pares de mellizos y de gemelos idénticos, así como en estudios de adopción, en 1994 se produjo una novedad sustantiva. Era la primera vez que podía establecerse una conexión directa entre una anomalía genética y un trastorno agresivo. Los datos correspondían a una familia holandesa que disparó las alarmas de los médicos del Hospital Universitario de Nimega porque diversas mujeres que habían sido atendidas por malos tratos severos, en un corto intervalo de tiempo, estaban emparentadas por su familia po-

lítica (Brunner et al 1994). La anamnesis cruzada reveló que diversos varones de ese clan familiar habían protagonizado un gran número de altercados, detenciones por asaltos, episodios incendiarios, violaciones y exhibicionismo, además de brotes de violencia doméstica que habían alcanzado grados extremos.

El rastreo de posibles anomalías génicas en los varones localizables por estar en prisión o bajo vigilancia, permitió detectar una mutación puntual en el gen de la MonoAminoOxidasa A (MAOA), un enzima crucial en el metabolismo de las aminas neuroreguladoras. En ese caso, la alteración implicaba la pérdida de un eslabón imprescindible para la labor de diversos neuroreguladores (con un derrumbe de la función de la serotonina), generando a su vez alteraciones en la conducta social y en la inteligencia (todos los afectados tenían unos QI que apenas alcanzaban la normalidad). Este hallazgo de la genética clínica fue corroborado en ratones usando métodos de bricolaje génico: los mutantes que no poseen el gen prescriptor de MAOA se distinguen por una conducta feroz e impulsiva en tests de laboratorio. El dato era relevante porque existía una tradición de pesquisas, en humanos normativos, que había mostrado que una baja actividad MAOA se asociaba a estilos de conducta impulsiva y poca capacidad de autocontrol. Y también se

habían detectado, a menudo, índices bajos de actividad MAOA en individuos con afición a los deportes de riesgo extremo o a las experiencias muy peligrosas. Esa gente suele presentar, además, puntajes altos en las escalas de agresividad.

Nótese que una anomalía neurogenética grave indujo una aberración fenotípica que acarrea proclividad a la violencia desmedida. Hay que recalcar que eso se circunscribía al linaje familiar que presentaba esa mutación desde el nacimiento. En cambio, las oscilaciones de ese mismo parámetro neuroquímico cerca de umbrales disfuncionales, pero en el rango normativo, promueven rasgos impulsivos o temerarios del carácter que sitúan a los individuos en los lindes de la conducta asocial. Las comparaciones entre portadores de las versiones alélicas ordinarias que dan una alta o baja eficiencia MAOA se

acompañan, además, de variaciones estructurales en regiones de la corteza prefrontal y en territorios límbicos. Por otra parte, las estimaciones del grado de actividad MAOA, directamente en cerebro, se comportan como un buen predictor de la agresividad ordinaria en gente normativa, de manera que a mayor actividad MAOA mayor placidez y benignidad.

Las anomalías violentas debidas a mutaciones serán, en cualquier caso, muy poco frecuentes por la morbilidad acentuada que acarrearán, aunque plantearán no pocos dilemas en el tratamiento penal y rehabilitador. En cambio, la detección de individuos cercanos a los umbrales de riesgo antisocial, en función de rasgos temperamentales de fuerte raigambre biológica, planteará desafíos mucho más comunes (Hare 1994; Tobeña 2018; Zhang-James et al 2019).

“Las anomalías violentas debidas a mutaciones serán, en cualquier caso, muy poco frecuentes por la morbilidad acentuada que acarrearán, aunque plantearán no pocos dilemas en el tratamiento penal y rehabilitador”

Tampones génicos para victimizaciones

La caracterización de mecanismos neurohormonales vinculados a la proclividad violenta puede servir, asimismo, para detectar amortiguadores de peligrosidad. La relevancia de MAOA en los sistemas de neuroregulación aminérgica fue el acicate para un estudio pionero sobre la repercusión de los malos tratos reitera-

dos en criaturas, en la violencia y conflictividad posterior (Caspi et al 2002). Había datos que indicaban que el abandono o el maltrato físico devastador, durante la primera infancia, podían ser vectores de riesgo para la violencia durante la juventud y la edad adulta. Aunque la mayoría de niños que han sido víctimas de malos tratos, abusos o abandono grave en sus hogares, no presenta un perfil violento o delictivo ulterior hay razones para sospechar algún tipo de nexos.

El estudio incluyó una cohorte de 1037 niños, neozelandeses, que fueron evaluados cada tres años, desde los 3 hasta los 26 años de edad. El 96% de la muestra inicial se mantenía intacta y sin sesgos en ese punto. Se obtuvieron marcajes de un polimorfismo en la región promotora del gen MAOA, que afecta a su expresión, de manera que un 63% de la muestra presentó una actividad MAOA alta y un 37% baja. En cuanto a los malos tratos consignados por los facultativos, un 8% de la muestra cumplió criterios de malos tratos seguros, un 28% recibió la catalogación de malos tratos probables y en un 64% no se apreció maltrato infantil. A partir de ahí, se estudiaron las vinculaciones entre la tipología genética (actividad MAOA alta/baja) y la influencia de los malos tratos precoces (seguros/probables/ausentes). Se utilizaron varias medidas: los diagnósticos de Conducta Disruptiva

durante la adolescencia; sanciones por acciones violentas registradas en archivos policiales; disposición temperamental a la violencia a los 26 años y diagnósticos de Trastorno de Personalidad Antisocial a esa edad. La actividad MAOA por sí sola no influyó los puntajes en un índice global de asocialidad, mientras que los malos tratos sí lo hicieron en el subgrupo de los que los habían sufrido. Las interacciones entre ambos factores suministraron, sin embargo, los datos más reveladores. La influencia lesiva ulterior de los malos tratos solo apareció en individuos con actividad MAOA baja, mientras que la MAOA alta protegía contra esa adversidad infantil. Así lo reflejaron todas las medidas: el cóctel “MAOA baja y malos tratos” ofrecía los índices más altos en la proclividad a la violencia ulterior, mientras que la combinación “MAOA alta y malos tratos” no llevaba a incrementos en la conflictividad. En 481 niñas estudiadas de manera concomitante se obtuvieron resultados parejos. Conclusión: la actividad MAOA alta actúa como un amortiguador de las anomalías neuromadurativas consecutivas al maltrato reiterado o los abusos en la infancia.

Eso fue una novedad radical. Indica que algunos perfiles genéticos pueden contrarrestar o atenuar los estragos debidos a adversidades precoces que pueden conducir a una socialización problemática.

ca. Desde entonces, ha habido varios estudios que confirman esos hallazgos. Por otro lado, como existen múltiples engranajes moleculares en la modulación de las salidas combativas, hay que esperar datos complementarios para otros sistemas genéticos implicados en la neuromodulación de la agresividad y la competición social (Zhang-James et al 2019).

Neurotipificación de la psicopatía

Los ejemplos de cooperación y ayuda compasiva son variadísimos en la conducta humana, pero también lo son la coerción, el abuso o el engaño traicionero. Esos comportamientos lesivos pueden darse en paralelo, además, con una agresividad estentórea o con formas de violencia fría y calculada. Los psicópatas, los individuos de temple más encallecido, se sitúan en el extremo más dañino en las interacciones sociales y se les puede distinguir por la frecuencia y las modalidades a menudo crueles de sus acciones. Los bien caracterizados alcanzan porcentajes que oscilan entre el 1% - 1,5% de la población. En las prisiones, los que reciben ese diagnóstico raramente superan la cota del 30% de los reclusos, aunque son responsables de más del 60% de los delitos mayores (Hare 1994; Tobeña 2018).

Los hallazgos de una larga serie de estudios efectuados en psicópatas han aportado luces complementarias a los orígenes de la agresividad (Bair et al 2006; Darby et al 2018; Pujol et al 2019; Tobeña 2018). Comenzaron al constatarse una reducción del volumen de materia gris en la corteza prefrontal en 21 adultos con esa catalogación al compararlos con controles normativos de edades parecidas, en medidas de Resonancia Magnética (Raine et al 1997). Esa reducción volumétrica prefrontal también se apreciaba al compararlos con grupos formados por adictos a sustancias tóxicas o pacientes psiquiátricos con otros diagnósticos. Es decir, esa singularidad no podía achacarse a la ingesta crónica de estupefacientes o a disfunciones alternativas.

En esos antisociales se detectó, además, una disminución notoria de la activación emotiva – en registros electrodermales y del ritmo cardíaco –, durante una tarea comprometida: comentar en público sus delitos en una sesión grabada. Esos datos, en concreto, coincidían con hallazgos que resaltaban la frialdad emotiva en los individuos de temple psicopático. Usando medidas fisiológicas, así como parámetros hormonales, respuestas de sobresalto o las reacciones ante imágenes visuales o provocaciones verbales, se han obtenido multitud de resultados que indican que los psicópatas tienen unas reacciones

aplanadas o anómalas ante las situaciones de peligro o de amenaza vital (Blair et al 2006; Hare 1994; Pujol et al 2019; Tobeña 2108). Fue el primer indicio de una disregulación en la psicopatía y concordaba con trabajos preliminares en los que ya se había detectado una hipofunción en la corteza prefrontal de asesinos convictos y con diagnóstico de psicopatía, mediante técnicas PET de neuroimagen. Ninguna de las variables psicosociales (nivel educativo, clase social, barrio de residencia, nivel de inteligencia), mediaba tales efectos (Raine et al 1997).

Todo ello permitió establecer vínculos con un “cuadro neurológico” conocido de antiguo. Los pacientes con lesiones graves localizadas en las regiones orbitofrontales y ventromediales de la corteza prefrontal, suelen presentar patrones de impulsividad acentuada, aplanamiento emotivo, ausencia de control sobre las consecuencias futuras de su conducta, preferencia por opciones de alto riesgo, irritabilidad, ac-

titudes hostiles y tendencia sistemática al engaño, a eludir culpas y a carecer de arrepentimiento ante el daño causado a los demás (Blair et al 2006; Pujol et al 2019; Tobeña 2018). Es decir, predominan los ingredientes de la psicopatía, aunque ese diagnóstico no comporte ningún tipo de lesión o disfunción neu-

ral grosera. Dicho de otro modo, las lesiones neurológicas en regiones basales, anteriores y medio-laterales de la corteza prefrontal remedian algunas de las características del temple psicopático “espontáneo” y eso ocurre, de modo más ostensible, cuando esos daños neurales acontecen en edades tempranas

en el desarrollo madurativo del cerebro (Anderson et al 1999).

Hubo, por consiguiente, una confluencia entre los perfiles de conducta asocial consecutivas a lesiones neurales graves con los que distinguen a los individuos con rasgos psicopáticos (Blair et al 2006; Pujol et al 2019; Tobeña 2018). Perfiles que apun-

“El mapeo del funcionalismo cerebral mediante neuroimagen ha contribuido, por consiguiente, a la detección diagnóstica del riesgo violento en individuos con rasgos psicopáticos, tanto en la edad adulta como en criaturas con un perfil insensible o explosivo”

tan a disfunciones sutiles en las regiones cerebrales donde convergen los dispositivos ordinarios de cautela sobre las salidas combativas y predatorias. Esos déficits en el volumen cerebral o en la funcionalidad en los circuitos que tienen como nodos primordiales a zonas órbito-frontales, ventromediales y ventrolaterales de la corteza prefrontal, han sido corroborados hasta el punto de convertirse en uno de los sellos distintivos de la psicopatía, junto a disfunciones en el grado de conectividad de regiones amigdalares con esas áreas, con lo que la asignación de valencias negativas o positivas ante las entradas moralmente relevantes resulta alterada (Blair et al 2006; Pujol et al 2019; Tobeña 2018).

El mapeo del funcionalismo cerebral mediante neuroimagen ha contribuido, por consiguiente, a la detección diagnóstica del riesgo violento en individuos con rasgos psicopáticos, tanto en la edad adulta como en criaturas con un perfil insensible o explosivo (Blair et al 2006; Pujol et al 2019; Tobeña 2018), complementando así las buenas medidas psicométricas y neuropsicológicas que existen desde hace mucho.

Letalidad de especie

La enorme tolerancia y paciencia que saben mostrar los humanos ante muchos

*“Los hallazgos que colocan a los *Homo sapiens* claramente por debajo del resto de simios y primates en los índices de agresividad reactiva, pero muy por encima de ellos en la violencia calculada o instrumental”*

irritantes (dolorosos, presión social, provocaciones), que dispararían disputas inmediatas y hasta mortíferas, en animales cercanos, ha conducido a avanzar la conjetura de que somos una estirpe que habría sufrido un proceso de auto domesticación (Wrangham 2019). Una deriva con resultados anatómicos y comportamentales parecidos a los que promovió, en diversas especies, la crianza dirigida para primar la docilidad. Es decir, la selección y los cruces enfocados a la atenuación de la ferocidad que consiguieron alumbrar estirpes animales dedicadas al trabajo intensivo, el aporte alimentario o la salvaguarda y compañía de los humanos. Se están reuniendo datos coincidentes para apuntalar esa hipótesis (Wrangham 2019), que quizás permita encuadrar los hallazgos que colocan a los *Homo sapiens* claramente por debajo del resto de simios

y primates en los índices de agresividad reactiva, pero muy por encima de ellos en la violencia calculada o instrumental. De hecho, en las estimaciones de letalidad intraespecífica global estamos donde nos corresponde según los registros comparativos efectuados en mamíferos (Gómez et al 2016): los *sapiens* causamos un número de bajas debidas a acciones violentas que no se alejan, de forma consignable, de las que ocasionan los individuos de los linajes mamíferos más cercanos.

Las distintas épocas históricas ofrecen una amplia gama de variaciones, aunque ese sea nuestro cómputo letal en los registros sistemáticos de la mortandad intraespecífica. Las épocas de vida nómada, en las bandas tribales, son las que se ajustan con mayor aproximación a la letalidad de nuestros parientes animales directos. En cambio, la tendencia a la progresiva disminución de la mortandad global en tiempos históricos recientes es bastante sólida, a pesar de los sensacionales incrementos en la densidad poblacional y la destructividad de la tecnología armamentística (Gómez et al 2016; Pinker 2011). Eso va a favor de la potencia que han ido adquiriendo las normas sociales punitivas de la agresividad desmedida y también de la capacidad disuasoria de eso que se conoce como “la destrucción mutuamente asegurada”, en litigios a gran escala. La renovación biológica, sin embargo, sigue

aportando unos porcentajes nada triviales de individuos con una notoria facilidad para usar la violencia, sacar buenos réditos de ella y disfrutar de la gratificación que acompaña a la coerción ejercida con éxito. Es decir, eso que se ha comenzado a caracterizar como “agresión apetitiva” (Elbert et al 2018).

Conclusión

Las dianas neuroanatómicas, hormonales y genéticas que se han incorporado al diagnóstico de los temperamentos proclives a la violencia y de las anomalías de la agresividad reactiva o instrumental son cada vez más consistentes (Lishinsky y Din 2020; Pujol et al 2019; Yildirim y Derksen 2012; Zhang-James et al 2019). Esos periscopios son usados por los profesionales que lidian con la criminalidad reincidente cuando necesitan datos para confirmar o descartar algún tipo de alteración funcional objetivable.

Comencé señalando errores que derivaban de asunciones demasiado halagüeñas respecto de los atributos de templanza, cooperación y autocontrol inherentes a la condición humana. Errores que saltaron desde posiciones poco fundadas hasta las bases de las normas sociales y la jurisprudencia sancionadora. Las ga-

rantías que derivan de la norma escrita, así como de su aplicación ponderada, no debieran servir de coartada para ignorar el conocimiento sobre atributos de la naturaleza humana que van desvelando las disciplinas biológicas. Esa prudencia exige seguir todo aquello que la biología va desvelando sobre las propensiones combativas y antisociales de los primates sabios y sus marcadores más conspicuos. He apuntado esbozos sobre los mecanismos neurales de la violencia que emerge, en episodios de confrontación, de unos dispositivos modelados para promover la defensa, el ataque y la brega competitiva en unos escenarios que siempre fueron y continúan siendo muy exigentes. Se sabe mucho a nivel del análisis individual y también sobre los arietes incitadores de los brotes más dañinos de la violencia grupal (Tobeña 2018; Wrangham 2019). Incluso se vislumbra un extenso rango de aplicaciones derivables de ese conocimiento empírico.

De la violencia fría, largamente calculada y ejecutada con aséptica distancia mediante sicarios o milicias profesionales, se sabe menos. Pero también están en marcha los estudios que permitirán disecionar las interacciones entre los estilos cognitivos de corte tóxico, los resortes de la combatividad individual y los entramados de las coaliciones dañinas. Porque, al fin y a la postre, toda la violencia huma-

na es de origen neural: se enraiza en los engranajes que la evolución biológica tejió al servicio de la defensa individual, la predación alimentaria y los envites por el estatus, el territorio o el acceso sexual en la exigente e incesante competición social (Blanchard y Blanchard 2003; Lishinsky y Din 2020; Lorenz 1966; Wrangham 2019). Lo cual no obsta, por descontado, para que los comportamientos lesivos puedan aprenderse y ejercitarse a fondo, hasta el punto de degustarse con delectación (Elbert et al 2018). Y tampoco impide que recurran, además, a la tecnología destructiva más o menos sofisticada que haya a disposición.

No cabe esperar, por consiguiente, la eliminación de las modalidades más primarias de la agresividad y la violencia en las interacciones entre humanos. Son conductas que continúan siendo adaptativas, en no pocas circunstancias, y de ahí su tozuda reiteración. Pueden modularse y temperarse en gran medida, eso sí, y de múltiples maneras (Pinker 2011), pero en ningún caso erradicarse. Hay una compleja maquinaria biológica diseñada para que se pongan en marcha, en los litigios competitivos, en la mayoría de individuos de nuestra estirpe. Y debe tenerse presente que una proporción nada banal de ellos, los de temple violento, tienen los gatillos fáciles para su encendido, aprovechamiento y disfrute.

Referencias

- Anderson SW, Bechara A, Damasio H, Tranel D y Damasio A. 1999 Impairment of social y moral behavior related to early damage in human prefrontal cortex. *Nature Neuroscience*, 2: 1032-1037.
- Blair RJR, Peshardt KS, Bhudani S, Mitchell DGV y Pine DS. 2006. The development of psychopathy. *Journal of Child Psychology y Psychiatry*, 47: 262-275.
- Blanchard DC y Blanchard RJ. 2003. What can animal aggression research tell us about human aggression? *Hormones y Behavior*, 44: 171-177.
- Brunner HG, Nelen M, Breakfield XO, Ropers HH y Van Oost BA. 1994. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoaminooxidase A. *Science*, 262: 578-80.
- Caspi A, Mc Clay J, Moffit TE, Mill J, Martin J, Craig IW, Taylor A y Poulton R. 2002. Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children. *Science*, 297: 851-854.
- Chester DS y DeWall CN. 2016. The pleasure of revenge: retaliatory aggression arises from a neural imbalance towards reward. *SCAN*, 11: 1173-1182.
- Damasio A, Grabowski ThJ, Bechara A, Damasio H, Ponto LLB, Parvizi J y Hichwa RD. 2000. Subcortical y cortical brain activity during the feeling of self-generated emotions. *Nature Neuroscience*, 3: 1049-1056.
- Darby RR, Horn A, Cushman R y Fox MD. 2018. Lesion network localization of criminal behavior. *PNAS*, 115: 601-606.
- Elbert Th, Schauer M y Moran JK. 2018. Two pedals drive the bi-cycle of violence: reactive y appetitive aggression. *Current Opinion in Psychology*, 19: 135-138.
- Gómez JM, Verdú M, González-Megías A y Méndez M. 2016. The phylogenetic roots of human lethal violence. *Nature*, 538: 233-237.
- Hare RD. 1994. *Without conscience: the disturbing world of psychopaths among us*. London: Warner Books.
- Lishinsky J y Lin D. 2020. Neural mechanisms of aggression across species. *Nature Neuroscience*, 23: 1317-1328.
- Lorenz K. 1966. *On aggression*. London: Routledge.
- Nelson RJ y Trainor BC. 2007. Neural mechanisms of aggression. *Nature Neuroscience Reviews*, 8: 536-546.
- Niehoff D. 1999. *The biology of violence: how understanding the brain, behavior y environment can break the vicious cycle of aggression*. New York: The Free Press.
- Pinker S. 2011. *The better angels of our nature: why violence has declined*. New York: Viking.
- Pujol J, Harrison B, Contreras-Rodríguez O y Cardoner N. 2019. The contribution of brain imaging to the understanding of psychopathy. *Psychological Medicine*, 49: 20-31.
- Raine A, Buchsbaum MS y LaCasse L. 1997. Brain abnormalities in murderers indicated by positron emission tomography. *Biological Psychiatry*, 42: 495-502.
- Sergiou CS, Santarnecchi E, Franke IHA y van Dongen JDM. 2020. The effectiveness of Transcranial Direct Current Stimulation as an intervention to improve empathic abilities y reduce violent behavior: a literature review. *Aggression y Violent Behavior*, 55: 101463.

- Singer T, Seymour B, O'Doherty JP, Stephan KE, Dolan RJ y Frith ChD. 2006. Empathic neural responses are modulated by the perceived fairness of others. *Nature*, 439: 466-469.
- Steinberg L. 2013. The influence of neuroscience on US Supreme Court decisions about adolescents' criminal culpability. *Nature Reviews Neuroscience*, 14: 513-518.
- Tobeña A. 2018. *Neurología de la maldad*. Barcelona: Plataforma Ed.
- Wrangham RW. 2018. Two types of aggression in human evolution. *PNAS*, 115: 245-253.
- Wrangham RW. 2019. *The Goodness Paradox: the strange relationship between virtue y violence in human evolution*. New York: Penguin-Random House.
- Yildirim BO y Derksen JJ. 2012. A review on the relationship between testosterone y life-course persistent antisocial behavior. *Psychiatry Research*, 200: 984-1010.
- Zhang-James Y, Fernández-Castillo N, Hess JL, Malki K, Glatt SJ, Cormand B y Faraone SV. 2019. An integrated analysis of genes y functional pathways for aggression in human y rodent models. *Molecular Psychiatry*, 24: 1655-1667.

Consanguinidad, censo efectivo de población y variación funcional en la era genómica

Armando Caballero, Centro de Investigación Mariña, Facultade de Biología, Universidade de Vigo. Vigo, Spain

Deriva genética, consanguinidad y censo efectivo de población

Una de las características fundamentales de las poblaciones de censo reducido es la de estar sometidas a los procesos de deriva genética y consanguinidad. La **deriva genética** es el cambio en las frecuencias alélicas debido al muestreo aleatorio de gametos en la reproducción, es decir, el cambio que ocurre en la constitución genética de una población por puro azar. Una consecuencia crucial de este proceso es la reducción de la variación genética poblacional debida a la pérdida o fijación aleatoria de las distintas variantes alélicas. Dado que de la diversidad genética emana el potencial adaptativo de las poblaciones, la pérdida de diversidad por deriva genética puede implicar la incapacidad de las

poblaciones para responder a los cambios ambientales y su consecuente extinción. El proceso de deriva genética va siempre acompañado de la **consanguinidad**, el resultado del cruzamiento inevitable entre individuos emparentados en poblaciones pequeñas, cuyas consecuencias negativas son bien conocidas. La consanguinidad conlleva el aumento de la frecuencia de genotipos homocigóticos, es decir, de genotipos con la misma variante alélica en los cromosomas materno y paterno. Dado que muchas variantes alélicas deletéreas son recesivas, esto es, manifiestan su efecto pernicioso en doble copia, la consanguinidad implica generalmente una reducción de la capacidad reproductiva de los individuos, lo que se conoce como **depresión consanguínea**. Es por ejemplo bien conocido que la frecuencia de mortalidad y de

“Dado que de la diversidad genética emana el potencial adaptativo de las poblaciones, la pérdida de diversidad por deriva genética puede implicar la incapacidad de las poblaciones para responder a los cambios ambientales y su consecuente extinción”

malformaciones y enfermedades hereditarias es aproximadamente el triple en hijos de primos hermanos que en hijos de individuos no emparentados.

Los fundamentos matemáticos de la deriva genética y la consanguinidad se desarrollaron a principios del siglo XX por Sewall Wright (1969). La consanguinidad se cuantifica mediante el **coeficiente de consanguinidad**, que Wright definió como la correlación entre las formas alélicas que portan los individuos en un locus dado. Una definición alternativa del coeficiente de consanguinidad, debida a Malécot (1948), es la probabilidad de que los dos gametos que se unen para formar un individuo, porten alelos en un locus dado que sean **idénticos por descendencia**, entendiendo por ello que dichos alelos sean copias de un alelo procedente de un ancestro común a los padres del individuo en cuestión. Si los dos alelos son iguales pero no proceden de un ancestro común de sus padres, se dice que son **idénticos en estado** y no computan en el

coeficiente de consanguinidad. Evidentemente, la cuantificación del coeficiente de consanguinidad debe establecerse en relación a un punto de partida definido, una **población de referencia**, normalmente la generación más remota de la que se tiene información o que constituye el grupo de individuos fundadores de la población, en la cual se considera que ninguno de los alelos presentes son idénticos por descendencia.

La definición de consanguinidad en términos de identidad por descendencia tiene la ventaja de poder extenderse a parejas de individuos. De esta manera, se define el **coeficiente de parentesco** como la probabilidad de que dos alelos de un locus, tomados de dos individuos dados, sean idénticos por descendencia. Una forma sencilla de captar el significado del coeficiente de parentesco es notar que el doble de su valor es la proporción esperada del genoma que comparten dos parientes. Por ejemplo, dos hermanos tienen un coeficiente de parentesco de 1/4,

“La posibilidad de disponer de coeficientes de consanguinidad y de datos de caracteres cuantitativos de los individuos permite estimar la tasa de depresión consanguínea”

lo que indica que los hermanos comparten, como promedio, la mitad de su genoma; análogamente, dos primos hermanos tienen un coeficiente de parentesco de 1/16, es decir, comparten como promedio un octavo de su genoma. Por definición, el coeficiente de consanguinidad de un individuo es igual al coeficiente de parentesco de sus padres. Los coeficientes de consanguinidad de los individuos y de parentesco entre parejas de individuos pueden obtenerse fácilmente a partir de las **relaciones genealógicas**, siendo siempre relativos a la población de referencia desde la que comienza el pedigrí.

La posibilidad de disponer de coeficientes de consanguinidad y de datos de caracteres cuantitativos de los individuos permite estimar la tasa de depresión consanguínea, es decir, la tasa con la que se espera que cambie la media poblacional de dichos caracteres por efecto de la consanguinidad. La depresión consanguínea

es particularmente importante para los caracteres reproductivos, aquellos relacionados con la **eficacia biológica** de los individuos, cuyo devenir depende fundamentalmente de la **selección natural**, pero también para muchos caracteres productivos de interés en mejora genética animal y vegetal. Evaluar las consecuencias de la consanguinidad sobre los caracteres cuantitativos de una población es un aspecto fundamental en los campos de la genética de la conservación, la mejora genética y la biología evolutiva.

La tasa con la que aumenta la consanguinidad y la deriva genética de una población se cuantifica mediante el llamado **censo efectivo de población (N_e)**, también introducido por Wright. El valor del censo efectivo suele ser muy diferente, casi siempre mucho menor, que el del número de individuos reproductores de la población (N). Para entender el concepto pensemos en una situación extrema, suponiendo una población en la que en cada

“La tasa con la que aumenta la consanguinidad y la deriva genética de una población se cuantifica mediante el llamado censo efectivo de población (N_e)”

generación se reproduce un único macho y 99 hembras, es decir hay $N = 100$ individuos reproductores, pero sólo uno de ellos es el parental masculino. Este sesgo entre el número de machos y hembras reproductores es bastante habitual en el campo de la mejora genética, donde interesa seleccionar a unos pocos machos como reproductores para inseminar a un gran número de hembras, que suelen ser los individuos productivos en muchos casos (producción de leche, huevos, etc.) En este caso, el censo efectivo resulta ser $N_e = 4$, que viene a decir que la tasa de consanguinidad y deriva genética que tiene lugar en la población sería la misma que ocurriría en una población con cuatro individuos reproductores en donde hay igual número de reproductores de cada sexo, es decir dos machos y dos hembras. Los datos empíricos indican que en la mayoría de las circunstancias el censo efectivo es menor que el número de reproductores y puede decirse que, como promedio, el cociente N_e/N en poblaciones naturales oscila entre 0,1 y 0,2. Las razones que explican esta circunstancia suelen ser, el mencionado sesgo de la razón de sexos en la reproducción, las reducciones drásticas temporales en el censo de individuos, es decir, los llamados cuellos de botella poblacionales, debidos generalmente a factores ambientales, la competición entre individuos por la reproducción y los recursos, etc. (véase por ejemplo el Cap. 5 de Caballero 2020).

Estimación de la consanguinidad y el parentesco con información molecular

La posibilidad de determinar el genotipo de los individuos para marcadores genéticos muy abundantes en el genoma, como por ejemplo los **SNP (polimorfismos de nucleótido simple)** permite la estimación de la consanguinidad a nivel genómico, lo que es particularmente útil en situaciones en las que las genealogías no están disponibles o son muy incompletas. Además, la consanguinidad genealógica sólo proporciona coeficientes de consanguinidad y parentesco esperados. Por ejemplo, como hemos comentado anteriormente, el coeficiente de parentesco esperado entre dos hermanos es $1/4$. Sin embargo, existe una gran variación *de facto* sobre este valor, dado que el parentesco real dependerá de las variantes particulares recibidas de cada parental. Así pues, en un caso extremo, para un locus dado los hermanos pueden compartir exactamente los mismos alelos recibidos de padre y madre o, por el contrario, pueden portar alelos distintos. Por tanto, las estimas de consanguinidad y parentesco obtenidas mediante un número alto de marcadores permiten afinar en las relaciones de parentesco particulares.

El problema inherente a la estimación de la consanguinidad y el parentesco con marcadores moleculares estriba en que

no es posible distinguir si un individuo homocigótico para un nucleótido dado se debe a identidad por descendencia o identidad en estado. Así pues, la homocigosis molecular es una sobreestimación de la consanguinidad genealógica. Existen numerosos métodos para intentar sortear este sesgo y estimar el coeficiente de consanguinidad de los individuos a partir de datos de marcadores genéticos. Si se conocen las frecuencias alélicas de los marcadores genéticos bajo estudio en la población de referencia, es posible estimar la consanguinidad individual relativa a dicha población de forma prácticamente insesgada. Sin embargo, en la mayoría de los casos dichas frecuencias son desconocidas y debe utilizarse la frecuencia de los alelos en el momento actual. Ello conlleva estimas del coeficiente de consanguinidad de los individuos relativos a su propia generación, que generalmente se interpretan como desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg. Es decir, un individuo dado puede portar un exceso o un defecto de homocigotos en relación al valor esperado en una población ideal

no afectada por ninguna fuerza evolutiva perturbadora. Afortunadamente, estas estimas se correlacionan estrechamente con la consanguinidad genealógica y permiten obtener buenas estimaciones de la tasa de depresión consanguínea. De hecho, se ha demostrado que las estimas de consanguinidad molecular tienen mayor potencia para detectar la depresión consanguínea que las estimas genealógicas (Wang 2016).

Los métodos referidos anteriormente se basan en el uso de marcadores moleculares individuales, promediando después los resultados para los distintos SNPs. Un método diferente, muy utilizado hoy en día, consiste en determinar los llamados **tramos o fragmentos de homocigosis del genoma (ROH, de "Runs of Homozygosity"** en inglés), es decir, regiones del genoma en las que todos o la inmensa mayoría de los SNPs consecutivos son homocigóticos (McQuillan et al., 2008). La consanguinidad se espera que produzca homocigosis en fragmentos genómicos con marcadores íntimamente ligados. Estos fragmentos pueden pasar intactos a la descendencia (como fragmentos

“Un método diferente, muy utilizado hoy en día, consiste en determinar los llamados tramos o fragmentos de homocigosis del genoma (ROH, de “Runs of Homozygosity” en inglés), es decir, regiones del genoma en las que todos o la inmensa mayoría de los SNPs consecutivos son homocigóticos”

idénticos por descendencia), y se irán rompiendo con el transcurso de las generaciones por efecto de la recombinación genética. Así pues, cuando se analizan estos tramos ROH se espera que los más grandes procedan de eventos de consanguinidad recientes mientras que los de menor tamaño procedan de eventos de consanguinidad antiguos, lo que permite discernir entre las consanguinidades reciente y ancestral. Se espera que la consanguinidad reciente afecte en mayor medida a la depresión consanguínea que la consanguinidad ancestral, dado que parte de la variación genética deletérea se habrá purgado por selección con el transcurso de las generaciones.

Fisher (1949) demostró que la longitud (c) de los tramos ROH de identidad por descendencia (en unidades de Morgan, M) se ajusta a una distribución exponencial con media $1/(2g)$, donde g es el número de generaciones transcurridas desde el ancestro común más cercano a dichos tramos (Figura 1). Por tanto, el tiempo medio en generaciones entre dos tramos de tamaño c Morgan idénticos por descendencia y su ancestro común más cercano es $1/(2c)$ generaciones. Por ejemplo, se espera que los tramos ROH idénticos por descendencia con una longitud de 5 centiMorgan (o unos 5 Mb de secuencia si se asume una tasa de recombinación genómica promedio de 1 cM por Mb) tendrán un ancestro común hace 10 genera-

ciones, mientras que los tramos ROH con una longitud de 0,5 cM o 0,5 Mb lo tendrán hace 100 generaciones. El coeficiente de consanguinidad obtenido con estos fragmentos se define como la proporción del genoma del individuo que es homocigótica para dichos fragmentos, y puede obtenerse sólo para fragmentos grandes (identidad por descendencia debida a consanguinidad reciente) o incluyendo fragmentos más pequeños, que abarcaría también a la consanguinidad ancestral. De forma análoga, también es posible obtener el coeficiente de parentesco entre individuos utilizando fragmentos ROH. Con este método se ha analizado la consanguinidad y la depresión consanguínea de múltiples especies (Ceballos et al. 2018).

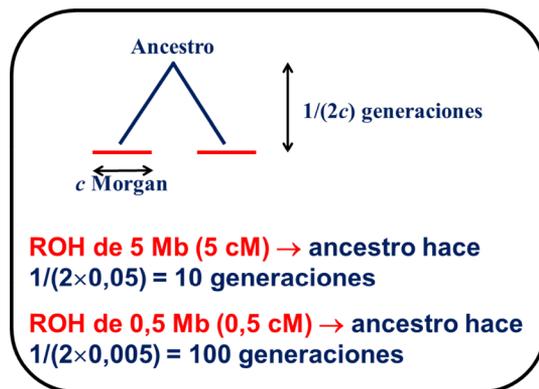


Figura 1. Relación entre la longitud de dos fragmentos de homocigosis (ROH) idénticos por descendencia y el tiempo hasta su ancestro común. Se espera que dos fragmentos idénticos por descendencia con una longitud de c Morgan tengan un ancestro común hace $1/(2c)$ generaciones.

Estimación del censo efectivo de población con información molecular

Cuando se dispone de marcadores moleculares es posible estimar el censo efectivo de una población utilizando diversos métodos (véase, por ejemplo, Caballero 2020, Cap. 5). En el caso de disponer de muestras de la población en dos momentos diferentes (separados por una o más generaciones) se puede utilizar el llamado **método temporal**, que cuantifica directamente el cambio ocurrido en las frecuencias alélicas de los marcadores entre dichas generaciones asumiendo que los cambios se deben exclusivamente a la deriva genética. Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones sólo puede hacerse un único muestreo puntual y este método no puede aplicarse. En esta situación, entre los métodos disponibles el más robusto y fiable es el basado en el **desequilibrio de ligamiento entre marcadores**. El desequilibrio de ligamiento es el estado de asociación entre los alelos de dos loci, y puede deberse a distintos factores. Uno de ellos es la deriva genética, es decir, el azar puede provocar que cierto alelo de un locus dado se transmita asociado a un alelo de otro locus. Esta asociación se romperá generalmente por recombinación, pero puede permanecer durante mucho tiempo si los dos loci se encuentran físicamente cercanos en el genoma. Así pues, se espera que el cuadrado de la

correlación (r), que mide el desequilibrio de ligamiento entre los alelos de los loci estandarizado por la varianza de las frecuencias alélicas de dichos loci, sea proporcional a $1 / [4N_e c + 1]$ (Sved 1971), siendo c la frecuencia de recombinación entre los dos loci. Por tanto, si se calcula dicha correlación entre dos marcadores separados a una distancia genética de c Morgan, se puede estimar N_e suponiendo que dicho desequilibrio se ha debido exclusivamente a la deriva genética.

Cuando se utilizan marcadores genéticos independientes, es decir, situados en cromosomas distintos o en el mismo cromosoma pero muy alejados (lo que implica $c = 0,5$), el método anterior permite obtener una estima del **censo efectivo contemporáneo de la población**, es decir, en el momento del muestreo. Sin embargo, si se utilizan marcadores separados por diferentes distancias genéticas, es también posible estimar el **censo efectivo histórico de la población**. La clave se deduce de

“Si se utilizan marcadores separados por diferentes distancias genéticas, es también posible estimar el censo efectivo histórico de la población”

nuevo de la Figura 1. Si se estudia el desequilibrio de ligamiento entre dos marcadores separados por c Morgan, se espera que dicho desequilibrio se haya generado por procesos de deriva genética ocurridos $1/(2c)$ generaciones en el pasado. Por tanto, analizando el desequilibrio generado para parejas de SNPs separados a diferen-

tes distancias, podremos inferir los cambios ocurridos en el censo efectivo poblacional en el pasado (Santiago et al. 2020). La Figura 2a ilustra dicha estimación cuando se aplica a datos simulados por ordenador, en los que se simula una población con censo efectivo $N_e = 1000$ que se somete a un cuello de botella poblacional entre las ge-

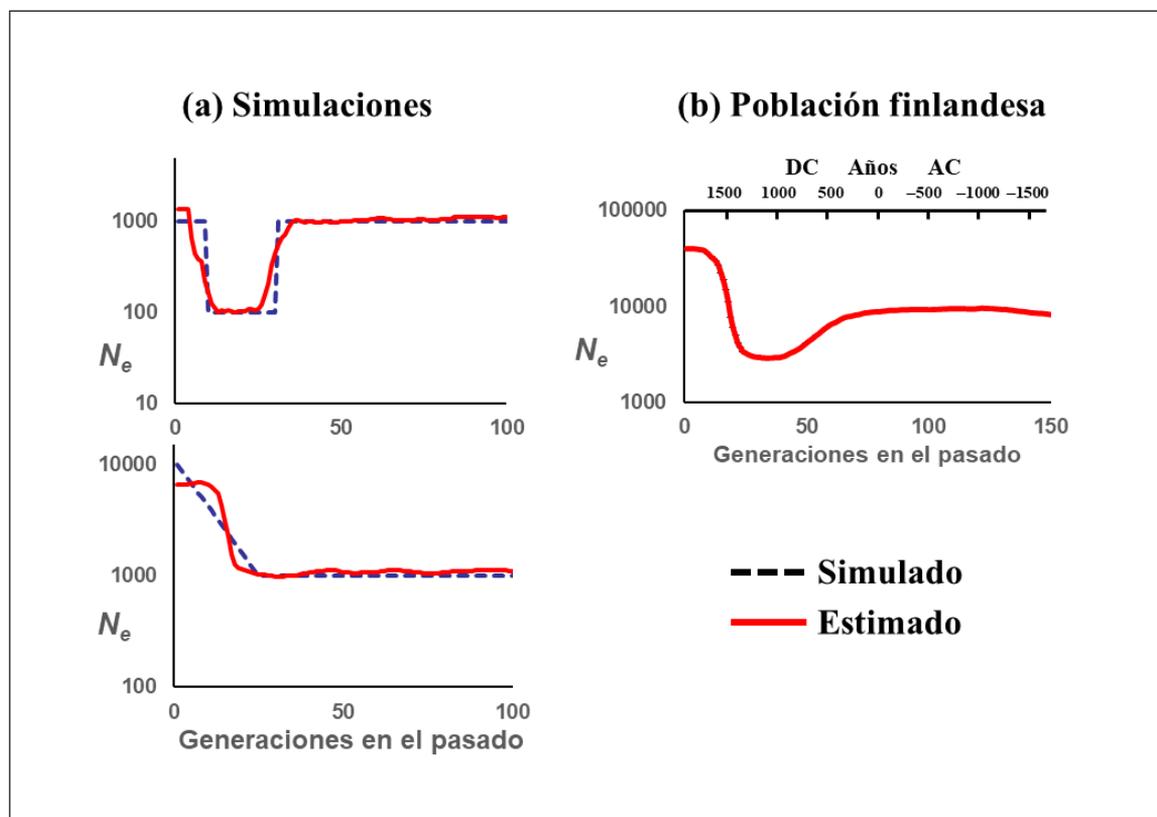


Figura 2. Estimación del censo efectivo de población histórico. (a) Datos procedentes de simulaciones. (b) Datos de 99 individuos de la población finlandesa (Santiago et al. 2020). En la parte superior de la figura (b) se indican los años aproximados correspondientes a las generaciones transcurridas.

neraciones 30 a la 10 anteriores a la generación actual, o a un incremento exponencial del censo efectivo. Una aplicación del método a datos reales se presenta en la Figura 2b, donde se ilustra el censo efectivo histórico de una población de finlandeses. La inferencia realizada indica que la población sufrió una reducción poblacional en la edad media y una posterior expansión en épocas más recientes.

Estimación de la diversidad genética funcional con información molecular

Las estimaciones de la consanguinidad y el parentesco, la diversidad genética y el censo efectivo siempre se refieren a la diversidad neutral, es decir, deben obtenerse mediante marcadores no sometidos a selección. Sin embargo, el conocimiento de la **diversidad adaptativa o funcional**, es decir la de las variantes funcionales sometidas a selección, es clave para la comprensión de la capacidad adaptativa y de resiliencia de las poblaciones. Los análisis de estimación de la tasa de depresión consanguínea com-

binando las estimas de consanguinidad individual y los valores individuales de caracteres de interés permiten cuantificar la carga de mutaciones deletéreas global del genoma. Asimismo, llevados a cabo sobre regiones particulares del mismo permiten detectar la contribución de dichas regiones a la depresión. Los **estudios de asociación genómica (GWAS**, del inglés “Genome-wide Association Studies”) permiten encontrar marcadores genéticos o regiones genómicas asociadas a las variantes causales que afectan a los caracteres así como determinar la magnitud de su efecto sobre los mismos. El método de GWAS se basa en buscar una asociación entre el número de copias alélicas de un SNP y la expresión de algún carácter (véase la Figura 3). Con ello se ha inferido la base genética de miles de caracteres y enfermedades en poblaciones humanas y en muchas otras especies (Visscher et al. 2017).

“El conocimiento de la diversidad adaptativa o funcional, es decir la de las variantes funcionales sometidas a selección, es clave para la comprensión de la capacidad adaptativa y de resiliencia de las poblaciones”

Aunque el método de GWAS es el más utilizado para encontrar variantes funcionales en el genoma, se han desarrollado más recientemente otros métodos comple-

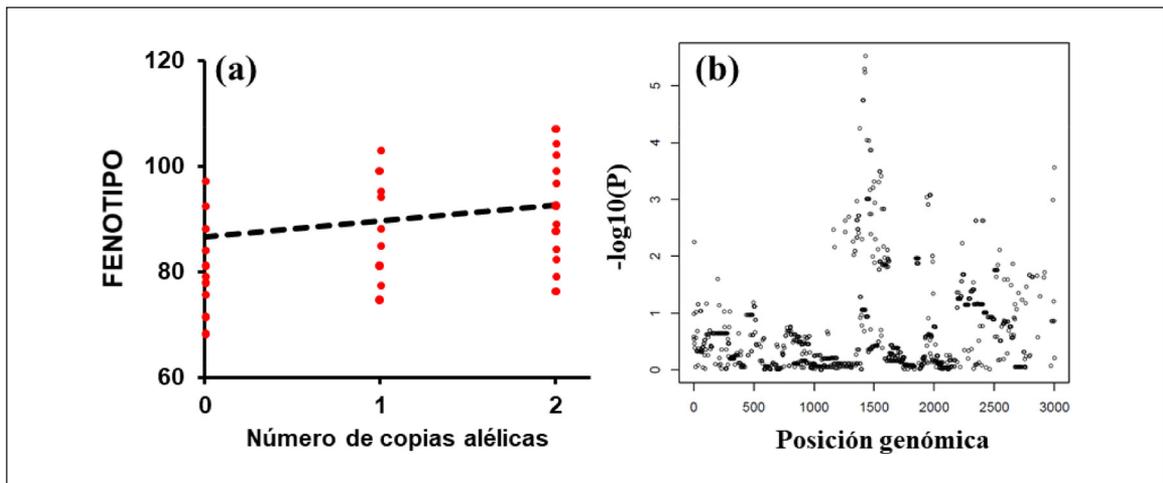


Figura 3. Estudios de asociación genómica (GWAS). (a) Relación entre un carácter cuantitativo (fenotipo) y el número de copias alélicas de un SNP dado. Cada punto en la figura indica el fenotipo de un individuo portador de ninguna, una o dos copias del alelo en cuestión. (b) Valores de probabilidad de asociación del carácter con cada uno de los SNPs analizados. Cada círculo en la figura indica la probabilidad de asociación entre un SNP dado y el carácter en cuestión y se presentan los resultados de cientos de SNPs a lo largo de la secuencia genómica. Se observa que existe un grupo de SNPs en la zona central de la secuencia cuya probabilidad de asociación con el carácter es muy elevada.

mentarios. A continuación, se mencionan los principios básicos de dos de estas aproximaciones. Una de ellas se basa en predecir el efecto de las mutaciones sobre las proteínas. Por ejemplo, el método propuesto por Cingolani et al. (2012) se basa en deducir la repercusión de las mutaciones en regiones codificadoras del genoma, clasificarlas de acuerdo a su efecto y contabilizar su número. Por ejemplo, se catalogan como variantes de efecto grande aquellas que implican un codón de fin de la traducción o de inicio de la misma, o un cambio en la pauta de lectura; de efecto

moderado los cambios no sinónimos, deleciones o inserciones que no cambian la pauta de lectura; de efecto bajo los cambios sinónimos; y de efecto modificador las variantes exónicas o los cambios que alteran la expresión del mismo.

Otra aproximación es el cálculo del índice llamado **GERP** (del inglés “**Genomic Evolutionary Rate Profiling**”; Davydov et al. 2010). En este caso, el procedimiento necesita inferir un árbol filogenético a partir de las secuencias alineadas de distintos taxones (véase la Figura 4). Una vez

establecidas las relaciones filogenéticas se calcula el número esperado de sustituciones que deberían haberse producido bajo un modelo neutral desde el taxón más antiguo a los más recientes y se comparan con las observadas entre las secuencias. El valor de GERP es la suma de las diferencias entre valores esperados y observados en una región determinada del genoma. Un valor muy alto indicaría una reducción o ausencia de sustituciones en la región y, por ello, la inferencia de variantes deletéreas eliminadas por selección. Así pues, se infiere variación neutral si los valores de GERP en la región se encuadran entre -2 y 2 , variación moderadamente deletérea entre 2 y 4 , fuertemente deletérea entre 4 y 6 , y extremadamente deletérea con valores superiores a 6 . Con este método se ha podido comparar la carga de mutaciones deletéreas en diferentes grupos. Por ejemplo, se ha podido inferir que las razas de caballos actuales poseen un número más elevado de variantes deletéreas que los caballos ancestrales anteriores a la domesticación (Schubert et al. 2014), y que los perros domésticos poseen una mayor carga deletérea mutacional en comparación con los lobos (Marsden et al. 2016). La explicación de estos resultados es que la domesticación ha implicado cuellos de botella poblacionales y una relajación de la selección natural que han propiciado el mantenimiento de una mayor frecuencia y número de variantes deletéreas.

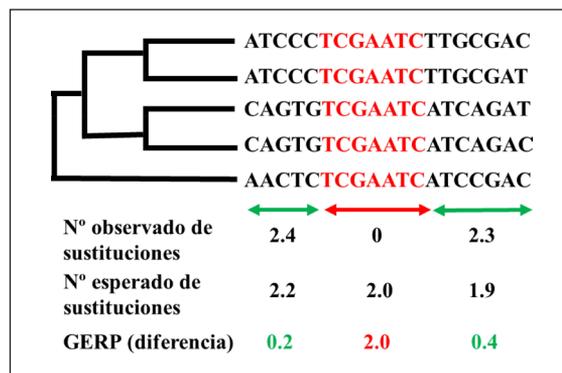


Figura 4. Principios del método GERP (“Genomic Evolutionary Rate Profiling”) para detectar regiones genómicas sometidas a selección. Se buscan regiones en las que el número observado de sustituciones nucleotídicas en una filogenia es menor que el número esperado, de lo que se deduce que dichas sustituciones han sido eliminadas por la selección.

El conocimiento detallado de la base genética de los caracteres complejos (reproductivos, productivos, enfermedades, etc.) es un objetivo fundamental para poder llevar a cabo múltiples aplicaciones en medicina, mejora y sanidad animal y vegetal, y para la comprensión de la evolución. También es necesario alcanzar una mayor comprensión de la diversidad neutral y funcional para poder determinar la salud genética de las poblaciones y poder diseñar programas precisos de conservación de la biodiversidad específicos de cada escenario particular. El continuo desarrollo de nuevas herramientas de análisis genómico, como las explicadas en este artículo, permitirá alcanzar paulatinamente dichos objetivos.

Referencias

- Caballero, A. 2020. *Quantitative Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Ceballos, F.C., Joshi, P. K., Clark, D.W., Ramsay, M., y Wilson, J.F. 2018. Runs of homozygosity: Windows into population history and trait architecture. *Nature Reviews Genetics*, 19: 220-234.
- Cingolani, P., Platts, A., Wang, Le L., Coon, M., Nguyen, T., Wang, L., Land, S.J., Lu, X. y Ruden, D.M. 2012. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly (Austin)*, 6: 80-92.
- Davydov, E.V., Goode, D.L., Sirota, M., Cooper, G.M., Sidow, A. y Batzoglou, S. 2010. Identifying a high fraction of the human genome to be under selective constraint using GERP++. *PLoS Computational Biology*, 6: e1001025.
- Fisher, R.A. 1949. *The Theory of Inbreeding*. Oliver and Boyd, Edinburgh, Reino Unido.
- Malécot, G. 1948. *Les Mathématiques de l'Hérédité*. Masson et Cie, Paris, Francia.
- Marsden, C.D., Ortega-Del Vecchyo D, O'Brien, D.P., Taylor, J.F., Ramirez, O., Vilà, C., et al. 2016. Bottlenecks and selective sweeps during domestication have increased deleterious genetic variation in dogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 113: 152-157.
- McQuillan, R., Leutenegger, A.-L., Abdel-Rahman, R., Franklin, C. S., Pericic, M., Barac-Lauc L., et al. 2008. Runs of homozygosity in European populations. *American Journal of Human Genetics*, 83: 359-372.
- Santiago, E., Novo, I., Pardiñas, A.F., Saura, M., Wang, J. y Caballero, A. 2020. Recent demographic history inferred by high-resolution analysis of linkage disequilibrium. *Molecular Biology and Evolution*, 37: 3642-3653.
- Schubert, M., Jónsson, H., Chang, D., Der Sarkissian, C., Ermini, L., Ginolhac, A., et al. 2014. Prehistoric genomes reveal the genetic foundation and cost of horse domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 111: E5661-E5669.
- Sved, J.A. 1971. Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite population. *Theoretical Population Biology*, 2:125-141.
- Visscher, P.M., Wray, N.R., Zhang, Q., Sklar, P. y McCarthy, M.I. 2017. 10 Years of GWAS discovery: Biology, function, and translation. *American Journal of Human Genetics*, 101: 5-22.
- Wang, J. 2016. Pedigrees or markers: Which are better in estimating relatedness and inbreeding coefficient? *Theoretical Population Biology*, 107: 4-13.
- Wright, S. 1969. *Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 2. The Theory of Gene Frequencies*. University of Chicago Press, Chicago, EE.UU.

Grafos evolutivos: una estructura de datos que maximiza la información evolutiva contenida en las secuencias genómicas

Sònia Casillas y Antonio Barbadilla, Departamento de Genética y Microbiología e Instituto de Biotecnología y Biomedicina, Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, Spain

El reto de los macrodatos en la genómica de poblaciones

La revolución genómica ha puesto a nuestra disposición una enorme cantidad de secuencias completas de genomas que ha transformado las inferencias de la genética de poblaciones de *loci* en la actual genómica de poblaciones, el análisis de los patrones de variación de ADN de todo el genoma. Estos macrodatos de secuencias genómicas pueden asimilarse a una biblioteca digital ilimitada que versa sobre la historia de la vida en la Tierra a diferentes escalas taxonómicas y temporales. A modo de ejemplo, consideremos lo que

hemos descubierto de especies tan distintas como la especie humana y la mosca de la fruta. La visión evolutiva de los orígenes humanos ha cambiado drásticamente a partir de la información suministrada por los genomas secuenciados en nuestra especie y dos especies próximas extintas. La especie humana mantuvo una hibridación recurrente y sostenida con neandertales y denisovanos tras su salida de África, conservando los humanos actuales no africanos fragmentos introgresados de una, otra, o ambas especies, como huella probatoria de la existencia de dichos cruzamientos (Green et al. 2010; Reich et al. 2010). Igualmente, los estudios de genómica de

poblaciones han mostrado que en especies con censo poblacional grande, como el de la especie *Drosophila melanogaster*, la selección natural de variantes genómicas es mucho más abundante y recurrente de lo esperado según la teoría neutralista de la evolución molecular (Mackay et al. 2012). Esta selección ubicua produce un efecto de arrastre de regiones adyacentes que invalidan los valores de variación genética predichos por la teoría neutralista, la cual está construida sobre la idea de que la selección que actúa en un sitio nucleotídico no afecta a la variación neutra mayoritaria adyacente.

El crecimiento explosivo de secuencias genómicas plantea serios retos a la gestión eficiente de estos macrodatos y su representación. ¿Qué información debe almacenarse y con qué formato? Dos secuencias idénticas no contienen ninguna información evolutiva a menos que se las compare con otras que sí presentan. La unidad de información es por tanto la variante genética. Si nos centramos en nucleótidos, la unidad sería un polimorfismo nucleotídico (*Single Nucleotide Polymor-*

phism, SNP). En los estudios de genómica de poblaciones las secuencias genómicas de muestras de individuos de una población pueden almacenarse en formatos de genomas completos alineados, como el conocido formato FASTA. Ahora bien, más compacto y eficiente es registrar sólo los sitios variables, como hace el formato de llamada de variantes (*Variant Call Format*, VCF), razón por la que se ha convertido en el estándar de facto para representar los datos de variación de genomas completos. Sobre estas secuencias alineadas se aplican los *softwares* o *scripts* al uso en genética de poblaciones que permiten la infe-

rencia de los procesos poblacionales, incluido la selección natural, causantes de los patrones de variación. Típicamente se estiman parámetros sumarios que cuantifican la diversidad genética o la frecuencia de las diferentes variantes genéticas (alelos) para cada posición variable del genoma, considerando estas posiciones como evolutivamente independientes, y luego promediando por ventanas consecutivas a lo largo de los cromosomas. Es el caso de la diversidad nucleotídica (π), la D

“Macrodatos de secuencias genómicas pueden asimilarse a una biblioteca digital ilimitada que versa sobre la historia de la vida en la Tierra a diferentes escalas taxonómicas y temporales”

de Tajima o el índice de fijación *Fst*. Estos estadísticos sumarios son fáciles y rápidos de calcular y no requieren conocer la fase de los haplotipos. Normalmente pueden detectar selección a escalas evolutivas intermedias o largas (en el caso específico de los humanos, anteriores a la salida de los humanos de África) basándose en las predicciones de la teoría neutralista. Otros estadísticos sumarios sí tienen en cuenta el efecto de arrastre (*hitchhiking*) que tiene lugar cuando una variante genética beneficiosa aumenta de frecuencia muy rápidamente en la población, alterando en consecuencia la composición genética de las variantes colindantes (estructura haplotípica local) de la región genómica. Esta señal es un fuerte indicador de la acción de la selección natural actuando sobre variantes genéticas nuevas (barrido duro, *hard sweep*) o pre-existentes en la población (barrido blando, *soft sweep*). Es el caso de los estadísticos *H1* (y variantes) y *iHS*. Igual como los anteriores, estos estadísticos son capaces de detectar selección a escalas evolutivas intermedias o largas, aunque algunos de ellos pueden detectar también selección relativamente reciente.

El conjunto de valores de estos parámetros estimados para poblaciones y especies pueden almacenarse y representarse a lo largo del genoma utilizando *software* de visualización en línea interactivos, los

navegadores genómicos, como los desarrollados por nuestro grupo de investigación: *PopFly* (Hervas et al. 2017) para los estudios de genómica de poblaciones en *Drosophila*, y *PopHuman* (Casillas et al. 2018) y *PopHumanVar* (Colomer-Vilaplana et al. 2022) para estudios en humanos. De modo que el proceder estándar para llevar a cabo estudios de genómica de poblaciones consiste en: (1) disponer de las secuencias genómicas alineadas o de las variantes genéticas detectadas, en un formato como FASTA o VCF; (2) estimar, a partir del *software* disponible para ello, los parámetros sumarios/descriptivos que permiten efectuar inferencias evolutivas tales como la acción de la selección adaptativa; y opcionalmente (3) catalogar todos estos descriptores en bases de datos secundarias como *PopFly* o *PopHuman*. Ahora bien, la principal limitación de este enfoque empleado en los estudios actuales de genómica de poblaciones es que no aprovecha toda la información disponible del conjunto de secuencias alineadas.

Los ARGs como alternativa a los estadísticos sumarios

El coste de la simplificación que representa las estimas sumarias es la pérdida de la valiosa información evolutiva que contiene cada sitio variable del ge-

noma. La teoría de la coalescencia, un modelo que describe la probabilidad de las posibles genealogías de una muestra de secuencias de una población, nos permite conocer la información evolutiva completa que contiene cada sitio segregante en la muestra y, por tanto, los detalles que se pierden con otros enfoques. Consideremos una situación simplificada de un genoma en el que no se da recombinación, como en los genomas mitocondriales. Si comparamos dos secuencias que difieren en un nucleótido selectivamente neutro, podemos inferir que se ha producido una mutación entre el presente de la toma de la muestra y el tiempo en que ambas secuencias coalescen en el pasado. Si en vez de dos, comparamos varias secuencias, podemos estimar, en función del número de secuencias que portan la nueva variante (la variante derivada), el tiempo, en generaciones, que hace que surgió la variante. Al proceder así con todos los sitios segregantes, se obtiene la serie de las variantes ordenadas según su tiempo de aparición, pudiéndose describir en forma de un árbol genealógico. Este análisis aplicado al genoma mitocondrial en humanos demostró hace

más de tres décadas el origen africano reciente de nuestra especie (Cann, Stoneking y Wilson 1987).

Si bien en el caso de los genomas que no recombinan las relaciones genéticas pueden describirse en forma de un solo árbol genealógico, en el caso de los genomas recombinantes, la inmensa mayoría de los genomas nucleares eucariotas, la recombinación da como resultado una genealogía reticulada: diferentes partes de

“El coste de la simplificación que representa las estimas sumarias es la pérdida de la valiosa información evolutiva que contiene cada sitio variable del genoma”

la molécula tienen diferentes historias evolutivas. Así, un árbol reconstruido con una parte de una molécula diferirá de otro reconstruido con otra parte de la misma molécula. La teoría de la coalescencia

incorporó en una segunda fase de su desarrollo la recombinación. La observación en una muestra de secuencias de los cuatro haplotipos posibles para dos *loci* bialélicos ($A_1 B_1$, $A_1 B_2$, $A_2 B_1$, $A_2 B_2$) es una prueba de al menos la presencia de un evento de recombinación entre ambos *loci* en el período que abarca el momento de la toma de la muestra y el tiempo en que surgió el alelo más reciente (excluyendo, por improbable, que el alelo más reciente mute a la forma ancestral). A partir de una

“Los grafos evolutivos son representaciones completas de las genealogías de muestras de secuencias genómicas”

serie de supuestos simplificadores, como una distribución uniforme (*Poisson*) de los sitios de iniciación de la recombinación, es posible reconstruir, por medio de una búsqueda exhaustiva basada en mínimos cambios (parsimonia), los eventos pasados de recombinación en aquellos casos en los que la densidad de tales eventos no es prohibitivamente alta. ¿Cómo representar la reticulación que introduce la recombinación? Mediante grafos matemáticos, una estructura de datos que permite representar, sitio a sitio, la historia mutacional y recombinacional que ha experimentado un genoma (Figura 1). Los grafos evolutivos o grafos de recombinación ancestral (ARGs, de sus siglas en inglés *Ancestral Recombination Graphs*) son representaciones completas de las genealogías de muestras de secuencias genómicas. Se describen como una serie de eventos de coalescencia, mutación y recombinación. Puede demostrarse que los ARGs son al menos tan informativos como cualquier combinación de los estadísticos sumarios tradicionales usados para inferir los procesos evolutivos. Los ARGs permiten por lo tanto inferir la historia demográfica de las poblaciones (incluyendo tiempos de divergencia, tamaños efectivos de

población o flujo génico), estimar la tasa de recombinación y la edad de los alelos (tiempo hasta el antecesor común más reciente, o TMRCA, *Time to Most Recent Common Ancestor*), así como también encontrar huellas de la acción de la selección natural sobre distintas regiones del genoma en base a desviaciones en los patrones de coalescencia y recombinación esperados bajo la teoría neutralista.

Métodos de estimación de los ARGs

Existen varios métodos para estimar ARGs a partir de datos genéticos, cada uno con sus puntos fuertes y débiles (Hejase, Dukler y Siepel 2020). El estándar de referencia es *ARGweaver* (Rasmussen et al. 2014). Partiendo de un modelo demográfico, *ARGweaver* permite la identificación precisa de introgresiones antiguas y estimaciones de TMRCA y de edades de los alelos, entre otros. Sin embargo, sólo puede analizar decenas de genomas completos de una vez. En el 2019, dos métodos lograron escalar la estima de ARGs para datos genómicos masivos. Por un lado, *RELATE* (Speidel et al. 2019) produce

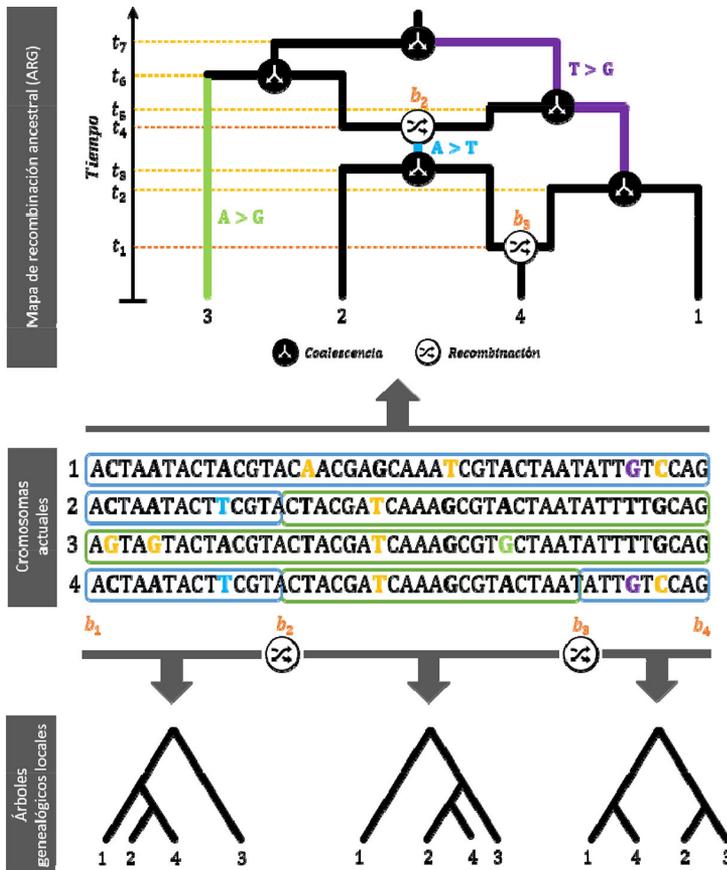


Figura 1. Grafo de recombinación ancestral (ARG). Cada uno de los cuatro cromosomas representados en el panel central es un mosaico de dos linajes ancestrales: azul y verde. Un mapa de recombinación ancestral (ARG; panel superior, leído de abajo a arriba siguiendo el sentido del eje tiempo) muestra cómo los linajes que han dado lugar a los cromosomas actuales (1, 2, 3 y 4), bien coalescen en ancestros comunes (círculos negros), o se separan en distintos cromosomas parentales que han recombinado (círculos blancos). Cada evento de coalescencia y recombinación está asociado con un tiempo específico (t_1 a t_7), y cada evento de recombinación también está asociado con un punto de ruptura específico a lo largo de los cromosomas (b_2 y b_3). La presencia de estos eventos de recombinación hace que realmente no haya un único árbol genealógico que pueda representar al conjunto

de la variabilidad genética de los cromosomas, sino que cada intervalo no recombinante de las secuencias (b_1-b_2 , b_2-b_3 , y b_3-b_4) tiene su propio árbol local (panel inferior). En el panel central, los sitios variables se muestran en negrita. El alelo ancestral se muestra en negro y el alelo derivado se muestra en un color distinto al negro. A modo de ejemplo, en el caso de tres de los sitios variables (azul, verde y lila), el panel superior (ARG) muestra las ramas en las que pueden haber aparecido las variantes (por mutación o por recombinación) que han dado lugar a estos tres sitios variables. Así, en el intervalo b_1-b_2 los cromosomas 1, 2 y 4 derivan del linaje ancestral azul y el cromosoma 3 del verde (primera bifurcación en el árbol genealógico), ambos diferenciados por las variantes $C > G$ y $A > G$ (amarillo). Por otro lado, los cromosomas 2 y 4 han adquirido una nueva variante $A > T$ (azul) que los distingue de la secuencia ancestral correspondiente (segunda bifurcación en el árbol genealógico). Otras variantes más recientes y que no están representadas en este ejemplo simplificado distinguirían a los cromosomas 2 y 4 entre ellos (tercera bifurcación en el árbol genealógico).

árboles genealógicos completamente resueltos, en los que cada ancestro se bifurca en dos descendientes (sin politomías), y estima la longitud de las ramas, por lo que aporta la edad de los alelos y las trayectorias de tamaños poblacionales. Además, puede identificar señales de introgresión y de selección positiva a partir de las historias genealógicas locales. Por otro lado, *tsinfer* (Kelleher et al. 2019) es un método ultra-rápido que es escalable a centenares de miles de genomas completos. *tsinfer* no infiere explícitamente un ARG, sino una secuencia de árboles topológicos locales, sin estimar la longitud de las ramas. En principio, *tsinfer* y *RELATE* se podrían combinar en un modelo híbrido, en el que *tsinfer* se usaría al principio para agrupar los individuos según su parentesco, y luego *RELATE* se usaría para inferir la longitud de las ramas y refinar las topologías.

El SDS (de sus siglas en inglés *Singleton Density Score*) (Field et al. 2016) es otro estadístico sumario que utiliza indirectamente las características de los árboles genealó-

gicos para inferir la acción de la selección natural. El SDS proporciona información sobre la selección en escalas de tiempo muy recientes al medir los cambios en las longitudes de las ramas en las puntas de la genealogía. La razón detrás de este estadístico es que, en presencia de adaptación, las ramas más externas y que llevan alelos causales para el rasgo en cuestión serán, en promedio, más cortas que las que llevan alelos no causales. Debido a que las nuevas mutaciones que ocurren en estas ramas más externas aparecerán como *singletons* (presentes en un solo genoma de los genomas muestreados), los alelos causales tenderán a tener una densidad de *singletons* más baja. Asimismo, también se ha desarrollado una extensión del SDS que usa explícitamente las longitudes de las ramas terminales de los árboles genealógicos locales inferidos. La aplicación del SDS a datos humanos ha mostrado que el estadístico permite inferir de una forma muy eficiente la acción reciente de la selección sobre variantes genéticas pre-existentes (*standing genetic variation*).

“El uso de grafos evolutivos en la comparación de genomas modernos y arcaicos humanos ha desvelado sucesos adaptativos indetectables mediante genómica comparativa entre humanos y otros primates”

¿Qué nos dicen los ARGs sobre nuestra historia evolutiva?

Recientemente, un nuevo algoritmo de inferencia de ARGs heurístico y basado en parsimonia, SARGE, se ha usado para construir un grafo evolutivo que incluye tanto a los humanos modernos como a genomas de homínidos arcaicos (neandertales y denisovanos) (Schaefer, Shapiro y Green 2021). En base a este ARG, los autores han cartografiado: (1) las regiones genómicas introgresadas de genomas arcaicos (*admixture*) en al menos un genoma humano actual, y que cubren aproximadamente el 50% del genoma humano; (2) aquellas regiones que datan de antes de la separación de humanos modernos y arcaicos y cuyas variantes genéticas siguen coexistiendo en ambas especies (separación incompleta de linajes, *incomplete lineage sorting*, ILS); y (3) las regiones que son propiamente humanas (“desiertos” arcaicos) y que pueden informarnos sobre los procesos evolutivos que han sido importantes en nuestro origen como especie. Estos “desiertos” arcaicos, aún siendo minoritarios en nuestro genoma (7% del genoma humano autosómico), son ricos en genes y secuencias reguladoras, al contrario que las regiones introgresadas. Además, la comparación de genomas modernos y arcaicos permitió a los autores desvelar eventos adaptativos que serían indetectables considerando sólo los

“El mayor árbol evolutivo de los humanos construido hasta la fecha incluye 3601 genomas modernos, 3589 genomas antiguos y ocho genomas arcaicos”

estadísticos sumarios o mediante genómica comparativa entre humanos y otros primates. El marco de los ARGs fue clave, pues, para señalar qué regiones genómicas son verdaderamente específicas de los humanos y se vieron probablemente afectadas por la selección desde la separación con los homínidos arcaicos, muchas de las cuales parecen estar involucradas en el desarrollo del cerebro.

El mayor árbol evolutivo de los humanos construido hasta la fecha incluye 3601 genomas modernos, 3589 genomas antiguos y ocho genomas arcaicos (neandertales o denisovanos) (Wohns et al. 2022). La estructura obtenida (ARG) logra representar 27 millones de fragmentos haplotípicos ancestrales y 231 millones de linajes ancestrales. Este complejísimo mapa representa las relaciones de parentesco entre las diferentes poblaciones humanas actuales y su filiación con nuestros antepasados remotos en África, que vivieron en un lugar del nordeste de Sudán. El árbol arrojará luz sobre

“La inferencia basada en grafos evolutivos puede cambiar el paradigma de lo que conocemos sobre la acción de la selección natural y la huella que deja sobre nuestros genomas”

momentos evolutivos cruciales, como la salida de África hace alrededor de 72.000 años o las migraciones posteriores de nuestra especie por el planeta.

Conclusiones

La inferencia basada en grafos evolutivos puede cambiar el paradigma de lo que conocemos sobre la acción de la selección natural y la huella que deja sobre nuestros genomas. Al igual que en la identificación de barridos selectivos, la mayoría de los métodos que nos permiten inferir los coeficientes de selección o datar el inicio de un evento adaptativo utilizan los estadísticos sumarios clásicos, ya sean de forma individual o combinados. Recientemente, los métodos algorítmicos de aprendizaje profundo (*deep learning*) han logrado un éxito sin precedentes en una variedad de problemas, incluido el reconocimiento de imágenes, los asistentes automáticos de voz y la predicción de la estructura tridimensional de las proteínas. En el caso de la genómica de poblaciones, el aprendizaje profundo puede nu-

trirse de las genealogías locales derivadas de los ARGs inferidos como entrada a una red neuronal recurrente (RNN, del inglés *recurrent neural network*) para inferir la acción de la selección natural o la distribución de los efectos de *fitness* (DFE, del inglés *distribution of fitness effects*) en un locus determinado.

La inferencia de los grafos evolutivos también es potencialmente útil para estudiar la base genética de la especiación. Típicamente ésta se ha estudiado a partir de identificar *loci* que tienen niveles inusualmente altos de diferenciación genética entre poblaciones (*F_{st}*). Los ARGs brindan una forma alternativa y complementaria de inferir barridos selectivos recientes, locales para una o unas pocas especies, que han desembocado en la separación de especies.

En conclusión, el progreso espectacular en la escalabilidad a todo el genoma de los grafos evolutivos, junto a su capacidad de maximizar el contenido evolutivo y funcional de muestras de secuencias genómicas, los convierten en la mejor metodología actual para abordar y responder las principa-

les cuestiones que plantea la genómica de poblaciones. Anticipamos que los continuos avances en la inferencia ARG la convertirán en la metodología de referencia para el análisis de muestras de secuencias genómicas obtenidas con las técnicas de secuenciación masivas, sustituyendo a los estadísticos sumarios en la inferencia de la historia evolutiva de las poblaciones y de la acción de la selección natural.

Referencias

- Cann RL, Stoneking M, Wilson AC. 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*. 325(6099):31-36.
- Casillas S, Mulet R, Villegas-Mirón P, et al. 2018. PopHuman: the human population genomics browser. *Nucleic Acids Res*. 46(D1):D1003-D1010.
- Colomer-Vilaplana A, Murga-Moreno J, Canalda-Baltrons A, et al. 2022. PopHumanVar: an interactive application for the functional characterization and prioritization of adaptive genomic variants in humans. *Nucleic Acids Res*. 50(D1):D1069-D1076.
- Field Y, Boyle EA, Telis N, et al. 2016. Detection of human adaptation during the past 2000 years. *Science*. 354(6313):760-764.
- Green RE, Krause J, Briggs AW, et al. 2010. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science*. 328(5979):710-722.
- Hejase HA, Dukler N, Siepel A. 2020. From Summary Statistics to Gene Trees: Methods for Inferring Positive Selection. *Trends Genet*. 36(4):243-258.
- Hervas S, Sanz E, Casillas S, Pool JE, Barbadilla A. 2017. PopFly: the Drosophila population genomics browser. *Bioinformatics*. 33(17):2779-2780.
- Kelleher J, Wong Y, Wohns AW, et al. 2019. Inferring whole-genome histories in large population datasets. *Nat Genet*. 51(9):1330-1338.
- Mackay TF, Richards S, Stone EA, et al. 2012. The Drosophila melanogaster Genetic Reference Panel. *Nature*. 482(7384):173-178.
- Rasmussen MD, Hubisz MJ, Gronau I, Siepel A. 2014. Genome-wide inference of ancestral recombination graphs. *PLoS Genet*. 10(5):e1004342.

- Reich D, Green, RE, Kircher M, et al. 2010. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature*. 468(7327):1053–60.
- Schaefer NK, Shapiro B, Green RE. 2021. An ancestral recombination graph of human, Neanderthal, and Denisovan genomes. *Sci Adv*. 7(29):eabc0776.
- Speidel L, Forest M, Shi S, Myers SR. 2019. A method for genome-wide genealogy estimation for thousands of samples. *Nat Genet*. 51(9):1321-1329.
- Wohns AW, Wong Y, Jeffery B, et al. 2022. A unified genealogy of modern and ancient genomes. *Science*. 375(6583):eabi8264.

Simbiosis en insectos: un ejemplo de evolución de la convivencia entre diferentes

Amparo Latorre y Rosario Gil, Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (I2SysBio), Universitat de València/CSIC. Valencia, Spain

La definición amplia del término simbiosis (del griego, “viviendo juntos”) implica la existencia de una asociación estable entre dos o más organismos de diferentes especies para dar lugar a un estilo de vida integrado a nivel genético, metabólico o conductual. Actualmente, la simbiosis está considerada como una de las principales fuerzas evolutivas que dan forma a la vida en nuestro planeta.

El término simbiosis no tiene connotaciones positivas o negativas para los participantes en la relación. De acuerdo con los efectos sobre la eficacia biológica, hablamos de **mutualismo** cuando los distintos participantes aumentan su eficacia, **parasitismo** cuando una espe-

cie aumenta su eficacia a costa de un efecto negativo en la otra u otras, y **comensalismo** cuando un socio aumenta su eficacia sin afectar al resto. Sin embargo, no existen barreras claras entre estas formas de interacción y más bien nos encontramos con un continuo que muchas especies pueden transitar a lo largo de su historia vital. De acuerdo con la localización del simbiote en el hospedador se habla de **endosimbiosis** cuando aquel se encuentra “secuestrado” en células especializadas del hospedador (bacteriocitos), y de **ectosimbiosis** cuando el simbiote vive sobre las superficies del hospedador (incluyendo superficies internas, como el tubo digestivo). Las endosimbiosis suelen implicar

a una o unas pocas especies procariotas por hospedador, mientras que en las ectosimbiosis suelen participar un gran número de especies formando complejas comunidades microbianas, que pueden variar en distintas superficies del mismo hospedador. Finalmente, según el grado de dependencia, hay simbioses **obligados** o primarios (P), cuando no pueden vivir fuera del hospedador y **facultativos** o secundarios (S) cuando el simbiote puede encontrarse como entidad independiente.

Aparte del papel de asociaciones simbióticas en el origen y evolución de las células eucarióticas (mitocondrias, cloroplastos), se han documentado simbiosis mutualistas eucariota-procariota en prácticamente todas las ramas del árbol de la vida, lo que indica que han evolucionado independientemente muchas veces (Moya et al. 2008). El suceso que inicia una asociación simbiótica es más o menos fortuito; que los actores permanezcan genética o metabólicamente ligados dependerá del éxito evolutivo de la asociación.

Los animales tenemos unas capacidades metabólicas muy limitadas para la síntesis de compuestos esenciales, que necesitamos conseguir a través de la dieta y/o mediante el establecimiento de relaciones mutualistas; por ello, la mayoría de asociaciones simbióticas tienen un fundamento bioquímico. Precisamente, la relación con microorganismos ha permitido a algunos animales adaptarse a dietas pobres en nutrientes que son suministrados por sus simbioses, facilitando la colonización de nuevos nichos. Es el caso de muchas endosimbiosis en insectos, cruciales en la evolución y diversificación de este grupo animal.

“Se han documentado simbiosis mutualistas eucariota-procariota en prácticamente todas las ramas del árbol de la vida, lo que indica que han evolucionado independientemente muchas veces”

La llegada de la era genómica ha permitido conocer genéticamente a los microorganismos implicados en simbiosis, la mayoría no cultivables. De hecho, el proceso de integración simbiótica cambia profundamente el genoma del ancestro de vida libre y, dependiendo del tipo de relación (mutualista/parasítica, obligada/facultativa), la edad de la asociación (antigua/reciente) y las necesidades del hospeda-

dor (nutricionales, defensivas, reciclaje de residuos, etc.), los cambios serán más o menos dramáticos. Asimismo, el uso de tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS, sigla del término en inglés) ha revelado que muchos animales, desde insectos hasta mamíferos, poseen una microbiota intestinal compleja que desempeña múltiples funciones esenciales para el hospedador (regulación metabólica, absorción de nutrientes, protección contra patógenos, etc). Sigue sin resolverse qué determina el camino evolutivo hacia endosimbiosis o ectosimbiosis (Latorre and Manzano-Marín, 2017).

Endosimbiosis en insectos, modelo de integración bacteriana a la vida intracelular

En 1953, el entomólogo Paul Buchner publicó el primer gran compendio describiendo asociaciones simbióticas entre insectos y microorganismos (traducido al inglés en Buchner, 1965). Propuso que “microbios e insectos no solo muestran una asombrosa biodiversidad en sí mismos, sino que a menudo se juntan y toman caminos evolutivos hacia una asociación física persistente”. Desde entonces, estas asociaciones han sido ampliamente estudiadas en numerosos insectos, mediante aproximaciones genómicas, bioquímicas y fisiológicas.

Los insectos constituyen el 85% de la diversidad animal y, excepto algunos hábitats extremos, han conquistado todos los espacios terrestres conocidos, siendo clave en esta capacidad adaptativa la interacción con microorganismos. De hecho, se estima que prácticamente todos los insectos están implicados en algún tipo de simbiosis con microorganismos (mayoritariamente bacterias) que, al menos en un 15% de casos, implica una endosimbiosis mutualista de carácter nutricional como la arriba descrita. A cambio, las bacterias se benefician de un nicho estable, con una fuente permanente de nutrientes por parte del hospedador, a cambio de perder su capacidad de vivir fuera de su hospedador, por lo que la mayoría ya no son cul-

“De hecho, se estima que prácticamente todos los insectos están implicados en algún tipo de simbiosis con microorganismos (mayoritariamente bacterias) que, al menos en un 15% de casos, implica una endosimbiosis mutualista de carácter nutricional”

tivables. Los P-endosimbiontes se transmiten exclusivamente de forma vertical, de la madre a la descendencia (Baumann, 2005; Perreau y Moran, 2021).

La secuenciación de gran número de genomas de P-endosimbiontes y su comparación con bacterias de vida libre ha revelado que la adaptación al ambiente intracelular ha ido acompañada de grandes cambios: alto contenido en A+T, acumulación de sustituciones no sinónimas y mutaciones deletéreas, tasas evolutivas aceleradas, pérdida de funciones reguladoras y elementos móviles. Además, hay una ausencia de sucesos de recombinación y una reducción drástica del tamaño del genoma, que de manera similar a los orgánulos está asociada con la pérdida masiva de genes, principalmente los que se vuelven innecesarios en el nuevo ambiente intracelular o los que codifican funciones que ahora realiza el hospedador. Los procesos evolutivos que dan lugar a los cambios mencionados son una relajación de la selección natural y los continuos cuellos de botella provocados por la transmisión vertical, donde solo una pequeña subpoblación de bacterias pasará a la siguiente generación, dando lugar a un bajo tamaño poblacional efectivo que favorece la acción de la deriva genética. Esto, combinado con la falta de recombinación conduce a la fijación irreversible de mutaciones ligeramente dele-

téreas, proceso conocido como trinquete de Muller.

Las investigaciones se han centrado principalmente en ciertos linajes de insectos del orden Hemiptera con dietas restringidas, principalmente chupadores de savia (subórdenes Sternorrhyncha y Auchenorrhyncha; Gil y Latorre, 2019). Los Sternorrhyncha, como pulgones, psílidos, moscas blancas y cochinillas algodonosas se alimentan del floema de plantas (rico en carbohidratos pero deficiente en compuestos nitrogenados) y dependen de P-endosimbiontes (*Buchnera*, *Carsonella*, *Portiera* y *Tremblaya*, respectivamente) para un adecuado aporte de aminoácidos esenciales y vitaminas. En muchos casos, es necesaria la participación de un segundo cosimbionte para satisfacer las necesidades del hospedador, estableciéndose consorcios microbianos. El suborden Auchenorrhyncha incluye clados (en un árbol filogenético, agrupación de especies, actuales o extintas, que derivan de un antepasado común) que se alimentan de floema (como en los saltamontes) o xilema (como en las cigarras), aún menos nutritivo que el floema, pobre en nitrógeno orgánico y carbohidratos. La mayoría de Auchenorrhyncha estudiados albergan *Sulcia* como P-endosimbionte, casi siempre formando consorcios complejos con uno o varios simbiontes coprimarios, en lo que Buchner denominó “el país de las

maravillas de la simbiosis en insectos". Otros insectos, como las moscas tsetsé y los piojos, se alimentan de sangre de mamíferos, deficiente en vitaminas del complejo B, que son suministradas por sus endosimbiontes *Wigglesworthia* y *Riesia*, respectivamente.

Las hormigas carpinteras y las cucarachas, a pesar de ser omnívoras, también albergan P-endosimbiontes (*Blochmannia* y *Blattabacterium*, respectivamente). El análisis de sus genomas demostró que su dependencia obligada está relacionada con el almacenamiento y reciclaje de nitrógeno durante las fases del desarrollo (por ejemplo, la metamorfosis) con aporte escaso o nulo a través de la dieta.

Pulgones, *Buchnera* y otros invitados a la fiesta

De todas las endosimbiosis bacteria-insecto, nuestro grupo ha estudiado más ampliamente la establecida entre pulgones y *Buchnera aphidicola* (única especie del género), una Gammaproteobacteria que complementa la dieta de sus hospedadores compuesta de floema. El ancestro de *Buchnera* infectó a su hospedador hace unos 200 millones de años, tras lo cual pulgón y simbiote han evolucionado en paralelo. En la actualidad, disponemos de genomas secuenciados de *Buchnera* de 24 especies de pulgones de diversas

“Se dispone de genomas emparejados hospedador/endosimbionte en algunos casos, lo que ha revelado que es el hospedador quien controla la producción de nutrientes por parte del endosimbionte”

subfamilias, aportando valiosa información sobre su historia evolutiva y los cambios genómicos de *Buchnera* en su diversificación desde el origen de los pulgones. Así, aunque existen diferencias importantes en el tamaño del genoma, desde las 656 kb en *Buchnera* BAp (de *Acyrtosiphon pisum*) a las 425 kb en *Buchnera* BCc (de *Cinara cedri*), mantienen un “orden fósil” de genes (es decir, el orden de los genes se ha mantenido a lo largo de centenares de millones de años de evolución), un caso extremo de estasis evolutiva. Así mismo, se dispone de genomas emparejados hospedador/endosimbionte en algunos casos, lo que ha revelado que es el hospedador quien controla la producción de nutrientes por parte del endosimbionte, mediante un fino control del flujo metabólico, ya que en algunas rutas biosintéticas esenciales es el hospedador quien realiza alguno de los pasos finales. Sorprendentemente, algunos de los genes nucleares implicados

en estas funciones son de origen bacteriano, adquiridos mediante transferencia horizontal de bacterias ambientales distintas de los simbioses actuales.

S-simbioses, los otros invitados a la fiesta, no de obligada presencia

Ocasionalmente, los pulgones albergan simbioses facultativos (secundarios, S), que coexisten con *Buchnera*. Se pueden encontrar en diferentes tejidos del hospedador y, aunque normalmente se transmiten verticalmente de madre a descendencia, también es posible la transmisión horizontal. Como no se encuentran en todas las cepas ni en todos los individuos de una población, se consideran no esenciales; sin embargo, en algunos casos se han comprobado sus efectos positivos para el insecto, como rescatarle de daños por calor en zonas áridas, proporcionar resistencia contra enemigos naturales como parasitoides y hongos y participar en la especialización del hospedador, entre otros, (Zytynska y Weisser, 2016).

La secuenciación del genoma del pulgón del guisante *A. pisum* mostró que su sistema inmunológico está comprometido, ya que ha perdido por completo la vía Imd de defensa contra las bacterias Gram-negativas. Esto podría haber sido decisivo para reconocer a *Buchnera* como no patógeno, pero también implica que

otras bacterias, en su mayoría Gram-negativas, pueden infectar al insecto sin una barrera inmune efectiva.

Los primeros S-simbioses en pulgones, las gammaproteobacterias *Serratia symbiotica*, *Regiella insecticola* y *Hamiltonella defensa*, se describieron en una misma especie de pulgón (*A. pisum*). Posteriormente, se han encontrado S-simbioses adicionales, tanto en *A. pisum*, como en otras especies de pulgones. La secuenciación de algunos de estos genomas demostró que ya se están viendo afectados, en mayor o menor grado, por el síndrome de reducción genómica, porque sus genomas son más pequeños que los de sus parientes de vida libre. La inferencia metabólica corrobora su estado facultativo, y ayuda a comprender algunos de los efectos positivos descritos para cada asociación. Un hallazgo inesperado fue que en *S. symbiotica* SAp (de *A. pisum*) algunas rutas de biosíntesis de aminoácidos esenciales están siendo pseudogenizadas (es decir, están interrumpidas porque algunos genes de la ruta presentan y acumulan mutaciones que impiden la codificación de una proteína funcional), así que dependen de *Buchnera* para completarlas. El resultado más espectacular fue encontrar que *S. symbiotica* SCc (del pulgón del cedro *Cinara cedri*) ha perdido los genes *trpEG* para la síntesis de antranilato sintasa, que se encuentran en un plásmido

en *Buchnera* BCc. Por su parte *Buchnera* ha perdido el resto de genes de la ruta de biosíntesis de triptófano (*trpAD*), por lo que ambos simbiosomas se complementan metabólicamente y son co-obligados. Desde entonces, se han encontrado otras cepas de *S. symbiotica* en diferente estado de integración simbiótica.

Aprendiendo de los consorcios microbianos

Un tema de especial interés en biología evolutiva es encontrar evidencias de la transición de un estilo de vida a otro. El descubrimiento de *S. symbiotica* en diferentes etapas de acomodación a la vida intracelular y su comparación con parientes de vida libre del género *Serratia* ofreció la oportunidad de comparar bacterias con tres estilos de vida, **vida libre**, **simbiosomas facultativos** y **endosimbiosomas obligados**, y permitió diseccionar los cambios genómicos ocurridos durante en el proceso (Manzano-Marin y Latorre, 2016). La bacteria de vida libre elegida para la comparación fue *S. marcescens* Db11 (de *Drosophila melanogaster*). Se comparó con cinco cepas de *S. simbiótica* con genomas que oscilan entre 3,58 Mb y 0,65 Mb. Dos cepas de naturaleza facultativa pertenecen a pulgones de la familia Aphidinae: *A. pisum* (SAp, 2,76Mb) y *Aphis fabae* (SAf, 3,58 Mb), que aún puede crecer en condiciones axénicas. Las tres restantes pertenecen a miembros de la subfamilia Lachninae y han establecido consorcios

con *Buchnera*, probablemente por pérdida de genes para la síntesis de riboflavina en el ancestro común de los miembros de la subfamilia, si bien su acomodación a la vida intracelular es muy diferente. *S. simbiótica* de *Cinara tujaefilina* (SCt) posee un genoma poco reducido (2,49 Mb) y presenta características más similares a la cepa facultativa SAp, que a las otras coobligadas SCc (1,76 Mb) y STs (0,65 Mb) de los pulgones *C. cedri* y *Tuberolagnus salignus*, respectivamente. Una característica muy interesante de las distintas cepas de *Serratia* es su morfología (Figura 1). En el caso de las dos con genomas muy reducidos, es redondeada, como ocurre en *Buchnera*, como consecuencia de la pérdida de genes implicados en la síntesis de pared y división celular. Sin embargo, en cepas simbiosomas facultativas, con genomas más grandes, la morfología es bacilar, similar a las enterobacterias de vida libre. En la Tabla 1 se observa la disminución en el tamaño del genoma, acompañada de cambios más o menos graduales en otras características del genoma que denotan diferentes niveles de erosión (contenido en GC, número de genes codificantes y de RNA...). Otros cambios proporcionan nuevas pistas sobre las etapas intermedias del proceso. Hay un aumento considerable de pseudogenes en SAf, SAp, SCt y SCc, fenómeno que en los tres primeros va acompañado de una disminución en la densidad génica (porcentaje del genoma que contiene genes) y de elementos móviles (profagos

y elementos transponibles) en comparación con su pariente de vida libre. Sin embargo, solo 5 pseudogenes se han encontrado en la pequeña STs, que muestra una alta densidad génica y en los dos genomas reducidos (SCc y STs) no hay ni rastros de elementos móviles, en congruencia con genomas endosimbióticos de tamaño similar, como es el caso de *Buchnera*. Así, la diferencia entre estos dos genomas en el número de genes es principalmente debida a la gran cantidad de “DNA chatarra” (elementos móviles, secuencias repetitivas y pseudogenes) que aún aparece en SCc. Finalmente, al igual que otros genomas endosimbióticos grandes, *S. symbiotica* SAf, SAp y SCT muestran un gran enriquecimiento de elementos móviles en comparación con su pariente de vida libre, ya que mientras Db11 posee 9 secuencias de inserción (IS) y un transposón TnTIR, las tres cepas poseen más de 100 IS, ha aumentado la presencia de trasposones TnTIR y han adquirido elementos móviles de intrones del grupo II. Sin embargo, en los genomas más pequeños de *S. symbiotica* SCc y SCT no hay ni rastro de tales elementos, en congruencia con genomas endosimbióticos de tamaño similar, como es el caso de *Buchnera*. El aumento de elementos móviles (tanto en tipo como en número de copias) en simbioses facultativas recientes, con un gran potencial como sitios de recombinación y su pérdida progresiva hasta su completa desaparición en los obligados, se ha implicado en la abundancia de re-

ordenamientos cromosómicos detectados entre bacterias de vida libre y simbioses facultativas, opuesto a la estasis cromosómica en P-endosimbioses a largo plazo.

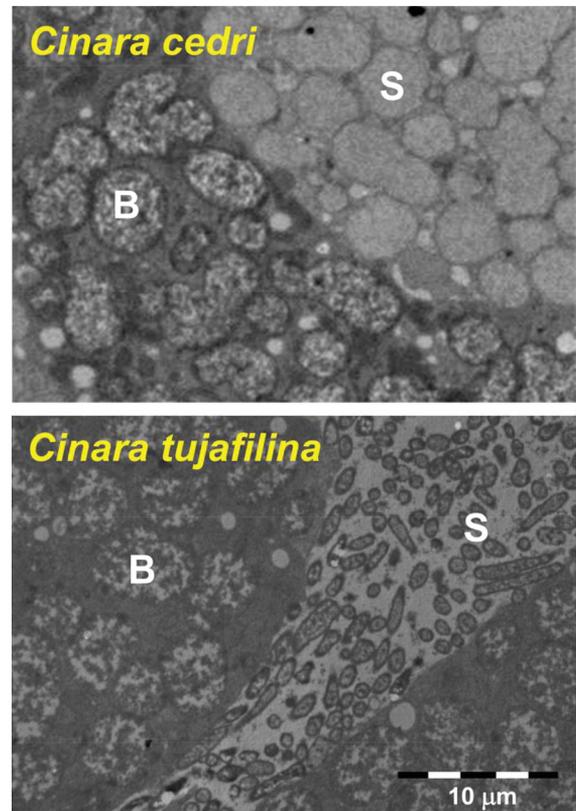


Figura 1. Micrografía electrónica de *Buchnera* (B) y *S. simbiótica* (S) en los pulgones *C. cedri* y *C. tujafilina*. Puede observarse la morfología irregularmente redondeada de *Buchnera* en los dos pulgones, mientras que es diferente en las dos *Serratia*, dependiendo de su estado de degradación, redondeada en *C. cedri* y bacilar en *C. tujafilina*.

Ni contigo ni sin ti. Si no me sirves,
te reemplazo

Aparte de la posibilidad de establecer un consorcio microbiano, la incapacidad de un P-endosimbionte para realizar sus funciones debido al síndrome de reducción genómica puede conllevar el reemplazo del P-endosimbionte ineficiente por una nueva bacteria “más saludable”, que aún no haya perdido funciones esenciales, y que incluso puede ser una fuente de nuevas capacidades metabólicas y fisiológicas para el hospedador. La subfamilia Lachninae es particular entre los pulgones porque se han documentado múltiples reemplazos del simbiote co-primario. El análisis de la presencia de consorcios microbianos simbiotes en especies representativas de cinco tribus de esta subfamilia (Lachnini, Stomaphidini, Tramini, Tuberolachnini y Eulachnini) indica que, si bien la mayoría de las especies albergan *S. symbiotica*, algunas están asociadas con un amplio catálogo de otras enterobacterias. El escenario más parsimónico para explicar todos estos datos es que un segundo endosimbionte, probablemente *S.*

symbiotica, se estableció tempranamente en el ancestro de la subfamilia, seguido de su diversificación y al menos seis eventos independientes de reemplazos en diferentes clados y, eventualmente, el reclutamiento de un tercer endosimbionte (Manzano-Marín et al. 2017). Esta sucesión simbiótica estaría impulsada por factores tales como el deterioro del genoma o la competencia entre bacterias con capacidades metabólicas similares.

El fenómeno del reemplazo se ha estudiado con mayor detalle en otros sistemas simbiotes de los insectos del suborden Auchenorrhyncha. Buchner, y especialmente su alumno H. J. Müller, estudiaron al microscopio cientos de especies de este grupo de insectos. Observaron que la mayoría de ellas contenían más de un simbiote, aunque todas compartían uno común que denominaron “simbiote a”, la actual *Sulcia muelleri* (filo Bacteroidetes). La hipótesis de Müller era que el antepasado de *Sulcia* infectó al antepasado de los Auchenorrhyncha antes de la división de los dos clados principales, hace 260 millones de años. También propuso que

“La incapacidad de un P-endosimbionte para realizar sus funciones debido al síndrome de reducción genómica puede conllevar el reemplazo del P-endosimbionte ineficiente por una nueva bacteria ‘más saludable’”

uno o varios simbioses solían acompañar a *Sulcia* o incluso podían a veces reemplazarla, dando lugar a una gran variedad de asociaciones en diferentes linajes. Hoy en día, corroborados por estudios metagenómicos, este se considera el ejemplo perfecto de cómo el establecimiento de un consorcio bacteriano simbiótico puede estar en el origen de grandes cambios evolutivos en el estilo de vida del hospedador, mientras que la degeneración del genoma de los participantes del consorcio puede conducir a la extinción y sustitución de los más deteriorados, de forma similar a lo descrito en pulgones.

El sistema simbiótico dual en cucarachas: *Blattella germanica* como modelo

Las cucarachas (orden Blattodea) son insectos hemimetábolos con tres etapas de desarrollo: huevo, 4 ó 5 estadios ninfales y estadio adulto. Representan un antiguo linaje que surgió hace más de 300 millones de años. Son insectos paradigmáticos porque los dos sistemas simbióticos antes mencionados coexisten en cada individuo, en compartimentos separados. Por un lado, a pesar de ser omnívoros y al igual que los insectos que se alimentan de dietas especializadas, poseen un endosimbionte mutualista obligado, *Blattabacterium cuenotti* (filo Bacteroidetes, clase Flavobacteria), que se transmite verticalmente de la madre a la descendencia. Por

otro lado, al igual que otros animales omnívoros, posee una rica y compleja microbiota intestinal que se adquiere horizontalmente tras la eclosión y a lo largo del desarrollo, cuyo papel en el sistema aún no ha sido completamente esclarecido.

Nuestro sistema modelo es la cucaracha alemana *Blattella germanica*. Se considera una de las plagas domésticas más importantes a nivel mundial, ya que se encuentra en todos los ambientes (urbanos y rurales), y a menudo en íntima asociación con humanos, estando presente dentro y fuera de casas, hospitales, etc. Pero podemos aprender mucho de ella. Además, presenta las ventajas de tener un ciclo de vida relativamente corto (unos 100 días), los adultos pueden vivir hasta más de 300 días y ser fácilmente cultivable en el laboratorio.

Papel esencial del endosimbionte

En el cuerpo graso se encuentran tres tipos de células: los adipocitos, especializados en almacenar energía en forma de glóbulos de grasa; los uricocitos, donde se almacena el nitrógeno en forma de ácido úrico, y los bacteriocitos, que se desarrollan para albergar a *Blattabacterium*. La secuenciación de su reducido genoma (586 genes que codifican proteínas) y la inferencia de su metabolismo demostraron su papel esencial en la síntesis de

aminoácidos. Sin embargo, lo más sorprendente fue encontrar que ha retenido el ciclo completo de la urea y los genes de la ureasa que transforman urea en amonio y CO₂. Así, *Blattabacterium* establece una complementación metabólica con el hospedador de manera que el ácido úrico almacenado en los uricocitos puede ser transformado en urea mediante actividades enzimáticas del hospedador; la urea entra en el endosimbionte y es degradada a amonio y CO₂ por su ureasa, y el amonio puede ser transformado en glutamina por acción de la glutamina sintasa que tenemos todos los animales.

Blattabacterium, como todos los endosimbiontes mutualistas, es esencial para el hospedador. Por ello, cuando se elimina mediante el tratamiento de antibióticos, las ninfas o no se desarrollan o no pasan al estadio adulto. Cuando se suministra rifampicina (un antibiótico de amplio espectro) a individuos adultos recién eclosionados se observa que la población de *Blattabacterium* no se ve afectada por el tratamien-

to durante la primera generación, pero se reduce enormemente en la segunda generación, lo que sugiere que el simbiote es sensible a rifampicina sólo durante la infección de los ovocitos maduros, cuando se encuentra en un estadio extracelular. La reducción va acompañada de una disminución drástica de los parámetros de eficacia e incluso el no desarrollo de adultos.

Las termitas han reemplazado a Blattabacterium por una rica microbiota intestinal

Las termitas son los parientes más cercanos de las cucarachas; de hecho, se consideran “cucarachas sociales”. Forman un clado monofilético que evolucionó hace entre 150 y 170 millones de años a partir de las cucarachas de la madera (familia Cryptocercidae, con un único género, *Cryptocercus*). *Blattabacterium* infectó al ancestro común de cucarachas y termitas antes de la separación de ambos linajes. Posteriormente, se perdió en todas las termitas, a excepción de *Mastotermes* (género con una sola especie no

“La pérdida del endosimbionte y de los flagelados en el resto de termitas y un comportamiento social aún más especializado, dio como resultado una microbiota intestinal completamente procariótica, involucrada en la degradación de la lignocelulosa, además de la fijación y reciclaje del nitrógeno”

extinta, *M. darwiniensis*, la termita gigante australiana). De hecho, las cepas de *Blattabacterium*, de *Cryptocercus* y *Mastotermes* han perdido la ruta para la síntesis de 4 y 5 aminoácidos esenciales, respectivamente, y la mayoría de las pérdidas génicas ocurrieron antes de la separación de ambos linajes, que forman la rama basal en la filogenia de las termitas. En el ancestro de estos dos linajes se produjo el salto desde una dieta omnívora a otra celulolítica pobre en nitrógeno. El cambio de dieta coincidió con la adquisición de una microbiota intestinal con función nutricional, incluyendo procariontes y flagelados celulolíticos, además de un cambio en el comportamiento social. Este último permitió el desarrollo de trofalaxis proctodeal, fenómeno en que los componentes del nido comparten gotitas del contenido del intestino posterior, garantizando la transmisión casi vertical de la microbiota sin recurrir a sucesos estocásticos, lo que permitió reemplazar de forma segura las funciones metabólicas perdidas de *Blattabacterium*. Posteriormente, la pérdida del endosimbionte y de los flagelados en el resto de termitas y un comportamiento social aún más especializado, dio como resultado una microbiota intestinal completamente procariótica, involucrada en la degradación de la lignocelulosa, además de la fijación y reciclaje del nitrógeno. La Figura 2 muestra una filogenia de cucarachas y termitas, indicando cuando

se adquirió *Blattabacterium* y cuando se perdió, y los cambios que acompañaron estos sucesos.

En los últimos años se ha analizado la microbiota intestinal de termitas mediante estudios de rDNA 16S y metagenómicos. Diferentes factores del hospedador, como su taxonomía, dieta y microambiente pueden afectar a su composición. Además, diferentes combinaciones microbianas aparecen en distintos grupos de termitas, o incluso dentro de los mismos grupos o en grupos con similares hábitos de alimentación. Los filos más abundantes encontrados son Bacillota (anteriormente Firmicutes), Spirochaetota, Bacteroidota, Pseudomonadota (anteriormente Proteobacteria), Actinomycetota (anteriormente Actinobacteria), Mycoplasmatota (anteriormente Tenericutes) y Synergistota.

¿Por qué las cucarachas tienen los dos sistemas simbióticos?

Como se ha indicado anteriormente, las cucarachas poseen los dos sistemas simbióticos. Pero ¿por qué *Blattabacterium* no ha sido reemplazada por la comunidad microbiana intestinal, como ha ocurrido en termitas? Entender el papel de la microbiota es imprescindible para responder a esta pregunta crucial. Existen varias posibles explicaciones no excluyentes entre sí: (i) hay un diálogo entre los dos

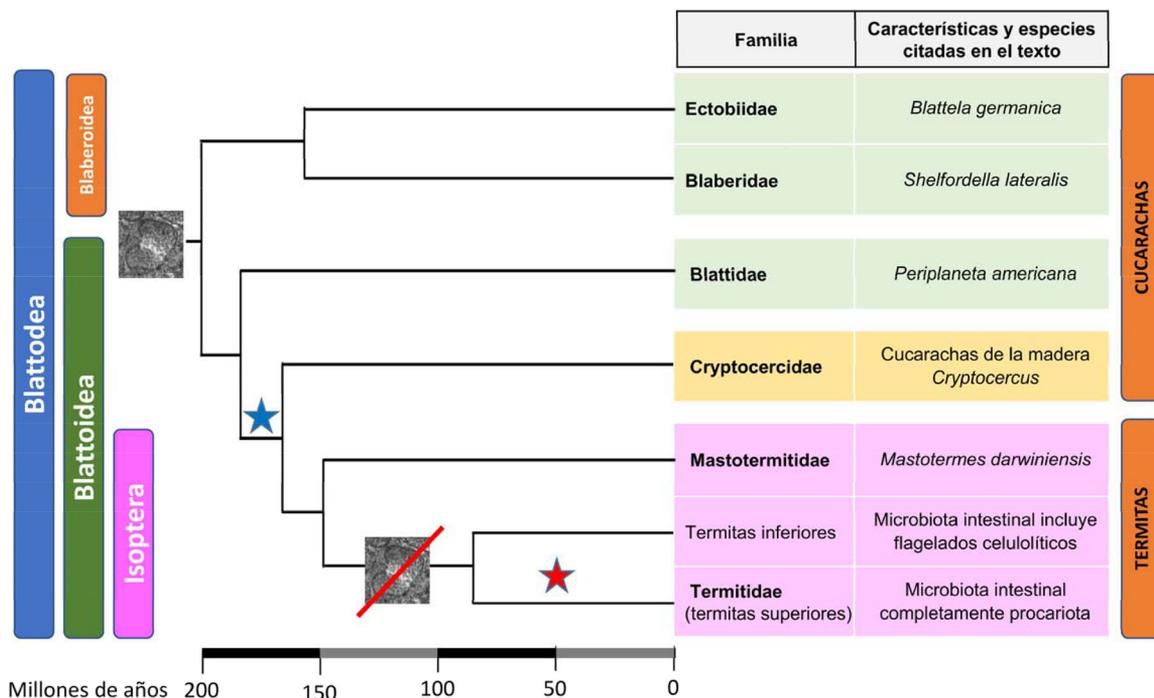


Figura 2. Dendrograma mostrando los principales cambios evolutivos en el orden Blattodea, que agrupa a cucarachas y termitas. *Blattabacterium* infectó al ancestro y se perdió tras la separación de *Mastotermes* del resto de termitas. A la izquierda, representación de los clados principales: azul, orden; verde, suborden; rosa, infraorden; naranja, superfamilia. Fotografía: *Blattabacterium* vista al microscopio electrónico. La estrella indica cambios en la microbiota intestinal: adquisición (azúl) y pérdida (roja) de flagelados celulolíticos intestinales, acompañada de degeneración del genoma de *Blattabacterium* y especialización de la microbiota bacteriana intestinal, respectivamente.

sistemas y el hospedador, compartiendo funciones; (ii) el hospedador necesita a cada uno de los sistemas diferencialmente a lo largo del desarrollo; (iii) de alguna manera la microbiota podría complementar, y eventualmente reemplazar, las funciones de *Blattabacterium*.

Hemos analizado la composición, origen, establecimiento, ensamblaje y función de los dos sistemas sometidos a diferentes perturbaciones (dietas restringidas o exposición a antibióticos), con el fin de comprobar si alteran la composición o la estructura de la microbiota (Figura 3).

Si hay cambios, se puede ver si se recuperan las condiciones iniciales una vez desaparece la perturbación, condición conocida como resiliencia; pero también puede ocurrir que cambien los taxones sin observar cambios a nivel funcional, por la existencia de redundancia. En un experimento típico, se toman muestras en diferentes momentos del desarrollo en una generación, en las poblaciones control y sometidas a tratamientos, y en la siguiente generación se subdividen las poblaciones para comprobar el efecto de continuar el tratamiento, eliminarlo o eliminarlo y, además, suplementar la dieta con heces de la población control. La microbiota intestinal y las funciones se monitorizan mediante secuenciación de fragmentos del gen de rRNA 16S amplificados por PCR y/o metagenómica, y *Blattabacterium* mediante PCR cuantitativa (qPCR) del gen de la ureasa, acompañada de análisis microscópicos. El efecto del tratamiento sobre el hospedador se mide determinando parámetros de eficacia.

En nuestro laboratorio hemos utilizado los antibióticos ampicilina y rifampicina (contra bacterias Gram-positivas y algunas Gram-negativas), kanamicina (contra Gram-negativas) y vancomicina (contra Gram-positivas). En todos los casos se logra una pérdida selectiva de bacterias intestinales, que es aún más dramática en la siguiente generación en las poblaciones

tratadas, pero que se recupera cuando el antibiótico no se suministra, recuperación que es más rápida si se añaden heces a la dieta (Domínguez-Santos et al, 2020). La Figura 4 representa el caso de tratamiento con rifampicina, como ejemplo. La recopilación de todos los datos ha permitido determinar los componentes centrales (*core*) de la microbiota intestinal de *B. germanica*. Los filos más abundantes son Bacteroidota, Bacillota (compartido con otros animales omnívoros, incluidos los humanos), Pseudomonadota y Fusobacteriota (compartido con otros insectos). Además, se encuentran especies más minoritarias de otros filos, incluidos miembros de Actinomycetota, Spirochaetota, Synergistota y Verrucomicrobiota. Como puede observarse, los filos más abundantes están presentes tanto en termitas como en cucarachas, por lo que será necesario analizar con detalle los representantes minoritarios para ahondar en el misterio de por qué las cucarachas todavía necesitan a *Blattabacterium*.

Por otro lado, la aproximación metagenómica ha permitido inferir las posibles funciones de la microbiota. De hecho, la mayoría de los taxones detectados, así como las funciones que realizan, podrían estar relacionados con la dieta omnívora. Encontramos un amplio repertorio de genes implicados en procesos metabólicos, siendo especialmente

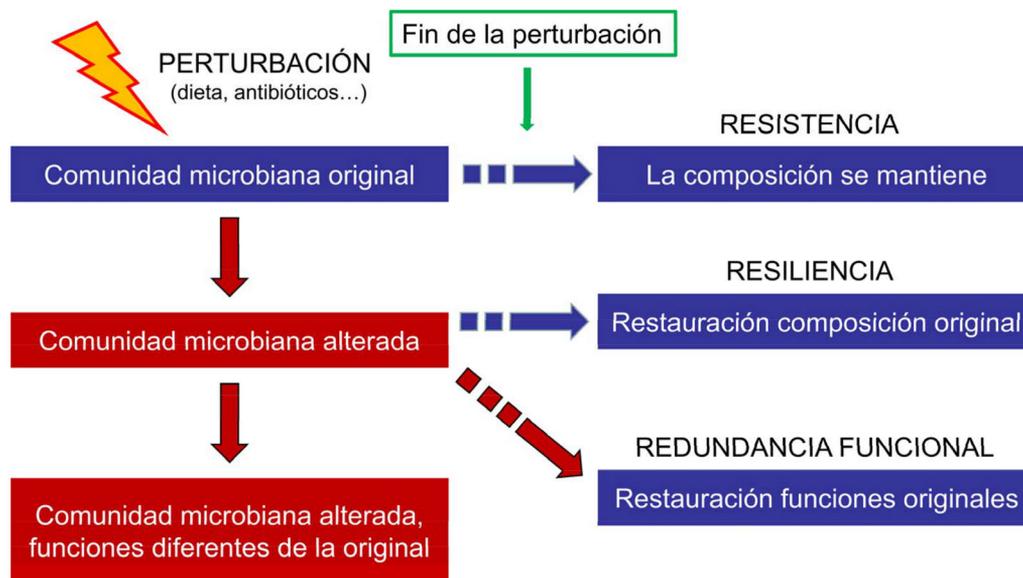


Figura 3. Esquema del comportamiento de la microbiota en una comunidad tras una perturbación (izquierda) y tras la eliminación de ésta (derecha), tanto en la composición como en la función.

abundantes los que participan en el metabolismo de proteínas y carbohidratos, pero también vías relacionadas con la producción de energía, la síntesis de vitaminas y el metabolismo del nitrógeno. Un resultado llamativo es el importante número de genes de resistencia antimicrobiana (ARGs, *antimicrobial resistance genes*) que, sumado a la presencia de genes relacionados con elementos móviles y extracromosómicos, demuestra que las cucarachas son un reservorio de resistencias a antibióticos y, además, pueden actuar como vectores de los mismos (Dominguez-Santos et al 2021).

En relación a la posibilidad de que la microbiota intestinal pueda, eventualmente, reemplazar a *Blattabacterium*, tratamos a *B. germanica* con rifampicina, el único antibiótico en nuestras manos capaz de afectar selectivamente al endosimbionte si se administra durante el tiempo en que la bacteria se encuentra en fase extracelular (durante la infección de los oocitos maduros), para obtener poblaciones quasi-aposimbóticas (ya que la bacteria es esencial y no se puede eliminar completamente; Figura 4). Administramos heces de poblaciones control para recuperar la microbiota intestinal. La esencia-

funciones de *Blattabacterium*. Sin embargo, estos son estudios muy recientes que requieren confirmación, ya que el efecto detectado no fue homogéneo en toda la población de cucarachas debido a la alta mortalidad causada por la reducción de la carga endosimbionte (Muñoz-Benavent et al, 2021).

Conclusiones y perspectivas futuras

El conocimiento de la simbiosis entre procariontas y eucariontas tiene su origen en los albores del siglo XX, a través de estudios realizados en diversos modelos de simbiosis insecto-bacteria, y sigue siendo un campo en expansión. El conocimiento completo de un sistema simbiótico requiere un enfoque de biología de sistemas en el que, además de técnicas moleculares, filogenéticas y microscópicas, son necesarias predicciones *in silico* basadas en análisis multi-ómicos (genómicos, transcrip-tómicos, proteómicos y metabolómicos), para desentrañar las características de esta forma de vida. La gran cantidad de genomas de endosimbiontes disponibles en la actualidad, ha revelado una gran variedad

de posibles genomas finales, frecuentemente por debajo del límite considerado compatible con la vida celular, y ha permitido el desarrollo de modelos evolutivos que expliquen los cambios experimentados por estas bacterias en su adaptación al entorno intracelular del hospedador. Además, el reemplazo de simbiontes y/o el establecimiento de consorcios microbianos permiten al hospedador explotar su interacción con bacterias ambientales para la “revitalización” endosimbiótica. Con todo, los estudios demuestran la existencia de soluciones convergentes en los diferentes sistemas para conseguir la complementariedad metabólica con la colaboración de hospedador y endosimbionte(s). Desde un punto de vista aplicado, la integración de todo el conocimiento sobre estos sistemas simbióticos permitirá determinar las mejores condiciones para el cultivo en laboratorio de bacterias intracelulares con genomas reducidos. Ello, a su vez, facilitará el diseño de enfoques experimentales para manipular estas bacterias y, mediante la eliminación de genes no esenciales, generar una célula natural simplificada, que podría servir en biología

“En general, los insectos que poseen endosimbiontes no poseen una microbiota intestinal adicional. No es el caso de las cucarachas, en las que ambos sistemas están bien establecidos en compartimentos separados”

sintética para generar un chasis adecuado al que añadir módulos genéticos para el desempeño de una función de interés.

En general, los insectos que poseen endosimbiontes no poseen una microbiota intestinal adicional. No es el caso de las cucarachas, en las que ambos sistemas están bien establecidos en compartimentos separados: el endosimbionte *Blattabacterium*, que mejora el metabolismo del nitrógeno del hospedador durante todas las etapas de desarrollo, incluidas épocas sin aporte de nutrientes a través de la dieta, y una rica y compleja microbiota del intestino posterior. La composición y estructura de esta microbiota a lo largo del desarrollo son bien conocidas, y los resultados *in silico* anticipan que son buenos candidatos para participar en funciones nutricionales y de defensa, si bien estas propuestas requieren una confirmación empírica. Para una mejor comprensión de estas funciones y una posible interacción de ambos sistemas simbióticos, en los últimos años se han realizado estudios para detectar qué sucede cuando se exponen a diferentes perturbaciones. Estos estudios han revelado que la microbiota intestinal es muy resiliente, ya que se recupera rápidamente en cuanto cesa la perturbación, a la vez que existe redundancia funcional.

La clave para comprender la supuesta interconexión entre los tres miembros de

la asociación será realizar perturbaciones en poblaciones gnotobióticas (libres de microorganismos) y cuasi-aposimbióticas (casi libres de endosimbionte), y compararlas con las condiciones control. Estudios recientes se han centrado en el papel de los péptidos antimicrobianos (AMP) en algunas asociaciones hospedador-simbionte, y sería interesante evaluar si algunos AMP simbióticos participan, de alguna manera, en el diálogo tripartito en *B. germanica*. Las plagas de insectos (incluidas las cucarachas) pueden actuar como reservorios de genes de resistencia a los antibióticos (ARG) y también participar en su propagación, pero también son una fuente importante de péptidos antimicrobianos (AMP), que reemplazan a los antibióticos en nuestra batalla contra los patógenos. Su arsenal de AMP se puede explorar para ayudar a combatir la resistencia múltiple a los antibióticos en las bacterias.

Agradecimientos

Este artículo se enmarca en los proyectos PGC2018-099344-B-I00, financiados por “European Regional Development Fund (ERDF)” y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MICINN) y PROMETEO/2018/133, financiado por Conselleria d’Educació de la Generalitat Valenciana.

Bibliografía

- Baumann, P. 2005. Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. *Annual Review Microbiology*, 59: 155–189.
- Buchner, P. 1965. *Endosymbiosis of animals with plant microorganisms*; Interscience Publishers: New York, U.S.A.; pp. 909.
- Domínguez-Santos, R., Pérez-Cobas, A.E., Artacho, A., Castro, J.A., Talón, I., Moya, A., García-Ferris, C. y Latorre, A. 2020. Unraveling assemblage, functions and stability of the gut microbiota of *Blattella germanica* by antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*, 11: 487.
- Domínguez-Santos, R., Pérez-Cobas, A.E., Cuti, P., Pérez-Brocal, V., García-Ferris, C., Moya, A., Latorre, A. y Gil, R. 2021. Interkingdom gut microbiome and resistome of the cockroach *Blattella germanica*. *mSystems*, 6: e01213-20.
- Gil, R. y Latorre, A. 2019. Unity makes strength: a review on mutualistic symbiosis in representative insect clades. *Life*, 9: 21.
- Latorre, A., Domínguez-Santos, R., García-Ferris, C. y Gil, R. 2022. Of cockroaches and symbionts: recent advances in the characterization of the relationship between *Blattella germanica* and its dual symbiotic system. *Life*, 12: 290.
- Latorre, A. y Manzano-Marin, A. 2017. Dissecting genome reduction and trait loss in insect endosymbionts. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1389: 52-57.
- Manzano-Marín, A. y Latorre, A. 2016. Snapshots of a shrinking partner: Genome reduction in *Serratia symbiotica*. *Scientific Reports*, 6: 32590.
- Manzano-Marín, A., Szabo, G., Simon, J.C., Horn, M. y Latorre, A. 2017. Happens in the best of subfamilies: establishment and repeated replacements of co-obligate secondary endosymbionts within *Lachninae* aphids. *Environmental Microbiology*, 19: 393-408.
- Moya, A., Peretó, J., Gil, R. y Latorre, A. 2008. Learning how to live together: genomic insights into prokaryote–animal symbioses. *Nature Review Genetics*, 9: 218-229.
- Muñoz-Benavent, M., Latorre, A., Alemany-Cosme, E., Marín-Miret, J., Domínguez-Santos, R., Silva, F.J., Gil, R. y García-Ferris, C. 2021. Gut microbiota cannot compensate the impact of (quasi) aposymbiosis in *Blattella germanica*. *Biology*, 10: 1013.
- Perreau, J. y Moran, N.A. 2021. Genetic innovations in animal–microbe symbioses. *Nature Review Genetics*, 23: 23–39.
- Zytynska, S.E. y Weisser, W.W. 2016. The natural occurrence of secondary bacterial symbionts in aphids. *Ecological Entomology*, 41: 13–26.

Tabla 1. Reducción genómica en *S. simbiótica*. En cada columna se representan las principales características genómicas de *S. marcescens* (DB11) y en las cinco cepas de *S. simbiótica*. Se indica el nombre de la cepa y el de su insecto hospedador.

	DB11 <i>D. melanogaster</i>	SAf <i>A. fabae</i>	SAP <i>A. pisum</i>	SCt <i>C. tujafilina</i>	SCc <i>C. cedri</i>	STs <i>T. salignus</i>
Tamaño del genoma (Mb)	5,11	3,58	2,76	2,49	1,76	0,65
Contenido en G+C (%)	59,5	52,1	48,4	52,0	29,2	20,87
Genes						
CDS	4.709	3.398	2.098	1.601	677	495
Pseudogenes	12	126	550	916	108	5
rRNA (16S, 18S, 5S)	7,7,8	7,7,8	5,5,5	4,3,6	1,1,1	1,1,1
tRNA	88	74	44	47	36	33
ncRNA	69	68	57	59	6	2
Densidad génica	87,9%	78,2%	56,8%	53,4%	39,0%	77,5%

CDS: secuencias codificantes; ncRNA: RNA no codificante



Axel Meyer (imagen cedida por Marco Schilling)

Axel Meyer is a professor of Zoology and Evolutionary Biology at the University of Konstanz, Germany. In 1988, he earned his PhD from the Department of Zoology at the University of California Berkeley. He was also a visiting student in Harvard University, and a postdoctoral researcher at University of California Berkeley in the Biochemistry Department with Allan C. Wilson. In 1990, he joined the Department of Ecology and Evolution at the State University of New York (SUNY) at Stony Brook as an Assistant Professor,

An Interview with Axel Meyer

Darío Lupiáñez, Research group leader at the Berlin Institute for Medical Systems Biology (BIMSB), Max Delbrück Center for Molecular Medicine (MDC), Berlin, Germany.

being promoted to Associate Professor in 1993. Since 1997, he is a Full Professor at Department of Biology of the University of Konstanz, Germany.

Professor Meyer has devoted his career to study the adaptive radiation of African cichlid fishes, whole genome duplications (WGD), vertebrate phylogenies, and comparative genomics. He is an elected member of the Academia Europaea, the American Academy of Arts and Sciences, the European Molecular Biology Or-

ganization (EMBO), the Leopoldina - the German National Academy and several other academies. His research has been widely recognized, receiving awards like the Carus Medal from the German Academy of Sciences Leopoldina, a John Simon Guggenheim Memorial Fellowship or the Hector Science Award. In addition, he is an active science communicator, with periodic contributions in newspapers and radio, which earned him the EMBO award for communication in the Life Sciences.

On occasion of the recent EMBO Workshop on “The evolution of Animal Genomes”, in which he participated as a lecturer, we spoke about his career, life and science.

Q - I would like to start this interview with a basic question. How did you get interested in evolutionary biology?

R - I grew up in the outskirts of Lübeck in northern Germany and my mother used to send us out of the house to play. I would spend this time with friends, wandering around nearby forests and fields collecting all kinds of animals. I started a beetle collection when I was 9. And when I was 10, I got my first fish tank, soon the number grew fast. Later, I got my first microscope that I used to see how fish laid their eggs. This gave my first “religious” glorious moments, when I would watch

the hearts of the fish embryos beating for the first time. My parents were also very tolerant and allowed me to have all sorts of pets at home, like tadpoles of newts, hamsters, budgies, rabbits, and a magpie. Nowadays, this passion for animals still continues. I have been always fascinated about how smart ravens are, and I recently had a pair of them, which fulfilled a lifelong dream. So, I always knew that I wanted to be a biologist, I just didn't know which type.

Q - And how did a child's dream evolve into a scientific career?

R – In 1979, after high school, I decided to study Biology and Zoology at the University, first at the University of Marburg, and then for a semester at the University of Kiel since I was interested in Marine Biology. However, in 1981 during a holiday trip to the United States, I visited The University of California in San Diego. There, I was impressed by the lifestyle on campus, which I found stimulating and vibrant. I decided that I wanted to experience this, so I applied to a Fullbright fellowship. Receiving it was a life changing break, as my life and career would have been quite different if I had stayed in Germany.

The Fullbright fellowship first sent me to the University of Miami, but then I moved to Berkeley where I conducted

my master studies in Zoology, in the lab of George Barlow. There, I investigated how fishes learn to recognize and switch between types of food. These experiments revealed that fishes acquire different morphologies depending on their diet. This sparked my interest in Evo-devo and functional morphology, which brought me first to Berkeley to the lab of Marvilee Wake, and later to the lab of Karel Liem in Harvard (1986-87) as a PhD exchange fellow. There, I used high-speed cameras to study the jaw kinematics of those cichlid fishes. After that, I returned to Berkeley and worked during the last year of my PhD in the laboratory of Allan Wilson. By that time, I had already started to work with the cichlid fishes of Nicaragua's Crater lakes that I collected in expeditions in 1984, 1985 and 1987. In the Barlow lab, cichlid fishes were used to study sexual selection, as they are color polymorphic. A particular species, the Midas cichlid, loses its black pigmentation and turns gold (as if touched by King Midas). I was first to study these fishes in terms of jaw morphology, as a way to understand natural selection, since I found out that they differ in the type of (pharyngeal) jaws and teeth. So, the question that I brought to the Wilson lab was a very fundamental one: was natural or sexual selection more important in driving the adaptive radiation of cichlid fishes? I tried to infer this by quantifying genetic differences in mi-

tochondrial DNA between natural or sexually selected populations. This was the pre-PCR era, so I had to study this initially through restriction enzyme digestion of purified mitochondrial DNA. This period was a very stimulating part of my career, especially when everything changed due to the invention of PCR.

Q - So you were in the laboratory of Allan Wilson when PCR was first applied to study evolution, right?

R - Yes, the PCR came to the Wilson lab when I was working there, and that changed my life and science in general. One of the many talents of Allan Wilson was that he always managed to assemble synergistic research groups, by combining people with zoology or biological questions and experts in technology development. I shared the lab with very talented scientists, such as Kelly Thomas, Linda Vigilant, Tom Kocher, Arend Sidow, Svante Pääbo and others. One of the previous postdocs of the Wilson lab used to work at Cetus Corporation, where also Kary Mullis worked, so we used this connection to obtain homemade Taq polymerase, even before it was commercialized by Perkin-Elmer. Then, Tom Kocher built a custom PCR machine using a water bath and washing machine valves that were controlled by a Mac IIe. We also developed our own protocol for single-stranded

PCR and sequencing that was published in 1989 in PNAS, cited over 5000 times, and changed several fields in evolutionary biology and molecular ecology.

Allan Wilson himself was very fond of cichlid fishes as he spent his last hands-on work in Nairobi, studying populations from the Lake Victoria with protein electrophoresis. So, luckily, he found it interesting to have someone like me in the lab. I was lucky that the Alfred P. Sloan Foundation decided to fund my postdoc, within its new program on molecular evolution. This was the first time that we could obtain fragments of DNA sequences from so many different critters, and we used it to create universal PCR primers, which became a standard for many evolutionary studies to come. Wilson called that the “democratization of the genetic code” since it was much faster and cheaper so that also zoologists in natural history museums could determine DNA sequences. We used those same primers to compare variability across species. Linda Vigilant, who worked at the bench across mine, studied human variation (mitochondrial eve and “out-of-Africa-hypothesis”) and we compared our datasets. We were astonished, as she found more variation within a single human species than I found in representatives from more than 500 endemic species of cichlids from Lake Victoria. We just could not make sense of that! Until

Allan, in one of his classical moments, pointed that this was because these cichlids were derived from a single-ancestral species and that the species flock was very young, making them so genetically homogeneous. This resulted in my first *Nature* paper in 1990. These were exciting times and we all felt that science history was being written in the Wilson lab.

Technological advances, like PCR, are also important for disciplines like evolutionary biology, where theoretical advances matter a lot. Such advances suddenly allow to ask completely new questions. Since PCR changed my life, I always tell my students to master those new methods, such as next generation sequencing, long-read technologies, massive data, or CRISPR.

Q - So you see next generation sequencing as the biggest technological advance in evolutionary biology?

R – All new methods advance and accelerate also evolutionary biology. With Sanger sequencing, we used polyacrylamide gels and radionucleotides, until ABI developed fluorescence-based sequencing machines, first also with gels that we had to pour and then with capillaries. This was around 30 years ago and for quite some time nothing new happened. Until first Roche and then Illumina released the first next generation sequencing sys-

tems and that changed the sequencing world again.

I still remember watching Bill Clinton and Tony Blair on TV, announcing the sequencing of the human genome while on sabbatical at the Joint Genome Institute. 20 years on, it is amazing how much technology evolved and that you can now get genetic information for so much less. I had my genome sequenced for 999\$ by George Church's company in 2017. Using these methods, we can revisit classical questions in evolutionary biology, like Dobzhansky's inversions and insertions that we now can fully sequence in other species. Just last year, we used long read sequencing to finally identify the mutation that makes some Midas cichlid individuals lose their black pigmentation turning them gold. We called it "golden touch", as it's caused by the insertion of a transposable element.

Q - Which unsolved problem should specifically tackle the next technological advance?

R - I have spent over 30 years reconstructing phylogenies with ever-larger datasets. First, using stretches of mitochondrial DNA, then whole mitochondrial genomes, then more and more nuclear markers, whole transcriptomes and now genomes. But at some stage, I felt that

with larger datasets, we still converge in the same answers phylogenetically. For example, on the lungfish-coelacanth issue, which was one of the first project that I worked in the Wilson lab. In 1990, we already proposed that the lungfish is the closest relative to tetrapods, using tiny datasets and weak statistical support. Of course, this is a very difficult question to address, as divergence occurred back in the Devonian (~420mya) and within a short time window of 20 million years. So, one needs to identify the mutations that inform on the correct branching order, for an event that occurred 400 million years ago and that was overlaid by the many mutations that have littered their genomes since then. But the initial answer that we found still holds true using modern phylogenetic methods and complete genomes, including the largest one sequenced, that of the Australian lungfish.

This was done initially together with my excellent postdoc in my first lab in New York, Rafael Zardoya, now director of the National Museum of Natural Sciences in Madrid. We also investigated if turtles are the most basal branch in amniotes, as defenestration in the skull suggested in the Zoology textbooks that I read as a student. But instead, we found that turtles belong to the archosaur-reptile branch and not the traditional anapsid basal branch of the amniote tree. So, slow turtles evolved fast,

skull-wise. We also worked on *HOX* genes since 1996, and at that time it was not clear how the four *Hox* gene clusters had evolved. Around 1998, we became interested in the fish-specific WGD, a topic on which Susumu Ohno, one of my academic heroes had first worked on. Our studies made clear that the *HoxA* and *HoxB* clusters, are closely related to each other, the same as for *HoxC* and *HoxD* clusters. So, there were two rounds of WGD that led to this organization. With Yves van de Peer, who was in my lab after I moved to Konstanz, we extended these studies to other developmental pathways, including *Dlx* or *Hh* genes, which again supported the WGD events. So, we revisited some of these important evolutionary questions that Ohno raised 20 years before and demonstrated for the first time with DNA sequences that a fish-specific-genome duplication occurred early in the evolution of modern (teleost) fishes. So, the ancestor of all living ~25,000 teleost species had a duplicated genome with twice the number of genes as our ancestor. Therefore, fish have not 4, but up to 8 *Hox* clusters.

My main research area has been always fishes, thanks to my first aquarium and to angling with one of my uncles as a child. In particular the smart colorful cichlids, trying to find the mutations behind adaptations, speciation and asking what is the basis of convergently evolved phenotypes.

This is actually one of the holy grails of evolution: how deterministic is evolution? When evolution repeats itself, are the same genes, mutations or developmental pathways involved? I think this is one of important questions of evolutionary biology and one that I have asked for 30 years with repeated African and Nicaraguan cichlid radiations. Mainly because the idea that evolution is a tinkerer and plays with the material at its disposal holds a lot of truth. Evolution is very conservative as an organism has to function, survive and reproduce in every generation. So, you cannot change too much too fast. This is probably one explanation for why many genes and pathways stick around, even if they are not used for the same purpose or for multiple purposes such as in pleiotropy. It is therefore paradoxical how fast diversification can occur.

Q - You mentioned that one of your scientific heroes is Ohno. Did you ever meet him?

R - Unfortunately, he had died in 2001, before I met him. But I was invited to the City of Hope, in California, to present the first Ohno memorial lecture in 2014. There, I met his widow and visited his office.

Ohno was such an interesting person. If you dive into his legacy, you quickly realize how much he was ahead of his time.

For example, he coined the famous term “junk DNA”. He also had a deep connection with music, as his wife was an opera singer. So, he looked for a syntax and grammar in protein and DNA sequences that could explain regulation and function. He literally translated DNA sequences into musical notes. One can find his “DNA music” on *Youtube*. Of course, this was a crazy idea that didn’t work, but it’s informative on how innovative Ohno was and how out-of-the-box his mind worked.

Ohno proposed the fish-specific whole-genome duplication (WGD). Amazingly, it came from cutting and weighting photos of chromosomes (karyotypes) to estimate genome sizes. Now that it is possible to sequence any genome, it is mind-opening to think back on the origin of these wild ideas from 50 years ago. Ohno’s 1970’s book on gene duplications was reviewed in *Science* and was completely trashed. Only 30 years later, when more genetic sequences became available, could my lab show that gene and genome duplications really are as prominent mechanism for the evolution of novel gene functions as Ohno proposed. Ohno had to use circumstantial evidence and tiny datasets that by today standards are laughable, and extrapolated to develop completely novel hypotheses. Maybe science back then was more open to speculation? It would seem so,

since nowadays, reviewers often request to tone down bold ideas.

Ohno, was a “colorful” and multitalented person (for example, he rode horses for dressage). People like him are rare and inspirational. For me, it is important to try to understand how my heroes thought and reached conclusions and insights. Ernst Mayr, who has been a life-long mentor to me, but also Wilson and Ohno surely belong into this category. Obviously, we all stand on the shoulders of giants and can hope to build on their insights and accomplishments. This seems to be forgotten by some in the younger generation, who don’t know and don’t seem to appreciate what the previous generations achieved.

Q - In the EMBO workshop, you presented data from the Australian lungfish, the biggest genome assembled to date (43 Gigabases). Can you say something about the caveats of this project?

R - We obtained funding to sequence the genomes of three lungfish species. The first of those, the Australian lungfish genome, was sequenced with nanopore sequencing technology and we were lucky to team up with Siegfried Schloissnig and Elly Tanaka, who had expertise in assembling and analyzing giant genomes, as they recently did for the axolotl. My job in this project was, together with Manfred

Schartl, to coordinate and assemble the team and to write the paper. Manfred and I were also part of the team that published the genome of the coelacanth in 2013. The coelacanth is another old friend of mine since I was the first to sequence lungfish and coelacanth DNA during my postdoc, to find out which of these two lineages is our closest living relative.

We decided to go first with the Australian lungfish, which still develops fins, and resembles more the ancestral species than the other two living lungfish lineages.

Q- You are an active science communicator. What is the impact that internet and social media had in how we communicate science?

R- I feel that scientists have some obligation to bring back information to the taxpayer who funded the research. That is why I wrote a weekly newspaper column for 5 years, a popular science book and recorded lectures on evolution for a German newspaper. Now I am planning a podcast. Social media are a different beast; they brought good as well as really bad things. Social networks, like Twitter, are useful, but the format is too short with only 280 characters to have sincere exchanges and discussions. Lately, it has become a nasty political battlefield and I, as most of my senior colleagues, am not

longer on Twitter, leaving it - for better or worse - to young activists. Social media is only good if you manage to effectively filter information and budget your time. My perception is that students spend too much time on them. If you have many more followers on Twitter than citations on Google Scholar maybe you need to rethink why you are in science and how effectively you are spending your time.

Obviously, everybody is overwhelmed by information and papers. In the early 1990s, Genbank would physically send us the latest versions on floppy disks! 40 years ago, during my PhD, we would mail “reprint request cards” to obtain physical copies of papers. We would go to the library every Monday to check the table of contents of the new journals and request copies from the authors. Now all the world’s information (at least that version that is on the internet) is at the tips of your fingers. But I would argue that, despite the access to an overwhelming amount of information, you still need to know the history of your field. Only if you know what the contributions of your intellectual ancestors was, you can begin to understand them in the context of their time (think of Ohno weighting paper to come up with the idea of WGD!).

There are only a few societies that can afford people like us, investigating the

basic questions of life. Apparently, anew we need to emphasize rational thinking and celebrate and defend the progress that was made during the enlightenment. Arguments and facts are all that should count and not who says it or who found it – in science, facts are and should be blind to the color of the skin of the person who advances them. The current political climate and the culture on social media, appear to be a step backwards – this is not progress (however defined), but regress into a mob-mentality that sorts human by the color of their skin. I had thought and hoped that we had moved beyond this type of tribalism.

Q - One last question. What would be your advice for the next generation of evolutionary biologists?

R - Start early, work hard to the best of your abilities.

There is not one path that will work for everyone. Here is mine: I am the first of my family to finish high school. My parents lost everything in the war and my father grew up in a refugee camp. I was very lucky to grow up in an intact family with parents that encouraged the education for their children that they never had. Also, to be born in Germany, a country that can and wants to support the education of children from socially disadvantaged

backgrounds. My second big break was the Fullbright Fellowship that permitted me to go to USA. Still in my first semesters at Berkeley, I did not have enough money and spent nights cleaning travel agencies and their toilets since my parents could not help me financially.

Of course, it is to some degree a matter of luck who you meet or interact with during your career. Some of these academic heroes are beacons that led my life. The grandfather of a childhood friend was a beetle expert – so I started to collect insects. Later, I befriended a veterinarian who kept many fish and reptiles – so I had 80 fish tanks when I was in college. When I was 24, I met Ernst Mayr and stayed friends with him until his death in 2005. And I am still friends with his daughters who are in their 80s. He was a grandfatherly mentor who told me that I should go back to Germany – so I did. My “Doktormutter” Marvalee Wake is still a friend and I visit her in Berkeley as often as I can and I speak to her regularly. Many of my friends are from college, high school and even grammar school. Friendship and loyalty are important to me.

I see my job as supervisor to facilitate and support the intellectual and professional growth of my students. I am very happy and proud of their successes – almost 50 of whom are now professors

themselves on all continents including Africa and South America. But all I can try to do as PI is to provide the best I can. In the end, the students have to grab the opportunity themselves. So, if you know that you want to be a scientist, and you are allowed to follow that path, you should take advantage of it. But also, be grateful for the chance society has given to you (never forget that taxpayers pay for your fun and opportunity to find out new things). In my thinking it's a privilege, not a right, to work in basic sciences, since people with "real" jobs make your situation possible through their taxes (during high school, I worked in factories and know how it feels like to work against the clock on an assembly line). This does not happen in every country, so you should consider yourself lucky if you are in that privileged situation.

It is also important to find people that inspire you. I still remember when I met Mrs. Marjorie Courtenay-Latimer. When I was 16, I read a book about how she discovered the first living coelacanth in South Africa. When I had the opportunity to meet her in 2002, it was the fulfillment of a dream: meeting this legend who changed the course of scientific history and my personal one as well, since I was the first to sequence DNA from a coelacanth. I have a photograph with her in my office as also the other heroines Marvalee Wake, Ethelwynn Trewavas and Rosemary Lowe-McConnell. Their enthusiasm for and dedication to science is something that I always remember and cherish. Science is made by individuals, none of whom are perfect saints. That is something we should never forget.

Entrevista a Cristian Cañestro, Ricard Albalat y Alfonso Ferrández- Roldán *(Universitat de Barcelona)*

Entrevista realizada por Isabel Almudí, Investigadora Beatriz Galindo en la Universitat de Barcelona

El pasado mes de noviembre, el grupo de investigadores liderado por el Dr. Cristian Cañestro, de la Universitat de Barcelona, publicó en la revista *Nature* el trabajo titulado “Cardiopharyngeal deconstruction and ancestral tunicate sessility” (Ferrández-Roldán et al. 2021). El laboratorio del Dr. Cañestro utiliza como modelo el tunicado *Oikopleura dioica*, para tratar de entender la evolución de los cordados. En este trabajo, que además ha sido destacado como portada de la revista, el equipo muestra la importancia de las pérdidas génicas en adaptaciones a la vida libre de estos organismos del grupo apendicularia y revela que el ancestro común a todos los tunicados debió tener un ciclo de vida con una fase sésil. Nos hemos reunido con ellos para que nos cuenten acerca de los hallazgos del artículo y sus líneas de investigación con este modelo.



Figura 1. Portada del número de la revista *Nature* en el que se publicó el trabajo de Ferrández-Roldán et al. (2021).

P: ¿Cuáles son los principales hallazgos de vuestro trabajo?

CC: Principales hallazgos hay dos: El primero relacionado con la evolución de los cordados tunicados y el segundo que tiene que ver con el hecho de que la pérdida génica forme parte de este núcleo de procesos evolutivos, ya que hasta el momento las pérdidas génicas se habían considerado algo residual.

Tenemos que tener en cuenta la historia de lo que sabíamos acerca de los cordados. Antiguamente, bajo las influyentes hipótesis de Garstag de la década de los 20, pensábamos que los tunicados eran basales y los cefalocordados y vertebrados grupos hermanos a éstos. En esta situación se planteó, teniendo el estilo de vida en cuenta, que el ancestro a todos ellos era de vida sésil con una fase larvaria móvil y a partir de un proceso neoténico de dicha larva móvil, aparecen los ancestros de los cefalocordados y vertebrados, siendo una evolución derivada de la fase larvaria.

Todo esto cambia cuando en la primera década del siglo XXI la filogenómica aclara que los tunicados son el grupo hermano de los vertebrados y los cefalocordados son de hecho el *outgroup* que diverge de forma basal en los cordados. Ahora la forma más plausible es que el ancestro de todos ellos tiene vida nata-

ria, que se mantiene en cefalocordados y vertebrados. Respecto a tunicados hay dos posibilidades, los que tienen doble vida como las ascidias, los tunicados más conocidos, -con fases adulta sésil y larvaria móvil-, y los apendicularios, que tienen siempre vida libre. Quizás la forma ancestral también tiene la vida libre y las ascidias han adquirido la vida sésil. La pregunta es pues, cómo era el ancestro de los tunicados. Al contrario de lo que esperábamos, el escenario no es el más plausible, sino que los datos apuntan a que el tunicado ancestro tenía una fase doble sésil y móvil como las ascidias actuales y que los apendicularios han evolucionado hacia un ciclo con fase únicamente móvil, es decir, que han perdido la fase sésil en su ciclo vital.

P: ¿Las ascidias no tienen tanta pérdida génica como los apendicularia?

CC: Todos los tunicados tienen una alta tasa de pérdida génica, aunque en los apendicularia es más extrema incluso. Todos los tunicados son divergentes, tienen una tasa evolutiva muy elevada y eso implica que muchos genes se van perdiendo y también otros van apareciendo, y en el caso de apendicularia, una de las familias de genes que se han perdido es la que comprende los genes de reparación del DNA por recombinación no homóloga (*Non-homologous end joining*, NHEJ),

con lo cual seguramente se aceleran estas tasas evolutivas y de pérdida de genes.

RA: *Oikopleura* tiene una evolución genómica especial. No sólo tiene una alta tasa de pérdida de genes, sino que los genes que no se han perdido son altamente divergentes, con múltiples cambios en sus secuencias. Todavía no tenemos claro si es común a todos los apendicularios; ahora con los nuevos genomas secuenciados de las otras especies podremos empezar a estudiar si esto es una peculiaridad de esta especie o general de todo el grupo.

P: ¿Cómo comenzó esta línea de investigación?

CC: Las primeras pérdidas génicas que detectamos fueron las de los genes involucrados en la vía del ácido retinoico, pero en aquel momento no pudimos demostrar que, pese a que las enzimas encargadas de su producción no estaban presentes, no hubiera una vía alternativa que diera lugar al ácido retinoico, ya que en vertebrados hay otras enzimas alternativas que también se han postulado como enzimas productoras de ácido retinoico, así

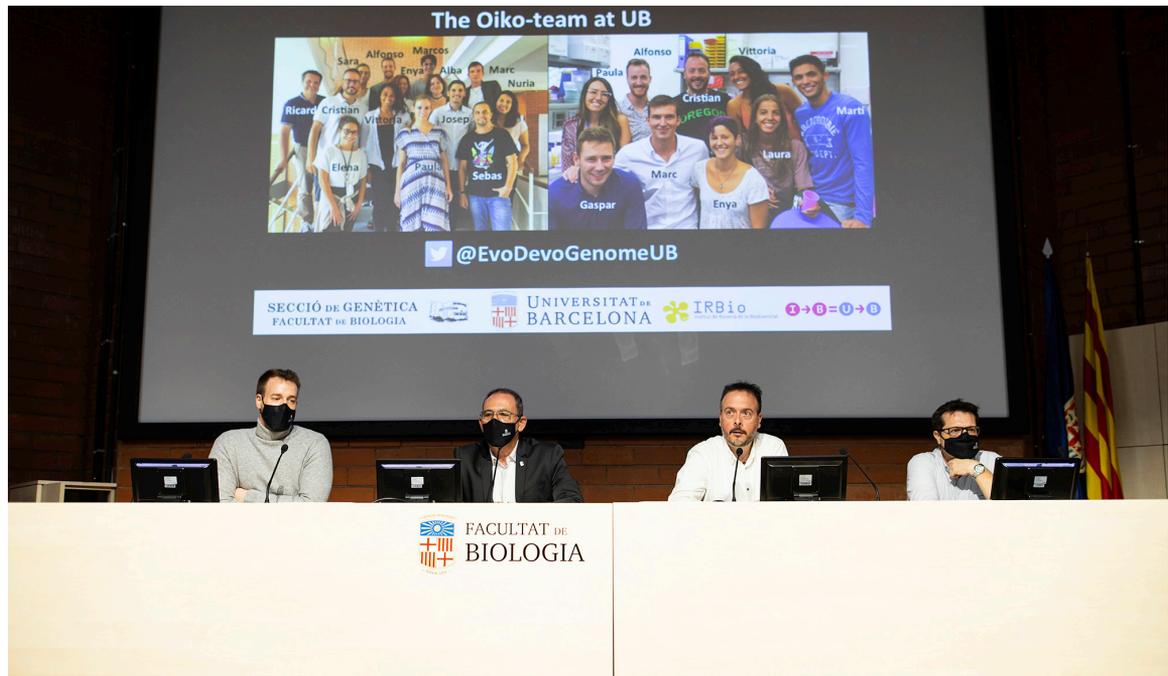


Figura 2. Parte del equipo que ha realizado el trabajo. De izquierda a derecha: Alfonso Ferrández, Jordi Garcia-Fernàndez, Cristian Cañestro y Ricard Albalat.

que en ese momento no pudimos dar una respuesta. Esto ocurrió cuando yo todavía trabajaba en USA. Ya aquí en Barcelona, en la tesis de Josep Martí-Solans, mostramos que no sólo faltan las enzimas que lo producen sino que no hay ácido retinoico. Esto fue muy impactante, dado que se había sugerido que el ácido retinoico era necesario para la aparición y evolución de los cordados, y en ese momento encontrábamos un cordado que no tenía ácido retinoico. A partir de ahí, fuimos “tirando del hilo” y buscando otras vías de señalización relacionadas con el ácido retinoico, como las vías de *Fibroblast Growth Factor* (FGF) y *wingless* (Wnt). Esto es un proyecto en el que todavía estamos trabajando, pero efectivamente, también encontramos numerosas pérdidas génicas de FGFs y Wnts.

P: ¿Y este proyecto en concreto?

CC: En el año 2014/2015, Alfonso comienza su TFG en el laboratorio y aparece un nuevo artículo que nos da pie a plantear el proyecto que llevará a cabo durante su estancia con nosotros. La hipótesis clásica, *New head hypothesis*, propone que todas las estructuras derivadas de las placodas (engrosamientos del ectodermo de la cabeza embrionaria que dan origen a las neuronas y otras estructuras del sistema nervioso sensorial) y la cresta neural (grupo temporal de células exclusivas

de los vertebrados que surgen de la capa germinal del ectodermo embrionario) eran las que iban a formar la cabeza de los vertebrados, -con importantes implicaciones en el origen y evolución de dichos vertebrados y su estilo de vida. En este nuevo artículo se proponía *The new heart for a new head hypothesis* (Diogo et al. 2015), el cual ponía de manifiesto no sólo la importancia de la cabeza, sino también la importancia de un nuevo corazón, es decir, la red cardio-faríngea. En este trabajo describían cómo el origen del corazón en ascidias y vertebrados es el mismo. Hay un conjunto de células multipotentes que forman parte de la musculatura y que se separan de la musculatura axial y migran hacia la zona anterior donde darán lugar al corazón y la musculatura del cuello y facial en vertebrados y en ascidias dará lugar al corazón y a la musculatura de los sifones. Con lo que se demostraba que la musculatura de los sifones y la musculatura de la cabeza/cuello son homólogas y que el desarrollo del corazón ha sido esencial para el estilo de vida de los vertebrados. Por tanto, entender la evolución cardio-faríngea era esencial para entender cómo había sido la evolución al estilo de vida libre de los vertebrados. De ascidias sabíamos bastante, pero en *Oikopleura* no se conocía prácticamente nada. Por tanto, el reto de Alfonso al unirse al laboratorio fue comenzar a describir dónde, cómo y cuándo se formaba el corazón en *Oikopleura*.

Por otro lado, ese año la temática de la Marató de TV3 era sobre el corazón y enfermedades cardiacas, lo cual nos dio una serie de información sobre genes implicados en cardiomiopatías que podían estar también involucrados en el desarrollo del corazón en *Oikopleura*. La búsqueda e identificación de estos genes en el genoma de nuestro modelo nos sirvió de acicate para querer profundizar en el desarrollo de este órgano en apendicularia y establecer *Oikopleura* como modelo para estudiar estos genes cuya mutación promueve la aparición de enfermedades cardiacas.

RA: El hecho de que, pese a que ha perdido muchos genes, *Oikopleura* ha conservado una gran cantidad de genes estructurales como, por ejemplo, los presentes en la formación del sarcómero (la unidad anatómica y funcional del músculo estriado) nos permitía hacer este tipo de estudios, con la ventaja además de que los genes se encuentran ahí, pero el proceso es mucho más simplificado, y por tanto más fácil de estudiar y entender.

CC: Comenzamos con un estudio anatómico en las distintas fases para posteriormente pasar a un estudio mediante marcadores moleculares. Nuestra sorpresa surgió cuando, tratando de buscar genes conocidos cuya actividad es esencial en la formación del corazón, como el gen *Mesp*, no los encontramos. Esto ocurrió

con varios genes importantes y con otros lo que ocurrió es que sí que éramos capaces de encontrarlos en el genoma, pero a la hora de mirar dónde se expresaban, veíamos que se expresaban en tejidos que nada tenían que ver con el corazón y su desarrollo. Además, en aquel momento se publican los genomas de otras siete especies de apendicularia, que nos permite comprobar que estos genes no se encuentran en ninguna de las especies secuenciadas, así que estas pérdidas no se tratan de una rareza de *Oikopleura*, sino que es un evento común a todos los apendicularia. La hipótesis es que después de la separación de ascidias y apendicularia hubo una pérdida masiva de genes involucrados en el sistema cardio-faríngeo y que ha afectado la evolución de este linaje; la pregunta es, pues, cómo se ha visto afectado.

Observamos que en *Oikopleura* las decisiones celulares ocurren antes en el tiempo, además, la expresión de los genes terminales es muy temprana, con lo cual, lo que observamos es que hay una aceleración en la especificación cardiaca y una simplificación en el número de células. Esto puede deberse a una adaptación a la vida libre, ya que *Oikopleura* necesita un corazón funcional más rápidamente que una ascidia. La simplificación también se evidencia en el número de tipos de musculatura cardiaca y faríngea en *Oikopleura*, que es menor que en ascidias. Por úl-

timo, en ascidias el corazón es tubular y, sin embargo, en *Oikopleura*, el corazón es laminar. En conjunto, estas pérdidas génicas pueden ser de carácter adaptativo o regresivas para dar lugar al corazón que permite la vida libre a *Oikopleura*. Por tanto, vemos que las pérdidas génicas han promovido la vida libre en apendicularia y que el ancestro de los tunicados era de vida sésil.

La visión antropocéntrica a veces nos permite pensar que pérdidas génicas pueden suponer una ventaja, o ser adaptativas, y siempre pensamos que ganar genes o complejidad es beneficioso; nuestro trabajo demuestra que esto no siempre es así, y que en ocasiones simplificar o perder genes puede ser beneficioso.

P: ¿Qué impacto creéis que va a tener esta publicación?

CC: En general, primero, pone la pérdida génica encima de la mesa, y pone de relieve que es un evento que no podemos obviar en el contexto evolutivo. En las próximas décadas vamos a tener los genomas de todos los animales del planeta, estudiando la pérdida génica en varios linajes, podemos obtener respuestas a muchos procesos conservados en dichos grupos.

Además, hemos introducido el término “deconstruir”, usado en otras ramas de la

humanidad, como la gastronomía. Aplicado a la Biología Evolutiva, proponemos que el estudio de pérdidas de genes en el contexto de la deconstrucción de redes génicas puede facilitar la identificación de módulos esenciales mediante el estudio de los genes individualmente, cuáles están presentes o ausentes y cómo eso influye en el conjunto. Por último, que el ancestro de tunicados sea sésil, nos hace replantear cómo era el ancestro común de los vertebrados.

Además, a nivel del laboratorio ha sido una gran inyección de moral para todos. Este estudio es el trabajo doctoral de Alfonso, con lo cual nos da confianza en seguir con las líneas de investigación que llevamos a cabo en el laboratorio y nos demuestra el talento que hay en nuestros estudiantes de doctorado.

RA: El impacto adaptativo de las pérdidas génicas es algo que antes era im- planteable, y siempre se circunscribía a pérdidas regresivas. Nosotros, ya desde la revisión que escribimos (*Evolution by gene loss*; Albalat y Cañestro 2016), pusimos de relieve la importancia de la pérdida génica; no obstante, faltaban casos concretos y ejemplos que mostrasen estas ideas. Nuestro trabajo demuestra, mediante un ejemplo muy bonito, cómo algunos genes se han perdido y cómo esto se relaciona con adaptaciones a nuevos estilos de vida.

AF: De hecho, el poder ver por primera vez un ejemplo claro de pérdidas génicas adaptativas ha sido muy satisfactorio, dado que al principio hasta a nosotros nos costaba creerlo. Ha sido un proceso de toda la tesis con un final muy reconfortante. En general toda la trayectoria de la tesis doctoral ha sido muy satisfactoria para mí, pero es cierto que en ocasiones ha sido un tanto frustrante al no encontrar los genes que estábamos buscando, así que el poder terminarla con la publicación en *Nature* y que sea portada de la revista, resulta muy gratificante.

P: ¿Qué planes tienes, Alfonso, a partir de ahora?

AF: Ayer me enteré de que me han concedido una beca postdoctoral “Margarita Salas”. Así que el año que viene comenzaré el postdoc. Quiero continuar en el mismo tema, así que en el grupo del Dr Héctor Escrivà en Banyuls (Francia), trataré de realizar estudios funcionales de los genes implicados en la formación del corazón en *Oikopleura*. Para ello realizaré mutagénesis y silenciaré alguno de los genes para ver qué ocurre con el desarrollo del órgano en estas condiciones. Hasta el momento sólo hay una publicación usando CRISPR/Cas9 para estudiar el proceso

de NHEJ, además de varios trabajos usando DNA de interferencia. Mi proyecto postdoctoral tratará de usar estas técnicas para profundizar en el estudio del corazón en *Oikopleura*.

RA: Estas técnicas serán muy útiles para futuros proyectos. Siempre hemos pensado que manipular *Oikopleura* es esencial para estudiar ciertos procesos, pero poner a punto estas técnicas es laborioso. Además, la comunidad de *Oikopleura* es pequeña, así que somos pocos los laboratorios, -de momento- los que estamos dedicando recursos para poner a punto estas técnicas de manipulación génica.

RA: Me gustaría destacar que este trabajo lo ha hecho Alfonso realizando su tesis y también varios estudiantes realizando sus trabajos de fin de grado y fin de máster. Esto demuestra la precariedad con la que estamos trabajando y no es por elección propia, no hay alternativas de financiación, así que hay que poner en valor el trabajo que hacemos en la universidad y otros centros públicos y hacer un llamamiento para que haya una financiación mejor y más estable que permita contratar a gente joven y con talento que, sin dicha financiación, deben buscar otros países donde realizar sus carreras científicas.

- Ferrández-Roldán, A., Fabregà-Torres, M., Sánchez-Serna, G., Duran-Bello, E., Joaquín-Lluís, M., Bujosa, P., Plana-Carmona, M., García-Fernández, J., Albalat, R., y Cañestro, C. 2021. Cardiopharyngeal deconstruction and ancestral tunicate sessility. *Nature* 599: 431-435.
- Diogo, R., Kelly, R.G., Christiaen, L., Levine, M., Ziermann, J.M., Molnar, J.L., Noden, D.M., y Tzahor, E. 2015. A new heart for a new head in vertebrate cardiopharyngeal evolution. *Nature* 520: 466-473.
- Albalat, R., y Cañestro, C. 2016. Evolution by gene loss. *Nature Reviews Genetics* 17: 379-391.

First Pere Alberch prize to the best PhD thesis from the Spanish Society of Evolutionary Biology

SESBE would like to congratulate the First Pere Alberch Prize winners, Sara Martín Hernanz and Verónica Mixão, and finalist, Alfonso Ferrández-Roldán. These three young researchers received their prizes during the last SESBE meeting in Vigo. This included conferences by the two ex-aequo winners, Sara Martín Hernanz and Verónica Mixão, where they presented their PhD work. The winners and finalist were selected by a panel of experts in the field from the nineteen applications that the society received.

Evolutionary history of the Palearctic genus *Helianthemum*

Sara Martín Hernanz *Universidad de Sevilla*

Evolutionary radiations are responsible for much of the diversity on Earth, but the mechanisms leading to their rapid diversification are not always clear. Ascertaining phylogenetic relationships among taxa is central to understand diversification patterns as well as to reconstruct the evolution of niches and traits. However, reconstructing the relationships of closely related lineages is a challenging task because of methodological (e.g. lack of

resolution in specific DNA regions) and biological reasons (e.g. incomplete lineage sorting or gene flow among incipient lineages) (Martín-Hernanz et al. 2019a). The genus *Helianthemum*, whose centre of diversity is located in the Western Mediterranean area, is the most diverse (ca. 100 species) and widespread of the family Cistaceae, ranging from Macaronesia to central Asia throughout the Mediterranean, Saharo-Arabian e Irano-Turanian

Floristic Regions inhabiting a diversity of habitats from subtropical xerophytic to alpine environments (Aparicio et al. 2017, Martín-Hernanz et al 2019a, 2021a). The species differ in life form and flower traits intimately related to mate and breeding system (from self-incompatibility to complete selfing by cleistogamy) and its complex systematic and taxonomy is supposedly due to a rapid and recent diversification (Martín-Hernanz et al. 2021b). In this thesis, molecular data (DNA regions based on Sanger sequencing, Genotyping by sequencing and microsatellites) is combined with biogeographical, environmental and morphological information in order to reconstruct the evolutionary history of the genus *Helianthemum* and infer the macro and microevolutionary processes that have led to the species-rich diversity of this lineage. The most recent common ancestor of genus may have occurred in the Mediterranean Northern Africa during the Middle Miocene, and its evolution has probably entailed three evolutionary radiations co-

responding to its three largest sections (*Eriocarpum*, *Pseudocistus* and *Helianthemum*) (Martín-Hernanz et al 2019a, 2021a). These radiations may have been initially driven by the paleo-climatic and geological events that impacted the Mediterranean Basin during the last 6 Mya (Martín-Hernanz et al. 2021a), and maintained by recent events of hybridization, convergence, isolation by distance and local adaptation, whilst strong environmental niche and floral conservatism may have prevailed along its rapid diversification (Albaladejo et al. 2021, Martín-Hernanz et al 2019b). Overall, the robust spatio-temporal framework of the genus *Helianthemum* here retrieved represents a window into the past biogeography of the Mediterranean Basin, and highlights the essential role played by this area as a cradle of diversity and an evolutionary hub, facilitating transitions between environmental niches and contributing to the building up of this important biodiversity hotspot on the Earth (Martín-Hernanz et al. 2021a).

References

- Albaladejo R.G., Martín-Hernanz S. et al. 2021. Reconstruction of the spatio-temporal and ecological patterns of dispersal and diversification of *Helianthemum* sect. *Helianthemum* (Cistaceae) in the Canary Islands using Genotyping by Sequencing data. *Annals of Botany* 127: 597–611.
- Aparicio A, Martín-Hernanz S. et al. 2017. Phylogenetic reconstruction of the genus *Helianthemum* (Cistaceae) using plastid and nuclear DNA-sequences: systematic and evolutionary inferences. *TAXON* 66: 868–885.
- Martín-Hernanz S. et al. 2019a. Maximize Resolution or Minimize Error? Using Genotyping-By-Sequencing to Investigate the Recent Diversification of *Helianthemum* (Cistaceae). *Frontiers in Plant Science* 10: 1416.
- Martín-Hernanz S. et al. 2019b. Genetic diversity and differentiation in narrow versus widespread taxa of *Helianthemum* (Cistaceae) in a hotspot: The role of geographic range, habitat, and reproductive traits. *Ecology and Evolution* 9: 3016–3029.
- Martín-Hernanz S et al. 2021a. Biogeographic history and environmental niche evolution in the Palearctic genus *Helianthemum* (Cistaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 163: 107238.
- Martín-Hernanz S. et al. 2021b. Systematics implications upon a robust species and subspecies-level phylogenetic reconstruction of the genus *Helianthemum* (Cistaceae) based on GBS data. *Anales del Jardín Botánico* 78: e113.

Hybridization in *Candida* yeast pathogens

Verónica de Pinho Mixão *Universitat Pompeu Fabra*

Candida species represent a serious burden for human health, especially in the clinical setting where multiple outbreaks have been reported. Although most *Candida* infections are caused by a well-known set of species, new pathogenic lineages are emerging, leading to a worrisome shift in the epidemiological scenario. How pathogenicity is evolutionary acquired is still unknown but previous studies suggest that hybridization plays an important role in its development (Mixão and Gabaldón, 2018). This thesis aimed to get a better understanding of the role of hybridization in the emergence of pathogenicity in *Candida* species. Specifically, it asked the questions of how spread are hybrids among these species, and what are the processes that drive the evolution of their genomes. Therefore, it comprised a thorough evolutionary genomics investigation, including the comparative analysis of genomes of pathogenic and non-pathogenic *Candida* isolates. Importantly, this corresponded to the first genomic analysis for some of the analyzed species, which resulted in the first genome assembly, annotation and phylome reconstruction for nine of them, thus representing a valuable resource for future studies (Mixão et

al. 2019, 2021a, 2021b). Moreover, it relied on the application and development of original and innovative bioinformatics approaches to the investigation of hybrid genomes, contributing, for example, to the conceptual design and development of HaploTypo, a novel tool to perform variant calling on phased references (i.e., containing both haplotypes of a hybrid/diploid genome) (Pegueroles et al. 2020).

The results of this doctoral project clearly demonstrate that hybrids are widespread among *Candida* species (Mixão et al. 2021a, 2021b). Notably, they showed compelling evidence for the hybrid nature of *Candida albicans*, the major cause of *Candida* infections in humans (Mixão and Gabaldón 2020). This finding has critical implications for our understanding of the evolution of this important pathogen, including the loss of the sexual cycle, the origin of the association with humans, and the evolution of virulence traits. The factors underlying this apparent high propensity of *Candida* species for hybridization are yet to be understood. However, the results of this thesis also indicate that these hybrids only face mild genomic incompatibilities, and that drift dominates their genomic evolution.

Overall, this study supports an important role of hybridization in the emergence of new yeast pathogens and provides novel insights on the evolutionary aftermath of hybridization. This doctoral work certainly paves the way for future studies in the field, having an important relevance both from an evolutionary biology and a public health perspective.

References

- Mixão V., Gabaldón T. 2018. Hybridization and emergence of virulence in opportunistic human yeast pathogens. *Yeast* 35: 5-20.
- Mixão V. et al. 2019. Whole-Genome Sequencing of the Opportunistic Yeast Pathogen *Candida inconspicua* Uncovers Its Hybrid Origin. *Frontiers in Genetics* 10: 383.
- Mixão V., Gabaldón T. 2020. Genomic evidence for a hybrid origin of the yeast opportunistic pathogen *Candida albicans*. *BMC Biology* 18(1): 48.
- Mixão V. et al. 2021a. Extreme diversification driven by parallel events of massive loss of heterozygosity in the hybrid lineage of *Candida albicans*. *Genetics* 217(2): iyaa004.
- Mixão V. et al. 2021b. Genome analysis of *Candida subhashii* reveals its hybrid nature and dual mitochondrial genome conformations. *DNA Research* 28: dsab006.
- Pegueroles C., Mixão V., Carreté L. et al. 2020. HaploTypo: a variant-calling pipeline for phased genomes. *Bioinformatics* 36: 2569-2571.

Deconstruction of the cardiopharyngeal gene regulatory network in appendicularians, a paradigmatic study of *Oikopleura dioica* as an evolutionary knockout model

Alfonso Ferrández Roldán *Universitat de Barcelona*

A central question in chordate evolution is the origin of sessility in adult ascidians, and whether the appendicularian complex free-living style represents a primitive or derived condition among tunicates (Satoh, N., 2016). According to the ‘a new heart for a new head’ hypothesis, the evolu-

tion of the cardiopharyngeal gene regulatory network appears as a pivotal aspect to understand the evolution of the lifestyles of chordates (Diogo, R. et al., 2015, Razy-Krajka, F. & Stolfi, A., 2019, Stolfi, A. et al., 2010). In this thesis, we show that appendicularians experienced massive an-

cestral losses of cardiopharyngeal genes and subfunctions, leading to the ‘deconstruction’ of two ancestral modules of the tunicate cardiopharyngeal gene regulatory network. In ascidians, these modules are related to early and late multipotency, which is involved in lineage cell-fate determination towards the first



Figura 1. De izquierda a derecha, las ganadoras ex aequo Verónica Mixão y Sara Martín, y Jordi García en representación de Alfonso Ferrández, premio accésit, Toni Gabaldón e Isabel Almodí.

and second heart fields and siphon muscles. This thesis shows that the deconstruction of the cardiopharyngeal gene regulatory network involved the regressive loss of the siphon muscle, supporting an evolutionary scenario in which ancestral tunicates had a sessile ascidian-like adult lifestyle. In agreement with this scenario, the findings of this thesis also suggest that this deconstruction contributed to the acceleration of cardiogenesis and the redesign of the heart into an open-wide laminar structure in appendicularians as evolutionary adaptations during their transition to a complete

pelagic free-living style upon the innovation of the food-filtering house Mikhaleva, Y. et al., 2018).

Therefore, the results included in this thesis show *O. dioica* as a paradigmatic example of the advantages of using species that along their evolution have lost many genes (evolutionary knockout models) to better understand the evolution of gene regulatory networks, mechanisms of embryo development, or any physiological adaptation in the absence of any given gene of interest.

References

- Diogo R. et al. 2015. A new heart for a new head in vertebrate cardiopharyngeal evolution. *Nature* 520: 466–473.
- Mikhaleva Y. et al. 2018. Development of the house secreting epithelium, a major innovation of tunicate larvaceans, involves multiple homeodomain transcription factors. *Dev. Biol.* 443: 117–126.
- Razy-Krajka, F. y Stolfi, A. 2019. Regulation and evolution of muscle development in tunicates. *Evodevo* 10: 1–34.
- Satoh, N. 2016. in *Chordate Origins and Evolution* (ed. Satoh, N.) 17-30, Academic.
- Stolfi, A. et al. 2010. Early chordate origins of the vertebrate second heart field. *Science* 565: 565–569.

Resumen del congreso SESBE VIII (2-4 febrero 2022) en Vigo

Los pasados días 2 a 4 de febrero pudimos disfrutar de un nuevo congreso de la SESBE en la ciudad de Vigo. El evento puede considerarse un éxito del conjunto de la comunidad evolutiva por varias razones. Primero, por celebrarse en condiciones de pandemia, y en una situación que más bien no animaba a viajar ni a relacionarse. Segundo, y como viene siendo habitual en las convocatorias de este tipo de congresos, por la gran calidad científica de sus presentaciones. Y, finalmente, porque la tasa de participación en las comunicaciones fue prácticamente igualitaria entre hombres y mujeres, algo que además se produjo de forma natural, sin necesidad de buscarlo deliberadamente, fruto a nuestro entender de que al menos en nuestro ámbito parece que poco a poco están reducién-

dose los sesgos sexistas históricos. En definitiva, al congreso asistieron alrededor de 160 personas (165 inscritos, aunque alguno no pudo venir a última hora; véase la figura 1) de los cuales el 47% fueron mujeres, las cuales representaron el 51% de las comunicaciones orales (invitadas aparte). Si atendemos a los datos por regiones, la participación de las comunicaciones estuvo también bastante dispersa a lo largo de la geografía española, con gran presencia de investigadores de Madrid, Barcelona, Valencia, Sevilla, Málaga, Granada, y, por cercanía, La Coruña y Vigo, entre otras. Como ya conocen todos los asistentes, se intentó (aunque no siempre se consiguió) que al menos hubiese una presentación oral por grupo de investigación. Una vez más pedimos disculpas a aquellos que no hayan podi-



Figura 1. Imagen de los asistentes al SESBE VIII en Vigo el día 3 de febrero.

do presentar su comunicación en el formato deseado, pero a menudo el éxito de convocatoria lleva parejo ciertos problemas asociados inevitables. Debajo de estas líneas se incluyen unas pocas fotos donde se puede apreciar las instalaciones del hermoso centro de Afundación, tanto para las sesiones ordinarias de conferencias orales (figura 2a) como para los coffee-breaks y sesiones de pósters (figura 2b). En la última imagen se pueden observar la entrega de los premios a los

mejores pósters (figura 2c), ya que la entrega de los premios Pere Alberch ya ha sido descrita en un artículo previo de este número.

Como los asistentes a la asamblea ya sabéis, el próximo congreso de la SESBE se celebrará en Málaga, una hermosa ciudad andaluza en la costa del mediterráneo. El Congreso será organizado por Antonio Flores (Universidad de Málaga), con su respectivo comité organizador (a detallar en



Figura 2. A) Imagen del auditorio B) Vista parcial de una de las salas de coffee-break y de presentación de los pósters en paneles. C) Momento de la entrega de los premios a los mejores pósters: de izquierda a derecha, Ricarda Riina (vocal SESBE), Adara Velasco (3^{er} premio), Bárbara Freitas (2^º premio), Gemma Martínez Redondo (1^{er} premio), y Borja Milá (secretario SESBE).

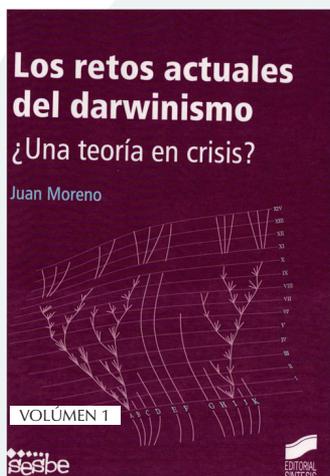
futuros números de esta revista). Con objeto de cumplir plazos bianuales, y teniendo en cuenta que para muchos de los participantes febrero coincide con un momento académico con menor carga en la docencia, será probablemente en ese mes (2024) cuando se celebre. En próximos números se dará información más detallada sobre la próxima organización de SESBE IX.

Como ya os habíamos indicado, algunas de las conferencias del congreso se han grabado en vídeo, ver: <https://tv.uvigo.es/series/62177d65a33c-0658f9730d53> Este link se puede difundir libremente.

Fdo. Emilio Rolán-Alvarez, *en representación del comité organizador*

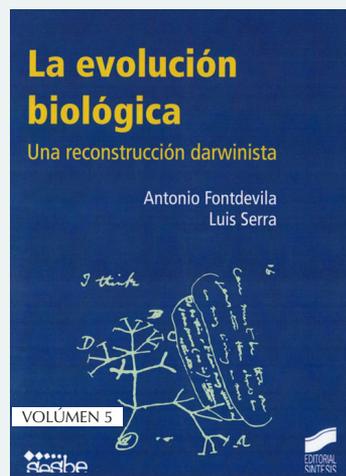
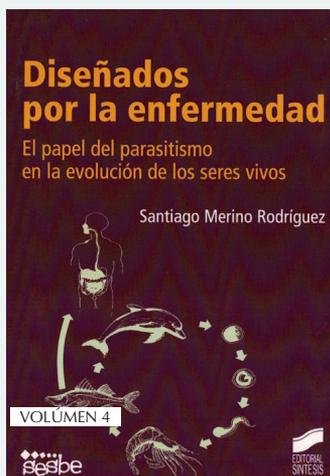
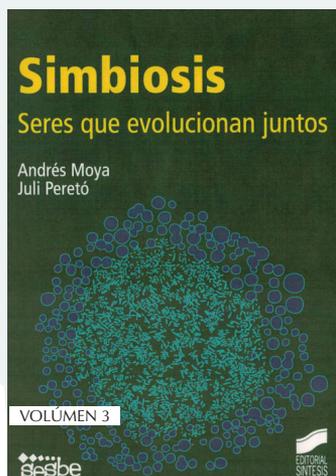
Libros de la colección SESBE

25% de descuento al comprar el lote de cinco títulos
Volúmenes del 1 al 5



Lote de 5 títulos
SOCIOS
49€*
Volúmenes del 1 al 5

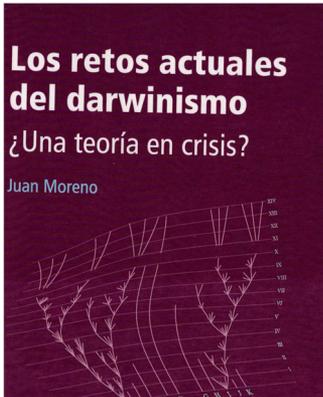
Lote de 5 títulos
82,50€**
Volúmenes del 1 al 5



*Lote Socios: Volúmenes 1 al 5 (25% de descuento adicional) + gastos de envío = 55€

**Lote no socios: Volúmenes 1 al 5 (25% de descuento adicional) + gastos de envío = 88,50€
(Abonar en la cuenta de la SESBE al hacer la solicitud)

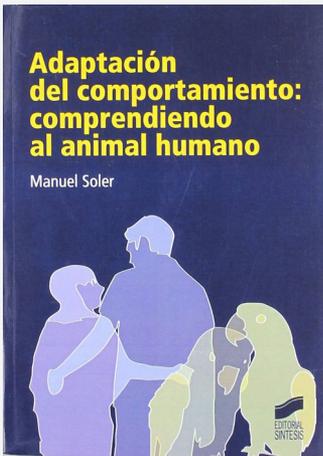
Para hacer un pedido contacta con Borja Milá: b.mila@csic.es



Volumen 1. En los últimos tiempos se ha propagado en los círculos científicos la idea de que la teoría de Darwin sobre evolución por selección natural ha perdido actualidad y vigencia, y de que existen paradigmas alternativos más adecuados. En Los retos actuales del Darwinismo ¿Una teoría en crisis?, Juan Moreno Klemming discute estos paradigmas y concluye que esta percepción no se basa en las últimas evidencias aportadas por la paleobiología, biología molecular y ecología resaltando la rabiosa actualidad del único mecanismo conocido que explica la adaptación de los seres vivos en nuestro planeta: el propuesto por Darwin hace 150 años. [Ver índice del libro.](#)

Los socios podrán disfrutar de **importantes descuentos** para la compra de los libros de la colección. [¡Hazte socio aquí!](#)

Volumen 1: 14 euros (40% de descuento) + gastos de envío= 20€
a abonar en la cuenta de la SESBE al hacer la solicitud

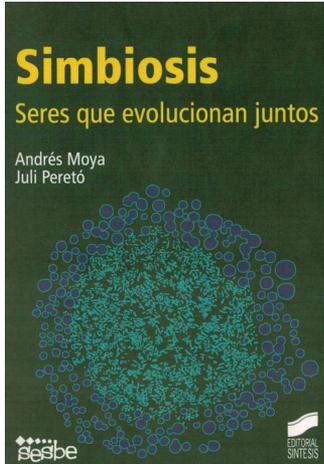


Volumen 2. La aceptación por parte de los etólogos de que el comportamiento, al igual que cualquier otra característica de los seres vivos, es el resultado de la evolución por selección natural supuso la implantación de un enfoque evolutivo que dio lugar al nacimiento de la llamada ecología del comportamiento, que se convirtió en una de las ciencias más importantes e influyentes de la biología evolutiva. El enfoque evolutivo de la ecología del comportamiento también se ha trasladado al estudio de los seres humanos y ha aportado un aluvión de ideas que han supuesto, en muchos casos, soluciones que han iluminado el panorama intelectual. En “**Adaptación del comportamiento: comprendiendo al animal humano**”, segundo libro de la colección promocionada por SESBE, **Manuel Soler** revisa los temas más importantes relacionados con el comportamiento animal y, a continuación, aplica esos conocimientos al comportamiento humano. La negativa a que el comportamiento del ser humano sea estudiado desde el punto de vista evolutivo, como

el del resto de los animales, no está justificada en absoluto, puesto que somos una especie de mamífero que está incluida en el grupo de los primates. Éste, el evolutivo, es el único enfoque científico posible que puede permitir que nos comprendamos mejor a nosotros mismos. Es cierto que somos diferentes del resto de las especies, pero no porque nuestra inteligencia nos haya liberado de nuestros instintos –como han defendido habitualmente los filósofos a lo largo de la historia, sino porque nos permite rebelarnos contra ellos. [Ver índice del libro.](#)

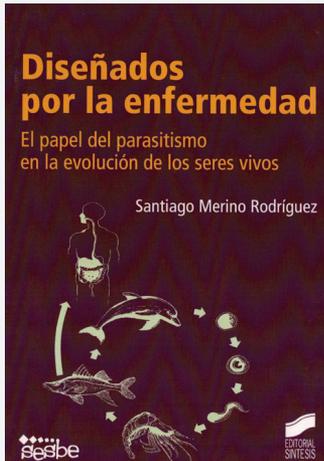
Los socios podrán disfrutar de **importantes descuentos** para la compra de los libros de la colección. [¡Hazte socio aquí!](#)

Volumen 2: 14 euros (40% de descuento) + gastos de envío= 20€
a abonar en la cuenta de la SESBE al hacer la solicitud



Volumen 3. Este libro trata sobre un fenómeno ubicuo en la Biosfera: la simbiosis (literalmente, vivir juntos). Gracias al estudio de los genomas de los seres que han unido sus destinos evolutivos, podemos conocer mejor el impacto de las simbiosis en la historia de la vida. Esta obra, dirigida a un público curioso e interesado por la ciencia, nos propone un viaje fascinante a través de las simbiosis y las transiciones principales durante el origen y evolución de las células eucarióticas: la transformación de bacterias endosimbiontes en orgánulos celulares, un fenómeno que quizá se esté produciendo ahora mismo en muchas simbiosis. La evolución reductiva observada en la minimización de los genomas de las bacterias simbiotes nos sirve de inspiración para determinar los requisitos mínimos para la vida celular. Esta es una información muy valiosa para la biología sintética, o el intento de fabricar una célula en un tubo de ensayo, un anhelo con profundas implicaciones científicas y filosóficas. [Ver índice del libro.](#)

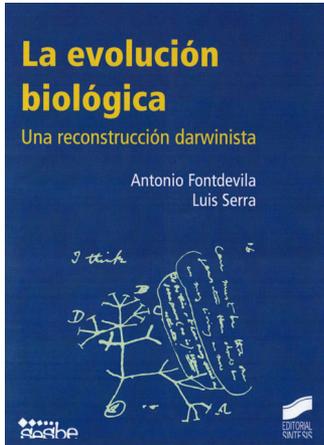
Los socios podrán disfrutar de **importantes descuentos** para la compra de los libros de la colección. [¡Hazte socio aquí!](#)
Volumen 3: 10 euros (40% de descuento) + gastos de envío= 16€
a abonar en la cuenta de la SESBE al hacer la solicitud



Volumen 4. Los parásitos, entendidos en un sentido amplio, incluyen seres tan distintos como virus o vertebrados y representan una de las formas de vida más extendidas en la naturaleza. Su influencia sobre los seres vivos que les proporcionan sustento es, sin duda, enorme y han estado implicados en la evolución de todo tipo de estrategias defensivas para evitar el expolio al que someten a sus hospedadores.

¿Por qué son tan abundantes los parásitos? ¿Quiénes son? ¿Qué influencia tienen sobre otros seres? ¿Hasta qué punto afectan a nuestra evolución? ¿Nos podemos librar definitivamente de ellos? Estas y otras preguntas se responden de manera sencilla en las páginas de “Diseñados por la Enfermedad”, lo que permite explicar a todos los públicos el poder de las enfermedades infecciosas y parasitarias en el desarrollo de la vida. [Ver índice del libro.](#)

Los socios podrán disfrutar de **importantes descuentos** para la compra de los libros de la colección. [¡Hazte socio aquí!](#)
Volumen 4: 11 euros (40% de descuento) + gastos de envío= 17€
a abonar en la cuenta de la SESBE al hacer la solicitud



Volumen 5. «La Evolución Biológica» de Antonio Fontdevila y Luis Serra

Desde la formulación original de la Teoría de la Evolución por selección natural de Darwin se han ido incorporando muchas ideas y conocimientos fruto de la investigación científica. En esta obra se comentan estos nuevos avances con el objetivo de convencer al lector de que la evolución es un hecho irrefutable y que, en pleno siglo XXI, las ideas de Darwin continúan siendo imprescindibles para entender el proceso evolutivo.

En primer lugar, se explica por qué la evolución es observable y se describen los hechos que demuestran que ha ocurrido la evolución. A continuación se hace un estudio actualizado de los mecanismos fundamentales del proceso evolutivo. Por último, se justifica por qué la evolución es una revolución biológica y conceptual. Muchos de los problemas planteados en la medicina, la alimentación o el cambio climático y otros de nuestra sociedad actual pueden entenderse mejor bajo el enfoque evolutivo. Pero, además, la evolución da respuesta a muchos de los interrogantes que nos planteamos sobre el significado de nuestra naturaleza humana.

Este libro lleva al lector el mensaje de la evolución biológica tal y como Darwin creemos que hubiera deseado desde la perspectiva actual. Nuestro conocimiento de la evolución biológica ha avanzado mucho pero la máxima darwinista de “descendencia con modificación” sigue siendo tan válida como cuando Darwin la formuló. [Ver índice del libro.](#)

Los socios podrán disfrutar de **importantes descuentos** para la compra de los libros de la colección. **[¡Hazte socio aquí!](#)**
Volumen 5: 16 euros (40% de descuento) + gastos de envío= 22€
a abonar en la cuenta de la SESBE al hacer la solicitud

“Los libros se pueden adquirir en los congresos de la SESBE o contactando con Borja Milá, b.mila@csic.es”

Cómo hacerse miembro de la SESBE...

Hacerse socio de la SESBE es muy sencillo, solo tienes que seguir los siguientes pasos:

1

Rellena con tus datos personales el **formulario de inscripción** que se encuentra en la web de la SESBE: www.sesbe.org/ser-miembro/.

2

Realiza el **pago de la cuota anual** de 30€ en la siguiente cuenta corriente de Caixabank:

Número de cuenta: 2038 6166 21 3000095394

Código IBAN: ES33 2038 6166 2130 0009 5394

Código BIC (SWIFT): CAIXESBBXXX

3

Una vez realizada la transferencia, **remitir el comprobante** de pago bancario por correo electrónico (escaneado-pdf) a la Secretaría Técnica de la SESBE:

secretaria.sesbe@kenes.com

Una vez completado el trámite, nos pondremos en contacto contigo para confirmar que el proceso se ha realizado con éxito, activar tu cuenta y darte la bienvenida en nombre de la Junta Directiva.

****Los nuevos miembros recibirán de regalo un libro de la colección SESBE de su elección***
(ver títulos en www.sesbe.org)*

eVOLUCIÓN es el boletín bianual de la **Sociedad Española de Biología Evolutiva (SESBE)**.

El material publicado en este boletín puede difundirse gratuitamente siempre que sea por motivos educativos y/o de divulgación y se realice sin ánimo de lucro, citando adecuadamente la fuente.

© 2022 SESBE
ISSN 1989-046X

Junta Directiva de la SESBE

Presidente: **Toni Gabaldón**

Vicepresidente: **Juan Arroyo**

Secretario: **Borja Milá**

Tesorero: **Andrés Barbosa**

Vocales: **Ester Lázaro**

Isabel Almudí

Pau Carazo

Ricarda Riina

Rosalía Piñeiro

Borja Figueirido

Imagen de portada: **imagen microscópica mediante inmunofluorescencia (FISH) de una sección de embrión del pulgón *Cinara cedri*. Se han usado sondas específicas para *Buchnera* (verde) y *Serratia* (rojo).** Foto tomadas por el **Dr. Alejandro Manzano-Marín**.

Para enviar artículos a *eVOLUCIÓN* contactar con:

Antonio Fontdevila

(Universitat Autònoma de Barcelona)

Emilio Rolán-Alvarez

(Universidade de Vigo)

email: antonio.fontdevila@uab.es
rolan@uvigo.es

Sociedad Española de Biología Evolutiva (SESBE)

Museo Nacional de Ciencias Naturales

Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Calle José Gutiérrez Abascal 2

Madrid 28006

Comité Editorial

Antonio Fontdevila (*UAB, Barcelona, editor en jefe*)

Isabel Almudí (*UB, Barcelona*)

Antonio Diéguez (*UMA, Málaga*)

José B. Diez (*UVIGO, Vigo*)

Amparo Latorre (*UV, Valencia*)

José Martín (*MNCN, Madrid*)

Borja Milá (*MNCN, Madrid*)

Emilio Rolán-Alvarez (*UVIGO, Vigo*)

Ana Riesgo (*MNCN, Madrid*)

Rediseño y maquetación: [ideasEV](#) | [diseño gráfico](#)