

UCH-FC  
MAG-8  
A 357  
C. 1

**FLEXIBILIDAD FISIOLÓGICA DE LA FUNCIÓN RENAL EN EL  
PASERIFORME OMNÍVORO *Zonotrichia capensis* (EMBERIZIIDAE): EFECTO  
DE LA DIETA Y DE LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA**

Tesis  
Entregada a la  
Universidad de Chile  
En cumplimiento parcial de los requisitos  
para optar al grado de

Magíster en Ciencias Biológicas  
con mención en Ecología y Biología Evolutiva

Facultad de Ciencias

Por

**PATRICIA LORETO ALDEA SÁNCHEZ**

Octubre, 2006

Director de Tesis: Dr. Pablo Sabat Kirkwood



**FACULTAD DE CIENCIAS**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACIÓN**

**TESIS DE MAGÍSTER**

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la tesis de Magíster presentada por la candidata:

**PATRICA LORETO ALDEA SÁNCHEZ**

Ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como parte de los requisitos para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 19 de Octubre 2006.

**Director de Tesis:**

Dr. Pablo Sabat Kirkwood

**Comisión Informante de Tesis**

Dr. Mauricio Canals

Dr. Rodrigo Vásquez





*A mis seres queridos.*



Patricia nació en Caracas, Venezuela en Agosto del año 1974. Llegó a Chile en 1980, y adquirió la nacionalidad chilena. Ingresó a la carrera de Medicina Veterinaria en la Universidad Mayor, obteniendo su Licenciatura y Título hacia los años 1999 y 2001, respectivamente. Posteriormente, ingresó al Programa de Magíster en Ecología y Biología Evolutiva de la Universidad de Chile en el año 2003. Se incorporó al laboratorio de Ecofisiología Animal realizando sus tesis bajo la dirección del Dr. Pablo Sabat. Sus intereses se enfocan principalmente al estudio de los animales y su respuesta fisiológica frente a ambientes alterados.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer al Dr. Pablo Sabat por su paciencia, apoyo y comprensión durante la realización de esta Tesis. Además, por darme la oportunidad de aprender con su experiencia, sus críticas y gran motivación.

Agradezco a los integrantes del Laboratorio de Ecofisiología Animal: Andrés y Sandra por enseñarme y acompañarme en mis excursiones, manejo de equipos, cuidado de las aves y tantas otras lecciones más; a Karin Maldonado por su capacitación en el recuento de conos medulares, al profesor Canals por su colaboración en el manejo estadístico, Claudio, Carezza, etc. por su apoyo y estímulo para realizar este trabajo.

A Rafael Rodríguez por su compañía, paciencia y confianza quien junto con mis padres me hicieron sentir su apoyo incondicional durante este proyecto.

Por último, esta tesis fue financiada por el proyecto FONDECYT 1050196 y Beca de Tesis de Postgrado U. de Chile (PG- 21 año 2004).



## INDICE DE MATERIAS

	Página
Lista de Tablas .....	iv
Lista de Figuras .....	v
Resumen .....	vii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<i>Zonotrichia capensis</i> como modelo experimental .....	7
Objetivos .....	8
Hipótesis y predicciones .....	9
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	10
Animales y captura .....	10
Función renal .....	11
Morfología renal .....	12
Análisis estadístico .....	12
<b>RESULTADOS</b> .....	14
Fisiología renal .....	15
Morfología renal .....	23
<b>DISCUSIÓN</b> .....	35
<b>REFERENCIAS</b> .....	43
<b>ANEXOS</b> .....	50



## LISTA DE TABLAS

	Página
TABLA 1: Composición de las dietas proporcionadas a los individuos durante su aclimatación.....	11
TABLA 2: Comparación de la masa corporal promedio en <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con disponibilidad diferencial de agua al inicio y término de los tratamientos.....	14
TABLA 3: Matriz de correlaciones entre las variables analizadas morfológicas y fisiológicas.....	30
TABLA 4: Ejes de los componentes principales (Eje 1 y 2) derivados del análisis de las variables fisiológicas y morfológicas en <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados a los distintos tratamientos .....	32



## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Concentración de nitrógeno úrico en la excreta de <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua <i>ad libitum</i> (AL) y restringida un 50% (RH).....	15
FIGURA 2: Concentración de nitrógeno amoniacal en la excreta de <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua <i>ad libitum</i> (AL) y restringida un 50% (RH).....	16
FIGURA 3: Concentración de nitrógeno ureico en la excreta de <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua ( <i>ad libitum</i> (AL) y restringida un 50% (RH)).....	17
FIGURA 4: Porcentaje de los desechos nitrogenados en la orina de <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados por 21 días con dos dietas contrastantes en su proporción de proteína (hiperproteicas (AP) e hipoproteicas (BP)) y a dos niveles de disponibilidad de agua ( <i>ad libitum</i> (AL) y restringida un 50% (RH)).....	18
Figura 5: Osmolalidad de las excretas de <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua ( <i>ad libitum</i> (AL) y restringida un 50% (RH)).....	19
FIGURA 6: Osmolalidad del plasma de <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua <i>ad libitum</i> (AL) y restringida un 50% (RH).....	20
FIGURA 7: Hematocrito de <i>Zonotrichia capensis</i> aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua <i>ad libitum</i> (AL) y restringida un 50% (RH).....	21
FIGURA 8: Osmolalidad de la orina después de 48 hrs. de restricción hídrica ( $O_{max}$ ) posterior a 21 días de aclimatación con dietas hiperproteicas (AP) e hipoproteicas (BP) con disponibilidad de agua <i>ad libitum</i> (AL) y restringida al 50% (RH) en <i>Zonotrichia capensis</i> .....	22



FIGURA 9: Efecto de los tratamientos en la masa renal (Ancova) de los individuos de la especie *Zonotrichia capensis* tratados con dietas hipo e hiperproteicas con consumo de agua *ad libitum* y restringida al 50%..... 23

FIGURA 10: Masa de la corteza renal en *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH)..... 24

FIGURA 11: Masa de la médula renal en *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH)..... 25

FIGURA 12: Razón del número de conos medulares/ masa renal ( $C_{std}$ ) en *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH)..... 26

FIGURA 13: Número de conos medulares en *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP), con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH)..... 27

FIGURA 14: Longitud de los conos medulares en *Zonotrichia capensis* posterior a 21 días de aclimatación a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con disponibilidad de agua *ad libitum* (AL) y restringida al 50% (RH)..... 28

FIGURA 15: Promedio de las puntuaciones factoriales (factor scores) del Eje 1 del Análisis de Componentes Principales (asociado a la condición de antidiuresis) en *Zonotrichia capensis* posterior a la aclimatación experimental. .... 33

FIGURA 16: Promedio de las puntuaciones factoriales (factor scores) del Eje 2 del Análisis de Componentes Principales (asociado a la condición corporal) de *Zonotrichia capensis* posterior a la aclimatación experimental ..... 34



## RESUMEN

Tradicionalmente se ha sostenido que el principal desecho nitrogenado de aves es el ácido úrico, constituyendo entre un 55- 72% del total del nitrógeno excretado en la orina, mientras que el amonio, entre un 6- 23% y la urea, entre un 2- 10%. Sin embargo, estudios recientes han señalado que la proporción de estos desechos puede variar según el consumo de agua, requerimientos energéticos, temperatura ambiental cantidad y calidad de la proteína en la dieta. Así, las aves se comportarían como uricotélicas cuando sus requerimientos energéticos son bajos y/o cuando están restringidas en el acceso a fuentes de agua. Por el contrario, se comportarán como amoniotélicas cuando exista alta disponibilidad de agua, requerimientos energéticos elevados y/o cuando la ingesta de proteína sea limitada. Sin embargo, esta flexibilidad en el tipo de desecho nitrogenado se ha estudiado sólo en aves nectarívoras y frugívoras siendo escasos los estudios que incluyan especies omnívoras y granívoras. El presente estudio pretende abordar esta problemática en una especie omnívora del Orden Paseriformes: *Zonotrichia capensis* (chicol). Se estudió además algunos aspectos de la fisiología osmorregulatoria en función de cambios en la composición química de la dieta y la variación del recurso hídrico. Se realizaron experimentos de aclimatación a dos dietas con cantidades diferenciales de proteína (alta, AP y baja, BP) y dos niveles de disponibilidad hídrica (agua *ad libitum*, AL y restringida al 50% del promedio obtenido durante seis días de evaluación, RH). Finalizadas las tres semanas de aclimatación, se estudió la morfología y fisiología renal. Los resultados indican que *Zonotrichia capensis* no presenta amoniotelia facultativa. Posiblemente, esto se podría explicar porque el consumo máximo de agua no sobrepasaría un umbral crítico y que los niveles de ingesta de

proteína no serían limitantes y la excreción de ácido úrico no representaría un gasto energético significativo en estas aves. Debido a que aparentemente la modificación de los componentes de la orina ocurren a nivel intestinal en aves, los resultados sugieren que *Z. capensis* carecería de los mecanismos necesarios para producir una modificación post-renal de la orina , i.e., presencia de la flora cecal necesaria, ciegos funcionales o presencia de transportadores específicos de ácido úrico.

Sin embargo, frente a una restricción hídrica, las aves respondieron con un aumento significativo de la concentración de ácido úrico y de amonio, con el consecuente aumento de la concentración urinaria. Además, se observó una respuesta integrada entre la morfología y la función renal ya que la concentración de la orina y el plasma se correlacionaron positivamente con la masa y porcentaje del tejido medular, respondiendo en forma conjunta a la deshidratación y la necesidad de antidiuresis. Un aumento de la proporción de la médula a nivel intraespecífico en *Z. capensis* coincide con una mayor concentración de la orina, lo que confirma el patrón encontrado a nivel interespecífico en aves. Por otro lado, las aves con disponibilidad hídrica constante presentaron una reducción de la concentración de ácido úrico y amonio, con una disminución de la concentración urinaria.

Se encontraron diferencias significativas en la masa renal en aves sometidas a los distintos tratamientos. Se observó que este aumento de la masa renal fue debido a una variación en la masa cortical, la cual aumentó significativamente por la proteína dietaria y en menor grado por el efecto conjunto de ambos tratamientos. Se observó que dietas BP estimulan un aumento en el catabolismo corporal produciendo una disminución de la

masa de los individuos, del hematocrito y de la masa renal y cortical, lo que aumenta indirectamente la relación número de conos medulares/ masa renal.

Se ha descrito que aves nectarívoras o frugívoras responden de una manera drástica frente a la deshidratación y a la disponibilidad proteica, observándose en ellas un fuerte aumento en la concentración urinaria, cambios en la concentración y proporción de los desechos nitrogenados y un aumento del tamaño renal con una gran hipertrofia medular. *Z. capensis* es una ave primariamente granívora, la cual sufre una presión constante hacia la antidiuresis debido al bajo contenido hídrico de los granos y semillas de los que se alimenta. Esto explicaría una menor respuesta global a la restricción hídrica que otros grupos de aves que se alimentan de dietas líquidas hipoproteicas. Por último, sería interesante evaluar en aves granívoras el efecto de la temperatura ambiental sobre la excreción de los desechos nitrogenados y la morfología renal, siendo éste un interesante punto a desarrollar en estudios posteriores.

## INTRODUCCIÓN

La modalidad de la respuesta fisiológica a estímulos ambientales puede incluir cambios reversibles e irreversibles. Esta capacidad de variación ontogénica del fenotipo que involucra un solo genotipo produciendo diferentes fenotipos en respuesta a una variación de los factores ambientales (e.g., calidad de la dieta, temperatura, disponibilidad de agua, entre otros) es comúnmente llamada plasticidad fenotípica (De Jong 1995, Stearns 1989, Tieleman et al. 2002, Travis 1994, Piersma & Lindstrom 1997, Via et al. 1995). Los cambios reversibles en la composición corporal, tamaño de órganos y procesos fisiológicos proveen ejemplos de flexibilidad fenotípica (López- Calleja & Bozinovic 2000, Piersma & Lindstrom 1997, Sabat et al. 1998) que representaría una respuesta fenotípica adaptativa frente a cambios ambientales no permanentes (e.g., cambios estacionales). La plasticidad fenotípica puede operar relativamente rápido y por tanto, puede atenuar la acción de la selección natural (Tracy & Walsberg 2001).

Tradicionalmente se ha considerado que la conducta de selección del alimento está determinada fundamentalmente por su abundancia y/o su calidad nutricional (Futuyma & Moreno 1988, Sibly 1981). Sin embargo, la selección del alimento puede ser modulada por la capacidad de adquisición, manejo y metabolismo de los nutrientes particulares (McWhorter & Martinez del Río 1999, Magnione & Bozinovic 2002). Particularmente, se ha documentado que la función y estructura renal está altamente correlacionada con la composición y características de la dieta natural en vertebrados, lo que sugiere que las características osmorregulatorias limitan en parte el nicho trófico (Diamond & Hammond 1992, Karasov 1996, Karasov & Hume 1997, McWhorter &

Martínez del Río 1999, McWhorter et al. 2003b, Sabat et al. 2004a, Sabat & Martínez del Río 2005). A su vez, estas características osmoregulatorias pueden ser moduladas por variaciones térmicas, hídricas y de calidad y composición de la dieta, entre otros factores (Casotti & Richardson 1992, Diamond & Hammond 1992, Wright 1995, Piersma & Lindstrom 1997, Casotti et al. 1998, McWhorter & Martínez del Río 1999, Goldstein et al. 2001, Roxburgh & Pinshow 2002, Fleming & Nicolson 2003, McWhorter et al. 2003a, Sabat et al. 2004a, b).

A pesar de la limitada capacidad renal de las aves, estudios en éste taxón han demostrado la existencia de una variación considerable en la función osmorregulatoria (Johnson & Mugaas 1970a, Goldstein & Braun 1989, Fleming & Nicolson 2003, Sabat & Martínez del Río 2002). Por ejemplo, Hughes (1970) documenta que el tamaño relativo de los riñones es mayor en aves que habitan ambientes salinos (véase también Bennet & Hughes 2003). Además, en aves que no poseen glándula de la sal (e.g., passeriformes), la capacidad de conservar agua produciendo una orina concentrada se correlaciona con las diferencias en el desarrollo medular y otras características renales (Braun 1999, Casotti et al. 1998, Gundersen et al. 1998, Johnson & Ohmart 1973, Johnson & Skadhauge 1975, Poulson 1965). En este sentido Goldstein & Braun (1986) han documentado que el gorrión común que vive en ambientes desérticos (*Passer domesticus*) posee una mayor proporción de nefrones del tipo mamíferiano que el passeriforme *Zonotrichia leucophrys*. Esta reducción de la proporción de nefrones del tipo reptiliano puede reducir el flujo de orina diluida a través de los túbulos colectores permitiendo una mayor concentración de orina a lo largo de los conos medulares. Sin embargo, Goldstein & Braun (1989), comparando la habilidad de concentración de orina

de varias especies de hábitat disímiles, encontraron que la variación morfológica de los riñones no se correlaciona significativamente con la habilidad de concentración de la orina (véase también Johnson, 1972). Como sugieren estos autores existiría un efecto del tamaño corporal y del origen filogenético sobre las características del riñón, que afectan la capacidad de concentración de la orina.

Una de las características particulares del metabolismo de aves es la modalidad de excreción de nitrógeno (Singer 2003). El ácido úrico, producto de desecho principal del metabolismo de proteínas en animales terrestres (Braun 1993), posee una solubilidad acuosa muy baja y por consiguiente no contribuye a la actividad osmótica de la orina, lo que permite conservar agua (Braun 1981). Paralelamente, se ha documentado que algunas aves son capaces de cambiar de un modo de excreción principalmente uricotélico a un modo amoniotélico dependiendo de las condiciones de disponibilidad hídrica, temperatura ambiental y del tipo de dieta (Prest & Beuchat 1997). Así, los picaflores de la especie *Calypte anna* cuando están sometidos a una mayor pérdida de agua por un aumento de la temperatura ambiental, excretan principalmente ácido úrico, mientras que el ión amonio predomina cuando la pérdida de agua es baja. Pero ¿es esta característica exclusiva de los Apodiformes? Esta pregunta fue abordada por Roxburgh & Pinshow (2002) quienes estudiaron al paseriforme nectarívoro *Nectarinia osea*, y evaluaron los productos de excreción del nitrógeno y su modificación renal y post-renal frente a ciertas variaciones de la dieta. Los autores documentaron que la proporción de amonio de la orina ureteral y el fluido excretado no es afectada por la ingesta de agua, de sales o la temperatura ambiental. Sin embargo, los autores documentaron que al reducir el consumo de proteínas se produce una amonotelia relativa debido a una disminución en

la concentración de uratos en la orina. Estos mismos autores sugieren que esta capacidad de cambiar de uricotelia a amonotelia no sería una capacidad exclusiva de aves nectarívoras, sino que también podría presentarse en otras especies que puedan desdoblar los cristales de urato (o ácido úrico) a nivel intestinal. Los cristales de urato excretado por las aves toman la forma de pequeñas esferas que además contienen proteínas y iones inorgánicos (Braun & Pacelli 1991, Casotti & Braun 2004). Entonces, aves enfrentadas a dietas deficientes en proteínas presentarían un reflujo intestinal, permitiendo degradar el ácido úrico por acción microbiana y la utilización del amonio liberado para la síntesis de aminoácidos, aumentando así las concentraciones de amonio en la orina (Clench 1999, Duke 1999, Karasawa 1999, Singer 2003). Así mismo, Laverty & Skadhauge (1999) señalan que el intestino grueso de gorriones (*Passer domesticus*) puede presentar un 50% de reabsorción de agua en aves de ambientes desérticos (combinando flujo intestinal y urinario) y un 34% en aves bien hidratadas y que además existiría una reabsorción de aminoácidos en aves alimentadas con dietas hipoproteicas produciéndose una amonotelia relativa. Recientemente, Sabat et al. (2004b) determinaron el efecto de la ingestión de proteína dietaria sobre parámetros osmorregulatorios en *Zonotrichia capensis*. Los autores observaron que la osmolalidad de la orina fue significativamente mayor en los grupos con dieta hiperproteica aún cuando la proporción de los distintos desechos nitrogenados se mantuvo constante. Los autores sugieren que la interacción entre la proteína de la dieta y la disponibilidad hídrica podría jugar un rol importante en determinar la composición relativa de los desechos nitrogenados. Esto no concordaría con lo descrito por McNabb & McNabb (1975) quienes documentan que la proporción de los componentes nitrogenados de la



orina se mantiene constante en aves sometidas a variaciones en la proteína dietaria y de agua disponible. A su vez McNabb et al. (1980) documentan que el jote (*Cathartes aura*) enfrentado a dietas hiperproteicas y con agua *ad libitum* es capaz de modificar la composición de la orina, con un aumento aproximado al 86% en uratos, una disminución de un 9% en la excreción de amonio y de un 4% en la excreción de urea en el período inmediatamente posterior al consumo de tejido animal, incrementando así la eficiencia en la eliminación de nitrógeno. Es probable además, que la cantidad de nitrógeno excretada relativa a la cantidad de agua, presente diferencias significativas a nivel intraespecífico, como ha sido demostrado en los escasos trabajos realizados en aves (véase Anderson & Braun 1985, McNabb & McNabb 1975). En este sentido, es de esperar que especies o poblaciones de aves sometidas a una restricción crónica de agua presenten una mayor proporción de nitrógeno excretado como ácido úrico que las que habitan ambientes con disponibilidad hídrica ilimitada.

Las modificaciones en la capacidad de excreción frente a variaciones ambientales ocurren asociada a variaciones en las estructuras que componen el riñón. Casotti & Braun (2000) comparando gorriones de ambientes méxicos y de savana, determinaron que los gorriones de la sabana presentarían un volumen medular mayor que los gorriones de ambientes méxicos, permitiéndoles producir una orina más concentrada que los gorriones de zonas méxicas. Posteriormente, Casotti (2001), estudió la variación en la morfología renal en el gorrión *Passer domesticus* y el efecto estacional sobre el volumen de los riñones y sus distintos componentes renales. Los resultados indicaron que la morfología renal de esta ave no presentó cambios estacionales significativos. Sin embargo, Goldstein et al. (2001) documentan variaciones en la morfología renal de

*Passer domesticus* frente a variaciones experimentales en la composición proteica de la dieta, presentando una hipertrofia del tejido medular y un aumento en el flujo sanguíneo renal en individuos que consumen dietas hiperproteicas. Lamentablemente y a diferencia de mamíferos (e.g. Oswald 1998), a la fecha los estudios relacionados con la influencia ambiental y la capacidad plástica de la función renal en aves son escasos (e.g. Goldstein & Zahedi 1990, Casotti 2001). Es probable que aves sometidas a modificaciones en la disponibilidad hídrica y temperatura ambiente, y en conjunto con cambios dietarios, presenten modificaciones en la estructura y función renal de acuerdo a la interacción de variables como la ingestión de proteínas (y la necesidad de excreción de desechos nitrogenados) y la disponibilidad hídrica.

En resumen, son escasos los estudios que determinen la existencia de la variabilidad en la respuesta fisiológica osmoregulatoria plástica a nivel intraespecífico, particularmente de aves omnívoras que están sometidas a cambios en las condiciones tanto abióticas (e.g. recurso hídrico) como bióticas (e.g., dieta) del ambiente. Además, la escasez de trabajos que estimen las modificaciones en la composición de la orina en conjunto con la función renal en aves sometidas a estrés hídrico crónico (en laboratorio) y a variaciones en la composición química de la dieta (e.g., proteínas), hace necesario realizar esfuerzos tendientes a dilucidar en qué medida la función y estructura renal y el metabolismo de proteínas son influidos por aspectos ecológicos. En este sentido, es de esperar que poblaciones de aves sometidas a una restricción crónica de agua (deshidratación aguda) presenten una mayor proporción de nitrógeno excretado como ácido úrico y probablemente un tamaño de riñón reducido y mayor proporción de médula renal. Por otro lado, poblaciones de aves sometidas a niveles hídricos ilimitados

pero que tienen un alto requerimiento de energía y altas cantidades de proteínas y grasas disponibles en la dieta, presentarían un aumento en la excreción de amonio en orina con el consecuente aumento en la proporción de la corteza renal.

### ***Zonotrichia capensis* como Modelo Experimental:**

El modelo de estudio corresponde a *Zonotrichia capensis* (chincol) el cuál posee hábitos gregarios y presenta una dieta omnívora (López-Calleja 1995), siendo comunes los cambios estacionales asociados a la oferta ambiental de recursos que incluye cambios en la proporción de semillas e insectos (Novoa 1993, Sabat et al. 1998). Fisiológicamente, el chincol puede ser considerado una especie fenotípicamente plástica. Se ha reportado que en una población de la Zona Central de Chile, presenta cambios estacionales en las capacidades energéticas (Castro & Wunder 1991, Novoa & Rosenmann 1996). Además, Sabat et al. (1998), reportaron modificaciones en las capacidades digestivas asociadas a cambios estacionales y experimentales en la composición de la dieta, y recientemente, cambios en la morfología y función renal asociado a manipulaciones experimentales en la proteína dietaria (Sabat et al. 2004b). De lo anterior se deduce que *Z. capensis* es un modelo adecuado para el estudio de flexibilidad fisiológica de la función osmorregulatoria en aves.

## OBJETIVOS

El objetivo de esta tesis es determinar el grado de plasticidad fisiológica de la función renal y excretora en el paseriforme omnívoro *Zonotrichia capensis* (chincol). Este estudio pretende abordar el problema mediante una aproximación experimental (aclimatación en laboratorio). Específicamente se determinarán algunas características de la función renal de aves mantenidas con dietas de distinta calidad proteica y variación en el recurso hídrico. A su vez, se desea determinar experimentalmente la capacidad de aclimatación (plasticidad fenotípica bajo condiciones controladas de laboratorio) de la función renal y metabolismo de proteínas.

## HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

La capacidad de modular la modalidad de excreción de desechos nitrogenados no es privativa de aves frugívoras/nectarívoras y se presentará también en aves que están sujetas a requerimientos energéticos y disponibilidad de proteína y agua diferenciales. La función renal y el metabolismo de proteínas responden de una manera integrada frente a cambios en la dieta y disponibilidad hídrica. Así, aves enfrentadas a cambios producto de la aclimatación presentarán una respuesta fisiológica integrada para satisfacer las demandas ambientales. Las predicciones son las siguientes:

- La capacidad máxima de concentración de la orina, la razón de osmolalidad de la orina y del plasma, el porcentaje de médula renal y número de conos medulares dependerán de la proporción de proteína dietaria y de la disponibilidad hídrica.
- El porcentaje y concentración de nitrógeno de la orina excretado como amonio, urea y ácido úrico se verán afectados por la proteína dietaria y la disponibilidad hídrica. Se espera que los animales se comporten como amoniotélicos cuando no exista restricción hídrica y su dieta sea restrictiva en proteínas. Las aves se comportarán como uricotélicos cuando exista restricción hídrica y el nivel de proteína dietaria sea alto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales y captura

Veinticuatro individuos de la especie *Zonotrichia capensis* (Anexo I, Fig. 20) fueron capturados mediante redes de niebla (Anexo I, fig. 21) en la Región Metropolitana (33° 31' S, 70° 50' O), desde noviembre del 2004 hasta abril del 2005. Las aves se trasladaron al laboratorio en donde se pesaron ( $\pm 0.05$  g). El grupo de aves fue separado aleatoriamente en dos subgrupos los cuales se aclimataron durante 21 días con dos dietas contrastantes en su composición proteica (dieta hiperproteica (AP) e hipoproteica (BP), véase Tabla 1). Además, cada subgrupo fue dividido en dos, uno de los cuales recibió agua *ad libitum* (AL) y el segundo se sometió a una restricción crónica de un 50% del consumo de agua de los individuos aclimatados a la dieta hipoproteica. Esto se determinó previamente midiendo el consumo de agua en 20 individuos a una temperatura ambiental de  $23 \pm 2^\circ$  C, obteniéndose un consumo diario promedio de  $11 \pm 1.8$  mL. De esta manera, a las aves sometidas a la restricción hídrica se les proporcionó inicialmente 12 mL/día, reduciendo el consumo paulatinamente en 1 mL/día hasta llegar a 6 mL/día. Este régimen que se mantuvo hasta finalizar el período de aclimatación. Las aves se mantuvieron en jaulas metálicas individuales (30 x 30 x 40 cm) a una temperatura ambiental de  $23 \pm 2^\circ$  C y un fotoperíodo de 12:12 Luz:Oscuridad. Luego de concluido el período de aclimatación, se continuó con el protocolo de determinación de los parámetros fisiológicos.

Tabla 1: Composición de las dietas proporcionadas a los individuos durante su aclimatación.

Nutrientes (%)	Dieta hipoproteica (BP)	Dieta Hiperproteica (AP)
Proteína de soya	4	30
Almidón de maíz	72	44
Fructosa	22	24
Aceite vegetal	1,8	1,8
Polivitamínico	0,2	0,2

### **Función renal:**

Luego del tratamiento experimental se tomaron muestras de orina y sangre en ayunas. Las muestras de sangre (aproximadamente 50 µl) fueron obtenidas mediante la punción de la vena humeral y colectadas mediante microcapilares heparinizados. Todas las muestras se centrifugaron a 9000 g por 5 min en una centrifuga (Heraeus modelo Hemofugue A). Se determinó el hematocrito y se congeló el plasma (-40 ° C) por no más de una semana antes de los análisis osmométricos. Las aves se mantuvieron en jaulas individuales de 25 x 25 x 30 cm con un fondo de plástico; fueron continuamente observadas (Anexo I, fig. 22) y se recogieron las muestras de orina cada vez que el individuo excretaba. Las excretas fueron recogidas con una micropipeta Eppendorf y vertidas a un tubo Eppendorf. De cada muestra de orina obtenida, una alícuota se centrifugó y el sobrenadante fue guardado para determinar su osmolalidad. La osmolalidad de la orina y el plasma se determinaron por osmometría de presión de vapor (Wescor). Una segunda alícuota de orina se diluyó con LiOH y la concentración de urea y amonio fue determinada mediante el método ureasa/Berthelot (Sigma no. 640). La concentración de ácido úrico se determinó mediante el método de uricasa/peroxidasa

(Sigma no. 684). Los datos de ácido úrico, urea y amonio se expresan como mg/dL y debido a que los compuestos poseen distinto peso molecular y número de átomos de nitrógeno, la proporción media de nitrógeno excretado en cada forma orgánica fue además expresada como mg nitrógeno/dL. Para estimar las capacidades máximas de la función renal (e.g., capacidad máxima de concentración de la orina,  $O_{max}$ ) se sometió a los individuos a una restricción aguda de agua por 48 hrs. Las aves se mantuvieron en jaulas individuales de 25 x 25 x 30 cm con un fondo de plástico y fueron observadas con el fin de obtener las muestras de orina de las aves deshidratadas. Todas las muestras se centrifugaron a 7000 g por 15 min. en una centrifuga Force 7 (Denver Instruments) y fueron congeladas (-40 °C) y analizadas antes de 48 h posterior a su obtención.

#### **Morfología renal:**

Luego de cada tratamiento experimental, las aves fueron pesadas y sacrificadas, disecadas, sus órganos renales removidos del hueso sinsacro y pesados en una balanza analítica modelo AND AR 120-A ( $\pm 0.001$  g). Ambos riñones fueron preservados en paraformaldehido-glutaraldehido al 4% durante dos semanas como mínimo. Los conos medulares fueron disecados del riñón izquierdo utilizando un microscopio de disección Nikon. Se contó, midió ( $\pm 0.05$  mm) y pesó ( $\pm 0.001$  g) la colección completa de los conos medulares (Anexo I, fig. 23 y 24).

#### **Análisis estadístico:**

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la masa corporal de los individuos se realizó una prueba t de Student para variables dependientes. Además, cada variable



respuesta se comparó con Análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías para determinar el efecto de la aclimatación y posteriormente se realizó un test *a posteriori* de Tukey para señalar las diferencias significativas entre grupos. Además, se realizó un Análisis de covarianza (ANCOVA) utilizando como factor los tratamientos, como covariable la masa corporal y como variables dependientes las variables morfológicas renales. Debido al gran número de variables analizadas se realizó una matriz de correlaciones para determinar la posible relación entre las variables fisiológicas y morfológicas. Por último, se realizó un análisis de componentes principales, incluyendo en éste las variables fisiológicas ( $O_{max}$ , desechos nitrogenados, concentración del plasma y hematocrito) y las variables morfológicas (tamaño y estructura de órganos).

## RESULTADOS

Los individuos aclimatados a dietas BP sufrieron una disminución de la masa corporal cercana a un 30% al término del experimento, tanto en el grupo BP/ AL ( $t = 5.42$ ,  $p = 0.003$ ) como en el grupo BP/ RH ( $t = 7.83$ ,  $p = 0.0005$ ). En cambio, en los grupos tratados con dietas altas en proteína (AP), sólo se observó un aumento de la masa corporal en el tratamiento AP/ RH ( $t = -7.04$ ,  $p = 0.0008$ ) y no se observó cambio en el grupo AP/ AL ( $t = 0.23$ ,  $p = 0.83$ ). Los resultados de este análisis se resumen en la tabla 2.

Tabla 2: Comparación de la masa corporal promedio en *Zonotrichia capensis* aclimatados a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con disponibilidad diferencial de agua al inicio y término de los tratamientos. Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E.

Tratamiento	Masa día 0 (g)	Masa día 21 (g)	t- test	p
BP/ AL	19,63 $\pm$ 2,01	14,50 $\pm$ 1,23	5,42	0,003
BP/ RH	20,28 $\pm$ 0,97	15,23 $\pm$ 1,98	7,83	0,0005
AP/ AL	19,21 $\pm$ 1,03	19,31 $\pm$ 0,81	-0,23	0,83
AP/ RH	18,85 $\pm$ 1,05	20,16 $\pm$ 1,26	-7,04	0,0008

BP: Dieta hipoproteica; AP: Dieta hiperproteica. AL: Disponibilidad *ad libitum* de agua. RH: Disponibilidad de agua restringida al 50%.

## Fisiología renal

La concentración de nitrógeno excretado como ácido úrico ( $N_{\text{úrico}}$ ) fue en promedio un 60% mayor en los grupos deshidratados (AP/ RH =  $658 \pm 343$  mg  $N_{\text{úrico}}$ /dL y BP/ RH =  $492 \pm 268$  mg  $N_{\text{úrico}}$ /dL) que en los hidratados (AP/ AL =  $289 \pm 65$  mg  $N_{\text{úrico}}$ /dL y BP/ AL =  $387 \pm 283$  mg  $N_{\text{úrico}}$ /dL;  $F_{1,20} = 4.84$ ,  $p = 0.04$ , véase figura 1). Sin embargo, no se observó un efecto significativo de la disponibilidad proteica ( $F_{1,20} = 0.10$ ,  $p = 0.76$ ) ni de la interacción entre ambos factores ( $F_{1,20} = 1.53$ ,  $p = 0.23$ ).

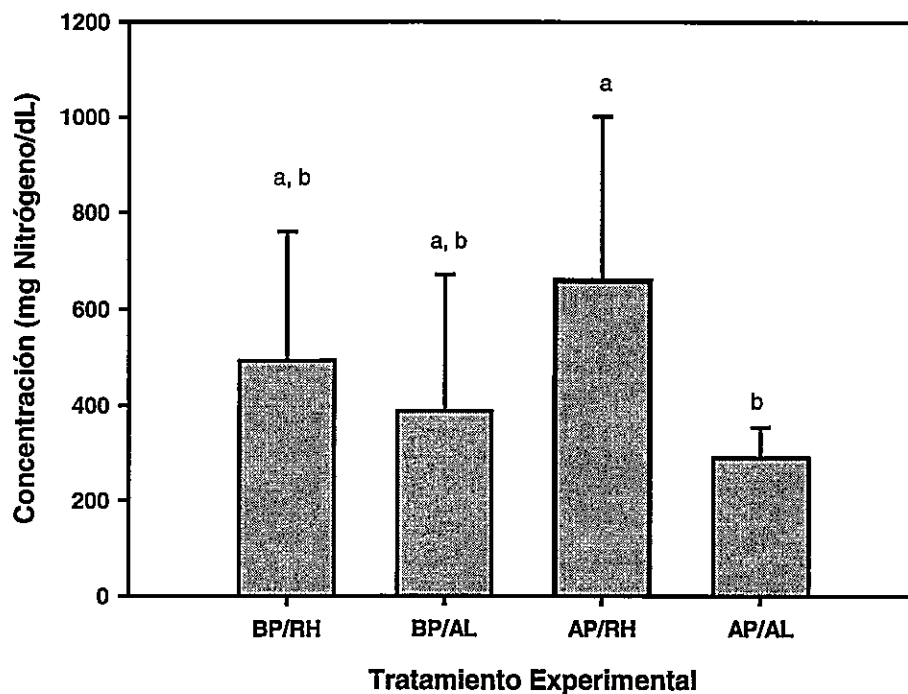


Figura 1: Concentración de nitrógeno úrico en la excreta de *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua *ad libitum* (AL) y restringida un 50% (RH). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

Concordantemente, la concentración de nitrógeno amoniacal ( $N_{\text{amonio}}$ ) en la orina de los animales aclimatados fue en promedio un 67% mayor en los grupos deshidratados (AP/ RH=  $401 \pm 155$  mg  $N_{\text{amonio}}$ /dL y BP/ RH=  $343 \pm 153$  mg  $N_{\text{amonio}}$ /dL) que en los grupos hidratados (AP/ AL=  $147 \pm 79$  mg  $N_{\text{amonio}}$ /dL y BP/ AL=  $296 \pm 172$  mg  $N_{\text{amonio}}$ /dL;  $F_{1,20} = 6.58$ ,  $p = 0.018$ , véase figura 2). No se observó un efecto significativo de la concentración de proteína en la dieta ( $F_{1,20} = 0.62$ ,  $p = 0.44$ ) ni de la interacción entre ambos factores ( $F_{1,20} = 2.97$ ,  $p = 0.10$ ).

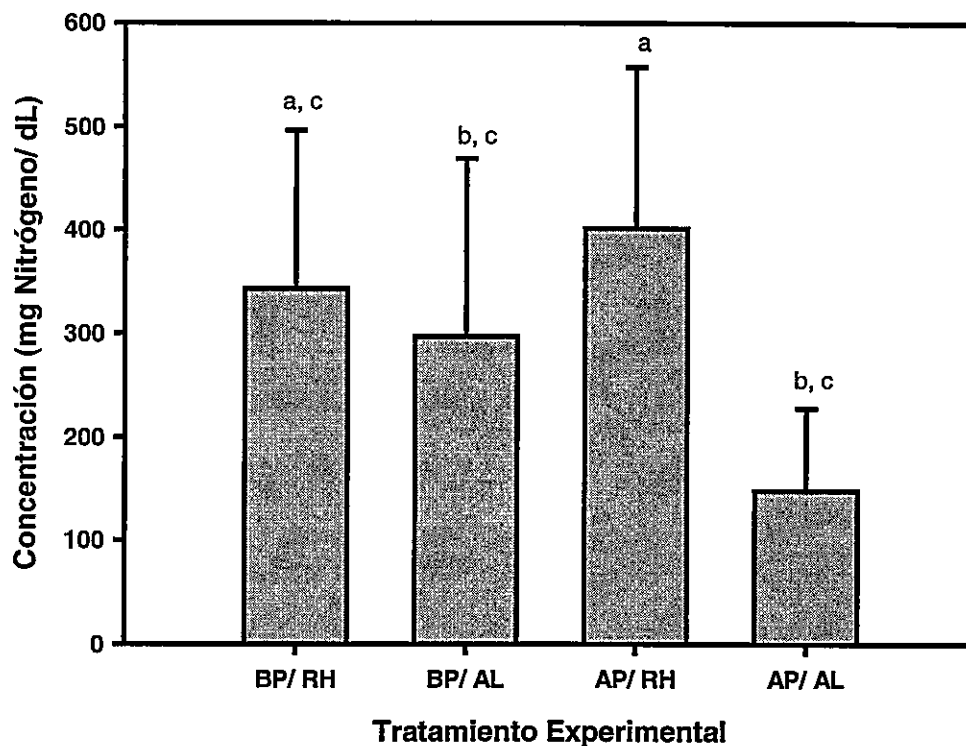


Figura 2: Concentración de nitrógeno amoniacal en la excreta de *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua (*ad libitum* (AL) y restringida un 50% (RH)). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

La concentración de nitrógeno excretado como urea ( $N_{urea}$ ) no fue afectada por el tratamiento experimental ( $F_{Proteína} = 1.75$ ,  $p = 0.20$ ,  $F_{Agua} = 0.01$ ,  $p = 0.92$  y  $F_{Interacción} = 2.25$ ,  $p = 0.15$ ; figura 3).

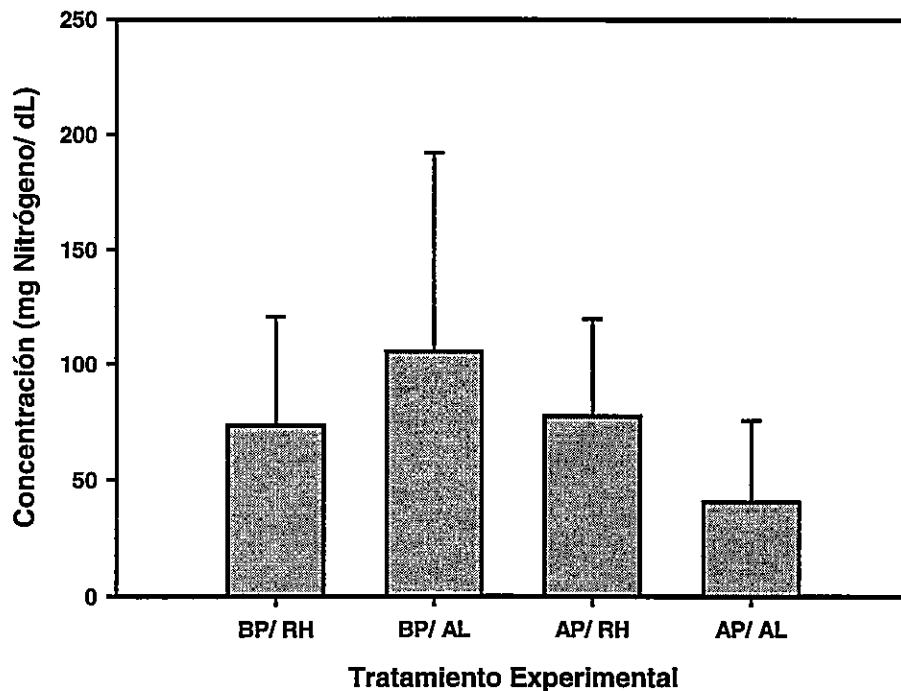


Figura 3: Concentración de nitrógeno ureico en la excreta de *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua (*ad libitum* (AL) y restringida un 50% (RH)). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E.

Los porcentajes de los distintos desechos nitrogenados (mg/dL) presentes en la orina no fueron afectados por los tratamientos experimentales y en general todos los tratamientos experimentales presentaron porcentajes para el ácido úrico ( $P_{úrico}$ ) similares

y mayores al 50% ( $F_{\text{proteína } 1,20} = 2.78, p = 0.11, F_{\text{agua } 1,20} = 0.003, p = 0.96, F_{\text{interacción } 1,20} = 0.93, p = 0.35$ , figura 4). El segundo componente en importancia fue el amonio ( $P_{\text{amonio}}$ ), excretado en promedio en un 36% ( $F_{\text{proteína } 1,20} = 1.11, p = 0.30, F_{\text{agua } 1,20} = 0.54, p = 0.47, F_{\text{interacción } 1,20} = 0.23, p = 0.64$ ). El elemento menos representado fue urea ( $P_{\text{urea}}$ ), que presentó concentraciones cercanas al 10% ( $F_{\text{Proteína}} = 1.47, p = 0.24$ , ANDEVA  $F_{\text{Agua}} = 1.15, p = 0.30, F_{\text{Interacción}} = 0.82, p = 0.38$ ).

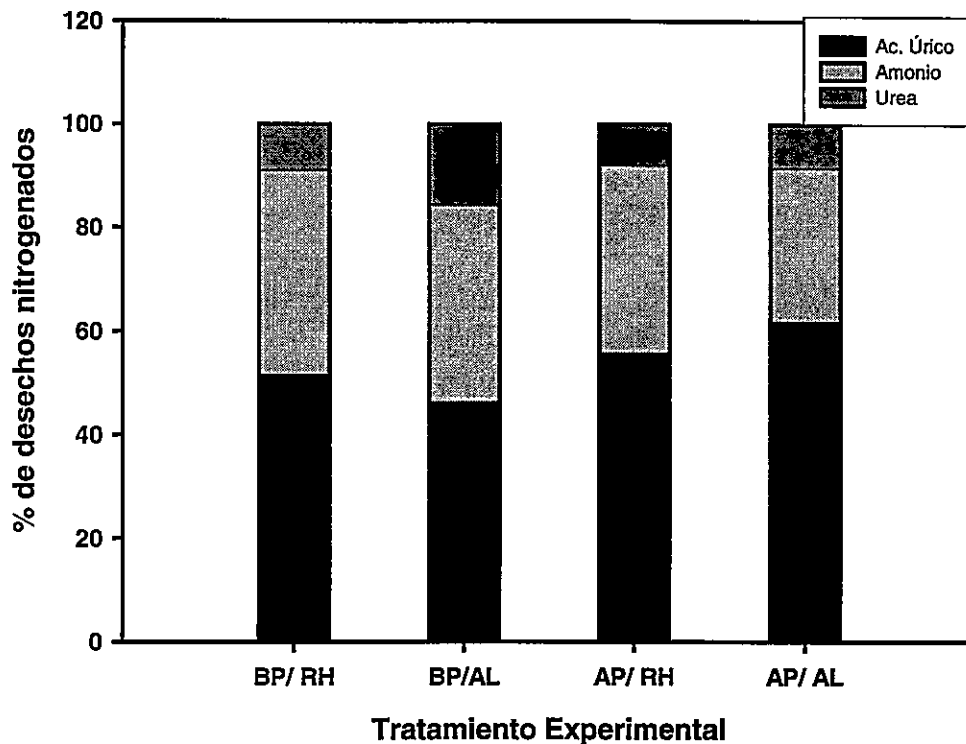


Figura 4: Porcentaje de los desechos nitrogenados en la orina de *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días con dos dietas contrastantes en su proporción de proteína (hiperproteicas (AP) e hipoproteicas (BP)) y a dos niveles de disponibilidad de agua (*ad libitum* (AL) y restringida un 50% (RH)).

La concentración de la orina excretada ( $O_{\text{orina}}$ ) por los animales fue en promedio un 30% superior en los grupos deshidratados (AP/ RH y BP/ RH) que en los grupos hidratados (AP/ AL y BP/ AL;  $F_{1,20} = 6.23$ ,  $p = 0.02$ ), véase figura 5. Sin embargo, la proteína dietaria no tuvo un efecto significativo sobre la osmolalidad de la orina ( $F_{1,20} = 0.0005$ ,  $p = 0.98$ ) como tampoco la interacción de ambos tratamientos ( $F_{1,20} = 1.85$ ,  $p = 0.19$ ).

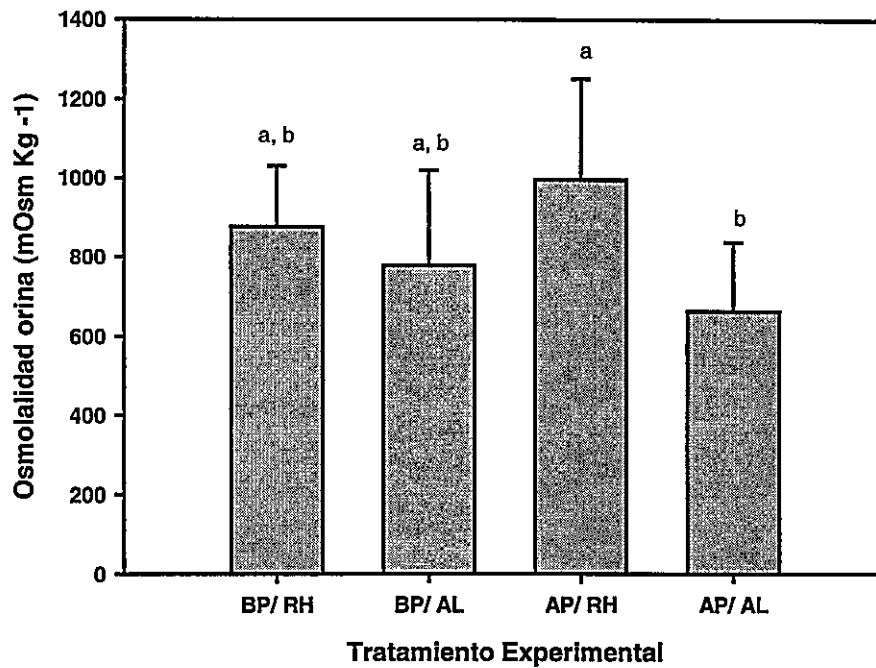


Figura 5: Osmolalidad de las excretas de *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua (*ad libitum* (AL) y restringida un 50% (RH)). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

La osmolalidad del plasma ( $O_{\text{plasma}}$ ) no presentó diferencias significativas entre los grupos experimentales ( $F_{\text{proteína } 1,20} = 1.29, p = 0.27$ ;  $F_{\text{agua } 1,20} = 0.46, p = 0.51$ ;  $F_{\text{interacción } 1,20} = 2.41, p = 0.14$ , véase figura 6).

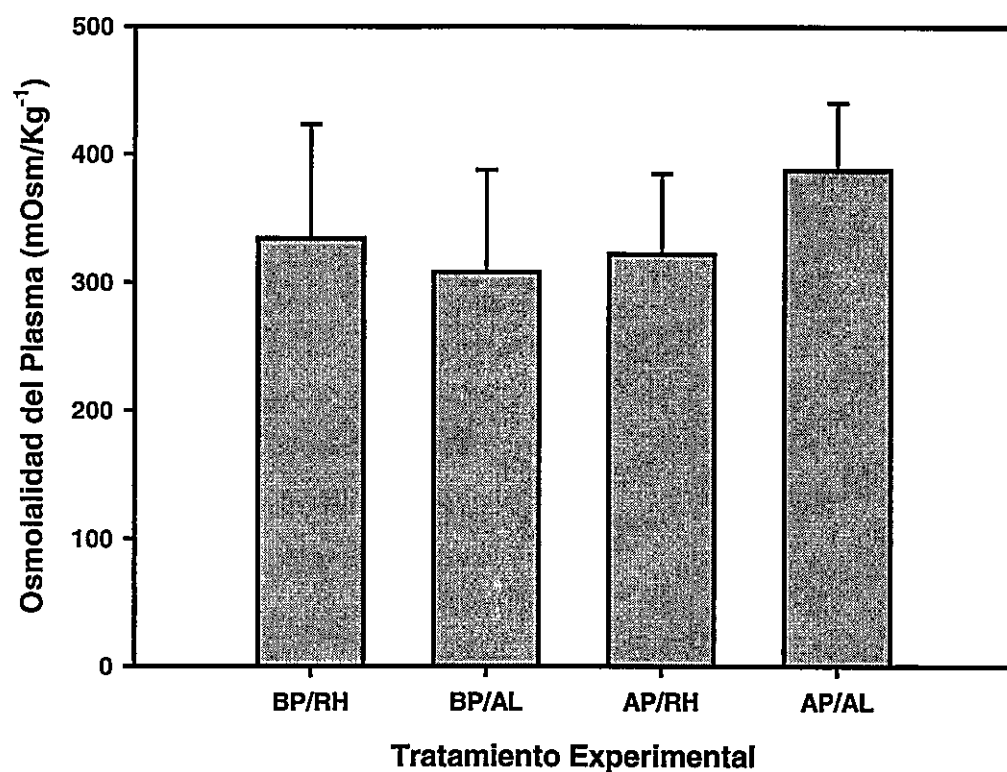


Figura 6: Osmolalidad del plasma de *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) y disponibilidad de agua *ad libitum* (AL) y restringida un 50% (RH). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E.

El hematocrito (Hem) de los animales aclimatados a la dieta rica en proteína fue cerca de un 13% mayor que en los aclimatados a la dieta hipoproteica ( $F_{1,20} = 6.8, p =$



0.02), pero no fue afectado por la disponibilidad de agua ( $F_{1,20} = 0.44$ ,  $p = 0.52$ ) ni por la interacción de ambas variables ( $F_{1,20} = 1.42$ ,  $p = 0.25$ , Figura 7).

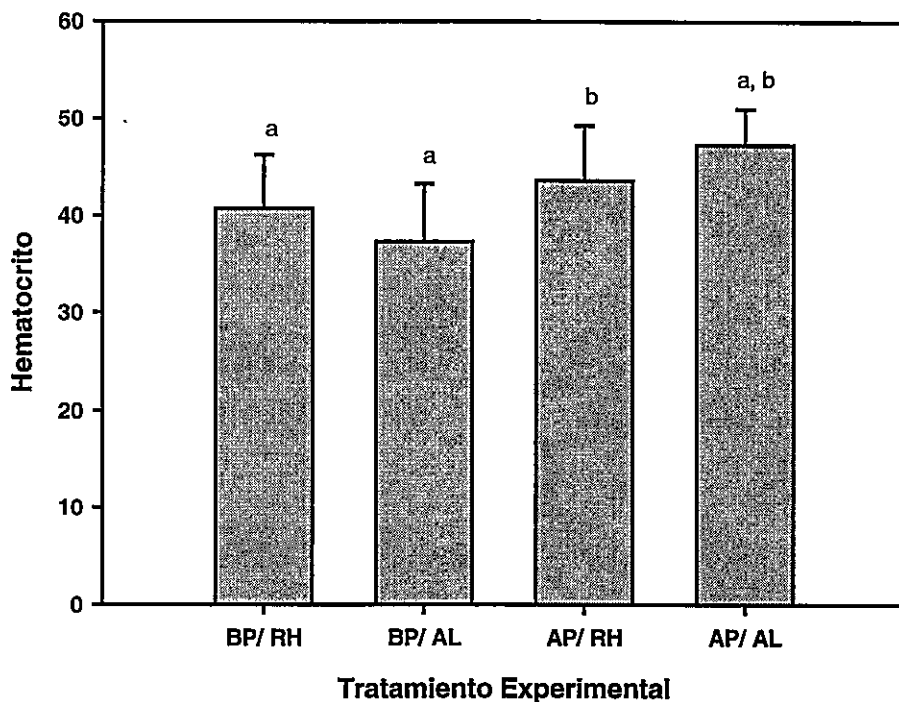


Figura 7: Hematocrito de *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

La concentración máxima de la orina ( $O_{max}$ ) fue afectada significativamente por la proteína dietaria ( $F_{1,20} = 9.29$ ,  $p = 0.006$ ), pero no por la disponibilidad de agua ( $F_{1,20} = 0.84$ ,  $p = 0.37$ ). El Andeva reveló un efecto no significativo, aunque marginal de la interacción entre las variables ( $F_{1,20} = 4.05$ ,  $p = 0.06$ ). La prueba *a posteriori* indica que

el grupo de aves aclimatadas al tratamiento BP/AL presentó la menor capacidad de concentración de orina (véase figura 8).

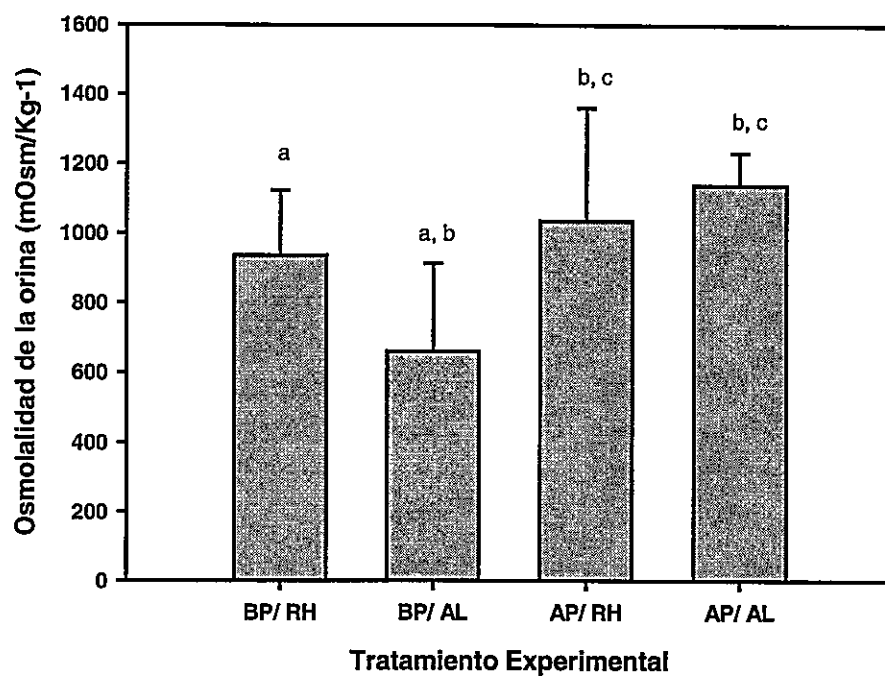


Figura 8: Osmolalidad de la orina después de 48 hrs. de restricción hídrica ( $O_{max}$ ) posterior a 21 días de aclimatación con dietas hiperproteicas (AP) e hipoproteicas (BP) con disponibilidad de agua *ad libitum* (AL) y restringida al 50% (RH) en *Zonotrichia capensis*. Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

## Morfología renal

Debido a que se encontró una relación positiva y significativa entre la masa renal ( $M_{\text{renal}}$ ) y la masa de los individuos ( $M_{\text{ind}}$ ) (Tabla 3), se realizó un Análisis de covarianza para remover el efecto de la  $M_{\text{ind}}$  (Fig. 9). La  $M_{\text{renal}}$  fue afectada significativamente por la interacción entre ambos factores ( $F_{1,19} = 7.10$ ,  $p = 0.02$ ), pero no fue afectada por la proteína dietaria ( $F_{1,19} = 1.64$ ,  $p = 0.22$ ) o por la disponibilidad hídrica ( $F_{1,19} = 0.05$ ,  $p = 0.83$ ) por separado.

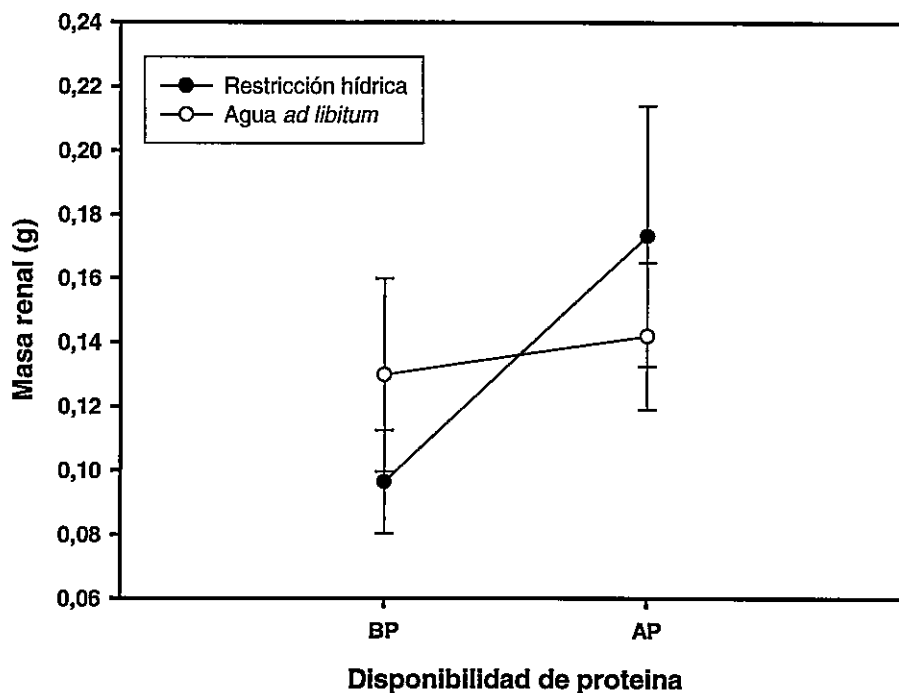


Figura 9: Efecto de los tratamientos en la masa renal (Ancova) de los individuos de la especie *Zonotrichia capensis* tratados con dietas hipo e hiperproteicas con consumo de agua *ad libitum* y restringida al 50%.

Los resultados del ANCOVA indican que la proporción de masa renal ocupada por tejido cortical ( $M_{\text{corteza}}$ ) es afectada significativamente por la interacción entre ambas variables ( $F_{1,19} = 6.31, p = 0.02$ ) y no por la proteína dietaria ( $F_{1,19} = 1.40, p = 0.25$ ) o por la disponibilidad hídrica ( $F_{1,19} = 0.20, p = 0.66$ ). La masa de la corteza renal fue en promedio un 13% mayor en los grupos aclimatados con la dieta AP que en los grupos aclimatados con la dieta BP. El menor valor de  $M_{\text{corteza}}$  lo presentó el grupo aclimatado al tratamiento BP/AL (véase figura 10).

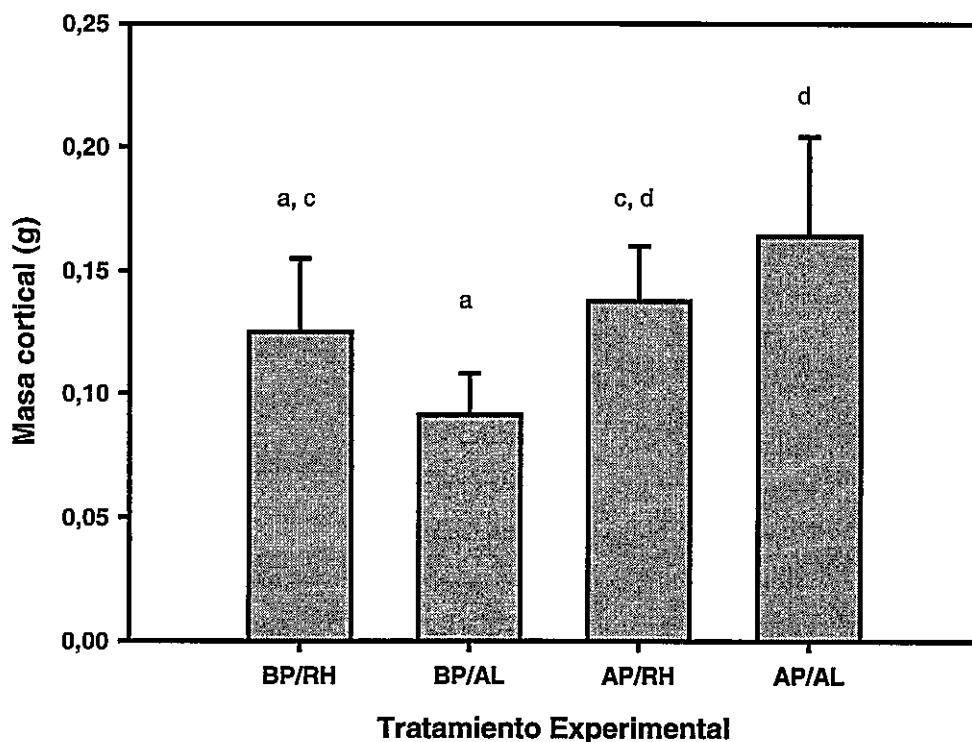


Figura 10: Masa de la corteza renal en *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

Además, se encontró una relación positiva y significativa entre la masa de la médula renal ( $M_{\text{médula}}$ ) y la masa corporal (Tabla 3), por lo que se realizó un ANCOVA utilizando la  $M_{\text{ind}}$  como covariable. Los resultados indican que la masa del riñón ocupada por tejido medular no fue afectada por la disponibilidad proteica ( $F_{1,19} = 0.84$ ,  $p = 0.37$ ), hídrica ( $F_{1,19} = 3.29$ ,  $p = 0.08$ ) o por el efecto conjunto de ambas variables ( $F_{1,19} = 2.11$ ,  $p = 0.16$ ). Sin embargo, al realizar la prueba a posteriori se verificó que en el grupo AP/ AL el valor de  $M_{\text{médula}}$  es un 80% mayor que en los otros grupos (figura 11).

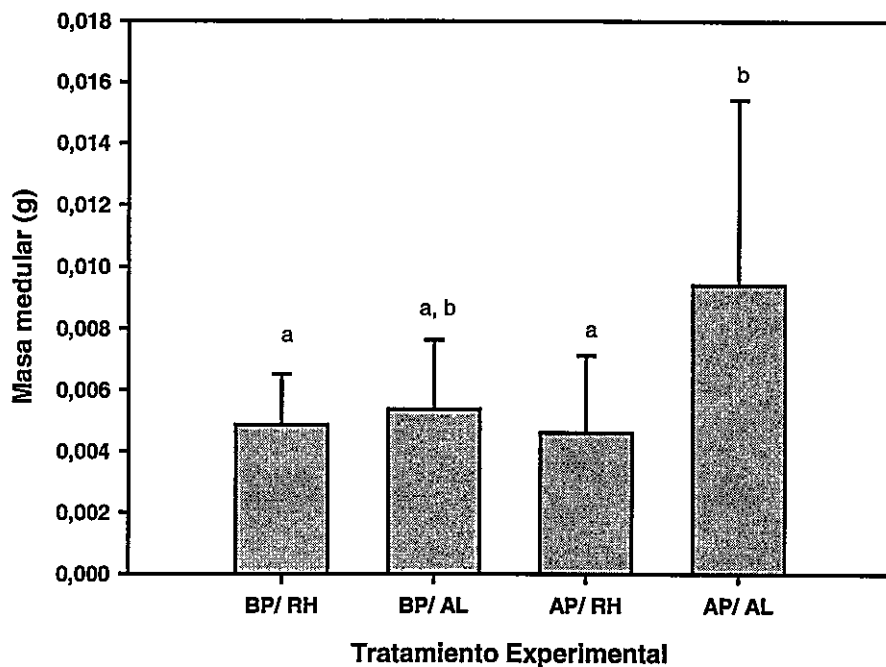


Figura 11: Masa de la médula renal en *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

El número de conos medulares estandarizado (número de conos medulares/ masa renal,  $C_{std}$ ) fue un 66% mayor en los grupos sometidos al tratamiento RH que en los grupos sometidos al tratamiento AL ( $F_{1,20} = 4.89$ ,  $p = 0.04$ , véase figura 12). No se observó un efecto significativo de la proteína dietaria ( $F_{1,20} = 0.202$ ,  $p = 0.66$ ) ni de la interacción entre ambos factores ( $F_{1,20} = 0.023$ ,  $p = 0.88$ ).

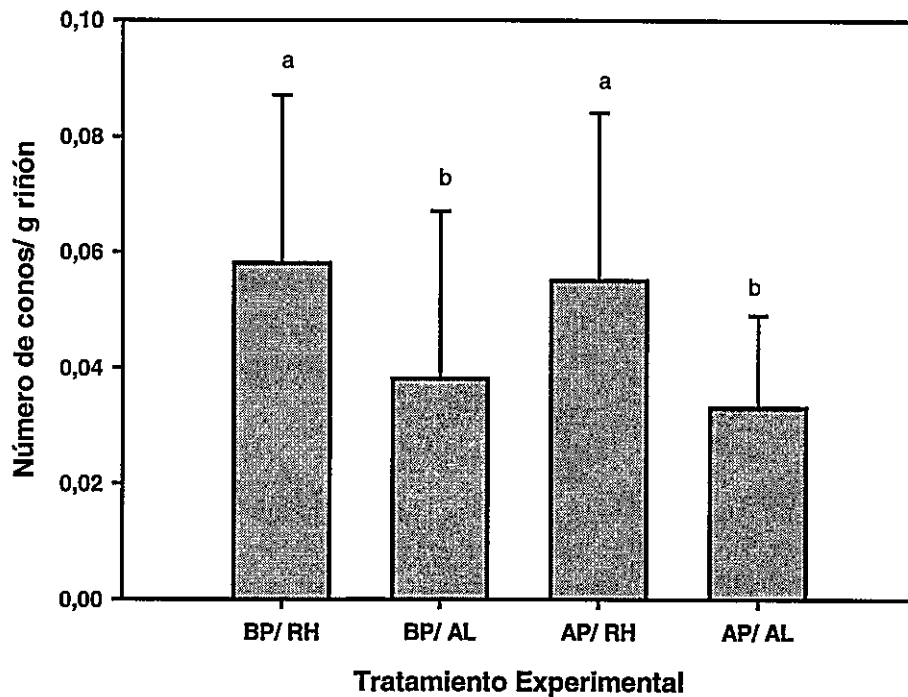


Figura 12: Razón del número de conos medulares/ masa renal ( $C_{std}$ ) en *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

El número total de conos medulares ( $N_{\text{conos}}$ ) no fue afectado significativamente por la proteína dietaria ( $F_{1,20} = 1.27$ ,  $p = 0.28$ ), disponibilidad hídrica ( $F_{1,20} = 3.07$ ,  $p = 0.10$ ) y la interacción ( $F_{1,20} = 1.10$ ,  $p = 0.31$ ). Estos resultados se observan en la figura 13.

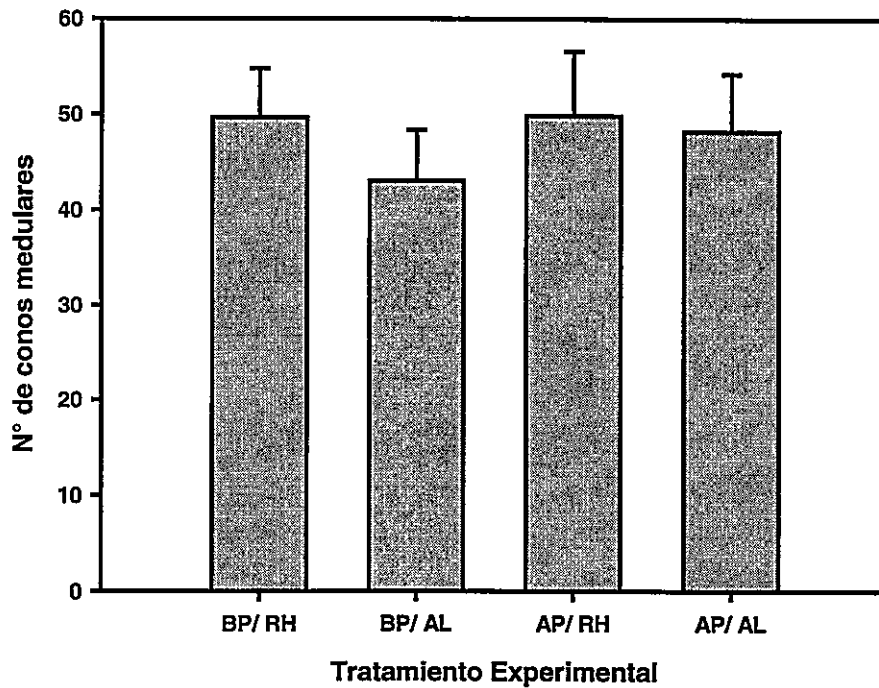


Figura 13: Número de conos medulares en *Zonotrichia capensis* aclimatados por 21 días a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP), con consumo de agua *ad libitum* (AL) y restringido al 50% (RH). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los promedios después de la prueba *a posteriori* de Tukey.

El largo de los conos medulares ( $L_{\text{conos}}$ ) no fue afectado significativamente por el tratamiento experimental. Al analizar el efecto de los tratamientos, no se obtuvieron valores significativos para la proteína dietaria ( $F_{1,20} = 0.27$ ,  $p = 0.61$ ), el agua proporcionada ( $F_{1,20} = 0.35$ ,  $p = 0.56$ ), aún cuando se observó un efecto marginal de la interacción de ambos factores ( $F_{1,20} = 3.37$ ,  $p = 0.07$ ). La prueba *a posteriori* reveló que en el grupo AP/ AL ( $0.15 \pm 0.01$ )  $L_{\text{conos}}$  fue menor que en el resto de los tratamientos con un valor de  $p = 0.09$  (Figura 14).

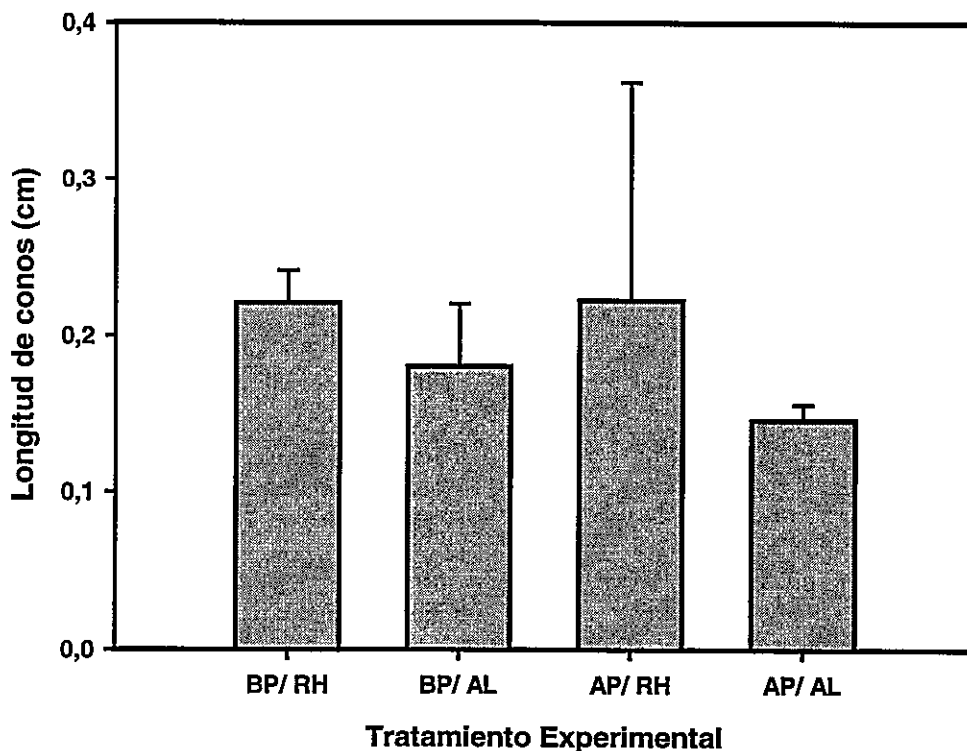


Figura 14: Longitud de los conos medulares en *Zonotrichia capensis* posterior a 21 días de aclimatación a dietas hipoproteicas (BP) e hiperproteicas (AP) con disponibilidad de agua *ad libitum* (AL) y restringida al 50% (RH). Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  1 D.E.



Para determinar la posible asociación entre las variables fisiológicas y morfológicas se realizó un análisis de correlación de Spearman. En general se encontró una correlación positiva entre la concentración de los distintos compuestos nitrogenados de la orina. Además, se encontró una relación positiva entre  $N_{amonio}$  y  $M_{médula}$ . La variable  $N_{urea}$  se correlaciona positiva y significativamente  $O_{orina}$  y  $O_{plasma}$  y se correlaciona negativamente con  $M_{ind}$ . Por último, la  $O_{orina}$  presenta una correlación positiva y significativa con  $N_{urea}$ ,  $O_{plasma}$ ,  $M_{médula}$ ,  $P_{médula}$  y  $C_{std}$ . Por el contrario, esta variable se correlaciona negativamente con  $P_{corteza}$ . La variable  $O_{max}$  sólo se encuentra correlacionada positivamente con  $M_{médula}$ . La masa corporal se correlaciona positiva y significativamente con las variables Hem,  $M_{renal}$  y  $M_{corteza}$  sin observarse una correlación negativa con alguna variable. El  $P_{médula}$  se encuentra correlacionado positivamente con la  $O_{orina}$  y con  $M_{médula}$ . Tanto para el  $N_{conos}$  como para la  $L_{conos}$  no se encontraron correlaciones significativas. Sin embargo, para la variable  $C_{std}$  se encontraron correlaciones positivas con  $O_{orina}$  y con  $M_{médula}$  y una correlación negativa con el Hem de las aves. Todos estos resultados se muestran en extenso en la tabla 3.

Tabla 3: Matriz de correlaciones entre las variables morfológicas y fisiológicas analizadas. Las correlaciones significativas se destacan con negrita.

	Nútrico	N amonio	N urea	Púrico	P amonio	P urea	M ind	O orina	O plasma	H em	O max	M renal	M corteza	M médula	P médula	N conos	Leonas
N amonio	r = 0.50 p = 0.01																
N urea	r = -0.11 p = 0.62	r = -0.002 p = 0.99															
P úrico	r = -0.51 p = 0.01	r = -0.36 p = 0.09	r = -0.46 p = 0.02														
P amonio	r = -0.16 p = 0.16	r = 0.001 p = 0.99	r = -0.67 p = 0.001	r = -0.79 p = 0.001													
P urea	r = -0.42 p = 0.04	r = -0.31 p = 0.14	r = 0.91 p < 0.0001	r = -0.49 p = 0.01	r = -0.12 p = 0.39												
M ind	r = 0.18 p = 0.41	r = 0.16 p = 0.45	r = -0.42 p = 0.04	r = 0.20 p = 0.35	r = 0.05 p = 0.82	r = -0.46 p = 0.03											
O orina	r = 0.26 p = 0.22	r = 0.30 p = 0.15	r = 0.48 p = 0.02	r = -0.23 p = 0.02	r = 0.06 p = 0.78	r = 0.30 p = 0.15	r = 0.08 p = 0.69										
O plasma	r = 0.12 p = 0.59	r = -0.09 p = 0.69	r = 0.42 p = 0.04	r = 0.004 p = 0.99	r = -0.26 p = 0.21	r = 0.38 p = 0.07	r = 0.22 p = 0.30	r = 0.48 p = 0.02									
H em	r = -0.38 p = 0.07	r = -0.007 p = 0.97	r = -0.39 p = 0.06	r = -0.18 p = 0.40	r = 0.35 p = 0.09	r = -0.28 p = 0.18	r = 0.55 p = 0.006	r = -0.25 p = 0.25	r = -0.19 p = 0.16								
O max	r = 0.12 p = 0.59	r = -0.02 p = 0.92	r = -0.06 p = 0.78	r = 0.20 p = 0.36	r = 0.09 p = 0.40	r = 0.18 p = 0.54	r = 0.35 p = 0.10	r = -0.03 p = 0.41	r = -0.33 p = 0.88								
M renal	r = 0.08 p = 0.72	r = 0.27 p = 0.20	r = -0.02 p = 0.92	r = -0.10 p = 0.64	r = 0.14 p = 0.51	r = -0.13 p = 0.55	r = 0.55 p < 0.0001	r = 0.04 p = 0.86	r = 0.22 p = 0								
M corteza	r = 0.04 p = 0.86	r = 0.23 p = 0.27	r = -0.04 p = 0.86	r = -0.10 p = 0.63	r = 0.14 p = 0.52	r = -0.13 p = 0.56	r = 0.54 p < 0.0001	r = -0.07 p = 0.98	r = 0.21 p = 0.33			r = 1 p < 0.0001					
P corteza	r = -0.33 p = 0.12	r = -0.29 p = 0.17	r = -0.26 p = 0.23	r = -0.03 p = 0.87	r = 0.001 p = 0.99	r = -0.05 p = 0.80	r = 0.07 p = 0.76	r = -0.45 p = 0.03	r = -0.53 p = 0.80			r = 0.18 p = 0.39	r = 0.27 p = 0.20				
M médula	r = 0.39 p = 0.06	r = 0.43 p = 0.04	r = 0.17 p = 0.42	r = -0.02 p = 0.94	r = 0.06 p = 0.77	r = -0.05 p = 0.82	r = 0.24 p = 0.26	r = -0.30 p = 0.03	r = 0.17 p = 0.44			r = 0.49 p = 0.10	r = -0.81 p < 0.0001				
P médula	r = 0.33 p = 0	r = 0.29 p = 0	r = 0.26 p = 0	r = 0.03 p = 1	r = -0.001 p = 1	r = 0.05 p = 1	r = -0.07 p = 1	r = 0.45 p < 0.0001	r = 0.05 p = 1			r = 0.24 p = 0	r = -0.27 p = 0	r = 0.81 p < 0.0001			
N conos	r = -0.14 p = 0.52	r = -0.17 p = 0.44	r = -0.24 p = 0.26	r = 0.05 p = 0.82	r = 0.06 p = 0.78	r = -0.17 p = 0.43	r = 0.23 p = 0.29	r = 0.02 p = 0.92	r = 0.13 p = 0.53			r = -0.03 p = 0.89	r = 0.01 p = 0.62	r = -0.17 p = 0.43			
Leonas	r = -0.13 p = 0.56	r = -0.04 p = 0.87	r = -0.08 p = 0.70	r = -0.11 p = 0.62	r = 0.15 p = 0.48	r = -0.03 p = 0.90	r = -0.04 p = 0.85	r = -0.15 p = 0.48	r = -0.06 p = 0.79			r = -0.12 p = 0.57	r = -0.09 p = 0.69	r = 0.02 p = 0.94	r = 0.13 p = 0.55		

N<sub>urea</sub>: Nitrogeno excretado como amonio; N<sub>amónio</sub>: Nitrogeno excretado como urea; P<sub>urea</sub>: Porcentaje de ácido úrico excretado en la orina; P<sub>amónio</sub>: Porcentaje de amonio excretado en la orina; P<sub>urea</sub>: Porcentaje de urea excretada en la orina; M<sub>ind</sub>: Masa corporal de los individuos; O<sub>urina</sub>: Osmolalidad de la orina; O<sub>plasma</sub>: Osmolalidad del plasma; H<sub>em</sub>: Hematocrito; O<sub>max</sub>: Capacidad de concentración máxima de la orina; M<sub>renal</sub>: Masa renal; M<sub>medula</sub>: Masa de la corteza renal; P<sub>medula</sub>: Porcentaje de la corteza renal; P<sub>corteza</sub>: Porcentaje de la médula renal; P<sub>medula</sub>: Porcentaje de la médula renal; N<sub>conos</sub>: Número de conos medulares; L<sub>conos</sub>: Longitud de los conos medulares; C<sub>sig</sub>: Relación entre la masa de los conos medulares y la masa total de los riñones.

Debido a la alta correlación encontrada entre las variables fisiológicas y morfológicas y para reducir el número de variables correlacionadas, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) incluyendo las variables fisiológicas y morfológicas. Adicionalmente se realizó un ANDEVA sobre los resultados de los ejes arrojados por el ACP. Los resultados de este análisis revelan que las 19 variables de este modelo se redujeron a dos factores (Eje 1 y Eje 2) que explican el 44.56% de la varianza. El Eje 1 se correlacionó significativa y positivamente con la  $M_{\text{médula}}$ , el  $P_{\text{médula}}$  y con la  $L_{\text{conos}}$  y se correlacionó negativamente con el  $P_{\text{corteza}}$ . Este eje puede ser interpretado como la condición antidiurética, debido a la correlación con variables renales que aumentan la capacidad de concentración de la orina. El Eje 2 se correlacionó negativamente con la  $M_{\text{ind}}$ ,  $M_{\text{renal}}$  y con la  $M_{\text{corteza}}$  (véase tabla 4). Este eje puede ser interpretado como la condición corporal, debido a su correlación negativa con la masa corporal y del riñón. El ANDEVA reveló que existe efecto significativo de la disponibilidad de agua administrada durante la aclimatación para el eje 1 ( $F = 5.20$ ,  $p = 0.03$ , véase fig. 18). Sin embargo, para el eje 2 se observó un efecto significativo de la cantidad de proteína proporcionada durante la aclimatación ( $F = 23.14$ ,  $p < 0.0001$ ) afectando negativamente la composición proteica del cuerpo y órganos (fig. 19).

Tabla 4: Ejes de los componentes principales (Eje 1 y 2) derivados del análisis de las variables fisiológicas y morfológicas en *Zonotrichia capensis* aclimatados a los distintos tratamientos. Se destacan en negrita los valores significativos.

<b>VARIABLES ANALIZADAS</b>	<b>EJE 1</b>	<b>EJE 2</b>
Masa individuos	-0.15	<b>-0.81</b>
Masa riñón	-0.14	<b>-0.75</b>
Masa corteza	-0.22	<b>-0.73</b>
Porcentaje corteza	<b>-0.94</b>	0.06
Masa médula	<b>0.81</b>	-0.49
Porcentaje médula	<b>0.94</b>	-0.06
Longitud de conos	<b>0.94</b>	-0.06
Varianza explicada (%)	26.01	18.54
Varianza explicada acumulada (%)	26.01	44.56

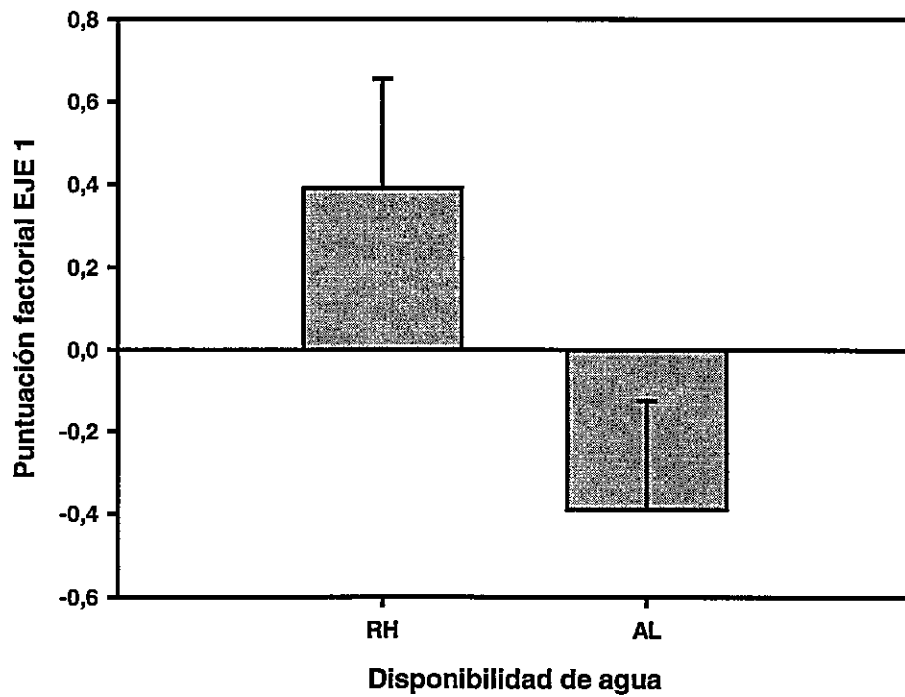


Figura 15: Promedio de las puntuaciones factoriales (factor scores) del Eje 1 del Análisis de Componentes Principales (asociado a la condición de antidiuresis) en *Zonotrichia capensis* posterior a la aclimatación experimental.

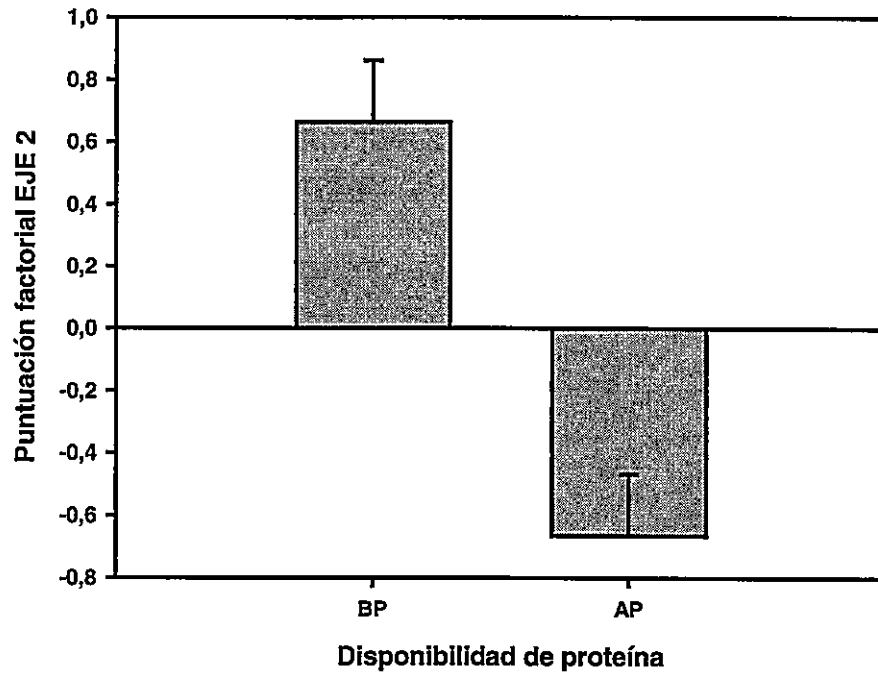


Figura 16: Promedio de las puntuaciones factoriales (factor scores) del Eje 2 del Análisis de Componentes Principales (asociado a la condición corporal) de *Zonotrichia capensis* posterior a la aclimatación experimental.

## DISCUSIÓN

Debido al potencial costo de una mayor pérdida de proteína y energía asociado a la uricotelia, se esperaba una disminución de nitrógeno excretado como ácido úrico en *Z. capensis* alimentados con dietas bajas en proteína, particularmente cuando la disponibilidad de agua fuera ilimitada. Los resultados no apoyan la hipótesis que *Z. capensis* es capaz de modular las proporciones de desechos nitrogenados en función de los cambios en la ingesta proteica y de agua. Por el contrario, en todos los grupos experimentales las aves fueron predominantemente uricotélicas independiente de la aclimatación (Figura 4).

Son escasos los estudios que han evaluado el efecto conjunto de las características de la dieta y la disponibilidad hídrica sobre la morfología y fisiología renal en aves. Además, la mayoría de los estudios han sido realizados en aves nectarívoras o frugívoras. Por ejemplo, Roxburg & Pinshow (2002) han sugerido que sólo existiría un aumento de la concentración del nitrógeno amoniacal cuando existen diferencias drásticas en las tasas de consumo de agua. Estos autores observaron que en aves aclimatadas a dietas pobres en proteína y alta disponibilidad de agua, se produce una modificación post-renal de la orina disminuyendo la concentración de ácido úrico y aumentando la concentración de amonio. En este sentido, recientemente Tsahar et al. (2005a), documentaron que el frugívoro *Pycnonotus xanthopygos*, alimentado con dietas líquidas, hipocalóricas e hipoproteicas, presentan lo que denominaron amonio-uricotelia. Este fenómeno permite la posibilidad de presentar amonotelia sólo en condiciones de ingesta limitada de

proteínas en conjunto con un consumo suficiente de agua. Sin embargo, Tsahar et al. (2005a), no encontraron diferencias en la modalidad de excreción el frugívoro *Onichognathus tristami*, lo que reafirma la existencia de variación intraespecífica en la capacidad de modificar los componentes de la orina. Estos autores destacan además, la correlación negativa que existiría entre la concentración de amonio excretado y la ingesta de proteína dietaria y su correlación positiva con el agua ingerida (véase además Tsahar et al. 2005b, Zanotto & Picudo 2005). En este sentido es probable que la ausencia de respuesta (e.g., amonotelia facultativa) de *Z. capensis* al tratamiento experimental esté dada por dos razones no necesariamente excluyentes: 1) el consumo máximo de agua de las aves granívoras no sobrepasaría un umbral crítico que permite la presencia de amono-uricotelia y 2) los niveles de ingesta de proteína no son lo suficientemente limitantes y la excreción de ácido úrico no representaría un gasto de materia y energía significativo. La alternativa 1 es apoyada por el hecho de que el consumo de agua diaria de *Z. capensis* alcanza sólo un 20-30% del consumo reportado en paseriformes que presentan amoniotelia facultativa (Tsahar et al. 2005a). Sin embargo, como han postulado Tsahar et al. (2005a) la presencia de amonotelia facultativa está dada por la capacidad de modificar la orina en el tracto digestivo. En aves, el intestino grueso y sus ciegos no sólo son capaces de reabsorber los fluidos y electrolitos no absorbidos por el intestino delgado, sino también los excretados por los riñones (Powel 1987, Williams & Braun 1996). En estas secciones del intestino grueso, la orina se pone en contacto con un epitelio de alta capacidad de transporte de sodio y agua en donde la composición de la orina puede ser modificada. Tsahar et al. (2005a) han postulado dos mecanismos que explicarían la capacidad de modificación de la orina,



el catabolismo bacteriano y la reabsorción directa del ácido úrico. En este sentido es posible que la ausencia de amonotelia facultativa en *Z. capensis* esté dada porque i) esta ave carecería de la flora intestinal necesaria para realizar tal función, presentando ciegos intestinales de muy escaso desarrollo (Patricia Aldea, observación personal) o bien, ii) carece del mecanismo transportador específico intestinal descrito para gran parte de los Apodiformes (Tsahar et al. 2005a). Esta proposición es apoyada además por la existencia de una gran diversidad en la fisiología y la morfología del intestino grueso en aves (Goldstein 1989, Goldstein et al. 1990). Alternativamente y debido a que la modificación post renal de la orina requiere del ingreso del fluido ureteral hacia el tracto digestivo posterior, una posible ausencia de reflujo en *Z. capensis* podría explicar la ausencia de amonotelia aparente. Efectivamente, el flujo retrógrado de la orina no es ubicuo y depende de las condiciones de hidratación (véase Sabat 2003). Cuando la orina es hiperosmótica, como es de esperar cuando la ingesta de agua es limitada, el flujo de orina es inhibido en algunas especies (Goldstein & Braun 1988, Laverty & Skadhauge 1999). La baja disponibilidad de agua en la dieta de *Z. capensis* y las altas concentraciones encontradas en la orina (Fig. 5) podrían explicar la probable ausencia de modificación post renal de la orina.

Aun cuando *Zonotrichia capensis* no presentó una respuesta significativa en el porcentaje de metabolitos en la orina, la concentración total de desechos nitrogenados fue afectada significativamente por la disponibilidad hídrica. Las aves sometidas a los tratamientos con restricción hídrica presentaron una mayor concentración de ácido úrico y de amonio. Concordantemente la concentración de la orina sigue un patrón similar,

siendo más concentrada en los grupos con restricción hídrica. Estos resultados son concordantes con los encontrados en otros estudios (véase McNabb et al. 1972, Tsahar et al. 2005a). Como era esperado, cuando *Z. capensis* dispone de agua *ad libitum* disminuye la concentración de los desechos nitrogenados, observándose una disminución de la osmolalidad de la orina y del plasma en relación a los grupos deshidratados. Por otro lado, al restringir el consumo de agua al 50%, se obtiene el efecto contrario y se observa además una correlación positiva con la masa y porcentaje medular (véase también Singer 2003, Van Tets et al. 2001). Además se observó una respuesta integrada entre la morfología renal y la función renal, ya que la concentración de la orina y del plasma se correlacionan positivamente con la masa y porcentaje de la médula renal, respondiendo en forma conjunta a la deshidratación y la necesidad de mantenerse en una condición de antidiuresis. Esto último es reafirmado por el análisis de componentes principales, cuyo primer eje (que puede ser interpretado como la condición antidiurética debido a su correlación positiva con la masa medular, negativa con la corteza renal y correlacionado con un aumento en la longitud de los conos medulares) presenta un valor mayor en los tratamientos con restricción hídrica. Aumentos en la proporción de médula a nivel intraespecífico en *Z. capensis*, es concordante con la mayor concentración de la orina en las aves, lo que corrobora el patrón encontrado a nivel interespecífico en aves (Sabat et al. 2004b, Travis 1994, Tsahar et al. 2005a).

Las diferencias encontradas en la masa del riñón en *Z. capensis*, son atribuibles a la variación en la masa de la corteza renal, la cual es aumentada por la proteína dietaria principalmente y en menor grado por el efecto conjunto de ambos factores. Finalmente,

la dieta BP estimula en *Z. capensis* una respuesta que se expresa en una disminución de la masa corporal, probablemente relacionada con un aumento del catabolismo proteico (véase también Bosque & Pacheco, 2000), produciendo una disminución del hematocrito y pérdida de la masa renal y cortical, lo que aumenta indirectamente la relación número de conos/ masa renal. Así mismo, las aves aclimatadas a dietas AP aumentaron significativamente su masa corporal, masa renal, masa cortical y el hematocrito. Se ha descrito que dietas con alta carga de electrolitos o de aminoácidos inducen en las aves modificaciones en sus patrones de fisiología y morfología renal, asociándose además con cambios a nivel de la composición de los componentes sanguíneos (Goldstein et al. 2001, Roxburgh & Pinshow 2002, Sabat et al. 2004b, Singer 2003, Tsahar 2005b). Sin embargo, y contrario a lo esperado, no se observó que una alta carga proteica estimulara significativamente un aumento de la concentración de los desechos nitrogenados en la orina, un aumento del porcentaje de ácido úrico, de la osmolalidad de orina y plasma o de la masa y porcentaje de la médula renal. Al contrario de lo documentado para otras especies (e.g., Bosque & Pacheco 2000, Goldstein et al. 2001, Hammond & Janes 1998), en *Z. capensis*, el aumento de la masa renal es producido por un desarrollo del tejido cortical y no de la médula. En este sentido, el segundo eje del ACP, que puede ser considerado como la condición corporal, se vio afectado significativamente por la dieta. Según esto, las aves mantenidas con dietas bajas en proteína presentaron una condición deprimida con disminución en el tamaño de los órganos. Es probable que dietas tan limitadas en nitrógeno (4% de proteína) induzcan un fuerte catabolismo muscular con pérdida de la masa corporal y disminución de la masa muscular particularmente de los músculos pectorales (P. Aldea, observación personal), baja en el hematocrito y menor

masa renal y cortical, en relación a la respuesta de aves mantenidas con dietas con mayor contenido proteico (e.g., 30% de proteína). Asimismo, estudios anteriores realizados en aves consumiendo dietas hipoproteicas constituidas por un 8% de proteína (Goldstein et al. 2001, Sabat et al. 2004b), no produjeron un efecto marcado en la condición corporal, lo que sugiere que ese nivel de proteína parece suplir los requerimientos mínimos de mantención en paseriformes. Esta situación podría además estar relacionada con la incapacidad de *Z. capensis* de recuperar parte del nitrógeno excretado como ácido úrico como en los casos descritos en otras aves (McWhorter et al. 2003a). Como resultado, una dieta constituida por un 4% de proteína es aparentemente demasiado exigente para *Z. capensis* lo que se traduce además en una baja en el hematocrito. Un efecto similar ha sido descrito anteriormente por López- Calleja (2003) en el picaflor *Sephanoides sephanoides*.

En este estudio *Z. capensis* no presentó una respuesta de la morfología renal frente a las variaciones en la disponibilidad hídrica y de nitrógeno, como ha sido descrito en otras aves, e.g., gran variación en el largo de conos medulares, masa de la medula, cambios en  $O_{max}$  (véase Casotti 2001, Goldstein & Ellis 1991, Goldstein et al. 2001, Fleming et al. 2004, Sabat 2000, Sabat & Bozinovic 2000, Sabat et al. 2004a, b). Por ejemplo, un estudio realizado en *P. domesticus* señala que las aves aclimatadas a dietas con un 30% de proteína y agua *ad limitum* se produce un aumento de la masa y porcentaje medular debido a una hipertrofia de los conos medulares. Un fenómeno similar se observa cuando las aves son mantenidas con restricción hídrica (Goldstein et al. 2001). A pesar de la similitudes ecológicas entre *Z. capensis* y *P. domesticus*, *Z. capensis* no respondió al tratamiento experimental aumentando la capacidad de

concentrar la orina o manifestando una hipertrofia de los conos medulares. No obstante, si se observó una respuesta del riñón a la disponibilidad hídrica: el número de conos medulares por unidad de masa renal fue significativamente mayor en el grupo mantenido con una restricción hídrica del 50%. Este fenómeno, unido al aumento en la osmolalidad de la orina, sugiere una respuesta mixta (fisiológica inmediata y morfológica a mediano plazo) frente a factores ambientales desfavorables. En este sentido, los resultados indican que *Z. capensis* aclimatados a dietas con diferentes niveles de proteína y disponibilidad hídrica, mantienen un balance hídrico adecuado, toda vez que la osmolalidad del plasma sanguíneo se mantiene invariante entre tratamientos y a niveles similares a los reportados para passeriformes (Braun 1999, Casotti & Braun 2000, Casotti 2001, Fleming & Nicolson 2003).

¿Qué mecanismos distales podrían explicar la limitada capacidad máxima de concentración de orina de *Z. capensis* frente a diferencias en la ingesta de agua y proteína? Es posible que la condición de ave primariamente granívora (y secundariamente omnívora, véase Klasing 1998) constituya una presión constante y significativa antidiurética, debido principalmente al escaso contenido de agua de los granos y semillas (Karasov 1996, Klasing 1998). De esta manera, *Z. capensis* presentaría una menor respuesta a la deshidratación que otras aves predominantemente nectarívoras o frugívoras. En este sentido, las aves nectarívoras y frugívoras que consumen dietas líquidas y bajas en proteína, responden de una manera más dramática a la deshidratación y al consumo de proteínas, aumentando la concentración urinaria, cambiando la proporción de desechos nitrogenados y aumentando el tamaño del riñón

(generalmente mediante una hipertrofia del tejido medular) (véase Goldstein et al. 2001, McNabb et al. 1972, McNabb et al. 1980, Tsahar et al. 2005a). Por último, la aproximación experimental utilizada en esta tesis impide evaluar el posible efecto de una reducción de la temperatura sobre la modalidad de excreción de nitrógeno. Estudios posteriores en aves granívoras son necesarios para determinar cómo las demandas energéticas pueden conducir a modificaciones en los patrones de excreción de nitrógeno y sus consecuencias sobre el balance energético.

## REFERENCIAS

- ANDERSON, G. L. & BRAUN, E. J. (1985). Postrenal modification of urine in birds. *American Journal of Physiology* 248: 93- 98.
- BENNET, D. C. & HUGHES, M. R. (2003). Comparison of renal and salt gland function in three species of wild ducks. *The Journal of Experimental Biology* 206: 3273-3284.
- BOSQUE, C. & PACHECO, A. (2000). Dietary nitrogen as a limiting nutrient in frugivorous birds. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 441- 450.
- BRAUN, E. J. (1981). Renal function. *Comparative Biochemistry and Physiology* 71A: 511- 517.
- BRAUN E. J. & PACELLI, MM. (1991). The packaging of uric acid in avian urine. *FASEB J.* 5:A1408.
- BRAUN, E. J. (1993) Renal function in Birds. En: Brown, J.A, Balment, R.J & Rankin, J.C (eds.) *New insights in vertebrate kidney function: 167- 188.* society of Experimental Biology Seminar Series 52. Cambridge University press, Cambridge.
- BRAUN, E. (1999). Integration of Organ Systems in Avian Osmoregulation. *Journal of experimental zoology* 283:702-707.
- CASOTTI, G. & RICHARDSON, K. C. (1992). Astereological analysis of kidney structure of honeyeater birds (Meliphagidae) inhabiting either arid or wet environments. *J. Anat.* 180: 281- 288.
- CASOTTI, G., BEAUCHAT, C. A. & BRAUN, E. (1998). Morphology of the kidney in a nectarivorous bird, the Anna's hummingbird *Calypte anna*. *J. Zool. Lond.* 244: 175-184.
- CASOTTI, G. & BRAUN, E. (2000). Renal Anatomy in Sparrows from different environments. *Journal of Morphology* 243: 283- 291.
- CASOTTI, G. (2001). Effects of season on kidney morphology in house sparrows. *The Journal of Experimental Biology* 204, 1201- 1206.
- CASOTTI, G. & BRAUN, N. J. (2004). Protein Location and Elemental Composition of Urine Spheres in Different Avian Species. *Journal of experimental zoology* 301A:579-587.

CASTRO G. & WUNDER, B. A. (1991). Cold adaptations in the rufous-collared sparrow *Zonotrichia-capensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 98: 101-102

CLENCH, M. (1999). The Avian Cecum: Update and Motility Review. *Journal of experimental zoology* 283: 441- 447.

DE JONG, G. (1995). Phenotypic plasticity as a product of selection in a variable environment. *The American naturalist*, vol. 145 (4): 493- 512.

DIAMOND, J. M. & HAMMOND, K. (1992) The matches achieved by natural selection between biological capacities and their natural loads. *Experientia* 48: 551- 557.

DUKE, G. (1999). Mechanisms of Excreta Formation and Elimination in Turkeys and Ostriches. *Journal of experimental zoology* 283: 478- 479.

FLEMING, P. A. & NICOLSON, S. W. (2003). Osmoregulation in an avian nectarivore, the whitebellied sunbird *Nectarina talatala*: response to extremes of diet concentration. *Journal of experimental Biology* 206: 1845- 1854.

FLEMING, P. A., GRAY, D. & NICOLSON, S. (2004). Osmoregulatory response to acute diet change in an avian nectarivore: rapid rehydration following water shortage. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 138: 321- 326.

FUTUYMA, D. J. & MORENO, G. (1988). The evolution of ecological specialization. *Ann. Rev. ecol. Syst.* 19: 207- 233.

GOLDSTEIN, D. L. & BRAUN, E. J. (1986). Proportions of mammalian-type and reptilian-type nephrons in the kidneys of two passerine birds. *J. Morphol.* 187: 173- 179.

GOLDSTEIN, D. L. & BRAUN, E. J. (1989). Structure and concentrating ability in the avian kidney. *Am. J. Physiol.* 25: R501- R509.

GOLDSTEIN, D. L. & ZAHEDI, A. (1990). Variation in osmoregulatory parameters of captative and wild house sparrows *Passer domesticus*. *Auk.* 107: 533- 538.

GOLDSTEIN, D. L., WILLIAMS, J. B. & BRAUN, E. J. (1990). Osmoregulation in the field by salt-marsh Savannah sparrows *Passerculus sandwichensis beldingi*. *Physiol. Zool.* 63: 669- 682.

GOLDSTEIN, D. & ELLIS, C. (1991). Effect of water restriction during growth and adulthood on kidney morphology of bobwhite quail. *American Journal of Physiology* 261: 117- 125.



GOLDSTEIN, D., GUNTLE, L. & FLAUGHER, C. (2001). Renal response to dietary protein in the house sparrow *Passer domesticus*. *Physiological and Biochemical Zoology* 74: 461- 467.

GUNDERSEN H.J., BENDTSEN G.L., KORBO N, MARCUSSEN A, MOLLER K, NIELSEN JR, NYENGAARD B, PAKKENBERG FB, SORENSEN FB, VESTERBY A, WEST MJ (1988) "Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis". *Acta Pathol Microbiol Immunobiol Scan* 96: 379-394.

HAMMOND, K. A. & JANES, D. N. (1998). The Effects of increased protein intake on Kidney size and function. *The Journal of Experimental Biology* 201: 2081- 2090.

HUGHES, M. R. (1970). Relative kidney size in nonpasserine birds with functional salt glands: 50: 603- 610.

JOHNSON, O. W. & MUGAAS, J. N. (1970a). Quantitative and organizational features of the avian renal medulla. *Condor* 72: 288- 292.

JOHNSON, O. W. & MUGAAS, J. N. (1970b). Some histological features of avian kidneys. *Am. J. Anatom.* 127: 423- 436.

JOHNSON, O. W. (1972). Relative thickness of the renal medulla in birds. *J. Morphol.* 142: 272- 284.

JOHNSON, O.W. & OHMART, R. (1973). Some features of water economy and kidney microstructure in the large-billed savannah sparrow (*Passerculus sandwichensis rostratus*). *Physiol. Zool.* 46: 276- 283.

JOHNSON, O.W. & SKADHAUGE, E. (1975). Structural- functional correlation in the kidneys and observations of colon and cloacal morphology in certain Australian birds. *Journal of Anatomy* 120: 495- 505.

KARASAWA, Y. (1999). Significant Role of the Nitrogen Recycling System Through the Ceca Occurs in Protein-Depleted Chickens. *Journal of experimental zoology* 283: 418- 425.

KARASOV, W.H. (1996). Digestive plasticity in avian energetics and feeding ecology. En Carey, C. (Ed.), *Avian Energetics and Nutritional Ecology*. Chapman & Hall, New York, pp. 61- 84.

KARASOV, W. H. & HUME, I. D. (1997). Vertebrate gastrointestinal system. Pp. 409-480 en W. Dantzler, ed. *Handbook of Comparative Physiology*. American Physiology Society, Bethesda, Md.

- KLASING, K.C. (1998) Comparative avian nutrition. CABI Publishing, UK.
- LAVERTY, G. & SKADHAUGE, E. (1999). Physiological Roles and Regulation of Transport Activities in the Avian Lower Intestine. *Journal of experimental zoology* 283:480-494.
- LOPEZ- CALLEJA, M. V. (1995). Diet of *Zonotrichia capensis* (Emberizidae) and *Diuca-diuca* (fringillidae) effects of seasonal-changes in trophic resources and richness of granivorous birds in Central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 68 (3): 321-331
- LOPEZ- CALLEJA, M. V. & BOZINOVIC, F. (2000). Energetics and nutritional ecology of small herbivorous birds. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 411- 420.
- LOPEZ- CALLEJA, M. V., FERNÁNDEZ, M. J. & BOZINOVIC, F. (2003). The integration of energy and nitrogen balance in the Hummingbird *Sephanoides sephanoides*. *The Journal of Experimental Biology* 206: 3349- 3359.
- MAGNIONE, A. & BOZINOVIC, F. (2002). Ecología nutricional y estrategias de digestión: compromisos entre obtención de energía y eliminación de toxinas. En BOZINOVIC, F. (ed.) *Fisiología ecológica y evolutiva*. Ediciones Universidad Católica de Chile, primera edición, pp. 125- 168.
- MCNABB, A., MCNABB, R. & WARD JR, J. (1972). The effects of dietary protein content on water requirements and ammonia excretion in pigeons, *Columbia livia*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 43: 181- 185.
- MCNABB, A. & MCNABB, R. (1975). Proportions of ammonia, urea, urate and total nitrogen in avian urine and quantitative methods for their analysis on a single urine sample. *Poultry Science* 54: 1498- 1505.
- MCNABB, A., MCNABB, R., PRATHER, I., CONNER, R. & ADKISSON, C. (1980). Nitrogen excretion by turkey vultures. *Cóndor*, 82: 219- 223.
- MCWHORTER, T. J. & MARTÍNEZ DEL RIO, C. (1999). Food ingestion and water turnover in hummingbirds: how much dietary water is absorbed? *J. Exp. Biol.* 202: 2851-2858.
- MCWHORTER, T. J., POWERS, D. R. & MARTÍNEZ DEL RIO, C. (2003a). Are hummingbirds facultatively ammonotelic? Nitrogen excretion and requirements as a function of body size. *Physiol. Biochem. Zool.* 76, 731-743.
- MCWHORTER, T. J., MARTÍNEZ DEL RIO, C. & PINSHOWW, B. (2003b). Modulation of ingested water absorption by Palestine Sunbirds: Evidence for adaptive regulation. *The Journal of Experimental Biology* 206: 659- 666.

NOVOA, F. F. (1993). Ecofisiología de *Zonotrichia capensis*: cambios estacionales en el gasto y la adquisición de energía. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago. 125 pp.

NOVOA, F. F. & ROSENMAN, M. (1996). Cambios estacionales en las capacidades energéticas de *Zonotrichia capensis* (Emberiziidae) en Chile Central. Revista Chilena de Historia Natural 69: 379-385.

OSWALD, C. (1998). Geographical variation and plasticity in renal function in the white-footed mouse *Peromyscus leucopus*. Journal of Mammalogy 79: 1103-1110.

PIERSMA, T. & LINDSTROM, A. (1997). Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptive behavior. Trends Ecol. Evol. 12: 134 -138.

PREEST, M. & BEUCHAT, C. (1997). Ammonia excretion by hummingbirds. Nature, vol. 386 pp. 561.

POULSON, T. L. (1965). Countercurrent multipliers in avian kidneys. Science 148: 389- 391.

POWELL D.W. (1987) Intestinal water and electrolyte transport: In: L R Johnson (ed) Physiology of the intestinal tract:1267-1305. Raven Press, New York.

ROXBURGH, L. & PINSHOW, B. (2002). Ammonotelic in a passerine nectarivore: the influence of renal and post-renal modification on nitrogenous waste product excretion. The Journal of Experimental Biology 205, 1735–1745.

SABAT, P., NOVOA, F., BOZINOVIC, F. & MARTINEZ DEL RIO, C. (1998). Dietary flexibility and intestinal plasticity in birds: a field and laboratory study. Physiol. Zool. 71: 226–236.

SABAT, P. (2000). Birds in marine and Saline environments: living in dry habitats. Revista Chilena de Historia Natural 73: 401- 410.

SABAT, P. & BOZINOVIC, F. (2000). Digestive plasticity and the cost of acclimation to Dietary chemistry in the Omnivorous leaf-eared mouse *Phyllotis darwini*. Journal of Comparative Physiology B 170: 411- 417.

SABAT, P. & MARTINEZ DEL RIO, C. (2002). Inter- And intraspecific variation in the use of marine food resources by three Cinclodes (Furnariidae, Aves) species: Carbon isotopes and osmoregulatory physiology. Zoology 105: 247- 256.

SABAT, P. (2003). Mecanismos de Regulación Osmótica en Aves: desde La Bioquímica a la Conducta. En: Fisiología Ecológica y Evolutiva: conceptos y casos de

estudio en animales. Bozinovic, F. (ed.), Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

SABAT, P., MALDONADO, K., RIVERA-HUTINEL, A. & FARFAN, G. (2004a). Coping with salt without salt glands: osmoregulatory plasticity in three species of coastal songbirds of genus *Cinclodes* (Passeriformes: Furnariidae). *Journal of Comparative Physiology B*.

SABAT, P., SEPÚLVEDA- KATTAN, E. & MALDONADO, K. (2004b). Physiological and biochemical responses to dietary protein in the omnivore passerine *Zonotrichia capensis* (Emberizidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 137: 391-396.

SABAT, P. & MARTÍNEZ DEL RÍO, C. (2005). Seasonal changes in the use of marine food resources by *Cinclodes nigrofumosus* (Furnariidae: Aves): carbon isotopes and osmoregulatory physiology. *Revista Chilena de Historia Natural* 78: 253- 260.

SIBLY, R. M. (1981). Strategies in digestion and defecation. En: Townsend CR & P Calow (eds) *Physiological ecology: an evolutionary approach to resource use*: 109-139. Blackwell, Oxford.

SINGER, M. (2003). Do mammals, birds, reptiles and fish have similar nitrogen conserving systems? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 134: 543- 558.

STEARNS, S. C. (1989). The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience* 39: 436-445.

TIELEMAN, B. I., WILLIAMS, J. B. & BUSCHUR, M. (2002). Physiological Adjustments to Arid and Mesic Environments in Larks (*Alaudidae*). *Physiological and Biochemical Zoology* 75(3):305-313.

TRACY, R. & WALSBERG, G. (2001). Developmental and acclimatory contributions to water loss in a desert rodent: investigating the time of course of adaptative change. *J. Comp. Physiol. B* 171: 669- 679.

TRAVIS, J. (1994). Evaluating the adaptive role of morphological plasticity. En: Wainwright, P.C., Reilly, S.M. (Eds.) , *Ecological Morphology: Integrative Organismal intestinal Biology*. University of Chicago Press, Chicago, pp: 99-122.

TSAHAR, E., MARTÍNEZ DEL RÍO, C. & ZEEV, A. (2005a). Can birds be Ammoniotelic? Nitrogen balance and excretion in two frugivores. *The Journal of Experimental Biology* 208: 1025- 1034.

TSAHAR, E., MARTÍNEZ DEL RÍO, C., AROD, Z., JOY, J. & IZHAKI, I. (2005b). Are the low protein Requirements of Nectarivorous Birds the Consequence of their Sugary and Watery Diet? A Test with an omnivore. *Physiological and Biochemical Zoology* 78(2): 239- 245.

VAN TETS, I., KORINE, C., ROXBURGH, L. & PINSHOW, B. (2001). Changes in the composition of the urine of yellow- vented Bulbuls (*Pycnonothus xanthopygous*): the effects of ambient temperature, nitrogen and water intake. *Physiological Biochemical Zoology* 74 (6): 853- 857.

VIA, S., GOMULKIEWICZ, R., DE JONG, G., SCHEINER, S., SCHLICHTING & VAN TIENDEREN. (1995). Adaptative phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Tree* vol. 10 (5): 212- 217.

WILLIAMS, J.B. & E.J. BRAUN (1996). Renal compensation for cecal loss in Gambel's quail (*Callipepla gambelii*). *Comparative biochemistry and Physiology A* 113:333-341.

WRIGHT, P. A. (1995). Nitrogen excretion: three end products, many physiological roles. *J. Exp. Biol.* 198: 273-281.

ZANOTTO, F. P. & PICUDO, J. E. (2005). Dietary protein and carbohydrate affect feeding behavior and metabolic regulation in Hummingbirds (*Melanotrochilus fuscus*). *Revista Chilena de Historia Natural* 78: 281- 294.

## ANEXO I



Figura 20: *Zonotrichia capensis* (chincol).



Figura 21: Captura de *Zonotrichia capensis* mediante la utilización de redes de niebla.



Figura 22: *Zonotrichia capensis* en jaulas individuales durante los 21 días de aclimatación.

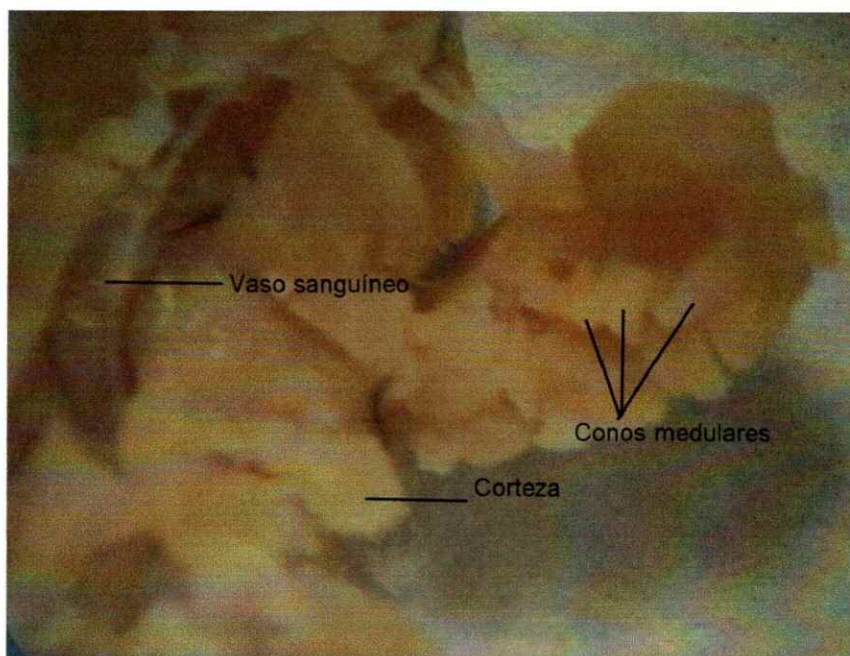


Figura 23: Riñones de *Zonotrichia capensis* disecados distinguiéndose algunos de los componentes renales observados (vasos sanguíneos, corteza y conos medulares).

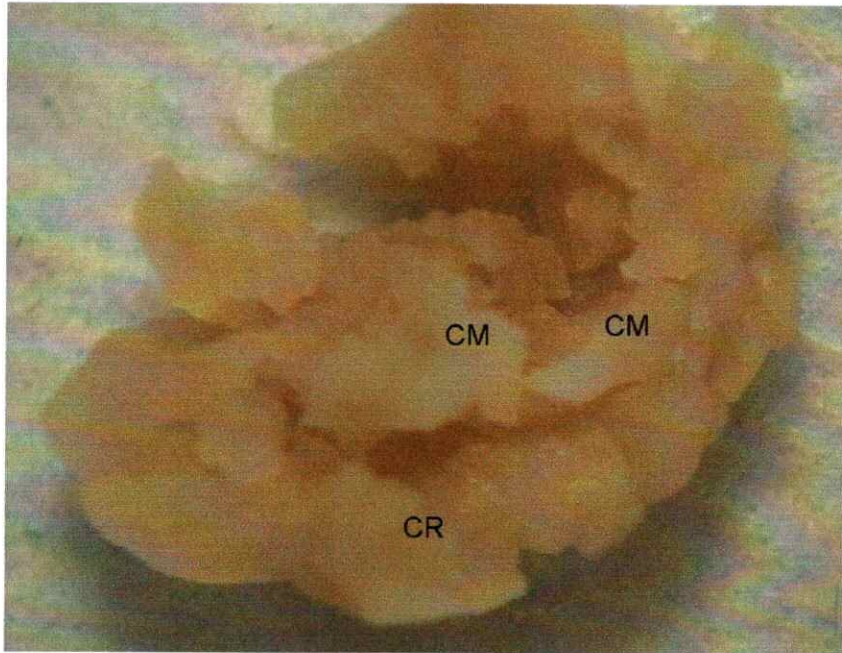


Figura 24: Extremo posterior del riñón izquierdo de *Zonotrichia capensis*. Se distingue el tejido cortical (CR) y el medular o conos medulares (CM).