



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

Laboratorio de Ecología de la Conducta

“Posibles causas del contagio del bostezo en el humano”

TESIS

Que para obtener el grado de
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Presenta:

M.C. Oscar Eduardo Juárez Mora

Director de tesis:

Dr. Alejandro Moyaho Martínez

Asesores:

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Dr. Ignacio Méndez Balbuena

Dr. Luis Alonso Lemus Sandoval

Dra. Olga Araceli Rojas Ramos

Puebla, Pue. Junio 2021

Les dedico este trabajo a todos los estudiantes que han afrontado obstáculos y dificultades en sus estudios. Desde los que han tenido que sortear verdaderas injusticias o dificultades de vida o muerte, hasta los que nos malpasamos haciendo experimentos, leyendo artículos y escribiendo tesis. A todos aquellos que alguna vez se han sentido inadecuados o incapaces, fuera de lugar o que dudaron de sí mismos. A quienes hemos mirado al abismo del vacío existencial por razón de nuestro estudio.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mi familia, por nacimiento y por elección. Gracias a mis amigos que me acompañaron dentro y fuera del laboratorio. Gracias a mis compañeros del instituto y a todos los que conocí en otros lados. Gracias a mi tutor y supervisor, así como a mis revisores internos y externos. Gracias a todos los profesores e investigadores que fui conociendo aquí y en todo el mundo. Finalmente, gracias a las instituciones que me permitieron realizar este trabajo, en particular al apoyo del CONACYT mediante la beca para doctorado 2017-2020 y la beca mixta con número de becario 286530, programa 1692 (Número de convocatorias 291197 y 291250 respectivamente), a la VIEP-BUAP por su apoyo dentro del programa de Movilidad Académica y Estudiantil (VIEP 1817/2018), a la *“International Society for Behavioral Ecology”* (ISBE) por su apoyo de movilidad, y al CONCYTEP por su apoyo en el programa Becas Tesis 2020

CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. CONTAGIO DEL BOSTEZO	4
2.2. RELACIÓN ENTRE EMPATÍA Y CONTAGIO DEL BOSTEZO.....	6
2.2.1. EMPATÍA.....	6
2.2.2. SISTEMA DE NEURONAS ESPEJO.....	8
2.2.3. EVIDENCIA A FAVOR Y EN CONTRA DE LA HIPÓTESIS DE EMPATÍA COMO BASE DEL CONTAGIO DEL BOSTEZO.....	11
2.3. UNA EXPLICACIÓN ALTERNATIVA PARA EL CONTAGIO DEL BOSTEZO	14
2.3.1. VENTAJA HEMISFÉRICA	14
2.3.2. UNA IMAGEN COMPLETA VS. EXPLICACIONES PARCIALES EN LOS MECANISMOS DEL CONTAGIO DEL BOSTEZO.....	17
3. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	19
1. HIPÓTESIS DE LA EMPATÍA.	19
2. HIPÓTESIS DE LA VENTAJA HEMISFÉRICA.	19
4. OBJETIVOS	20
OBJETIVO GENERAL:	20
OBJETIVOS PARTICULARES:	20
5. MATERIAL Y MÉTODOS	21
5.1. PARTICIPANTES	22
5.2. MEDICIÓN DE CONTAGIO DEL BOSTEZO	23
5.2.1. PROTOCOLO DE BOSTEZO PROVOCADO	23
5.2.2. CURVAS DE CONTAGIO DEL BOSTEZO	27
5.3. REGISTRO ELECTROENCEFALOGRÁFICO (EEG)	29
5.3.1. ESTIMACIÓN DE LA SUPRESIÓN μ	30
5.3.2. PRUEBA DE ESPEJO	33
5.4. EXPERIMENTO 1. EFECTO DE LA EMPATÍA	34
5.5. EXPERIMENTO 2. VENTAJA HEMISFÉRICA.....	36
5.6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	38

6. RESULTADOS	41
6.1. CURVAS DE CONTAGIO DEL BOSTEZO	42
6.2. EFECTO DE LA EMPATÍA EN LA PROBABILIDAD DE CONTAGIO DEL BOSTEZO.....	44
6.3. RESPUESTA NEUROFISIOLÓGICA ANTE LAS DIFERENCIAS DEL BOSTEZO Y LA EMPATÍA	47
6.3.1. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ESPEJO.....	47
6.3.2. EFECTO DE LA EMPATÍA EN LA SUPRESIÓN μ	50
6.4. VENTAJA HEMISFÉRICA EN EL CONTAGIO DEL BOSTEZO USANDO ESTÍMULOS AUDITIVOS	53
6.5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS	55
7. DISCUSIÓN	56
8. CONCLUSIÓN	60
9. PERSPECTIVAS	61
REFERENCIAS	62
ANEXOS	67
ESCALA DE COCIENTE DE EMPATÍA (TRADUCIDA DE BARON-COHEN Y WHEELWRIGHT. 2004)	67
DISTRIBUCIÓN DE LAS OSCILACIONES RELACIONADAS CON LA SUPRESIÓN μ	70
ANÁLISIS DEL ORIGEN DE LAS OSCILACIONES DURANTE EL CONTAGIO DEL BOSTEZO	71
PUBLICACIONES QUE SE DESPRENDE DE ESTE TRABAJO	73

1. RESUMEN

Bostezar después de haber visto u oído un bostezo es una experiencia relativamente común para muchas personas. Sin embargo, la explicación de este fenómeno -el contagio del bostezo- y sus mecanismos aún no son claros. Se ha propuesto que la empatía (la capacidad de experimentar como propias las emociones y experiencias de otros individuos) es la causa principal del contagio del bostezo. Atendiendo a diversas inconsistencias de esta hipótesis, propongo la alternativa novedosa de que hay una ventaja hemisférica cerebral para el contagio del bostezo, y que los mecanismos del contagio están relacionados con las asimetrías funcionales del cerebro. Contrasté predicciones derivadas de ambas hipótesis mediante experimentos realizados en 91 alumnos voluntarios de diferentes facultades de la BUAP.

En los experimentos, a cada participante le mostré grabaciones en audio y video que podían incluir bostezos, y registré su respuesta: la cantidad de bostezos y el momento en que éstos ocurrieron. También registré la actividad electroencefalográfica (EEG) de los participantes particularmente la supresión μ , una respuesta relacionada con la actividad de neuronas espejo (el posible sustrato fisiológico de la empatía).

Encontré que la supresión μ fue un buen predictor ($t_{82} = 2.31, P = 0.02$) de las calificaciones de una prueba de empatía aplicado a los participantes. La supresión fue mayor cuando los participantes observaron a personas de género y edad similares, que cuando eran diferentes ($t_{82} = 4.22, P < 0.01$). Sin embargo, los cambios en la supresión μ

no se relacionaron con el contagio del bostezo. En cambio, la probabilidad de contagio del bostezo fue mayor cuando los bostezos se escucharon con el oído derecho que con el izquierdo ($Z = 296, P < 0.01$). Además la respuesta medida en el EEG del hemisferio cerebral derecho fue más intensa cuando los participantes observaron los bostezos a diferencia de un control. Esto indica que hay una ventaja hemisférica para el contagio del bostezo, posiblemente relacionado a una especialización hemisférica durante la percepción de los bostezos. Estos resultados sugieren que la hipótesis de la empatía no es suficiente para explicar el contagio del bostezo. La adopción de una nueva explicación, como la que aquí propongo, permitirá entender mejor al contagio del bostezo en los humanos. Más estudios son necesarios para corroborar si la hipótesis de la ventaja hemisférica explica porque no siempre que se percibe un bostezo se contagia.

2. INTRODUCCIÓN

Es común que los humanos bostecemos al ver a otra persona bostezar; incluso oír, leer o pensar acerca del bostezo puede provocar bostezos (Provine 1986, Platek y col. 2003, Arnott y col. 2009, Rundle y col. 2015, Moyaho y col. 2019). El interés sobre el fenómeno del contagio del bostezo no es novedoso; sin embargo, su estudio se vuelve atractivo cuando se lo relaciona con aspectos cognitivos o psicológicos de los individuos y a cuestiones evolutivas de las especies (Preston y de Waal 2002). Así mismo la relevancia de este comportamiento resalta cuando se descubre que los mecanismos neurofisiológicos que lo sustentan son complejos (Platek y col. 2005, Arnott y col. 2009, Cooper y col. 2012).

Se ha propuesto reiteradamente que el contagio del bostezo ocurre gracias a la capacidad empática que tienen los individuos de algunas especies de animales; la intensidad del contagio, se asume, depende sobre todo de las diferencias empáticas entre los individuos y entre las especies (Platek y col. 2003, Norscia y Palagi 2011, Moyaho y col. 2015, van Berlo y col. 2020). Sin embargo, esta explicación no resulta suficiente para entender por qué una proporción de la población humana no muestra contagio del bostezo; tampoco atiende algunas inconsistencias en la evidencia existente acerca del fenómeno (ver más adelante).

Es posible que la empatía sea solamente un factor entre otros más, que contribuyen a la susceptibilidad al contagio del bostezo. Explorar otras explicaciones nos acercará a entender mejor el fenómeno del contagio del bostezo.

2.1. Contagio del bostezo

El contagio del bostezo se define como el incremento en el impulso y la probabilidad de bostezar después de haber percibido un bostezo (Moyaho y col. 2014). La percepción del bostezo puede producirse por ver u oír a otra persona bostezar –en vivo o en una grabación. También leer o pensar acerca del bostezo puede evocarlo (Provine 1986, Arnott y col. 2009, Cooper y col. 2012, Rundle y col. 2015).

El contagio del bostezo es un fenómeno común para casi todos los humanos (Provine 1989), sin embargo, en diversos estudios el porcentaje de personas que presentan contagio es relativamente bajo: entre el 40 y el 60% (Platek y col. 2003). A pesar de décadas de estudios sobre el contagio del bostezo, aún se desconoce la causa de esta aparente discrepancia, y tampoco la razón (causas próximas y últimas) por la que ocurre el contagio del bostezo (Massen y Gallup 2017).

Hay diferentes métodos para estudiar el contagio del bostezo, diferenciar un bostezo espontáneo de uno contagiado (o provocado) es el aspecto crucial en estos métodos (Campbell y de Waal, 2010. Walusinski 2013, Massen y Gallup 2017). Comparativamente se puede medir el contagio como la diferencia entre el número de bostezos provocados por representaciones del mismo y algún control, por ejemplo una cara sonriente (Platek y col. 2002, Senju y col. 2009). Se asume que los bostezos son espontáneos cuando ocurren como respuesta a la condición control, mientras que son contagiados los que ocurren como respuesta inmediata a la condición del bostezo. Sin embargo, es importante destacar que no existe un consenso en cuanto a la inmediatez—el

tamaño óptimo de la ventana de tiempo—de la respuesta a los estímulos (Kapitany y Nielsen 2017). Tampoco hay consenso respecto al mejor control del bostezo (Campbell y de Waal 2010), e incluso se ha propuesto que otros métodos podrían ser más idóneos (Norscia y Palagi 2011, Moyaho y col. 2019). En particular el método propuesto por Moyaho y col. (2019) ofrece varias ventajas sobre los otros, pues considera el uso de curvas de contagio con base en ventanas de tiempo de duración variable, y como control, la asignación aleatoria de la ubicación temporal de los bostezos registrados.

Para robustecer los argumentos y las explicaciones obtenidas, así como para poder extender las explicaciones a otros fenómenos similares, resulta importante ubicar el estudio los mecanismos del contagio del bostezo en una teoría más amplia. Algunos autores han intentado explicar el contagio del bostezo clasificándolo como un eco-fenómeno (Brown y col. 2017) y relacionándolo con otras conductas contagiosas, como la risa, el llanto o la comezón (Provine 2012, Yu y col. 2017). Actualmente no hay un consenso en cuanto a las similitudes y diferencias de los mecanismos y función de estos comportamientos, aunque las hipótesis correspondientes han tratado de construir una teoría centrada en la empatía.

2.2. Relación entre empatía y contagio del bostezo

2.2.1. Empatía

La empatía es un concepto amplio e inespecífico, en general se refiere al fenómeno de experimentar como propias las emociones y experiencias de otros individuos y con ello, el logro de interacciones sociales exitosas (de Waal 2008). Se ha considerado tanto como una capacidad que tienen o carecen los individuos, y como una habilidad que se tiene en mayor o menor medida entre individuos. Sin embargo, la manera más completa de verla es como un proceso, cuya expresión depende de la situación o contexto particular y de las diferencias de varios factores. Por ejemplo, Preston y de Waal (2002) han propuesto 5 factores que afectan la intensidad de la empatía:

1. La cercanía social, el grado de familiaridad o relación entre individuos;
2. La semejanza; es decir, cuánto de las características de uno mismo se perciben en otro sujeto;
3. El aprendizaje (implícito o explícito), los conocimientos que se adquieren a través del tiempo que puede cambiar la manera de empatizar;
4. La experiencia previa del sujeto con la situación por la que pasa el sujeto con quien empatiza;
5. La *prominencia*, que se refiere a cuan llamativa o fácil de percibir es la situación por la que pasa el sujeto a empatizar.

Preston y de Waal (2002) han propuesto que la empatía puede ser explicada mediante un modelo de percepción-ejecución. Este modelo explica un proceso en el que la reproducción involuntaria de una acción (o un comportamiento) por un observador ocurre debido a que, durante la percepción de una acción, se activa en el cerebro del observador una representación compartida basada en la experiencia previa del sujeto,

que desencadena dicho comportamiento (Figura 2.1). Los autores sostienen que tanto el mecanismo como la función del contagio del bostezo podrían explicarse con base en este mismo modelo.



Figura 2.1. Modelo de percepción-ejecución para la empatía. A. Una persona (sujeto) observa a otra (agente) que ha tenido un accidente. B. El percance evoca una representación mental del sujeto basada en sus experiencias previas, lo que produce una respuesta emocional y de comportamiento similar a la del agente (Basado en Preston y de Waal 2002).

2.2.2. Sistema de neuronas espejo

Un candidato del sustrato neurológico de la empatía es el sistema de neuronas espejo humano (SNEh) al que se ha atribuido una función de percepción-ejecución (Figura 2.2 a) consistente con el modelo referido arriba. Las motoneuronas que integran el SNEh exhiben la particularidad de activarse en el observador de manera similar durante la percepción de una acción a cuando las acciones son ejecutadas (Rizzolatti y Lupino 2001).

Rizzolatti y col. (1996) identificaron actividad del SNE en la corteza motora del mono Rhesus, más adelante identificaron todo un sistema que en el humano incluye regiones del giro frontal inferior, el lóbulo inferior parietal y la corteza motora (Figura 2.2 b). A este sistema se le atribuyeron las bases de la capacidad de entender las intenciones de los movimientos, la imitación de los movimientos, el aprendizaje imitativo, el desarrollo del lenguaje, incluso la organización social (Rizzolatti y Craighero 2004), e incluso el entendimiento del estado emocional de otros (Gallese y col. 2004) vinculando de otra forma con el fenómeno de la empatía. Ante tal multitud de funciones otros autores recomiendan cautela al establecer relaciones entre el SNEh y fenómenos cognitivos como el desarrollo del lenguaje y la evolución de la sociedad (Hickok 2009, 2014)

Se ha buscado relacionar al contagio del bostezo con el SNEh con diferentes resultados. Platek y col. (2005) utilizaron la técnica de neuroimagen por resonancia magnética funcional (fMRI por sus siglas en inglés) y no encontraron que se activaban regiones del SNEh al observar bostezos. Arnott y col. (2009) hicieron un estudio similar,

analizando los cambios observados en fMRI pero ahora utilizando grabaciones de audios de bostezos. Los autores identificaron actividad en el giro frontal inferior (parte del SNEh) cuando se escucharon audios de bostezo. Por otro lado Cooper y col. (2012) presentaron grabaciones de bostezo a sujetos voluntarios mientras les registraban su actividad eléctrica cerebral mediante electroencefalografía (EEG). Los autores encontraron que al observar los bostezos ocurría en los sujetos una mayor desincronización μ , una respuesta neurofisiológica atribuible a la actividad del SNEh (Mutsukumaraswamy y col. 2004)). No ocurrió lo mismo con movimientos simples de la boca (control).

El uso de la supresión μ como indicador de la actividad del SNEh y su relación con la empatía, ha sido controversial (Hamilton 2013, Fox y col. 2017). Existe evidencia que vincula esta medición electroencefalográfica con las mediciones por fMRI (Arstein y col. 2011), incluso señalando el origen de las oscilaciones μ observadas en el EEG en la región BA2 de la corteza somatosensorial (Figura 2.2 b), Otros autores han corroborado esta medición (la supresión μ) en primates no humanos (Bimbi y col. 2018) sin embargo algunos autores han cuestionado la implementación de esta medición (Hobson y Bishop 2016). Hay un consenso (Bowman y col. 2015, Hobson y Bishop 2017) en que para obtener conclusiones solidas al usar esta medición es importante establecer comparaciones claras durante los experimentos, tanto en tareas de observación como de ejecución (ver “Prueba de espejo” más adelante, sección 5.3.2).

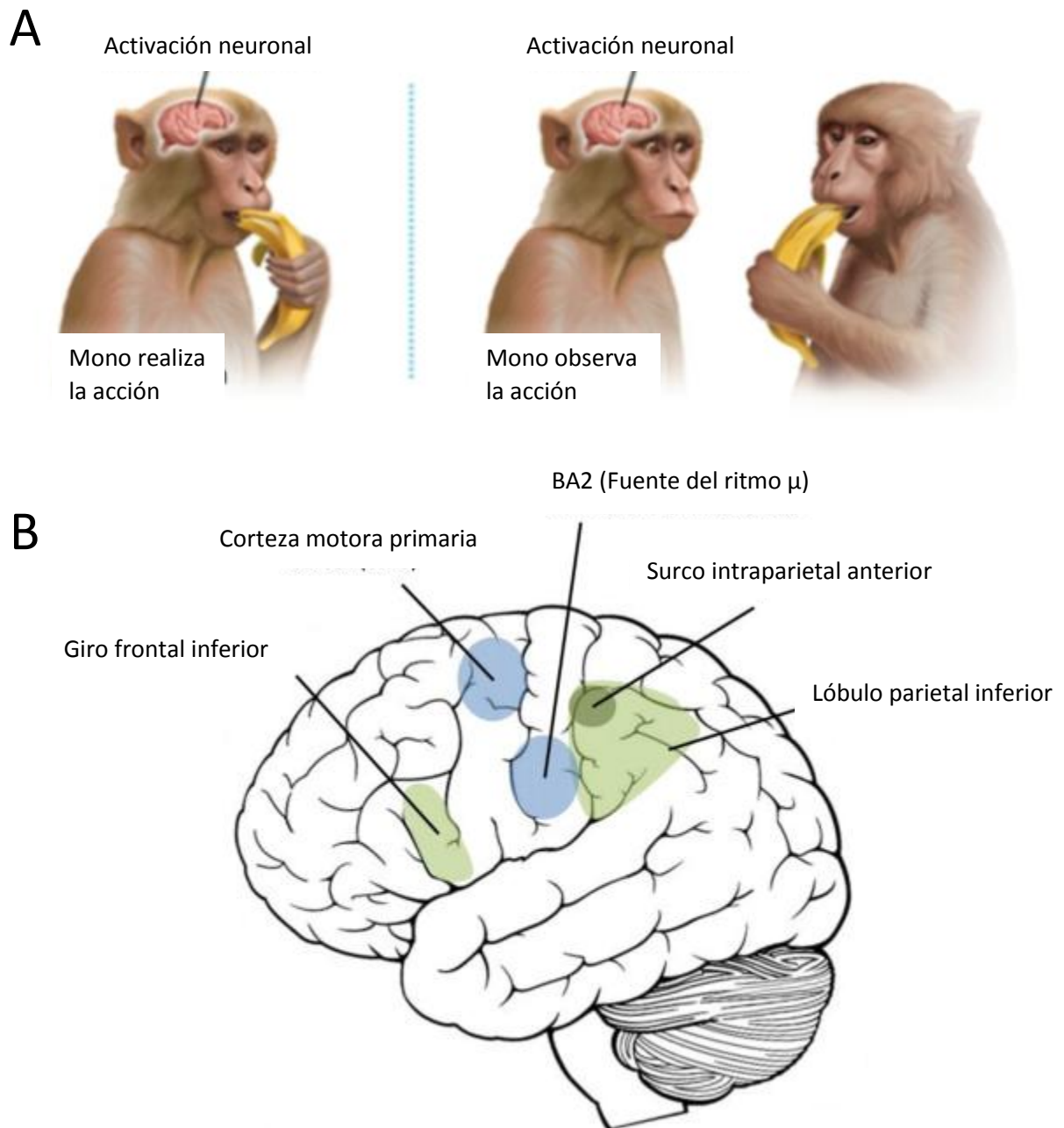


Figura 2.2. Sistema de neuronas espejo. A. Caricatura de la cualidad especular de este sistema. En la figura el mono que realiza la acción tiene actividad neuronal similar a la del mono que observa la acción. **B.** Regiones en el cerebro humano que componen el SNEh (Adaptado de Hamilton 2013).

2.2.3. Evidencia a favor y en contra de la hipótesis de empatía como base del contagio del bostezo

Hay estudios en los que se ha investigado, si las diferencias que existen en la expresión de la empatía entre los individuos podrían explicar las existentes en la susceptibilidad al contagio del bostezo. Por ejemplo, Norscia y Palagi (2011) recolectaron durante un año información de la ocurrencia del contagio del bostezo en humanos, y encontraron que la cercanía social entre éstos era la única variable que participaba significativamente para explicar las diferencias en la susceptibilidad al contagio. Estos autores argumentan que cuanto más cercanos socialmente son los individuos, también más empáticos resultan ser. Sin embargo, esta conclusión debe tomarse con cautela puesto que se consideró a la familiaridad como un sustituto de empatía sin hacer una medición puntual de esta.

Con otros estudios se ha buscado confirmar si hay alguna relación entre la susceptibilidad al contagio del bostezo y algunos rasgos característicos de trastornos psicológicos en los cuales la empatía se ve disminuida. Por ejemplo, Rundle y col. (2015) analizaron los rasgos psicopáticos mientras que Platek y col. (2003) los relacionados con la esquizofrenia. Estos autores encontraron correlaciones negativas entre la susceptibilidad al contagio del bostezo y algunos rasgos de esas condiciones psicopatológicas (e.g. la dificultad de reconocerse a uno mismo en el espejo). Sin embargo, el uso de las escalas auto-reportadas que utilizaron (IRI, Davis 1980 y SPQ, Raine 1991, respectivamente) son cuestionables, pues podrían ser inapropiadas para evaluar la habilidad o experiencia empática de los participantes (Baron-Cohen y Wheelwright 2004).

Baron-Cohen y Wheelwright (2004) han advertido que las escalas de autoreporte usadas para medir la empatía suelen determinar los resultados a partir de conductas sociales, lo que puede confundir la medición. Por ejemplo, una persona extrovertida podría obtener puntuaciones más altas que una introvertida, al reportar que pasa más tiempo con sus amigos. Por esta razón, los autores desarrollaron una escala que pretende evaluar de manera precisa la habilidad empática, enfatizando los aspectos emocional y cognitivo que son ignorados por las otras escalas. Con la aplicación de esta escala ("Empathy Quotient" o "Cociente de la empatía") a sujetos con trastorno del espectro autista (TEA), los autores encontraron que, a pesar de no existir un déficit intelectual, los sujetos presentaron un desarrollo disminuido de la empatía respecto a la población general.

El déficit en el desarrollo de la empatía en los sujetos con TEA cobra importancia cuando se consideran los estudios de Senju y col. (2007, 2009 y Usui y col. 2013) sobre el contagio del bostezo. Estos investigadores anticiparon que, si la empatía facilitaba el contagio del bostezo, entonces los sujetos con TEA mostrarían una susceptibilidad disminuida al contagio. En efecto, con sus estudios iniciales encontraron evidencia a favor de dicha disminución. Sin embargo, en sus estudios subsecuentes ellos encontraron que cuando los participantes enfocaron su atención sobre el estímulo, la modificación en la susceptibilidad al contagio del bostezo desaparecía. Este resultado sugiere que otros factores podrían estar participando en el contagio del bostezo, además de la empatía.

Bartholomew y Cirulli (2014) también han aportado evidencia acerca de la inconsistencia en la asociación entre la empatía y la susceptibilidad al contagio del bostezo. Estos autores analizaron la participación de factores múltiples, tales como el grado de inteligencia, los ritmos circadianos, la edad y el género de las personas, además de la empatía. Ninguno de estos factores, incluida la empatía, tuvo algún poder explicativo de la variación observada que superara al de la edad, incluso cuando ésta sólo explicara el 8% de la variación total de la respuesta.

Estudios en otros animales no humanos también contradicen las predicciones de la hipótesis de la empatía para el contagio del bostezo. Por ejemplo los resultados reportados por Moyaho y col. (2015) que indican que las ratas se contagiaban del bostezo pero solo cuando estas eran desconocidas y no cuando eran familiares. También, el caso reportado por van Berlo y col. (2020), en el que orangutanes –una especie de simios solitarios pero con estrechos lazos familiares- se contagiaron del bostezo cuando vieron bostezos de individuos conocidos o desconocidos indistintamente. Ambos ejemplos ofrecen evidencia de que el contagio del bostezo ocurre en otros animales y que no parece haber relación del papel de la empatía.

2.3. Una explicación alternativa para el contagio del bostezo

2.3.1. Ventaja hemisférica

El cerebro está compuesto por dos hemisferios, y cada uno de ellos se especializa en el procesamiento de información particular y a la vez diferente; por ejemplo, cada hemisferio procesa la información aferente y eferente de las extremidades de uno u otro lado contralateralmente. Casi siempre esta división funcional es simétrica, sin embargo, en algunos casos es asimétrica; es decir, cierto proceso ocurre preferente o únicamente en un lado o hemisferio cerebral. En estos casos excepcionales se dice que hay una ventaja hemisférica o asimetría funcional para la realización de alguna tarea en particular, o que dicha tarea se encuentra lateralizada (Wada 2009).

La ventaja hemisférica puede ocurrir en procesos motores o perceptuales, como cuando se tiene una mano dominante con la que escribimos mejor, o un ojo con el que apuntamos preferentemente un arma. Estas ventajas hemisféricas también pueden estar relacionadas con procesos cognitivos: el lenguaje es un ejemplo bien estudiado por autores como Broca y Wernicke (Tabla 2). También se ha sugerido que otros procesos cognitivos, como el auto-reconocimiento, presentan una ventaja hemisférica (Keenan y col. 1999, Figura 2.3).

Tabla 2. Asimetrías funcionales asociadas a los hemisferios cerebrales en humanos.

Hemisferio Izquierdo	Hemisferio Derecho
Aspectos Motores	
Actividad motora fina	Actividad motora gruesa
Funciones motoras complejas	Mímica y gestualidad facial
Aspectos perceptuales	
Predomina en formación del esquema corporal	Predomina en reconocimiento de rostros
Predomina para la orientación espacial egocéntrica	Predomina para la orientación espacial alocéntrica
Aspectos del lenguaje	
Lenguaje comprensivo	Regula aspectos prosódicos del lenguaje
Predomina en procesos de lectura	Regula aspectos emotivos del lenguaje
Predomina en memoria verbal	Interviene en la creatividad literaria
Otros aspectos cognitivos	
Predomina durante análisis matemáticos	Predomina durante análisis espaciales

Basado en Portellano-Pérez 2009

Estudiando el contagio del bostezo, Platek y col. (2003) encontraron que únicamente los sujetos que mostraron una ventaja hemisférica derecha (alrededor del 60%) en una tarea de auto reconocimiento se contagiaron del bostezo. Los sujetos que mostraron una ventaja hemisférica izquierda en esa misma tarea no se contagiaron del bostezo. Esta relación ha sido ignorada, a pesar de que se ha reportado en dos estudios (Platek y Gallup 2002, Platek y col 2003). Si bien el significado de esta relación no es claro, si es una de las pocas evidencias que sugiere la participación de algún factor (la ventaja hemisférica) en las diferencias en la susceptibilidad al contagio del bostezo.

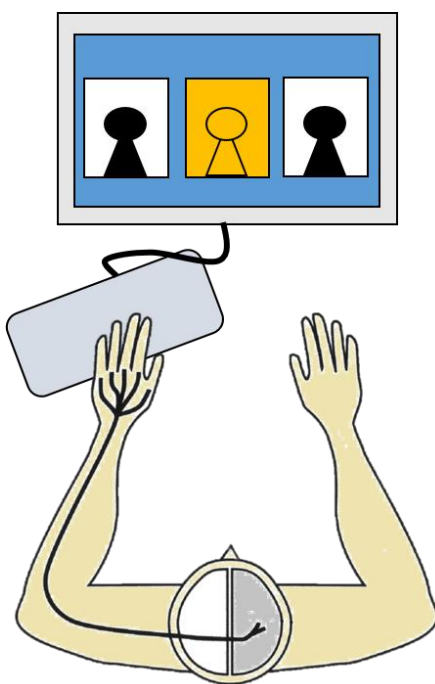


Figura 2.3. Método para evaluar la ventaja hemisférica en una tarea de auto-reconocimiento. El investigador presenta a un participante una selección de dos o tres fotos de rostros, incluida una de éste. Se le indica que elija la foto que corresponde a su rostro presionando con su mano una tecla (en un teclado convencional). Alternando la ejecución de la tarea entre la mano derecha e izquierda se evalúa la velocidad y precisión del participante (basado en Kennan y col. 1999).

2.3.2. Una imagen completa vs. Explicaciones parciales en los mecanismos del contagio del bostezo

Recientemente algunos autores han propuesto explicaciones alternativas para el contagio del bostezo. Así, Brown y col. (2017) encontraron que mediciones de excitabilidad e inhibición cortical, obtenidas después de la aplicación de estimulación magnética transcraneal (TMS por siglas en inglés) en regiones motoras del cerebro, explican alrededor del 40% de la variación registrada en el número de veces que una persona bosteza contagiosamente. La explicación de los resultados de otro estudio (Yu y col. 2017) sobre el contagio del rascado en ratones, podría sugerir una explicación similar para el contagio del bostezo. Los autores del estudio encontraron que el péptido liberador de gastrina (GRP por sus siglas en inglés) en el núcleo supraquiasmático está involucrado en el contagio del rascado contagioso en el ratón. Sin embargo, los mismos autores coinciden en que la participación de este péptido es sólo una parte de todo el mecanismo que subyace al contagio. También los resultados que Chan y Tseng (2017) han reportado nos ofrecen, al menos en parte, otra explicación: los sujetos que pueden reconocer mejor los gestos asociados al bostezo, son más susceptibles a contagiarse de él.

En conjunto estos estudios ofrecen explicaciones parciales, unas basadas en correlaciones fisiológicas particulares, que resultan en conclusiones del contagio del bostezo limitadas. Evidentemente el bostezo no es una respuesta directa al estímulo meramente sensorial; es necesario reconocerlo como un bostezo. También es previsible que cuanto mayor excitabilidad (o menor inhibición) cortical haya, más fácil será que se produzca una respuesta motora. Y aun cuando fueran identificados mecanismos

moleculares responsables de la respuesta (rascado en el ratón), no sería suficiente para una explicación completa.

Aun cuando el estudio de aspectos particulares del contagio del bostezo puede ayudar a entenderlo mejor, el problema central persiste: ¿cuál es el mecanismo (cognitivo o fisiológico) que produce el impulso de bostezar cuando se percibe un bostezo? Para comenzar a resolver este problema es necesario llevar a cabo un estudio que considere varios aspectos al mismo tiempo, y que contraste los resultados de diferentes explicaciones. De este modo, podremos enmarcar el estudio del contagio del bostezo en una teoría más amplia.

Con base en lo expuesto anteriormente, en este estudio he buscado responder a las siguientes preguntas:

- ¿Es suficiente la empatía para explicar el contagio del bostezo?
- ¿Cuál es la relación entre la empatía, el sistema de neuronas espejo y el contagio del bostezo?

3. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

1. Hipótesis de la empatía.

El grado de empatía experimentado determina la actividad del sistema de neuronas espejo y la susceptibilidad al contagio del bostezo.

Si esta hipótesis es cierta puede esperarse que se cumplan las siguientes predicciones:

- Ocurrirá mayor cantidad de bostezos provocados cuanto más fácil sea empatizar con el bostezador.
- La actividad de las neuronas espejo se incrementará cuanto más fácil sea empatizar con el bostezador.

2. Hipótesis de la ventaja hemisférica.

El contagio del bostezo es un proceso lateralizado.

Si esta hipótesis es cierta puede esperarse que se cumplan las siguientes predicciones:

- Ocurrirán bostezos provocados frecuentemente cuando se escuchen con un oído particular.
- La respuesta electrofisiológica cerebral será asimétrica (diferente para cada hemisferio) cuando se perciban bostezos en comparación a cuando se perciban otros comportamientos.

4. OBJETIVOS

Objetivo general:

Identificar el o los factores (sociales, psicológicos o fisiológicos) que determinan el contagio del bostezo en el humano.

Objetivos particulares:

1. Medir la actividad cortical relacionada al sistema de neuronas espejo (SNEh) mediante el cálculo de la supresión μ , para evaluar la relación del SNEh con el contagio del bostezo
2. Modificar la empatía que experimenta un observador ante un sujeto bostezador, variando entre bostezadores con género y edades similares o diferentes al observador, Para medir el efecto que los cambios en la empatía tienen en la susceptibilidad al contagio del bostezo;
3. Identificar las posibles asimetría hemisféricas asociadas al bostezo mediante electroencefalogramas (EEG), para evaluar su relación con el contagio del bostezo;
4. Modificar la ventaja hemisférica en un sujeto cuando percibe un bostezo haciendo que escuche grabaciones de bostezos por cada oído independientemente, para medir el efecto que esa ventaja hemisférica tiene en la susceptibilidad al contagio del bostezo.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Puse a prueba las predicciones de la hipótesis de la empatía y de la ventaja hemisférica realizando dos experimentos sucesivos, uno para cada hipótesis. En el primer experimento usé videos con actores de diferentes edades y géneros para modular (incrementar o reducir) la empatía que los participantes experimentaban por otro individuo (agente) mientras percibían los bostezos. En el segundo experimento presenté auditivamente los bostezos selectivamente a uno u otro oído para determinar el hemisferio cerebral que los participantes utilizaban para procesar el estímulo. En ambos casos usé un protocolo de bostezo provocado con participantes voluntarios. Además, registré la actividad cortical de éstos mediante EEG. Con estos experimentos evalué los efectos de los tratamientos en la susceptibilidad al contagio del bostezo y en la actividad cortical (del SNEh) de los participantes.

Los experimentos fueron realizados en las instalaciones del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, siguiendo los lineamientos institucionales. Todos los experimentos se llevaron a cabo entre la primavera del 2018 y el invierno del 2019.

5.1. Participantes

Recluté 91 voluntarios (edad promedio 20.3 ± 2.5 años, 57 mujeres y 34 varones) de la población de alumnos del nivel licenciatura de diferentes unidades académicas (UA) de la BUAP: Facultad de Medicina, Facultad de Ciencias Químicas, Facultad de Psicología y Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas. Seleccioné los grupos de alumnos mediante un proceso estratificado; es decir, aleatoriamente seleccioné una UA, luego un programa académico y finalmente dos grupos, cada uno perteneciente a una generación diferente (i.e. diferente año de ingreso). Después, con apoyo de las autoridades de cada UA, invité a los alumnos de cada grupo a participar en el estudio.

El reclutamiento se adhirió a los siguientes criterios:

Criterios de inclusión: Alumnos de licenciatura BUAP y con consentimiento por escrito.

Criterios de exclusión: Sin antecedentes de condiciones psicológicas o neurológicas graves y sin conocimiento del propósito del experimento

Criterios de eliminación: Fallar en completar las tareas de los experimentos o si el registro de EEG es demasiado ruidoso o con demasiados artefactos.

Antes de su participación, los voluntarios fueron informados sobre el tipo de tareas y mediciones a realizar, a lo cual dieron su consentimiento por escrito. El día de la prueba cada participante llenó un formulario con información general y demográfica (edad, género, mano dominante, horas de sueño), y completó una versión traducida de la escala de empatía “*Empathy Quotient*” (Anexo, Baron-Cohen y Wheelwright 2004) para obtener su “Cociente de empatía”, una medida de su habilidad empática. Finalmente, para motivar

a los voluntarios a participar y realizar las tareas del experimento se les dijo que serían remunerados; al terminar su participación cada voluntario recibió el equivalente a medio día de salario mínimo.

5.2. Medición de contagio del bostezo

5.2.1. Protocolo de bostezo provocado

Para estimular el contagio del bostezo utilicé un protocolo de bostezo provocado similar a los utilizados por otros investigadores (Platek y col. 2003, Senju y col. 2007, 2009, van Berlo y col. 2020). El protocolo consistió en presentar grabaciones (en audio o video) de dos tipos de estímulos a cada participante: i) bostezos y ii) otros estímulos a manera de control. Después, conté el número de bostezos provocados en cada condición (tratamiento). Para determinar si había contagio de bostezo comparé la proporción de veces que los participantes bostezaban dentro de una ventana de tiempo posterior a la presentación de los tratamientos.

En cada ensayo experimental el participante se situaba en un cuarto, sentado cómodamente frente a un monitor de computadora a una distancia aproximada de 50 cm (Figura 5.1). Los participantes utilizaban audífonos que cancelaban el ruido externo. Además, el cuarto permanecía cerrado para disminuir distracciones indeseables durante la prueba (la medición del ruido ambiental rondaba los 33dB adentro y 70dB afuera). Para contar el número de veces y el momento en que bostezaban, el comportamiento de los participantes fue videograbado sin su conocimiento (fueron informados al finalizar la prueba), debido a que se ha reportado que los bostezos disminuyen cuando las personas

saben que están siendo observadas (Gallup y col. 2016). El bostezo se definió como una amplia apertura de la boca, con la posición sostenida unos instantes y terminando con un cierre de la boca más rápido

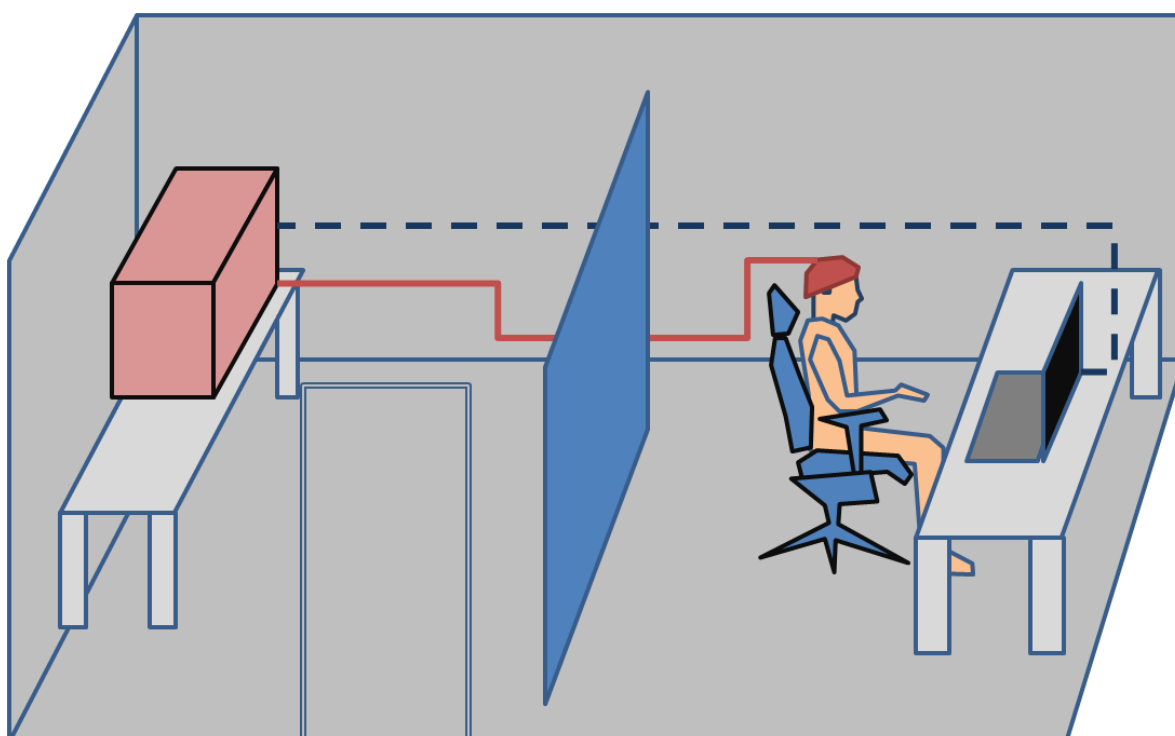


Figura 5.1. Esquema de arreglo experimental para el protocolo de bostezo provocado.

Se muestran un esquema de la habitación donde se llevaron a cabo los experimentos. La habitación se dividía en dos partes por medio de una cortina removible (azul). En un lado los participantes se sentaron frente a una computadora portátil donde se presentaron los estímulos audiovisuales. Del otro lado se encontraba el equipo de registro del EEG (rojo) conectado al participante quien usaba un gorro con electrodos para el registro y a la computadora para la sincronización de los estímulos (línea punteada). Durante los experimentos solo el participante se encontraba dentro de la habitación, y no podía ver hacia afuera de la habitación. El experimentador podía ver parcialmente al participante desde afuera a través de una ventana en la puerta de la habitación.

Cada ensayo experimental tuvo una duración aproximada de 32 min (Figura 5.2) y constó de cuatro etapas que describo a continuación brevemente:

1. Se pidió al participante que abriera y cerrara los ojos para corroborar la respuesta del EEG esperada (incremento de potencia absoluta en la banda alfa en las derivaciones occipitales).
2. Ejecución de la prueba del espejo. El participante veía una mano abrir y cerrarse y luego se le pedía que imitara el movimiento. Las mediciones de estas tareas se utilizarían para corroborar la actividad del SNEh.
3. Ejecución del experimento 1, protocolo con videoestímulos. El participante veía videos que incluían grabaciones de bostezos entre otros comportamientos.
4. Ejecución del experimento 2, protocolo con audioestímulos. El participante veía videos y escuchaba grabaciones de audios de bostezo entre otros sonidos.

El orden de los experimentos 1 y 2 fue contrabalanceado entre participantes. Cada ensayo experimental

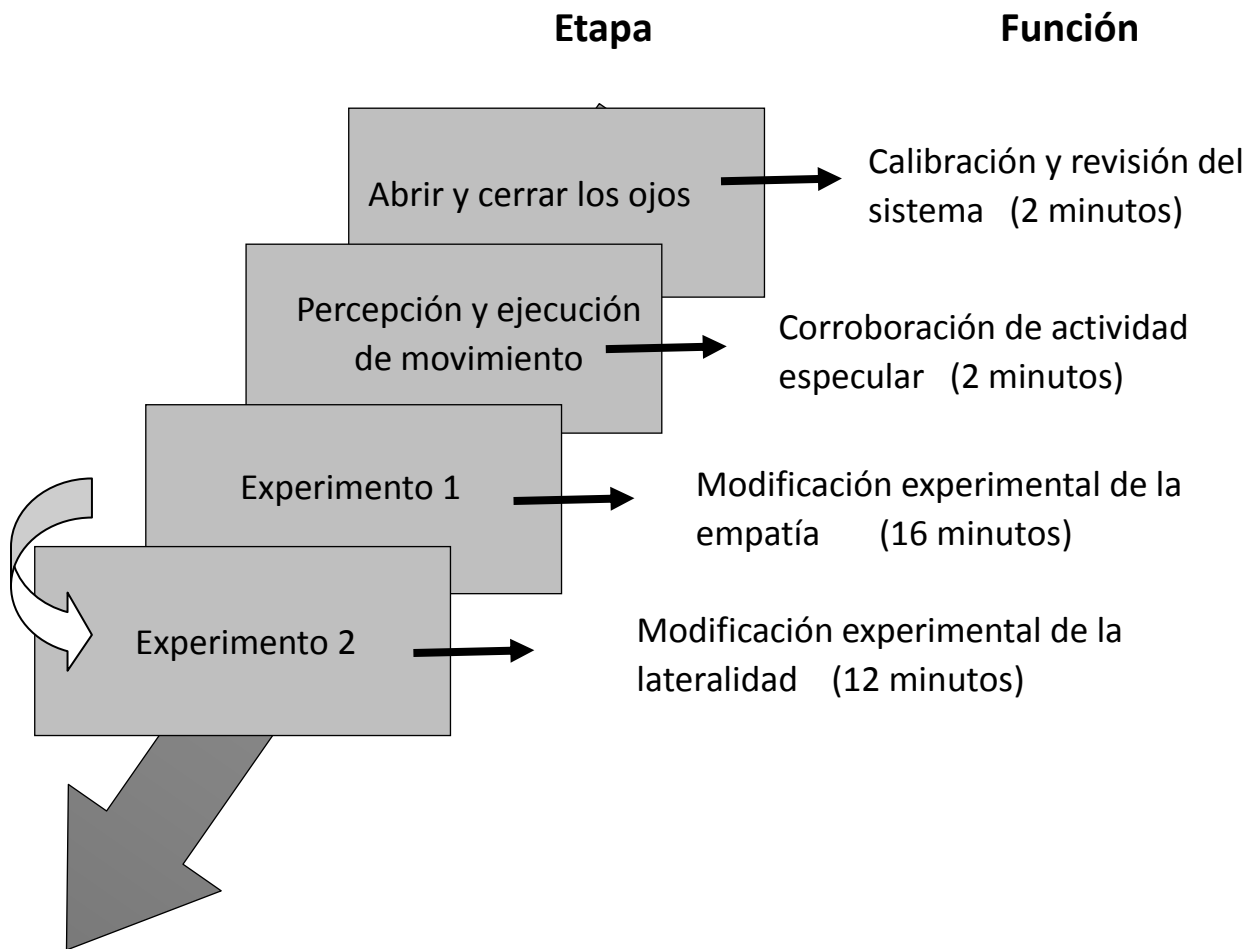


Figura 5.2. Esquema de flujo del protocolo de bostezo provocado. Se muestran las cuatro etapas en las que cada ensayo experimental fue dividido, así como su función dentro del experimento y duración (ver el texto para más detalles). El orden de los experimentos 1 y 2 fue contrabalanceado entre participantes.

5.2.2. Curvas de contagio del bostezo

También usé el método descrito por Moyaho y col, (2019) para obtener "curvas de contagio del bostezo". Brevemente, el método consiste en hacer un cálculo ponderado de la probabilidad de contagio usando ventanas de tiempo de duración creciente. El cálculo penaliza (aritméticamente) las ventanas de tiempo largas, por lo cual se evita la inflación de la probabilidad de contagio con ventanas de tiempo prolongadas (Kapitany y Nielson 2017). Después estas curvas de contagio de bostezo son comparadas con otras curvas elaboradas con los mismos datos, pero asignados aleatoriamente a lo largo del periodo de observación (i.e. conteo). Este método permite evaluar el contagio del bostezo sin asumir parámetros *a priori*, como son la duración de las ventanas de tiempo o las condiciones de control y de bostezo.

En específico, procedí como describo a continuación para obtener la curva de contagio observado:

1. Conté el número de bostezos espontáneos (aquellos que ocurrieron fuera de las ventanas de tiempo del contagio).
2. Dividí el número de estos bostezos entre el tiempo total de la prueba para obtener el índice de bostezos espontáneos.
3. Repetí el cálculo para obtener un índice de los bostezos contagiados, los que ocurrieron dentro de las ventanas de tiempo.
4. Obtuve una tasa de contagio restando el índice de bostezos espontáneos del índice de bostezos contagiados. Esta tasa de contagio nos indica si

hay contagio o no hay contagio, dependiendo de si es mayor o menor que cero, respectivamente.

5. Finalmente, repetí estos cálculos para todos los participantes que bostezó al menos una vez, y para ventanas de tiempo de diferentes tamaños

La tasa de contagio puede expresarse mediante la siguiente ecuación:

$$Tasa\ de\ contagio = \frac{\text{Numero de bostezos } \mathbf{dentro} \text{ de la ventana de contagio}}{\text{Tamaño de la ventana de contagio}} - \frac{\text{Numero de bostezos } \mathbf{fuera} \text{ de la ventana de contagio}}{\text{Tamaño de la ventana de contagio}}$$

Luego construí la curva de contagio aleatorio; es decir, la que sirve de control de la construida con base en los bostezos observados. Para construirla tomé el número de bostezos que ocurrieron en cada ensayo, tanto del participante como de las grabaciones (videoestímulos y audioestímulos), y los reordené aleatoriamente en el tiempo de duración del ensayo. Después, seguí los mismos pasos que usé para construir la curva de contagio observado.

5.3. Registro electroencefalográfico (EEG)

Durante los experimentos registré la actividad EEG de cada participante. Antes de iniciar el registro explicábamos brevemente a cada participante el procedimiento que seguiríamos: preparábamos su cuero cabelludo (con etanol al 80% y pasta abrasiva marca “Nu Prep”) y le colocábamos los electrodos (ver la descripción más adelante) adicionados con gel conductor “Electro-Gel”. Finalmente, corroborábamos la calidad del registro y la comodidad del participante. El procedimiento duraba entre 15 y 25 minutos, dependiendo de cada caso y era realizado por un par de experimentadores.

Para los registros de EEG se usó un gorro con electrodos de estaño (Electro-Cap, 54-58 cm de circunferencia) de 18 canales en un montaje monopolar con derivaciones simétricamente distribuidas de acuerdo con el sistema 10-20 (Figura 5.3) y una referencia común promedio (*common average reference* en inglés), Usé las derivaciones en los puntos C3 y C4 para calcular la supresión μ , y las derivaciones de otros puntos para mediciones adicionales (e.g. corroborar incremento de la potencia absoluta en la banda de frecuencia alfa en occipitales O1, O2, cuando se cierran los ojos). Realicé los registros con un sistema de amplificador *SynAmps I* de *Compumedics Neuroscan*, manteniendo impedancias en los electrodos menores a 10 k Ω . Y usé un formato de registro continuo a una frecuencia de adquisición de 500 Hz y con un filtro notch a 60 Hz y un pasabajas a 60 Hz con una ganancia de 12 dB

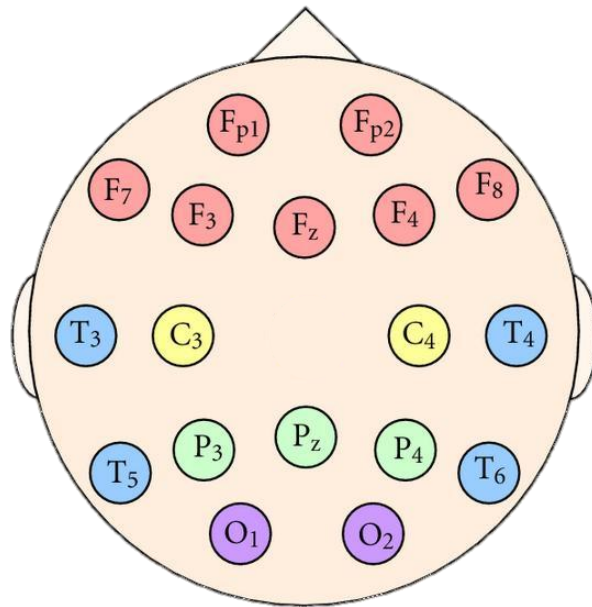


Figura 5.3. Esquema del arreglo de los electrodos para el registro de EEG. El arreglo consiste de 18 canales en un montaje monopolar con derivaciones simétricamente distribuidas de acuerdo con el sistema 10-20 y con una referencia promedio común (*common average reference* en inglés). El electrodo de tierra se colocó entre los puntos C3 y C4.

5.3.1. Estimación de la supresión μ

Utilicé la medida de supresión μ como un indicador de la actividad relacionada con el SNEh (Cooper y col. 2012, ver Fox y col. 2015 para una revisión). Tal supresión también es llamada desincronización relacionada a eventos (DRE) en la banda de frecuencia μ . Brevemente, la DRE se refiere al decremento de la potencia absoluta, relativo a un intervalo de referencia, en la banda de frecuencia de 8-12 Hz del EEG sobre derivaciones C3 y C4 asociadas con áreas sensoriomotoras.

Realicé los cálculos de supresión μ usando una rutina personalizada (“*custom script*”) usando el paquete “*Fieldtrip toolbox*” (Oostenveld y col. 2011) diseñado con el programa MATLAB. Comencé con el pre procesamiento de la señal usando solo las derivaciones C3 para el hemisferio izquierdo y C4 para el hemisferio derecho; apliqué un filtro pasa banda de de 8 a 12 Hz y segmente las el registro en épocas de 5 segundos con base en la presentación de cada estímulo (-1000 a 4000 ms). El inicio de los estímulos estaba sincronizado mediante un pulso con la adquisición del registro del EEG.

Después, seguí el procedimiento recomendado por Pfurtscheller y daSilva (1999, ecuación 1); es decir, calculé la DRE como la sumatoria de la potencia del periodo activo (1000 a 2000 ms) menos la sumatoria de la potencia del periodo de referencia (-1000 a 0 ms), luego lo dividí entre esta misma sumatoria (de referencia) y lo multiplique por 100. De tal manera que la desincronización quedó expresada en valores negativos y como un porcentaje del valor del intervalo de referencia (Figura 5.4).

$$DRE\% = \frac{A-R}{R} \times 100 \quad (1)$$

R= Potencia del intervalo de referencia o línea base.

A= Potencia del intervalo de la fase activa.

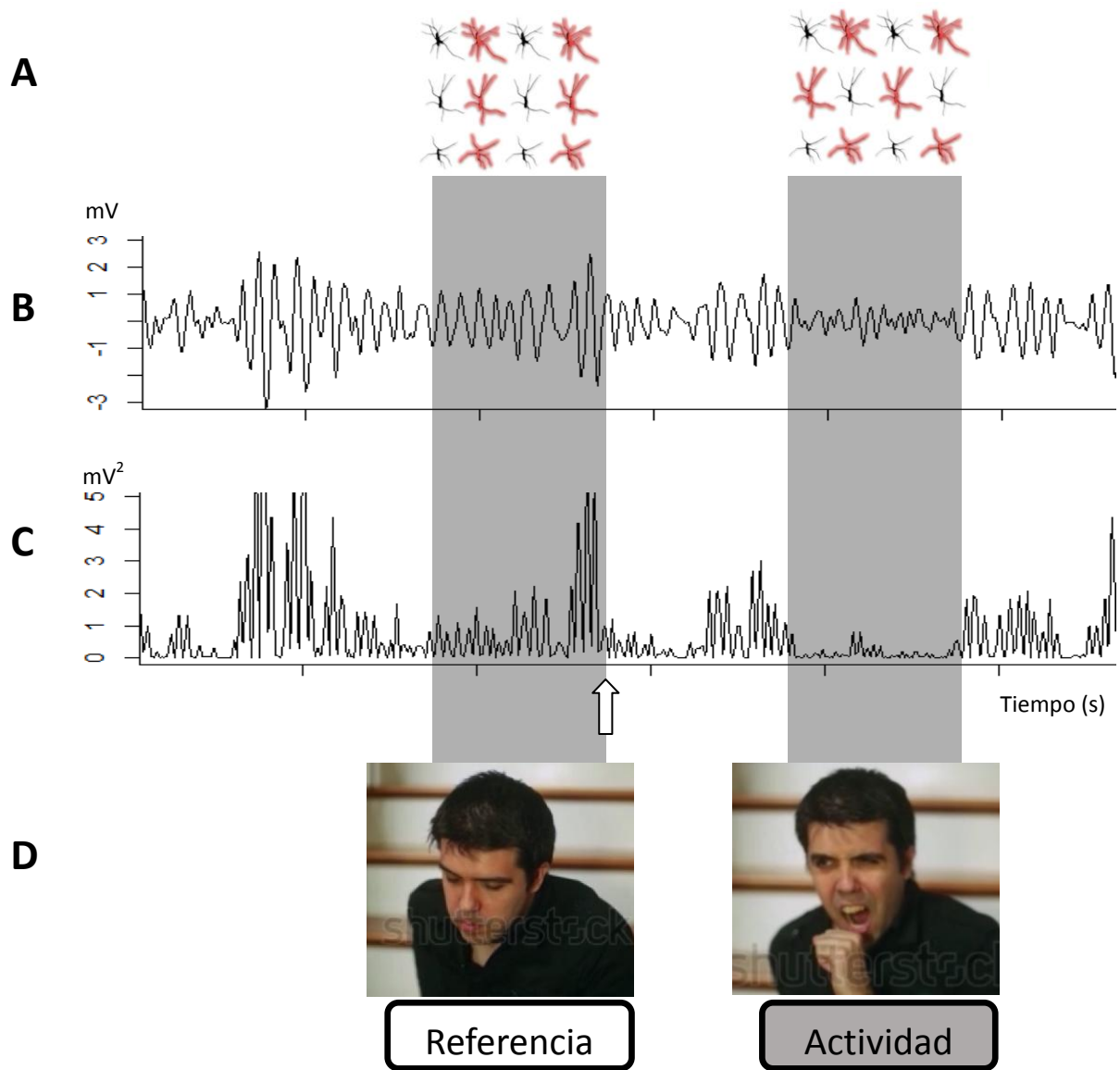


Figura 5.4. Registro EEG y estimación de la supresión μ . **A.** Representación de la actividad neurológica que produce el fenómeno. **B.** Trazo representativo del EEG durante la percepción del estímulo después de aplicar un filtro pasa-banda de 8 a 12 Hz. **C.** Se eleva la amplitud al cuadrado para obtener valores positivos. Para el cálculo de la DRE tomé como referencia los 1000 ms previos a la presentación del estímulo y lo comparé con el periodo activo (1000 a 2000 ms posterior a la presentación del estímulo): la flecha indica el inicio de la presentación del estímulo. La supresión μ se expresa como un porcentaje. **D.** Ejemplo de la actividad que el participante observa o ejecuta en cada periodo.

5.3.2. Prueba de espejo

Realicé una prueba que denominé “prueba de espejo” como un control para fortalecer la interpretación de los resultados de las mediciones electrofisiológicas relacionadas con el SNEh (Hobson y Bishop 2017). Esta prueba consistió en medir la supresión μ de los sujetos en respuesta a tres tareas: i) ver una mano mover los dedos en secuencia; ii) realizar los mismos movimientos observados, ahora con su propia mano; iii) cerrar los ojos, a manera de control de los dos anteriores. En esta prueba se espera que la supresión μ (%DRE menor a cero) ocurra durante las dos primeras tareas, pero no en la tercera tarea.

Con este fin, se les indicó a los participantes cerrar los ojos por un periodo de 10 segundos, se calculó la supresión μ de un segundo en medio de esta tarea (i.e. segundo 5 después de la indicación). También cada participante vio un video de 10 segundos de una mano tocando la punta de cada dedo con el pulgar, se calculó la supresión μ del segundo dos después de que inició el video. Y Finalmente se le indicó a cada participante que repitiera la misma acción que vio en el video (i.e. tocar sus dedos con el pulgar de la misma mano) y se calculó la supresión μ del mismo modo.

5.4. Experimento 1. Efecto de la empatía

Para poner a prueba experimental las predicciones de la hipótesis de la empatía use videgrabaciones (videoestímulos) para modificar la empatía que experimentaban los participantes durante el protocolo de bostezo provocado. Preston y de Waal (2002) han argumentado que el efecto de la empatía aumenta cuanto mayor es la similitud del sujeto con el individuo a empatizar (agente). En efecto, Batson y col. (1981) encontraron que cuando los individuos son demográficamente similares actúan con mayor empatía, lo cual ha sido corroborado (Avenanti y col. 2010).

En este experimento utilicé 16 videos (seleccionados de un repositorio digital) con diferentes actores o “agentes” (hombres, mujeres, niños, jóvenes y adultos mayores) y aproveché las diferencias de género y edad entre sujeto y agente para variar el grado de empatía (i.e. actores y agentes más o menos similares). En particular, una mitad de los videoestímulos (8 videos) fueron interpretados por hombres y la otra mitad por mujeres; igualmente, una mitad fueron interpretados por jóvenes, y la otra por adultos mayores o por niños. De esta forma, e independientemente del género y la edad del participante, una mitad de los casos fueron similares y la otra mitad diferentes al observador, tanto para el género como para la edad (Tabla 5.1).

Finalmente, una mitad de los videoestímulos mostraron bostezos y la otra mitad fueron videos control (i.e. No-bostezo). Los controles fueron videos con los mismos escenarios, contextos y actores pero sin que éstos realizaran bostezos. De manera similar, una mitad de los videos incluían una pista visual y auditiva para llamar la atención del

participante al estímulo (cruz blanca y campana respectivamente), la otra mitad no. La razón es que se ha observado que el contagio del bostezo puede estar mediado por la atención, además de la empatía (Senju y col. 2009 y Usui y col. 2013). Así, en la mitad de los videoestímulos se dirigía la atención del sujeto al comportamiento del agente.

Tabla 5.1. Características de los agentes en los videoestímulos¹

Estímulo	Género	Edad ²	Pista de atención	Similitud sujeto-agente con participante mujer joven ³
1	Hombre	Joven	Con pistas	Diferente / Similar
2	Mujer	Joven	Con pistas	Similar/ Similar
3	Hombre	Joven	Sin pistas	Diferente / Similar
4	Mujer	Joven	Sin pistas	Similar/ Similar
5	Hombre	Adulto mayor	Con pistas	Diferente / Diferente
6	Mujer	Infante	Con pistas	Similar / Diferente
7	Hombre	Infante	Sin pistas	Diferente / Diferente
8	Mujer	Adulto mayor	Sin pistas	Similar / Diferente

¹Estos ocho videoestímulos se utilizaron en su versión de tratamiento con bostezo y sin bostezo (control). ²Las categorías de edad no tuvieron un rango preciso, una estimación es: Infante <12 años; joven >16 y < 40 años, adulto mayor > 50años. ³ La similitud sujeto-agente cambiaría para un participante joven hombre.

Utilicé un total de 16 videoestímulos únicos (Tabla 5.1) cada uno con una duración aproximada de 30 segundos. Cada uno fue seguido por un video breve, con la misma duración y formato, a manera de estímulo distractor. Por lo tanto el intervalo interestímulo (o ventana de contagio) fue de 60 s. Ninguno de los videos utilizados tuvo audio propio, durante el ensayo se reproducía una pista de sonido ambiental. El material audiovisual fue colectado de bancos de audio y video, libremente disponibles en internet.

5.5. Experimento 2. Ventaja hemisférica

Para poner a prueba experimental las predicciones de la hipótesis de la ventaja hemisférica utilicé un protocolo de bostezo provocado con audioestímulos. Presenté grabaciones del audio de bostezos o audios controles a los participantes y evalué si producían contagio de bostezo.

Para manipular la ventaja hemisférica durante la percepción de un bostezo, expuse a los participantes a audioestímulos monoaurales (i.e. únicamente por uno de los dos audífonos, seleccionado aleatoriamente). De esta manera logré que la información sensorial se decusara y se procesara preferentemente con uno u otro hemisferio cerebral (Figura 5.5., Kimura 1967). Una mitad de los audioestímulos fueron grabaciones de bostezos y la otra mitad fueron las mismas grabaciones, pero editadas para reproducirlas en reversa, lo que sirvió como un control. Cada participante escuchó 5 bostezos y 5 controles con el oído izquierdo, y las mismas grabaciones pero con el oído derecho.

Cada ensayo experimental consistió en la presentación de los 20 audioestímulos de aproximadamente 6 s de duración en orden aleatorio, con un intervalo interestímulo (o ventana de contagio) de 35 s. La pantalla presentaba escenas de paisajes con una sutil pista de audio (50% del volumen de los estímulos) a manera de distracción. Utilicé los mismos materiales para este protocolo que los que usé en el experimento 1. Cada ensayo experimental tuvo una duración aproximada de 13 minutos.



Figura 5.5. Manipulación de la ventaja hemisférica. Durante el protocolo de bostezo provocado con audioestímulos, el participante escucha grabaciones monoaurales que son reproducidas solo por uno de los dos audífonos. El estímulo, bostezo o control (la misma grabación pero invertida), es procesado preferentemente con el hemisferio contralateral.

5.6. Diseño experimental y análisis estadístico

Utilicé un diseño experimental multifactorial cruzado o “*cross over*” (Moyaho y Beristain-Castillo 2019). Cada participante recibió todos los tratamientos, primero los 16 videoestímulos en orden aleatorio, y luego, también en orden aleatorio, los 20 audioestímulos; o viceversa, primero los audioestímulos (Tabla 5.2). Además, incluí a la unidad académica como criterio de bloquización. La definición de las variables que incluí en los análisis estadísticos está descrita en la tabla 5.3.

Tabla 5.2. Plan del diseño experimental cruzado utilizado en este estudio.

Participante	Tratamientos							
	Experimento 1. Videoestímulos ¹				Experimento 2. Audioestímulos			
	1	2	...	16	1	2	...	20
1								
2								
...								
91								

¹El orden de la aplicación de los experimentos 1 y 2 fue contrabalanceado entre los participantes.

Tabla 5.3. Descripción y clasificación de las variables del estudio usadas en los análisis estadísticos.

Variable	Descripción	Tipo de variable	Experimento en que se usó
<u>Variables independientes (explicativas)</u>			
Número de estímulo	Número del estímulo (audio o video) dentro del protocolo. Una medida del avanzar del tiempo durante la prueba	Continua	Ambos
Bostezo vs Control	Si la grabación incluía el bostezo o control	Dicotómica	Ambos
Presencia de pistas de atención	Presencia de cruz blanca y una campanada en el videoestímulo	Dicotómica	1 Audioestímulos
Edad similar entre sujeto y agente	Si la edad del agente y del participante estaban en el mismo grupo de edad	Dicotómica	1 Audioestímulos
Género similar entre sujeto y agente	Si el género del agente y del participante era el mismo	Dicotómica	1 Audioestímulos
Sexo del agente	Género del agente en el videoestímulo	Dicotómica	1 Audioestímulos
Género del sujeto	Género del participante	Dicotómica	Ambos
Cociente de empatía	Calificación de la prueba ("test") de empatía	Continua	1 Audioestímulos
Tarea	Diferentes tareas previas al protocolo de bostezo	Discreta	Prueba del espejo
Lado del estímulo	Oído que escuchó los audioestímulos	Dicotómica	2 Audioestímulos
<u>Variables dependientes (respuesta)</u>			
Probabilidad de contagio	Presencia o ausencia de bostezo provocado	Dicotómica	Ambos
Supresión μ^1	Intensidad de la supresión μ (%ERD)	Continua	1 Audioestímulos

¹Supresión μ también fue usada como una variable independiente en algunos análisis. Puede ser para hemisferio izquierdo y hemisferio derecho.

Para el análisis estadístico de los datos utilicé modelos lineales generales mixtos (MLM) cuando los datos siguieron una distribución normal, y modelos lineales generalizados mixtos (MLGM, “GLMMs” por sus siglas en inglés) cuando siguieron alguna de las otras distribuciones de la familia exponencial. Para corroborar la normalidad de los datos apliqué una prueba Shapiro-Wilk. Asimismo, apliqué un procedimiento de simplificación del modelo (Crawley, 2002); primero incluyendo todas las variables independientes y luego removiendo aquellas que no explicaban significativamente variación en la respuesta (i.e. la variable dependiente). El resultado de este procedimiento es un modelo mínimo adecuado, es decir, el modelo que sólo contiene variables explicativas con un efecto significativo.

Construí las curvas de contagio (Moyaho y col. 2019) y ejecuté todos los análisis estadísticos en el programa R (R Core Team 2020).

6. RESULTADOS

Excluí a 7 participantes ($n = 84$) de los análisis estadísticos basado en los criterios de eliminación (Sección 5.1): 2 no concluyeron el protocolo de bostezo provocado; los videos de 2 participantes no se grabaron correctamente; 3 participantes tuvieron registros de EEG deficientes (impedancias $>10k\Omega$, o con ruido excesivo).

Dividí los resultados de los análisis estadísticos en cuatro secciones las cuales describiré más adelante:

- 1) Curvas de contagio del bostezo. En esta sección evalué de manera general la ocurrencia del contagio del bostezo;
- 2) Efecto de la empatía en la probabilidad de contagio del bostezo. En esta sección veo si se cumplieron las predicciones de la hipótesis de la empatía, y cumulo el primer y segundo objetivo particular de esta tesis;
- 3) Respuesta neurofisiológica en función las diferencias del bostezo y la empatía. En esta sección identifico aspectos particulares de la función del cerebro durante la percepción de los videoestímulos dando respuesta a algunas de las predicciones de la hipótesis de la empatía y a la hipótesis de la ventaja hemisférica, y cumulo con el tercer objetivo particular de esta tesis;
- 4) Ventaja hemisférica en el contagio del bostezo. En esta sección apporto evidencia que responde las predicciones de la hipótesis de la ventaja hemisférica, y cumulo con el cuarto objetivo particular de esta tesis.

6.1. Curvas de contagio del bostezo

Construí curvas de contagio del bostezo a partir de los datos obtenidos de los 46 participantes que bostezaron al menos una vez, sin distinción entre los experimentos 1 y 2 (Figura 6.1). Hice las estimaciones para ventanas de tiempo desde 10 s hasta 1500 s (i.e. 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 600, 900, 1200 y 1500 segundos).

Apliqué un modelo lineal general para saber si la condición (datos observados vs datos aleatorios) y el tamaño de la ventana de contagio tuvieron efecto en la tasa de contagio. El resultado indicó la presencia de contagio del bostezo para los datos observados, pues hubo una diferencia estadísticamente significativa con la condición control ($t_{44} = 8.44, P < 0.001$). Además, el contagio ocurre en todas las ventanas de tiempo, dado que no encontré efecto del tamaño de la ventana de contagio ($t_{44} = -0.33, P = 0.73$).

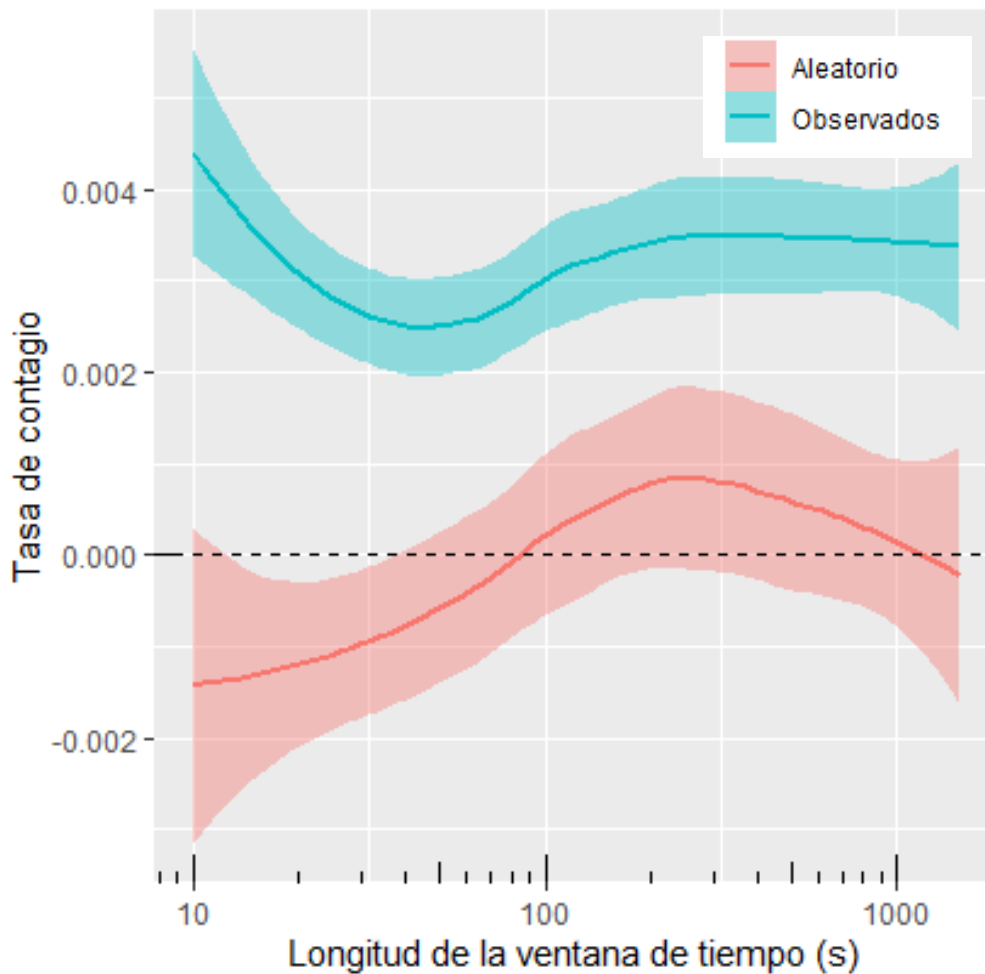


Figura 6.1. Curva de contagio del bostezo. Las líneas muestran el promedio \pm el intervalo de confianza al 95% de la tasa (intensidad) de contagio en función del tamaño de la ventana de tiempo del contagio (de 10 hasta 1500 s), nótese el uso de una escala logarítmica del tiempo. La curva de contagio de los bostezos observados y su franja del intervalo de confianza se mantienen por arriba de cero, lo cual indica que hay más bostezos contagiados que no contagiado. El intervalo de confianza de la curva control nunca sobrepasa de cero por lo que no hay contagio para esta.

6.2. Efecto de la empatía en la probabilidad de contagio del bostezo

Para analizar los resultados del experimento de la modificación de la empatía (Experimento 1) apliqué MLGM, específicamente los usé para evaluar el efecto de las variables explicativas en la probabilidad de contagio del bostezo. Removí las interacciones del modelo porque no fueron significativas. Tanto el modelo completo (Tabla 6.1) como el modelo mínimo adecuado indicaron que el tratamiento (i.e. control vs bostezo) y el número del ensayo fueron las únicas variables con un poder explicativo significativo.

El primero de estos resultados confirma que sí hubo contagio del bostezo, ya que los sujetos bostezaron más después de observar a los agentes bostezando que después de verlos haciendo otros comportamientos ($Z = 2.96$, $P = 0.003$, Figura 6.2 a). El segundo resultado indica que hubo una cantidad mayor de bostezos cuanto más avanzaba el tiempo de la prueba ($Z = 3.18$, $P = 0.001$, Figura 6.2 b). Sin embargo, no hallé evidencia de que las demás variables explicativas hubiesen modificado la probabilidad de contagio del bostezo (Figura 6.2c y d). Repetí el análisis estadístico excluyendo los ensayos control, pero aun así no hubo diferencia en los resultados.

Tabla 6.1. Resumen del modelo estadístico completo ajustado a los datos del experimento 1.

Efectos aleatorios		Varianza	Desviación estándar	
Sujeto Escuela ¹		12.861	3.586	
Escuela		0.047	0.218	
Efectos fijos	Coeficiente	Error estándar	Valor Z	Valor <i>P</i>
Bostezo vs Control	1.039	0.351	2.961	0.003
Supresión μ Hemisferio izquierdo	0.076	0.239	0.319	0.750
Supresión μ Hemisferio derecho	0.028	0.257	0.110	0.913
Cociente de empatía	-0.004	0.062	-0.057	0.955
Genero del participante	-1.371	1.230	-1.114	0.265
Sexo del Agente	0.462	0.377	1.226	0.220
Presencia de pistas de atención	-0.172	0.348	-0.496	0.620
Genero similar entre sujeto y agente	0.337	0.370	0.911	0.362
Edad similar entre sujeto y agente	-0.090	0.336	-0.267	0.789
Número de estímulo	0.132	0.041	3.188	0.001

¹Efectos aleatorios anidados (sujeto anidado en escuela).

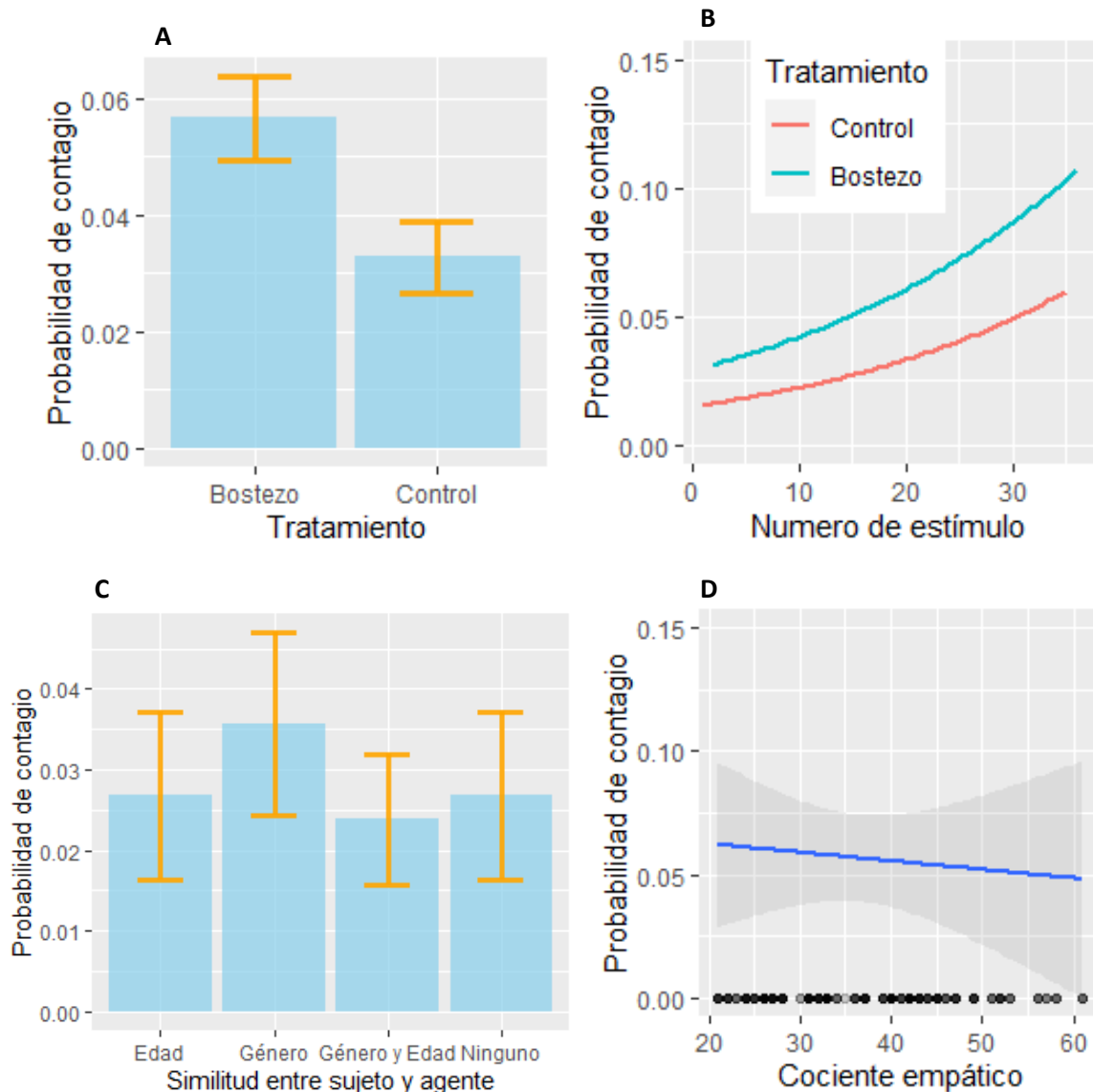


Figura 6.2. Efecto de la empatía en la probabilidad de contagio del bostezo. Cambios en la probabilidad de contagio en función de diferentes variables. Las barras en A y C muestran valores promedios \pm error estándar. Las curvas en B y D muestran el ajuste de un modelo de regresión logística a los datos. **A)** La probabilidad de contagio del bostezo fue más grande en respuesta a los videos de bostezo que a los videos control. **B)** La probabilidad de contagio del bostezo aumentó conforme avanzaba la aplicación del protocolo de bostezo provocado. **C)** No hubo diferencia en la probabilidad de contagio del bostezo en función de las combinaciones posibles entre la similitud de sujeto y agente. **D)** No hubo cambios en la probabilidad de contagio del bostezo en relación al cociente de empatía (Tabla 6.1).

6.3. Respuesta neurofisiológica ante las diferencias del bostezo y la empatía

6.3.1. Resultados de la prueba de espejo

Comparé la supresión μ de los sujetos en respuesta a tres tareas: i) ver una mano mover los dedos en secuencia; ii) realizar los mismos movimientos observados, ahora con su propia mano; iii) cerrar los ojos, a manera de control de los dos anteriores. Apliqué tres MLGMs para evaluar el resultado de la prueba de espejo; uno para evaluar el efecto de las 3 tareas en la respuesta de ambos hemisferios cerebrales, y dos modelos adicionales para estudiar con más detalle las interacciones estadísticas que encontré con el primero.

El resultado del análisis indica que la supresión μ ocurre de manera similar en ambos hemisferios cerebrales ($t_{82} = -0.11$, $P = 0.907$). La supresión μ ocurre cuando la acción manual es realizada por el sujeto (tarea "Mover"), pero no cuando se ejecuta la tarea control (Ojos cerrados, $t_{82} = -2.05$, $P = 0.04$). Así mismo, únicamente durante la tarea de observación de la acción manual la supresión μ es más intensa (valores de %DRE más negativos) cuanto más altos fue el cociente de empatía de cada sujeto. Estos resultados (Tabla 6.2) cumplen la expectativa de la prueba y confirman la validez de la supresión μ como un indicador confiable de la actividad del sistema de neuronas espejo. En particular, la interacción indica que la supresión es mayor (%DRE más negativo) en los participantes con valores altos de cociente de empatía cuando solo ven el movimiento, siendo esta tarea la única donde se esperaría tal relación.

Además, siguiendo las recomendaciones de Fox y col. (2017) analicé en una sub muestra de los participantes para corroborar que las oscilaciones μ se originan en regiones sensoriomotoras (Anexo).

Tabla 6.2. Resumen del modelo estadístico completo ajustado a los datos de la prueba de espejo.

Efectos fijos	Coefficiente	Error estándar	Valor t	Valor P
Hemisferio	-1.07E-04	9.15E-04	-0.117	0.907
Tarea “Mover” vs tarea “Ver”	-1.62E-02	5.32E-03	-3.051	0.002
Tarea “Mover” vs tarea “Cerrar ojos”	-1.01E-02	4.93E-03	-2.051	0.040
Cociente de empatía	1.04E-05	3.97E-05	0.263	0.792
Tarea “mover” : Cociente de empatía	-1.45E-04	1.07E-04	-1.349	0.177
Tarea “ver” : Cociente de empatía	2.16E-04	9.13E-05	2.363	0.018
Tarea “cerrar ojos” : Cociente de empatía	-4.08E-05	6.15E-05	-0.664	0.506
Tarea “ver” : Cociente de empatía (Hemisferio Izquierdo)¹	2.19E-04	7.10E-05	3.083	0.002
Tarea “ver” : Cociente de empatía (Hemisferio Derecho)¹	2.13E-04	8.92E-05	2.387	0.017

¹ Valores de los modelos estadísticos donde se analizaron las mediciones de ambos hemisferios por separado.

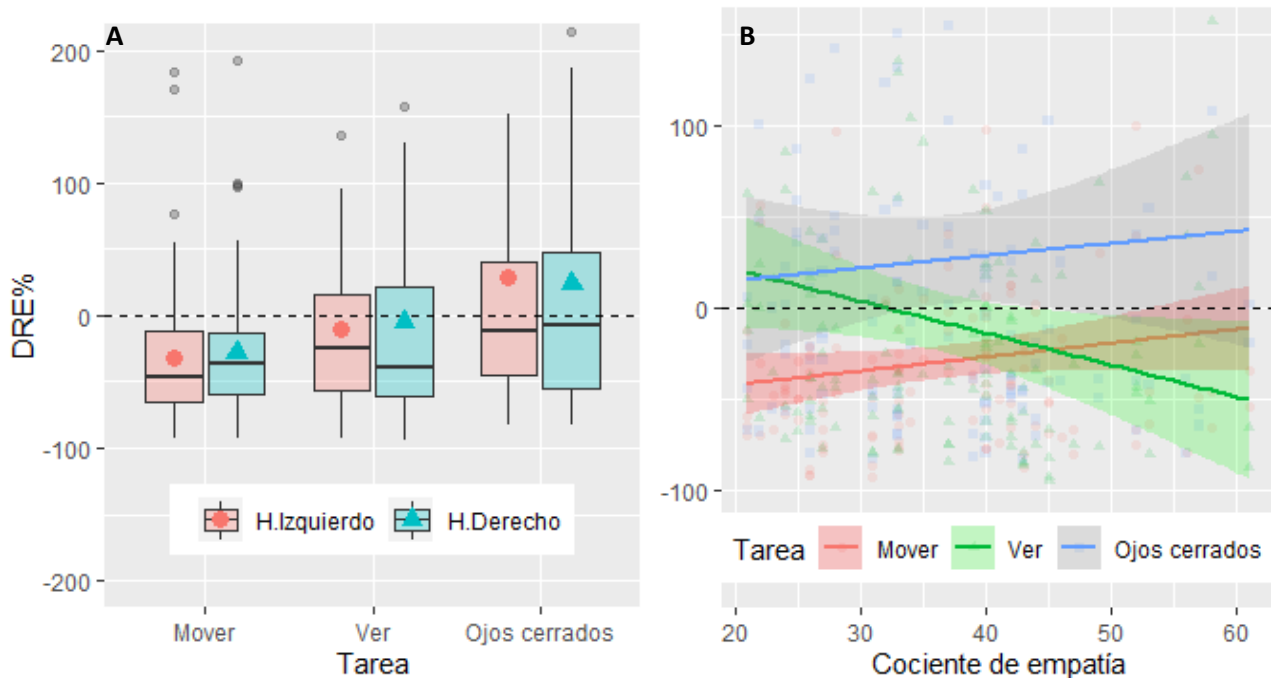


Figura 6.4. Supresión μ en función de diferentes tareas en la prueba del espejo. A) La gráficas de cajas muestra la ocurrencia de la supresión μ (los puntos muestran el %DRE promedio < 0) en las tareas de mover y ver el movimiento de los dedos, no así en la tarea ojos cerrados. En estas tareas ambos hemisferios cerebrales (color de las cajas) responden igual. **B)** En el caso de la tarea “Ver el movimiento” la supresión μ aumenta (%DRE más negativo) cuanto mayor es el cociente de empatía. Las líneas muestran el ajuste del MLGM y las franjas el intervalo de confianza al 95%.

6.3.2. Efecto de la empatía en la supresión μ

Utilicé MLGMs para analizar los datos provenientes de la participación de los dos hemisferios cerebrales; separé el análisis por hemisferio cerebral. Para el hemisferio izquierdo el modelo estadístico indica que sólo dos factores y su interacción son relevantes: el tratamiento (i.e. control contra bostezo) y el número de ensayo (Tabla 6.3). La supresión μ ocurría al inicio del protocolo de bostezo provocado y desaparecía hacia el final cuando eran vistos los videos de bostezos. No había cambios cuando los sujetos veían los videos control.

Por lo que respecta al hemisferio derecho, no hay diferencia, ya sea si son vistos los videos de bostezos o los videos control. El modelo mínimo adecuado indica que cuanto mayor fue el cociente de empatía de los sujetos, la supresión μ fue hasta un 20% mayor ($t_{82} = 2.31, P = 0.02$). También encontré que la supresión μ ocurrió ($\%DRE < 0$) cuando existió similitud entre sujeto y agente ($t_{82} = 4.22, P < 0.001$). Finalmente, la interacción estadística indica que cuando sujeto y agente son diferentes, y los valores del cociente de empatía son bajos, no ocurre la supresión; sí ocurre cuando los valores del cociente de empatía son altos.

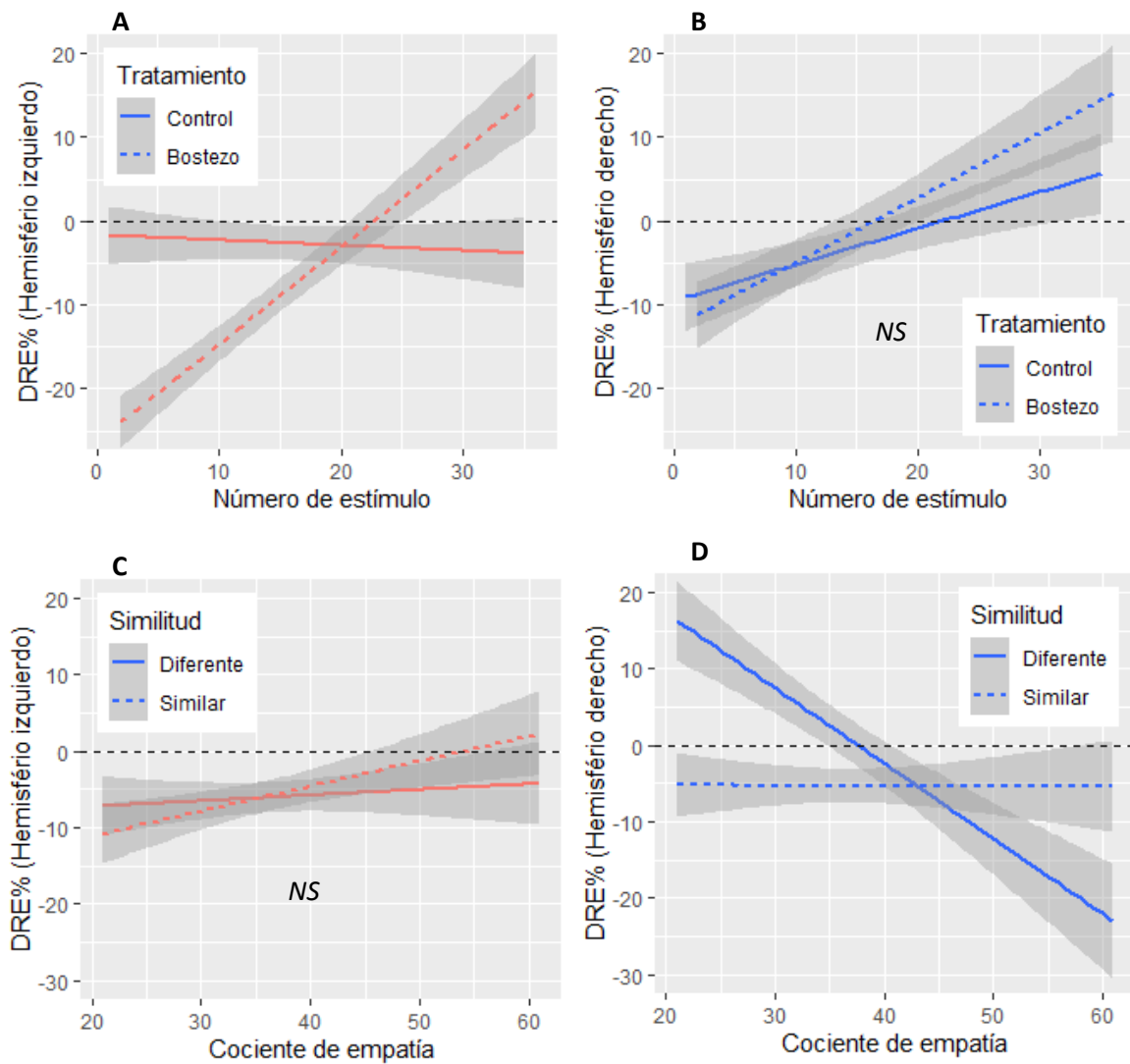


Figura 6.5. La supresión μ en cada hemisferio cerebral responde diferencialmente a diversos factores. A) La supresión μ en el hemisferio Izquierdo disminuye (%DRE más positivo) conforme avanzan los ensayos únicamente cuando se ven bostezos. **B)** En el hemisferio izquierdo no hubo ningún efecto de la empatía (similitud sujeto/agente ni cociente de empatía) **C)** En el hemisferio derecho no hay diferencias entre bostezos, controles o numero de estímulos. **D).** La supresión μ en el hemisferio derecho es mayor (%DRE < 0) cuando el sujeto y el agente son similares. Cuando sujeto y agente eran diferentes la supresión dependía del cociente de empatía. Las líneas representan el ajuste del MLGM y las franjas el intervalo de confianza al 95%. *NS*: No hay efecto significativo (Tabla 6.3).

Tabla 6.3. Resumen de los modelos mínimos adecuados ajustados a los datos de los efectos de los tratamientos en la supresión μ .

Efectos aleatorios	Varianza	Desviación estándar		
Sujeto Escuela ¹	1.465e-05	0.003828		
Escuela	5.536e-07	0.000744		
Efectos fijos	Coefficiente	Error estándar	Valor t	Valor p
<u>Hemisferio Izquierdo</u>				
Bostezo vs Control	2.79E-03	6.22E-04	4.488	7.19E-06
Número de estímulo	1.66E-05	3.75E-05	0.442	0.658
Bostezo vs Control : Número de estímulo	-1.28E-04	3.25E-05	-3.943	8.06E-05
Cociente de empatía	9.968E-07	5.262E-05	0.019	0.985
Similitud	9.099E-04	8.158E-04	1.115	0.265
Cociente de empatía: Similitud	-2.554E-05	2.238E-05	-1.141	0.254
<u>Hemisferio Derecho</u>				
Bostezo vs Control	3.165E-04	5.328E-04	0.594	0.552
Número de estímulo	3.551E-05	3.595E-05	0.988	0.323
Bostezo vs Control : Número de estímulo	-2.511E-05	2.856E-05	-0.879	0.379
Cociente de empatía	6.70E-05	2.90E-05	2.312	0.020
Similitud	3.46E-03	8.19E-04	4.227	2.37E-05
Cociente de empatía: Similitud	-8.10E-05	2.29E-05	-3.534	0.0004

¹Efectos aleatorios anidados (sujeto anidado en escuela).

6. 4. Ventaja hemisférica en el contagio del bostezo usando estímulos auditivos

El MLGM ajustado a los datos del experimento de contagio de bostezo auditivo mostró que sólo tres variables tuvieron un efecto significativo en la probabilidad de contagio del bostezo (Tabla 6.4). La probabilidad de contagio aumentó cuando los sujetos escucharon bostezos que cuando escucharon los estímulos control (bostezo en secuencia inversa). También la probabilidad de contagio del bostezo aumentó con el progreso de la prueba. Finalmente, la probabilidad de contagio creció cuando los bostezos se oyeron con el oído derecho; es decir, cuando se procesaron preferentemente con el hemisferio izquierdo.

Tabla 6.4. Resumen estadístico del modelo mínimo adecuado ajustado a los datos del contagio auditivo del bostezo.

Efectos aleatorios	Varianza	Desviación estándar		
Sujeto Escuela ¹	4.337163	2.08259		
Escuela	0.004894	0.06996		

Efectos fijos	Coefficiente	Error estándar	Valor Z	Valor p
Bostezo vs Control	0.362319	0.001012	357.98	<2e-16
Lado del estímulo (Derecho)	0.300204	0.001012	296.61	<2e-16
Número de estímulo	0.071168	0.001011	70.41	<2e-16

Utilicé la unidad académica y la identidad del sujeto como efectos anidados y aleatorios.

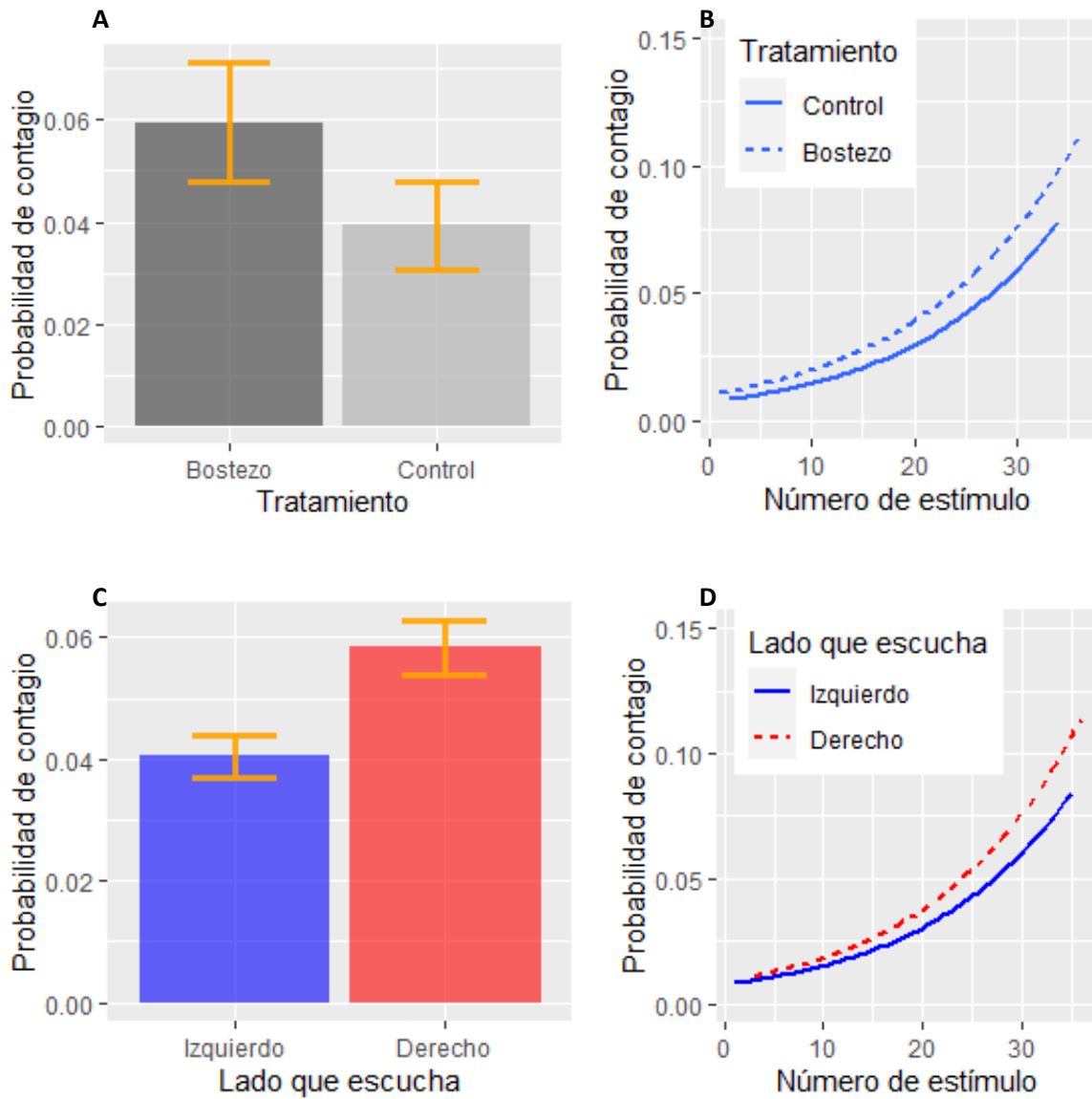


Figura 6.6. Contagio auditivo del bostezo. A). La probabilidad del contagio del bostezo fue mayor cuando los sujetos escucharon bostezos que cuando escucharon los estímulos control (bostezo en secuencia inversa). **C).** La probabilidad de contagio fue mayor cuando los bostezos fueron escuchados con el oído derecho y, por consiguiente, fueron procesados sobre todo por el hemisferio izquierdo. **B y D).** Cuanto más avanza la prueba, mayor es la probabilidad de que ocurra contagio del bostezo. A y C muestran valores promedios \pm error estándar, las curvas B y D muestran el ajuste del modelo de regresión logística ajustado a los datos.

6. 5. Resumen de los resultados

En resumen, los análisis estadísticos mostraron que hubo más bostezos después de ver y oír grabaciones de bostezo que después de ver y oír grabaciones sin bostezo. También que la supresión μ es un buen predictor de la cociente de empatía (una medida relativamente estable de las habilidades empáticas), y de los resultados de las manipulaciones experimentales de la similitud entre sujeto y agente (cambios inmediatos a la experiencia empática). Sin embargo, la supresión μ no se relacionó con la probabilidad de contagio del bostezo.

Los resultados sugieren que cada hemisferio responde de manera diferente durante las pruebas (Figura 6.7). El hemisferio derecho es más sensible a los cambios relacionados con la empatía. El contagio del bostezo; sin embargo, es más frecuente cuando los bostezos se procesan con el hemisferio izquierdo.

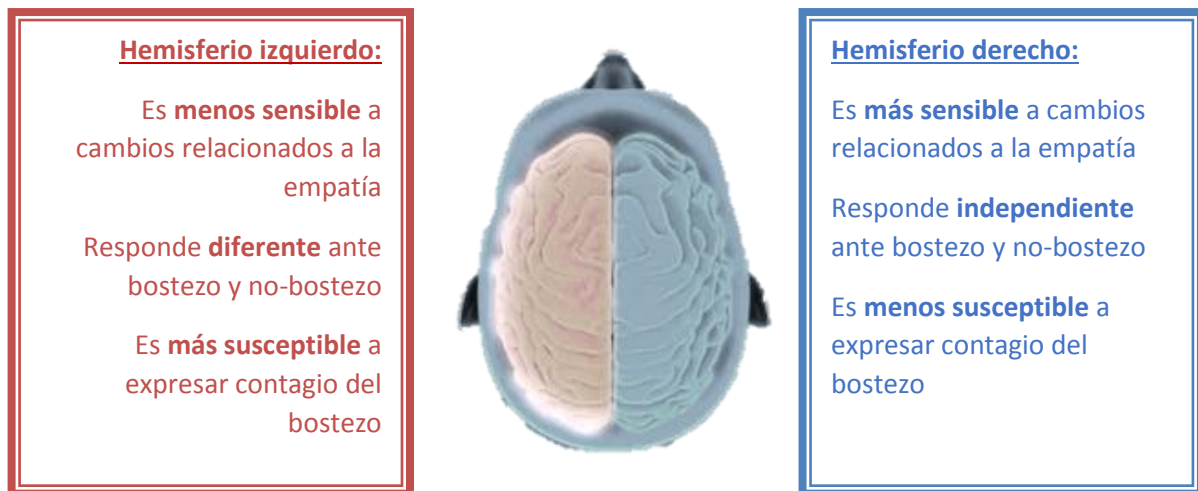


Figura 6.7. Resumen de las diferencias hemisféricas en el contagio del bostezo. Cada hemisferio cerebral responde diferente a los bostezos y los cambios relacionados con la empatía. La probabilidad de contagio del bostezo es mayor cuando el hemisferio izquierdo lo procesa.

7. DISCUSIÓN

La identificación de los factores determinantes del contagio del bostezo y la descripción de sus posibles mecanismos fueron los objetivos de este estudio. Para cumplirlos, puse a prueba experimentalmente las predicciones de dos explicaciones contrastantes: la hipótesis de la empatía y la hipótesis de la ventaja asimétrica. Realicé los experimentos correspondientes aplicando un protocolo de bostezo provocado en 84 participantes.

Los análisis estadísticos mostraron que ocurrió contagio de bostezo en ambos experimentos. Así lo corroboran los análisis por el método tradicional de ventanas de tiempo y las curvas de contagio. Este resultado es interesante por dos razones: 1) La aplicación de curvas de contagio demostró ser un método novedoso, compatible con la implementación de procedimientos metodológicos típicos para estudiar el contagio, lo cual permitiría comparar resultados de diferentes estudios (Campbell y de Waal, 2010). 2) El hecho de que el uso de dos métodos independientes arrojen el mismo resultado (contagio de bostezo), hace difícil argumentar que el hallazgo fuera un resultado casual o un artefacto de la medición, como han argumentado otros autores para casos similares (Kapitany y Nielsen 2017).

Es importante destacar que esta es la primera vez, hasta donde se tiene conocimiento, que el método de curvas de contagio es aplicado a humanos. Como argumentan los autores del método (Moyaho y col. 2019), una de las ventajas potenciales de dichas curvas es la identificación de características particulares del fenómeno del

contagio de bostezo que pueden resultar comunes a varias especies. Se ha reportado por ejemplo contagio de bostezo en otros primates no humanos (Macacos, Paukner y Anderson 2006; Bonobos, Palagi y col 2014; Orangutanes, van Berlo 2020) así como en ovejas (Yonesawa y col. 2017), aves (Miller y col. 2012), ratas (Moyaho y col. 2015), e incluso inter especie, entre perros y humanos (Joly-Mascheroni y col. 2008)-, el contagio del bostezo podría tener características particulares para cada especie que podrían ser advertidas con estas curvas. Por ejemplo, las ratas muestran una ventana de contagio solo de unos minutos (Moyaho y col. 2019), mientras que las curvas de contagio obtenidas en este estudio sugieren que no hay una ventana “óptima” mientras. Sin embargo, es importante hacer notar que la participación de solo sujetos humanos en lugar de videos o un método netamente observacional (Palagi y col 2014) podría mostrar un resultado diferente.

Otros estudios han analizado en el humano las relaciones de la empatía, neuronas espejo, supresión μ con el contagio del bostezo por separado (Platek y Gallup 2002, Platek y col. 2005, Arnott y col 2009, Norscia y Palagi 2011, Palagi y col 2014). Hasta donde tengo conocimiento, esta es la primera vez que se obtienen medidas de estos diferentes factores simultáneamente. Con la información así obtenida fue posible hacer una descripción más completa de la relación entre la empatía contagio de bostezo.

Un resultado inesperado fue que cuanto más avanzaba el experimento (i.e. más video o audio estímulos presentados), se incrementaba la probabilidad de bostezar del sujeto. Esto podría explicarse como un efecto acumulado de ver bostezos repetidamente.

También, puede deberse a que cuanto más tiempo pasaba, más probable era que el sujeto se aburriera, o incluso que sintiera sueño; la frecuencia de bostezo aumenta en un contexto de tedio (Provine y Hamernik, 1986). Estas posibilidades han sido abordadas y descritas previamente, lo importante a destacar aquí, es que ese incremento en el contagio no está confundido con tales variables (paso del tiempo y tedio) ya que: 1) pude cuantificar y separar el efecto del número de ensayo; 2) usé lo que se conoce como contra balanceo para evitar que un cambio sistemático en la tasa de contagio se atribuyera al orden de aplicación de los 2 experimentos; 3) los tratamientos fueron aplicados de manera aleatoria dentro de cada experimento. Por estas razones, el efecto de los tratamientos pudo ser identificado y evaluado.

Otro resultado inesperado fue que las pistas audiovisuales no tuvieron ningún efecto en la probabilidad de contagio del bostezo. El objetivo de dichas pistas era enfocar la atención del participante hacia el bostezo (o al control). No encontrar efecto de este tratamiento contradice los resultados de Usui y col. (2013), quienes encontraron que los sujetos con trastornos del espectro autista se contagiaban del bostezo cuando su atención era dirigida al comportamiento. Una opción es, que la atención no sea tan importante en el contagio del bostezo. Por otro lado, puede ser que los participantes neurotípicos que participaron en este estudio ya estaban atendiendo en gran medida a los videoestímulos independientemente de la presencia de las pistas audiovisuales.

En este estudio evalué la empatía de dos formas, 1) usando una prueba de autoreporte medí el cociente de empatía, una medida relativamente estable de las

habilidades empáticas de las personas (Baron-Cohen y Wheelwright 2009); y 2) experimentalmente, cambiando la similitud sujeto-agente generando cambios inmediatos en el proceso de la empatía (Preston y deWaal 2003). Ambas aproximaciones, produjeron cambios en las medidas de supresión μ . Estos resultados sugieren que la supresión μ si está relacionada con la experiencia empática. Sumado este a los resultados de otros trabajos, es muy probable que la supresión μ pueda considerarse una medición electrofisiológica de la empatía.

Con el experimento 1 también encontré que cada hemisferio cerebral responde a factores diferentes al ver los videos. El hemisferio cerebral derecho es más sensible que el izquierdo a los cambios relacionados con la empatía. Esta diferencia es independiente del comportamiento percibido; es decir, no cambia si se ve bostezo o no se ve bostezo. En contraste, el hemisferio cerebral izquierdo si responde de manera diferente dependiendo del comportamiento que se percibe. El hemisferio izquierdo es, de cierta forma, capaz o encargado de diferenciar y reconocer el bostezo, pudiendo ser el “detector de bostezos” teorizado por Provine (1989). Mientras que el hemisferio cerebral derecha es más susceptible a procesos empáticos, lo cual se ha sospechado anteriormente (Rizzolati y Craighero 2004, Arnott y col. 2009). Además, estas diferencias hemisféricas anticipan la independencia de la empatía y el contagio del bostezo.

Por lo que se refiere al experimento 2, los resultados sugieren que el bostezo se contagia principalmente cuando se escucha con el oído derecho. Este resultado sustenta la hipótesis de la ventaja hemisférica del contagio de bostezo, que es una propuesta

original de este trabajo. Así mismo, el resultado es concordante con las asimetrías encontradas en el experimento 1; si el hemisferio izquierdo es capaz de reconocer el bostezo, es mucho más probable que éste se contagie cuando es procesado por el mismo hemisferio cerebral.

Con base en lo anterior puedo sugerir que habitualmente ambos hemisferios cerebrales procesan la información perceptual; que si hay alguna asimetría o conflicto de atención durante la percepción de un bostezo que evita que el hemisferio izquierdo lo procese preferencialmente, la probabilidad de contagio será escasa. No es claro a que se podría deber esta asimetría o conflicto, sin embargo esto explicaría porque solo la mitad de los sujetos es susceptible de contagio en los estudios. Y que, sin embargo, a lo largo de la vida, prácticamente todos nos hemos contagiado alguna vez del bostezo de otros.

8. CONCLUSIÓN

Con base en los resultados mostrados e interpretaciones aquí expuestas, puedo concluir que la hipótesis de la ventaja hemisférica es una explicación más convincente que la hipótesis de la empatía para el contagio del bostezo. Específicamente porque: 1) la actividad del sistema de neuronas espejo humano, medida como la supresión μ , solo refleja los cambios en la expresión empática de las personas; 2) los cambios en la empatía no afectan la probabilidad de contagio del bostezo; 3) la probabilidad del contagio del bostezo depende del hemisferio cerebral que lo procese, posiblemente por las asimetrías cerebrales hemisféricas en la percepción del bostezo.

9. PERSPECTIVAS

Los resultados de esta tesis indican que la hipótesis de la ventaja hemisférica es una explicación más convincente que la hipótesis de la empatía para el contagio del bostezo. Sin embargo aun sería importante trabajar en dos aspectos relacionados con esta hipótesis:

1. Determinar cómo se procesa la información dentro del cerebro entre la percepción del estímulo y la producción del movimiento en respuesta (contagio del bostezo). Un primer paso para este objetivo sería identificar las estructuras o regiones del cerebro que se activan durante los casos que producen contagio del bostezo. Por ejemplo podrían utilizarse los registros de EEG que se obtuvieron en esta tesis y realizar un análisis de origen de las oscilaciones (ejemplo en el anexo).
2. Enmarcar la ventaja hemisférica asociada con el contagio del bostezo en una teoría más amplia. Por ejemplo, se ha propuesto que el bostezo podría tener una función comunicativa entre los individuos, de ser así, el contagio del bostezo podría ser una respuesta dentro del contexto de la comunicación. En los humanos las diferentes funciones del lenguaje muestran una ventaja hemisférica que podrían relacionarse con los resultados mostrados en esta tesis. Pudiera ser, entonces, que hubiera una relación entre la hipótesis de la ventaja hemisférica para el contagio del bostezo con la función comunicativa del bostezo.

REFERENCIAS

- Arnott, S. R., Singhal, A., y Goodale, M. A. (2009). An investigation of auditory contagious yawning. *Cognitive, Affective, y Behavioral Neuroscience*, *9*(3), 335-342.
- Arnstein, D., Cui, F., Keysers, C., Maurits, N. M., & Gazzola, V. (2011). μ -suppression during action observation and execution correlates with BOLD in dorsal premotor, inferior parietal, and SI cortices. *Journal of Neuroscience*, *31*(40), 14243-14249.
- Baron-Cohen, S., y Wheelwright, S. (2004). The empathy quotient: an investigation of adults with Asperger syndrome or high functioning autism, and normal sex differences. *Journal of autism and developmental disorders*, *34*(2), 163-175.
- Bartholomew, A. J., y Cirulli, E. T. (2014). Individual variation in contagious yawning susceptibility is highly stable and largely unexplained by empathy or other known factors. *PLoS One*, *9*(3), e91773.
- Batson, C. D., Duncan, B. D., Ackerman, P., Buckley, T., y Birch, K. (1981). Is empathic emotion a source of altruistic motivation?. *Journal of personality and Social Psychology*, *40*(2), 290.
- van Berlo, E., Díaz-Loyo, A. P., Juárez-Mora, O. E., Kret, M. E., & Massen, J. J. (2020). Experimental evidence for yawn contagion in orangutans (*Pongo pygmaeus*). *Scientific reports*, *10*(1), 1-11.
- Bimbi, M., Festante, F., Coudé, G., Vanderwert, R. E., Fox, N. A., & Ferrari, P. F. (2018). Simultaneous scalp recorded EEG and local field potentials from monkey ventral premotor cortex during action observation and execution reveals the contribution of mirror and motor neurons to the mu-rhythm. *Neuroimage*, *175*, 22-31.
- Bowman, L. C., Bakermans-Kranenburg, M. J., Yoo, K. H., Cannon, E. N., Vanderwert, R., Ferrari, P. F., ... & Fox, N. A. (2017). The mu-rhythm can mirror: Insights from experimental design, and looking past the controversy. *Cortex*, *96*, 121-125.
- Cooper, N. R., Puzzo, I., Pawley, A. D., Bowes-Mulligan, R. A., Kirkpatrick, E. V., Antoniou, P. A., y Kennett, S. (2012). Bridging a yawning chasm: EEG investigations into the debate concerning the role of the human mirror neuron system in contagious yawning. *Cognitive, Affective, y Behavioral Neuroscience*, *12*(2), 393-405.
- Davis, M. H. (1980). A multidimensional approach to individual differences in empathy.
- Fox, N. A., Bakermans-Kranenburg, M. J., Yoo, K. H., Bowman, L. C., Cannon, E. N., Vanderwert, R. E. y van IJzendoorn, M. H. (2015). Assessing human mirror activity with EEG mu rhythm: A meta-analysis.

- Gallese, V., Keysers, C., & Rizzolatti, G. (2004). A unifying view of the basis of social cognition. *Trends in cognitive sciences*, 8(9), 396-403.
- Gallup, G. G. (1998). Self-awareness and the evolution of social intelligence. *Behavioural Processes*, 42(2), 239-247.
- Gallup, A., Church, A. M., Miller, H., Risko, E. F., & Kingstone, A. (2016). Social presence diminishes contagious yawning in the laboratory. *Scientific reports*, 6(1), 1-5.
- Hamilton, A. F. D. C. (2013). Reflecting on the mirror neuron system in autism: a systematic review of current theories. *Developmental cognitive neuroscience*, 3, 91-105.
- Hickok, G. (2009). Eight problems for the mirror neuron theory of action understanding in monkeys and humans. *Journal of cognitive neuroscience*, 21(7), 1229-1243.
- Hickok, G. (2014). *The myth of mirror neurons: The real neuroscience of communication and cognition*. WW Norton & Company.
- Hobson, H. M., & Bishop, D. V. (2016). Mu suppression—a good measure of the human mirror neuron system?. *cortex*, 82, 290-310.
- Hobson, H. M., & Bishop, D. V. (2017). The interpretation of mu suppression as an index of mirror neuron activity: past, present and future. *Royal Society Open Science*, 4(3), 160662.
- Joly-Mascheroni, R. M., Senju, A., & Shepherd, A. J. (2008). Dogs catch human yawns. *Biology Letters*, 4(5), 446-448.
- Kapitány, R., & Nielsen, M. (2017). Are yawns really contagious? A critique and quantification of yawn contagion. *Adaptive Human Behavior and Physiology*, 3(2), 134-155.
- Kaplan, J. T., & Iacoboni, M. (2006). Getting a grip on other minds: Mirror neurons, intention understanding, and cognitive empathy. *Social neuroscience*, 1(3-4), 175-183.
- Keenan, J. P., McCutcheon, B., Freund, S., Gallup, G. G., Sanders, G., & Pascual-Leone, A. (1999). Left hand advantage in a self-face recognition task. *Neuropsychologia*, 37(12), 1421-1425.
- Kimura, D. (1967). Functional asymmetry of the brain in dichotic listening. *Cortex*, 3(2), 163-178.

- Massen, J. J., & Gallup, A. C. (2017). Why contagious yawning does not (yet) equate to empathy. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *80*, 573-585.
- Millen, A., y Anderson, J. R. (2011). Neither infants nor toddlers catch yawns from their mothers. *Biology letters*, *7*(3), 440-442.
- Miller, M. L., Gallup, A. C., Vogel, A. R., Vicario, S. M., & Clark, A. B. (2012). Evidence for contagious behaviors in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): an observational study of yawning and stretching. *Behavioural processes*, *89*(3), 264-270.
- Moyaho, A., Rivas-Zamudio, X., Ugarte, A., Eguibar, J. R., y Valencia, J. (2015). Smell facilitates auditory contagious yawning in stranger rats. *Animal cognition*, *18*(1), 279-290.
- Moyaho, A., & Beristain-Castillo, E. (2019). Experimental Design: Basic Concepts.
- Moyaho, A., Díaz-Loyo, A. P., Juárez-Mora, O. E., & Beristain-Castillo, E. (2019). A Laboratory Method to Measure Contagious Yawning in Rats. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (148), e59289.
- Muthukumaraswamy, S. D., Johnson, B. W., & McNair, N. A. (2004). Mu rhythm modulation during observation of an object-directed grasp. *Cognitive brain research*, *19*(2), 195-201.
- Norscia, I., y Palagi, E. (2011). Yawn contagion and empathy in Homo sapiens. *PloS one*, *6*(12), e28472
- Palagi, E., Norscia, I., & Demuru, E. (2014). Yawn contagion in humans and bonobos: emotional affinity matters more than species. *PeerJ*, *2*, e519
- Paukner, A., & Anderson, J. R. (2006). Video-induced yawning in stump-tail macaques (*Macaca arctoides*). *Biology Letters*, *2*(1), 36-38.
- Pfurtscheller, G., & Da Silva, F. L. (1999). Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clinical neurophysiology*, *110*(11), 1842-1857.
- Platek, S. M., y Gallup, G. G. (2002). Self-face recognition is affected by schizotypal personality traits. *Schizophrenia Research*, *57*(1), 81-85.
- Platek, S. M., Critton, S. R., Myers, T. E., y Gallup, G. G. (2003). Contagious yawning: the role of self-awareness and mental state attribution. *Cognitive Brain Research*, *17*(2), 223-227.

- Platek S.M., Mohamed F.B., Gallup G.G., Jr. (2005). Contagious yawning and the brain. *Cognitive Brain Research* 23: 448–452.
- Portellano Pérez, J. A. (2009). Cerebro Derecho, Cerebro Izquierdo. Implicaciones Neuropsicológicas de las Asimetrías Hemisféricas en el Contexto Escolar. *Psicología educativa*, 15(1).
- Preston, S. D., y De Waal, F. B. (2002). Empathy: Its ultimate and proximate bases. *Behavioral and brain sciences*, 25(1), 1-20.
- Provine, R. R. (1986). Yawning as a stereotyped action pattern and releasing stimulus. *Ethology*, 72(2), 109-122.
- Provine, R. R., & Hamernik, H. B. (1986). Yawning: effects of stimulus interest. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 24(6), 437-438.
- Provine, R. R. (1989). Faces as releasers of contagious yawning: An approach to face detection using normal human subjects. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 27(3), 211-214.
- Provine, R. R. (2012). *Curious behavior: Yawning, laughing, hiccupping, and beyond*. Harvard University Press.
- Raine, A. (1991). The SPQ: a scale for the assessment of schizotypal personality based on DSM-III-R criteria. *Schizophrenia bulletin*, 17(4), 555.
- Rizzolatti, G., Fadiga, L., Gallese, V., & Fogassi, L. (1996). Premotor cortex and the recognition of motor actions. *Cognitive brain research*, 3(2), 131-141.
- Rizzolatti, G., y Luppino, G. (2001). The cortical motor system. *Neuron*, 31(6), 889-901.
- Rizzolatti, G., y Craighero, L. (2004). The mirror-neuron system. *Annual review of neuroscience*, 27, 169–192.
- Rundle, B. K., Vaughn, V. R., y Stanford, M. S. (2015). Contagious yawning and psychopathy. *Personality and Individual Differences*, 86, 33-37.
- Senju, A., Maeda, M., Kikuchi, Y., Hasegawa, T., Tojo, Y., y Osanai, H. (2007). Absence of contagious yawning in children with autism spectrum disorder. *Biology letters*, 3(6), 706-708.
- Senju, A., Kikuchi, Y., Akechi, H., Hasegawa, T., Tojo, Y., y Osanai, H. (2009). Brief report: does eye contact induce contagious yawning in children with autism spectrum disorder?. *Journal of autism and developmental disorders*, 39(11), 1598-1602.

- Usui, S., Senju, A., Kikuchi, Y., Akechi, H., Tojo, Y., Osanai, H., y Hasegawa, T. (2013). Presence of contagious yawning in children with autism spectrum disorder. *Autism research and treatment*, 2013.
- de Waal F.B.M. (2008). Putting the altruism back into altruism: the evolution of empathy. *Annual review of psychology*. 59: 279–300.
- Wada, J. A. (2009). Is functional hemispheric lateralization guided by structural cerebral asymmetry?. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 36.
- Yonezawa, T., Sato, K., Uchida, M., Matsuki, N., & Yamazaki, A. (2017). Presence of contagious yawning in sheep. *Animal Science Journal*, 88(1), 195-200.

ANEXOS

Escala de Cociente de empatía (traducida de Baron-Cohen y Wheelwright. 2004)

Abajo se encuentra una lista de enunciados. Por favor lea cada enunciado **cuidadosamente** y califique marcando en la casilla que tan de acuerdo o en desacuerdo se considera al respecto.

Recuerde que no existen respuestas correctas o incorrectas, y que sus respuestas son confidenciales.

Ejemplos:

	Mayormente de acuerdo	Ligeramente de acuerdo	Ligeramente en desacuerdo	Mayormente en desacuerdo
E1. Estaría muy molesto si no pudiera escuchar música diario.		X		
E2. Prefiero hablar con mis amigos por teléfono que mediante cartas.				X
E3. No tengo deseos de viajar a diferentes partes del mundo.	X			
E4. Prefiero leer que bailar.			X	

	Mayormente de acuerdo	Ligeramente de acuerdo	Ligeramente en desacuerdo	Mayormente en desacuerdo
1. Me resulta sencillo saber cuándo alguien más quiere participar en una conversación.				
2. Prefiero a otros animales más que a los humanos.				
3. Trato de mantenerme al tanto de las tendencias y las modas.				
4. Me resulta complicado explicarle a otras personas cosas que yo entiendo fácilmente.				
5. La mayoría de las noches recuerdo mis sueños.				
6. Realmente disfruto cuidando a los demás.				
7. Prefiero tratar de solucionar mis problemas yo solo a discutirlos con otros.				
8. Me resulta difícil saber qué hacer en situaciones sociales.				
9. Me siento en mi mejor estado al inicio de la mañana.				
10. Las personas suelen decirme que fui demasiado contundente al expresar mis opiniones en una discusión.				
11. No me molesta demasiado si ya voy tarde a una reunión con un amigo.				
12. Las amistades y relaciones son tan complicadas que por eso ni me molesto en ello.				
13. Nunca rompería ninguna ley, sin importar lo pequeña que sea.				
14. Me resulta difícil juzgar si alguien es grosero o educado.				
15. En una conversación, tiendo a enfocarme en mis propios pensamientos y no en lo que mi interlocutor podría estar pensando.				
16. Prefiero las bromas pesadas que los juegos de palabras.				
17. Prefiero vivir el presente que preocuparme por el futuro.				
18. Cuando niño, me entretenía cortar gusanos para ver qué pasaba.				
19. Puedo reconocer rápidamente cuando alguien dice una cosa pero quiere decir otra.				

	Mayormente de acuerdo	Ligeramente de acuerdo	Ligeramente en desacuerdo	Mayormente en desacuerdo
20. Tiendo a tener opiniones muy fuertes respecto a la moral.				
21. Me resulta difícil entender por qué algunas cosas molestan tanto a la gente.				
22. Me resulta fácil ponerme en los zapatos de otros.				
23. Pienso que los buenos modales son lo más importante que los padres pueden enseñar a sus hijos.				
24. Me gusta hacer las cosas en el calor del momento.				
25. Soy bueno prediciendo como se sentirán los demás.				
26. Puedo identificar rápidamente cuando alguien se siente incómodo en un grupo.				
27. Si digo algo que ofende a alguien más, pienso que es su problema, no el mío.				
28. Si alguien me preguntara si me gusta su corte de cabello, respondería honestamente, aunque no me gustara.				
29. No siempre entiendo por qué alguien debería haberse sentido ofendido por un comentario.				
30. La gente suele decirme que soy muy impredecible.				
31. Disfruto siendo el centro de atención en cualquier evento social.				
32. Ver a otros llorar no me afecta realmente.				
33. Disfruto tener discusiones de política.				
34. Soy muy franco. Lo cual algunos toman como grosero, aun cuando no es intencional.				
35. No suelo encontrar las situaciones sociales confusas.				
36. Otras personas me dicen que soy bueno entendiendo como se sienten o que están pensando.				
37. Cuando hablo con otros, tiendo a hablar de sus experiencias en vez de las mías.				
38. Me siento mal ver a un animal sufriendo.				
39. Soy capaz de tomar decisiones sin dejar que me influyeran los sentimientos de los demás.				
40. No me puedo relajar hasta haber terminado todo lo que había planeado para el día.				
41. Puedo saber con facilidad si alguien más está interesado o aburrido con lo que estoy diciendo.				
42. Me altera cuando veo a otras personas sufriendo en los noticieros.				
43. Mis amigos suelen contarme sobre sus problemas pues dicen que soy muy comprensivo.				
44. Me percato de cuando estoy interviniendo, aun cuando no me lo dicen.				
45. Suelo comenzar nuevos pasatiempos pero me aburro rápidamente y los dejo de lado.				
46. Las personas a veces me dicen que me pasé con las burlas a alguien.				
47. Estaría muy nervioso de subirme a una gran montaña rusa.				
48. Otras personas suelen decir que soy insensible, aun cuando yo no veo el por qué.				
49. Si veo a alguien nuevo en el grupo, pienso que depende de él integrarse.				
50. No suelo involucrarme emocionalmente cuando veo una película.				

	Mayormente de acuerdo	Ligeramente de acuerdo	Ligeramente en desacuerdo	Mayormente en desacuerdo
51. Me gusta ser muy ordenado en mi día-a-día y suelo hacer listas de las cosas que tengo que hacer.				
52. Puedo sintonizarme con cómo alguien más se siente intuitivamente y con facilidad.				
53. No me gusta tomar riesgos.				
54. Puedo deducir fácilmente de qué quiere hablar otra persona.				
55. Puedo saber si alguien está escondiendo sus verdaderas emociones.				
56. Antes de tomar una decisión siempre evalúo las ventajas y desventajas.				
57. No deduzco conscientemente las reglas de las situaciones sociales.				
58. Soy bueno prediciendo lo que otras personas harán.				
59. Suelo involucrarme emocionalmente en los problemas de mis amigos.				
60. Suelo poder ver las cosas desde el punto de vista del otro.				

Distribución de las oscilaciones relacionadas con la supresión μ

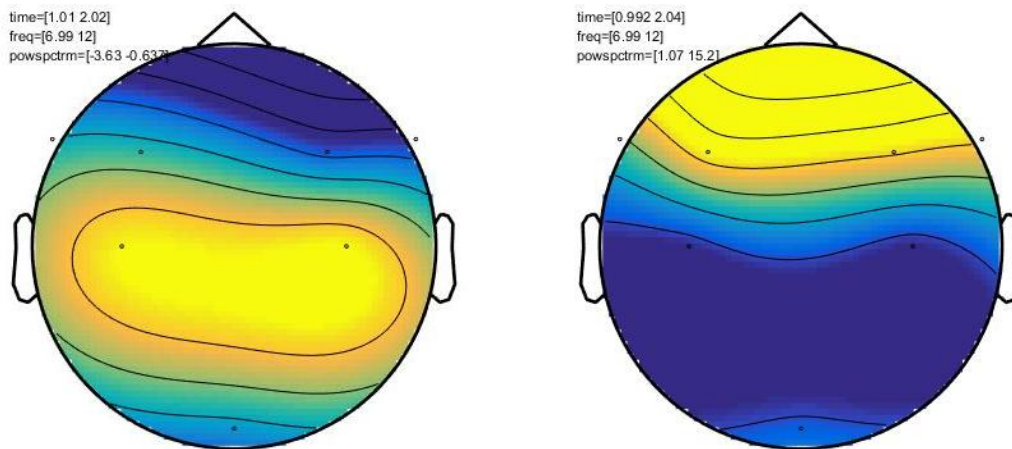
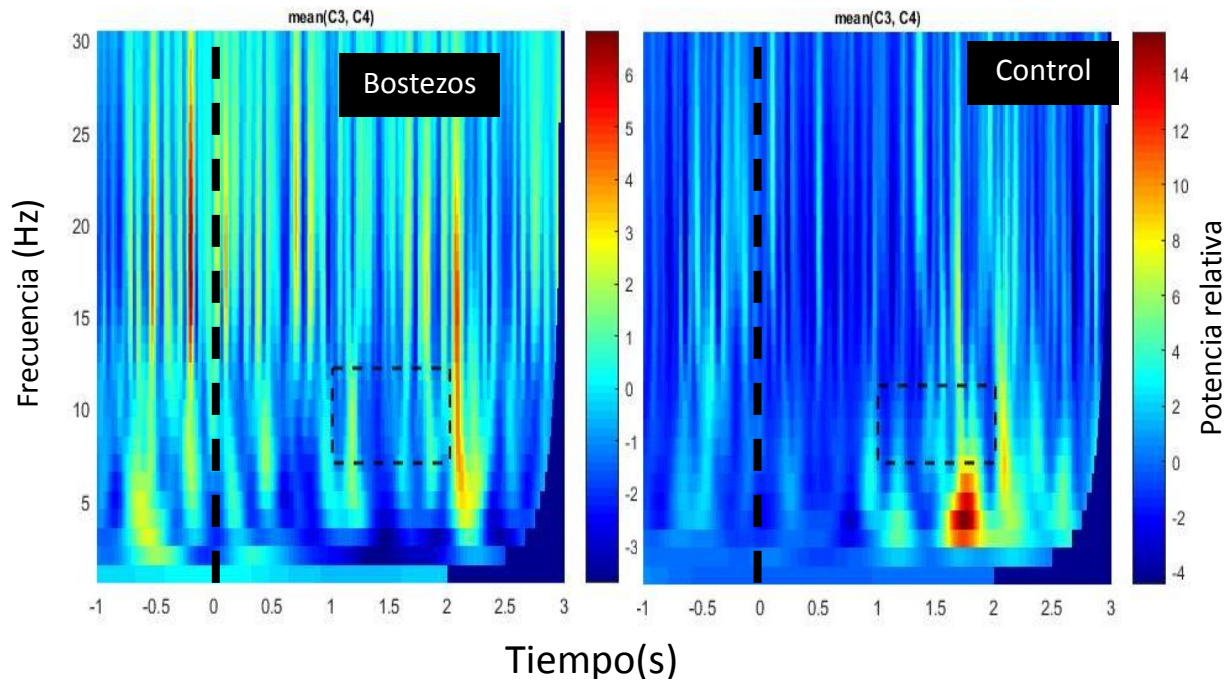


Figura A1. Distribución de las oscilaciones relacionadas con la supresión μ .

Panel superior. Cambios en la intensidad de las oscilaciones en función del tiempo y la frecuencia (i.e. espectrogramas). Promedios de los las derivación C3 y C4 en respuesta a la observación de bostezos o controles. Se observa una disminución en potencia relativa durante la ventana de tiempo-frecuencia (rectángulo punteado) en la condición bostezo y no en la condición control. **Panel inferior.** Distribución topográfica de las oscilaciones en la banda de frecuencia de 8 a 12 Hz. Nótese que ante los bostezos las oscilaciones provienen de las regiones centrales, no así en la condición control.

Análisis del origen de las oscilaciones durante el contagio del bostezo

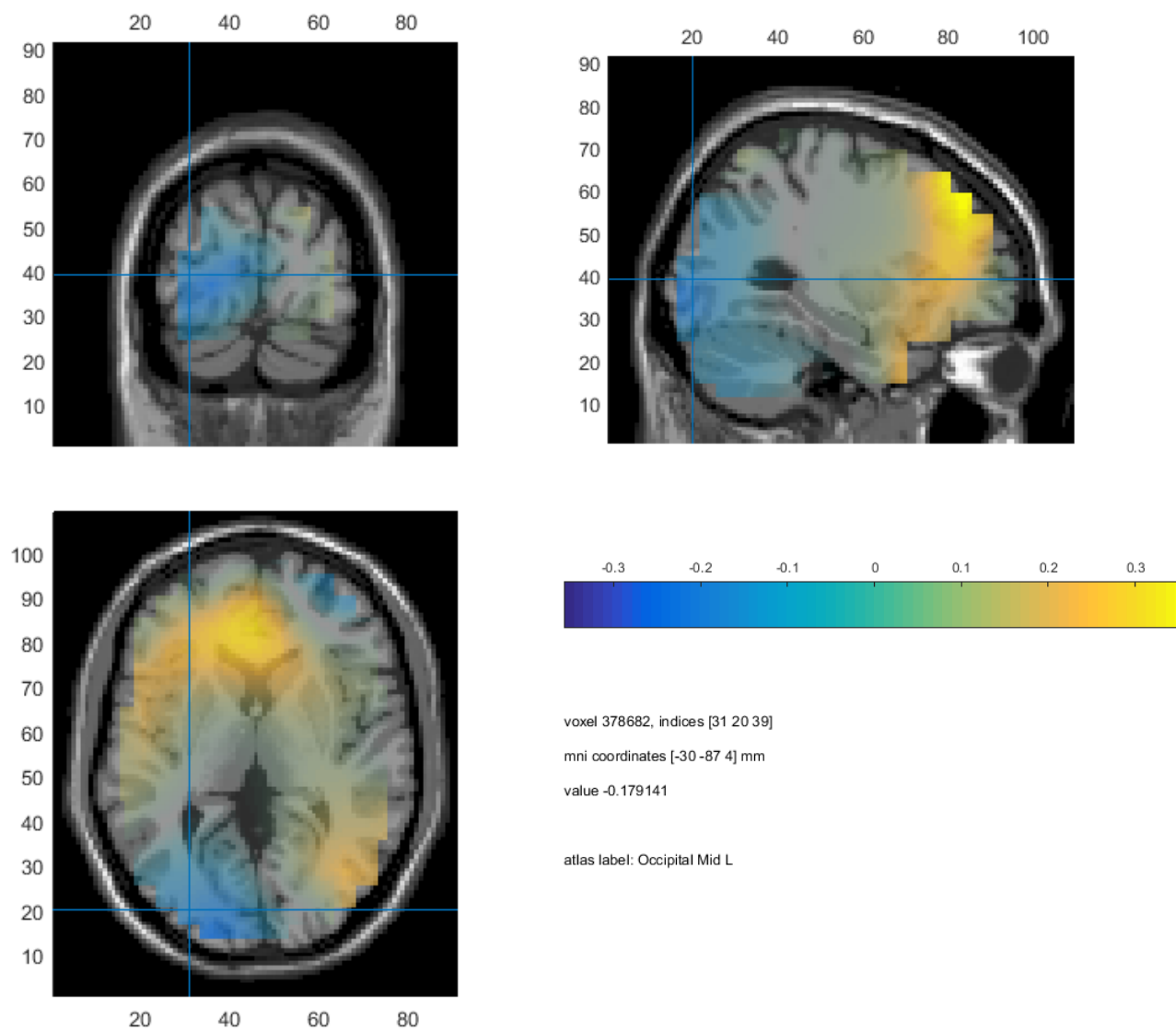


Figura A2. Cambios en la actividad neuronal en el contagio del bostezo.

Análisis de origen de las oscilaciones a partir de las mediciones de EEG de un participante. Cambios en la intensidad de las oscilaciones de 8 a 12Hz en respuesta a la observación de bostezos vs controles. Se observa una disminución en potencia relativa en el lóbulo occipital medio izquierdo. Se observan asimetrías inter e intra hemisféricas. El lóbulo frontal izquierdo y el lóbulo occipital medio derecho muestran un incremento en la intensidad de la potencia relativa.

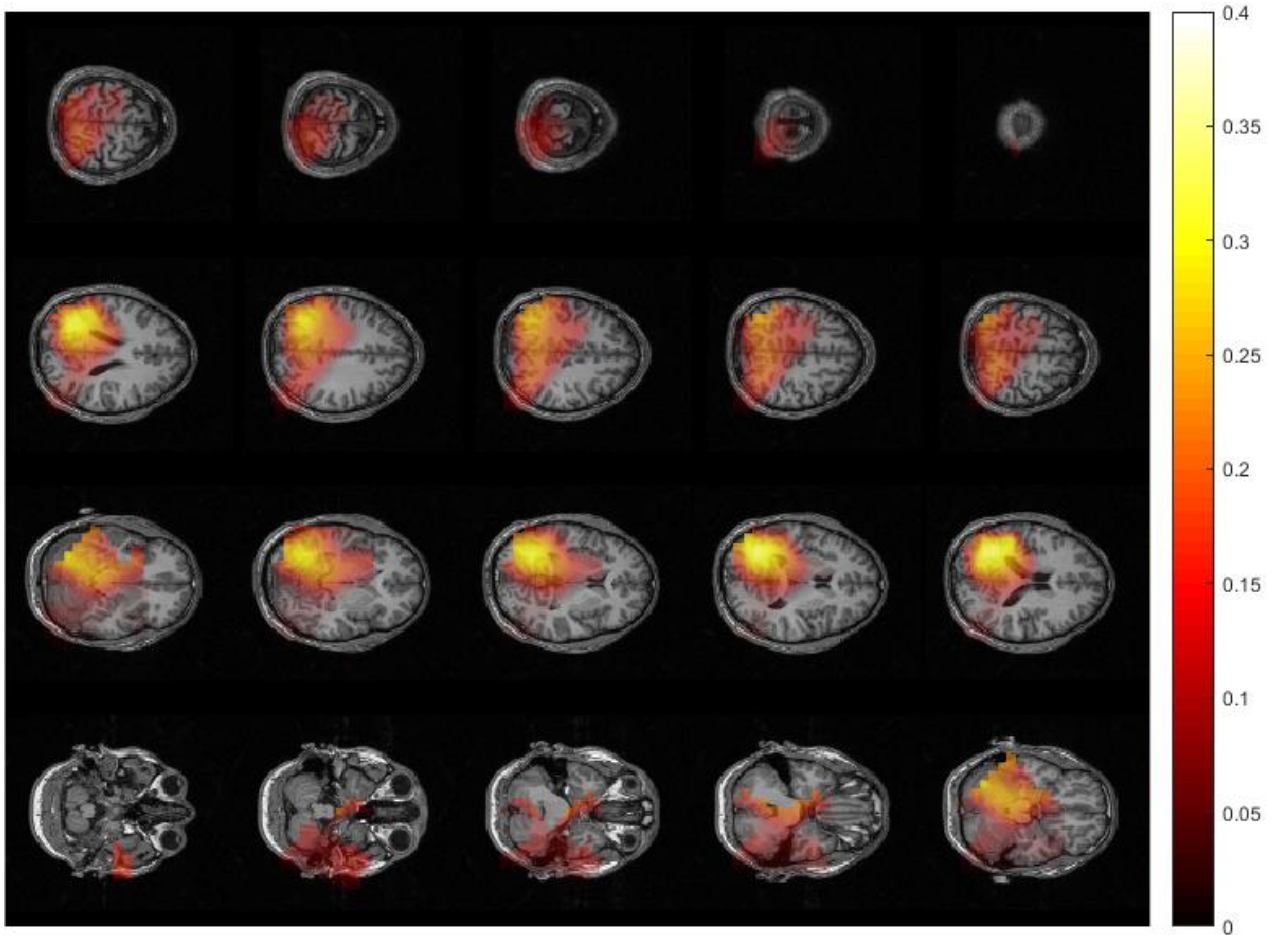


Figura A3. Origen de las oscilaciones neuronales durante la percepción del bostezo. Visualización en rebanadas del origen de las oscilaciones de 8 a 12Hz en el cerebro. Se observa el origen de las oscilaciones relativa en el lóbulo occipital medio izquierdo. Reconstruido a partir de las mediciones de EEG de un participante en respuesta a la observación de bostezos vs controles.

Publicaciones que se desprende de este trabajo

Moyaho, A., Díaz-Loyo, A. P., Juárez-Mora, O. E., & Beristain-Castillo, E. (2019). A Laboratory Method to Measure Contagious Yawning in Rats. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (148), e59289.

En este artículo, los autores, presentamos un nuevo método para estimar el contagio del bostezo. Este método lo desarrollamos para su aplicación en la tesis que yo presento mientras desarrollaba ésta. En particular, el método atiende a varias dificultades y debilidades que presentan métodos tradicionales, tanto prácticas como teóricas. La aplicación de este método en la tesis que yo presento resulta de gran importancia, ya que permite identificar de manera más clara cuando ocurre el contagio del bostezo, y también, provee una evidencia más confiable de la presencia del contagio. Finalmente permite identificar características peculiares del contagio del bostezo en el humano y permitirá hacer comparaciones con otros estudios y en otras especies.

van Berlo, E., Díaz-Loyo, A. P., Juárez-Mora, O. E., Kret, M. E., & Massen, J. J. (2020). Experimental evidence for yawn contagion in orangutans (*Pongo pygmaeus*). *Scientific reports*, 10(1), 1-11.

En este artículo, los autores, mostramos los resultados de un estudio que diseñamos y llevamos a cabo en los Países Bajos como parte de una colaboración. Dicho estudio se basó en los métodos y estrategias que utilicé para el desarrollo de la tesis que aquí presento. Y también, sus resultados son congruentes y se relacionan con los de esta tesis.

Video Article

A Laboratory Method to Measure Contagious Yawning in Rats

Alejandro Moyaho¹, Alejandra P. Díaz-Loyo¹, Oscar E. Juárez-Mora¹, Evelyn Beristain-Castillo²¹Laboratorio de Ecología de la Conducta, Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Pue. Mexico²Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Pue. MexicoCorrespondence to: Alejandro Moyaho at alejandro.moyaho@correo.buap.mxURL: <https://www.jove.com/video/59289>DOI: [doi:10.3791/59289](https://doi.org/10.3791/59289)

Keywords: Behavior, Issue 148, sensory modalities, contagious yawning, unfamiliar rats, familiar rats, olfactory cues, sensory cues, animal communication

Date Published: 6/14/2019

Citation: Moyaho, A., Díaz-Loyo, A.P., Juárez-Mora, O.E., Beristain-Castillo, E. A Laboratory Method to Measure Contagious Yawning in Rats. *J. Vis. Exp.* (148), e59289, doi:10.3791/59289 (2019).

Abstract

Communication is an essential aspect of animal social life. Animals may influence one another and come together in schools, flocks, and herds. Communication is also the way sexes interact during courtship and how rivals settle disputes without fighting. However, there are some behavioral patterns for which it is difficult to test the existence of a communicatory function, because several types of sensory modalities are likely involved. For example, contagious yawning is a communicatory act in mammals that potentially occurs through sight, hearing, smell, or a combination of these senses depending on whether the animals are familiar to one another. Therefore, to test hypotheses about the possible communicatory role of such behaviors, a suitable method is necessary to identify the participating sensory modalities.

The method proposed here aims to obtain yawn contagion curves for familiar and unfamiliar rats and evaluate the relative participation of visual and olfactory sensory modalities. The method uses inexpensive materials, and with some minor changes, it can also be used with other rodent species such as mice. Overall, the method involves the substitution of clear dividers (with or without holes) with opaque dividers (with or without holes) that either allow or prevent communication between rats placed in adjacent cages with holes in adjoining sides. Accordingly, four conditions can be tested: olfactory communication, visual communication, both visual and olfactory communication, and neither visual nor olfactory communication. As social interaction occurs between the rats, these test conditions simulate what may occur in a natural environment. In this respect, the method proposed here is more effective than traditional methods that rely on video presentations whose biological validity can raise concerns. Nonetheless, it does not discriminate between the potential role of hearing and roles of smell and vision in yawn contagion.

Video Link

The video component of this article can be found at <https://www.jove.com/video/59289/>

Introduction

Traditionally, communicatory behavior has been studied from two perspectives. From one perspective, ethologists observe and record the behavior of animals in natural settings and attempt to recognize its adaptive value¹. The particular sense or senses involved have not been the primary interest of these studies. From another perspective, physiologists are more interested in unraveling the mechanisms by which animals communicate¹; hence, laboratory studies have provided methods to address the role that sensory modalities play in communication^{2,3}. These two perspectives are indeed complementary, because knowledge of both adaptive value and immediate mechanisms is necessary to gain a comprehensive understanding of communicatory behaviors in the social life of animals.

Yawning behavior is a conspicuous component of the behavioral repertoire in several species of vertebrates⁴, ranging from fish to primates⁵. It can be described as a slow opening of the mouth and maintenance of its open position, followed by a more rapid closure of the mouth⁵. The duration of the whole sequence depends on the species; for example, primates yawn for longer durations than non-primate species⁶. In many species, with humans being the exception, males tend to yawn more frequently than females⁷. This feature might underpin the possible communicatory function of yawning, although regular patterns of yawning and its daily frequency may also suggest a physiological function. In rats, spontaneous yawning follows a circadian rhythm, with peaks of high frequency occurring in the morning and afternoon^{8,9}.

One interesting feature of yawning behavior is that it can be a contagious act (when the releasing stimulus of a behavior happens to be another animal behaving in the same way¹⁰) in several species of vertebrates^{11,12,13,14,15,16}, including birds¹⁷ and rodents¹⁸. Furthermore, recent evidence has indicated that contagious yawning may reflect a communicatory role, because the yawning of one rat can affect the physiological state of another when exposed to olfactory cues¹⁹. However, whether or not yawning has a communicatory role is still under debate^{20,21}, and analyzing contagious yawning is an essential first step to solve this issue.

On the other hand, contagious yawning has been linked to an animal's ability to empathize with the perspectives of other animals; hence, closely related individuals are more likely to show contagion⁴. This hypothesis has been frequently tested in laboratory conditions in which animals are presented with yawn stimuli on video^{12,13}; hence, contagion can only occur through visual cues. Other investigations have assessed yawn contagion in more natural conditions using groups of animals^{14,15}. A major problem of this is that socially interacting animals often respond to

cues and exchange signals that are conveyed through combinations of sensory modalities. Disentangling the actual senses involved in a given behavior from their combined effects is not always an easy task. Typically, researchers pharmacologically or surgically hinder an animal's use of a given sense, then infer the role of that sense in the relevant behavior^{2,3,18,22}. Fortunately, there are other methods in which only physical barriers are used to either allow or impede communication between animals^{23,24,25}, thereby achieving greater biological validity.

The method proposed here has been specifically designed to study contagious yawning in familiar and unfamiliar rats in a social setting. According to the empathetic hypothesis, the former group should be more susceptible to contagious yawning. The method does not require the animals to be surgically or pharmacologically deprived of any senses. Instead, it works by placing the rats in adjacent cages with holes and physically obstructing their communication using either clear or opaque dividers with or without holes. Thus, four test conditions can be examined: (1) olfactory communication (OC, perforated opaque divider), (2) visual communication (VC, nonperforated clear divider), (3) visual and olfactory communication (VOC, perforated clear divider), and (4) neither visual nor olfactory communication (NVOC, nonperforated opaque divider). Therefore, researchers can compare the relative contributions of olfactory, visual, and to some extent, auditory cues in yawn contagion. This approach is not new, as similar methods have been used to isolate the senses involved in certain communicatory behaviors in animals such as lizards²³ and mice²⁶. In fact, Gallup and colleagues²⁷ have used a similar method to demonstrate the role of visual cues in contagious yawning in budgerigars. The main features of these methods are simulation of a social context and the minimal stress inflicted on the animals. Furthermore, the use of interacting animals increases the biological validity of the conclusions.

There are several ways to measure contagious yawning^{25,28}. Dr. Stephen E. G. Lea (personal communication, 2015) helped us numerically adapt a method previously employed by primatologists^{13,14} for an earlier analysis of the data used here¹⁸. Presented in this protocol is an enhanced version of this method with a wider range of applications. It consists of weighting the total number of a rat's yawns, within and outside of a given time window, by the proportion of observation time corresponding to the yawns within and outside the time window.

For example, if it is assumed that rats A and B are observed for 12 min, their yawning is recorded to the nearest minute, and a 3 min time window is set to measure contagious yawning. Next, the following sequences of yawns for each of those rats are considered: rat A (0,0,0,1,0,0,2,0,0,2,1) and rat B (0,1,1,0,1,1,0,0,0,0,3). It should be noted that each number (0-3) corresponds to the number of yawns scored at each min. For rat A, during minutes 1, 10, and 11 (numbers in bold type), rat B does not yawn within the preceding 3 min (the chosen time window) or within that minute. In those minutes, rat A yawns a total of 2 times. Therefore, the yawn rate of rat A without any yawn stimulus (non-post-yawn yawn rate) is 2/3 (i.e., 0.67 yawns/min). In the remaining 9 min, rat B yawns at least one time in either the same minute or the 3 previous minutes. Rat A yawns a total of four times in those 9 min. Therefore, the yawn rate of rat A in response to a yawn stimulus (post-yawn yawn rate) is 4/9 (i.e., 0.44 yawns/min). The application of the same procedure to rat B yields a non-post-yawn yawn rate of 2/3 (i.e., 0.66) and post-yawn yawn rate of 5/9 (0.55).

On the other hand, if yawning is recorded to the nearest decimal of a minute, yawn contagion will result in an adjusted post-yawn time. For example, if the following yawn times are recorded over a 12 min observation period for rats A and B: rat A (2.3, 5.1, 5.8, **10.4, 10.8, 11.1**) and rat B (1.2, 2.4, 4.5, 5.1, 11.2, 11.6, 11.8). For rat A, the time periods over which rat B does not yawn within the past 3 min range from 0 to 1.2 min and from 8.1 to 11.2 min (i.e., 3.1 min), which yields a total of 4.3 min of non-post-yawn time. The number of times that rat A yawns during those times is three (numbers in bold type), so the non-post-yawn yawn rate is 3/4.3 (i.e., 0.69), while the post-yawn yawn rate is 3/7.7 (i.e., 0.38; the denominator from 12-4.3 min). Similarly, for rat B, the time periods over which rat A does not yawn within the past 3 min range from 0 to 2.3 min and from 8.8 to 10.4 min, which yields a total of 3.9 min. The number of times rat B yawns within those periods is one, so the non-post-yawn yawn rate is 1/3.9 (i.e., 0.25). Accordingly, the post-yawn yawn rate is 6/8.1 (i.e., 0.74).

While a near-contemporaneous match in behavior is an ideal criterion to demonstrate the presence of a contagion, aspects such as the constraints on what an individual attends to, time of reaction to a stimulus, distribution of the behavior over time (e.g., yawning may occur in episodes), and time to acclimatize to the experimental setting all give rise to species differences, making it difficult to use a unique time window. This may be the reason why researchers have used time windows that vary from seconds⁵ to several minutes¹¹, which creates problems when comparing results²⁸. Because of this, it is proposed to repeat the procedure described above for a range of time windows to obtain yawn contagion curves and compare the yawn contagion curves between species.

Equivalent yawn contagion curves can be compared by randomly distributing the number of yawns observed for each rat over the observation period. Thus, the proposed method to measure yawn contagion offers two types of controls: the (1) yawn rate occurring outside of the time window (non-post-yawn time) and (2) artificial yawn contagion curve obtained from the random distribution of the number of yawns. Therefore, this approach to analyze yawn contagion is a step forward from other procedures, such as those comparing the percentage or frequency of yawning within a single time window to that occurring outside this window²⁵, without taking into account the actual times frames. The method is complemented by an R-based program²⁹ to conveniently and objectively calculate the probability of contagious yawning for one or more time windows.

To illustrate the usefulness of this method and advantages of the R-based program, a data set from a previously published study¹⁸ is used. The experimental condition consisted of 144 male rats allocated to either a familiar or unfamiliar condition. The rats in each experimental condition were subdivided into four subgroups of nine pairs and exposed to any of the four test situations described above. The yawning behaviors of the rats in each experimental condition and test situation were then recorded over a period of 60 min.

Protocol

The experimental protocols and animal husbandry were conducted in accordance with institutional guidelines.

1. Materials

- Find a complete list of the materials used to implement the method in the **Table of Materials**. Use **Figure 1** and seek expert advice to construct an inverted T-shaped table, observation cages, and cage dividers. Follow the safety indications for the use of sharp tools and potentially dangerous materials.
- Make an inverted T-shaped table by gluing two rail-like wooden bars (45 cm length, separated 0.6 cm from each other) onto the top and in the middle of a piece of wood (100 cm x 45 cm x 1.5 cm). Then, place a second piece of wood (50 cm x 45 cm x 0.6 cm) vertically between the rail-like bars. Ensure that this second piece of wood prevents the pair of rats on one side from seeing the other pair on the opposite side (**Figure 1**).
- Use glass and acrylic to create eight observation cages. Ensure that each cage (19 cm wide, 19 cm long, 10 cm high, 3 mm thick) has 24 equidistant holes (5 mm diameter) arranged in three rows in the middle of one of its sides. Make this side of acrylic (3 mm thick) and shorten the height of the opposite side by 0.7 cm to allow the rat to breathe.
 - Make sure each observation cage has a sliding lid made of acrylic to prevent the rat from rearing and distracting itself during the 60 min observation period.
- Make four dividers out of acrylic (19 cm wide, 30 cm high, 3 mm thick). Drill 24 holes (5 mm diameter) that match those in the observation cages, each in one clear divider and one opaque divider.
- Prepare data sheets in advance to record the occurrence of yawns. Include, in the heading of each data sheet, the name of the observer, experimental condition (i.e., familiar or unfamiliar rats), relevant test situation (OC, VC, VOC, NVOC), the date, and initial and final times of the observation. Divide the rest of the data sheet into two columns, each with the number of the rat written in the upper part, to record the yawning behavior of the rats.

2. Procedure

- House 144 male rats in groups of four in plastic cages (home cages) from weaning until they reach 2.5 months in age. Do not use female rats, because they tend to show greater variation in behavior due to hormonal cycles, which may be confused with the effects of the test situation. Make sure that the rats in each cage are not siblings.
NOTE: It might be difficult to obtain all the rats together. In that case, create blocks of at least 8 familiar rats and 8 unfamiliar rats so that every test situation is represented once in each experimental condition³⁰.
- To identify the rats, mark them with symbolic numbers on the tails using a commercial marker. For example, represent the numbers 1 to 4 by combining dots and lines (e.g., one dot for number 1 and one line for number 4). Identify familiar and unfamiliar rats using different colors.
NOTE: Handle the rats following safety directions provided by animal facility staff, and comply with recommendations concerning the correct use of laboratory animals at the institution where experiments will be performed.
- Randomly choose which home cages will house the group of familiar rats and which will house the unfamiliar group. For example, suppose there are 16 available rats living in four home cages: number the home cages 1 to 4, then use R (download it at <http://cran.r-project.org/>) as follows [after the prompt (>)]:

```
> sample(4,4)
[1] 4 3 2 1
```

 - Group the familiar (or unfamiliar) rats in home cages 4 and 3, and group the unfamiliar (or familiar) rats in home cages 2 and 1. Make sure the animal facility staff maintains the identity of each cage and handles the rats in the same manner as all other rats in the animal facility.
 - Use the R program again and randomly choose rats to form each pair in each experimental condition. Ensure that the rats in each pair of familiar rats originate from the same home cage, and ensure that the opposite is true for the pairs in the unfamiliar group. Randomly choose pairs of rats for each test situation in each experimental condition.
- Perform two test sessions per day with two of the eight possible test situations (four for each familiar and unfamiliar rats) per test session (i.e., 60 min observation period). Conduct the two test sessions consecutively within 3 h.
NOTE: Make sure to conduct all test sessions (four pairs of rats per day) either in the morning or afternoon to avoid any confounding factors. Run a complete replicate (eight test situations) of the experiment over two consecutive days.
 - Make sure to use the test situations in a random sequence for each replicate of the experiment. For example, use numbers 1 to 8 to identify each test situation, then use R as follows:

```
>sample(8,8)
[1] 8 7 4 6 5 1 2 3
```
 - Allocate test situations 8 and 7 to test session 1, test situations 4 and 6 to test session 2, and so on. Then, randomly choose the side of the inverted T-shaped table where each pair of rats (test situation) will be placed.
- Repeat the same procedure (steps 2.3 to 2.4.2) for a second replicate (i.e., block) of the experiment.
NOTE: If the aim of the study is to test the effects of a social condition (i.e., two interacting rats) on yawning frequency, use one rat placed in an observation cage next to an empty observation cage as a control for each of the four test situations. Perform this experiment 2x for each test situation for a control group of eight rats.
- Set up the test session by transferring the first four rats from the animal facility to the observation room, where they will remain for 15 min to acclimate to the novel environment. Transport the rats in individual cages and keep them separated from each other during transportation and in the observation room.
NOTE: Follow the safety directions for transporting animals provided by the animal facility staff and use the indicated clothes to work with animals in the laboratory. The rats will not have access to food and water while they are in the observation room.
- After the acclimatization period has passed, place the inverted T-shaped table on a larger rectangular table. Make sure there is a ceiling lamp that sufficiently lights the room when making observations.
- Put filter paper on the bottom of each observation cage and place the cages in pairs on each side of the inverted T-shaped table. Position the corresponding divider in between each pair of cages.

NOTE: The filter paper makes it easier to clean the cages and provides a rough surface on which the rats can move without slipping.

9. Strategically place two digital camcorders such that each records the yawning behavior of each pair of rats. Make sure the camcorders are safely fixed to tripods and correctly orientated to the observation cages. Connect the camcorders to a desktop computer to simultaneously monitor the behavior of the rats.
NOTE: Store the digital information on flash drives to permanently archive the experimental sessions. Use flash drives with a high storage capacity.
10. Following the acclimatization period, place the rats in the observation cages according to the allocation previously determined. Set the automatic focus of the camcorder and start the video recording simultaneously with a stopwatch. Stop the video recording at the end of the 60 min observation period.
NOTE: While the experimenters may be outside of the room during the test session and observing remotely, it is recommended that one person is in the observation room (as far away as possible from the experimental setting) while monitoring the behavior of the rats to ensure that the test session proceeds without interruption.
11. When the observation is over, return the rats to their home cages in the animal facility. Ask the animal facility staff to ensure that the rats have access to food and water again. Thoroughly clean the observation cages using a nontoxic detergent and prepare the experimental set-up to perform the second and final test sessions of the day.
NOTE: Clean the wood to remove any scents left by the rats when placed in the observation cages, which could affect the behavior of the next pair of rats tested.
12. Train one to two volunteers partially blind to the assigned treatments to identify and record yawning using an all-occurrence sampling method. Make sure the observers use the definition of yawning described in the introduction section.
13. Play back and project each video on a computer screen using any standard playback system. Ask the observer to view each video and observe and record yawning behavior using the previously prepared data sheets, then allow him/her to review the videos at slower speeds to enhance the ability to observe and measure yawning.
 1. Ask the observers to score yawning using a notation system similar to the following: use vertical lines with the minute written as a superscript to represent the occurrence of a yawn (e.g., $|^3 |^6 |^9$, indicating one yawn at minute 3, two yawns at minute 6, and one yawn at minute 9). Score yawning as a sequence (e.g., 1.2, 2.2, 3.2, 5.0, 5.8) to record it with greater precision (minutes rounded to one decimal place).
 2. Alternatively, directly input data from the videos into a computer using standard data collection programs. Make sure the observer is acquainted with such programs.
NOTE: If necessary, allow the observer to view each video in more than one session. Ensure that one observer views all the videos corresponding to one block of experiments. If two different observers viewed these videos, there may be a risk that differences in their abilities to observe and record yawning will confound the effects of the test situations. It is important to score the intra-observer reliability between different observers on 10%-20% of the videos to ensure that yawning is annotated in the same way.

3. Data processing

1. Transcribe the temporal sequence of yawns in each rat from the data sheets to a spreadsheet. Ensure there is one column for each rat with a short heading (e.g., fr1.l and fr1.r to indicate the first pair of familiar rats on the left and right sides, respectively). Ensure that all columns are the same length by filling the empty cells with either 0 or NA (see below).
NOTE: Use the general guide provided as a supplementary document to fully understand the following steps to process the data, measure contagious yawning, and obtain contagious yawning curves.
 1. If yawning was recorded to the nearest minute, type in the number of yawns at each relevant minute and use 0 (no yawn) to fill in the cells when no yawn occurred in a given minute. Save the worksheet as a text file (.txt).
 2. If yawning was recorded to the nearest decimal of a minute, type in the sequence top down and use "NA" to fill in the empty spaces of columns (rats) in which the numbers of yawns (rows) is lower than that of the column with the maximum number (rows) of yawns recorded for a rat. Save the worksheet as a text file (.txt).
NOTE: As R has the ability to work with empty cells, the worksheet can be saved with columns of different lengths. Use the help options provided by R to handle missing data.
2. Initiate R. Import the data from the file in which they were previously located.
3. Save the program codes with the extension ".R" (provided as supplementary material), then download the specific program code (see general guide) depending on whether yawns were recorded as integers or fractional numbers. Run the program for each pair of rats and desired number of time frames.
 1. Run the program again, now using a random distribution of the number of yawns from each rat (see general guide). Follow the same steps (steps 3.3 to 3.3.1) for all experimental conditions (i.e., familiar and unfamiliar rats) and/or all the test situations. Proceed as indicated in the general guide and export the results to Excel.
NOTE: Instead of importing a previously saved program, as suggested above using a text editor, copy and directly paste the program into R's workspace.
4. To create yawn contagion curves, use the data previously saved in an spreadsheet. Subtract the non-contagion rates from the contagion rates for each pair of rats, time window, and test situation. Separate the analyses of the observed data and artificial (randomly distributed) data.
 1. Next, calculate confidence intervals (CI) for each time window and test situation using a bootstrap procedure (see the general guide). Separate the analyses for familiar and unfamiliar rats. Then, combine the artificial data from the four test situations for each experimental condition and calculate the CI for each time window using a bootstrap procedure.
 2. Next, create plots for each test situation and experimental condition (see **Figure 2** and **Figure 3**). Finally, perform a multiple regression analysis to compare the intensity of yawn contagion between test situations (see below).

Representative Results

The rats were selected from a previously produced sub-line of Sprague-Dawley rats that were selected for frequent yawning (approximately 22 yawns per hour³¹). However, the nine pairs of unfamiliar and nine pairs of familiar male rats (between 2.5 and 3 months of age) used per test situation yawned approximately 12 times per hour, on average¹⁸. Therefore, the test situations to measure yawn contagion partially inhibited yawning behavior.

Yawn contagion was measured over a range of time windows that varied from 1 to 10 min. **Figure 2** shows the mean difference in the yawn rates between unfamiliar male rats in contagion and non-contagion conditions for each time window and test situation. These yawn contagion curves indicate that only OC rats (in cages with a perforated, opaque divider) showed yawn contagion, which is evident from time window 4 and onwards, because the CI of the averages does not overlap with the CI of the randomly allocated numbers of yawns over the 60 min period. The band indicated, as expected, that a random allocation of the number of yawns in each rat in the observation period produced yawn rates that oscillated at approximately zero, without showing any apparent pattern.

The multiple linear regression model fitted to the data indicated that the curves from the four test situations were significantly different ($F_{1,3} = 11.5$, $p < 0.0001$). Specifically, yawn contagion was stronger in OC rats than: VC rats (rats in cages with a nonperforated, clear divider; $t = -3.8$, $p < 0.001$), VOC rats (rats in cages with a perforated, clear divider; $t = -5.74$, $p < 0.0001$), and NVOC rats (rats in cages with a nonperforated, opaque divider; $t = -2.64$, $p < 0.01$). In all cases, the degrees of freedom were 695, since the analysis took into account not only the four test situations, but also the 10 time windows. As these conditions generated autocorrelated measurements, an autocorrelation term was added (ARMA, autoregressive moving average) to the statistical model. The overall trends over the 10 time windows also differed statistically from a 0 slope ($F_{1,1} = 11.99$, $p < 0.0001$). **Figure 3** shows the same analysis as that in **Figure 2**, applied to familiar male rats. In this case, none of the four test situations stimulated yawn contagion because their CI overlapped with the randomly generated CI band. There were no differences among the four test situations ($F_{1,3} = p = 0.14$); although, the overall increase in yawn contagion over the 10 time windows differed from a 0 slope ($F_{1,1} = 9$, $p < 0.01$).

The role of olfaction in the social life of mammals may be the reason why only the OC rats showed yawn contagion and yawned more frequently than the VC rats¹⁸. Visual cues may not have facilitated yawning, because albino rats do not see as well as non-albino rats. However, the VC rats yawned twice as much as the group of rats individually placed in an observation cage next to an empty cage¹⁸. This finding definitively supports the social nature of yawning and suggests that yawn contagion in rats is dependent on olfactory cues. However, the latter only supports the degree of familiarity between pairs of rats as being involved in yawn contagion, and auditory cues are the likely channel by which yawn contagion occurs¹⁸.

Overall, these are unexpected results according to the prediction that familiar rather than unfamiliar rats will show contagious yawning. Although the results presented do not use a positive control (we have no data in which contagious yawning is observed in closely related individuals), it is believed that this method is unbiased for contagious yawning in unfamiliar rats. Several elements support such a claim. First, familiar and unfamiliar rats did not differ in the average frequencies of yawning¹⁸; thus, the differences in yawn contagion detected here did not seem to depend on how frequently they yawned. Second, the fact that the same numbers of yawns per rat were randomly allocated to the observation period and that this did not produce yawn contagion in any group renders the finding of contagious yawning in unfamiliar rats more robust. Finally, a cross-correlation analysis (to detect contemporaneous matching of behavior) was previously applied¹⁸ to the same dataset used here, and the result coincided with what was found. Therefore, this method is sensitive enough to detect and measure changes in contagious yawning.

Alternatively, it may be questioned whether what was found here is contagious yawning. Such a concern is not exclusive to this study. There are two perspectives from which contagious yawning and its causality have aroused concerns. First, empathy does not seem to be the only factor underlying contagious yawning¹⁸, as species not expected to show empathy and/or mental state attribution skills such as sheep and rats can still show contagious yawning. Second, there is growing concern that what is called contagious yawning might not be as such. For many decades (Thorpe, 1956; cited previously¹⁰), contagious, stereotyped behavior patterns and contagious yawning in particular have been regarded as an expression of social facilitation. More recently, Kapitány and Nielsen²⁵ suggested through the use of simulated data that what is a perceptual pattern-recognition error may be incorrectly called contagious yawning. Therefore, the problem may not lie in the way contagious yawning is being measured but rather in how it is defined.

In summary, the method proposed here is useful to detect yawn contagion. In addition, it is useful to discard some sensory cues, thereby reducing the number of sensory cues to only one or two. Further experiments to test specific predictions are necessary to distinguish the effects of one sense from the others.

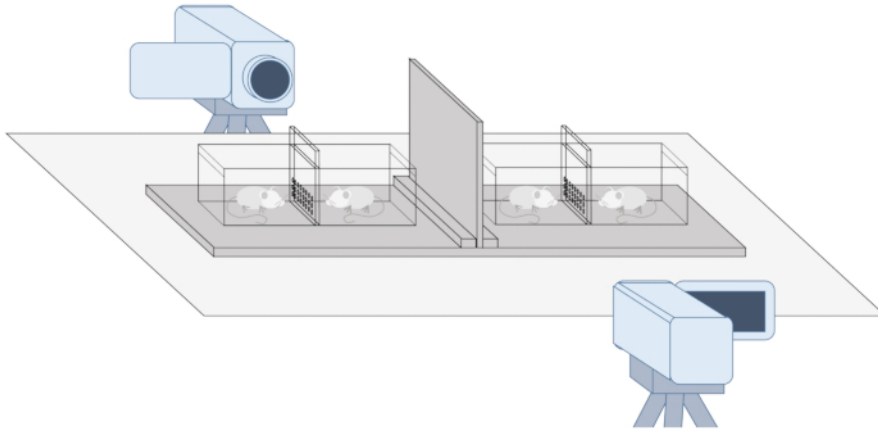


Figure 1: Schematic of the observation set-up to measure contagious yawning. Four individual cages were arranged in pairs on each side of the inverted T-shaped table. In each pair, the cages were facing each other with acrylic dividers in between. The specific test situation determines whether the divider in between the cages has holes and whether it is clear or opaque. The camcorders were strategically placed to record any instance of yawning behavior. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

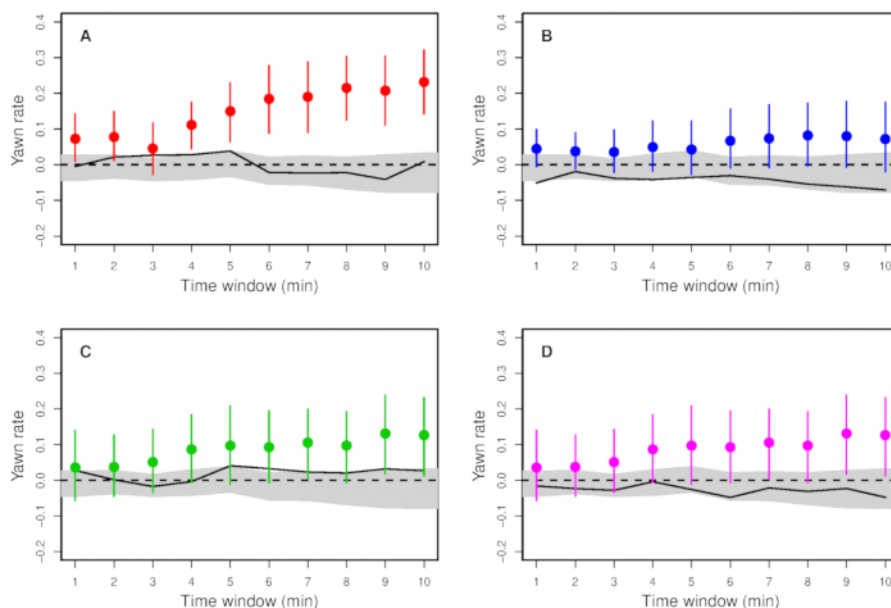


Figure 2: Yawn contagion curves for nine pairs of unfamiliar male rats exposed to (A) olfactory cues, (B) visual cues, (C) olfactory and visual cues, and (D) neither visual nor olfactory cues. Each circle represents the average difference in yawn rate with 95% confidence intervals (CI) from a rat that yawned in the same minute or in the minute (time window) preceding the yawn of the other rat and when it did not yawn. Yawn rate values above the dashed line indicate yawn contagion, whereas values below the dashed line indicate non-yawn contagion. The solid line joining the points at each time window is used to indicate the average difference in yawn rates at each time window when the number of yawns of each rat was randomly allocated to the 60 min observation period. The dark gray band indicates a 95% CI obtained by combining the random dataset from the four test situations at each time window (a continuous shade is used to facilitate the interpretation of the figure). One pair of rats exposed to olfactory cues was removed from the analysis because neither of the rats yawned. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

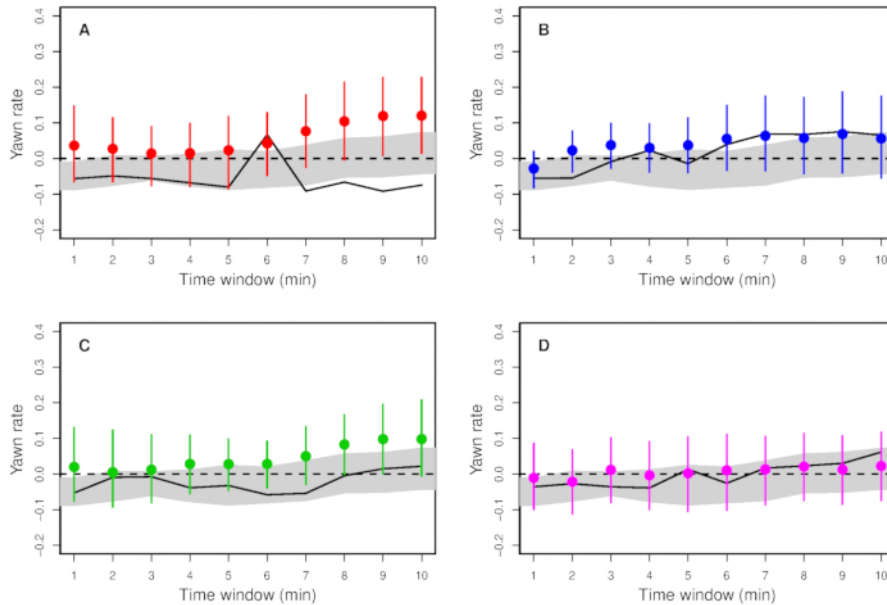


Figure 3: Yawn contagion curves for nine pairs of familiar male rats exposed to (A) olfactory cues, (B) visual cues, (C) olfactory and visual cues, and (D) neither visual nor olfactory cues. Each circle represents the average difference in yawn rate with 95% confidence intervals (CI) from a rat that yawned in the same minute or in the minute (time window) preceding the yawn of the other rat and when it did not yawn. Yawn rate values above the dashed line indicate yawn contagion, whereas values below the dashed line indicate non-yawn contagion. The solid line indicates the average difference in yawn rates at each time window when the number of yawns of each rat was randomly allocated to the 60 min observation period. The dark gray band indicates a 95% CI obtained by combining the random dataset from the four test situations at each time window. One pair of rats exposed to visual cues was removed from the analysis because one of the rats did not yawn. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

Discussion

There are critical steps in the method that should be taken into account to obtain successful results. Familiar rats must share home cages for at least 1.5 months after weaning and before running the experiments. However, unfamiliar rats must live in separate home cages. In both cases, the pairs of rats must come from different litters but be as similar in age as possible. Regarding the observation cages, their holes should match those in the dividers, because this is the only way to guarantee olfactory contact between the rats. The dividers, on the other hand, should be clear enough to ensure visual contact or opaque enough to ensure no visual contact. The wooden partition between one pair of rats and the other must be sufficient to prevent the rats on one side from seeing those on the other side. Another crucial aspect is the appropriate design of the experiment. Whenever there is a suspicion that a process may be biased, a random procedure should be implemented³⁰.

The method should not present serious problems to users. Making the holes in the glass was the main technical problem faced, and because of that, acrylic was used instead. Nonetheless, glass may be used for making the entire observation cages, provided professional advice is obtained. It should be ensured that the edges of the holes are filed to avoid glass splinters that may injure the rats. However, modifying the main method is not recommended (e.g., making the holes larger). Additionally, use of a combined group of males and females may make it difficult to detect yawn contagion.

The dividers used here may be insufficient to prevent the rats from using auditory cues, because rats are able to produce and perceive sounds at frequencies at which the materials of the observation cages and dividers likely did not block. However, this situation itself makes it possible to infer that auditory cues caused yawn contagion¹⁸ and that olfactory cues only facilitated the recognition of the partner's degree of familiarity. Therefore, the method proposed here still provides reasonable evidence to identify the senses involved in contagious yawning and their intensities.

Earlier methods have been designed to study contagious yawning in laboratory conditions mainly by presenting videos to the experimental individuals^{12,13}, but these were questionable approaches in terms of biological validity. The method presented here solves this concern by using socially interacting animals in conditions more similar to what occurs in the real world. Furthermore, it is possible to simultaneously explore the participation of several sensory modalities in a single experimental set-up. It is recognized that this method does not absolutely discriminate between the effects of auditory cues and other sensory cues. However, a well-designed further experiment may allow researchers to infer the most likely sensory modality involved¹⁸. One possible noninvasive solution is the use of white noise to mask sounds and eliminate auditory cues. Similarly, researchers may expose naive rats to bedding from OC rats to determine the role of olfactory cues, which is a proven procedure in social facilitation studies³².

The use of this method can be extended to study yawn contagion in other species. For example, this set-up can be used after simple modifications with animals such as mice and hamsters to compare yawn contagion curves. Comparisons among different species may reveal unexpected patterns. The basic experimental plan can work with larger animals such as guinea pigs, cats, and rabbits. Likewise, the method can be used to study other potentially contagious behaviors such as grooming and scratching. The R-based program can reduce the time spent

calculating yawn contagion for several time windows and can be used to measure yawn contagion in other vertebrate species, provided the user has previously collected relevant data.

In summary, the main advantages of this method are the leading to acquisition of yawn contagion curves and aiding in discrimination between the relative roles of sensory modalities involved. The acquisition of yawn contagion curves is, as far as we know, a novel approach that may be useful to measure the strength of a contagion and observe how this intensity varies among species. Accordingly, the method can also be used with some modifications in other animal species such as sheep¹⁶, wolves¹⁵, dogs³³, snakes³⁴, and fish⁵. In all these species except snakes, yawning has been previously documented. In fact, a method similar to the one presented here has been used successfully in budgerigars²⁷. This method may also be used to study other types of behavior that are contagious. For example, behaviors such as emotional reactivity, grooming, and scratching in rodents may be contagious. In fact, the method proposed here showed contagious emotional reactivity in familiar rats¹⁸.

Disclosures

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgments

A. M. was partially funded by the Vicerrectoría de Docencia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. We are especially indebted to the staff of the animal facility "Claude Bernard" for the use of the rats for the shoot. We thank anonymous referees for their comments on early versions of this manuscript. The presentation is less strident and more balanced because of their thoughtful comments

References

- Cézilly, F. A. History of Behavioural Ecology. In *Behavioural Ecology*. Danchin, E., Giraldeau, L.-A., Cézilly, F. Oxford University Press. Oxford. 3-27 (2008).
- Medina, L. M., Garcia, C. M., Urbina, A. F., Manjarrez, J., Moyaho, A. Female vibration discourages male courtship behaviour in the Amarillo fish (*Girardinichthys multiradiatus*). *Behavioural Processes*. **100**, 163-168 (2013).
- Mekdara, P. J., Schwalbe, M. A., Coughlin, L. L., Tytell, E. D. The effects of lateral line ablation and regeneration in schooling giant danios. *Journal of Experimental Biology*. **221** (8), 175166 (2018).
- Walusinski, O. Contagious Yawning. In *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*. Vonk, J., & Shackelford, T.K. Springer Nature. Switzerland AG. 1-5 (2018).
- Baenninger, R. Some comparative aspects of yawning in *Bettasplendens*, *Homo sapiens*, *Pantheraleo*, and *Papio sphinx*. *Journal of Comparative Psychology*. **101** (4), 349-354 (1987).
- Gallup, A. C., Church, A. M., Pelegrino, A.J. Yawn duration predicts brain weight and cortical neuron number in mammals. *Biology Letters*. **12**, 20160545 (2016).
- Baenninger, R. On yawning and its functions. *Psychonomic Bulletin and Review*. **4** (2), 198-207 (1997).
- Anías, J., Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Eguibar, J. R. Circadian variation of yawning behavior. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. **44** (4), 179-186 (1984).
- Holmgren, B. et al. Food anticipatory yawning rhythm in the rat. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. **51** (3-4), 97-105 (1991).
- Byrne, R. W. The evolution of intelligence. In *Behaviour and Evolution*,. Slater, P. J. B., Halliday, T. R. Cambridge University Press. Cambridge. 223-265 (1994).
- Provine, R. R. Yawning as a stereotyped action pattern and releasing stimulus. *Ethology*. **72** (2), 109-122 (1986).
- Provine, R. R. Faces as releasers of contagious yawning: An approach to face detection using normal human subjects. *Bulletin of the Psychonomic Society*. **27** (3), 211-214 (1989).
- Anderson, J. R., Myowa-Yamakoshi, M., Matsuzawa, T. Contagious yawning in chimpanzees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **271** (Suppl 6), S468-S470 (2004).
- Palagi, E., Leone, A., Mancini, G., Ferrari, P. F. Contagious yawning in gelada baboons as a possible expression of empathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **106** (46), 19262-19267 (2009).
- Romero, T., Ito, M., Saito, A., Hasegawa, T. Social modulation of contagious yawning in wolves. *PLoS One*. **9** (8), e105963 (2014).
- Yonezawa, T., Sato, K., Uchida, M., Matsuki, N., Yamazaki, A. Presence of contagious yawning in sheep. *Animal Science Journal*. **88** (1), 195-200 (2017).
- Miller, M. L., Gallup, A. C., Vogel, A. R., Vicario, S. M., Clark, A. B. Evidence for contagious behaviors in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): an observational study of yawning and stretching. *Behavioral Process*. **89** (3), 264-270 (2012).
- Moyaho, A., Rivas-Zamudio, X., Ugarte, A., Eguibar, J. R., Valencia, J. Smell facilitates auditory contagious yawning in stranger rats. *Animal Cognition*. **18** (1), 279-290 (2015).
- Moyaho, A., Flores Urbina A., Monjaraz Guzmán E., Walusinski O. Yawning: a cue and a signal. *Heliyon*. **3** (1), e00437 (2017).
- Gallup, A. C. Why do we yawn? Primitive versus derived features. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. **35**, 765-769 (2011).
- Gallup, A. C., Clark, A. B. Commentary: Yawning, acute stressors, and arousal reduction in Nazca booby adults and nestlings. *Frontiers in Psychology*. **6**, 1654 (2015).
- Fentress, J. C. Development of grooming in mice with amputated forelimbs. *Science*. **179** (4074), 704-705. (1973).
- Nicoletto, P. F. The roles of vision and the chemical senses in predatory behavior of the skink, *Scincellalateralis*. *Journal of Herpetology*. **19** (4), 487-491 (1985).
- Fehér, O., Wang, H., Saar, S., Mitra, P. P., Tchernichovski, O. De novo establishment of wild-type song culture in the zebra finch. *Nature*. **459** (7246), 564-568 (2009).
- Kapitány, R., Nielsen, M. Are yawns really contagious? A critique and quantification of yawn contagion. *Adaptive Human Behavior Physiology*. **3** (2), 134-155 (2017).
- Langford, D. J. et al. Social modulation of pain as evidence for empathy in mice. *Science*. **312** (5782), 1967-1970 (2006).

27. Gallup, A. C., Swartwood, L., Militello, J., Sackett, S. Experimental evidence of contagious yawning in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Animal Cognition*. **18**, 1051-1058 (2015).
28. Campbell, M. W., de Waal, F. B. Methodological Problems in the Study of Contagious Yawning. In *The mystery of yawning in physiology and disease*. Walusinski, O. Karger Publishers. Basel. 120-127 (2010).
29. R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <<http://www.R-project.org>> (2009).
30. Moyaho, A., Beristain-Castillo, E. Experimental Design: Basic Concepts. In *Encyclopedia of Animal Behavior*., Choe, J. C. Academic Press. Second Edition. **3**, 471-479 (2019).
31. Urbá-Holmgren, R. et al. Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioral Brain Research*. **40** (1), 29-35 (1990).
32. Smith, M. L., Hostetler, C. M., Heinricher, M. M., Ryabinin, A. E. Social transfer of pain in mice. *Science Advances*. **2**, e1600855 (2016).
33. Joly-Mascheroni, R. M., Senju, A., Shepherd, A. J. Dogs catch human yawns. *Biology Letters*. **4** (5), 446-448 (2008).
34. Barthalmus, G. T., Zielinski, W. J. Xenopus skin mucus induces oral dyskinesias that promote escape from snakes. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. **30** (4), 957-959 (1988).



OPEN

Experimental evidence for yawn contagion in orangutans (*Pongo pygmaeus*)

Evvy van Berlo^{1,2}✉, Alejandra P. Díaz-Loyo³, Oscar E. Juárez-Mora³, Mariska E. Kret^{1,2} & Jorg J. M. Massen⁴

Yawning is highly contagious, yet both its proximate mechanism(s) and its ultimate causation remain poorly understood. Scholars have suggested a link between contagious yawning (CY) and sociality due to its appearance in mostly social species. Nevertheless, as findings are inconsistent, CY's function and evolution remains heavily debated. One way to understand the evolution of CY is by studying it in hominids. Although CY has been found in chimpanzees and bonobos, but is absent in gorillas, data on orangutans are missing despite them being the least social hominid. Orangutans are thus interesting for understanding CY's phylogeny. Here, we experimentally tested whether orangutans yawn contagiously in response to videos of conspecifics yawning. Furthermore, we investigated whether CY was affected by familiarity with the yawning individual (i.e. a familiar or unfamiliar conspecific and a 3D orangutan avatar). In 700 trials across 8 individuals, we found that orangutans are more likely to yawn in response to yawn videos compared to control videos of conspecifics, but not to yawn videos of the avatar. Interestingly, CY occurred regardless of whether a conspecific was familiar or unfamiliar. We conclude that CY was likely already present in the last common ancestor of humans and great apes, though more converging evidence is needed.

Yawning is an evolutionarily old phenomenon as its associated motor features can be recognized in different groups of animals¹. It follows a stereotyped pattern that, once started, is unstoppable². Apart from its spontaneous form, it is also notoriously contagious, at least for some species; i.e. individuals yawn as an unconscious and automatic response to seeing or hearing other individuals yawn³. While a yawning-like pattern is observed in a wide range of vertebrates¹, contagious yawning (CY) is less wide-spread. To date, CY appears to be present in only a few, generally social species, including tonkean macaques⁴ (and possibly stump-tail macaques⁵), gelada baboons⁶, chimpanzees^{7–14}, bonobos^{15,16}, dogs and wolves^{17–19}, sheep²⁰, elephant seals²¹, budgerigars²², and rats²³. In contrast, studies failed to show CY in grey-cheeked mangabeys and long-tailed macaques²⁴, mandrills¹, common marmosets²⁵, lemurs²⁶, horses²⁷, lions¹, tortoises²⁸, and fish¹, even though some of these species are also very social. Despite growing interest in CY, both its proximate mechanisms (how it functions and develops) and ultimate causes (why and how it evolved) currently remain unclear.

Several hypotheses have been put forward, following a Tinbergian approach²⁹. One view on the proximate mechanism underlying CY is that it is an automatic form of physiological or emotional state-matching between individuals. This synchrony of states between individuals may work via a perception–action mechanism (PAM), an adaptive mechanism that serves to create and maintain relationships in highly social species and that can give rise to higher-order cognitive phenomena such as empathy³⁰. Some scholars argue that CY taps into the same PAM as emotion contagion (e.g.^{6,7,31,32}), which is the tendency to automatically synchronize emotional states with another individual³³. Following this line of thought, CY can thus potentially be a proxy for empathy (i.e. the CY-empathy hypothesis)^{6,9,12,18,31,34,35}. Indeed, neuroimaging studies have shown increased brain activity during CY in areas involved in theory of mind and social cognition^{36–38}, corroborating the idea that CY is linked with emotional state-matching and perhaps even empathy. Furthermore, individuals who score low on empathy scales (e.g. individuals on the autism spectrum) are less likely to engage in CY³⁹, and females yawn more frequently in response to seeing others yawn than males do, reflecting the idea that females show higher levels of empathy than males because of their investment in offspring care⁴⁰. Nevertheless, there are some studies that do not find such a clear link between CY and empathy. For instance, when people with autism spectrum disorder (ASD) are

¹Institute of Psychology, Cognitive Psychology Unit, Leiden University, Leiden, The Netherlands. ²Leiden Institute for Brain and Cognition (LIBC), Leiden, The Netherlands. ³Laboratorio de Ecología de La Conducta, Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Mexico. ⁴Department of Biology, Animal Ecology Group, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands. ✉email: evvyvanberlo@gmail.com

instructed to pay attention to the eyes (avoidance of the eyes is one of the characteristics of ASD), they are just as likely to yawn contagiously as neurotypical individuals⁴¹. Furthermore, the gender bias is not consistently found (e.g. ^{10,42}) and heavily debated^{43,44}. For instance, in chimpanzees, it appears that males yawn more frequently than females in response to seeing other males yawn¹⁰. Finally, while dogs do engage in CY, its presence is not affected by whether the yawner is prosocial versus the yawner being antisocial⁴⁵. The mixed findings in the studies investigating the relationship between CY and a complex construct such as empathy show that the topic deserves more attention, and that it is still debated (see Massen & Gallup (2017) for a critical review).

The emotional bias hypothesis is a more detailed specification of how CY can be socially modulated through a shared PAM, namely via social closeness and familiarity. The hypothesis predicts that individuals who are socially, and thus emotionally close are also more likely to yawn contagiously in response to each other^{15,16,18,19,34,46,47}. Additionally, individuals from a group (i.e. familiar others) are more likely to yawn in response to each other than to unfamiliar others^{9,18}. A potential issue that has been raised is that these studies often fail to rule out simple alternative explanations for CY that do not require higher-order cognition⁴⁸. For instance, effects of familiarity on CY may be explained by a general tendency to bias attention to familiar and socially close others⁴⁸. Nevertheless, in a recent study investigating auditory yawn contagion in humans, yawns were most contagious between family and friends while controlling for the potential effects of increased attention to socially close others using a non-visual stimuli³⁴. Still, in quite some social species, the linkage between CY and social closeness or familiarity is not found^{10,45,49–51}. For example, a recent study analyzing a large dataset on CY in dogs shows CY is present in dogs, but is not affected by familiarity or other potential mediators such as sex or prosociality⁴⁵. It therefore remains possible that mechanisms other than the same PAM that underlies emotion contagion or empathy are mediating CY. For instance, CY may result from stress induced by a common stressor in the environment^{5,52}. Thus, rather than being mediated by seeing others yawn, yawning occurs as a response to the stressor. Individuals that are stressed are known to show higher rates of self-directed behaviors, of which yawning and scratching are examples⁵³, and indeed, in one study involving stump-tail macaques, monkeys yawned more frequently in response to a video clip of yawns as compared to a control, but also scratched more⁵. The authors concluded that tension was most likely mediating the occurrence of yawning in the yawn condition. In short, while it is likely that CY is a social phenomenon, its exact mechanisms remain an active field of investigation.

Notwithstanding the debate on proximate mechanisms, little attention has been given to more ultimate explanations for CY. One of the few hypotheses out there is that CY is an adaptive mechanism that helps with social coordination⁵⁴. Accumulating evidence suggests that yawning itself serves to cool the brain as to maintain homeostasis^{55–60} and consequently may increase alertness and aid in vigilance. Within this social coordination hypothesis, CY, in turn, may help to spread vigilance within the group, for instance to remain alert for potential predators^{54,57}. Specifically, it may be adaptive to match the state of a vigilant conspecific as it may have sensed a predator, which the individual itself did not yet sense. To date, however, the social coordination hypothesis remains untested, and the thermoregulatory function of yawning is still debated (e.g. ^{61,62}, but see⁵⁸ for a response to the critique).

Another fruitful way to explore evolutionary hypotheses is through phylogenetic comparisons. Palagi et al. (2019) proposed the *common trait among hominids* hypothesis which states that, given the shared phylogeny between humans and great apes, CY may find its roots in a shared underlying socio-cognitive mechanism that was already present in at least the last common ancestor (LCA) of all hominids. Moreover, since CY is also present in some Old-World monkeys and non-primate species, its roots could be much older, or CY is an example of convergent evolution. To date, few data exist to perform comparisons and most interestingly, the picture among the great apes is not yet clear. There is convincing evidence for CY in chimpanzees^{7,8,10,12,14}. In bonobos, two observational studies^{15,16} and an experiment⁶³ show clear evidence for CY, while one experimental study did not¹². However, the latter study only tested four individuals, thus making it very likely that CY is, indeed, present in bonobos. Finally, the first comprehensive study on gorillas combining an experimental and naturalistic approach found no evidence for CY⁶⁴. Notoriously absent are data on CY in orangutans, which, considering their semi-solitary lifestyle⁶⁵ may be of comparative interest for a social phenomenon like CY. To date, the only existing study involving orangutans failed to find evidence for CY¹², yet the sample size was too small to be conclusive. In general, orangutans in the wild roam mostly solitarily: males travel alone, and mothers travel with their offspring⁶⁶. Due to overlapping home ranges, occasional encounters and affiliation are possible, but generally do not occur frequently^{66,67}. Consequently, finding out whether CY is present in orangutans will further help elucidate the hypotheses previously discussed.

The current study attempts to clear up the picture of CY in hominids in two ways. First, we aim to find a convincing answer to whether CY is present in orangutans or not via an experimental design involving the presentation of yawning and neutral stimuli of orangutans to 8 orangutans. Second, we also investigate whether this potential yawn contagion is affected by a familiarity bias, i.e. whether CY is stronger between individuals that know each other versus unfamiliar individuals. To this end, we exposed orangutans to videos showing either yawn or control clips of familiar (i.e. conspecifics living in close proximity) and unfamiliar orangutans, as well as a 3D avatar⁶⁸ and measured their response (yawns). Additionally, we also measured the occurrence of scratching to rule out potential effects of stress on the occurrence of yawning⁵³. So far, CY appears to be exclusively present in highly social species, and because orangutans do not show high affiliative tendencies, we therefore expected that orangutans do not show CY.

Name	Sex	Date of Birth	Developmental Stage ¹	Relationship
Amos	Male	20-12-2000	Adult	Father of Kawan, Baju and Indah
Baju	Male	02-12-2015	Juvenile	Son of Amos and Wattana
Indah	Female	19-10-2017	Infant	Daughter of Amos and Samboja, granddaughter of Sandy
Kawan	Male	22-02-2010	Adolescent (unflanged)	Son of Amos and Wattana
Kevin	Male	~ 1982	Adult	Born in the wild, no kin in group
Sandy	Female	29-04-1982	Adult	Mother of Samboja, grandmother of Indah
Samboja	Female	09-01-2005	Adult	Daughter of Sandy, mother of Indah
Wattana	Female	17-11-1995	Adult	Mother of Kawan and Baju

Table 1. Overview of test subjects, their sex, age, and relationship. ¹At start of experiment (January 2019).

Materials and methods

Ethics. The care and housing of the orangutans was adherent to the guidelines of the EAZA Ex situ Program (EEP). As the study was non-invasive in nature, there was no need for the approval of the Ethics Committee of Apenheul primate park and the study complied with the requirements of the Dutch Animal Care and Use Committee.

Subjects. Eight orangutans (ages: 15 months-36 years, 4 males) housed at Apenheul (The Netherlands), were tested (see Table 1 for an overview on sex and age). Individuals were divided over four neighboring enclosures and group composition varied weekly (Figure S1). The two adult females that had dependent offspring were always housed with their offspring and sometimes with one adult male. Experiments took place in the visitor area but while the park was closed to visitors. We tested individuals using a movable 47" TV (LG 47LH5000, 1920 × 1080 pixels) placed in front of the enclosures to which the orangutans were habituated before commencing testing. The screen was always directed at one of the four enclosures, which prevented orangutans in the other enclosures from seeing the videos. Food was provided four to six times a day and consisted of a variety of vegetables, and sometimes nuts, hay, and fruit, hidden in the enclosure for foraging purposes. Water was available ad libitum.

Stimuli. The experiment involved three categories of mute, full-screen videos, each consisting of both a yawn and control condition (see Fig. 1 for examples). We used mute videos as the enclosures were sealed with thick glass that dampened most of the sound both ways. Yawn videos showed clear yawns either filmed from the front or side, whereas control videos consisted of individuals with a neutral face and in a relaxed body position. Both types of videos involved movement, with yawn videos showing a wide gaping of the mouth followed by a relaxation of the mouth and jaw⁶⁹, including display of the teeth, and control videos showing an individual with a closed mouth with random movements of the lips. Both control and yawn videos were always of the same individual, and therefore the body position and face were identical. The *familiar* video category consisted of two adult males housed in the zoo (published under CC BY-NC-SA). For the *unfamiliar* video category, we used two adult males taken from clips on YouTube^{70,71} (published under the YouTube Standard License). Finally, in the *avatar* video category we used two mirrored videos of a computer-generated adult male. The 3D orangutan was created by Paul Kolbrink⁶⁸ from XYZ-Animation and designed in Autodesk 3ds Max (2017) using the Octane render engine (published under CC BY-NC-SA). Using these videos, we created video sequences starting with a primer video that depicted caretakers beckoning the orangutans towards the TV screen, which were created to grab the orangutans' attention right before the start of a trial. As we repeated the presentation of our video database four times during the course of the experiment, there were four different primers; one for every repetition.

Procedure. The experiment was carried out between 21-01-2019 and 13-03-2019. In this period, the park was closed for visitors. A test session involved the presentation of two different trials, each consisting of a specific video sequence, and each trial followed by an observation period. The video sequence consisted of a primer, followed by either a yawn or control video (lasting 14 s), which was repeated 4 times and with a colored screen (again to grab attention) for 1 s in between each video. The length of one video sequence was thus 90 s (cf. Massen et al., 2013): primer (30 s) – colored screen (1 s) – yawn/control video (14 s) – colored screen (1 s) – yawn/control video (14 s) – colored screen (1 s) – yawn/control video (14 s) – colored screen (1 s) – yawn/control video (14 s) – colored screen (1 s) – yawn/control video (14 s). The presentation of one video sequence (representing one trial) was then followed by a 3.5-min observation period, after which the second trial started. If the first trial involved yawn videos, the second trial involved control videos and vice versa. The second trial was also followed by a 3.5-min observation period, completing one test session. Within one test session we always showed the same stimulus individual.

We cycled through the entire video database four times (i.e. 4 blocks) over the course of the experiment to ensure sufficient data points. The order of control and yawn trials were counterbalanced per subject, and was further counterbalanced over the subjects per block. Within each block, *trigger* (i.e. familiar/unfamiliar/avatar) was also randomized per subject. We designed a testing schedule based on eight test subjects, but two of those subjects involved a mother-infant pair and a mother-juvenile pair in which the infant/juvenile never left the mother. As such, we created a test schedule for six individuals rather than eight. With these six test subjects, three types of triggers, two conditions (yawn and control), two orders of condition presentation (yawn-control,

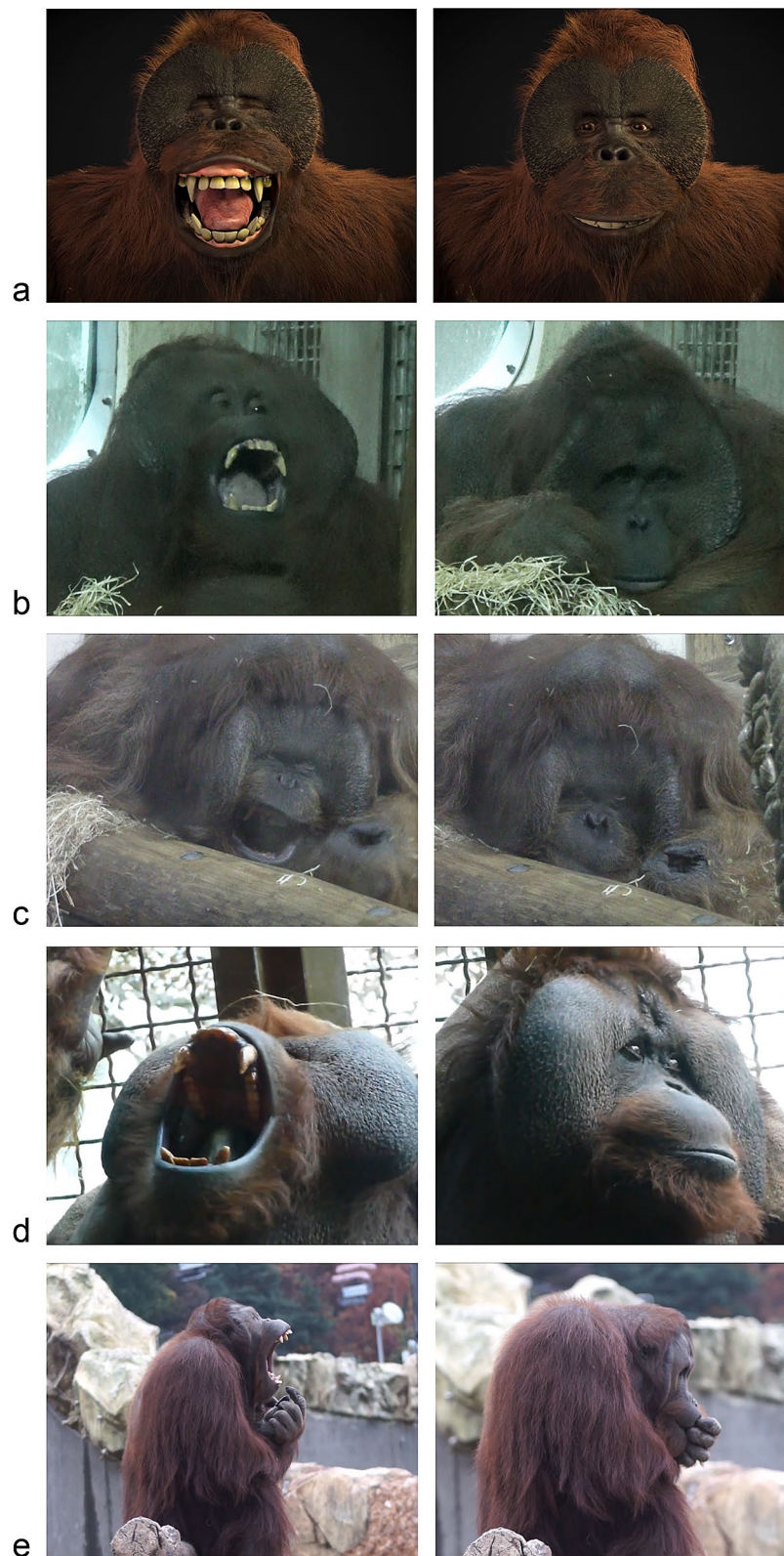


Figure 1. Stills of the videos used in the experiment with yawns on the left and controls on the right. A: Avatar^{*68}, B: Familiar adult 1, C: Familiar adult 2, D: Unfamiliar adult 1⁷⁰, E: Unfamiliar adult 2⁷¹. *To decrease the chances of pseudo-replication within this category we created horizontally mirrored copies of the yawn and control videos of the avatar such that – similar to the other triggers – we had two yawn and two control videos in total.

or control-yawn), and finally four repetitions, we had a total of 288 test sessions and 576 trials planned (see Table S1a-d and S2 for an overview). However, one video sequence was accidentally presented an extra time, resulting in 289 rather than the planned 288 sessions after data collection finished. On any given testing day, individuals participated in one or two sessions with 30 min breaks between video presentations to the tested subject. Furthermore, subjects never saw a video sequence more than once on any given day.

APDL and OEJM recorded all occurrences of yawning and scratching, and scratching was recorded as a measure for arousal and tension⁵³. It was not possible to reliably quantify the amount of time spent looking at the screen due to the lack of continuous visibility of the gaze of the orangutans. To nonetheless ensure maximum attention to the screen, we presented primers before video sequences and colored videos in-between yawn and control clips, and we only started testing when orangutans had a direct line of sight towards the screen. Additionally, before each trial, we observed the orangutans for five minutes, and only started a trial if there were no yawns before the presentation so as to rule out that yawns within a trial were potentially caused by a previous yawn outside of the trial. Furthermore, yawns were scored in response to either the yawn or control video only if a subject looked at least once to the screen during presentation. If bystanders in the same enclosure attended to the screen, their behaviors were also scored. Data collection ended after 10 min, concluding one test session. Finally, EvB coded 15% of the videotapes for inter-rater reliability purposes. Results showed a good agreement on occurrences of yawning (ICC = 0.764, $p < 0.001$ Table S3) and scratching (ICC = 0.894, $p < 0.001$, Table S4). In subsequent analyses, only yawns on which the raters agreed were used.

Statistical analysis. The dependent variable was whether a subject yawned in response to a video or not. Because it is difficult to disentangle between whether multiple yawns occurring in succession are caused by another individual, or whether they are simply the result of an urge to yawn multiple times perhaps because of self-contagion (i.e. where your own yawns cause you to yawn again), we did not compare rates of yawning to establish CY⁷². Rather, we looked at the likelihood of yawning within the yawn and control condition to establish the presence or absence of CY in orangutans. Nevertheless, when contagion indeed occurred, yawning rate could inform about the *strength* of contagion⁷². As such, we analyzed our data using hurdle models in R (lme4 package). Hurdle models follow a two-step method that first deals with zero-inflated count data and subsequently with positive counts once the initial hurdle is crossed⁷³, which make them applicable to our dataset.

In the first hurdle model we focused on whether CY is present or absent in orangutans by comparing the likelihood of yawning in the yawn and control condition using a binomial GLMM, in which we added *condition* as a fixed effect and *subject* nested in *trial* as a random effect. In the second step of the model, we analyzed the rates of yawning using a negative binomial GLMM only in those cases where at least one yawn occurred. Again, we entered *condition* as a fixed effect and *subject* nested in *trial* as a random effect. In the second hurdle model, we tested for potential effects of both *condition* and *trigger* (i.e. familiar/unfamiliar/avatar) and their interaction on the likelihood of yawning using a binomial GLMM, entering *condition* and *trigger* and their interaction as fixed effects, and again *subject* nested in *trial* as random effect. In the second step of the model, we were interested in how the conditions and triggers affected yawning rates in those cases that at least one yawn occurred. To investigate this, we entered *condition* and *trigger* and their interaction as fixed effects and *subject* nested in *trial* as random effect using a negative binomial GLMM.

It is possible that the likelihood of yawning in the conditions is due to the stimuli somehow being arousing to the observers, complicating the interpretation of the underpinnings of CY (see e.g.⁵). For instance, yawning often involves display of the canines, which may be arousing for the orangutans⁷⁴. Therefore, as a control analysis, we looked at self-scratching behavior as this is indicative of arousal in primates⁵³. In a third hurdle model, we checked whether the likelihood of scratching is affected by *condition* (fixed factor), with *subject* nested in *trial* as random factor and using a binomial GLMM. In the second step of the model using a negative binomial GLMM with *subject* nested in *trial* as random factor, we investigated whether scratching rate was affected by *condition*, *trigger*, and their interaction as fixed factors only in those cases when scratching occurred.

In all analyses, we compared the models to their respective null-models (i.e. including only the random effects) and only report on significant values if the models and null-models differ significantly from each other⁷⁵. For post-hoc contrasts of interaction effects we report corrected p-values using Tukey-adjustments. Alpha was set to 0.05.

Results

In total, we witnessed 83 yawns across 8 individuals and 289 sessions. First, we investigated the likelihood of yawning in the two conditions. We found a significant effect of *condition*; yawning was more likely to occur in the yawn versus the control condition ($\beta = 3.45$, $SE = 1.06$, $p = 0.001$). Next, we compared the yawning rate between the two conditions in those cases that at least one yawn occurred, but this alternative model did not deviate significantly ($\chi^2(1) = 3.09$, $p = 0.079$) from its respective null-model.

Assessing whether familiarity affects the occurrence of CY, we found a significant interaction effect of *trigger* (familiar, unfamiliar, avatar) with *condition*. Specifically, we found a significant contrast of yawns between the yawn and control condition in the familiar ($\beta = 6.62$, $SE = 1.59$, $p < 0.001$) and unfamiliar trigger ($\beta = 3.45$, $SE = 1.52$, $p = 0.023$), but not in the avatar trigger ($\beta = 0.09$, $SE = 1.58$, $p = 0.950$) (Fig. 2). Hence, orangutans are more likely to yawn in response to yawning videos rather than to control videos, but only when the yawning individual is a ‘real’ orangutan (i.e. a familiar or unfamiliar conspecific), and are less likely to yawn in response to the avatar. To investigate whether the likelihood of CY differed with regard to familiarity with the ‘real’ orangutan stimuli, we also ran an additional binomial model on a reduced dataset that excluded all trials with the avatar (see supplemental materials). Whereas this model confirmed the previously found effect of *condition*, here we did not find a significant interaction between *condition* and *familiarity*, suggesting that the likelihood

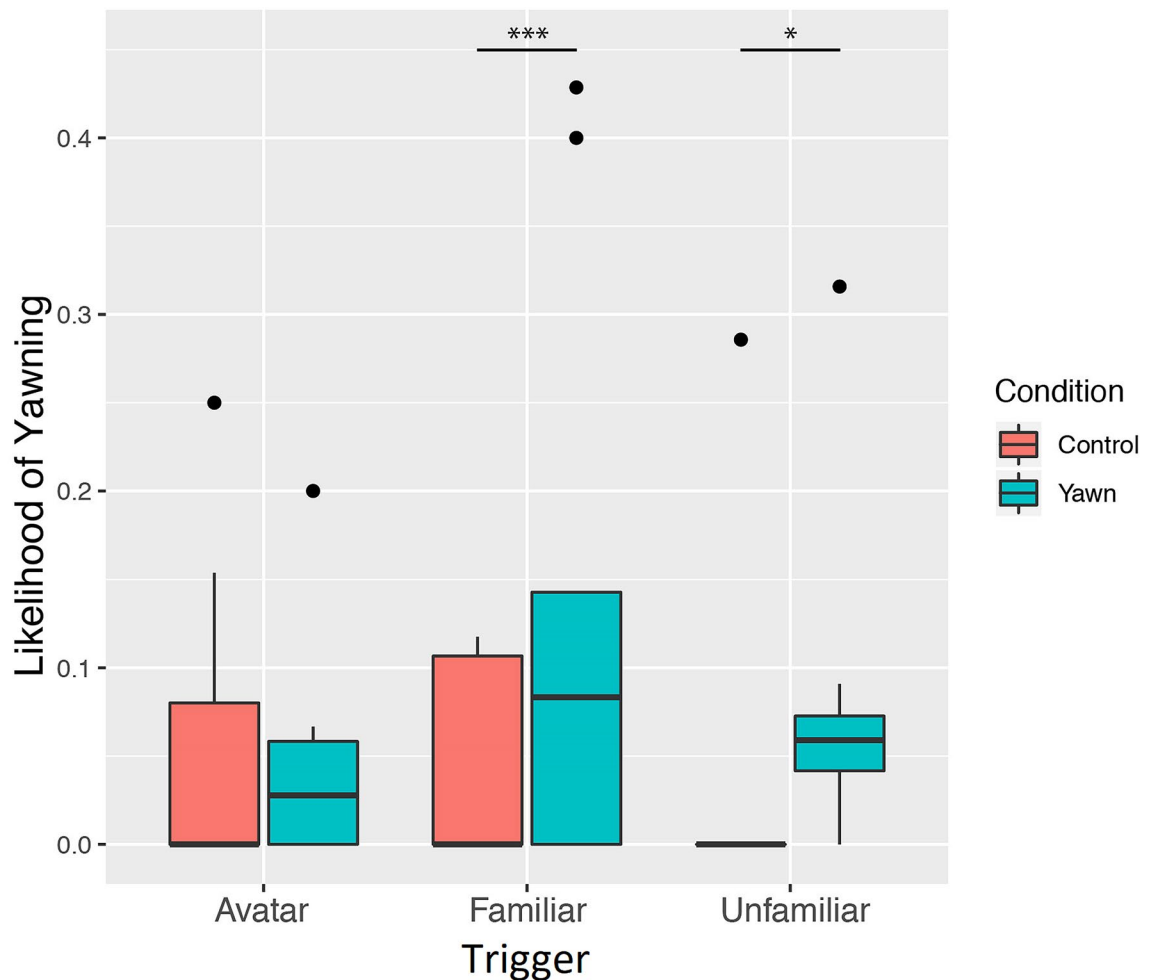


Figure 2. Likelihood of yawning across conditions and triggers. Boxplots show the median (solid line), 25th–75th percentile (box) and the largest and smallest value within 1.5 times the interquartile ranges respectively (whiskers). Dots reflect outliers.

of CY was not being modulated by the familiarity with the ‘real’ orangutan. We also investigated the effect of *familiarity* on yawning rate using the same reduced dataset, but the model including the interaction between *condition* and *trigger* did not significantly improve the null model ($\chi^2(3) = 3.50, p = 0.321$). As such, while we can establish that orangutans do show CY in response to yawn videos of familiar and unfamiliar conspecifics, this likelihood of CY is not modulated by familiarity and we cannot draw any conclusions regarding the *strength* of CY in relation to familiarity.

Looking at scratching, we first investigated the likelihood of scratching when viewing yawning and control videos, and found that the *occurrence* of scratching did not differ between conditions ($\beta = -0.17, SE = 0.17, p = 0.319$). Similarly, scratching *rates* were not significantly higher in the yawn versus control condition ($\beta = 0.10, SE = 0.09, p = 0.301$). Moreover, both models did not deviate significantly from their null-model ($\chi^2(1) = 1.06, p = 0.303$). Hence, it is unlikely that orangutans were more aroused viewing yawn videos compared to viewing control videos, at least when measured via scratching. Additionally, we also included scratching in our original models on yawning as a covariate, and found it to not significantly explain the likelihood of yawning, nor to influence the found effects of condition and the lack thereof in the avatar treatment (see Supplements).

Discussion

Here we find that orangutans yawn contagiously in response to conspecifics yawning, independent of whether the conspecific is a familiar or unfamiliar individual. Furthermore, orangutans were not susceptible to yawns of an avatar. Additionally, the videos used in our experiment appeared to be similarly arousing. That is, there was no difference in scratching (an indicator of stress) between the conditions. We here discuss the consequences of our findings for the different proximate and ultimate hypotheses that currently exist.

CY has thus far been observed in highly social species^{6,7,15,17,19–22} (but see^{1,24–27}). Orangutans have meaningful social interactions that occur more often than is expected by chance alone⁷⁶, but these interactions occur at a much lower frequency compared to bonobos and chimpanzees^{66,67}. Interestingly, our results show that orangutans exhibit CY, suggesting that a high degree of affiliation within a species is not necessary for CY to occur. This also indicates that more studies are needed that investigate the presence or, importantly, absence of CY in a

variety of species that differ on their social organization and affiliative tendencies. At the same time, it has to be noted that our sample consists of zoo-housed orangutans that were also born in captivity. In captivity, frequencies of affiliation can exceed those observed in the wild⁷⁷, thus potentially increasing the likelihood of CY to occur. Nevertheless, our results do show the presence of CY in orangutans and the few generations of zoo-living individuals cannot inform us about any selection pressures that have resulted in this tendency in orangutans. Our results must therefore be discussed in light of the orangutans' natural behavior and social environment.

In our study, we did not find an effect of familiarity on CY, suggesting that at least in orangutans, social modulation of CY may not be present. While presence of social modulation of CY is often used as confirmation of CY and emotion contagion sharing the same underlying perception–action mechanism^{9,15,16,18,35}, its absence in our data makes it more difficult to interpret the emotional bias hypothesis. Orangutans do have some preferences when it comes to their interaction partners, thus one could expect social modulation of CY under the emotional bias hypothesis. For instance, related female orangutans are known to associate more often than unrelated females⁷⁸, and prefer the long-calls of dominant males⁷⁹. Additionally, in a recent study, orangutans were shown to scratch contagiously in response to conspecifics scratching, suggesting a potential case of emotion contagion⁸⁰. Interestingly, scratch contagion was stronger between weakly bonded individuals during tense situations, which shows a social closeness bias in the opposite direction. This suggests that a familiarity bias may be more flexible depending on the situation individuals are in (e.g. relaxed versus stressful contexts) and the nature of the behavior that is copied (e.g. scratching as an expression of tension). At the same time, there are other studies on highly social species that do not show a familiarity bias (e.g. chimpanzees¹⁰, dogs⁴⁵, macaques²⁴, and marmosets²⁵). As such, there may be (currently unknown) species-specific traits that determine whether a familiarity bias occurs or not. The exact (social) function of CY remains unclear and thus alternative explanations that do not involve the PAM that is underlying empathy may still be possible (e.g. spreading of vigilance). As has been pointed out by others, solving this issue requires a more systematic study of CY that includes a bigger variety of animals, including solitary animals such as reptiles and amphibians⁴⁸.

From an evolutionary perspective, our results pose an interesting conundrum: while we found CY in orangutans, it is not present in gorillas, even though the split between orangutans and other hominids is evolutionarily older than the split between gorillas and other hominids⁸¹. It is possible that the number of trials in the study by Palagi et al. (2019) were not sufficient to detect CY, as in our study, even with a large number of trials, we only detected yawns in 11.9% of all cases. Nevertheless, studies with chimpanzees that have few trials were able to establish CY in the past, albeit with a relatively large number of subjects^{8,10,12}, and there was also no evidence for CY in naturalistic observations in gorillas⁶⁴. Interestingly, it has been argued that in the past, orangutans may have been more social, but that due to long periods of low food availability, orangutan gregariousness was no longer viable⁸². This may suggest that the ancestor of all apes already possessed the mechanism underlying CY. However, based on observational and relatedness data, it has been suggested that this hominid lived in a group with gorilla-like structure in which one male could monopolize multiple females⁸². In this sense, it is difficult to explain why, given a similar social structure, gorillas do not show CY and orangutans do. It is possible that CY was somehow lost in the gorilla lineage, or that CY developed multiple times over the course of evolution. The loss of CY is theoretically possible, given that CY has been found in some, but not all primates^{1,64}. Here, there is a role for the type of social system that characterizes a species in the loss (or occurrence) of CY⁶⁴. There is, however, not yet enough variation in data on CY in different species of primates to draw clear conclusions. Furthermore, it is possible that the measures to detect CY in certain species are simply not sensitive enough. All these explanations can be true, given that the occurrence of CY is highly variable in primates in general. It is clear that more studies are needed in order to draw robust conclusions about the evolution of CY.

In our study orangutans did not significantly respond to the avatar, which contrasts with findings in chimpanzees⁸. Potentially, orangutans experienced the uncanny valley phenomenon in which the avatar looks very realistic, yet fails to behave like a real orangutan, therefore violating natural expectations of orangutan behavior. Indeed, previous research on monkeys showed that they preferentially looked at real or completely unrealistic 3D model monkeys compared to very realistic 3D models⁸³. Nevertheless, this would likely have increased scratching when viewing the avatar, which was not evident in our study. Furthermore, a recent study investigating the uncanny effect in macaques showed that looking times did not differ between the Primatar (3D monkey head) and real or unrealistic images, indicating that the use of virtual stimuli can still be a promising way to study social cognition⁸⁴. Future studies will have to verify whether the lack of evidence for CY using an avatar in our study is because the effect is truly absent, for instance by looking specifically at how similarity with another individual (on a physical level) affects CY. In humans, there is ample evidence that the more similar that individuals are in terms of physical characteristics, but also personal convictions and views, the more likely they are to automatically mimic behavior⁸⁵.

Future studies can improve on the current study design in several ways. First, we only used orangutan males as stimuli. In previous studies with chimpanzees¹⁰ and bonobos¹⁵, the sex of the triggering yawner affected the occurrence of CY; i.e. in chimpanzees, male yawns were more contagious whereas in bonobos, female yawns were more contagious. In gelada baboons, CY is more prevalent among females, especially when they are closely bonded⁶. It is possible that these results can be explained by emotional closeness between individuals, as in chimpanzees males typically form strong social relationships⁸⁶, and in bonobos and gelada baboons it is mostly females that bond^{87,88}. Alternatively, results could be explained by the differences in hierarchy with chimpanzees being male dominant⁸⁹ and bonobos female dominant⁸⁷, and by the strong matrilineal bonds between gelada baboons⁹⁰. Investigating whether there is an interaction between sex of the stimulus and of the responder in orangutans could help elucidate the roots of the observed sex effects in CY in some species. The restricted selection of stimuli and the low sample size did unfortunately not allow us to perform such analyses. It is noteworthy, however, that the males in our study yawned more frequently than the females (i.e. the total yawning rate of males was 74, whereas females yawned only 9 times. See Table S1a). Yawns occur more frequently in males of

species with canine polymorphism, and also during aggressive contexts⁹¹. Given that all our stimuli were male, perhaps there is a role for dominance or rivalry in the occurrence of CY in orangutans²³. Nevertheless, one could argue that this leads to tense situations, thus leading to more scratching when observing yawns of others, which is not what we found.

Additionally, all of our videos contained flanged males. Flanged adult males are often preferred over unflanged males by receptive female orangutans⁹², and can be viewed as threatening by unflanged males⁹³. As such, in addition to interactions between the different sexes and CY, it may also be interesting to study potential effects of the two different morphs of orangutan males on CY.

Furthermore, due to power issues, we could not reliably test effects of age on CY. In humans, while spontaneous yawns can occur already before birth⁹⁴, CY does not seem to appear until the age of four to five^{95,96}, although when children of 3 years old are specifically told to look at the eyes of the stimulus they show CY as well⁹⁷. Similar developmental trajectories of CY have been reported in other animals^{6,7,11,50}. In our study, there were only two individuals younger than 5; one 15 months (Indah) and one three-year old (Baju). We observed one yawn occurrence in Indah (in the yawn condition), in Baju we observed six events (four in the yawn and two in the control condition). We decided to include these individuals in our study because while it is true that CY shows a relatively slow developmental pattern in humans, orangutans are born more precocial, and developmental rates in nonhuman primates are much faster compared to humans⁹⁸. Therefore, CY may possibly also occur earlier in development in orangutans, but with only anecdotal evidence we cannot verify this in our study.

Third, while we tested effects of familiarity in our study by including both familiar and unfamiliar yawners, the fact that we only had yawns from the two adult males to use as stimuli restricted any potential investigation of the potential link between social closeness of the responders and the familiar individuals on the stimuli. The positive effect of social closeness on the occurrence of CY is well established in humans⁹⁹, chimpanzees (but see¹⁰), and bonobos¹⁵, but is strongly debated in other species such as dogs⁴⁵ and budgerigars⁵¹. For dogs, it should be noted that CY is interspecific, and that domestication might have had influential effects on how CY is modulated. Inverse effects have also been reported. For instance, a large study in rats has shown a familiarity bias in the opposite direction with rats being more likely to yawn in response to unfamiliar yawners²³. Similarly, a recent study investigating scratch contagion in orangutans found that during tense situations, orangutans are more likely to take over scratching from individuals with whom they have a weak bond⁸⁰, indicating a (negative) correlation between social closeness and the contagiousness of a behavior or motor pattern. Thus, it remains possible that social modulation of CY is present in orangutans, at least in those living with conspecifics in captivity, although its presence was not shown in our sample. Yet, given our small sample size, replications that test for the presence and subsequent direction of social modulation of CY in orangutans are needed.

Finally, we could not quantify attention to the screen, which is one of the common methodological issues raised by Massen et al. (2017). We tried to maximize attention to the screen by using attention-grabbing videos of caretakers at the start of every video sequence, and by adding colored screens in-between stimulus presentations. Furthermore, we made sure that orangutans had a direct line of sight towards the screen at the start of the experiment, and only recorded yawns when they directed their attention to the screen at least once during stimulus presentation. Nevertheless, quantification of attention to the stimuli (either measured as a continuous variable or a frequency of gazes) remains the most robust way to control for potential effects of attentional bias.

To summarize, our findings contribute to understanding the evolutionary basis of CY in hominids by showing that orangutans, like humans, chimpanzees and bonobos, yawn contagiously.

Data availability

All data, code, and materials that are associated with this paper and used to conduct the analyses are uploaded and made openly accessible on the archiving platform DataverseNL: <https://doi.org/10.34894/JIWWCN>.

Received: 6 March 2020; Accepted: 3 December 2020

Published online: 17 December 2020

References

- Baenninger, R. Some comparative aspects of yawning in *Betta splendens*, *Homo sapiens*, *Panthera leo*, and *Papio sphinx*. *J. Comp. Psychol.* **101**, 349–354 (1987).
- Provine, R. R. Yawning as a stereotyped action pattern and releasing stimulus. *Ethology* **72**, 109–122 (1986).
- Massen, J. J. M., Church, A. M. & Gallup, A. C. Auditory contagious yawning in humans: An investigation into affiliation and status effects. *Front. Psychol.* **6**, 1–8 (2015).
- Palagi, E. & Norscia, I. The ethology of animal emotions: Investigation and interpretation. *Sist. Intelligenti* **31**, 11–32 (2019).
- Paukner, A. & Anderson, J. R. Video-induced yawning in stump-tail macaques (*Macaca arctoides*). *Biol. Lett.* **2**, 36–38 (2006).
- Palagi, E., Leone, A., Mancini, G. & Ferrari, P. F. Contagious yawning in gelada baboons as a possible expression of empathy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 19262–19267 (2009).
- Anderson, J. R., Myowa-Yamakoshi, M. & Matsuzawa, T. Contagious yawning in chimpanzees. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **271**, 468–470 (2004).
- Campbell, M. W., Carter, J. D., Proctor, D., Eisenberg, M. L. & De Waal, F. B. M. Computer animations stimulate contagious yawning in chimpanzees. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **276**, 4255–4259 (2009).
- Campbell, M. W. & de Waal, F. B. M. Ingroup-outgroup bias in contagious yawning by chimpanzees supports link to empathy. *PLoS ONE* **6**, 19–22 (2011).
- Massen, J. J. M., Vermunt, D. A. & Sterck, E. H. M. Male yawning is more contagious than female yawning among chimpanzees (*Pan troglodytes*). *PLoS ONE* **7**, 1–5 (2012).
- Madsen, E. A., Persson, T., Sayehli, S., Lenninger, S. & Sonesson, G. Chimpanzees show a developmental increase in susceptibility to contagious yawning: a test of the effect of ontogeny and emotional closeness on yawn contagion. *PLoS One* **8**, (2013).
- Amici, F., Aureli, F. & Call, J. Response facilitation in the four great apes: Is there a role for empathy? *Primates* **55**, 113–118 (2014).
- Campbell, M. W. & de Waal, F. B. M. Chimpanzees empathize with group mates and humans, but not with baboons or unfamiliar chimpanzees. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **281**, (2014).

14. Campbell, M. W. & Cox, C. R. Observational data reveal evidence and parameters of contagious yawning in the behavioral repertoire of captive-reared chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Sci. Rep.* **9**, 1–13 (2019).
15. Demuru, E. & Palagi, E. In bonobos yawn contagion is higher among kin and friends. *PLoS One* **7**, (2012).
16. Palagi, E., Norscia, I. & Demuru, E. Yawn contagion in humans and bonobos: emotional affinity matters more than species. *PeerJ* **2014**, 1–17 (2014).
17. Joly-Mascheroni, R. M., Senju, A. & Shepherd, A. J. Dogs catch human yawns. *Biol. Lett.* **4**, 446–448 (2008).
18. Romero, T., Konno, A. & Hasegawa, T. Familiarity Bias and Physiological Responses in Contagious Yawning by Dogs Support Link to Empathy. *PLoS One* **8**, (2013).
19. Romero, T., Ito, M., Saito, A. & Hasegawa, T. Social modulation of contagious yawning in wolves. *PLoS One* **9**, (2014).
20. Yonezawa, T., Sato, K., Uchida, M., Matsuki, N. & Yamazaki, A. Presence of contagious yawning in sheep. *Anim. Sci. J.* **88**, 195–200 (2017).
21. Wojczulanis-Jakubas, K., Plenzler, J. & Jakubas, D. Indications of contagious behaviours in the southern elephant seal: an observational study. *Behaviour* **156**, 59–77 (2019).
22. Gallup, A. C., Swartwood, L., Militello, J. & Sackett, S. Experimental evidence of contagious yawning in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Anim. Cogn.* **18**, 1051–1058 (2015).
23. Moyaho, A., Rivas-Zamudio, X., Ugarte, A., Eguibar, J. R. & Valencia, J. Smell facilitates auditory contagious yawning in stranger rats. *Anim. Cogn.* **18**, 279–290 (2015).
24. Deputte, B. L. Study of Yawning in Two Species of Cercopithecidae; *Cercocebus Albigena* Gray and *Macaca Fascicularis* Raffles: Research on Causal and Functional Factors; a Consideration of Socio-bioenergetic Factors Master Dissertation. (University of Rennes, 1978).
25. Massen, J. J. M., Šlipogor, V. & Gallup, A. C. An observational investigation of behavioral contagion in common marmosets (*Callithrix jacchus*): Indications for contagious scent-marking. *Front. Psychol.* **7**, 1190 (2016).
26. Reddy, R. B., Krupenye, C., MacLean, E. L. & Hare, B. No evidence for contagious yawning in lemurs. *Anim. Cogn.* **19**, 889–898 (2016).
27. Malavasi, R. Social modulation of yawning behavior in the domestic horse—an exploratory analysis. in *Conference Paper: 48th International Conference of the International Society for Applied Ethology*. (2014).
28. Wilkinson, A., Sebanz, N., Mandl, I. & Huber, L. No evidence of contagious yawning in the red-footed tortoise *Geochelone carolinaria*. *Curr. Zool.* **57**, 477–484 (2011).
29. Tinbergen, N. On aims and methods of Ethology. *Z. Tierpsychol.* **20**, 410–433 (1963).
30. Preston, S. D. & de Waal, F. B. M. Empathy: Its ultimate and proximate bases. *Behav. Brain Sci.* **25**, 1–20 (2002).
31. Platek, S. M., Critton, S. R., Myers, T. E. & Gallup, G. G. Contagious yawning: The role of self-awareness and mental state attribution. *Cogn. Brain Res.* [https://doi.org/10.1016/S0926-6410\(03\)00109-5](https://doi.org/10.1016/S0926-6410(03)00109-5) (2003).
32. Lehmann, H. E. Yawning. A homeostatic reflex and its psychological significance. *Bull. Menninger Clin.* **43**, 123 (1979).
33. Hatfield, E., Cacioppo, J. T. & Rapson, R. L. Emotional contagion. *Curr. Dir. Psychol. Sci.* <https://doi.org/10.1111/1467-8721.ep10770953> (1993).
34. Norscia, I., Zanoli, A., Gamba, M. & Palagi, E. Auditory contagious yawning is highest between friends and family members: support to the emotional bias hypothesis. *Front. Psychol.* **11**, 442 (2020).
35. Norscia, I. & Palagi, E. Yawn contagion and empathy in homo sapiens. *PLoS ONE* **6**, 1–5 (2011).
36. Cooper, N. R. *et al.* Bridging a yawning chasm: EEG investigations into the debate concerning the role of the human mirror neuron system in contagious yawning. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* **12**, 393–405 (2012).
37. Haker, H., Kawohl, W., Herwig, U. & Rössler, W. Mirror neuron activity during contagious yawning—an fMRI study. *Brain Imaging Behav.* **7**, 28–34 (2013).
38. Platek, S. M., Mohamed, F. B. & Gallup, G. G. Contagious yawning and the brain. *Cogn. Brain Res.* **23**, 448–452 (2005).
39. Senju, A. *et al.* Absence of contagious yawning in children with autism spectrum disorder. *Biol. Lett.* <https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0337> (2007).
40. Norscia, I., Demuru, E. & Palagi, E. She more than he: Gender bias supports the empathic nature of yawn contagion in *Homo sapiens*. *R. Soc. Open Sci.* <https://doi.org/10.1098/rsos.150459> (2016).
41. Usui, S. *et al.* Presence of contagious yawning in children with autism spectrum disorder. *Autism Res. Treat.* <https://doi.org/10.1155/2013/971686> (2013).
42. Bartholomew, A. J. & Cirulli, E. T. Individual variation in contagious yawning susceptibility is highly stable and largely unexplained by empathy or other known factors. *PLoS ONE* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091773> (2014).
43. Gallup, A. C. & Massen, J. J. M. There is no difference in contagious yawning between men and women. *R. Soc. Open Sci.* <https://doi.org/10.1098/rsos.160174> (2016).
44. Norscia, I., Demuru, E. & Palagi, E. Difference in contagious yawning between Susceptible men and women: why not?. *R. Soc. Open Sci.* <https://doi.org/10.1098/rsos.160477> (2016).
45. Neilands, P. *et al.* Contagious yawning is not a signal of empathy: No evidence of familiarity, gender or prosociality biases in dogs. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **287**, 20192236 (2020).
46. Palagi, E., Paoli, T. & Tarli, S. B. Reconciliation and consolation in captive bonobos (*Pan paniscus*). *Am. J. Primatol.* **62**, 15–30 (2004).
47. Silva, K., Bessa, J. & de Sousa, L. Auditory contagious yawning in domestic dogs (*Canis familiaris*): first evidence for social modulation. *Anim. Cogn.* **15**, 721–724 (2012).
48. Massen, J. J. M. & Gallup, A. C. Why contagious yawning does not (yet) equate to empathy. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **80**, 573–585 (2017).
49. O'Hara, S. J. & Reeve, A. V. A test of the yawning contagion and emotional connectedness hypothesis in dogs *Canis familiaris*. *Anim. Behav.* **81**, 335–340 (2011).
50. Madsen, E. A. & Persson, T. Contagious yawning in domestic dog puppies (*Canis lupus familiaris*): the effect of ontogeny and emotional closeness on low-level imitation in dogs. *Anim. Cogn.* **16**, 233–240 (2013).
51. Miller, M. L., Gallup, A. C., Vogel, A. R., Vicario, S. M. & Clark, A. B. Evidence for contagious behaviors in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): an observational study of yawning and stretching. *Behav. Processes* **89**, 264–270 (2012).
52. Buttner, A. P. & Strasser, R. Contagious yawning, social cognition, and arousal: an investigation of the processes underlying shelter dogs' responses to human yawns. *Anim. Cogn.* **17**, 95–104 (2014).
53. Troisi, A. Displacement activities as a behavioral measure of stress in nonhuman primates and human subjects. *Stress* **5**, 47–54 (2002).
54. Miller, M. L., Gallup, A. C., Vogel, A. R. & Clark, A. B. Auditory disturbances promote temporal clustering of yawning and stretching in small groups of budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J. Comp. Psychol.* **126**, 324 (2012).
55. Eguibar, J. R., Uribe, C. A., Cortes, C., Bautista, A. & Gallup, A. C. Yawning reduces facial temperature in the high-yawning subline of Sprague-Dawley rats. *BMC Neurosci.* **18**, 1–8 (2017).
56. Gallup, G. G. & Gallup, A. C. Excessive yawning and thermoregulation: two case histories of chronic, debilitating bouts of yawning. *Sleep Breath.* **14**, 157–159 (2010).
57. Gallup, A. C. & Gallup, G. G. Yawning as a Brain Cooling Mechanism: Nasal Breathing and Forehead Cooling Diminish the Incidence of Contagious Yawning. *Evol. Psychol.* **5**, (2007).

58. Gallup, A. C. & Eldakar, O. T. The thermoregulatory theory of yawning: What we know from over 5 years of research. *Front. Neurosci.* **6**, 188 (2012).
59. Gallup, A. C. & Gallup, G. G. Yawning and thermoregulation. *Physiol. Behav.* **95**, 10–16 (2008).
60. Massen, J. J. M., Dusch, K., Eldakar, O. T. & Gallup, A. C. A thermal window for yawning in humans: YAWNING as a brain cooling mechanism. *Physiol. Behav.* **130**, 145–148 (2014).
61. Elo, H. Yawning cannot cause significant temperature decreases in humans. *Sleep Med.* <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2010.06.005> (2011).
62. Guggisberg, A. G., Mathis, J., Schnider, A. & Hess, C. W. Why do we yawn? The importance of evidence for specific yawn-induced effects. *Neurosci. Biobehav. Rev.* <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.12.004> (2011).
63. Tan, J., Ariely, D. & Hare, B. Bonobos respond prosocially toward members of other groups. *Sci. Rep.* **7**, 1–11 (2017).
64. Palagi, E., Norscia, I. & Cordoni, G. Lowland gorillas (gorilla gorilla gorilla) failed to respond to others' yawn: experimental and naturalistic evidence. *J. Comp. Psychol.* **133**, 406 (2019).
65. Van Schaik, C. P. The socioecology of fission-fusion sociality in orangutans. *Primates* **40**, 69–86 (1999).
66. Te Broekhorst, I. J. A., Schürmann, C. L. & Sugardjito, J. Residential status and seasonal movements of wild orang-utans in the Gunung Leuser Reserve (Sumatra, Indonesia). *Anim. Behav.* **39**, 1098–1109 (1990).
67. Singleton, I. & Van Schaik, C. P. The social organisation of a population of Sumatran orang-utans. *Folia Primatol.* **73**, 1–20 (2002).
68. Kolbrink, P. Waldo by XYZ-animation. <http://animatio.com/waldo-page.html> (2017).
69. Barbizet, J. Yawning. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **21**, 203–209 (1958).
70. Bartlebydc. Orangutan yawns. https://www.youtube.com/watch?v=Ob2L_P80_oo (2008).
71. 阿|L|tv. Yawning Orangutan. <https://www.youtube.com/watch?v=bMhreSj15sE> (2013).
72. Kapitány, R. & Nielsen, M. Are yawns really contagious? a critique and quantification of yawn contagion. *Adapt. Hum. Behav. Physiol.* **3**, 134–155 (2017).
73. Cameron, A. C. & Trivedi, P. K. *Regression analysis of count data (Vol. 53)*. (Cambridge University Press, Cambridge, 2013).
74. Plavcan, J. M. Sexual dimorphism in primate evolution. *Yearb. Phys. Anthropol.* **116**, 25–53 (2001).
75. Forstmeier, W. & Schielzeth, H. Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **65**, 47–55 (2011).
76. Roth, T. S., Rianti, P., Fredriksson, G. M., Wich, S. A. & Nowak, M. G. Grouping behavior of Sumatran orangutans (*Pongo abelii*) and Tapanuli orangutans (*Pongo tapanuliensis*) living in forest with low fruit abundance. *Am. J. Primatol.* <https://doi.org/10.1002/ajp.23123> (2020).
77. Edwards, S. D. & Snowdon, C. T. Social behavior of captive, group-living Orangutans. *Int. J. Primatol.* **1**, 39–62 (1980).
78. van Noordwijk, M. A. *et al.* Female philopatry and its social benefits among Bornean orangutans. *Behav. Ecol. Sociobiol.* <https://doi.org/10.1007/s00265-012-1330-7> (2012).
79. Mitra Setia, T. & Van Schaik, C. P. The response of adult orang-utans to flanged male long calls: Inferences about their function. in *Folia Primatologica* (2007). doi:<https://doi.org/10.1159/000102317>.
80. Laméris, D. W., van Berlo, E., Sterck, E. H. M., Bionda, T. & Kret, M. E. Low relationship quality predicts scratch contagion during tense situations in orangutans (*Pongo pygmaeus*). *Am. J. Primatol.* **82**, 1–9 (2020).
81. Schwartz, J. H. *The red ape* (Elm Tree Books, London, 1987).
82. Harrison, M. E. & Chivers, D. J. The orang-utan mating system and the unflanged male: a product of increased food stress during the late Miocene and Pliocene?. *J. Hum. Evol.* **52**, 275–293 (2007).
83. Steckenfinger, S. A. & Ghazanfar, A. A. Monkey visual behavior falls into the uncanny valley. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 18362–18366 (2009).
84. Wilson, V. A. D. *et al.* Macaque gaze responses to the primatar: a virtual macaque head for social cognition research. *Front. Psychol.* <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.01645> (2020).
85. Chartrand, T. L. & Bargh, J. A. The chameleon effect: The perception-behavior link and social interaction. *J. Pers. Soc. Psychol.* **76**, 893 (1999).
86. Mitani, J. C., Merriwether, D. A. & Zhang, C. Male affiliation, cooperation and kinship in wild chimpanzees. *Anim. Behav.* **59**, 885–893 (2000).
87. Furuichi, T. Social interactions and the life history of female Pan paniscus in Wamba Zaire. *Int. J. Primatol.* **10**, 173–197 (1989).
88. Dunbar, R. & Dunbar, P. Social dynamics of gelada baboons. *Contrib. Primatol.* **6**, 1–157 (1975).
89. Goldberg, T. L. & Wrangham, R. W. Genetic correlates of social behaviour in wild chimpanzees: evidence from mitochondrial DNA. *Anim. Behav.* **54**, 559–570 (1997).
90. Silk, J. B., Alberts, S. C. & Altmann, J. Patterns of coalition formation by adult female baboons in Amboseli Kenya. *Anim. Behav.* **67**, 573–582 (2004).
91. Leone, A., Ferrari, P. F. & Palagi, E. Different yawns, different functions? Testing social hypotheses on spontaneous yawning in *Theropithecus gelada*. *Sci. Rep.* <https://doi.org/10.1038/srep04010> (2014).
92. Knott, C. D., Thompson, M. E., Stumpf, R. M. & McIntyre, M. H. Female reproductive strategies in orangutans, evidence for female choice and counterstrategies to infanticide in a species with frequent sexual coercion. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **277**, 105–113 (2010).
93. Delgado, R. A. & Van Schaik, C. P. The behavioral ecology and conservation of the orangutan (*Pongo pygmaeus*): a tale of two islands. *Evol. Anthropol.* **9**, 201–218 (2000).
94. De Vries, J. I., Visser, G. H. & Precht, H. F. The emergence of fetal behaviour. I. Qualitative aspects. *Early Hum. Dev.* **7**, (1982).
95. Anderson, J. & Meno, P. Psychological Influences on Yawning in Children. *Curr. Psychol. Lett. Behav. Brain Cogn.* **2**, (2003).
96. Millen, A. & Anderson, J. R. Neither infants nor toddlers catch yawns from their mothers. *Biol. Lett.* **7**, 440–442 (2011).
97. Hoogenhout, M. Young children display contagious yawning when looking at the eyes. *J. Child Adolesc. Behav.* **01**, 1–4 (2013).
98. Clancy, B., Finlay, B. L., Darlington, R. B. & Anand, K. J. S. Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology* <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2007.01.014> (2007).
99. Provine, R. R. & Hamernik, H. B. Yawning: Effects of stimulus interest. *Bull. Psychon. Soc.* **24**, 437–438 (1986).

Acknowledgements

We thank Paul Kolbrink for creating the 3D orangutan, and Apenheul and the orangutan caretakers for facilitating the study. In addition, we thank Linde Oostinga and Vinne van Buuren for their valuable assistance with piloting the study. Furthermore, we thank Tom Roth and Jingzhi Tan for their valuable feedback on the discussion and analyses. Finally, we thank Patrick Neilands and three anonymous reviewers for their constructive feedback on the manuscript.

Author contributions

Conceptualization: E.v.B., J.J.M.M. Design: J.J.M.M., E.v.B., A.P.D.L., O.E.J.M., M.E.K. Data acquisition: A.P.D.L., O.E.J.M. Analyses: J.J.M.M., E.v.B. Manuscript: E.v.B., J.J.M.M. Review: J.J.M.M., A.P.D.L., O.E.J.M., M.E.K.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79160-x>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to E.B.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2020