



# Tesis Doctorales del MNCN

**Adaptaciones fisiológicas en el Papamoscas cerrojillo (*Ficedula hypoleuca*): estrés oxidativo, reproducción y desarrollo**

**Jimena López Arrabé**

**Universidad Autónoma de Madrid**

**Directores: Juan Moreno Klemming y Lorenzo Pérez Rodríguez**

Septiembre 2017

El estrés oxidativo es el desequilibrio entre la capacidad antioxidante de un organismo y la producción de radicales libres que pueden dañar importantes biomoléculas. Las condiciones experimentadas por los organismos pueden ejercer una fuerte influencia sobre el desarrollo y expresión de su fenotipo, especialmente durante el desarrollo temprano y la reproducción. Por otro lado, entender la relación que existe entre el estado oxidativo y el acortamiento de los telómeros puede desentrañar los mecanismos que subyacen a las estrategias vitales determinadas por los compromisos existentes entre reproducción, mantenimiento o crecimiento. Así, el objetivo general de esta tesis es determinar, desde un punto de vista ecológico-evolutivo, el papel del estrés oxidativo en relación a las distintas estrategias vitales desarrolladas por las aves.

Se ha utilizado el Papamoscas cerrojillo, *Ficedula hypoleuca*, como modelo de estudio. Para la

realización de esta tesis, se han llevado a cabo tanto estudios experimentales como observacionales para analizar la influencia del ambiente de nidificación y los parásitos del nido sobre polluelos e individuos parentales, los costes derivados de la inversión reproductiva y el mantenimiento de ornamentos sexuales, los factores que afectan al estado redox en la edad temprana y las relaciones entre reproducción, estrés oxidativo y envejecimiento. Se han realizado filmaciones de los nidos para analizar el cuidado parental y en todos los casos se han tomado muestras de sangre de individuos adultos y pollos, para análisis de parámetros oxidativos y bioquímicos (daño oxidativo, antioxidantes, triglicéridos, ácido úrico), sexado (sólo en pollos) y medidas de telómeros (adultos). Además se han tomado fotografías de los ornamentos del plumaje de adultos para analizarlos como señal de calidad individual.

Esta tesis contribuye a comprobar la fuerte implicación del estado

oxidativo en los compromisos que sustentan a las estrategias vitales de las aves. Por un lado se muestra que la presencia de material viejo en el nido no afecta a todas las poblaciones de ectoparásitos por igual, cuestionando la idea general de que la reutilización de nidos está ligada a mayores infestaciones, con consecuencias sobre el éxito reproductor y el crecimiento de polluelos. Además, se muestra cómo el método de manipulación de la carga de ectoparásitos del nido puede tener efectos no controlados sobre las aves, lo que puede llevar a subestimar las consecuencias potenciales de la presencia de dichos ectoparásitos sobre sus hospedadores aviares.



Ilustración que muestra un papamoscas cerrojillo, *Ficedula hypoleuca*, junto a un parásito / Yolanda Lucas Rodríguez





Se evidencian experimentalmente efectos negativos de la carga de ectoparásitos sobre el estado oxidativo de hembras adultas y polluelos en desarrollo, lo que podría acarrear consecuencias sobre la supervivencia y reproducción futuras. También se muestran las asociaciones entre los diferentes componentes del estado oxidativo de polluelos en desarrollo y varios factores ambientales e intrínsecos, algo que resulta esencial para entender la importancia del estrés oxidativo en la formación del fenotipo. Por otro lado, se sugiere que diferentes rasgos acromáticos del plumaje pueden señalar la capacidad individual para hacer frente al estrés oxidativo y se resalta la importancia de las distintas fases del ciclo reproductor para entender el papel del estrés oxidativo como coste y limitación en la reproducción. Por último, se evidencia cómo el estado oxidativo está involucrado en un acortamiento más rápido de los telómeros de los individuos en edad adulta como coste de la reproducción, además de sugerir que la edad fisiológica de los padres puede afectar a la calidad de la descendencia en términos de estrés oxidativo. Este entramado de relaciones demuestra que la ecología de los organismos es en parte ecología oxidativa. En definitiva, esta tesis abre nuevas vías para futuros estudios sobre estrategias vitales, comportamiento y ecofisiología en poblaciones naturales, sugiriendo que estos se beneficiarán de incluir entre los parámetros estudiados aquellos relacionados con el estado oxidativo de los individuos.

### Moduladores del desarrollo temprano en aves: el papel de los esteroides y del estrés oxidativo sobre el envejecimiento

**Sergio Alfonso Iñiguez**

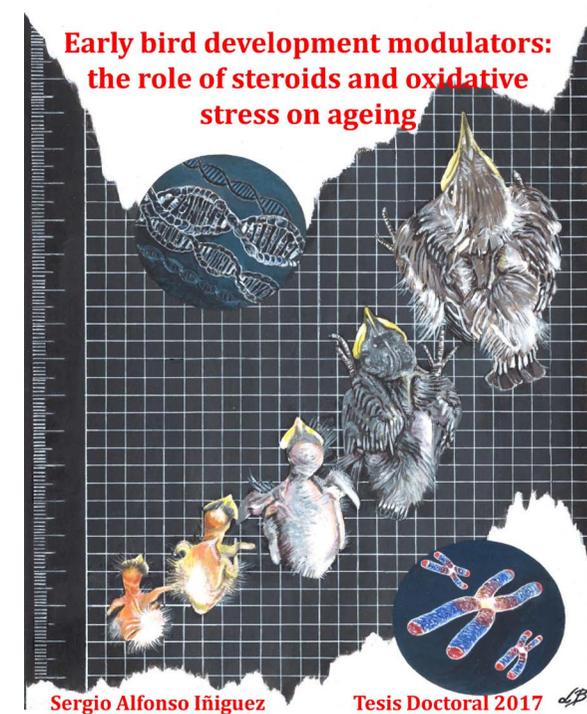
**Universidad Autónoma de Madrid**

**Directores: Diego Gil Pérez y Lorenzo Pérez Rodríguez**

Octubre 2017

Entendemos por estrategias vitales al conjunto de características o cambios, bien sean morfológicos, fisiológicos o comportamentales, que se suceden a lo largo de la vida de los organismos y que se encuentran estrechamente ligados a los dos rasgos principales que definen la eficacia biológica. La existencia de diversos factores propios de cada especie, que actúan como compromisos afectando directamente a rasgos biológicos como la reproducción o la supervivencia, son un concepto clave en nuestro área de estudio. Por todo esto resulta clave conocer en profundidad el funcionamiento de los mecanismos subyacentes a estos compromisos, así como detallar los costes y limitaciones que pueden suponer para los organismos; con el fin de entender las distintas estrategias que pueden observarse en la naturaleza.

Los telómeros son repeticiones de secuencias de ADN no codificante que se localizan en los extremos de los cromosomas de las células eucariotas. Estas estructuras se encargan de proteger los cromosomas de los procesos degenerativos, minimizando la fusión entre cromosomas cercanos



Portada de la Tesis presentada por Sergio Alfonso Iñiguez / Sergio Alfonso Iñiguez

e impidiendo la pérdida de genes esenciales para el correcto funcionamiento y la supervivencia de la célula. La longitud telomérica ha sido señalada como uno de los marcadores con mayor interés en la comprensión y estudio de las distintas estrategias vitales debido principalmente a las características que presentan estas estructuras, entre las que destacan su gran variación interindividual, su tasa de desgaste a medida que avanza la edad del individuo





o su sensibilidad y la estrecha relación con el estrés oxidativo.

El estrés oxidativo se define como el desequilibrio entre la producción de moléculas prooxidantes o especies reactivas del oxígeno y la capacidad de defensa antioxidante que presenta el organismo. Sabiendo que el estrés oxidativo es un mecanismo íntimamente relacionado con la evolución de las estrategias vitales, se plantea imprescindible el discernir la verdadera relación causal entre dicho mecanismo celular y el tamaño de los telómeros. La manifestación o expresión de cada uno de estos caracteres se verá determinado por las limitaciones y compromisos inherentes a cada individuo.

En esta tesis nos hemos centrado en estudiar la importancia que tienen los telómeros como marcadores de envejecimiento y su relación con el estrés oxidativo en las primeras etapas de desarrollo, dentro de un marco ecológico-evolutivo de costes/beneficios. Para ello y utilizando como modelo de estudio al estornino negro, *Sturnus unicolor*, se llevaron a cabo una batería de estudios, basados en distintas manipulaciones experimentales durante el periodo de crecimiento de estas aves.

Nuestros resultados remarcan la dificultad que existe a la hora de encontrar efectos *in vivo* que permitan apoyar la teoría de que el estrés oxidativo es el principal agente promotor de las variaciones en el tamaño de los telómeros de los individuos, a pesar de que estudios previos sí que han encontrado algunos efectos en tal sentido.

En esta hipótesis del envejecimiento se le asigna al estrés oxidativo un papel vital como detonante y acelerador de la senescencia tanto a nivel celular como a nivel de organismo. El desequilibrio oxidativo vendría a su vez condicionado por la amplia gama de factores ambientales que rodean al periodo de desarrollo de todo individuo y que intervienen en el acortamiento del “tiempo de vida” esperado, a través de la reducción del tamaño de los telómeros. Pero la existencia de distintos tipos de factores y estrés (fisiológico y oxidativo), junto a la gran variedad de marcadores para cada uno de ellos, que a su vez se relacionan a distintos niveles fisiológicos y bioquímicos con los telómeros, suponen un conjunto de obstáculos que comprometen el hallazgo de tales efectos.

---

### **Ecofisiología de lagartijas en zonas de montaña: limitaciones térmicas y de hábitat en algunas comunidades de Liolaemidae y Lacertidae**

**Octavio Jiménez Robles**  
**Universidad de Granada**  
**Director: Ignacio De la Riva**  
 Septiembre de 2017

Recientemente se han relacionado desapariciones de poblaciones de lagartijas con el cambio climático, debido a que las temperaturas excesivamente altas reducen el tiempo de actividad en el que las lagartijas se alimentan y se reproducen. Estos declives son especialmente importantes

en lagartijas de zonas montañosas, generalmente adaptadas a climas más fríos. Además, muchas de estas lagartijas son vivíparas (no ponen huevos y sus embriones terminan de desarrollarse en el vientre materno), lo que hace que generalmente prefieran temperaturas corporales más bajas, aumentando su susceptibilidad al cambio climático.

En esta tesis abordamos el estudio de la composición de especies y las ventanas de actividad potencial en comunidades de lagartijas en tres zonas montañosas a diferentes latitudes: la Cordillera de Sama y de Tiraque en Bolivia; y la Sierra de Guadarrama en España. Estas zonas incluyen tanto el borde cálido de la distribución de unas especies como el borde frío de la distribución de otras, de forma que la distribución de las primeras podría contraerse, a la vez que la segunda podrían expandirse y colonizar zonas que antes eran más frías. En el caso de la Cordillera de Tiraque, nos centramos en *Liolaemus fittkai*, de distribución prácticamente desconocida y que se piensa que podría estar sufriendo declives poblacionales debidos al cambio climático.

En todas las zonas estudiadas la temperatura juega un papel importante estructurando las comunidades de lagartijas, de manera que la heterogeneidad microclimática originada por la complejidad del relieve montañoso se ve reflejada en la composición de especies de lagartijas. El exceso de calor por sí mismo no es un factor limitante a nivel fisiológico en los bordes de distribución cálidos estudiados (por ejemplo aquellos de *Liolaemus orientalis* en Sama, *Liolaemus fittkai* en Tiraque o *Iberolacerta cyreni* en Guadarrama). Sin





Macho de *Liolaemus fittkai* en un pajonal a 4190 m de altitud en la puna de la Cordillera de Tiraque, Bolivia

embargo, eso no quiere decir que estas lagartijas adaptadas a climas fríos de montaña no pudieran sufrir declives debidos a otros efectos indirectos del cambio climático como la exclusión competitiva con otras especies termófilas que pueden llegar siguiendo el aumento de temperaturas. De hecho, la temperatura parece ser el factor limitante en los bordes fríos de distribución estudiados de algunas especies más termófilas (como *Liolaemus ornatus* en Sama, *Liolaemus variegatus* en Tiraque y *Podarcis guadarramae* en Guadarrama). Por tanto, estas especies podrían expandir sus distribuciones con el aumento de temperaturas afectando negativamente a la distribución de las especies adaptadas a los climas fríos de montaña.

Además, alguna de las especies menos termófilas aparece exclusivamente en hábitats donde las temperaturas son tan altas que su persistencia a largo plazo podría verse comprometida por un exceso de calor (por ejemplo *Liolaemus* sp. en Sama). En el caso de la Cordillera de Tiraque, encontramos buenas poblaciones de la lagartija vivípara *Liolaemus fittkai* en zonas por encima de 3800 m, (extendiendo su distribución conocida a lo largo de aproximadamente 100 km). Esta especie no se encuentra en zonas más cálidas en las que parece *Liolaemus variegatus*, la cual descubrimos que es una de las lagartijas ovíparas que más altitud alcanza en el mundo (hasta 4.200 m)..

### Nicho trófico en Falconidae: heterogeneidad de hábitat, nutrición y reproducción

Juan Navarro López  
Universidad Autónoma de Madrid  
Director: Juan Antonio Fargallo  
Septiembre de 2017

La tesis ha tenido como principal objetivo incrementar el conocimiento desde una perspectiva evolutiva de las estrategias tróficas y la especialización ecológica individual en las poblaciones silvestres. Como modelo de estudio se ha usado por una parte al grupo de aves de la familia Falconidae en una primera aproximación y por otra al cernícalo vulgar *Falco tinnunculus* en una población segoviana en la que existen fluctuaciones temporales de alimento. Se postula que la especiación trófica permite reducir la competencia con los competidores inter- e intraespecíficos y aumenta la eficiencia en el forrajeo en ambientes homogéneos y condiciones estables, mientras que las especies con un nicho trófico más amplio, es decir, más generalistas, obtienen ventajas en el aprovechamiento de los recursos tróficos en ambientes más heterogéneos y condiciones más inestables. Se predice, por lo tanto, que las especies e individuos más generalistas tendrán una mayor capacidad de colonizar nuevos entornos, ampliar su área de distribución y ser más exitosos en ambientes poco predecibles. Por otra parte, se ha postulado que los depredadores, especialmente las especies carnívoras, no seleccionan las presas en función de su composición nutricional debido a que és-





Cernícalo vulgar, *Falco tinnunculus* con un topillo campesino, *Microtus arvalis*, recién capturado en el pico. /Fotocaptura de GREFA

tas contienen ya una composición balanceada de nutrientes. Por ello, se predice que la preferencia de la presa está basada en la economía de la captura. Analizando en las diferentes especies de falcónidos, la diversidad de la dieta, la diversidad de biomas ocupados a escala global y el tamaño de su área de distribución, se comprueba que las especies con una dieta más diversa también ocupan una mayor diversidad de hábitats, pero no tienen un área de distribución mayor. Además, en el caso del cernícalo vulgar, los individuos con una dieta más diversa producen un mayor número de huevos, pollos con mejor condición física y con mejor sistema inmunitario. En esta especie la diversidad de la dieta no está explicada

por la diversidad de hábitats en los territorios de cría. También en esta especie se determina que la selección de presa se basa en su contenido energético y proteico y que los individuos de mejor calidad dan a sus hijos dietas con una mayor diversidad de aminoácidos. La tesis aporta por primera vez una correlación positiva a nivel interespecífico entre la heterogeneidad de hábitats ocupados y la diversidad de la dieta de las especies a nivel poblacional, apoyando la idea de que el generalismo trófico es una estrategia en la evolución del forrajeo que permite obtener recursos en diferentes entornos, pero no incrementar su área de distribución. Al mismo tiempo, se concluye que las estrategias generalistas en

una especie depredadora en ambientes impredecibles incrementan la eficacia biológica de los individuos y que el incremento de diversidad en la dieta es debido a una búsqueda activa de diferentes especies-presa basada en el aporte energético y nutricional de las mismas. Los resultados apoyan la idea de una especialización individual en el nicho trófico donde las estrategias más generalistas con mayor diversidad de nutrientes tendrían mayor eficacia en ambientes más impredecibles.

### Aplicación de técnicas moleculares en biología evolutiva: Los peces continentales de Europa y México como caso de estudio.

**Diushi Keri Corona Santiago**  
**Universidad Complutense de Madrid**  
**Director: Ignacio Doadrio Villarejo**  
 Junio 2017

Los ecosistemas dulceacuícolas mantienen alrededor del 12% de la fauna animal del planeta. El estudio de las relaciones filogenéticas de las especies permite inferir los procesos históricos y sus efectos en la biodiversidad. Por lo tanto, los estudios en biología evolutiva proveen información esencial para comprender los cambios pasados y futuros en la ictiofauna continental y sus hábitats. Esta tesis doctoral tuvo como objetivo general el aplicar técnicas moleculares para responder a diversas preguntas en biología evolutiva de peces continentales.





Campaña de pesca en el río Estena, cuenca del Guadiana, España.

Se estudiaron tres complejos de especies que presentan peculiaridades evolutivas, estrechas relaciones filogenéticas y taxonomía incierta. De México, se estudió el complejo de especies vivíparas *Allotoca diazi*, y el complejo de especies tetraploides *Catostomus plebeius-nebuliferus*. De la Península Ibérica, el nuevo complejo de origen hibridogenético *Squalius* sp. Para ello se utilizaron distintos marcadores moleculares tanto mitocondriales como nucleares. La información genética se integró con herramientas analíticas para describir patrones demográficos, de diversidad genética, tiempos de divergencia, áreas ancestrales y modelización el nicho ecológico.

De acuerdo a los objetivos propuestos en esta tesis, la descripción de la historia evolutiva de los complejos *Allotoca diazi*, *Catostomus plebeius-nebuliferus* y *Squalius* sp, deja claro la necesidad de tomar en cuenta cuestiones básicas en biología como es la definición de especie, dado que en los tres casos, es difícil acomodar los linajes identificados genéticamente a cualquiera de las definiciones explícitas o implícitas de especie.

Los resultados de esta tesis, específicamente en el cuarto capítulo, apoyan la hipótesis de que la viviparidad en Cyprinodontiformes tiene como ancestro el oviparismo, pero que el ovoviviparismo no constituye un paso intermedio hacia el viviparismo, además de que se lograron iden-

tificar genes mitocondriales que posiblemente estuvieron bajo selección positiva durante el surgimiento del viviparismo. Este tipo de cuestiones evolutivas pueden ser abordadas a partir de la obtención de una gran cantidad de datos, y la búsqueda de herramientas analíticas que nos permitan explicar las presiones selectivas o los cambios estructurales en el genoma mitocondrial asociados al surgimiento de novedades evolutivas. Este capítulo aportó información acerca de la importancia e implicaciones que tiene el determinar y seleccionar marcadores moleculares adecuados en filogenias profundas. Así como determinar cuántos y qué genes son necesarios para resolver una filogenia.

Se describieron dos mitogenomas, uno de ellos perteneciente a *Luciobarbus rifensis*, un endemismo del norte de África, y el otro, de *Xenotoca variata* el cual fue utilizado para desarrollar el estudio sobre la evolución de la viviparidad. Estos trabajos significaron un primer acercamiento a la aplicación de datos genómicos y a la exploración e identificación de nuevos marcadores.

La presente tesis doctoral soporta las bases tradicionales en filogeografía y filogenética a través de la interpretación cuantitativa de cada genealogía y la información referente a la diversidad genética para el estudio de las poblaciones. Así mismo, aporta información consistente con trabajos previos sobre temas de macroevolución y evolución molecular proponiendo qué marcadores moleculares pueden ser utilizados a la luz de diversos supuestos y preguntas evolutivas.

