

UCH-FC  
DOC-6  
S 113  
C. 1

**PLASTICIDAD DIGESTIVA EN ROEDORES:  
COSTOS ASOCIADOS A LA ACLIMATACIÓN**

**Tesis  
entregada a la  
Universidad de Chile  
en cumplimiento parcial de los requisitos  
para optar al grado de  
Doctor en Ciencias con mención en Biología**

**Facultad de Ciencias**

**por**

**ALEJANDRO PABLO SABAT KIRKWOOD**

**Director de Tesis: Francisco Bozinovic Kuscevic**

**1998**



**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**INFORME DE APROBACIÓN**  
**TESIS DE DOCTORADO**

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la tesis de Doctorado presentada por el candidato:

**ALEJANDRO PABLO SABAT KIRKWOOD**

Ha sido aprobada por la Comisión de la Tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Biología, en el Examen de Defensa de Tesis rendido el día 31 de Julio de 1998.

**Director de Tesis:**

Dr Francisco Bozinovic



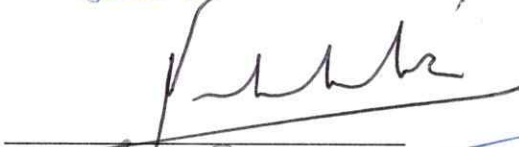
**Patrocinante de Tesis:**

Dr. Fernando Novoa

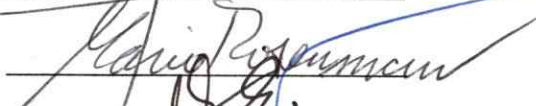


**Comisión Informante de Tesis**

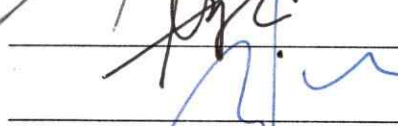
Dr. Nelson Díaz



Dr. Mario Rosenmann



Dr. Angel Spotorno



Dr. Alberto Veloso



## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mi tutor Franciscó Bozinovic por su estímulo y paciencia. Al profe Rosenmann por haber soportado tantos años en su laboratorio a un beduino majadero, a pesar de las casi infranqueables diferencias religiosas. A Pamela por haberme apoyado en forma incondicional y por haber soportado mi mal humor, en general intrínseco, y algunas veces, por culpa de los benditos roedores. A mi familia, por el cariño y estímulo constante.

A mi amigo Fer por casi todo. A mis amigos, Lima, Claudio, Mauricio y Mary, por su apoyo y ayuda inconmensurable. A M. Canals por no dudar en ayudarme cuando mi razonamiento lineal me impedía comprender la simpleza de la estadística. A los demás miembros y amigos del Laboratorio de Ecofisiología Animal, Ibin, Marco y Enrico, entre otras cosas, por haberme prestado atención cuando discutimos algunos aspectos de mi tesis. Especial agradecimiento a Andres Sazo y Jorge Lagos, quienes con su ayuda desinteresada me hicieron posible realizar el trabajo tedioso.

Agradezco a los miembros de mi comisión de tesis por la revisión crítica del trabajo, además de su interés y apoyo a lo largo del desarrollo de mi programa de doctorado. A Carlos Martínez del Río por su constante estímulo y discusión de mi trabajo. A todos los que se me escapan, e hicieron posible esta tesis.

Esta tesis fue financiada por el Proyecto FONDECYT 2960013 de doctorado y la beca de tesis de Posgrado PG-001-96 de la Universidad de Chile.

## INDICE DE MATERIAS

Lista de Tablas.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Abreviaturas.....	xiv
Resumen.....	xvi
Summary.....	xviii
INTRODUCCIÓN.....	1
Plasticidad fenotípica.....	1
Costos de Aclimatación.....	3
Plasticidad y Función Digestiva.....	5
Especialización Ecológica.....	9
OBJETIVOS GENERALES.....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
HIPÓTESIS.....	16
PREDICCIONES.....	17
1.- Costos de Aclimatación.....	17
2.- Especialización Ecológica.....	18
3.- Período Sensitivo de Plasticidad.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20

Captura de animales y reproducción.....	21
Aclimatación.....	22
Pruebas de preferencia trófica.....	24
Retención del alimento.....	24
Función digestiva y balance energético.....	25
Morfología digestiva, preparación y ensayo de actividades enzimáticas.....	27
Análisis estadístico.....	30
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
Morfología.....	33
Preferencias de Alimentación.....	37
Tiempo de Retención del Alimento.....	39
Gasto Energético.....	40
Función Digestiva.....	41
Balance Energético.....	60
Norma de Reacción.....	68
Actividad Enzimática.....	71
Mecanismos Causales y Costos de Aclimatación.....	79
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>82</b>
Ajustes Morfológicos.....	82
Flexibilidad y Modulación de Actividades Enzimáticas.....	88
Función Digestiva y Costos de aclimatación.....	92

Norma de Reacción y Especialización Ecológica.....	103
Posibles Mecanismos Causales de Costos de Aclimatación.....	109
CONCLUSIONES.....	114
BIBLIOGRAFÍA.....	118

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.- Composición del alimento de los tratamientos experimentales de <i>Phyllotis darwini</i> .....	31
Tabla 2.- Composición del alimento de los tratamientos experimentales de <i>Octodon degus</i> .....	32
Tabla 3.- Morfología del tracto digestivo de <i>Phyllotis darwini</i> aclimatado a diferentes dietas experimentales y regímenes temporales de aclimatación.....	34
Tabla 4.- Morfología del tracto digestivo de <i>Octodon degus</i> aclimatados a diferentes dietas experimentales y regímenes temporales de aclimatación.....	36
Tabla 5.- Ingesta y asimilación de materia y energía de todos los grupos experimentales en <i>Phyllotis darwini</i> .....	51
Tabla 6.- Ingesta y asimilación de materia y energía de todos los grupos experimentales en <i>Octodon degus</i> .....	59
Tabla 7.- Ejes del ACP y sus correlaciones con las variables derivados del análisis de las actividades de tres enzimas digestivas en <i>Phyllotis darwini</i> y <i>Octodon degus</i> .....	79

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Norma de reacción hipotética para una característica que presenta diferentes grados de plasticidad fenotípica en dos especies con distinto nivel de especialización ecológica.....	13
Figura 2.- Medidas de longitud del tracto digestivo en <i>Phyllotis darwini</i> sometido a diferentes condiciones experimentales.....	35
Figura 3.- Medidas de longitud del tracto digestivo en <i>Octodon degus</i> sometido a diferentes condiciones experimentales.....	37
Figura 4.- Preferencias de alimentación sobre dos dietas artificiales en <i>Phyllotis darwini</i> crecidos bajo diferentes condiciones experimentales.....	38
Figura 5.- Preferencias de alimentación sobre dos dietas artificiales en <i>Octodon degus</i> crecidos bajo diferentes condiciones experimentales.....	39
Figura 6. Gasto metabólico de <i>Phyllotis darwini</i> a 22 °C en todos los tratamientos experimentales.....	40
Figura 7.- Gasto metabólico de <i>Octodon degus</i> a 25 °C en diferentes tratamientos experimentales.....	41
Figura 8.- Digestibilidad aparente de materia de la dieta experimental HC+ en <i>Phyllotis darwini</i> .....	42
Figura 9.- Digestibilidad aparente de materia de la dieta experimental HC- en <i>Phyllotis darwini</i> .....	43



Figura 10.- Razón de digestibilidad de materia de las dietas HC+ y HC- en <i>Phyllotis darwini</i> de diferentes tratamientos experimentales.....	44
Figura 11.- Digestibilidad aparente de energía de la dieta experimental HC+ en <i>Phyllotis darwini</i> .....	45
Figura 12.- Digestibilidad aparente de energía de la dieta experimental HC- en <i>Phyllotis darwini</i> .....	45
Figura 13.- Razón de digestibilidad de energía de las dietas HC+ y HC- en <i>Phyllotis darwini</i> de diferentes tratamientos experimentales.....	46
Figura 14.- Digestibilidad aparente de fibra cruda en <i>Phyllotis darwini</i> .....	47
Figura 15.- Digestibilidad aparente de carbohidratos en <i>Phyllotis darwini</i> .....	48
Figura 16.- Digestibilidad aparente de proteína en <i>Phyllotis darwini</i> .....	49
Figura 17.- Relación entre la digestibilidad aparente de materia de la dieta HC+ y de carbohidratos en <i>Phyllotis darwini</i> .....	50
Figura 18.- Relación entre la digestibilidad aparente de materia de la dieta HC- y de carbohidratos en <i>Phyllotis darwini</i> .....	50
Figura 19.- Digestibilidad aparente de materia de la dieta experimental HC+ en <i>Octodon degus</i> .....	52

Figura 20.- Digestibilidad aparente de materia de la dieta experimental HC- en <i>Octodon degus</i> .....	52
Figura 21.- Digestibilidad aparente de energía de la dieta experimental HC+ en <i>Octodon degus</i> .....	53
Figura 22.- Digestibilidad aparente de energía de la dieta experimental HC- en <i>Octodon degus</i> .....	54
Figura 23.- Razón de digestibilidad de materia de las dietas HC+ y HC- en <i>Octodon degus</i> de diferentes tratamientos experimentales.....	55
Figura 24.- Razón de digestibilidad de energía de las dietas HC+ y HC- en <i>Octodon degus</i> de diferentes tratamientos experimentales.....	55
Figura 25.- Digestibilidad aparente de fibra cruda en <i>Octodon degus</i> . ....	56
Figura 26.- Digestibilidad aparente de carbohidratos en <i>Octodon degus</i> .....	56
Figura 27.- Digestibilidad aparente de proteína en <i>Octodon degus</i> .....	57
Figura 28.- Relación entre la digestibilidad aparente de materia de la dieta HC+ y de carbohidratos en <i>Octodon degus</i> .....	57
Figura 29.- Relación entre la digestibilidad aparente de energía de la dieta HC+ y de carbohidratos en <i>Octodon degus</i> .....	58
Figura 30.- Balance de peso corporal al término de 3 días de sometidos a los experimentos de asimilación de la dieta HC+ en <i>Phyllotis darwini</i> .....	60

Figura 31.- Balance de peso corporal al término de 3 días de sometidos a los experimentos de asimilación de la dieta HC+ en <i>Phyllotis darwini</i> .....	61
Figura 32.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en <i>Phyllotis darwini</i> sometidos a la dieta HC+.....	62
Figura 33.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en <i>Phyllotis darwini</i> sometidos a la dieta HC-.....	63
Figura 34.- Relación entre el Cuociente energético y el balance de masa en <i>Phyllotis darwini</i> sometidos a los experimentos de asimilación de las dietas HC+ y HC-.....	63
Figura 35.- Balance de peso corporal al término de 3 días de sometidos a los experimentos de asimilación de la dieta HC+ en <i>Octodon degus</i> .....	65
Figura 36.- Balance de peso corporal al término de 3 días de sometidos a los experimentos de asimilación de la dieta HC+ en <i>Octodon degus</i> .....	65
Figura 37.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en <i>Octodon degus</i> sometidos a la dieta HC+.....	66
Figura 38.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en <i>Octodon degus</i> sometidos a la dieta HC-.....	67
Figura 39.- Relación entre el Cuociente energético y el balance de masa en <i>Octodon degus</i> sometidos a los experimentos de asimilación de las dietas HC+ y HC-.....	67

Figura 40.- Norma de reacción para la relación entre el largo del intestino grueso y delgado en <i>P. darwini</i> y <i>O. degus</i> .....	68
Figura 41.- Norma de reacción para la digestibilidad de materia en <i>Phyllotis darwini</i> y <i>Octodon degus</i> .....	70
Figura 42.- Norma de reacción para la digestibilidad de tres componentes de la dieta en <i>Phyllotis darwini</i> y <i>Octodon degus</i> .....	71
Figura 43.- Actividad de sacarasa intestinal estandarizada por gramo de tejido y por gramo de proteína en <i>Phyllotis darwini</i> .....	72
Figura 44.- Actividad de maltasa intestinal estandarizada por gramo de tejido y por gramo de proteína en <i>Phyllotis darwini</i> .....	73
Figura 45.- Actividad de aminopeptidasa-N intestinal estandarizada por gramo de tejido y por gramo de proteína en <i>Phyllotis darwini</i> .....	74
Figura 46.- Relación entre la actividad de sacarasa y las actividades de maltasa y aminopeptidasa-N de <i>Phyllotis darwini</i> en todos los tratamientos experimentales.....	76
Figura 47.- Relación entre la actividad de sacarasa y las actividades de maltasa y aminopeptidasa-N de <i>Octodon degus</i> en todos los tratamientos experimentales.....	78
Figura 48.- Relación entre el largo del intestino delgado y la digestibilidad aparente de energía de la dieta rica en proteínas.....	80
Figura 49.- Relación entre la proporción del intestino delgado e intestino grueso y la digestibilidad aparente de energía de la dieta HC+.....	80

Figura 50.- Norma de reacción y reaclimatación de la función digestiva en individuos de <i>P. darwini</i> y <i>O. degus</i> sometidos a dos dietas de distinta composición química durante la ontogenia.....	81
Figura 51.- Relación hipotética de la función de entrada de energía y el tiempo de digestión para dos dietas de diferente composición química.....	106
Figura 52.- Esquema explicativo de los efectos de la aclimatación a dietas de distinta composición química en roedores.....	117

## LISTA DE ABREVIATURAS

- $A_e$  : Asimilación de energía
- $A_{id}$  : Área del intestino delgado
- $C_e$  : Cuociente energético
- $D_e$  : Digestibilidad aparente de energía
- $D_c$  : Digestibilidad aparente de carbohidratos solubles
- $D_f$  : Digestibilidad aparente de fibra cruda
- Dieta HC+ : Dieta rica en carbohidratos
- Dieta HC- : Dieta pobre en carbohidratos
- $D_m$  : Digestibilidad aparente de materia
- $D_p$  : Digestibilidad aparente de Proteína
- E : Egesta de alimento
- $G_r$  : Gasto metabólico de reposo
- Grupos:
- HC- : Grupo de animales mantenidos todo su desarrollo en la dieta HC-
- HC+ : Grupo de animales mantenidos todo su desarrollo en la dieta HC+
- HC+HC- : Grupo de animales mantenidos todo su desarrollo en la dieta HC+ y reaclimatados a la dieta HC- por dos semanas en la etapa adulta.
- HC-HC+ : Grupo de animales mantenidos todo su desarrollo en la dieta HC- y reaclimatados a la dieta HC+ por dos semanas en la etapa adulta

- HC-HC+1 : Grupo de animales mantenidos 1/3 del desarrollo en la dieta HC- y cambiados a la dieta HC+
- HC-HC+2 : Grupo de animales mantenidos 2/3 del desarrollo en la dieta HC- y cambiados a la dieta HC+
- I : Ingesta de alimento
- $L_{id}$  : Largo del intestino delgado
- $L_{ig}$  : Largo del intestino grueso
- TRM : Tiempo de retención medio del alimento
- $W_b$  : Peso corporal
- $W_{id}$  : Peso del intestino delgado
- $W_{ig}$  : Peso del intestino grueso
- $W_{ci}$  : Peso del ciego
- $W_e$  : Peso del estómago
- $W_h$  : Peso del hígado
- $W_r$  : Peso de los riñones

## RESUMEN

La plasticidad fenotípica es entendida como una respuesta adaptativa para hacer frente a cambios en el ambiente. Sin embargo la plasticidad fenotípica puede ser costosa. Estos costos probablemente son mas frecuentes cuando la norma de reacción de los caracteres involucrados en la aclimatación es inflexible. La plasticidad de la morfología y fisiología digestivas tiene consecuencias importantes sobre la selección de alimento y la amplitud del nicho trófico. Debido a que la disponibilidad de los diferentes ítems de alimento cambian en el espacio y en el tiempo, la plasticidad de los procesos digestivos ha recibido una atención significativa. Aún así, los costos asociados con la plasticidad del tracto digestivo han recibido escasa atención. En esta tesis examino los costos asociados a la aclimatación en un roedor omnívoro (*Phyllotis darwini*) y uno herbívoro (*Octodon degus*), alimentados con dietas de distinta composición química (variable en carbohidratos y proteínas). Estudié la respuesta de la morfología y enzimología digestiva tanto como el desempeño digestivo en animales sometidos a cambios de dieta en diferentes estados de desarrollo. Cuando los individuos adultos de la especie omnívora aclimatados a una determinada dieta son cambiados a la dieta alternativa, la digestibilidad aparente de materia y energía ( $D_m$  y  $D_e$ ) disminuyen. También se encontraron consecuencias de largo plazo a la aclimatación dietaria. Los animales que fueron reaclimatados por 15 días a la dieta alternativa no incrementan el desempeño digestivo. *Phyllotis darwini* presenta efectos importantes de la dieta sobre la morfología digestiva y existe una correlación significativa entre la digestibilidad aparente y el largo del



intestino delgado. Esta relación explica la mayor parte de la variabilidad observada en  $D_m$  y  $D_e$ . Esta especie presenta la capacidad de modular reversiblemente la actividad enzimática digestiva. La actividad de las diferentes enzimas están positivamente correlacionadas. La actividad de aminopeptidasa-N es activada por la cantidad de proteína en la dieta en *P. darwini*, pero no en *O. degus*, como se esperaba para especies con distintos hábitos de alimentación. De manera concordante, *O. degus* muestra una constancia en todas las medidas morfométricas del tracto digestivo, lo que determina la ausencia de los costos de aclimatación encontrados en *P. darwini*. Como se esperaba, los costos de aclimatación a la dieta dependen de la plasticidad fenotípica de las características involucradas en los procesos. Probablemente, aquellas especies capaces de modular sus características digestivas son capaces de flexibilizar sus hábitos alimenticios, pero también están expuestas a los costos de aclimatación. Dichos costos se manifiestan en diferentes escalas temporales y de organización biológica y pueden tener consecuencias sobre la adecuación biológica individual.

## SUMMARY

Phenotypic plasticity appears as an adaptive response to cope with changing environment. However, reversible phenotypic plasticity can be costly. These costs are probably more frequent when the norm of reaction of traits that involve acclimation are inflexible. Plasticity in digestive morphology and physiology exhibit important consequences on food selection and dietary niche breadth. Nevertheless the costs associated with plasticity of the digestive tract have received little attention. In this thesis I determine the cost associated with acclimation in omnivorous (*Phyllotis darwini*) and herbivorous (*Octodon degus*) rodents feeding chemically contrasting diets (variable in carbohydrate and protein). I studied the response of gut morphology and enzymatology as well as of digestive performance of animals shifted to a novel diet through different developmental stages. When omnivorous adults acclimated to a given diet were shifted to the alternative diet, apparent metabolizable energy coefficients ( $D_e$  and  $D_m$ ) decreased. The same pattern was found during long-dietary acclimation. Animals that were reacclimated for 15 days to an alternative diet they did not increase digestive performance. *Phyllotis darwini* exhibits an effect of diet on gut morphology and there was a significant positive correlation between apparent digestibility and small intestinal length. This relationship explained most of the variability observed in  $D_m$  and  $D_e$ . This species showed the ability to modulate digestive enzyme activity. Activities of all enzymes were positively correlated. Aminopeptidase-N activity is up-regulated by the amount of protein in food in *P. darwini* but not in *O. degus*, as is expected for species

with different dietary habits. In agreement, *O. degus* show a constancy in all morphometric variables of the digestive tract which determine the absence of acclimation cost present in *P. darwini*. As were expected, the acclimation cost to diet depends upon a phenotypic plasticity of traits involved in the digestive process. Probably, those species able to change their digestive traits are capable to flexibilize their dietary habits, but are also exposed to acclimation cost. Such a cost is manifested at different time, and biological organization scale, and may have consequences upon organism individual fitness.

## INTRODUCCION

### Plasticidad Fenotípica

De acuerdo a los cuerpos teóricos contemporáneos en evolución, la variabilidad genética presente en las poblaciones constituye el substrato para el cambio evolutivo. (Futuyma 1986, Williams 1992). Esta variabilidad genética se expresa en diferencias fenotípicas entre los individuos. Sin embargo no toda la variación observable se debe a diferencias genéticas (e.g. heredables) sino que la variabilidad generada por plasticidad fenotípica (variación inducida por el ambiente, *sensu* Stearns 1989) es responsable de gran parte de las diferencias entre los individuos (Scheiner 1993, Garland & Carter 1994, Conover & Shultz 1995). Así, aún cuando es comúnmente aceptado que la variabilidad generada por la plasticidad fenotípica no está sujeta a selección natural y por lo tanto no es responsable del cambio evolutivo, existe consenso acerca de que la plasticidad fenotípica también es en sí una característica que ha evolucionado mediante la selección natural bajo condiciones ambientales variables (Via et al. 1995, De Jong 1995, Vía 1993, Moran 1992, Stearns 1994, Futuyma & Moreno 1988). Como resultado, existe variabilidad genética asociada a la plasticidad fenotípica, lo que comúnmente se conoce como interacción genotipo-ambiente y que se traduce en diferencias en la forma y extensión de la respuesta fenotípica a las variaciones ambientales (véase Vía & Lande 1985, Reques & Tejedo 1997).

En este contexto, este tipo de ajustes a las características del ambiente puede generar polifenismo, situación en la cual un genotipo produce dos o mas fenotipos discretos en respuesta a alguna señal o variable ambiental, o bien una norma de reacción, es decir, una respuesta continua en función de dicha señal. Una norma de reacción puede ser inflexible (*sensu* Stearns 1989) situación en la cual una característica fenotípica no es capaz de cambiar una vez determinada en la vida de un organismo, o bien reversible (*sensu* Travis 1994), en la cual el carácter puede cambiar mas de una vez en la ontogenia.

Como resultado de la plasticidad fenotípica, los organismos pueden incrementar su desempeño biológico en diferentes ambientes si antes se los ha expuesto a tales condiciones (véase Garland & Carter 1994). Esta situación, llamada aclimatación cuando se realiza en ambientes controlados de laboratorio, o aclimatización cuando es en ambientes naturales (véase Prosser, 1964), permite a los organismos ajustarse a variaciones bióticas y abióticas del ambiente, mediante mecanismos que operan desde el nivel bioquímico al sistémico (Hochahchka & Somero 1984, Prosser 1991). Por ejemplo, se ha estudiado el efecto de la aclimatación y aclimatización a ambientes de alta altitud sobre diversos aspectos de la fisiología en mamíferos (Rosenmann et al. 1975, Hayes 1989a, 1989b, Morrison et al. 1963), aves (Mc Grath 1971, Gaeger & McGrath 1975), reptiles (Ballinger & Newlin 1975) y anfibios (Ruiz et al. 1989, Hutchison et al. 1976), el efecto de la aclimatización a la temperatura ambiente en mamíferos (Rosenmann et al. 1975, Dawson & Olson 1987, Bozinovic 1993b) reptiles (Tsuji 1988), el efecto del fotoperíodo sobre la energética y reproducción en mamíferos (Reynolds & Lavigne 1988,

Bronson 1989), de la dieta sobre la energética y fisiología digestiva (Galluser et al. 1988, Veloso & Bozinovic 1993, Ferraris & Diamond 1989, Martínez del Río et al 1995, Sabat et al. 1995, Sabat et al 1998), del ejercicio sobre el metabolismo en vertebrados (Hayes & Chapell 1986, Baldwin & Winder 1977, Saltin & Rowell 1980, Gatten et al. 1988) o la exposición a diversos factores bióticos y abióticos sobre la conducta, morfología e historias de vida (Clark et al. 1992, Smith & Buskirk 1995, Haug & Johnson (1991) Trussell 1994, Newmann 1992, Selmitsch et al. 1990). De esta manera, el estudio de la plasticidad fenotípica se ha convertido en un tópico central de la biología evolutiva contemporánea (Stearns 1989, Travis 1994, Pigliucci 1996a, Padilla & Adolph 1996).

### **Costos de Aclimatación**

Tradicionalmente, la plasticidad fenotípica se ha considerado como una respuesta adaptativa frente a cambios en las condiciones ambientales. Los estudios sobre plasticidad fenotípica generalmente asumen que las variaciones generadas por la aclimatación son de naturaleza adaptativa y muy rara vez se somete a prueba esa hipótesis en forma rigurosa (véase Huey & Berrigan 1996). Recientemente se le ha dado énfasis a los (diversos) costos asociados a la aclimatación y aclimatización (Newman 1992, Hoffmann 1995). En este sentido hay autores que plantean que, el incremento de la adecuación biológica en un ambiente, solamente podría ser alcanzado al costo de disminuir la adecuación biológica a otros ambientes (Gomulkiewicz & Kirkpatrick 1992,

Via et al. 1995). Esto ocurriría en particular cuando la aclimatación resulta de la exposición a un ambiente inusual, simplemente como el resultado inevitable de la interacción de variables ambientales con un organismo (Stearn 1989). Efectivamente, dada la naturaleza fisicoquímica de los organismos, si éstos no poseen una capacidad de amortiguación frente a las variaciones de una variable ambiental particular, inevitablemente sufrirán un cambio en sus características morfológicas y/o fisiológicas, lo que puede ser considerado como plasticidad fenotípica.

Diversos estudios han incorporado los posibles costos asociados a la aclimatación y aclimatización. Por ejemplo, Leroi et al. (1994) han estudiado en bacterias el efecto de la aclimatación a diferentes temperaturas y han determinado los costos asociados a la plasticidad fenotípica, particularmente el efecto sobre la adecuación biológica. Estos autores trabajaron con cepas de *Escherichia coli* a dos temperaturas de aclimatación (32 °C y 41.5 °C) por 24 horas, para luego cultivarlas a 42°C y 32 °C. La densidad poblacional relativa de las dos cepas provee una indicación de habilidad competitiva. Sus resultados indican que las bacterias aclimatadas a 32 °C poseen una ventaja competitiva por sobre las aclimatadas a 42°C independiente de la temperaturas en las cuales compitieron. Así, aunque las bacterias aclimatadas a la temperatura mayor incrementan la habilidad de sobrevivir por períodos cortos a 50 °C (el límite superior de tolerancia normal es cercano a los 42.2 °C), los ajustes fisiológicos parecen tener costos en términos de habilidad competitiva. Resultados similares se obtienen en la mosca del

vinagre (*Drosophila melanogaster*), cuya aclimatación al calor está asociada con una disminución en su capacidad reproductiva (Krebs & Loeschcke, 1994).

## **Plasticidad y Función Digestiva**

Debido a que los recursos alimentarios cambian en el espacio y en el tiempo, muchos animales pueden cambiar de dieta de acuerdo a la oferta ambiental. Por esto, la plasticidad de las características digestivas ha recibido una atención considerable (e.g. Karasov 1996). Los procesos digestivos pueden influenciar muchos aspectos de la historia de vida de un animal (Martínez del Río & Stevens 1989, Levey and Karasov 1989, Bozinovic and Merritt 1991, Bozinovic 1993a), y pueden limitar las tasas de producción (Sibly and Calow 1986, Karasov 1986, Karasov and Diamond 1988). Basado en lo anterior, cualquier restricción digestiva generada por la aclimatización a una dieta particular puede afectar el presupuesto energético general de los animales.

Las restricciones digestivas pueden separarse en dos categorías fundamentales (Penry 1993): i) limitaciones de hidrólisis y/o absorción, las que se refieren a la limitación fisiológica para degradar y absorber determinados componentes de la dieta y están asociadas a la degradación enzimática y a los niveles de transporte de nutrientes, y ii) limitaciones de procesamiento, las que corresponden al tiempo requerido para la



degradación y absorción de los nutrientes y se relacionan con el volumen de las cámaras digestivas y el tiempo de tránsito del alimento.

Los niveles de actividad de hidrólisis y transporte de nutrientes en vertebrados se ven afectados por la aclimatación a dietas de diferente composición química (véase Ferraris & Diamond 1993, Martínez del Río et al. 1995, Sabat et al. 1995), y por condiciones fisiológicas asociadas a aumentos en los requerimientos de energía (Karasov & Diamond 1983). En general, el tiempo de respuesta de estas características a la aclimatación es relativamente lento, desde días a semanas (Diamond & Karasov 1984, Galand 1989) y el intervalo de tal respuesta es limitado (usualmente la tasa entre el máximo y el mínimo de actividad es cercano a dos en vertebrados, mientras que en bacterias puede llegar a miles) (véase Ferraris & Diamond (1989), Diamond (1991), Toloza & Diamond (1991), Sabat & Bozinovic (1994)). Además, los cambios que sufren estas características digestivas son reversibles, es decir, poseen una norma de reacción flexible. Paralelamente, la actividad enzimática relacionada con la capacidad de hidrólisis y de absorción de nutrientes se corresponden con la carga natural de substratos en la vía metabólica (Hochahchka & Somero 1984, Hume 1998). Además, aún cuando existen ciertos márgenes de seguridad o tolerancia que permiten enfrentar variaciones transientes en la concentración de nutrientes, ellos son limitados (Toloza et al. 1991, Diamond 1991, Diamond & Hamond 1992). Contrariamente a lo que ocurre con las restricciones de hidrólisis/absorción, las restricciones de procesamiento, especialmente la longitud del tracto digestivo (Sibly 1981), rara vez se ven modificadas significativamente por

aclimatación a dietas de diferente composición química (véase Penry 1993). Sin embargo, existen algunas excepciones, como por ejemplo el efecto significativo del tipo de dieta sobre el largo del tracto digestivo del ave omnívora *Sturnus vulgaris* (Martínez del Río et al. 1995), o el efecto de bajas temperaturas sobre el volumen de las cámaras digestivas y el tiempo de retención del alimento en el ave *Troglodites aedon* (Dykstra & Karasov 1992). Estas excepciones se producen especialmente cuando la aclimatación a dietas particulares se realiza durante las etapas iniciales de la ontogenia de los individuos. Por ejemplo, Toloza & Diamond (1991) encontraron que el ratón doméstico, *Mus musculus*, sometido a variaciones en la temperatura ambiental durante su desarrollo ontogenético presenta cambios morfológicos en el tracto digestivo. Los animales mantenidos desde el destete con un requerimiento de energía mayor (menor temperatura ambiente) mostraron tractos digestivos más pesados y ciegos y colon más largos. Paralelamente, Biviano et al. (1993) encontraron que la composición química de la dieta, particularmente la presencia de carbohidratos, tiene un efecto sobre el largo del tracto digestivo en la gallina común, *Gallus gallus*. Estos autores encontraron que, cuando animales no expuestos a carbohidratos dietarios en su vida temprana, son cambiados a una dieta rica en carbohidratos, la morfología del tracto digestivo rápidamente converge con aquella de animales mantenidos con una dieta rica en carbohidratos. Notablemente, el cambio de dieta contrario (de alto a bajos niveles de carbohidratos) no tiene ningún efecto, lo cual sugiere la existencia de asimetrías en la norma de reacción. Por otro lado, Bozinovic et al. (1989) encontraron que cuando individuos adultos del ratón andino *Abrothrix andinus*, son expuestos a dietas experimentales, ellos modifican el peso del intestino delgado, pero

no el largo, lo que concuerda con lo sucedido en terreno en un ambiente estacional (Bozinovic et al. 1990). Sin embargo, estos roedores no presentan diferencias significativas en el tiempo de retención del alimento cuando son mantenidos con dietas de distinta calidad (Bozinovic 1993b). Estos trabajos sugieren que las características digestivas relacionadas con las restricciones de procesamiento, como el largo del tracto digestivo, podrían ser modificables en estadios tempranos de la ontogenia, y ser rígidas en la etapa adulta. En este mismo sentido Tur et al. (1988) han sugerido que la exposición a diferentes dietas y regímenes alimentarios puede influir a largo plazo en características fisiológicas y morfológicas del tracto digestivo. Es decir, aquellas características determinadas en las primeras etapas del desarrollo, se mantendrían por largo tiempo en la vida de un organismo.

Existen diversas hipótesis por las cuales la aclimatación a una dieta particular debiera determinar un menor desempeño con otro tipo de alimento. En términos de un análisis de costo y beneficio, se ha postulado que la síntesis y mantención de una maquinaria encargada de la hidrólisis o el transporte de nutrientes que no están presentes en la dieta debiera ser reprimida por constituir un alto costo biosintético (Diamond 1986, Karasov & Diamond 1988). Dichos costos se refieren a gastos energéticos de síntesis y mantención molecular: gasto de ATP, aminoácidos y minerales, y el equivalente gasto de RNA (Klark & Kohen 1992). Por otro lado, Diamond & Hamond (1992) postulan que las proteínas no utilizadas ocupan un espacio innecesario en la presumiblemente apretada membrana apical de los enterocitos. Estas hipótesis han sido ampliamente

discutidas y corroboradas, como lo demuestran los trabajos de transporte de nutrientes (Karasov & Diamond 1983, Ferraris & Diamond 1989) y enzimas digestivas (Henning 1985, Martínez del Río et al. 1995 ). De esta manera, animales nunca expuestos a la presencia de nutrientes específicos, podrían ser incapaces de digerirlos o al menos ser ineficientes, por no poseer o mantener en niveles basales la maquinaria molecular digestiva para ello. Así, las características morfológicas plásticas del tracto digestivo que se tornan inflexibles en la ontogenia (véase Toloza & Diamond 1990) junto con una capacidad de respuesta limitada de las restricciones de hidrólisis-absorción y el escaso margen de seguridad que estas poseen, determinarían costos asociados a los cambios funcionales del tracto digestivo en animales sometidos a aclimatación a diferentes dietas desde su nacimiento.

### **Especialización ecológica.**

En términos evolutivos, si un organismo se ve enfrentado a dos ambientes contrastantes, en los cuales el fenotipo óptimo para un desempeño particular es diferente entre los dos ambientes, una respuesta plástica de un generalista debiera ser más efectiva en promedio (mayor adecuación biológica), que una respuesta homeostática de un especialista en ambas condiciones (Van Tienderen 1991). Sin embargo, si existen costos significativos asociados a la aclimatación, una norma de reacción rígida de un especialista podría permitir un desempeño mayor en ambos ambientes debido a la disminución o ausencia de

dichos costos (véase Van Tienderen 1997 para un análisis de simulación y modelos matemáticos). Los procesos de digestión y absorción de nutrientes en vertebrados parecen cumplir dos condiciones esenciales para generar diferencias en la norma de reacción asociadas a la especialización ecológica. Primero, el fenotipo óptimo en el desempeño digestivo depende del tipo de alimento consumido (Sibly 1981, Sibly & Calow 1986, Penry & Jumars 1986). Segundo, en animales especialistas la capacidad de modular las características digestivas en función de la dieta sería limitada, como lo sugieren los trabajos efectuados en transporte intestinal de nutrientes en peces, anfibios y mamíferos carnívoros (Ferraris & Diamond 1989, Toloza & Diamond 1990, Karasov & Diamond 1983, Diamond & Buddington 1987, Buddington et al. 1987), los estudios acerca de la morfología del intestino delgado del roedor herbívoro, *Octodon degus* (Velooso & Bozinovic 1993), los estudios sobre la morfología y enzimas digestivas en aves de distinto grado de especialización dietaria (Sabat et al. 1998) y anfibios insectívoros (Sabat & Bozinovic 1996). Esta hipótesis, denominada de "modulación adaptativa" (Karasov 1992) se basa en que, en animales nunca expuestos a variaciones importantes en los niveles de substratos dietarios, el poseer una maquinaria reguladora sería inútil y costosa, por lo que debiera ser eliminada por selección natural.

En vertebrados las características digestivas están altamente correlacionadas con la composición química de la dieta natural (Hume 1982, Vonk & Western 1984, Stevens 1990), de manera que las preferencias tróficas de los organismos se correlacionaría con la capacidad que éstos tienen para digerirlos y asimilarlos (Martínez del Río & Stevens

1989, Levey & Grajal 1991, Martínez del Río 1990, Martínez del Río et al. 1992, Penry 1993). Sin embargo, en mamíferos se ha demostrado que las preferencias de dieta de las crías sería condicionada antes de que ingieran alimento, a través de los sabores que obtienen de la leche, mientras que cuando se independizan de la madre, las interacciones sociales y el aprendizaje se hacen más importantes (Provenza & Cincotta 1993).

A pesar de que existe gran cantidad de información acerca del desempeño digestivo de animales sometidos a diferentes dietas, los estudios se han realizado en animales no aclimatados (e.g. Castro et al. 1989, Bosque & Parra 1992, Bozinovic & Muñoz-Pedrerros 1995, Sabat et al. 1995), la aclimatación se ha realizado en individuos adultos (e.g. Weiner 1987, Levey & Karasov 1989, Veloso & Bozinovic 1993, Bozinovic 1995), o bien se han limitado a caracterizar los cambios funcionales producidos por la aclimatación durante la ontogenia (Henning 1985, Buddington & Diamond 1989 Ferraris & Diamond 1989, Biviano et al. 1993). Un ejemplo de costos de aclimatación a dietas, es el caso de la tortuga marina *Chelonia midas*. Este quelónido, que es capaz de producir fermentación en el ciego, desarrolla un tipo de flora bacteriana específica que depende del tipo de alimento consumido, micro o macroalgas marinas (Bjorndal et al. 1991). De esta manera, digiere con distinta eficiencia las algas, dependiendo de la condición dietaria a la cual se ha mantenido anteriormente. Sin embargo, en este caso la aclimatación estaría dada por la asociación entre esta tortuga y la flora bacteriana y aparentemente no por mecanismos que involucren cambios enzimáticos o morfológicos. En definitiva, no existe un cuerpo experimental que haya abordado esta problemática en forma global, lo que

hace necesario una aproximación que incluya, desde una perspectiva temporal (ontogenética), aspectos morfológicos y funcionales del tracto digestivo y el balance energético general, de los fenómenos asociados a la aclimatación a dietas de diferente composición química. El objetivo final, será determinar los patrones generales de respuesta a la aclimatación en dos modelos de vertebrados con distinto grado de especialización y versatilidad ecológica.

En esta tesis entonces, se intenta someter a prueba la hipótesis de costos de aclimatación a la dieta, la que estaría dada por las restricciones de biosíntesis y mantención de las distintas características digestivas, y que dependería de la capacidad de variar reversiblemente tales características. Para ello se realizará el estudio de dos roedores con distintos hábitos alimenticios. El problema que pretendo definir es: en qué medida la variación fenotípica ambientalmente inducida de las características digestivas refleja plasticidad adaptativa. Para esto es necesario conocer cómo responden los organismos al ambiente en distintos estadios ontogenéticos, su norma de reacción, y establecer cuál es el efecto sobre la adecuación de una norma de reacción en particular, en diferentes ambientes y relativa a otras normas de reacción (incluyendo fenotipos fijos o norma de reacción de pendiente cero).

De acuerdo con lo anterior, postulo el siguiente modelo gráfico que daría cuenta de los costos asociados a los fenómenos de aclimatación de las características digestivas en animales especialistas y generalistas (véase Figura 1).

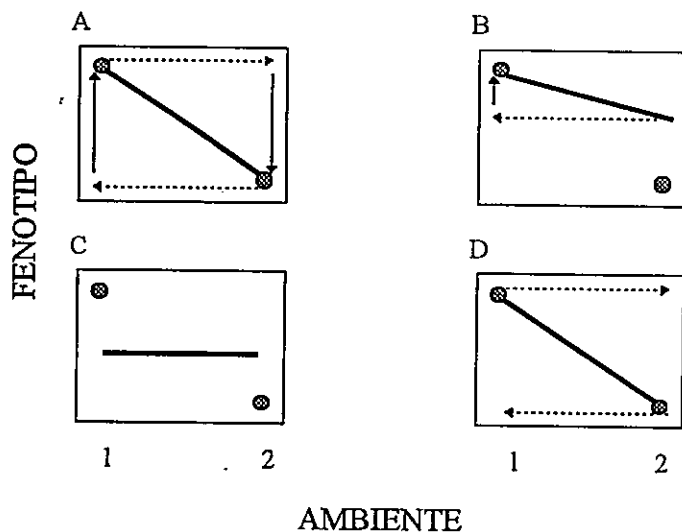


Figura 1. Normas de reacción hipotéticas para una característica que presenta diferentes grados de plasticidad fenotípica en dos especies con distinto nivel de especialización ecológica. Véase texto para detalles.

En este modelo propongo que: si las características digestivas en general son modulables en la etapa adulta, es decir presentan una norma de reacción flexible (flechas sólidas), y se cumple la hipótesis de que los organismos generalistas son fenotípicamente más plásticos que los especialistas, los primeros (A) debieran tener una norma de reacción (línea continua) con mayor pendiente que un especialista (B), y de esta forma poseer en diversos ambientes (1,2) un fenotipo óptimo. La capacidad plástica del adulto permitirá compensar los ajustes ontogenéticos disminuyendo así los costos de aclimatación cuando los animales se ven enfrentados a cambios bruscos en el ambiente (flecha segmentada). Por el contrario un organismo especialista debiera mostrar una pendiente menor, y aún cuando la aclimatación a un ambiente inusual (ambiente 2) lo



mantiene alejado del fenotipo óptimo, un cambio brusco le permitiría acercarse a éste en su ambiente habitual (ambiente 1).

Si por el contrario, la norma de reacción es inflexible una vez determinada en la ontogenia, independiente del grado de especialización del organismo, un generalista (C) debiera presentar una norma de reacción con una pendiente nula. De esta forma y aún cuando el animal no presentaría el fenotipo óptimo en ninguno de los dos ambientes, tampoco estaría enfrentado a los costos de aclimatación asociados a una cambio de ambiente. De lo contrario, si la pendiente no es nula, la aclimatación a un ambiente significará necesariamente la disminución de la adecuación en otro, como es lo que se espera para el caso de un especialista (D).

## OBJETIVOS GENERALES

A la luz de estos antecedentes, el objetivo central de esta tesis es determinar los costos en el desempeño digestivo derivados de la aclimatación a dietas de diferente composición química, su caracterización temporal (flexibilidad) y los mecanismos de acción (tipo de restricción digestiva involucrada).

Por otro lado se propone determinar las diferencias en la magnitud y el tipo de respuesta a la aclimatación de animales especialistas y generalistas en cuanto a sus hábitos alimentarios.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

Los objetivos específicos de este tesis, son los siguientes:

Determinar el desempeño digestivo y el balance energético (digestibilidad, tasa de consumo, tasa de asimilación, tiempo de tránsito del alimento y tasa metabólica de reposo) sobre diferentes dietas, en individuos de *Phyllotis darwini* y *Octodon degus* desde su nacimiento con alimento de diferente composición química y en animales sometidos a intercambios de las condiciones dietarias en distintas etapas de su desarrollo.

Determinar el efecto de la aclimatación sobre las características digestivas a nivel de órganos (restricciones de procesamiento) y a nivel celular de la mucosa intestinal de las especies en estudio (restricciones de reacción). Esto último se realizará determinando la velocidad de reacción de enzimas digestivas del intestino delgado involucradas en la hidrólisis de hidratos de carbono (sacarasa y maltasa) y proteínas (aminopeptidasa-N).

Determinar el tiempo crítico de plasticidad para las características digestivas involucradas en la aclimatación, mediante la inversión del tratamiento de la dieta pobre en carbohidratos a diferentes etapas de desarrollo.

Estudiar el comportamiento de los animales mediante experimentos de selección de dieta, con el objeto de determinar el efecto de la historia de alimentación y las restricciones digestivas sobre las preferencias tróficas.

## **HIPOTESIS**

1.- Las características involucradas en el procesamiento y asimilación del alimento que presentan una norma de reacción inflexible, generan costos de aclimatación a dietas particulares. Estos costos se manifiestan como una disminución en el desempeño digestivo cuando los animales son enfrentados a cambios bruscos de la composición química de la dieta.

2.- Las diferencias en la flexibilidad de la norma de reacción, junto con la existencia de costos de aclimatación generan restricciones en la expresión de la norma de reacción, determinando diferencias entre organismos generalistas y especialistas.

## PREDICCIONES

### 1.- Costos de Aclimatación:

Los organismos mantenidos durante la ontogenia en condiciones contrastantes de composición química de la dieta tendrán, en el estado adulto, un desempeño digestivo menor con dietas a las cuales nunca hayan sido expuestos, con respecto a los animales control (crecidos con una dieta mixta comercial). Los mecanismos fisiológicos compensatorios (flexibles) serán insuficientes para responder frente a los ajustes efectuados en la ontogenia, por lo que el balance energético general será negativo.

Si por el contrario, los individuos son capaces de compensar fisiológicamente los ajustes fenotípicos de su vida temprana, no existirán diferencias importantes en el desempeño digestivo de los animales adultos. Esta compensación permitirá a los animales mantener un balance energético positivo y efectuar nuevos ajustes funcionales (e.g. morfológicos, fisiológicos) a las condiciones dietarias, independiente de la condición a la cual se les mantiene en su desarrollo ontogenético.

## **2.-Especialización Ecológica :**

Debido a que *P. darwini* y *O. degus* han sido caracterizados fundamentalmente como omnívoro y herbívoro respectivamente (o distintos grados de especialización dietaria, véase materiales y métodos) se predice lo siguiente:

*Phyllotis darwini*; organismo que sería capaz de exhibir mayor plasticidad en el estado adulto, desarrollará una norma de reacción con mayor pendiente. De esta forma la aclimatación permitirá un mejoramiento del desempeño digestivo en las primeras etapas de vida sin un gran compromiso, puesto que podrán revertir sus características digestivas evitando los costos de aclimatación.

Al contrario, *Octodon degus*, que estaría restringido en su capacidad de mostrar plasticidad en las características digestivas en la etapa adulta, debiera poseer una norma de reacción con menor pendiente (o nula) debido a la imposibilidad de compensar posteriormente los costos de aclimatación.

## **3.- Período Sensitivo de Plasticidad:**

Debido a que la morfología digestiva está modulada, entre otros factores, por la composición de la dieta y que sería en algunos aspectos una respuesta de tipo inflexible (e.g. largo del intestino delgado), debe existir un período temprano en el cual el animal es

sensible a los cambios en la composición del alimento. De esta manera, podría definirse un tiempo crítico ( $T_c$ ), en el cual la plasticidad se pierde, distinto para especies generalistas y especialistas. Específicamente, este  $T_c$  debiera ser menor en la especie especialista, como es el caso de *O degus*.

## MATERIALES Y METODOS

Uno de los problemas prácticos y metodológicos en el estudio de las adaptaciones es el que se refiere a la elección de los modelos biológicos. Tradicionalmente en el marco de la biología evolutiva y particularmente en ecología fisiológica, el estudio de las adaptaciones se ha realizado desde una perspectiva comparada utilizando para ello especies cuyas diferencias ecológicas son claras y evidentes (véase Harvey & Pagel 1991, Prosser 1991, Schmidt Nielsen 1990). Dichos estudios generalmente han utilizado un número bajo de especies o especies filogenéticamente distantes, y aunque han permitido acumular una gran cantidad de conocimientos e información acerca de la interacción del organismo con su ambiente, últimamente se ha puesto en duda las implicancias que éstos tienen en el estudio de la adaptación (Brooks & McLennan 1991, Harvey & Pagel 1991, Garland & Adolf 1994). Básicamente se ha planteado que los estudios de adaptación evolutiva requieren del análisis de varias especies, en un contexto filogenético, de manera de poder separar el efecto de la inercia filogenética de los procesos de adaptación evolutiva. Sin embargo, hay autores que cuestionan los beneficios prácticos que poseen los análisis filogenéticos en los estudios de adaptación debido a que los resultados obtenidos al emplear el método comparado no serían substancialmente diferentes de aquellos que no incorporan a la filogenia como control (véase Ricklefs & Starck 1996). Por otro lado es difícil que especies filogenéticamente emparentadas posean hábitos de alimentación notoriamente diferentes, por lo que aun cuando es posible incurrir en

limitaciones, en esta tesis se analizará desde una perspectiva evolutiva el fenómeno de aclimatación en dos especies de roedores con hábitos alimentarios contrastantes.

Las especies utilizadas son *Phyllotis darwini* (Muridae: Sigmodontinae) y *Octodon degus* (Octodontidae). La primera ha sido descrita como oportunista, consumiendo mayoritariamente semillas y pastos e incorporando larvas, artrópodos, gusanos y hongos (Muñoz-Pedreros et al., Meserve 1981). *Octodon degus* es mayoritariamente herbívoro (Meserve & Glanz 1978, Meserve 1981, Meserve et al. 1984), y aunque incorpora moderadamente otros recursos, como artrópodos, éstos son de poca importancia (no mas de 0.8% del volumen total del estómago, Meserve et al. 1983).

#### **Captura de animales y reproducción:**

Los animales fueron capturados en dos localidades de Chile Central (Fundo de Quebrada de la Plata y Lampa) mediante trampas Sherman. Los individuos adultos de ambos sexos de ambas especies fueron mantenidos en jaulas plásticas para su reproducción en condiciones de fotoperíodo y temperatura ambiental con agua y alimento (pellet comercial de conejo) *ad libitum*. Un grupo de animales adultos fue sometido inmediatamente a experimentos de preferencia trófica y se determinó el balance energético de los individuos, cuando son alimentados con las diferentes dietas.



**Aclimatación :**

Para los experimentos de aclimatación, las hembras preñadas de ambas especies fueron mantenidas en cajas plásticas con comida comercial de conejo y agua *ad libitum* con un fotoperíodo LD 12:12 a  $22^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$  para *P. darwini* y a  $25 \pm 4^{\circ}\text{C}$  para *O. degus*. Una vez nacidas las crías, se mantuvieron con la madre hasta tres días después del destete (unos 20 y 30 días para *P. darwini* y *O. degus* respectivamente (Mann 1978, Reynolds & Wright 1979) de manera de permitir que las crías desarrollaran la flora bacteriana natural mediante la ingestión de partículas fecales maternas (Vonk & Western 1984). Inmediatamente después, las crías fueron asignadas al azar a cada uno de los tratamientos experimentales en cajas individuales (35x30x15 cm). Al final del período de aclimatación se obtuvieron 49 individuos de *O. degus* y 56 de *P. darwini*, incluyendo los animales control. Sin embargo, no todos los animales fueron utilizados para la determinación de todas las variables. Las dietas se prepararon a base de proteína de soja purificada, almidón de maíz, aceite vegetal, celulosa, suplementos vitamínicos y minerales. Dos de las dietas son contrastantes en la composición de proteínas y carbohidratos pero cercanamente isocalóricas (véase Tabla 1). Una de ellas es rica en carbohidratos (HC+) y la otra pobre en carbohidratos y rica en proteínas (HC-). Las dos dietas restantes son combinaciones de las dos anteriores, en distintas proporciones (66% y 33%, véase Tablas 1 y 2). Debido a que las crías de *O. degus* no fueron capaces de sobrevivir con la dieta carente de carbohidratos, el diseño experimental fue levemente diferente en ambas especies. Para esta especie las dietas fueron suplementadas con pelotee de alfalfa en proporciones tales, que se les entregó una fuente de carbohidratos

mínima y se mantuvo la composición general similar a las dietas utilizadas en *P. darwini* (Tabla 2).

Para determinar el período sensitivo de plasticidad y establecer el tiempo crítico, durante el transcurso del desarrollo, dos grupos del tratamiento experimental mantenido con la dieta HC- se cambiaron de tratamiento cuando se hubo completado uno y dos tercios del desarrollo (43 y 66 días en el caso de *P. darwini* y 60 y 90 días en *O. degus*). Un grupo de individuos adultos de las dos dietas contrastantes fueron sometidos a una reaclimatación por 15 días a la dieta alternativa. De esta manera se obtuvieron siete grupos experimentales con distinto grado temporal de aclimatación a las dos dietas. Los grupos son: (1) grupo HC+, animales aclimatados toda su vida a la dieta HC+; (2) grupo HC-, animales aclimatados toda su vida en la dieta HC-; (3) grupo HC+HC-, animales aclimatados a la dieta HC+ hasta la etapa adulta y reaclimatados a la dieta HC- por 15 días; (4) grupo HC-HC+, animales aclimatados hasta la etapa adulta con la dieta HC- y reaclimatados por 15 días a la dieta HC+; (5) grupo HC-HC+1, animales aclimatados hasta completar un tercio del desarrollo con la dieta HC+ y cambiados a la dieta HC- hasta completar el desarrollo; (6) grupo HC-HC+2, animales mantenidos dos tercios de su desarrollo en la dieta HC- y cambiados a la dieta HC+ hasta completar el desarrollo. Por último el grupo Control, corresponde a animales no aclimatados, los cuales fueron crecidos en el laboratorio con una dieta mixta comercial.

### Pruebas de preferencia trófica :

Una vez alcanzada la etapa adulta, los animales de los tratamientos HC+ y HC- se sometieron a pruebas de cafetería, ofreciéndoles alimento de las dietas HC+ y HC- en cantidades *ad libitum*, en cajas metabólicas individuales bajo el mismo régimen de temperatura y fotoperíodo bajo las cuales se realizó la aclimatación. La preferencia se determinó como el consumo diario de alimento mediante mediciones gravimétricas ( $\pm 0.0001$  g) corrigiendo por deshidratación mediante controles.

### Tiempo de retención del alimento:

En los grupos HC+ y HC-, el tiempo de tránsito del alimento se estimó determinando el tiempo de aparición en las fecas de marcas plásticas de  $1\text{mm}^2$  suministradas en el alimento. Brevemente, a animales privados de alimento por 8 horas les fue ofrecido alimento marcado por 15-20 minutos, tiempo al cual se les retiró los restos de comida. Luego se les ofreció alimento *ad libitum* de la dieta de aclimatación. Las fecas se recolectaron por 20 horas a intervalos de una hora. Las muestras se analizaron bajo una lupa y se realizó el recuento de las marcas. El tiempo de retención medio (TRM) se determinó según la ecuación:

$$\text{TRM} = \sum (x_i t_i)$$

en donde  $x_i$  es la fracción de muestras de las fecas que aparecen al instante "i" y  $t_i$  el tiempo en horas al cual se realiza la colecta.

### **Función digestiva y balance energético:**

Los animales adultos de los grupos experimentales HC+ y HC- fueron puestos en cajas metabólicas individuales para determinar mediante gravimetría ( $\pm 0.0001$  g) la tasa de ingesta y egesta diaria de alimento en cada una de las dietas experimentales (HC+ y HC-). En los dos grupos de dietas mixtas las determinaciones se realizaron tanto en la respectiva dieta de aclimatación como en la dieta HC+. Las muestras de fecas y de la dieta fueron quemadas en una bomba calorimétrica Parr 1261 determinando así su contenido calórico. Se realizó un análisis químico proximal de las fecas para determinar el contenido de proteínas, hidratos de carbono y fibra cruda siguiendo los métodos analíticos tradicionales Van Soest (1982). La digestibilidad aparente de materia (del inglés *Apparent digestibility*, que no considera la pérdida de material endógeno presente en las fecas) se calculó según la siguiente ecuación:

$$D_m (\%) = [(I - E) / I] \times 100$$

donde  $D_m$  = Digestibilidad aparente de materia, I = Ingesta en g/día, E = egesta en g/día. Para expresar la digestibilidad aparente de energía ( $D_e$ ) se reemplazó el valor en gramos por el contenido calórico de la muestra. El mismo cálculo se utilizó para estimar la digestibilidad aparente de proteínas, hidratos de carbono y fibra cruda. La asimilación neta, resulta de la resta entre la ingesta y la egesta diaria de cada componente del alimento. Los análisis de las fecas se realizaron siguiendo los métodos de análisis químico-proximal (AOAC 1980).

Debido a que en roedores el tipo y calidad del alimento puede tener efectos sobre la tasa metabólica (Veloso & Bozinovic 1993), se determinó el gasto metabólico diario de los animales adultos de las diferentes condiciones experimentales en *P. darwini* y *O. degus*.

El consumo de oxígeno fue determinado en animales adultos a través de un sistema computarizado (Datacan V) de flujo abierto (Sable system) en cámaras metabólicas de 900 ml a 22 °C y 25 °C en *P. darwini* y *O. degus* respectivamente. Las cámaras metabólicas reciben aire seco a una tasa de 800 ml min<sup>-1</sup> desde un controlador de flujo (Sierra Instruments), suficiente como para asegurar una mezcla adecuada de la cámara. Antes y después de las cámaras, el aire pasa a través de gránulos de baralime (BaOH<sub>2</sub>) absorbentes de CO<sub>2</sub> y gránulos de Drierita (CaSO<sub>4</sub>) absorbentes de H<sub>2</sub>O y es monitoreado cada 5 s. por un analizador de O<sub>2</sub> Applied Electrochemistry modelo S3A/I (Ametek). La temperatura ambiente es mantenida constante dentro de ± 0.5 °C sumergiendo la cámara metabólica en un baño termorregulado. El consumo de oxígeno fue calculado mediante la ecuación Withers (1977), tomando los valores más bajos que no cambiaron más que un 0.01% en concentración de O<sub>2</sub> y fueron automáticamente corregidos por TPE (temperatura y presión estándar). Las medidas se realizaron por 3 horas después que los animales se aclimataron por 30 min. a la cámara metabólica. La tasa metabólica de reposo se pudo determinar reemplazando el equivalente calórico por el volumen de oxígeno consumido, para cada dieta experimental según la ecuación:

$$\text{Calor producido (KJ/VO}_2) \equiv ((E_{ch} * D_{ch} * X_{ch}) + (E_p * D_p * X_p) + (E_l * D_l * X_l) + (E_f * D_f * X_f)) / (D_{ch} * X_{ch} + D_p * X_p + D_l * X_l + D_f * X_f)$$

en donde  $E_i$  es el equivalente calórico del componente "i" (KJ/LO<sub>2</sub> consumido; Shmidt-Nielsen 1996; Selkurt, 1966),  $D_i$ , digestibilidad aparente del componente "i" y  $X_i$  es la fracción del compuesto "i" en la dieta. Ch = carbohidrato, p = proteína, l = lípidos, f = fibra. De esta manera se calculó el gasto promedio diario de los animales, y el cuociente energético, definido como la razón entre la energía asimilada y el gasto metabólico de reposo según la ecuación:

$$C_e = A_e / G_r$$

en donde  $A_e$  es la asimilación diaria de energía en KJ/gh y  $G_r$  es el gasto de reposo diario energía en KJ/gh.

### **Morfología digestiva, preparación y ensayo de actividades enzimáticas:**

Una vez terminados los experimentos de aclimatación y función digestiva, los animales se sacrificaron por decapitación, se pesaron ( $\pm 0.01$  g) y se realizaron las determinaciones morfométricas del tracto digestivo. El intestino delgado, se limpió y lavó con una solución de NaCl 1% y se congeló en nitrógeno líquido, para posteriormente realizar

las determinaciones enzimáticas. Luego de descongelado el tejido, se homogenizó mediante un homogenizador ULTRA TURRAX T25 a velocidad máxima por 30 s en 19 volúmenes de solución salina. Una alícuota de homogeneizado se utilizó para determinar la concentración de proteínas, usando como estándar albúmina de suero bovino, mediante el método de Bradford (1976).

Comúnmente, la determinación de actividad enzimática se realiza en fracciones de membranas aisladas, con el fin de enriquecer las preparaciones. Sin embargo, en trabajos anteriores he constatado que la actividad de estas preparaciones no varían en cuanto a la cinética de reacción (Sabat et al. 1993) y es posible que las distintas enzimas respondan en forma diferencial al proceso de concentración (Martínez del Río, comunicación personal). Por otro lado, y debido a que es importante una estimación total de la actividad enzimática del tracto digestivo, se utilizó el homogeneizado intestinal como fuente de las enzimas puesto que un proceso de purificación inevitablemente se traducirá en una subestimación de las actividades enzimáticas.

En esta tesis se examinó el efecto de la dieta sobre dos disacaridasas, sacarasa (EC 3.4.11.2) y maltasa (EC.3.2.1.20) y la aminopeptidasa-N (EC.3.4.11.2) (Vonk & Western 1984) de la mucosa intestinal. Ambas disacaridasas son usadas como estimadores de la digestión de carbohidratos y la aminopeptidasa-N como indicador de la asimilación de proteínas. La actividad de las disacaridasas se determinó por medición de la concentración de glucosa liberada según el método de Dahlqvist (1964) modificado por

Martínez del Río & Stevens (1989). Luego de una preincubación a 37° C por 2 minutos del homogeneizado intestinal (100µl), la reacción se inició con la adición de 100 µl de 56 mM de azúcar (soluciones de sacarosa o maltosa). Se continuó la incubación por 10 min. adicionales y la reacción se detuvo con 3 ml de solución "Glucose (Trinder) 315-500" (Sigma Chemical Co.) disuelta en 500 ml de solución buffer fosfato 0.5 M, pH 7.0. Al término de 18 min. de mantenida la reacción a 35 °C, se leyó la densidad óptica a 505 nm. en un espectrofotómetro Sequoia Turner 390. Brevemente, la acción del Trinder es la siguiente: la glucosa es primero oxidada a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno mediante la enzima glucosa oxidasa obtenida de *Aspergillus niger*. El peróxido de hidrógeno formado, reacciona en presencia de peroxidasa con 4-aminoantipirina y sulfonato de p-hydroxybenceno formando quinoneimina coloreada, cuyo máximo de absorbancia se obtiene a 505 nm. La intensidad de coloración es directamente proporcional a la concentración de glucosa en solución.

El ensayo de Aminopeptidasasa-N se realizó usando como sustrato L-alanina-p-nitroanilida (Roncari & Zuber 1969). Brevemente, 100 ml de homogeneizado diluido con una solución de NaCl (0.9%) fue mezclado con 1 ml de la mezcla de ensayo (2.04 mM de L-alanina-p-nitroanilida en 0.2 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.0). La reacción fue incubada a 37°C por 10 min., detenida con 3 ml. de ácido acético glacial 2N y la absorbancia fue medida a 384 nm. (Martínez del Río et al. 1995).



Los ensayos enzimáticos (disacaridasas y aminopeptidasa-N) se realizaron en un intervalo de concentraciones (de 0.5 a 100 mM) de sustratos con el fin de caracterizar la cinética y afinidad por el sustrato de las enzimas ( $K_m$  y  $V_{max}$ ), para cada uno de los tratamientos experimentales. Sobre la base de las mediciones de absorbancia, las actividades enzimáticas se calcularon como UI/ g de tejido húmedo y UI/g de proteínas del homogeneizado, siendo UI = micromoles de sustrato hidrolizado por minuto. Para la determinación de proteínas en el homogeneizado intestinal se usó como estándar albúmina de suero bovino mediante el método desarrollado por Bradford (1976)

#### **Análisis estadístico:**

Las variables digestivas y morfológicas se compararon en primer término utilizando análisis de varianza (ANOVA) sobre rangos (prueba equivalente a una ANOVA no paramétrica, Zar 1996). Para comparar el efecto de la composición química de la dieta sobre las variables morfológicas y fisiológicas entre ambas especies, se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA). Para comparar el desempeño digestivo, el balance energético y la preferencia de alimentación en un mismo grupo experimental, se utilizó la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas. Además, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para determinar el efecto de las dietas experimentales sobre la respuesta global de las distintas variables morfológicas y bioquímicas (Véase Sabat et al. 1998). Para cada especie se realizaron correlaciones entre las variables morfológicas, bioquímicas y digestivas mediante la prueba de Pearson. Para estimar el efecto de la actividad hidrolítica de las enzimas intestinales y la morfología del tracto digestivo sobre

el desempeño digestivo, se realizó un análisis de regresión múltiple mediante la opción de agregación secuencial (*Forward*) paso a paso. Posterior a un análisis de distribución de cada una de las variables y de manera de satisfacer los requerimientos de normalidad de algunos de los métodos estadísticos, los datos de proporciones se utilizaron transformados por el arcoseno de la raíz cuadrada. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico STATISTICA® (1997) para el programa Windows® 95. Los datos se reportan como el promedio  $\pm$  DE.

INGREDIENTE	HC+	HC66	HC33	HC-
Proteína de Soya	252	423.66	652.55	767
Almidon de Maiz	525	349.99	116.66	0
Celulosa	150	149.99	149.99	150
DL Metionina	5	8.33	12.77	15
Cloruro de Colina	1	1	1	1
Mezcla vitamínica	2	2	2	2
Accite vegetal	65	65	65	65
Total	1000	999.99	999.99	1000
KJ/g	20.0	20.9	21.4	22.5
% Proteína	25.7	43.2	66.1	78.2
% Carbohidratos	52.5	3.5	11.6	0

Tabla 1.- Composición del alimento de los tratamientos experimentales de *Phyllotis darwini*.

INGREDIENTE	HC+	HC66	HC33	HC-
Proteina de Soya	211	379.942	548.38	633
Almidon de Maiz	424.1	254	85	0
DL Metionina	5	6	6	7
Aceite vegetal	59.9	59.9	59.9	59.9
Pelotee	300	300	300	300
Total	1000	999.842	999.28	999.9
Kj/g	20.0	20.2	21.4	22.0
Proteina %	25.2	42.1	58.9	67.4
Fibra %	15	15	15	15
Carbohidrato %	50.1	33.1	16.2	7.7

Tabla 2.- Composición del alimento de los tratamientos experimentales de *Octodon degus*.

## RESULTADOS

### Morfología

#### *Phyllotis darwini*.

La Tabla 3 muestra los valores de las variables morfométricas del tracto digestivo de *P. darwini* para cada uno de los tratamientos experimentales. El peso corporal de *P. darwini* al final del período de aclimatación no se ve afectado por la dieta experimental (ANOVA:  $F_{(6,42)} = 1.16$ ,  $p = 0.34$ ). La morfología del tracto digestivo se ve afectada por el tratamiento experimental como lo revela el ANOVA realizado sobre las variables estandarizadas por el tamaño corporal. Para el largo del intestino grueso las diferencias significativas se establecen entre los grupos HC-HC+ y HC-HC+2 y los grupos HC- y HC+ (ANOVA :  $F_{(5,22)} = 5.67$  ;  $p = 0.001$ , Figura 2). Respecto al largo del intestino delgado, el análisis no revela diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA :  $F_{(5,22)} = 2.26$ ;  $p = 0.08$ ), aun cuando parece haber una tendencia (véase Figura 2). Por otro lado, y aunque el tratamiento experimental presenta un efecto sobre el peso húmedo del intestino delgado (ANOVA :  $F_{(5,22)} = 3.53$ ;  $p = 0.02$ ), la prueba *a posteriori* es incapaz de revelar diferencias específicas entre los tratamientos (aunque la diferencia se presentaría entre los grupos HC- y HC-HC+,  $p = 0.07$ ). No se encuentran diferencias significativas entre tratamientos para el peso seco del hígado (ANOVA :  $F_{(5,22)} = 1.18$ ;  $p = 0.14$ ) el peso seco de los riñones (ANOVA :  $F_{(5,22)} = 2.21$  ;  $p = 0.09$ ), el área del

intestino delgado (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 1.41$ ;  $p = 0.259$ ), el peso seco del ciego (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 1.41$ ;  $p = 0.259$ ), el peso seco del estómago (ANOVA:  $F_{(5,21)} = 1.27$ ;  $p = 0.310$ ), y el peso del intestino grueso (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 2.12$ ;  $p = 0.1$ ). Por otra parte, al analizar la razón entre el largo del intestino grueso y el largo del intestino delgado ( $L_{ig}/L_{id}$ ) se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos experimentales (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 3.13$ ;  $p = 0.027$ ). Esta relación es mayor en los grupos mantenidos la mayor parte del tratamiento con el alimento HC+ que en aquellos mantenidos principalmente con la dieta HC- (Figura 2).

	<i>Wb</i> (g)	<i>Lid</i> (cm)	<i>Lig</i> (cm)	<i>Wid</i> (g)	<i>Wig</i> (g)	<i>Wci</i> (g)	<i>We</i> (g)	<i>Wh</i> (g)	<i>Wr</i> (g)	<i>Aid</i> (cm <sup>2</sup> )
HC+	35.85 ± 8.23	33.9 ± 12.85	16.78 ± 2.64 <sup>(b)</sup>	1.74 ± 0.54	0.076 ± 0.02	0.091 ± 0.03	0.089 ± 0.02	0.45 ± 0.13	0.12 ± 0.03	29.41 ± 7.67
HC-	43.51 ± 8.09	41.5 ± 5.29	15.42 ± 2.66 <sup>(a)</sup>	1.53 ± 0.20	0.075 ± 0.02	0.088 ± 0.03	0.099 ± 0.01	0.62 ± 0.14	0.17 ± 0.03	31.14 ± 6.90
HC+HC-	45.83 ± 8.80	36.79 ± 6.71	15.93 ± 2.51 <sup>(ab)</sup>	1.76 ± 0.40	0.072 ± 0.01	0.087 ± 0.02	0.108 ± 0.01	0.69 ± 0.17	0.18 ± 0.03	27.81 ± 4.76
HC-HC+	43.82 ± 7.25	38.43 ± 5.14	14.47 ± 0.95 <sup>(b)</sup>	1.82 ± 0.38	0.078 ± 0.03	0.094 ± 0.03	0.112 ± 0.02	0.78 ± 0.16	0.17 ± 0.03	31.61 ± 7.89
HC- HC+1	42.97 ± 17.32	37.09 ± 4.79	18.79 ± 3.49 <sup>(ab)</sup>	1.50 ± 0.52	0.086 ± 0.02	0.083 ± 0.04	0.102 ± 0.01	0.94 ± 0.65	0.13 ± 0.02	36.45 ± 6.42
HC- HC+2	44.76 ± 4.47	31.16 ± 2.90	12.66 ± 0.57 <sup>(b)</sup>	1.62 ± 0.04	0.058 ± 0.01	0.085 ± 0.01	0.081 ± 0.01	0.58 ± 0.10	0.16 ± 0.03	24.61 ± 6.56
Control	38.89 ± 5.6									

Tabla 3.- Morfología del tracto digestivo de *Phyllotis darwini* aclimatado a diferentes dietas experimentales y regímenes temporales de aclimatación. *Wb*, peso corporal; *Lid*, largo del intestino delgado; *Lig*, largo del intestino grueso; *Wig*, peso del intestino grueso; *Wci*, peso del ciego; *We*, peso del estómago, *Wh*, peso del hígado, *Wr*, peso de los riñones, *Aid*, área del intestino delgado. Las letras en superíndices muestran el resultado de las comparaciones múltiples de la prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos.

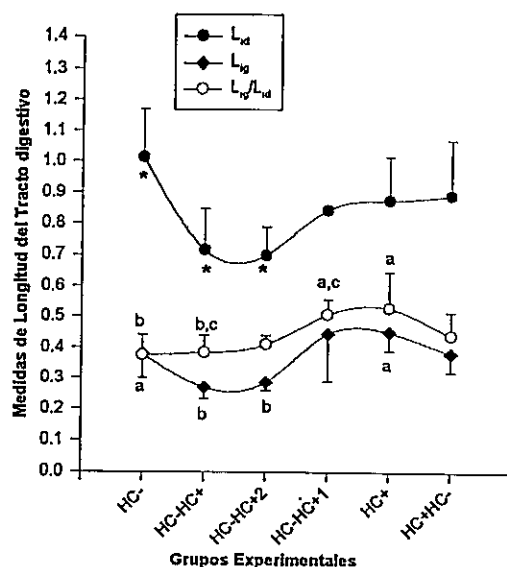


Figura 2.- Medidas de longitud del tracto digestivo en *Phyllotis darwini* sometido a diferentes condiciones experimentales. HC+, dieta rica en carbohidratos; HC- dieta pobre en carbohidratos; HC+HC-, animales adultos del grupo HC+ reacondicionados por 15 días a la dieta HC-; HC-HC+, animales adultos del grupo HC- reacondicionados por 15 días a la dieta HC+; HC-HC+1, animales crecidos en HC- hasta completado 1/3 del desarrollo y cambiados a HC+; HC-HC+2, animales crecidos en HC- hasta completado 2/3 del desarrollo y cambiados a HC+. Las letras indican el resultado de la prueba de comparaciones múltiples a posteriori tipo Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos. Las líneas verticales representan  $\pm$  una desviación estándar. Los valores de largo se expresan en cm/g y la razón  $L_i/L_d$  es adimensional.

### *Octodon degus*.

La Tabla 4 muestra los valores para las medidas morfométricas de *O. degus* al final de los tratamientos experimentales. El peso corporal de *O. degus* es significativamente distinto entre tratamientos (ANOVA :  $F_{(6,34)} = 7.59$  ;  $p < 0.001$ ). Las comparaciones múltiples revelan que los grupos control y HC+HC- son significativamente más pesados que el grupo HC-. El análisis de las variables morfológicas digestivas estandarizadas por el tamaño corporal revela un efecto significativo del tratamiento experimental. Tanto el peso de los riñones como el del

hígado presentan diferencias entre tratamientos (ANOVA :  $F_{(5,25)} = 2.76$ ;  $p = 0.044$  y  $F_{(5,25)} = 5.76$ ;  $p = 0.001$  respectivamente). Ambos órganos son significativamente más pesados en el grupo HC- que en el grupo HC+. El peso del intestino delgado no es significativamente diferente entre tratamientos (ANOVA :  $F_{(5,25)} = 1.71$ ;  $p = 0.17$ ) como tampoco el largo del intestino delgado (ANOVA :  $F_{(5,25)} = 1.41$ ;  $p = 0.26$ ) el largo del intestino grueso (ANOVA :  $F_{(5,24)} = 1.27$ ;  $p = 0.30$ ), el peso seco del intestino grueso (ANOVA :  $F_{(5,25)} = 0.46$ ;  $p = 0.79$ ), el peso seco del ciego (ANOVA :  $F_{(5,24)} = 1.97$ ;  $p = 0.12$ ) el peso seco del estómago (ANOVA :  $F_{(5,25)} = 1.59$ ;  $p = 0.198$ ) y el área nominal del intestino delgado (ANOVA :  $F_{(5,25)} = 5.56$ ;  $p = 0.73$ ). Además la razón  $L_{ig}/L_{id}$  tampoco presenta diferencias significativas entre tratamientos experimentales (ANOVA :  $F_{(5,25)} = 0.97$ ;  $p = 0.450$ , figura 3).

	<i>Wb</i> (g)	<i>Lid</i> (cm)	<i>Lig</i> (cm)	<i>Wid</i> (g)	<i>Wig</i> (g)	<i>Wci</i> (g)	<i>We</i> (g)	<i>Wh</i> (g)	<i>Wr</i> (g)	<i>Aid</i> (cm <sup>2</sup> )
HC+	155.9 ± 18.6 <sup>(ab)</sup>	75.5 ± 6.6	38.0 ± 4.1	3.60 ± 0.48	0.29 ± 0.05	0.24 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.80 ± 0.23 <sup>(a)</sup>	0.32 ± 0.05 <sup>(a)</sup>	23.12 ± 4.23 <sup>(a)</sup>
HC-	135.6 ± 11.8 <sup>(b)</sup>	75.8 ± 6.6	37.7 ± 3.1	3.64 ± 0.49	0.25 ± 0.04	0.25 ± 0.03	0.16 ± 0.01	0.89 ± 0.26 <sup>(b)</sup>	0.37 ± 0.07 <sup>(b)</sup>	23.15 ± 7.14
HC+HC-	172.3 ± 19.3 <sup>(b)</sup>	84.7 ± 2.0	43.2 ± 3.2	5.11 ± 0.95	0.28 ± 0.07	0.27 ± 0.03	0.21 ± 0.03	1.16 ± 0.33	0.14 ± 0.05	31.64 ± 7.92 <sup>(b)</sup>
HC-HC+	156.2 ± 22.5 <sup>(ab)</sup>	71.8 ± 5.1	39.2 ± 3.1	4.94 ± 1.55	0.26 ± 0.07	0.25 ± 0.04	0.19 ± 0.05	1.35 ± 0.38	0.35 ± 0.06	29.98 ± 6.55
HC- HC+1	152.7 ± 30.1 <sup>(ab)</sup>	81.3 ± 9.5	38.7 ± 6.1	3.75 ± 0.50	0.27 ± 0.04	0.26 ± 0.03	0.17 ± 0.03	1.03 ± 0.29	0.37 ± 0.04	26.39 ± 4.91
HC- HC+2	152.4 ± 13.8 <sup>(ab)</sup>	79.2 ± 1.6	41.7 ± 3.7	3.93 ± 0.37	0.29 ± 0.05	0.24 ± 0.04	0.19 ± 0.02	1.18 ± 0.34	0.132 ± 0.04	24.58 ± 2.99
Control	197.6 ± 28.2 <sup>(b)</sup>									

Tabla 4.- Morfología del tracto digestivo de *Octodon degus* aclimatados a diferentes dietas experimentales y regímenes temporales de aclimatación. Símbolos y abreviaciones como en la Tabla 3.

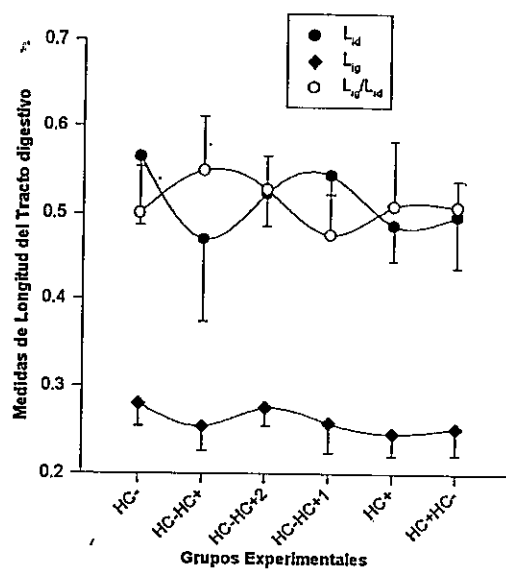


Figura 3.- Medidas de longitud del tracto digestivo en *Octodon degus* sometido a diferentes condiciones experimentales. Leyendas como en la Figura 2. No existen diferencias significativas entre tratamientos. Las líneas verticales representan  $\pm$  una desviación estándar. Los valores de largo se expresan en cm/g y la razón  $L_{1g}/L_{1d}$  es adimensional. Nomenclatura como en la Figura 2

## Preferencias de Alimentación

### *Phyllotis darwini*

Los resultados de la prueba de cafetería en los animales del grupo control indican una clara preferencia por el alimento HC+ (Wilcoxon:  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$ , Figura 4). Esta preferencia está en el límite de significancia en los individuos aclimatados a la dieta HC+



(Wilcoxon:  $Z = 1.82$ ,  $p = 0.06$ , Figura 4). Los animales aclimatados a la dieta HC- no muestran preferencias por alguna de las dos dietas (Wilcoxon:  $Z = 1.48$ ,  $p = 0.13$ , Figura 4).

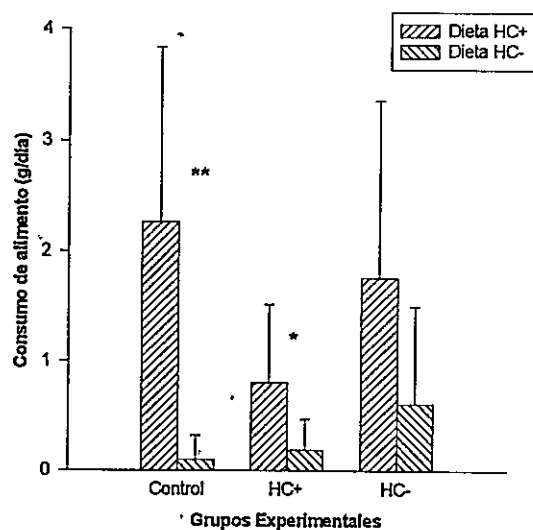


Figura 4.- Preferencias de alimentación sobre dos dietas artificiales en *Phyllotis darwini* crecidos bajo diferentes condiciones experimentales. Los asteriscos indican el resultado preferencias significativas por una de las dietas según la prueba para muestras dependientes de Wilcoxon. \*\* indica  $p < 0.05$ , \* indica  $p = 0.06$ . Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

### *Octodon degus*

La figura 5 muestra los resultados de las preferencias de alimentación de *O. degus*. En esta especie, ninguno de los grupos experimentales muestra preferencias significativas por alguna de las dos dietas (Wilcoxon:  $Z = 1.15$ ,  $p = 0.24$ ;  $Z = 0.84$ ,  $p = 0.39$ ;  $Z = 0.943$ ,  $p = 0.35$  para los grupos HC+, HC- y control, respectivamente).

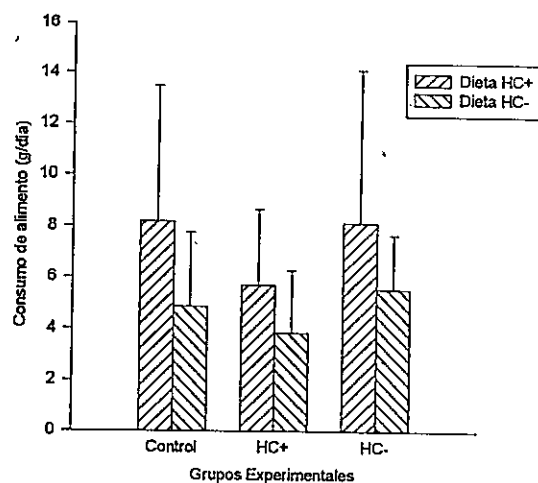


Figura 5.- Preferencias de alimentación sobre dos dietas artificiales en *Octodon degus* crecidos bajo diferentes condiciones experimentales. Ninguna de las comparaciones arroja resultados significativos. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

## Tiempo de retención del alimento

*Phyllotis darwini* presenta una tendencia a aumentar el tiempo de retención medio del alimento (TRM) en el grupo experimental HC- ( $11.7 \text{ h} \pm 1.53 \text{ h}$ ) con respecto al grupo experimental HC+ ( $9.28 \pm 2.17$ ). Sin embargo esta diferencia no es significativa (Prueba U de Mann-Whitney:  $Z = 1.75$   $p = 0.08$ ). Contrario a lo esperado, el TRM no se correlaciona con la longitud intestino delgado (Pearson :  $r = 0.66$ ,  $p = 0.14$ ) ni con la suma del  $L_{id}$  y  $L_{ig}$  (Pearson:  $r = 0.085$ ,  $p = 0.87$ ).

*Octodon degus* no presenta diferencias significativas en el TRM entre los grupos HC+ ( $9.7 \pm 2.66$ ) y HC- ( $11.95 \pm 2.80$ ) (Prueba U de Mann-Whitney:  $Z = 1.52$ ,  $p = 0.12$ ). El TRM no se correlaciona con  $L_{id}$  (Spearman:  $r = -0.24$ ,  $p = 0.36$ ) como tampoco con el largo total del tracto digestivo (Spearman  $r = -0.34$ ,  $p = 0.19$ ).

## Gasto energético

La tasa metabólica de reposo estandarizada ( $\text{KJ/h} \cdot \text{W}_b^{0.75}$ ) de *P. darwini* se ve modificada por la composición química de la dieta de aclimatación (ANOVA:  $F_{(6,31)} = 6.12$ ,  $p < 0.001$ ). Los grupos crecidos con la dieta rica en proteína (grupos HC- y HC-HC+) presentan una tasa metabólica de reposo menor que los organismos del grupo HC+ y control (Figura 6).

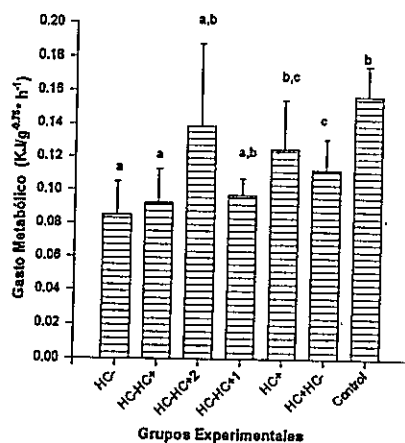


Figura 6. Gasto metabólico de *Phyllotis darwini* a 22 °C en todos los tratamientos experimentales. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

Por su parte, la tasa metabólica de reposo estandarizada de *O. degus* no se ve modificada por la composición química de la dieta experimental (ANOVA:  $F_{(6,34)} = 0.80$ ,  $p = 0.57$ , Figura 7).

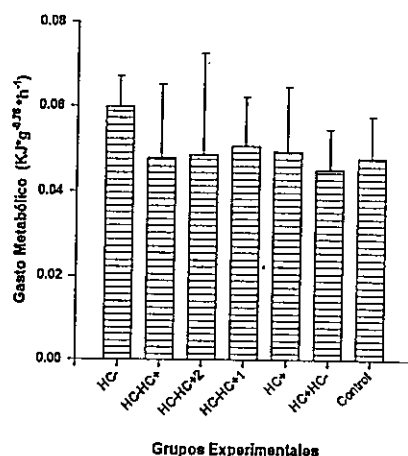


Figura 7.- Gasto metabólico de *Octodon degus* a 25 °C en diferentes tratamientos experimentales. No se observan diferencias significativas entre tratamientos. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

## Función Digestiva

### *Phyllotis darwini*

La digestibilidad aparente de energía ( $D_e$ ) está correlacionada positiva y significativamente con la digestibilidad aparente de materia ( $D_m$ ) en esta especie (Pearson  $r = 0.98$ ,  $p < 0.001$  y  $r = 0.95$ ,  $p < 0.001$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente). Sin embargo, aunque el patrón encontrado para ambas expresiones es similar, en algunos

casos la significancia de las pruebas estadísticas difiere. Por esta razón los resultados de la función digestiva se presentan de manera separada.

La  $D_m$  de la dieta HC+ presenta diferencias significativas entre los tratamientos experimentales (ANOVA:  $F_{(5,31)} = 9.7$ ,  $p < 0.0001$ ). La prueba *a posteriori* revela que  $D_m$  es mayor en los grupos HC+, control y HC-HC+1, que en los grupos HC- y HC-HC+2 (Figura 8).

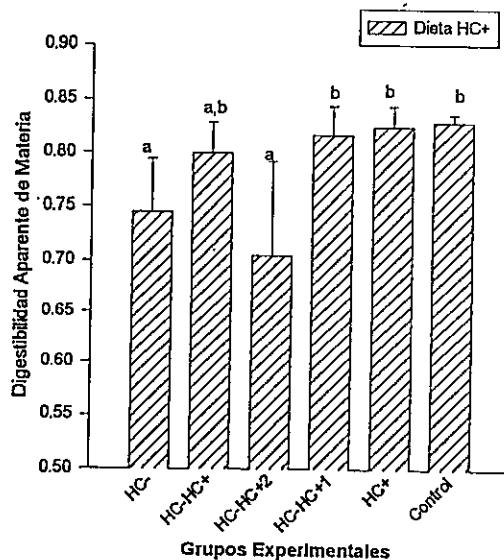


Figura 8.- Digestibilidad aparente de materia de la dieta experimental HC+ en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

La  $D_m$  de la dieta HC- también presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,31)} = 5.0$ ,  $p < 0.002$ ) encontrándose valores mayores en el grupo HC- que en los grupos HC+ y HC+HC- (Figura 9). Cuando se compara la  $D_m$  de las dos dietas en cada grupo experimental se encuentra que existen diferencias entre

los distintos tratamientos. El grupo HC+ presenta diferencias significativas en la  $D_m$  de ambas dietas (Wilcoxon:  $Z = 2.20$ ,  $p = 0.03$ ), al igual que el grupo HC-HC+1 (Wilcoxon:  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$ ) y el grupo control (Wilcoxon:  $Z = 2.20$ ,  $p = 0.03$ ). En los grupos HC- y HC-HC+2 no existen diferencias significativas (Wilcoxon:  $Z = 1.78$ ,  $p = 0.07$ ;  $Z = 0.00$ ,  $p = 1$  respectivamente) aun cuando en el primero existe una diferencia marginal.

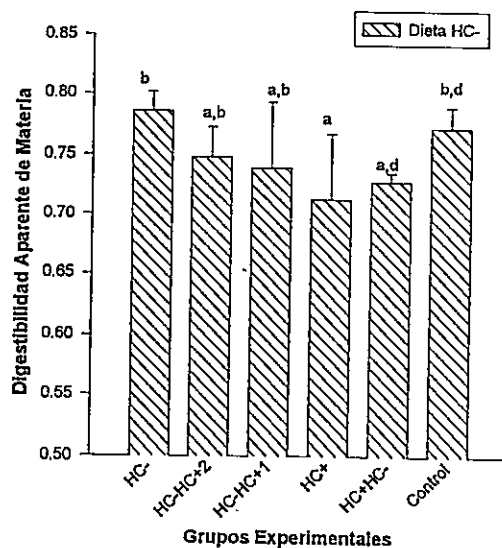


Figura 9.- Digestibilidad aparente de materia de la dieta experimental HC- en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

En la Figura 10 se muestra la razón de digestibilidad en ambas dietas. En general, los animales disminuyen la  $D_m$  cuando son sometidos a la dieta alternativa (e.g. la dieta HC+ para el grupo HC-).

Por otro lado la  $D_e$  de la dieta HC+ también presenta diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,31)} = 9.67$ ,  $p < 0.0001$ ). Al igual que con la

digestibilidad aparente de materia,  $D_e$  es mayor en los grupos HC+ y control que en los grupos HC- y HC-HC+2. (Figura 11). La  $D_e$  de la dieta HC- presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,31)} = 4.36$ ,  $p = 0.004$ ) presentando un valor superior en el grupo HC- que en los grupos HC+ y HC+HC-. Sin embargo el grupo HC+HC- no presenta diferencias significativas con el grupo control (Figura 12).

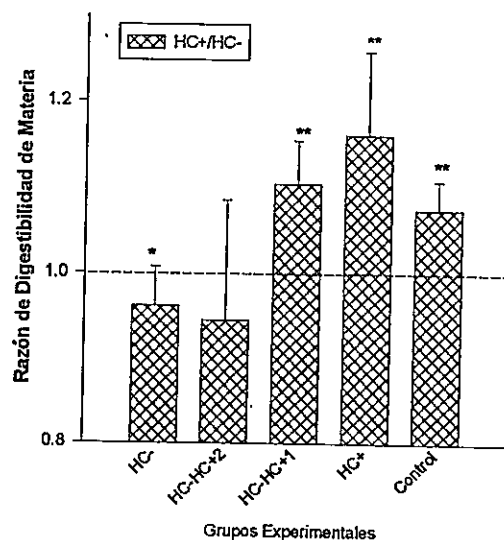


Figura 10.- Razón de digestibilidad de materia de las dietas HC+ y HC- en *Phyllotis darwini* de diferentes tratamientos experimentales. Los asteriscos indican diferencias de digestibilidad aparente entre ambas dietas según la prueba para muestras dependientes de Wilcoxon. \*\* indica  $p < 0.05$ , \* indica  $p = 0.07$ . Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

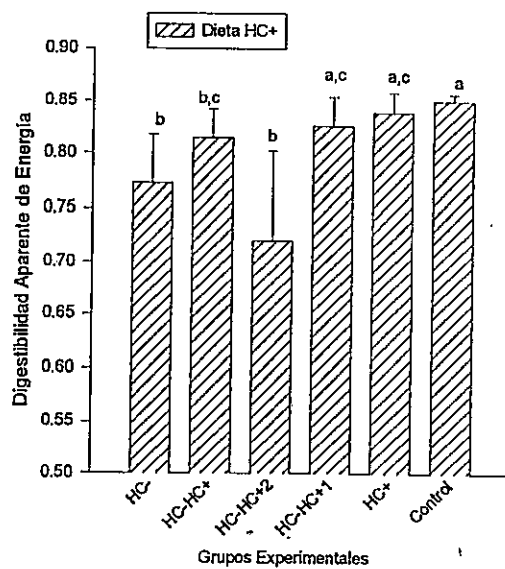


Figura 11.- Digestibilidad aparente de energía de la dieta experimental HC+ en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

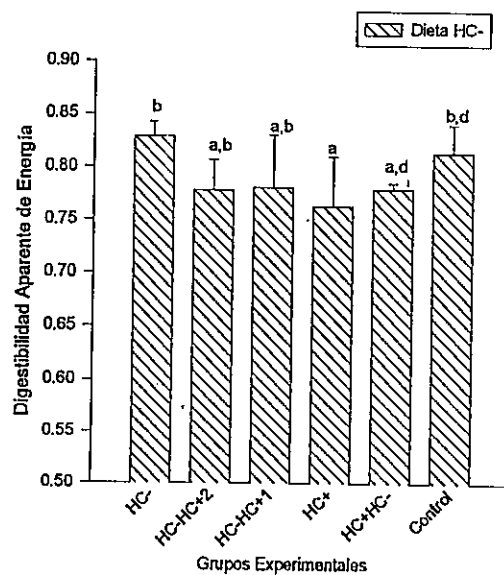


Figura 12.- Digestibilidad aparente de energía de la dieta experimental HC- en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.



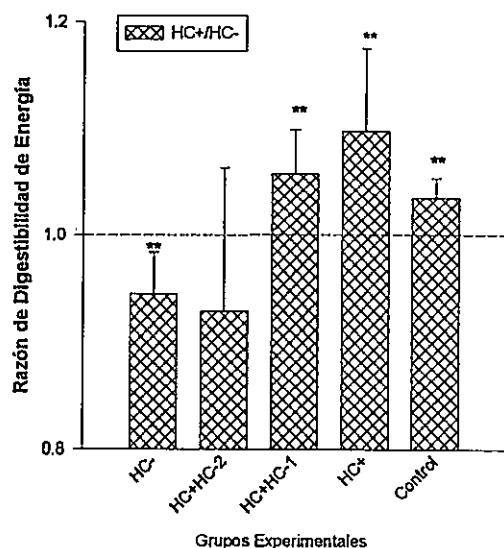


Figura 13.- Razón de digestibilidad de energía de las dietas HC+ y HC- en *Phyllotis darwini* de diferentes tratamientos experimentales. Los asteriscos indican diferencias de digestibilidad aparente entre ambas dietas según la prueba para muestras dependientes de Wilcoxon. \*\* indica  $p < 0.05$ . Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

Al comparar la  $D_e$  de ambas dietas en los distintos tratamientos, encontramos que todos los grupos excepto el grupo HC-HC+2 presentan diferencias significativas (Wilcoxon: :  $Z = 1.49$ ,  $p = 0.04$ ;  $Z = 1.99$ ,  $p = 0.04$ ;  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$ ;  $Z = 0.53$ ,  $p = 0.59$ ;  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$  para los grupos HC+, HC-, HC-HC+1, HC-HC+2 y control respectivamente). Al igual que con la  $D_m$ , la  $D_e$  disminuye cuando los animales son sometidos a la dieta alternativa (Figura 13).

La digestibilidad de fibra cruda ( $D_f$ ) no presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA :  $F_{(5,32)} = 2.92$ ,  $p = 0.03$ ). Esta diferencia está dada por el mayor

valor encontrado en el grupo HC- con respecto al grupo control (Figura 14).

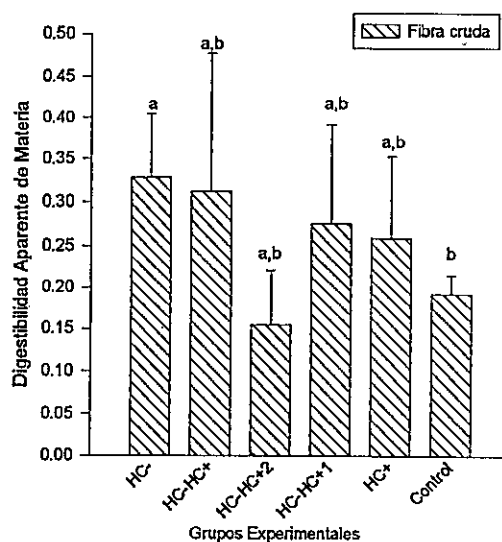


Figura 14.- Digestibilidad aparente de Fibra cruda en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

La digestibilidad de carbohidratos solubles ( $D_{ch}$ ) presenta diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA :  $F_{(5,32)} = 6.68$ ,  $p < 0.005$ ) y el patrón es similar al encontrado para la dieta HC+ (véase Figura 15 para las comparaciones múltiples). Por último, la digestibilidad de proteína cruda ( $D_p$ ) presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA :  $F_{(5,32)} = 3.41$ ,  $p < 0.01$ ). En este caso  $D_p$  es mayor en los grupos control y HC- que en el grupo HC+ (Figura 16). De acuerdo a lo esperado, la digestibilidad de la dieta rica en carbohidratos (HC+) y la digestibilidad de carbohidratos solubles ( $D_{ch}$ ) están correlacionadas positiva y significativamente (Pearson:  $r = 0.84$ ,  $p < 0.001$ , Figura 17). Además la digestibilidad de proteína y de la dieta rica en

proteína (HC-) también presentan una correlación significativa (Pearson:  $r = 0.85$ ,  $p < 0.001$ , Figura 18).

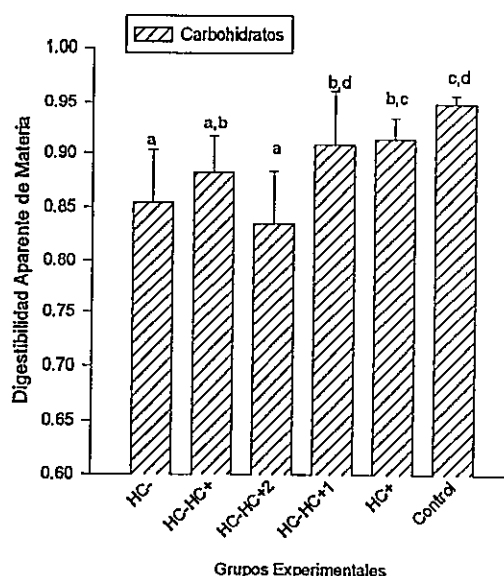


Figura 15.- Digestibilidad aparente de carbohidratos en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

La ingesta de alimento (I), la asimilación neta de alimento expresado en gramos ( $A_m$ ) y en su equivalente energético ( $A_e$ ) se muestran en la Tabla 5. La ingesta de alimento presenta diferencias entre tratamiento tanto para la dieta HC+ (ANOVA :  $F_{(5,31)} = 6.66$ ,  $p < 0.001$ ) como para la dieta HC- (ANOVA :  $F_{(5,31)} = 12.30$ ,  $p < 0.001$ ). La asimilación en gramos presenta diferencias significativas entre tratamientos para la dieta HC+ (ANOVA :  $F_{(5,31)} = 6.93$ ,  $p = 0.001$ ) así como para la dieta HC- (ANOVA :  $F_{(5,31)} = 15.68$ ,  $p < 0.001$ ). La asimilación de energía también presenta diferencias en ambas dietas (ANOVA :  $F_{(5,31)} = 7.16$ ,  $p < 0.001$ ;  $F_{(5,31)} = 12.32$ ,  $p < 0.001$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente).

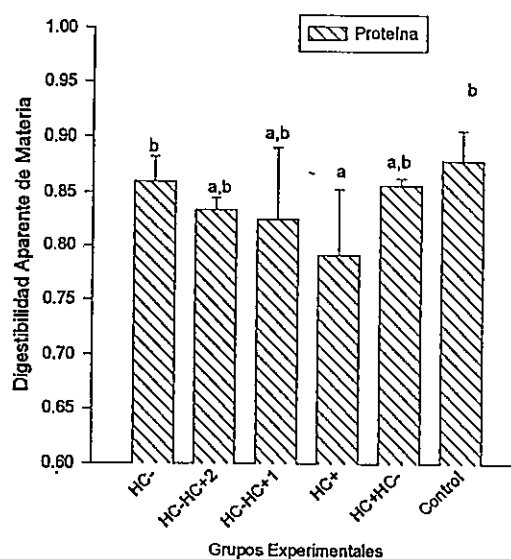


Figura 16.- Digestibilidad aparente de proteína en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

Al realizar comparaciones de la ingesta de alimento en ambas dietas en cada uno de los tratamientos se observa que existen diferencias en los grupos HC+ (Wilcoxon:  $Z = 1.99$ ,  $p = 0.04$ ) y HC-HC+1 (Wilcoxon:  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$ ) y se mantiene constante en los grupos restantes (Wilcoxon:  $Z = 0.94$ ,  $p = 0.34$ ;  $Z = 1.6$ ,  $p = 0.11$ ;  $Z = 0.52$ ,  $p = 0.60$ , para los grupos HC-, HC-HC+2 y control respectivamente). La asimilación neta de materia presenta diferencias en los grupos HC+ (Wilcoxon:  $Z = 1.99$ ,  $p = 0.04$ ) y HC-HC+1 (Wilcoxon:  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$ ) y no se observan diferencias en los grupos HC-, HC-HC+2 y control (Wilcoxon:  $Z = 0.94$ ,  $p = 0.34$ ;  $Z = 1.6$ ,  $p = 0.11$ ;  $Z = 0.73$ ,  $p = 0.60$  respectivamente). La asimilación de energía presenta diferencias en el grupo HC-HC+1 (Wilcoxon:  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$ ) y no existen diferencias en los demás grupos (Wilcoxon:  $Z =$

1.36,  $p = 0.17$ ;  $Z = 1.78$ ,  $p = 0.07$ ;  $Z = 1.6$ ,  $p = 0.11$ ;  $Z = 0.73$ ,  $p = 0.46$  para HC+, HC- HC-HC+2 y control respectivamente).

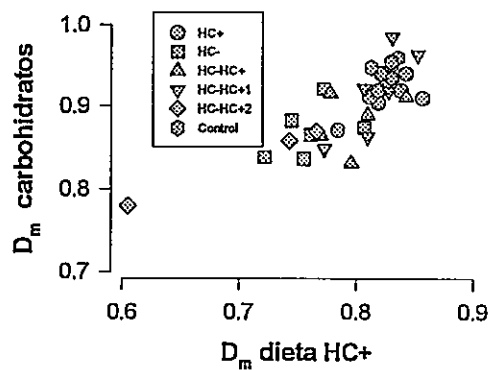


Figura 17.- Relación entre la digestibilidad aparente de materia de la dieta HC+ y de carbohidratos en *Phyllotis darwini*.

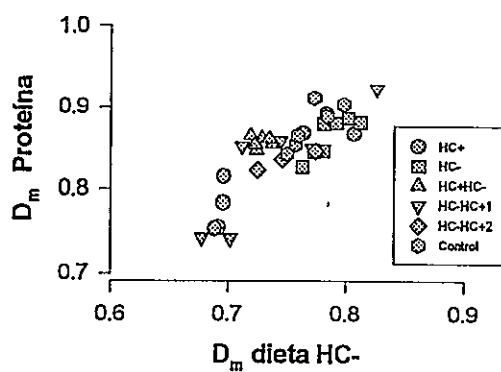


Figura 18.- Relación entre la digestibilidad aparente de materia de la dieta HC- y de carbohidratos en *Phyllotis darwini*.

Grupos	Ingesta (g/día)		Ingesta (KJ/ día )		Asimilación (g/día)		Asimilación (KJ/día )	
	HC+	HC-	HC+	HC-	HC+	HC-	HC+	HC-
HC+	2.44 ± 0.85 <sup>(a,b)</sup> (*)	1.49 ± 0.76 <sup>(b)</sup>	48.44 ± 16.9 <sup>(a,b)</sup> (*)	33.63 ± 17.1 <sup>(b)</sup>	2.01 ± 0.70 <sup>(a,d)</sup> (*)	1.08 ± 0.59 <sup>(b)</sup>	40.69 ± 14.3 <sup>(a,d)</sup>	25.96 ± 1 3.9 <sup>(b)</sup>
HC-	3.31 ± 1.18 <sup>(a,b)</sup>	3.59 ± 1.13 <sup>(a)</sup>	65.64 ± 23.4 <sup>(a,b)</sup>	80.61 ± 25.6 <sup>(a)</sup>	2.51 ± 1.03 <sup>(a,d)</sup>	2.82 ± 0.89 <sup>(a)</sup>	51.51 ± 20.6 <sup>(a,d)</sup>	66.98 ± 21.4 <sup>(a)</sup>
HC+HC-	-	2.31 ± 0.53 <sup>(b)</sup>	-	51.96 ± 11.9 <sup>(b)</sup>	-	1.69 ± 0.40 <sup>(b)</sup>	-	40.56 ± 9.5 <sup>(b)</sup>
HC-HC+	2.01 ± 0.23 <sup>(b)</sup>	-	39.92 ± 4.5 <sup>(b)</sup>	-	1.61 ± 0.24 <sup>(a,b)</sup>	-	32.60 ± 4.8 <sup>(a,b)</sup>	-
HC-HC+1	1.67 ± 0.49 <sup>(b)</sup> (*)	0.83 ± 0.29 <sup>(b)</sup>	33.21 ± 9.7 <sup>(b)</sup> (*)	18.66 ± 6.6 <sup>(b)</sup>	1.37 ± 0.42 <sup>(a,b)</sup> (*)	0.62 ± 0.23 <sup>(b)</sup>	27.52 ± 8.5 <sup>(a,b)</sup> (*)	14.73 ± 5.5 <sup>(b)</sup>
HC-HC+2	1.03 ± 0.30 <sup>(b)</sup>	2.61 ± 0.65 <sup>(a,b)</sup>	20.48 ± 6.0 <sup>(b)</sup>	58.78 ± 14.7 <sup>(a,b)</sup>	0.74 ± 0.29 <sup>(b)</sup>	1.95 ± 0.45 <sup>(a)</sup>	15.00 ± 5.7 <sup>(b)</sup>	45.45 ± 10.0 <sup>(a)</sup>
control	3.89 ± 1.44 <sup>(a)</sup>	3.52 ± 0.55 <sup>(a)</sup>	77.21 ± 28.5 <sup>(a)</sup>	79.11 ± 12.3 <sup>(a)</sup>	3.22 ± 1.19 <sup>(d)</sup>	2.73 ± 0.43 <sup>(a)</sup>	65.80 ± 24.3 <sup>(d)</sup>	64.45 ± 11.2 <sup>(a)</sup>

Tabla 5.- Ingesta y asimilación de materia y energía de todos los grupos experimentales en *Phyllotis darwini*. Las letras en superíndices muestran el resultado de las comparaciones múltiples de la prueba *a posteriori*. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos. Los asteriscos indican diferencias significativas entre dietas para un mismo grupo experimental.

### *Octodon degus*

Al igual que en *P. darwini*,  $D_m$  y  $D_e$  en ambas dietas están correlacionadas positiva y significativamente (Pearson  $r = 0.89$ ,  $p < 0.001$ ;  $r = 0.98$ ,  $p < 0.001$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente).

La  $D_m$  de la dieta HC+ no presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,26)} = 1.94$ ,  $p = 0.21$ ; Figura 19). La  $D_m$  de la dieta HC- tampoco presenta diferencias significativas (ANOVA:  $F_{(5,26)} = 1.93$ ,  $p = 0.12$ ; Figura 20).

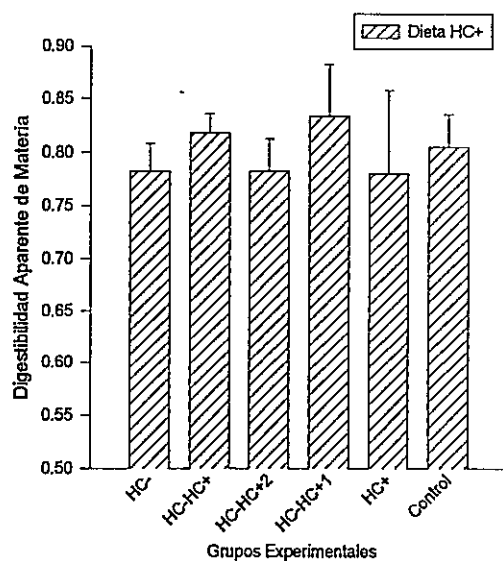


Figura 19.- Digestibilidad aparente de materia de la dieta experimental HC+ en *Octodon degus*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

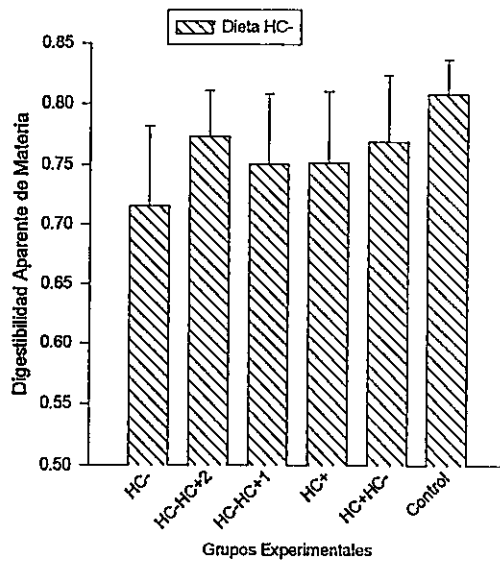


Figura 20.- Digestibilidad aparente de materia de la dieta experimental HC- en *Octodon degus*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

La  $D_e$  de la dieta HC+ presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,26)} = 2.75$ ,  $p = 0.04$ ) pero la prueba de comparaciones múltiples no es capaz de evidenciar diferencias específicas (Figura 21). Además, la  $D_e$  de la dieta HC- tampoco presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,)} = 1.61$ ,  $p = 0.19$ ; Figura 22).

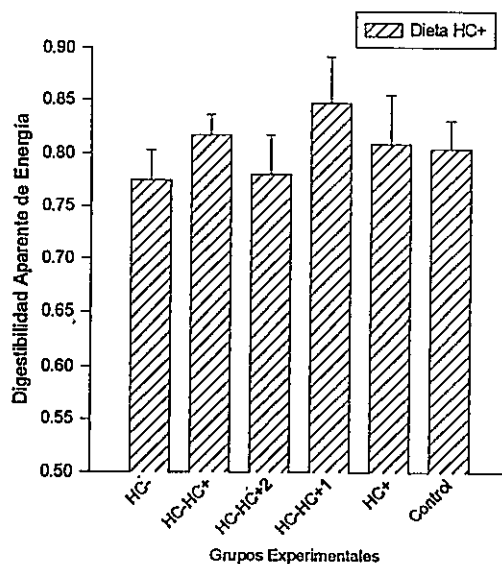


Figura 21.- Digestibilidad aparente de energía de la dieta experimental HC+ en *Octodon degus*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. No se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos. Nomenclatura como en la Figura 2.

La comparación de  $D_m$  de las dos dietas en cada grupo experimental revela que sólo el grupo HC- presenta diferencias significativas (Wilcoxon:  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$ ) el grupo HC-HC+1 presenta una significancia marginal (Wilcoxon:  $Z = 1.82$ ,  $p = 0.07$ ) mientras que los restantes tratamientos mantienen la  $D_m$  constante (Wilcoxon:  $Z = 0.73$ ,  $p = 0.46$ ;  $Z = 0.40$ ,  $p = 0.68$ ;  $Z = 0.13$ ,  $p = 0.89$  para los grupos HC+, HC-HC+2 y control respectivamente, véase Figura 23). Ninguno de los tratamientos presenta



diferencias significativas entre la  $D_e$  medida en las dietas HC+ y HC- (Figura 24), aunque nuevamente el grupo HC-HC+1 presenta una significancia marginal (Wilcoxon:  $Z = 1.36$ ,  $p = 0.17$ ;  $Z = 0.84$ ,  $p = 0.39$ ;  $Z = 1.82$ ,  $p = 0.07$ ;  $Z = 0.67$ ,  $p = 0.05$ ;  $Z = 0.94$ ,  $p = 0.34$  para los grupos HC+, HC- HC-HC+1, HC-HC+2 y control respectivamente).

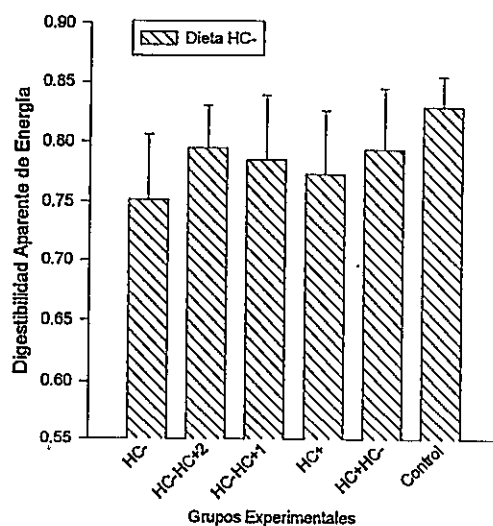


Figura 22.- Digestibilidad aparente de energía de la dieta experimental HC- en *Octodon degus*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. No se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos. Nomenclatura como en la Figura 2.

La  $D_f$  no presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,26)} = 0.26$ ,  $p = 0.92$ , Figura 25). Aun cuando parece haber una tendencia, la  $D_{ch}$  tampoco presenta diferencias entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,26)} = 2.05$ ,  $p = 0.14$ ; (Figura 26)) al igual que la  $D_p$  (ANOVA:  $F_{(5,25)} = 0.45$ ,  $p = 0.80$ , Figura 27). Al igual que en *P. darwini*, en *O. degus* existe una correlación positiva y significativa entre la  $D_m$  de la dieta HC+ y  $D_{ch}$  (Pearson  $r = 0.93$ ,  $p < 0.001$ , Figura 28) y entre  $D_m$  de la dieta HC- y  $D_p$  (Pearson  $r = 0.65$ ,  $p < 0.05$ , Figura 29).

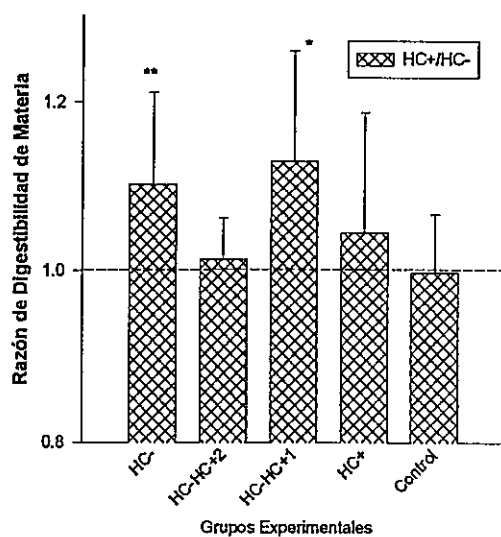


Figura 23.- Razón de digestibilidad de materia de las dietas HC+ y HC- en *Octodon degus* de diferentes tratamientos experimentales. Los asteriscos indican diferencias de digestibilidad aparente entre ambas dietas según la prueba para muestras dependientes de Wilcoxon. \*\* indica  $p < 0.05$ . Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

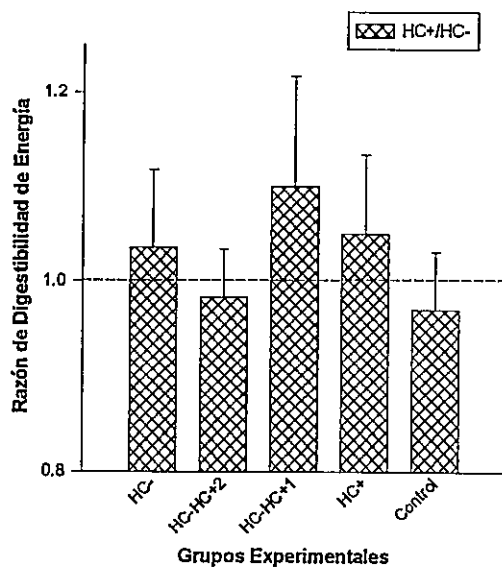


Figura 24.- Razón de digestibilidad de energía de las dietas HC+ y HC- en *Octodon degus* de diferentes tratamientos experimentales. No existen diferencias significativas de digestibilidad de ambas dietas en ningún tratamiento. Nomenclatura como en la Figura 2

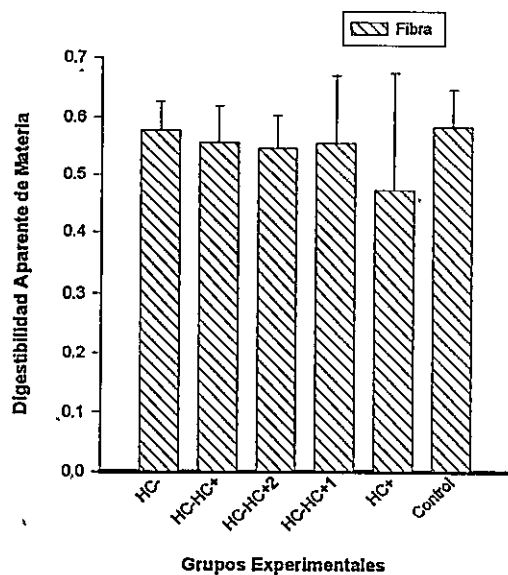


Figura 25.- Digestibilidad aparente de Fibra cruda en *Octodon degus*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2.

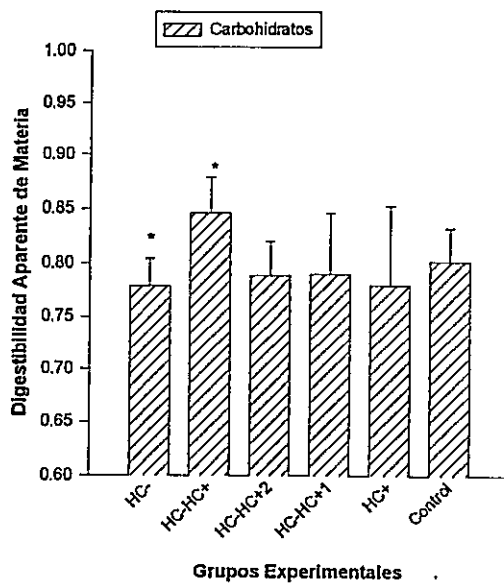


Figura 26.- Digestibilidad aparente de carbohidratos en *Octodon degus*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2. El asterisco muestra la significancia marginal ( $p < 0.1$ ) entre tratamientos.

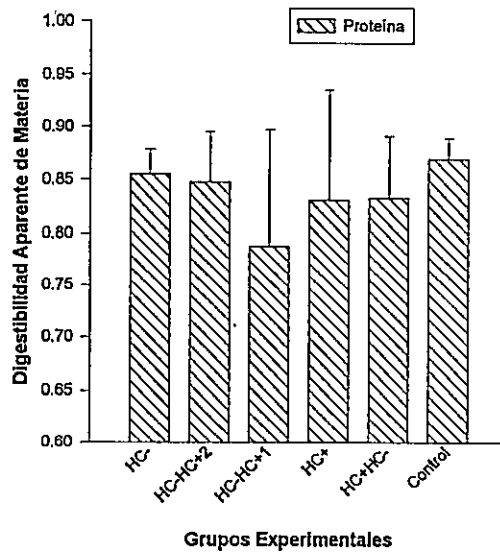


Figura 27.- Digestibilidad aparente de proteína en *Octodon degus*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

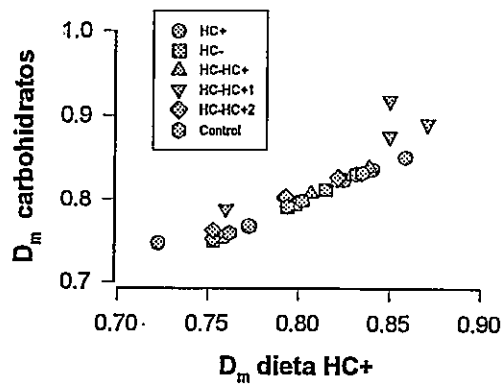


Figura 28.- Relación entre la digestibilidad aparente de materia de la dieta HC+ y de carbohidratos en *Octodon degus*.

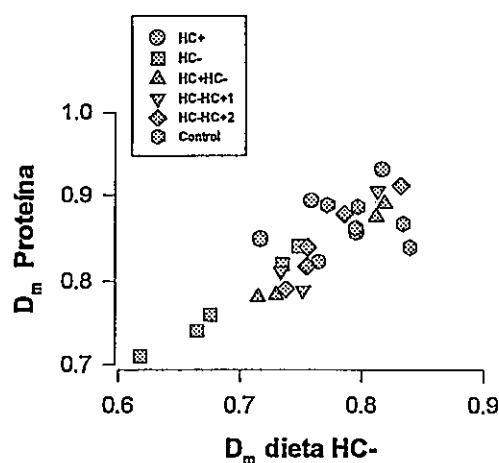


Figura 29.- Relación entre la digestibilidad aparente de energía de la dieta HC+ y de proteína en *Octodon degus*.

La Tabla 6 muestra los valores de ingesta y de asimilación neta de alimento expresado en gramos y en su equivalente energético. La ingesta de alimento expresada en materia y energía presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,25)} = 8.23$ ,  $p < 0.0001$ ;  $F_{(5,25)} = 7.41$ ,  $p < 0.001$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente), como también la asimilación de materia (ANOVA:  $F_{(5,25)} = 7.39$ ,  $p < 0.0001$  para ambas dietas) y de energía (ANOVA:  $F_{(5,25)} = 8.72$ ,  $p < 0.001$ ;  $F_{(5,24)} = 6.18$ ,  $p < 0.001$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente).

Las comparaciones de la ingesta de materia de ambas dietas en cada uno de los tratamientos revela que existen diferencias en los grupos HC- (Wilcoxon:  $Z = 2.36$ ,  $p = 0.02$ ) y HC-HC+2 (Wilcoxon:  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.04$ ) mientras los demás grupos no presentan diferencias significativas (Wilcoxon:  $Z = 0.31$ ,  $P = 0.75$ ;  $Z = 1.4$ ,  $p = 0.14$ ;  $Z = 0.94$ ,  $p = 0.34$  para los grupos HC+, HC-HC+1 y control respectivamente). El mismo

patrón se encuentra para la ingesta de energía (Wilcoxon:  $Z = 0.10$ ,  $p = 0.91$ ;  $Z = 2.36$ ,  $p = 0.017$ ;  $Z = 1.82$ ,  $p = 0.07$ ;  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.043$ ;  $Z = 1.48$ ,  $P = 0.14$  para los grupos HC+, HC-, HC-HC+1, HC-HC+2 y control respectivamente. Véase Tabla 6). La asimilación de materia en ambas dietas es significativamente diferente en los grupos HC- (Wilcoxon:  $Z = 2.36$ ,  $p = 0.017$ ) y HC-HC+2 (Wilcoxon:  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.043$ ) y se mantiene constante en los grupos HC+, HC-HC+1, y control (Wilcoxon:  $Z = 0.52$ ,  $p = 0.60$ ;  $Z = 0.73$ ,  $p = 0.46$ ;  $Z = 0.94$ ,  $p = 0.34$  respectivamente). Lo mismo ocurre para la asimilación de energía (Wilcoxon:  $Z = 0.10$ ,  $p = 0.91$ ;  $Z = 2.36$ ,  $p = 0.017$ ;  $Z = 1.46$ ,  $p = 0.14$ ;  $Z = 2.02$ ,  $p = 0.043$ ;  $Z = 1.48$ ,  $P = 0.14$  para los grupos HC+, HC-, HC-HC+1, HC-HC+2 y control respectivamente).

Grupos	Ingesta (g/día)		Ingesta (KJ/ día )		Asimilación (g/día)		Asimilación (KJ/día )	
	HC+	HC-	HC+	HC-	HC+	HC-	HC+	HC-
HC+	6.42 ± 2.94 <sup>(a,c)</sup>	5.87 ± 1.62 <sup>(a)</sup>	126.07 ± 57.77 <sup>(a,c)</sup>	199.99 ± 35.77 <sup>(a)</sup>	5.07 ± 2.54 <sup>(a,b)</sup>	4.38 ± 0.59 <sup>(a)</sup>	103.02 ± 50.30 <sup>(a,c)</sup>	99.27 ± 1 21.56 <sup>(a)</sup>
HC-	9.10 ± 1.52 <sup>(b)</sup> (*)	2.41 ± 0.95 <sup>(b)</sup>	178.71 ± 29.87 <sup>(b)</sup> (*)	53.43 ± 21.04 <sup>(b)</sup>	7.12 ± 1.24 <sup>(c)</sup> (*)	1.49 ± 0.89 <sup>(b)</sup>	138.34 ± 23.92 <sup>(b)</sup> (*)	40.28 ± 17.20 <sup>(b)</sup>
HC+HC-	-	8.05 ± 2.47 <sup>(a)</sup>	-	178.18 ± 54.71 <sup>(a)</sup>	-	6.28 ± 0.40 <sup>(a)</sup>	-	143.22 ± 52.00 <sup>(a)</sup>
HC-HC+	7.11 ± 2.15 <sup>(a,b,c)</sup>	-	139.68 ± 42.27 <sup>(a,b,c)</sup>	-	5.84 ± 1.87 <sup>(a,d,e)</sup>	-	74.84 ± 29.03 <sup>(c)</sup>	-
HC-HC+1	4.37 ± 0.95 <sup>(a)</sup>	5.84 ± 1.33 <sup>(a)</sup>	85.85 ± 18.75 <sup>(a)</sup>	129.11 ± 29.42 <sup>(a)</sup>	3.65 ± 0.88 <sup>(b,d)</sup>	4.42 ± 0.23 <sup>(a)</sup>	72.78 ± 17.14 <sup>(e)</sup>	102.16 ± 27.32 <sup>(a)</sup>
HC-HC+2	9.01 ± 1.65 <sup>(b,c)</sup> (*)	6.42 ± 1.37 <sup>(a)</sup>	176.93 ± 32.36 <sup>(b,c)</sup> (*)	142.07 ± 30.30 <sup>(a)</sup>	7.03 ± 1.19 <sup>(a,c)</sup> (*)	4.95 ± 0.45 <sup>(a)</sup>	137.49 ± 23.56 <sup>(a,b)</sup> (*)	112.26 ± 20.82 <sup>(a)</sup>
control	7.16 ± 0.74 <sup>(a)</sup>	8.14 ± 1.52 <sup>(a)</sup>	140.45 ± 14.66 <sup>(a)</sup>	179.90 ± 33.73 <sup>(a)</sup>	5.77 ± 0.70 <sup>(a,b)</sup>	6.59 ± 0.43 <sup>(a)</sup>	113.13 ± 13.77 <sup>(a,c)</sup>	149.54 ± 30.73 <sup>(a)</sup>

Tabla 6.- Ingesta y asimilación de materia y energía de todos los grupos experimentales en *Octodon degus*. Las letras en superíndices muestran el resultado de las comparaciones múltiples de la prueba *a posteriori*. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos. Los asteriscos indican diferencias significativas entre dietas para un mismo grupo experimental.

## Balance Energético

### *Phyllotis darwini*

Cuando los animales son sometidos a los experimentos de asimilación con la dieta HC+ se observa una disminución del peso corporal en el grupo HC-HC+1 y HC-HC+2 (Wilcoxon:  $Z = 2.2$ ,  $p = 0.028$ ;  $Z = 2.20$ ,  $p = 0.03$  respectivamente). Además existe una tendencia a disminuir el peso corporal en el grupo HC- (Wilcoxon:  $Z = 1.85$ ,  $p = 0.06$ ) y se mantiene constante en los restantes grupos experimentales (Wilcoxon:  $Z = 1.00$ ,  $p = 0.31$ ;  $Z = 1.06$ ,  $p = 0.28$ ;  $Z = 0.31$ ,  $p = 0.75$  para los grupos HC+, HC-HC+, y control respectivamente, Figura 30).

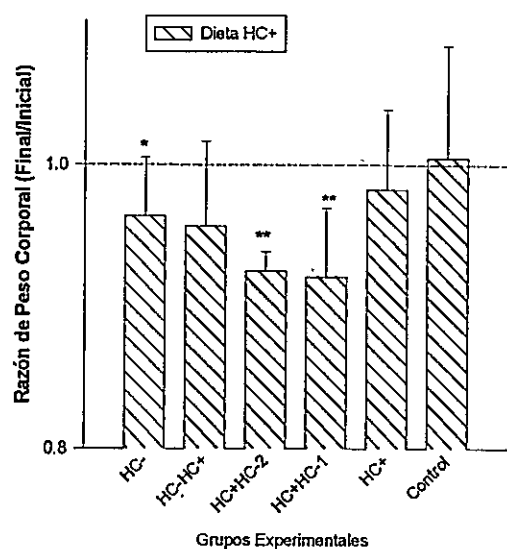


Figura 30.- Balance de peso corporal al término de 3 días de sometidos a los experimentos de asimilación de la dieta HC+ en *Phyllotis darwini*. Los asteriscos indican ganancia o pérdida de peso según de la prueba para muestras dependientes de Wilcoxon. \*\* indica  $p < 0.05$ , \* indica  $p = 0.06$ . Las líneas verticales representan una desviación estándar Nomenclatura como en la Figura 2

Durante los experimentos de asimilación de la dieta HC-, el peso corporal disminuye en el grupo HC-HC+1 (Wilcoxon:  $Z = 1.99$ ,  $Z = 0.046$ ), existe una tendencia a la disminución en el grupo HC+ y HC+HC- (Wilcoxon:  $Z = 1.78$ ,  $p = 0.07$  en ambos grupos) y se mantiene constante en los restantes grupos experimentales (Wilcoxon:  $Z = 0.07$ ,  $p = 0.94$ ;  $Z = 0.53$ ,  $p = 0.59$ ;  $Z = 1.69$ ,  $p = 0.10$  para los grupos HC-, HC-HC+2 y control respectivamente, Figura 31).

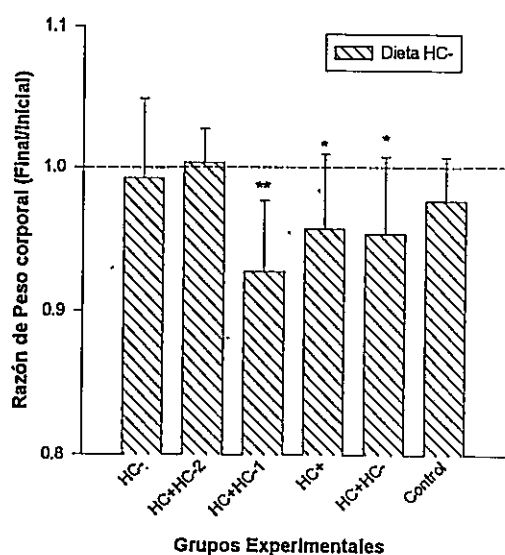


Figura 31.- Balance de peso corporal al término de 3 días de sometidos a los experimentos de asimilación de la dieta HC+ en *Phyllotis darwini*. Los asteriscos indican ganancia o pérdida de peso según la prueba para muestras dependientes de Wilcoxon. \*\* indica  $p < 0.05$ , \* indica  $p = 0.07$ . Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

El cociente energético de *P. darwini* cuando es sometido a la dieta HC+ presenta diferencias significativas entre los grupos experimentales (ANOVA:  $F_{(5,26)} = 4.65$ ,  $p = 0.003$ ). Este valor es mayor en los grupos HC- y control que en el grupo HC-HC+2 (Figura 32). Además  $C_e$  presenta diferencias significativas cuando los animales son



mantenidos con la dieta HC- (ANOVA:  $F_{(5,27)} = 15.30$ ,  $p < 0.001$ ) encontrándose el mayor valor en el grupo HC- que en los restantes grupos. Además el grupo control presenta un  $C_e$  mayor que los grupos HC+ y HC-HC+1 (véase Figura 33). Paralelamente el  $C_e$  sufre una disminución significativa en los grupos HC+ y HC- (Wilcoxon:  $Z = 1.99$ ,  $p = 0.04$ ;  $Z = 2.1$ ,  $p = 0.027$  respectivamente) cuando son cambiados de la dieta de aclimatación a la dieta alternativa. Los restantes grupos no experimentan ningún cambio en el  $C_e$  (Wilcoxon:  $Z = 1.60$ ,  $P = 0.10$ ;  $Z = 1.60$ ,  $p = 0.10$ ;  $Z = 0.31$ ,  $p = 0.75$  para los grupos HC-HC+1, HC-HC+2 y control respectivamente, compárese Figuras 32 y 33).

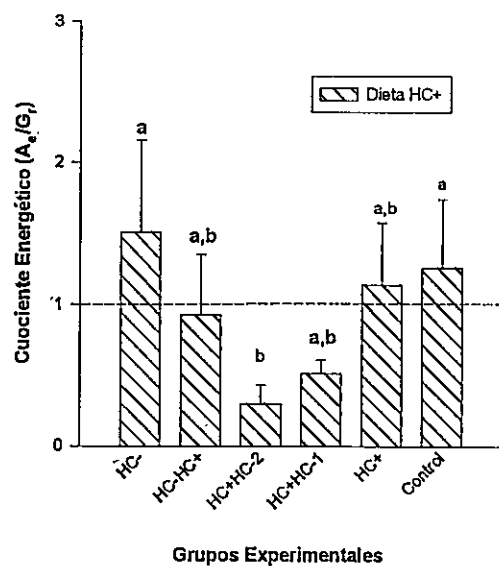


Figura 32.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en *Phyllotis darwini* sometidos a la dieta HC+. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

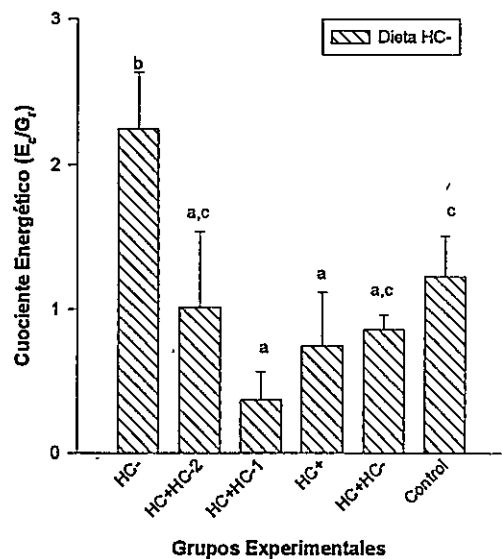


Figura 33.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en *Phyllotis darwini* sometidos a la dieta HC-. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

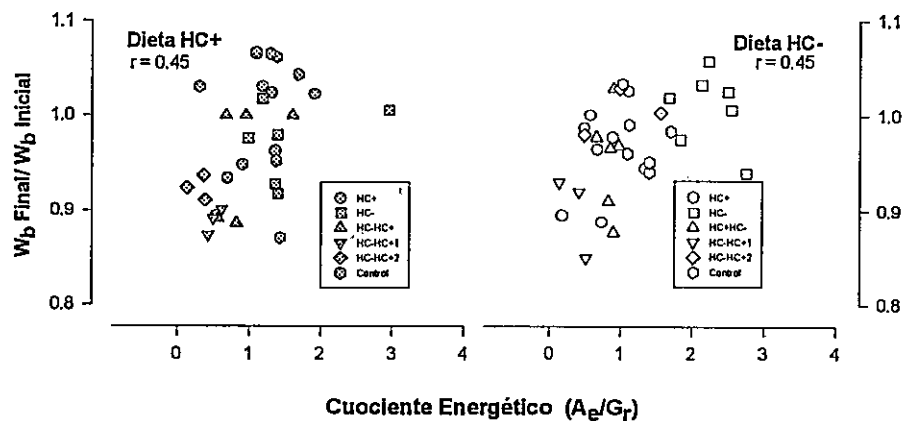


Figura 34.- Relación entre el Cuociente energético y el balance de masa en *Phyllotis darwini* sometidos a los experimentos de asimilación de las dietas HC+ y HC-. Ambas regresiones son estadísticamente significativas.

De acuerdo a lo esperado, un análisis de regresión lineal, utilizando la razón entre el peso corporal final e inicial para cada sesión (cuociente de masa,  $W_c$ ) de cada sesión

experimental como variable dependiente y al  $C_e$  como predictor, revela que el cambio de tamaño corporal depende del gasto y asimilación de energía ( $r = 0.45$ ,  $F_{(1,29)} = 7.20$ ,  $p = 0.01$ ;  $r = 0.45$ ,  $F_{(1,31)} = 7.89$ ,  $p < 0.001$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente, Figura 34). Paralelamente el  $C_e$  resulta ser dependiente de la eficiencia de extracción de nutrientes, como lo revela el análisis de regresión lineal entre  $C_e$  y  $D_e$  ( $r = 0.46$ ,  $F_{(1,29)} = 7.65$ ,  $p = 0.009$ ;  $r = 0.61$ ,  $F_{(1,31)} = 18.65$ ,  $p < 0.001$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente).

### *Octodon degus*

Al contrario de lo que ocurre en *P. darwini*, cuando los individuos de *O. degus* se someten a los experimentos de asimilación de la dieta HC+, ningún grupo experimental disminuye su peso corporal, produciéndose incluso un aumento de peso en el grupo aclimatado a la dieta HC- (Wilcoxon:  $Z = 0.73$ ,  $p = 0.46$ ;  $Z = 2.03$ ,  $p = 0.04$ ;  $Z = 0.13$ ,  $p = 0.89$ ;  $Z = 0.67$ ,  $p = 0.50$ ;  $Z = 1.21$ ,  $p = 0.22$ ;  $Z = 0.67$ ,  $p = 0.50$  para los grupos HC+, HC-, HC-HC+, HC-HC+1, HC-HC+2 y control respectivamente, Figura 35). Sin embargo, cuando son sometidos a la dieta HC-, el grupo HC+ aumenta de peso (Wilcoxon:  $Z = 2.20$ ,  $p = 0.03$ ) el grupo HC- disminuye su peso (Wilcoxon:  $Z = 2.36$ ,  $p = 0.02$ ) y los demás grupos no presentan diferencias significativas entre el peso corporal tamaño inicial y final (Wilcoxon:  $Z = 0.73$ ,  $p = 0.46$ ;  $Z = 0.13$ ,  $p = 0.89$ ;  $Z = 1.48$ ,  $p = 0.14$ ;  $Z = 1.21$ ,  $p = 0.22$  para los grupos HC+HC-, HC-HC+1, HC-HC+2 y control respectivamente, Figura 36).

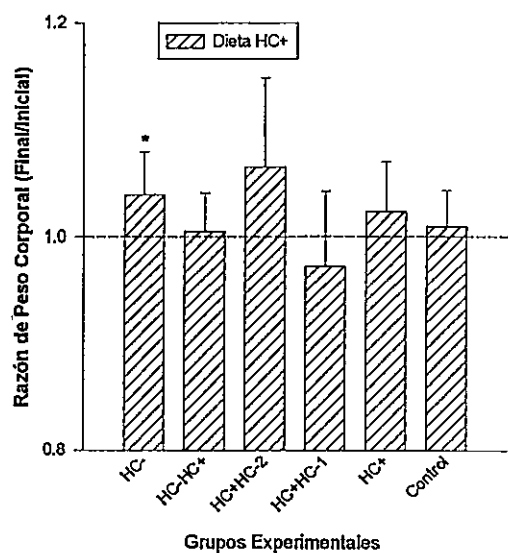


Figura 35.- Balance de peso corporal al término de 3 días de sometidos a los experimentos de asimilación de la dieta HC+ en *Octodon degus*. El asterisco indica diferencias significativas entre el peso inicial y final según la prueba para muestras dependientes de Wilcoxon. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

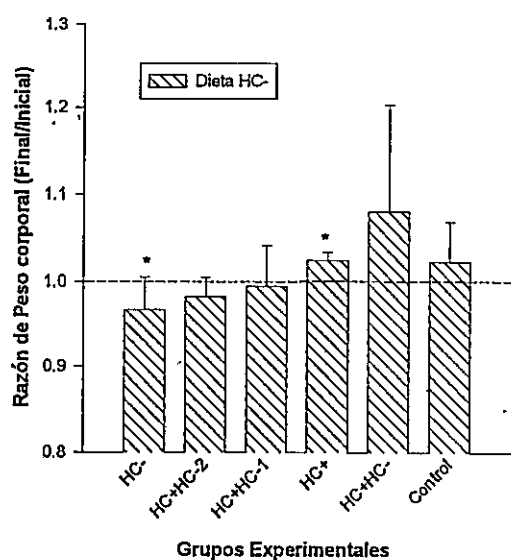


Figura 36.- Balance de peso corporal al término de 3 días de sometidos a los experimentos de asimilación de la dieta HC+ en *Octodon degus*. El asterisco indica diferencias significativas entre el peso inicial y final según la prueba para muestras dependientes de Wilcoxon. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2. Figura 36.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en *Octodon degus* sometidos a la dieta HC+. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

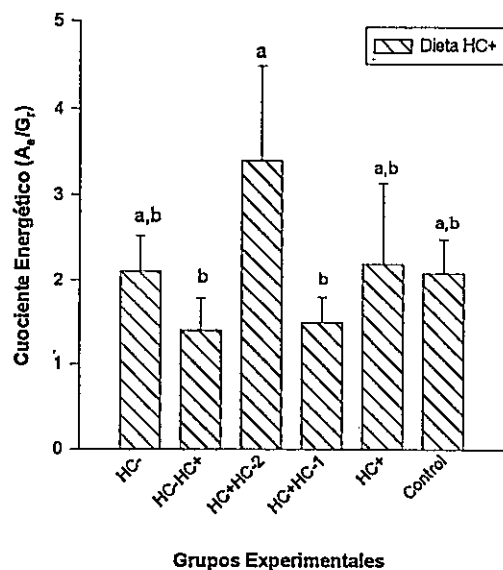


Figura 37.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en *Octodon degus* sometidos a la dieta HC+. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

El cuociente energético estimado en la dieta HC+ presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,26)} = 4.34$ ,  $p = 0.005$ ), siendo aquél superior en el grupo HC-HC+2 que en los grupos HC-HC+1 y HC-HC+ (Figura 37). Esta variable también presenta diferencias significativas entre tratamientos cuando los animales son sometidos a la dieta HC- (ANOVA:  $F_{(5,25)} = 5.46$ ,  $p = 0.002$ ), las que están dadas por el menor valor encontrado en el grupo HC-, Figura 38). Al igual que en *P. darwini*, el análisis de regresión lineal entre la razón de peso corporal y el cuociente energético, revela una relación positiva y significativa ( $r = 0.43$ ,  $F_{(1,20)} = 6.98$ ,  $p = 0.01$ ;  $r = 0.58$ ,  $F_{(1,29)} = 14.68$ ,  $p < 0.001$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente, Figura 39). Sin embargo, al contrario de lo que ocurre en *P. darwini*, el  $C_e$  resulta ser independiente

de la digestibilidad aparente de energía ( $r = 0.15, F_{(1,34)} = 0.83, p = 0.36$ ;  $r = 0.18, F_{(1,34)} = 1.10, p = 0.30$  para las dietas HC+ y HC- respectivamente).

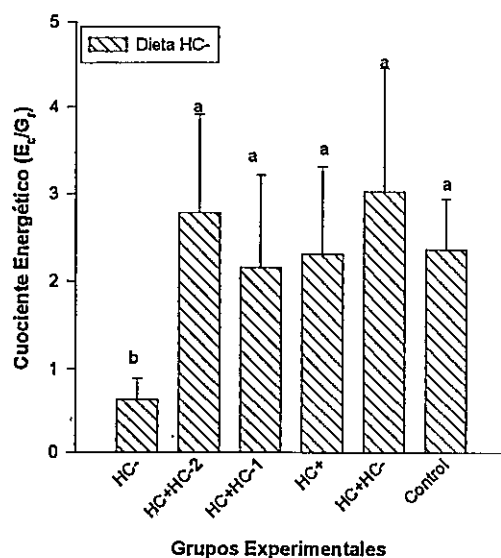


Figura 38.- Cuociente energético (Asimilación diaria de energía/ Gasto metabólico de reposo diario) en *Octodon degus* sometidos a la dieta HC-. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

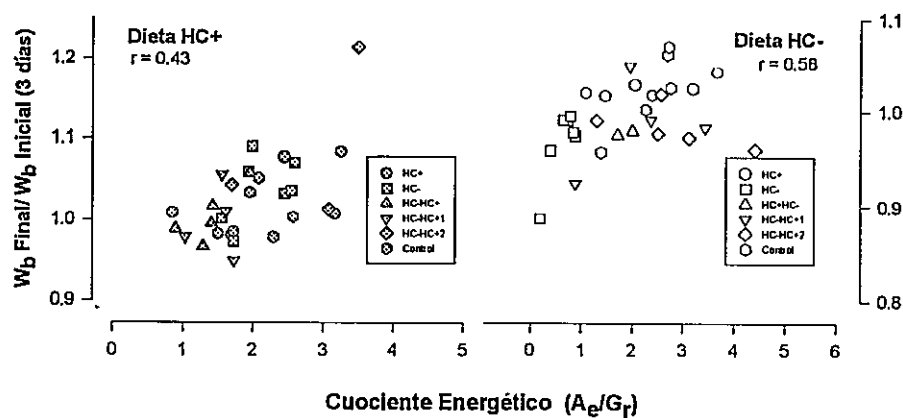


Figura 39.- Relación entre el Cuociente energético y el balance de masa en *Octodon degus* sometidos a los experimentos de asimilación de las dietas HC+ y HC-. Ambas regresiones son estadísticamente significativas.

## Norma de Reacción

Para comparar la respuesta de las características digestivas en función de un gradiente ambiental, en términos de la composición química del alimento, se realizó una regresión lineal entre la característica a evaluar y la proporción de carbohidratos en la dieta de aclimatación. De las características morfológicas analizadas, la que presentó mayor interés es la relación  $L_{ig}/L_{id}$ , debido a que en *P. darwini*, además de presentar diferencias entre tratamientos en una de las especies presenta también una norma de reacción con pendiente distinta de cero. El análisis de regresión lineal utilizando la razón  $L_{ig}/L_{id}$  como variable dependiente y la proporción de carbohidratos en la dieta de

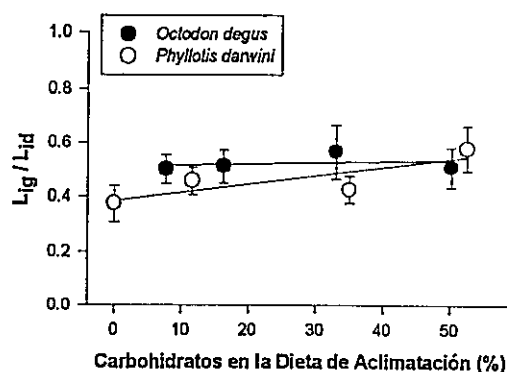


Figura 40.- Norma de reacción para la relación entre el largo del intestino grueso y delgado en *P. darwini* y *O. degus* con respecto a la composición química de la dieta de aclimatación. Nótese que *P. darwini* presenta una norma de reacción con una pendiente significativamente distinta de cero, mientras que *O. degus* mantiene constante el carácter  $L_{ig}/L_{id}$  a pesar de las diferencias en la composición de carbohidratos.

aclimatación como predictor (variable independiente) revela la existencia de una relación positiva y significativa en la especie *P. darwini* ( $r = 0.79$ ,  $F_{(1,9)} = 14.91$ ,  $p = 0.003$ ) y una ausencia de relación en *O. degus* ( $r = 0.11$ ,  $F_{(1,22)} = 0.26$ ,  $p = 0.26$ , Figura 40). Estas regresiones poseen pendientes significativamente diferentes (ANCOVA ( $F_{(1,32)} = 6.12$ ,  $p = 0.01$ )).

Paralelamente, el desempeño digestivo, expresado como la digestibilidad aparente, también presenta relaciones significativas en *P. darwini*, no así en *O. degus*. Así, en *P. darwini*, la  $D_m$  de la dieta HC+ presenta una relación positiva y significativa con respecto a la proporción de carbohidratos en la dieta de aclimatación ( $r = 0.72$ ,  $F_{(1,23)} = 25.30$ ,  $p < 0.0001$ ), pero la  $D_m$  de la respectiva dieta de aclimatación no presenta una relación significativa ( $r = 0.33$ ,  $F_{(1,23)} = 2.84$ ,  $p = 0.11$ ). El análisis entre ambas regresiones revela que éstas presentan diferencias significativas entre las pendientes (ANCOVA:  $F = 5.57$ ,  $p = 0.02$ ; Figura 41). En *O. degus*, tanto la  $D_m$  medida en HC+ como en la respectiva dieta de aclimatación, no presentan una correlación significativa con la proporción de carbohidratos de la dieta de aclimatación ( $r = 0.04$ ,  $F_{(1,23)} = 0.03$ ,  $p = 0.85$ ;  $r = 0.34$ ,  $F_{(1,22)} = 2.93$ ,  $p = 0.11$ ) y el análisis de pendientes revela que estas no son significativamente diferentes (ANCOVA:  $F_{(1,45)} = 2.12$ ,  $p = 0.152$ ; Figura 41). Además, la pendiente de la regresión de la  $D_m$  de la dieta HC+ en función de la proporción de carbohidratos en la dieta de aclimatación, es significativamente diferente entre ambas especies (ANCOVA:  $F_{(1,46)} = 6.71$ ,  $p = 0.01$ ), lo que no ocurre con la  $D_m$  de las respectivas dietas de aclimatación (ANCOVA:  $F_{(1,45)} = 1.08$ ,  $p = 0.30$ ). Por otro lado



la norma de reacción de la  $D_p$  y  $D_f$  no presentan pendientes diferentes entre ambas especies (ANCOVA:  $F_{(1,41)} = 1.01$ ,  $p = 0.32$ ;  $F_{(1,45)} = 0.753$ ,  $p = 0.39$ ) aún cuando la regresión entre el porcentaje de carbohidratos en la dieta de aclimatación y la digestibilidad de proteína es significativa en *P. darwini* y no en *O. degus* ( $r = -0.57$ ,  $p = 0.004$ ;  $r = 0.07$ ,  $p = 0.72$  para *P. darwini* y *O. degus* respectivamente). Por otro lado, la norma de reacción de la digestibilidad de carbohidratos solubles presenta una significancia marginal entre ambas especies (ANCOVA:  $F_{(1,46)} = 3.41$ ,  $p = 0.06$ , Figura 42), siendo significativa la regresión en la especie *P. darwini* ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.001$ )

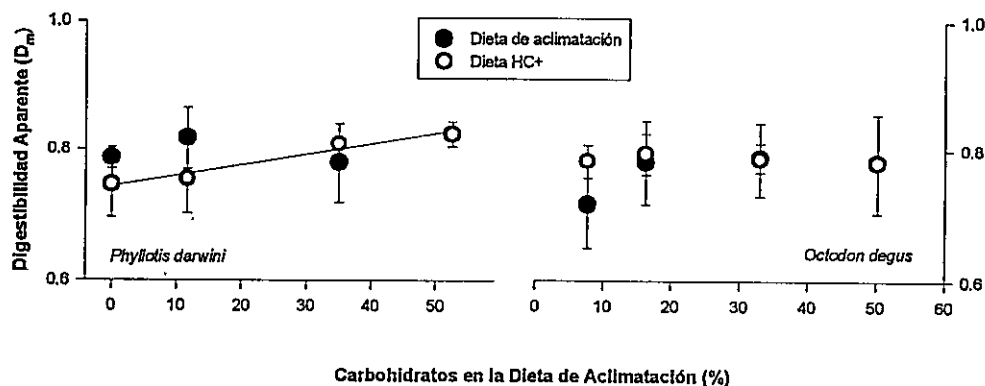


Figura 41.- Norma de reacción para la digestibilidad de materia en *Phyllotis darwini* y *Octodon degus* con respecto a la composición química de la dieta de aclimatación. Nótese que en *P. darwini* la pendiente de la  $D_m$  de la dieta HC+ es distinta de la pendiente de la  $D_m$  de la dieta de aclimatación, lo que no ocurre en *O. degus*. Paralelamente las pendientes de la  $D_m$  de la dieta HC+ son significativamente diferentes entre ambas especies.

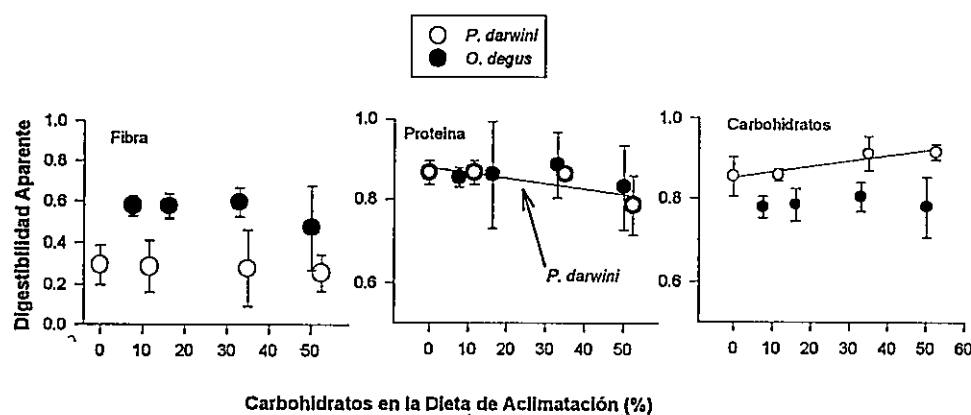


Figura 42.- Norma de reacción para la digestibilidad de tres componentes de la dieta en *Phyllotis darwini* y *Octodon degus* con respecto a la composición química de la dieta de aclimatación. Nótese que en *P. darwini* la pendiente de la digestibilidad de carbohidratos presenta una significancia marginal con respecto a la pendiente encontrada en *O. degus*. En ambas especies tanto la digestibilidad de fibra cruda como de proteína, no presentan pendientes diferentes entre especies.

## Actividad Enzimática

### *Phyllotis darwini*

En esta especie, el nivel de actividad hidrolítica de sacarasa estandarizada por gramo de tejido (UI/g) no se ve afectada por los tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 1.56$ ,  $p = 0.21$ , Figura 43). La actividad de maltasa en cambio sí presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 3.64$ ,  $p = 0.01$ ), siendo mayor esta actividad en el grupo HC- que en el grupo HC-HC+2 (Figura 44).

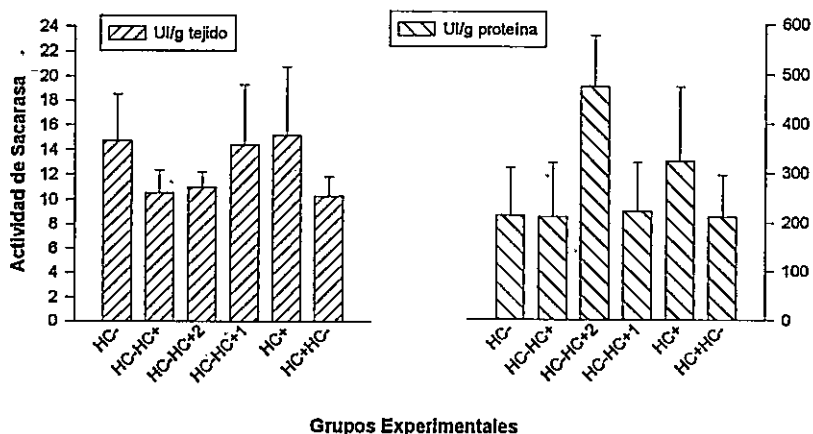


Figura 43.- Actividad de sacarasa intestinal estandarizada por gramo de tejido (izquierda) y por gramo de proteína (derecha) en *Phyllotis darwini*. Ninguna de las dos actividades presenta diferencias significativas entre tratamientos. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

La actividad de aminopeptidasa-N también presenta diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 10.40$ ,  $p < 0.001$ , Figura 45) encontrando mayores valores de actividad en aquellos animales mantenidos con la dieta rica en proteínas. Expresada como UI/g proteína, la actividad de sacarasa no presenta diferencias significativas (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 2.18$ ,  $p = 0.09$ , Figura 43). La actividad de maltasa tampoco presenta diferencias significativas entre tratamientos ANOVA:  $F_{(5,22)} = 0.69$ ,  $p = 0.63$ , Figura 44). La actividad de aminopeptidasa-N estandarizada por gramo de proteína tampoco presenta diferencias significativas entre tratamientos, aunque pareciera haber una tendencia a presentar una mayor actividad el grupo HC+HC- con respecto al grupo HC-HC+ (ANOVA:  $F_{(5,22)} = 2.30$ ,  $p = 0.08$ , Figura 45).

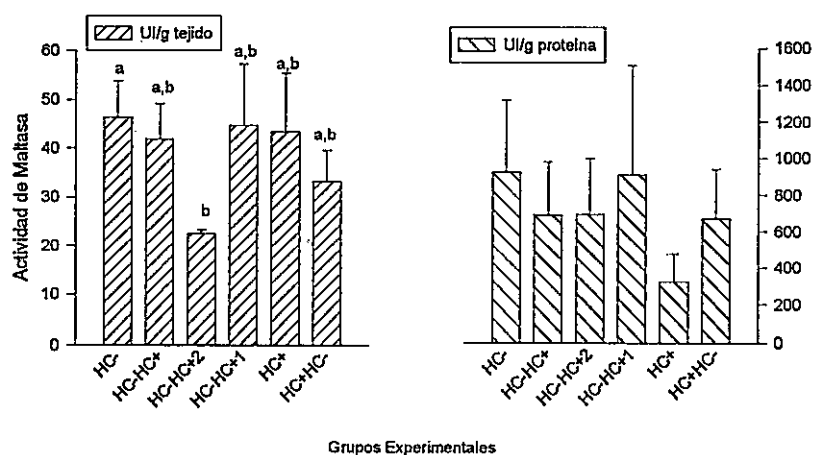


Figura 44.- Actividad de maltasa intestinal estandarizada por gramo de tejido (izquierda) y por gramo de proteína (derecha) en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

La cinética de reacción de las enzimas no se ve afectada por la composición química de la dieta experimental (ANOVA:  $F_{(1,13)} = 0.02$ ,  $p = 0.88$ ;  $F_{(1,13)} = 2.89$ ,  $p = 0.09$ ;  $F_{(1,6)} = 3.0$ ,  $p = 0.09$ ). La  $K_m$  promedio (mM) para sacarasa es de  $17.84 \pm 3.45$ , para maltasa  $1.35 \pm 0.26$  y para aminopeptidasa-N de  $0.096 \pm 0.044$ . Paralelamente, existe una alta correlación entre la actividad de sacarasa y maltasa. Las ecuaciones que describen la actividad de maltasa son las siguientes (Figura 46):

$A_m = 13.87 + 2.03 \cdot A_s$  ( $r = 0.73$ ,  $p < 0.001$ ) para las actividades expresadas como UI/g tejido) y  $A_m = 122.4 + 2.18 \cdot A_s$  ( $r = 0.79$ ,  $p < 0.001$ ) para las actividades expresadas como UI/g proteína, en donde  $A_m$  es la actividad de maltasa y  $A_s$  la actividad de sacarasa.

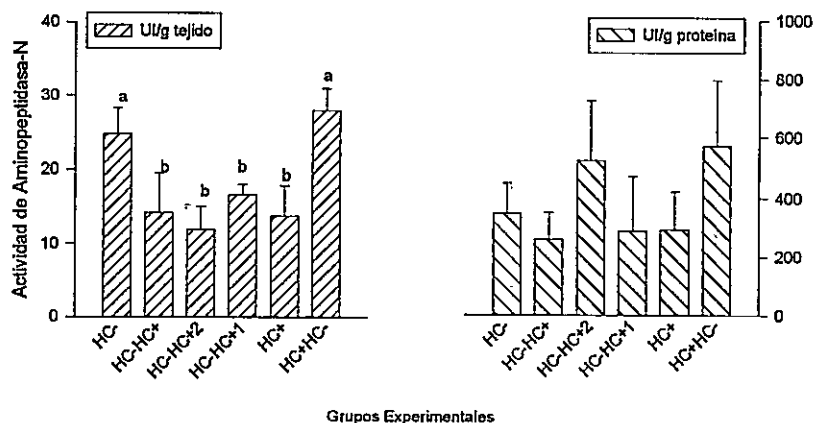


Figura 45.- Actividad de aminopeptidasa-N intestinal estandarizada por gramo de tejido (izquierda) y por gramo de proteína (derecha) en *Phyllotis darwini*. Las líneas verticales representan una desviación estándar. Nomenclatura como en la Figura 2

Contrario a lo esperado, no existe una correlación negativa entre la capacidad hidrolítica de carbohidratos y de proteínas e incluso existe una correlación positiva entre la actividad de aminopeptidasa-N y sacarasa en el caso de la estandarización por gramo de proteína (Spearman:  $r = 0.14$ ,  $p = 0.45$ ;  $r = 0.58$ ,  $p = 0.001$  para la actividad expresada por gramo de tejido y de proteína respectivamente). Debido a que las tres enzimas (expresadas como UI/g proteína) muestran una correlación positiva, es difícil determinar si la variación en sus actividades es el resultado de factores que originan cambios en todas ellas (modulación no específica, sensu Karasov & Diamond 1988) o sólo en alguna, en este caso, aminopeptidasa-N (modulación específica). Para determinar la contribución no específica y específica a la variación total de la actividad enzimática se realizó un análisis multivariado de componentes principales (ACP) (véase Sabat et al. 1998). Este tipo de análisis permite reducir el número de variables correlacionadas a un número menor de

variables no correlacionadas (Manly 1986) que pueden ser interpretadas de una manera simple e intuitiva. El ACP reduce las actividades de las tres enzimas a dos ejes que dan cuenta de más del 93% de la variación total (Tabla 7). Los resultados indican que el primer eje (ACP1) está correlacionado con las tres actividades enzimáticas y da cuenta de la mayor proporción de la variación pudiendo ser interpretado como el eje de actividad no específico. El segundo eje (ACP2) está débil y negativamente correlacionado con maltasa y sacarasa, y positivamente con la actividad de aminopeptidasa-N. Este eje puede ser interpretado como la actividad residual de aminopeptidasa-N cuando el efecto de la variación no específica es removida. Un análisis de varianza sobre rangos, utilizando como factor el tratamiento al cual estuvieron sometidos los animales las últimas dos semanas de vida (HC+ o HC-), revela un efecto fuerte de la dieta sobre el ACP2 (ANOVA:  $F_{(1,26)} = 650.36$ ,  $p < 0.0001$ ) pero no sobre el ACP1 (ANOVA:  $F_{(1,26)} = 0.91$ ,  $p = 0.34$ ). Este resultado sugiere que la inducción no específica no depende de la dieta y puede ser interpretado como la actividad basal de las tres enzimas, mientras que la dieta HC- induce específicamente la actividad de aminopeptidasa-N.

El mismo análisis realizado para la actividad expresada como UI/g tejido revela que el PCA1 que explica más del 59% de la variación total está fuertemente correlacionado con la actividad de disacaridasas y no con aminopeptidasa. El segundo eje, ACP2, que explica más del 31%, está correlacionado con la actividad de aminopeptidasa-N. El ANOVA realizado arroja resultados similares al encontrado para la actividad expresada como UI/g proteína (ANOVA:  $F_{(1,26)} = 0.48$ ,  $p = 0.49$ ;  $F_{(1,26)} = 66.70$ ,

$p < 0.0001$  para el ACP1 y ACP2 respectivamente). Estos resultados sugieren la existencia de una actividad basal de disacaridasas independiente de la dieta y una actividad específicamente inducida por la dieta HC- de aminopeptidasa-N (Tabla 7).

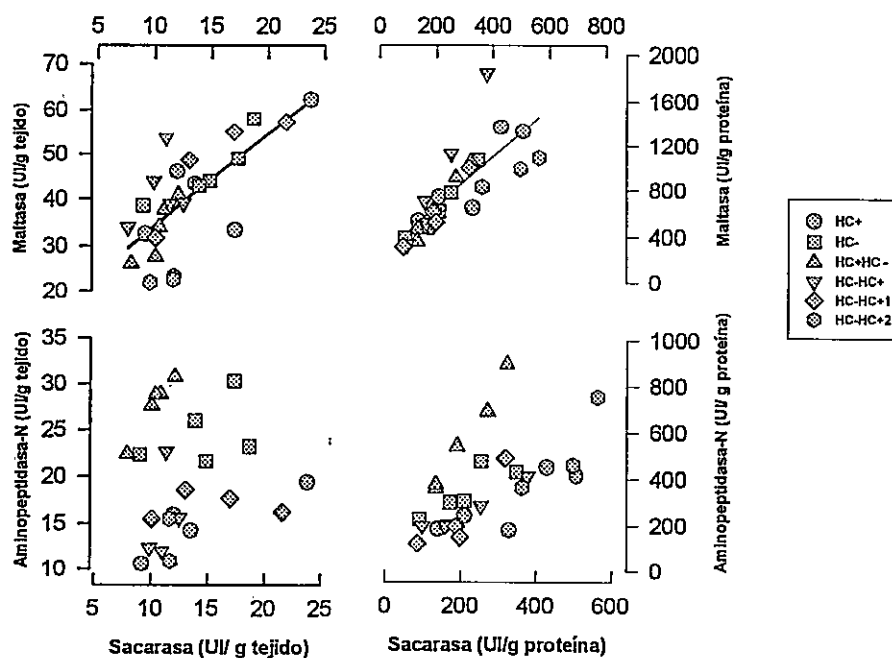


Figura 46.- Relación entre la actividad de sacarasa y las actividades de maltasa y aminopeptidasa-N de *Phyllotis darwini* en todos los tratamientos experimentales. Nótese la correlación entre sacarasa y aminopeptidasa-N expresadas por UI/g proteína.

### *Octodon degus*

La actividad de las tres enzimas estudiadas en esta especie no se ve afectada por la composición química de la dieta (ANOVA sacarasa:  $F_{(5,25)} = 2.34$ ,  $p = 0.071$  y  $F_{(5,25)} = 2.07$ ,  $p = 0.12$ ; ANOVA maltasa:  $F_{(5,25)} = 2.53$ ,  $p = 0.06$  y  $F_{(5,25)} = 1.72$ ,  $p = 0.16$ ; ANOVA aminopeptidasa-N:  $F_{(5,25)} = 0.89$ ,  $p = 0.50$ ,  $F_{(5,25)} = 0.69$ ,  $p = 0.63$  para las

actividades enzimáticas expresadas como UI/g tejido y UI/g proteína respectivamente). La cinética de reacción de las enzimas no se ve afectada por la composición química de la dieta experimental (ANOVA:  $F_{(1,6)} = 0.07$ ,  $p = 0.79$ ;  $F_{(1,6)} = 0.07$ ,  $p = 0.79$ ;  $F_{(1,6)} = 1.41$ ,  $p = 0.28$  para sacarasa maltasa y aminopeptidasa-N respectivamente). La  $K_m$  promedio (mM) para sacarasa es de  $8.66 \pm 2.11$ , para maltasa  $1.10 \pm 0.24$  y para aminopeptidasa-N de  $0.122 \pm 0.05$ . Al igual que en *P. darwini* existe una fuerte correlación entre las actividades de sacarasa y maltasa. Las ecuaciones que describen la actividad de maltasa son las siguientes (Figura 47):

$A_m = 4.48 + 2.29 \cdot A_s$  ( $r = 0.94$   $0.73$ ,  $p < 0.001$ ) para las actividades expresadas como UI/g tejido) y  $A_m = 83.45 + 2.46 \cdot A_s$  ( $r = 0.93$ ,  $p < 0.001$ ) para las actividades expresadas como UI/g proteína. En esta especie también existe una correlación positiva entre la actividad de sacarasa y aminopeptidasa-N (Spearman  $r = 0.44$ ,  $p = 0.01$ ;  $r = 0.61$ ,  $p < 0.001$  para la actividad expresada como UI/g y UI/g proteína respectivamente, Figura 47). El análisis de componentes principales reduce las tres actividades enzimáticas (UI/g proteína) a dos ejes principales que dan cuenta de más del 98% de la varianza (Tabla 7). El eje ACP1 está correlacionado con las tres actividades enzimáticas mientras que el ACP2 se correlaciona débil y negativamente con las disacaridasas y positivamente con aminopeptidasa-N. Ninguno de los dos ejes se ve afectado por la dieta experimental (ANOVA:  $F_{(1,29)} = 1.39$ ,  $p = 0.24$ ;  $F_{(1,29)} = 1.33$ ,  $p = 0.25$  para el ACP1 y ACP2 respectivamente). La actividad estandarizada por gramo de tejido sigue el mismo patrón que para las actividades expresadas como UI/g proteína (Tabla 7). Al igual que el caso



anterior no existe ningún efecto de la dieta sobre los ejes ACP1 y ACP2 (ANOVA :  $F_{(1,29)} = 0.18$ ,  $p = 0.67$  y  $F_{(1,29)} = 0.33$ ,  $p = 0.43$  respectivamente). En este caso, estos resultados sugieren que existe una actividad basal de las tres enzimas que da cuenta de más del 76% de la varianza y una actividad específica de aminopeptidasa-N pero que no está modulada por la composición química de la dieta.

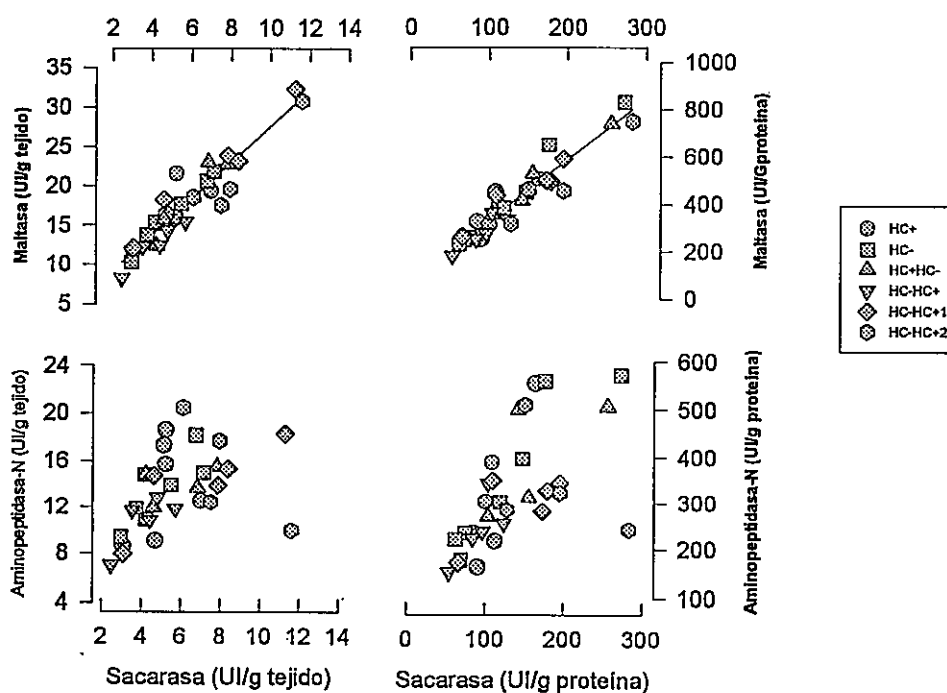


Figura 47.- Relación entre la actividad de sacarasa y las actividades de maltasa y aminopeptidasa-N de *Octodon degus* en todos los tratamientos experimentales. Todas las correlaciones son estadísticamente significativas.

	UI/g proteína		UI/g tejido	
	Eje ACP1	Eje ACP2	Eje ACP1	Eje ACP2
<b>Phyllotis darwini</b>				
<b>Factores de Peso:</b>				
Sacarasa	0.92	-0.20	0.91	-0.22
Maltasa	0.89	-0.23	0.92	-0.14
Aminopectidasa-N	0.79	0.62	0.35	0.94
Eigenvector	2.27	0.53	1.78	0.94
Varianza explicada (%)	76	18	59	32
Varianza Acumulada (%)	76	94	59	91
<b>Octodon degus</b>				
<b>Factores de carga</b>				
Sacarasa	0.94	-0.31	0.94	-0.30
Maltasa	0.97	-0.17	0.96	-0.23
Aminopectidasa-N	0.83	0.56	0.70	0.71
Eigenvector	2.52	0.44	2.89	0.65
Varianza explicada (%)	84	15	76	22
Varianza acumulada (%)	84	98	76	98

Tabla 7.- Ejes del ACP y sus correlaciones con las variables derivados del análisis de las actividades de tres enzimas digestivas en *Phyllotis darwini* y *Octodon degus*.

## Mecanismos Causales y Costos de Aclimatación

Se realizó un análisis multivariado utilizando las variables morfológicas y enzimáticas estandarizadas, como predictor de  $D_m$  y  $D_e$ . Los resultados de esta regresión múltiple revelan las siguientes relaciones para la dieta HC-: ( $D_m$  (HC-) =  $-3.1 + 3.57 L_{id} - 0.31 L_{ig}$ ;  $r = 0.58$ ,  $F_{(2,16)} = 4.18$ ,  $p = 0.03$  y  $D_e$  (HC-) =  $-3.2 + 3.65 L_{id} - 0.27 L_{ig}$ ;  $r = 0.61$ ,  $F_{(2,16)} = 4.64$ ,  $p = 0.02$ ). El análisis realizado para la dieta HC+ revela las siguientes relaciones: ( $D_m$  (HC+) =  $4.14 - 5.15 L_{id} + 0.47L_{ig} + 0.9A_{id} + 0.96 A_m - 0.74 A_s$ ;  $r = 0.84$ ,  $F_{(6,15)} = 6.1251$ ,  $p = 0.002$  y  $D_m$  (HC+) =  $3.51 - 4.45 L_{id} + 0.47L_{ig} + 0.8 A_{id} + 0.94 A_m - 0.70 A_s$ ;  $r = 0.83$ ,  $F_{(6,15)} = 5.57$ ,  $p = 0.003$ ). Las figuras 48 y 49 muestran la relación entre las

variables morfológicas que explican la mayor variabilidad del fenómeno y la digestibilidad aparente de energía.

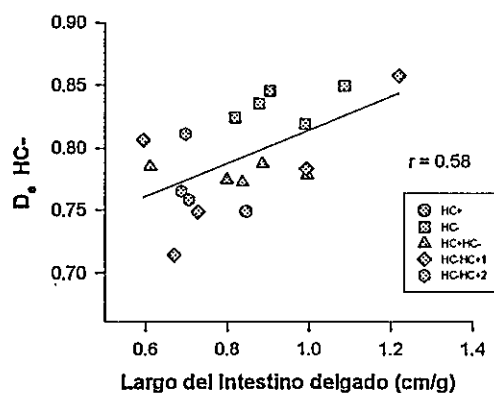


Figura 48.- Relación entre el largo del intestino delgado y la digestibilidad aparente de energía de la dieta rica en proteínas. El coeficiente de correlación es significativo y se desprende del análisis de regresión lineal entre ambas variables.

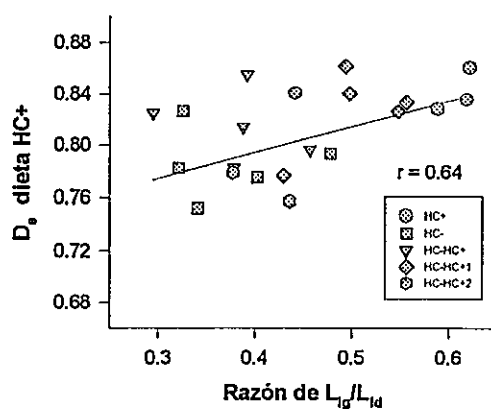


Figura 49.- Relación entre la proporción del intestino delgado e intestino grueso y la digestibilidad aparente de energía de la dieta HC+. El coeficiente de correlación se desprende del análisis de regresión lineal entre ambas variables.

La Figura 50 muestra un resumen de la norma de reacción y flexibilidad de la digestibilidad aparente de materia de las dos dietas experimentales en *P. darwini* y *O. degus*.

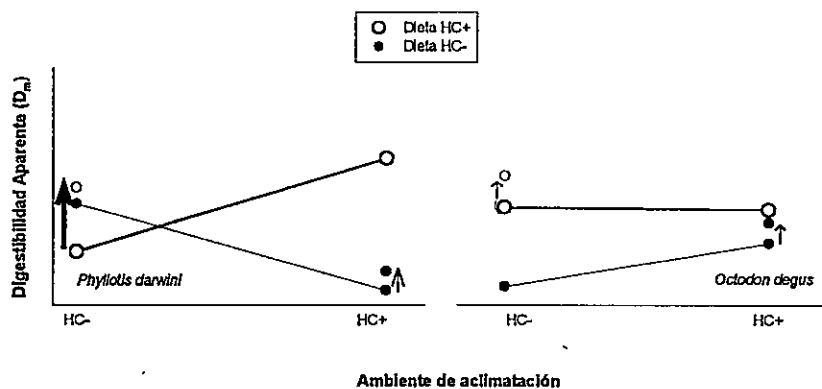


Figura 50.- Norma de reacción y reaclimatación de la función digestiva en individuos de *P. darwini* y *O. degus* sometidos a dos dietas de distinta composición química durante la ontogenia. En *P. darwini* la norma de reacción posee asimetrías en la flexibilidad, *Octodon degus* en cambio presenta una norma de reacción nula e inflexible (véase texto para detalles). Los símbolos solitarios representan los individuos reaclimatados a la dieta alternativa.

## DISCUSIÓN

Retomando los objetivos iniciales de esta tesis, y de acuerdo con el modelo explicativo planteado (Figura 1), se esperaba existiesen costos asociados a la aclimatación a dietas particulares (contrastantes), como también diferencias en las características de la norma de reacción en especies con distinto grado de especialización dietaria. Estas diferencias debieran expresarse tanto en la respuesta fenotípica de las características morfológicas y fisiológicas, como en diferencias en el desempeño digestivo y sus consecuencias sobre el balance energético general de los organismos.

### Ajustes Morfológicos

Aparentemente en *P. darwini* no se observa un efecto del tratamiento experimental sobre la tasa de crecimiento, a juzgar por el peso corporal de los individuos al final del período experimental (véase Tabla 3). *Phyllotis darwini* mantiene una entrada de nutrientes y energía similar, a pesar de las diferencias en la composición química del alimento. Esta situación probablemente es el resultado de modificaciones en las características digestivas junto con ajustes en las vías metabólicas, permitiendo a los individuos de esta especie mantener un balance energético y nutricional similar, a pesar de las variaciones en la composición química de la dieta experimental.

Contrario a lo esperado, aparentemente ninguna de las principales características del tracto digestivo de *P. darwini* son afectadas claramente por la composición química de la dieta de aclimatación. Al contrario de otras especies de vertebrados, incluyendo roedores (Bozinovic 1993b, Batzli et al. 1994, Lee & Houston 1994, Biviano et al. 1993), *P. darwini* aparentemente no muestra ningún ajuste importante en el tracto digestivo a lo largo de su ontogenia. Sin embargo, el largo del intestino grueso sí se ve afectado por el tratamiento experimental, aun cuando estos cambios no se producen entre los dos tratamientos contrastantes (HC+ y HC-), sino que se produce una disminución de  $L_{ig}$  en el tratamiento HC-HC+. Esto sugiere la existencia de plasticidad en la etapa adulta para este órgano y no a lo largo de su desarrollo ontogenético. Junto a esta situación, el hecho de que el  $L_{ig}$  sea menor en el grupo HC-HC+ que en el grupo HC-, sugiere que  $L_{id}$  debiera también disminuir en el grupo HC- HC+ (la prueba *a posteriori* revela una tendencia [ $p = 0.07$ ]) debido a que la razón  $L_{ig}/L_{id}$  no se ve modificada por la reaclimatación (véase Figura 2). Paralelamente, la razón  $L_{ig}/L_{id}$  aparentemente presenta una norma de reacción irreversible, como lo sugiere la similitud entre los valores que presentan los tratamientos HC+HC- y HC-. Al contrario de lo que ocurre con la reaclimatación a la dieta HC-, la reaclimatación a la dieta HC+ sí produce cambios en la razón  $L_{ig}/L_{id}$  (aunque estos cambios no son suficientes como para converger con el valor mostrado por el grupo HC-), lo que sugiere la existencia de un fenómeno de asimetría en la flexibilidad de la norma de reacción para esta variable (Figura 2): Esta respuesta conjunta de las dos secciones del tracto digestivo concuerda con lo observado en comparaciones interespecíficas, donde la razón  $L_{ig}/L_{id}$  es mayor en

especies de roedores herbívoros que en carnívoros (Snipes 1994), lo que a su vez se correlaciona con la proporción de carbohidratos y proteínas de la dieta.

*Octodon degus* por su parte sí presentaría diferencias en la tasa de crecimiento debido a las diferencias en el tamaño corporal de los individuos al final del tratamiento (Tabla 4). Probablemente el menor peso corporal alcanzado por el grupo HC- con respecto al control, se deba a la aparente dificultad que tendría esta especie en metabolizar eficientemente las proteínas de la dieta debido a la ocurrencia de un desbalance nutricional. Concordante con esto, se ha documentado que algunos aminoácidos pueden llegar a ser tóxicos a altas concentraciones (Harper et al. 1970), lo que puede generar desde una disminución en la tasa de ingesta de alimento a la muerte de los individuos. Esta hipótesis se ve reforzada por el hecho que los individuos de *O. degus* mantenidos con una dieta libre de carbohidratos (dieta con alta proteína), son incapaces de sobrevivir a la etapa adulta, aún cuando la aclimatación ocurre desde un estadio temprano del desarrollo. Sin embargo los animales reaclimatados a la dieta HC+ recuperan peso en sólo 15 días, lo que sugiere que aún cuando los animales aclimatados a HC- tendrían dificultades para crecer en esa dieta, no existiría un deterioro fisiológico y morfológico (orgánico) de carácter irreversible. Paralelamente el grupo HC+HC- también alcanza un tamaño corporal superior al del grupo HC-, lo que es consistente con lo reportado para otras especies de vertebrados, que crecen mas rápidamente después de ser cambiados de una dieta pobre en proteínas a una dieta rica en proteínas, que cuando son mantenidos continuamente en una dieta rica en proteínas, lo que estaría dado por

adaptaciones metabólicas a nivel bioquímico (e.g. menor tasa de proteólisis celular y recambio proteico) a una dieta pobre en proteínas (Horie & Ashida 1973). Esta incapacidad fisiológica de *O. degus* de sobrevivir en una dieta exclusiva de proteínas concuerda con la existencia de restricciones funcionales (digestivas y metabólicas) que limitan los procesos de alimentación. Claramente la respuesta fenotípica frente a la aclimatación a dietas ricas en proteínas entre las dos especies modelo pueden ser fundamentales en la determinación de los hábitos alimenticios. Así, *P. darwini* pareciera responder en mejor forma que *O. degus* cuando son sometidos a dietas con una carga proteica importante, lo que probablemente le permite una mayor amplitud de nicho trófico (véase Karasov & Diamond 1988).

Con respecto a las características de la morfología digestiva, *O. degus* presenta rigidez fenotípica para cada una de las medidas del tracto digestivo, y contrario a *P. darwini*, esta especie no presenta cambios en la relación  $L_{ig}/L_{id}$ , cuyos valores no se ven afectados por la dieta de aclimatación. En esta especie, la razón  $L_{ig}/L_{id}$  presenta valores similares al encontrado en los individuos de *P. darwini* aclimatados a la dieta rica en carbohidratos (véase Figura 3). Como se ha discutido extensamente en la literatura, la rigidez fisiológica y morfológica restringirían la capacidad de flexibilidad ecológica, en este caso restringiendo la amplitud de nicho trófico de *O. degus*.

Las diferencias encontradas en el peso seco de los riñones y del hígado en *O. degus* entre los animales aclimatados a la dieta HC- y a la dieta HC+ probablemente esté



relacionado con la alta demanda requerida para detoxificar y eliminar sustancias derivadas de la degradación de aminoácidos, impuesta por una alta carga dietaria de proteínas (Schmidt-Nielsen 1990, Brody 1994). Este hecho está de acuerdo con los incrementos de la masa de los riñones e hígado, reportados en roedores aclimatados a altos niveles de proteína dietaria (Zhao et al. 1996, Hamond & Hanes 1998) lo que a su vez se correlaciona con los niveles de urea en la sangre y la tasa de filtración glomerular.

*Phyllotis darwini* no muestra diferencias significativas entre tratamientos en el peso de estos órganos, aun cuando pareciera haber una tendencia similar a la encontrada en *O. degus* para el peso seco de los riñones (véase Tabla 3). Probablemente, esta aparente diferencia entre *P. darwini* y *O. degus* se relacione con las diferencias naturales de la carga proteica en la dieta natural. Para *P. darwini* la dieta rica en proteínas no es inusual (insectos y tejido animal - ítems habitualmente consumidos por *P. darwini* - poseen cantidades de proteína similares a la dieta HC- [Bell 1990, Brody1994]) por lo cual una carga proteica como la presente en la dieta HC- no debiera producir una hipertrofia marcada y significativa en estos órganos. Por el contrario, la carga proteica de la dieta natural de *O. degus* estaría muy por debajo de la impuesta por la dieta HC- (los pastos poseen entre un 15-20 % de proteína [Van Soest 1982]) lo que exigiría un trabajo excesivo por parte de estos órganos.

Debido a que los resultados de la morfología del tracto digestivo revelan una rigidez en la respuesta fenotípica en *O. degus* y no así en *P. darwini*, no es posible

comparar entre las dos especies cómo la capacidad plástica se ve restringida en función del estadio ontogenético. Es decir, no es posible establecer diferencias en el tiempo crítico de plasticidad. Sin embargo, resulta interesante determinar en qué medida el tiempo de aclimatación a una dieta de composición química particular determina la expresión de las características morfológicas del tracto digestivo, especialmente en la especie que presenta plasticidad fenotípica en estas características.

Para esto, se determinó el grado de correlación existente entre las variables morfológicas y la proporción de tiempo del desarrollo a la cual estuvo sujeto un individuo al tratamiento HC- y HC+. Un análisis de regresión lineal entre la razón  $L_{ig}/L_{id}$  y la proporción de tiempo de permanencia en el tratamiento HC+ revela una fuerte correlación en *P. darwini* ( $r = 0.70$ ,  $F_{(1,21)} = 19.81$ ,  $p < 0.001$ , véase también la Figura 2) y no así en *O. degus* ( $r = 0.15$ ,  $F_{(1,25)} = 0.61$ ,  $p = 0.44$ , véase Figura 3). Junto con esto, la razón  $L_{ig}/L_{id}$  del grupo HC-HC+2 que permaneció dos tercios de su desarrollo en la dieta HC- no presenta diferencias significativas con los grupos HC- y HC+ presentando un valor intermedio. Esto sugiere que este período (2/3 del desarrollo) es probablemente el cercano al tiempo crítico de plasticidad, debido a que los animales adultos aclimatados a la dieta HC- ya no presentan reversibilidad para este carácter. El  $L_{ig}$  en *P. darwini* presenta una correlación significativa con el tiempo al cual estuvo sometido a la dieta HC+ ( $r = 0.52$ ,  $F_{(1,21)} = 7.80$ ,  $p = 0.01$ ) y una correlación débil y no significativa en *O. degus* ( $r = 0.35$ ,  $F_{(1,25)} = 3.58$ ,  $p = 0.07$ ). Como ya se discutió anteriormente, pareciera que en *P. darwini* la plasticidad del intestino grueso se presenta en la etapa adulta y no se

expresa como una norma de reacción con respecto a la composición química de la dieta. Ninguna de las restantes medidas morfológicas del tracto digestivo presentan una dependencia del tiempo mantenido en el tratamiento HC+. Es probable entonces que cuando los animales permanecen cerca de 2/3 del desarrollo en una dieta (en este caso una dieta rica en proteínas), las características del largo del tracto digestivo se mantengan por largo tiempo en la vida de un organismo, como lo han sugerido Tur et al. (1988). Es una situación plausible que organismos que perciben el ambiente de una manera constante pierdan la capacidad de variar reversiblemente las características morfológicas en general, como pareciera ocurrir con las características morfológicas del tracto digestivo. Esto bien pudiera ocurrir debido a que, como la mantención de la capacidad plástica es en sí costosa, pues se requiere una maquinaria sensitiva (e.g. receptores específicos) procesadora y mecanismos reguladores que requieren gastos de energía y materiales, esta maquinaria pudiera verse reprimida por constituir un costo innecesario (véase DeWitt et al. 1998).

### **Flexibilidad y Modulación de Actividades Enzimáticas**

En *P. darwini*, los resultados de los ensayos enzimáticos confirman la flexibilidad de las características relacionadas con las restricciones de hidrólisis y restricción de nutrientes. Sin embargo, sólo la aminopeptidasa-N parece ser sensible y capaz de ser modulada por los substratos específicos (proteína). Debido a que esta actividad es mayor en los grupos

aclimatados a la dieta HC- al menos por 15 días, se puede concluir que esta característica fisiológica digestiva presenta una norma de reacción flexible. Estos resultados concuerdan con la llamada "hipótesis de modulación adaptativa" (Karasov 1992). Sin embargo, contrario a estudios anteriores (Deren et al. 1967, Raul et al. 1978, Sabat et al 1995), la sacarasa y maltasa no exhiben ningún incremento de actividad con el contenido de carbohidratos de la dieta. Mas aún, existe una alta correlación entre las actividades de sacarasa y maltasa y la actividad de aminopeptidasa-N (Figura 46). Como lo sugiere el análisis de Componentes Principales, es posible que exista una actividad enzimática basal no específica de las tres enzimas estudiadas, independiente de la dieta y una actividad de aminopeptidasa-N residual específica, regulada por la proteína dietaria. Estos resultados no son sorprendentes, debido a que se han reportado resultados similares en otros vertebrados (Sabat et al 1998), fenómeno que puede ser común en este grupo. Aún cuando las actividades de disacaridasas aparentemente no concuerdan con la hipótesis de modulación adaptativa, al menos la actividad de aminopeptidasa-N puede ser modulada en una forma específica y sin un efecto a largo plazo de la historia de alimentación. Efectivamente, la actividad de aminopeptidasa-N es similar en los grupos HC- y HC+HC-, aun cuando el último grupo se mantuvo por tres meses en la dieta HC+ antes del período de reaclimatación.

*Octodon degus*, sin embargo, presenta rigidez en la respuesta fenotípica para la actividad de las tres enzimas digestivas. El análisis de Componentes Principales apoya esta hipótesis y sugiere que existe una actividad basal de todas las enzimas y una

actividad residual de aminopeptidasa-N. Sin embargo, contrario a lo que ocurre en *P. darwini*, en esta especie la actividad residual no está modulada por la proteína dietaria (véase Figura 47). Estos resultados también apoyan la hipótesis de modulación adaptativa, debido a que es predecible que especies de hábitos alimentarios especialistas sean incapaces de mostrar plasticidad fisiológica a nivel bioquímico intestinal (Buddington et al. 1991).

Ahora bien, ¿por que la hipótesis de modulación adaptativa pareciera aplicar a la actividad de aminopeptidasa-N y no a las disacaridasas? Como se ha discutido en otros estudios (Sabat et al. 1998), la hipótesis de modulación adaptativa descansa en dos supuestos fundamentales basados en un análisis de costos y beneficios. Según Diamond (1991) la selección natural debiera mantener la plasticidad fisiológica en las proteínas digestivas (enzimas y transportadores de membrana) debido a que mantener proteínas no utilizadas puede ser costoso en energía y nutrientes, en vista de su rápido recambio y debido a que ocupan un espacio innecesario en la membrana apical de los enterocitos. Sin embargo, la hipótesis también requiere de un tercer supuesto que hasta ahora no se ha reconocido, esto es que las enzimas intestinales deben responder de una forma rápida con respecto a los cambios en la dieta. Si los cambios en la actividad enzimática está retrasada con respecto a los cambios en los niveles de substratos dietarios la hipótesis de modulación adaptativa podría no ser aplicable. Es decir, si las variaciones en los niveles de azúcares en la dieta son más rápidos que la respuesta plástica de la actividad enzimática, la selección natural debiera favorecer niveles constitutivos (no inducibles) de

actividad, que aunque puede no ser el óptimo para cada tipo de dieta, puede reflejar el nivel promedio de nutrientes hidrolizados por las proteínas de membrana. Es posible que la respuesta de la aminopeptidasa-N sea más rápida que la respuesta de las disacaridasas (véase Reisenauer & Gray 1985 para el caso de una respuesta rápida de aminopeptidasas en ratas), lo que podría dar cuenta del fenómeno encontrado en *P. darwini*. El mismo razonamiento es útil para explicar las diferencias entre especies con distinto grado de especialización dietaria, como son las dos especies aquí analizadas. Si efectivamente los cambios en los niveles de substrato, particularmente proteína, en la dieta de *O. degus* son menores que la capacidad de respuesta de la actividad de la aminopeptidasa-N, la selección natural debiera favorecer una actividad constitutiva basal que represente el promedio de los niveles de substratos hidrolizados en el intestino delgado.

El hecho de que tanto en *P. darwini* como en *O. degus* exista una relación lineal entre la actividad de sacarasa y maltasa cuyo intercepto es diferente de cero, revela la existencia de dos enzimas involucradas en la hidrólisis de maltosa (Figuras 46 y 47). Estos resultados concuerdan con lo documentado anteriormente para otras especies de vertebrados. Efectivamente la actividad de maltasa dependiente de sacarasa estaría dada por el complejo enzimático sacarasa-isomaltasa, y la actividad independiente de sacarasa por el complejo maltasa-glucoamilasa (Galand 1989, Prosser 1991, Sabat & Bozinovic 1994). Paralelamente, la constancia en la constante de afinidad por el substrato ( $K_m$ ) en ambas especies sugiere que las variaciones en las actividades enzimáticas se deben a

diferencias en la cantidad de proteínas (enzimas), y no a una expresión diferencial de isoenzimas.

### **Función digestiva y costos de aclimatación**

Teóricamente una disminución en el desempeño digestivo debido a un costo de aclimatación podría ser compensado por una respuesta fenotípica plástica adaptativa. Sin embargo, en *P. darwini* aparentemente no se observa dicha compensación, debido a que los animales presentan una disminución en el desempeño digestivo cuando son cambiados a la dieta alternativa, sin un aparente beneficio expresado en un aumento de la digestibilidad en la dieta de aclimatación. Efectivamente, el grupo aclimatado a la dieta HC+ presenta valores de  $D_m$  y la  $D_e$  de la dieta HC+ similares a los presentados por los organismos control (véase Figuras 8 y 11). Sin embargo, se observa una disminución de la  $D_m$  y  $D_e$  cuando el grupo HC+ es cambiado a la dieta HC- (Figuras 10 y 13). Más aún, la digestibilidad de la dieta HC- es mayor en el grupo control que en el grupo HC+ (Figuras 9 y 12). Consecuentemente, la aclimatación a la dieta HC+ no rinde un beneficio en términos de un aumento en el desempeño digestivo expresado como  $D_m$  y  $D_e$ .

En suma, los resultados indican que se produce un costo de aclimatación, en términos de una disminución en la eficiencia digestiva ( $D_m$  y  $D_e$ ) cuando los animales son expuestos a la dieta alternativa. Esta disminución pareciera ser el producto de una condición irreversible, puesto que la  $D_m$  y  $D_e$  de la dieta HC- no presenta un aumento

después de 15 días de aclimatación a la dieta HC-. Efectivamente, la  $D_m$  y  $D_e$  de este grupo son similares a los presentados por el grupo HC+ (Figuras 9 y 11). Sin embargo, los valores encontrados en el grupo HC+HC- no se diferencian del grupo control, por lo que los costos de aclimatación aún cuando no desaparecen en el período de aclimatación al menos parecen disminuir.

En el grupo aclimatado a la dieta HC-, la situación es levemente diferente. Al igual que con el grupo HC+, en este grupo se observa una disminución en la  $D_m$  y  $D_e$  cuando los animales son cambiados a la dieta alternativa (Figuras 10 y 13). Paralelamente, la  $D_m$  y  $D_e$  de la dieta HC+ es menor que la del grupo control, y tampoco se muestra una ventaja en términos de un aumento en el desempeño digestivo en la dieta de aclimatación, puesto que la  $D_m$  y  $D_e$  de esta dieta no difiere de la encontrada en el grupo control. Sin embargo, los animales reaclimatados a la dieta HC- son capaces de aumentar la  $D_m$  de la dieta HC+, alcanzando valores similares a los observados en los grupos HC+ y control (Figura 8) y la  $D_e$  similar al grupo HC+ (Figura 11). Estos resultados en conjunto sugieren entonces que la aclimatación a la dieta HC- sería menos costosa de los animales aclimatados a la dieta HC+, debido a que la reaclimatación del grupo HC- a la dieta HC+ sería mas eficiente que la reaclimatación del grupo HC+ a la dieta HC-.

En *O. degus* en cambio, la respuesta global a la aclimatación a dietas de diferente composición química es diferente a la de *P. darwini*. Aún cuando la aclimatación no



parece traducirse en una respuesta (resultado) adaptativa, puesto que no se evidencia ningún aumento en el desempeño digestivo en la dieta de aclimatación (Figuras 19, 20, 21 y 22), tampoco se observan los costos de aclimatación observados en *P. darwini*, debido a que esta especie sometida a cambios de dieta no disminuye la eficiencia de asimilación de materia y energía. Sin embargo, aunque pareciera ser que el grupo HC-HC+ sí presenta una  $D_m$  mayor en la dieta HC+ que en la dieta HC- (Figura 23), esta última no difiere de la encontrada en el grupo control, por lo que esta disminución no debiera considerarse verdaderamente como un costo de aclimatación. Esta situación no ocurre cuando se analiza la digestibilidad en unidades energéticas, lo que apoya la hipótesis mencionada anteriormente (Figura 24). Aún más, el grupo HC- presenta una tendencia contraria a la esperada de existir costos de aclimatación, puesto que la  $D_m$  de la dieta HC+ es significativamente mayor que la  $D_m$  de la dieta HC- (Figura 23). Nuevamente, es probable que la dieta rica en proteínas produzca en esta especie una disminución de las capacidades biológicas en general y particularmente en las capacidades digestivas, produciendo una disminución de la eficiencia de extracción de nutrientes incluso en la propia dieta de aclimatación. Fenómenos similares se han documentado en aves, en donde aumentos en la concentración de proteína dietaria producen una disminución en la absorción de carbohidratos y proteínas (Ozols & Kuschak 1978).

Cuando se analizan los resultados de cada compuesto de la dieta en forma separada, las conclusiones son esencialmente las mismas que para las dietas experimentales. Esto se verifica debido a que los componentes principales de las dietas

HC- y HC+ son proteína y carbohidratos (almidón), lo que además da como resultado una correlación significativa entre la digestibilidad de materia del componente en particular y de la dieta que tiene a ese componente como mayoritario (Figuras 17,18,28 y 29). Sin embargo en *O. degus* la digestibilidad de carbohidratos solubles presenta una tendencia a aumentar en los animales reaclimatados a la dieta rica en carbohidratos (grupo HC-HC+, Figura 26). A pesar de esta tendencia, los animales no presentan diferencias en el desempeño digestivo de las dietas artificiales. Es necesario hacer notar que podría existir un problema metodológico en la determinación de carbohidratos solubles en las fecas. Como advierte Van Soest (1982), la determinación de esta fracción acumula los errores de las determinaciones previas (e.g. fibra, proteínas) debido a que su determinación se realiza por diferencia. Así, los resultados obtenidos mediante esta metodología debieran analizarse con cautela. Por otra parte, es probable que la digestibilidad de un componente no esté exclusivamente determinado por las características fisiológicas y morfológicas del tracto digestivo de un organismo en particular, sino que también puede ser modulado por el efecto asociado de otros componentes de la dieta (véase Karasov & Diamond 1983 para el caso de transporte de nutrientes). Efectivamente, en un estudio realizado en *O. degus* se reportan diferencias en la digestibilidad aparente de proteínas en animales aclimatados a dos tipos de dieta (Veloso & Bozinovic 1993). En este caso, los aumentos en la digestibilidad de proteína no están dadas por diferencias en la composición de proteína en la dieta de aclimatación, sino mas bien por diferencias en la proporción de fibra.

Por otra parte, el hecho de que la digestibilidad de fibra en *P. darwini* sea mayor en el grupo HC- que en el grupo control (Figura 14) sugiere que existe una compensación, en el sentido de aumentar la glucosa disponible en aquellos animales que tienen restringida la fuente de carbohidratos. Esta situación no ocurre en *O. degus*, debido a que probablemente no están sujetos a una restricción excesiva de carbohidratos. Efectivamente esta especie no está sujeta a la restricción absoluta de carbohidratos solubles a la que está *P. darwini*, y además los valores de  $D_f$  en *O. degus* son superiores a los reportados anteriormente para esta especie consumiendo dietas semi-artificiales (Bozinovic 1995), lo que permitiría una disponibilidad de glucosa mínima adecuada para satisfacer las funciones básicas del organismo. Aumentos en la digestibilidad de fibra se han reportado en roedores aclimatados a dietas de distinta calidad. Por ejemplo, Batzli et al. (1994) documentan que en *Microtus pennsylvanicus* la digestibilidad de dos dietas con marcadas diferencias en el contenido de fibra es mayor en los animales aclimatados por tres semanas a dicha dieta. En este caso la situación es diferente, puesto que no existen diferencias en la calidad (proporción de fibra) de las dietas de aclimatación, por lo que las diferencias de digestibilidad de fibra se deberían a requerimientos nutricionales mas que a una adaptación digestiva específica a un particular componente de la dieta.

Los costos de aclimatación encontrados en *P. darwini* se ven confirmados cuando se observa el balance energético general de los individuos sometidos a un cambio en la dieta. Así, cuando los animales se someten a la dieta HC+ no existe una clara ventaja en aquellos aclimatados a dicha dieta, puesto que los animales sometidos a HC- consumen

suficiente de la dieta HC+ como para no mostrar diferencias de la asimilación neta de materia y energía en comparación al grupo HC+ (Tabla 5). Estos resultados se apoyan en el hecho de que los individuos de *P. darwini* aclimatados a la dieta HC- no presentan una preferencia clara por ninguna de las dos dietas (véase Figura 4). De esta manera *P. darwini* podría compensar la reducción en la digestibilidad de la dieta HC+ con un aumento de la ingesta en dicha dieta. En la dieta HC- sin embargo, el grupo aclimatado a la dieta HC+ claramente disminuye la entrada total de energía, puesto que junto con la disminución de la digestibilidad, se observa una reducción en la ingesta de alimento, lo que puede estar dado por la aparente menor preferencia que estos individuos tendrían por esa dieta (véase Figura 4). Es común encontrar una disminución del consumo de alimento cuando los animales son cambiados de una dieta a otra. Este hecho es probablemente debido a diferencias en la eficiencia de asimilación, y consecuentemente, los animales debieran preferir dietas con valores metabolizables altos (e.g. Bozinovic 1995, Bozinovic and Muñoz-Pedreros 1995, Levey and Karasov 1989) como sucede en los animales aclimatados a la dieta HC+. Cuando los animales se reaclimatan a la dieta HC-, aún cuando aumentarían su digestibilidad a los niveles encontrados en el grupo control (véase Figura 12), su tasa de ingesta de alimento HC- se mantiene tan baja como en el grupo HC+. De esta manera los animales no alcanzan a compensar en forma global la adquisición de materia y energía.

Aparentemente entonces, en *P. darwini* existen costos asociados a la aclimatación a dietas de distinta composición química, costos que se manifestarían no

sólo en disminuciones de la eficiencia digestiva de algunos componentes de la dieta, sino también en el balance energético general. Esta situación se debería en parte a la reducción de la digestibilidad, como a la tasa de ingesta de alimento que, a través de diferencias en las preferencias de alimentación, se ve modificada por la condición de aclimatación. Sin embargo, mi tesis sobre el análisis de costos de aclimatación requiere de una perspectiva general, tomando en cuenta también el gasto energético de los animales. El cociente energético es una variable útil para estimar el balance energético de los individuos, debido a que este índice es un buen estimador de reserva de energía. Valores menores a uno indican un balance energético negativo, mientras que valores mayores que uno indican un excedente de energía, que puede ser asignado a funciones distintas a la mantención (Karasov 1986), tales como reserva, o actividad (e.g. forrajeo) y en último término reproducción (véase Batzli 1986, Kenagy 1987). De esta manera los animales aclimatados a las dos dietas contrastantes no parecen presentar mayores diferencias en su balance energético cuando son sometidos a la dieta HC+. Incluso parece haber un aumento en la capacidad de conservar energía en los animales aclimatados al alimento HC-, fenómeno que podría explicarse por la menor tasa metabólica de reposo en este grupo (Figura 6).

Estos cambios observados en el metabolismo energético concuerdan con el modelo de termogénesis inducida por la dieta. Efectivamente se ha documentado que dietas ricas en proteínas podrían tener un efecto reductor del metabolismo, debido a una menor eficiencia de oxidación de los aminoácidos en comparación con carbohidratos y

lípidos (véase Tulp et al. 1979, Zhao et al. 1996, y referencias incluidas). Paralelamente se ha descrito que dietas ricas en proteína producen una acumulación de tejido adiposo en ratas, lo que probablemente tiene un efecto sobre el metabolismo peso específico debido a que el tejido adiposo es metabólicamente inactivo (Donald et al. 1981, Vick 1987). Sin embargo, los animales del grupo HC- parecen disminuir el peso corporal al ser cambiados de dieta (véase Figura 30), lo que sugiere que este grupo cae en un desbalance energético en esta dieta, a pesar de la compensación en la ingesta de alimento. Cuando este grupo es reaclimatado a la dieta HC+, se observa una mantención del peso corporal, lo que indica que el aumento en la digestibilidad revertiría el desbalance energético mostrado en el grupo HC-. Estas observaciones se ven corroboradas por la existencia de una buena correlación entre el cuociente energético y la razón de peso corporal en los experimentos de asimilación de la dieta HC+ (Figura 39). Las diferencias en el  $C_e$  cuando los animales son sometidos a los experimentos de asimilación en la dieta HC- sugieren que el grupo HC+ mantiene una capacidad de reserva de energía inferior al grupo HC- e incluso menor a los organismos control. Al igual que en el caso anterior, esta situación se puede ver magnificada tanto por la disminución de la tasa metabólica de reposo en el grupo HC- como a la menor ingesta de alimento en estos animales (Tabla 5). Como resultado, los individuos del grupo HC+ presentan una tendencia a la disminución de peso a lo largo de los experimentos (Figura 31). Cuando los animales son reaclimatados a la dieta HC- presentan un aumento en la ingesta, que aunque no alcanza los niveles del grupo HC-, se asemeja a los valores encontrados en el grupo control. Nuevamente, la

asimilación y gasto energético son las variables que explican en gran magnitud la variación en el tamaño corporal (Figura 34).

El caso de *O. degus* es diferente. Debido a que no se observan disminuciones en la digestibilidad de materia y energía cuando los animales son cambiados de dieta, y a la constancia observada en el gasto metabólico, las diferencias de balance energético cuando los animales son expuestos a las distintas dietas experimentales estarían dadas por variaciones en la entrada de energía. Así, cuando los animales son sometidos a la dieta HC+ se observa una mayor entrada neta de energía en el grupo HC-, lo que estaría dado por la mayor tasa de ingesta de alimento en este grupo (véase Tabla 6). Esta situación se revierte cuando los animales son reaclimatados a la dieta HC+, que al bajar la tasa de ingesta, disminuyen también la entrada neta de energía. En la dieta HC- en cambio, el grupo HC+ no disminuye la tasa de consumo y mantiene la entrada de energía similares a los obtenidos en la dieta de aclimatación. Sin embargo, una descompensación ocurre en el grupo HC-, el cual al disminuir la ingesta de alimento, disminuye significativamente la entrada de energía. Nuevamente pareciera ser que la dieta rica en proteínas tiene un efecto negativo en *O. degus*, el cual rechazaría la dieta de aclimatación cuando no tiene disponibilidad de otro recurso. De esta manera, aún cuando esta especie no presenta preferencias por ninguna de las dos dietas extremas, existe una tendencia a presentar menores tasas de ingesta de alimento en esta dieta (Figura 5).

Los resultados obtenidos para el cociente energético confirman lo sugerido anteriormente. Cuando los animales son sometidos a la dieta HC+, no se observa ninguna

ventaja dada por la aclimatación a las dos dietas experimentales. Sin embargo, en la dieta HC- los animales aclimatados a esta dieta presentan una disminución del cociente energético (Figura 37). Al igual que en *P. darwini*, el cociente energético es una buena medida de reserva energética, debido a que se correlaciona con la tasa de ganancia de peso corporal en ambas dietas (Figura 39). En esta especie sin embargo, el cociente energético no se correlaciona con la digestibilidad, reafirmando la idea de que la ganancia neta de energía depende de la tasa de ingesta de alimento. Mas aún, debido a que no existen diferencias en el gasto metabólico de reposo, la dependencia del cociente energético estaría dado exclusivamente por la asimilación de energía.

Con respecto a la dependencia de las medidas de eficiencia digestiva en función del tiempo que permanecieron los animales en la dieta HC+, los resultados reafirman lo señalado anteriormente, en el sentido de que *O. degus* presenta rigidez en las características fenotípicas mientras que *P. darwini* presenta claramente una respuesta plástica. Así la  $D_m$  y  $D_e$  de la dieta HC+ en *P. darwini*, presentan una correlación positiva y significativa con el tiempo de aclimatación a la dieta HC+ ( $r = 0.55$ ,  $F_{(1,29)} = 12.64$ ,  $p < 0.001$  y  $r = 0.68$ ,  $F_{(1,23)} = 20.97$ ,  $p < 0.0001$  respectivamente). En *O. degus* en cambio, no existe una correlación significativa entre la digestibilidad de la dieta HC+ y la proporción de tiempo de aclimatación a la dieta HC+ ( $r = 0.027$ ,  $F_{(1,25)} = 0.018$ ,  $p = 0.89$   $r = 0.29$ ,  $F_{(1,25)} = 2.42$ ,  $p = 0.13$ ). Lo contrario ocurre con la digestibilidad de la dieta HC- en *P. darwini*, que se ve reducida en los grupos mantenidos mayor tiempo del desarrollo con la dieta HC+ ( $r = -0.61$ ,  $F_{(1,19)} = 11.02$ ,  $p < 0.001$  y  $r = -0.63$ ,  $F_{(1,19)} = 12.25$ ,  $p =$



0.003). En *O. degus* la digestibilidad de la dieta HC- es independiente de la proporción de tiempo de aclimatación a la dieta HC+ ( $r = 0.18$ ,  $F_{(1,26)} = 0.92$ ,  $p = 0.34$   $r = 0.13$ ,  $F_{(1,26)} = 0.42$ ,  $p = 0.52$  para  $D_m$  y  $D_e$  respectivamente).

Aparentemente entonces, los costos asociados a la aclimatación están presentes en *P. darwini* y ausentes en *O. degus*. Resulta claro que los costos de aclimatación que he definido en esta tesis estarían dados por la interacción de varios efectos del tratamiento experimental. Por un lado, la reducción en la digestibilidad aparente de materia y energía cuando los animales son sometidos a cambios bruscos en la composición química de la dieta, paralelamente con el efecto de la historia alimentaria sobre las preferencias de aclimatación, determinan las diferencias en la entrada de energía y nutrientes. Claramente la digestibilidad de energía y nutrientes está relacionada con la capacidad de asimilación neta, lo que en *P. darwini* se traduce en una correlación entre el cociente energético y la digestibilidad de energía (véase sección resultados). Por otro lado, la dieta de aclimatación influye sobre el gasto energético de los individuos, determinando directamente el balance energético de éstos. De esta manera, los resultados de esta tesis corroboran la hipótesis de costos de aclimatación. Sin embargo, se hace necesario determinar las posibles causas que expliquen las diferencias entre estas dos especies.

Una de las preguntas que surgen de esta problemática es si existe una correlación entre la plasticidad fenotípica con la existencia de costos de aclimatación. Esta pregunta tiene directa relación con la segunda hipótesis planteada en esta tesis, es decir que la

norma de reacción de las características involucradas en la aclimatación serían de distinta forma en especies generalistas y especialistas (véase a continuación).

### **Norma de Reacción y Especialización Ecológica**

Una primera aproximación al problema revela que en *P. darwini* las características de la morfología digestiva presentan un mayor grado de plasticidad que las de *O. degus*. Concordante con lo anterior, la norma de reacción de la razón  $L_{ig}/L_{id}$  en *O. degus* no presenta una pendiente significativamente distinta de cero, lo que sí ocurre en *P. darwini*, especie en la cual esta característica depende de la proporción de carbohidratos en la dieta de aclimatación (véase también Figura 40). A un nivel interespecífico, la proporción en que el intestino delgado y grueso se presentan en un organismo se correlaciona con la dieta natural (Snipes 1994). Así, organismos que consumen mayor cantidad de proteína presentan un mayor tamaño de su intestino delgado en relación al intestino grueso. El patrón encontrado en *P. darwini* pareciera mostrar una congruencia entre el efecto de la plasticidad fenotípica con las diferencias encontradas a un nivel interespecífico. Sin embargo, como se sugirió anteriormente, no existiría ninguna ventaja adaptativa (a una escala fisiológica) de la aclimatación a dietas de distinta composición química, debido a que no existen diferencias significativas en el desempeño digestivo entre los organismos aclimatados y evaluados en una dieta respecto del grupo control evaluado en la misma dieta. Esta situación, que podría denominarse ventaja inmediata, (i.e. el esperable aumento en la digestibilidad) puede contraponerse a una ventaja global (a mas largo

plazo), que incorpore otras variables tales como el presupuesto de tiempo y optimización de la entrada total de energía.

Usando el modelo de digestión óptima propuesto por Sibly (1981), se puede entender por qué la aclimatación tiene este efecto sobre la morfología del intestino en *P. darwini* y en qué medida podría o no ser ventajoso (adaptativo en escala fisiológica). Según este modelo, existe un tiempo óptimo de digestión (tiempo de retención del alimento) al cual la tasa neta de entrada de energía obtenida es maximizada. Este tiempo de digestión óptimo también depende del tipo de dieta involucrada, debido a que existen diferencias en el tiempo requerido para la hidrólisis y absorción de los distintos componentes químicos (Karasov 1996). Aun cuando la tasa máxima de entrada de energía por unidad de tiempo sea similar entre ambas dietas, esta tasa máxima de energía absorbida puede ser obtenida antes para las dietas ricas en carbohidratos (véase Levey & Karasov 1992). De esta manera, el poseer un intestino delgado comparativamente mas corto en animales aclimatados a dietas ricas en carbohidratos, permitiría optimizar el tiempo en el cual el alimento es procesado.

Por el contrario, un tiempo de retención mayor permitiría optimizar la tasa de entrada de energía en animales aclimatados a una dieta rica en proteínas. Cabe hacer notar que los resultados del tiempo de retención del alimento aparentemente no avalan esta proposición, debido a que no presenta diferencias entre tratamientos. Sin embargo, el tiempo de retención del alimento estimado involucra a todas las cámaras digestivas, por

lo que es muy probable que al cambiar la proporción de largos del intestino grueso y delgado varíe también la proporción de tiempo en que el alimento permanece en cada segmento del tracto digestivo. Entonces, si efectivamente estas modificaciones causadas por la aclimatación son adaptativas, ¿en qué medida podrían generar costos globales en la entrada de energía y causar así costos de adaptación?

Siguiendo el análisis del modelo de digestión óptima, se deduce que cualquier modificación en el tiempo de retención, ya sea aumentando o disminuyéndolo, disminuirá la pendiente de la función que describe la ganancia neta de energía (véase figura 51). Además, si el tiempo de retención óptimo es diferente entre las dietas HC+ y HC-, se observará un compromiso en la adquisición de energía cuando los animales sean sometidos a cambios en la dieta. Así, un cambio en el tiempo óptimo de digestión provocará una disminución en la tasa de energía obtenida. Concordante con lo anterior, cuando los animales aclimatados a la dieta rica en carbohidratos (HC+) son cambiados a la dieta rica en proteínas (HC-), se observa una disminución de la ingesta de alimento. Probablemente estos animales también exhiben un aumento en el tiempo de digestión evitando así una disminución adicional en la digestibilidad aparente (Tabla 5).

Por otro lado, las diferencias en el efecto de la aclimatación a dietas sobre la actividad hidrolítica puede también tener un efecto directo sobre los costos de aclimatación. Por ejemplo, los animales aclimatados a HC+ poseen niveles inferiores de actividad enzimática relacionada con la hidrólisis de proteínas (aminopeptidasa-N), por

lo que un cambio brusco de dieta debiera resultar en una disminución de la digestibilidad de proteínas. Esto se debe a que la cinética de expresión de estas enzimas estaría retrasado con respecto al cambio de dieta (véase Raul et al 1980, 1987). De esta manera en los experimentos de asimilación, luego del cambio de dieta, los niveles de actividad hidrolítica serían insuficientes o al menos inferiores que en animales aclimatados por 15 días a la dieta. En *O. degus* la actividad enzimática es independiente de la dieta de aclimatación, lo que determina que los niveles de hidrólisis se mantienen constantes a pesar de cambios bruscos en la dieta.

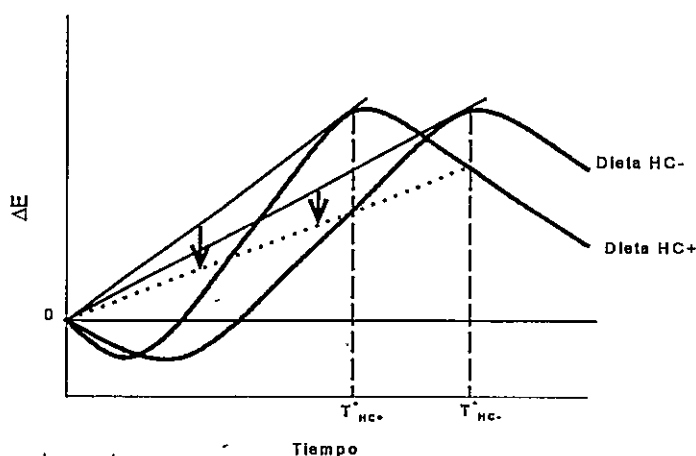


Figura 51.- Relación hipotética de la función de entrada de energía y el tiempo de digestión (curva continua) para dos dietas de diferente composición química (modificada de Sibly 1981). Las líneas segmentadas verticales indican el tiempo óptimo de digestión de las diferentes dietas, el que está determinado por la maximización de la entrada de energía por unidad de tiempo (mayor pendiente de la recta delgada continua- que intercepta la función de entrada de energía). Nótese que cualquier distanciamiento del tiempo de digestión óptimo de ambas dietas produce una disminución de la pendiente (flechas verticales) en la nueva función de entrada de energía (recta segmentada), lo que es probablemente lo que sucede cuando los animales aclimatados a una dieta cambian bruscamente la composición química del alimento.  $\Delta E$ , entrada de energía;  $T^*$ , tiempo óptimo de digestión. Tiempo y energía en unidades arbitrarias.

Parece notorio entonces que la plasticidad fenotípica a nivel del tracto digestivo mostrada por *P. darwini* puede explicar en parte las diferencias en la presencia de costos de aclimatación a las dietas. Como resultado, se observa que la norma de reacción del desempeño digestivo presenta también diferencias entre las dos especies. Además, en *P. darwini* se observa una compensación fisiológica de la función digestiva en cada una de las dietas de aclimatación, lo que apoya la idea de la existencia de ajustes fisiológicos adaptativos. Efectivamente, la  $D_m$  de las dietas de aclimatación no muestra una relación significativa con la proporción de carbohidratos en la dieta. Paralelamente la digestibilidad de la dieta HC+ depende de la dieta de aclimatación lo que concuerda con la hipótesis de costos de aclimatación (Figura 41). En *O. degus* no existen diferencias entre ambas funciones, lo que aparentemente concuerda con lo esperado para las especies de hábitos alimentarios especialistas. Lo mismo sucede al analizar cada uno de los componentes de la dieta.

Como era de esperar, la digestibilidad de proteína depende del porcentaje de proteína en la dieta de aclimatación, y lo contrario ocurre con la digestibilidad de carbohidratos solubles (Figura 42). De esta manera, la existencia de costos de aclimatación expresados como un compromiso entre digerir distintos componentes de la dieta (e.g. proteínas, carbohidratos) está relacionado con la norma de reacción de las características digestivas y su grado de flexibilidad.

*O. degus*, un animal descrito como especialista que presenta una norma de reacción de pendiente nula para todas las características digestivas analizadas, no presenta costos evidentes asociados a la aclimatación a dietas de distinta composición química. Según el modelo planteado (véase Figura 1) se esperaba que los organismos generalistas fuesen más plásticos en la etapa adulta y presentasen así una norma de reacción con mayor pendiente que un organismo especialista. Esta situación se cumple parcialmente, ya que *P. darwini* presenta una norma de reacción de la función digestiva con pendiente distinta de cero y con cierta capacidad de flexibilidad en cuanto a las características morfológicas y completamente en lo que se refiere a la capacidad hidrolítica. Así, esta especie puede minimizar los costos de aclimatación si se reaclimata a la nueva condición ambiental, en este caso una nueva dieta (véase Figura 50). El caso de *O. degus* corresponde a lo esperado para especies de hábitos alimentarios especialistas. La ausencia de plasticidad digestiva, tanto morfológica como fisiológica (enzimas digestivas) en la etapa adulta, junto con una norma de reacción de pendiente nula determina que esta especie no esté sujeta a los costos de aclimatación presente en *P. darwini*. Usando el lenguaje de la biología evolutiva, si las variaciones en la dieta o en la composición de nutrientes es muy baja, el organismo percibe al ambiente como grano fino (sensu Levins 1968), y la selección natural debiera favorecer la expresión de "no-plasticidad" (rigidez fenotípica). Sin embargo, surge una discrepancia con lo estrictamente esperado según el modelo planteado en la Figura 1B y 1D. Efectivamente la norma de reacción nula e inflexible de *O. degus* no aparece como una respuesta posible de un organismo especialista. Sin embargo, esta posibilidad está implícita en el modelo

(véase Figura 1B), en el cual se plantea que la magnitud de la pendiente de la norma de reacción en un organismo especialista sería proporcional a la magnitud de la flexibilidad (fisiológica y morfológica) en la etapa adulta. Al no poseer *O. degus* ningún tipo de flexibilidad en las características del tracto digestivo, es también esperable que no presente una función de la norma de reacción significativamente distinta de cero (Figura 50).

### **Posibles Mecanismos Causales de los Costos de Aclimatación**

Una serie de modelos matemáticos han sido postulados para predecir o analizar la función digestiva en vertebrados (Sibly 1981, Penry & Jumars 1986). Se ha postulado que los factores más importantes relacionados con el procesamiento del alimento es el tiempo gastado en el tracto digestivo, el volumen y el área del tracto digestivo (Martínez del Río et al. 1994), junto con la tasa de reacción específica que estaría determinado por los niveles de hidrólisis y transporte de nutrientes (Penry 1993). Con el objeto de explorar los posibles mecanismos causales que expliquen la disminución del desempeño digestivo cuando los animales son cambiados de dieta, se realizó un análisis multivariado de regresión utilizando las variables morfológicas y enzimáticas estandarizadas, como predictor de  $D_m$  y  $D_e$ .



Los resultados de esta regresión múltiple revelan que el largo del intestino delgado y el largo del intestino grueso dan cuenta de la mayor proporción de la varianza de la digestibilidad de la dieta HC-. Las relaciones encontradas revelan que el largo del intestino delgado y del intestino grueso tienen un efecto antagónico sobre la digestibilidad de la dieta HC- (véase sección resultados y Figura 48). Paralelamente, la digestibilidad de la dieta HC+ depende no sólo de  $L_{id}$  y  $L_{ig}$ , sino también de la actividad enzimática y el área del intestino (véase sección resultados y Figura 49). Claramente, el efecto antagónico del largo de las dos secciones del intestino pueden relacionarse con la razón  $L_{ig}/L_{id}$ . Así, la dieta HC- es digerida con mayor eficiencia cuando el  $L_{id}$  es mayor y el  $L_{ig}$  tiene menores valores (cuando la proporción  $L_{ig}/L_{id}$  es menor), como es el caso de los animales aclimatados a esa dieta. De esta manera, cuando los animales del grupo HC+ son reaclimatados a la dieta HC-, pareciera haber una disminución en la razón  $L_{ig}/L_{id}$ , que junto con el aumento de la actividad de aminopeptidasa-N, podrían explicar el leve aumento de la digestibilidad en esta dieta.

Sin embargo, el aumento de la digestibilidad no pareciera ser importante, por lo que los costos de aclimatación en este caso debieran considerarse como resultado de una condición irreversible. Como ya se mencionó, la digestión de proteínas requiere mas tiempo para que ocurra la hidrólisis y posteriormente la absorción de sus componentes (aminoácidos). Así, el aumento de digestibilidad de proteínas podría lograrse mediante el aumento del largo del intestino delgado (véase Figura 48) o disminuyendo la ingesta de materia con el fin de disminuir el tiempo de retención del alimento (en este caso, el

tiempo en el intestino delgado). Por el contrario, la digestibilidad de la dieta HC+ dependería del efecto positivo del largo del intestino grueso y negativo del largo del intestino delgado. Nuevamente, el efecto antagónico de estas dos secciones del tracto digestivo indica que la razón  $L_{ig}/L_{id}$  es un factor importante que determinaría en parte el desempeño digestivo en esta dieta (Figura 49). Concordantemente, los animales del grupo HC-, cuyo tracto digestivo es caracterizado por una mayor contribución del intestino delgado, cuando son reaclimatados a la dieta HC+, aunque no cambian significativamente la razón  $L_{ig}/L_{id}$ , disminuyen el  $L_{ig}$  junto con una tendencia a disminuir el  $L_{id}$ . Estas modificaciones morfológicas podrían contribuir en el aumento de la digestibilidad de esta dieta, probablemente por el efecto agonista de la disminución del largo del intestino delgado y el probable aumento del peso del intestino delgado (que presenta una tendencia a aumentar en el período de reaclimatación [véase sección resultados]), lo que proporcionaría una mayor superficie de absorción e hidrólisis para la nueva dieta. Debido a que la actividad de las disacaridasas es independiente de la dieta, el efecto sobre el desempeño digestivo probablemente sea el resultado de variaciones individuales que podrían incidir en el nivel de hidrólisis global.

Uno de los aspectos que no se han estudiado en esta tesis, pero que pueden complementar la explicación del fenómeno de reducción de digestibilidad que acompaña a los cambios de dieta, es lo referido a la acción de enzimas producidas por los órganos anexos al tubo digestivo (e.g. páncreas). Efectivamente, se ha descrito que cuando se ha mantenido a ratas con una dieta rica en proteínas a lo largo del desarrollo, la actividad de

amilasa pancreática disminuye (Houghton et al. 1983). Además, cuando estos animales son cambiados de una dieta rica en proteínas (80%) a una dieta con un contenido menor (similar al de las dietas experimentales de esta tesis [22%]), las cantidades de zimógenos de amilasa disminuye notoriamente. Esto probablemente se deba a un desajuste metabólico, producto del cambio brusco en la cantidad de aminoácidos disponibles para la síntesis de proteínas (Schik et al. 1984). Esta situación podría explicar en parte la disminución de la digestibilidad de la dieta HC+ en animales cambiados de HC- a HC+, aun cuando las disacaridasas no presenten mayor variación. Esto probablemente se deba al hecho de que la cinética de disminución de las disacaridasas por efecto de la dieta es considerablemente más lenta que la de síntesis de disacaridasas (véase Biviano et al. 1993) y probablemente respondan en forma mas lenta al desajuste metabólico antes mencionado. Por otra parte, Keroua & Belleville (1981) documentan que ratas aclimatadas a dietas baja en proteínas disminuyen los niveles de secreción y de actividad enzimática pancreáticas, y aún cuando la reaclimatación a una dieta con mayor cantidad de proteína tiende a recuperar los niveles de actividad normales, después de 18 días no se recuperan completamente. Este fenómeno podría actuar en conjunto con los fenómenos de cambios morfológicos, y explicaría la disminución de la digestibilidad de la dieta HC- en animales del grupo HC+.

Es interesante que aún cuando los niveles de disacaridasas recuperan los niveles normales para la dieta HC- en 15 días (grupo HC-HC+) la actividad de enzimas proteolíticas pancreáticas (e.g. tripsina) no se recuperan si no hasta después de 18 días.

Este hecho podría explicar la recuperación incompleta del desempeño digestivo en el grupo reaclimatado a la dieta HC-. Efectivamente, la actividad de aminopeptidasa-N es una condición necesaria pero no suficiente para la degradación de proteínas, debido a que los substratos de esta enzima son dipéptidos, los que se liberan al lumen del intestino por la acción de otras proteasas, tales como la tripsina (Johnson 1977, Vonk & Western 1984).

Finalmente, la degradación eficiente de los substratos dietarios depende de la morfología digestiva, especialmente el largo del intestino, que probablemente determina el tiempo al cual el alimento está sujeto a las transformaciones químicas de manera de poder ser degradado y absorbido por los enterocitos. Paralelamente, la acción de las enzimas constituyentes de la chapa estriada de los enterocitos requieren de la acción previa de enzimas secretadas por otros órganos del sistema digestivo (e.g. páncreas), de manera que la deficiencia de cualquiera de estas actividades determinará una disminución en la digestibilidad de los substratos específicos. Así, los cambios fenotípicos producidos por la aclimatación a nivel de la morfología y bioquímica digestiva determinan la magnitud de los costos de aclimatación tanto como su reversibilidad.

## CONCLUSIONES

Aun cuando existe un claro efecto de costos de aclimatación a dietas de distinta composición química, expresado como una disminución en el desempeño digestivo, éstos deben ser analizados cuidadosamente en términos de sus consecuencias ecológicas. Es posible que una disminución en el desempeño digestivo de los individuos de *P. darwini*, expresado tanto a niveles inmediatos como de mediano plazo (8.7% y 5.5% para los animales aclimatados a HC+ y HC- respectivamente), no sean relevantes si es que los animales son capaces de aumentar la ingesta de alimento, manteniendo un balance energético y nutricional positivo. Sin embargo, una respuesta general que involucre cambios en la cantidad de alimento consumido, cambios en el cociente energético, junto a cambios en la digestibilidad aparente, tienen un importante efecto sobre el balance energético general. Estos costos podrían ser cruciales en ambientes con marcada estacionalidad en la disponibilidad de recursos, o bien, en situaciones de cuello de botella nutricional en que la disponibilidad de recursos tróficos sea limitante.

Resulta claro que cambios fenotípicos producidos por aclimatación o aclimatización en un ambiente particular, puede ser ventajoso si la plasticidad fenotípica ha sido seleccionada durante la historia evolutiva del organismo. Sin embargo, los resultados de esta tesis sugieren fuertemente que es necesario ser cautelosos en definir cada cambio fenotípico en el tracto digestivo (y probablemente en otras variables morfológicas y fisiológicas) como “adaptativo” sin tomar en cuenta los posibles costos

que la aclimatación pueda presentar, especialmente cuando la aclimatación se establece a lo largo de la ontogenia. Paralelamente, esta tesis sugiere que tanto los costos de aclimatación como el posible valor adaptativo dependerán de la escala temporal y de organización a la cual se analiza el fenómeno. Por ejemplo, el análisis del desempeño digestivo inmediato (digestibilidad aparente) sugiere que no existiría ninguna ventaja adaptativa de la aclimatación a dietas de distinta composición química. Sin embargo, si el análisis se extiende a la tasa de consumo y a la tasa de entrada de energía, según criterios de optimización de la función digestiva, pareciera ocurrir un fenómeno de plasticidad adaptativa.

Como era de esperar, la existencia de los costos asociados a la aclimatación dependen de la plasticidad de las características morfológicas y fisiológicas involucradas en el proceso digestivo. Como se ha discutido anteriormente, las diferencias en la norma de reacción de dichas variables determinan la magnitud de los costos como su reversibilidad. De esta manera, las especies que poseen plasticidad a nivel de las características digestivas, junto con ser capaces de flexibilizar sus hábitos alimentarios con respecto a la abundancia y/o disponibilidad ambiental, están sujetos a sufrir los costos de aclimatación, especialmente cuando la aclimatación o aclimatización se produce con respecto de una variable ambiental poco frecuente o inusual.

El objetivo fundamental de esta tesis fue estudiar los cambios producidos por la aclimatación a dietas de distinta composición química desde una perspectiva de los costos

que este fenómeno tiene asociado. Debido a que dichos costos pueden manifestarse a distintas escalas temporales y de organización biológica, y pueden tener consecuencias sobre la adecuación biológica de un organismo, la aproximación aquí realizada probablemente sea un primer paso en la comprensión de las consecuencias ecológicas y evolutivas de este fenómeno. Por ahora, queda bastante claro que el fenómeno de aclimatación a diferentes dietas tiene consecuencias inmediatas sobre el estatus nutricional, metabólico y probablemente conductual (Figura 52) de los organismos, lo que seguramente ha incidido en la evolución de las distintas formas de plasticidad fenotípica. Es posible que las conclusiones aquí expuestas permitan en el futuro la formulación de hipótesis que apunten al estudio de dicha problemática, probablemente incorporando variables que estimen directamente estimaciones de adecuación biológica, selección fenotípica o variabilidad genética asociadas a los fenómenos de plasticidad fenotípica.

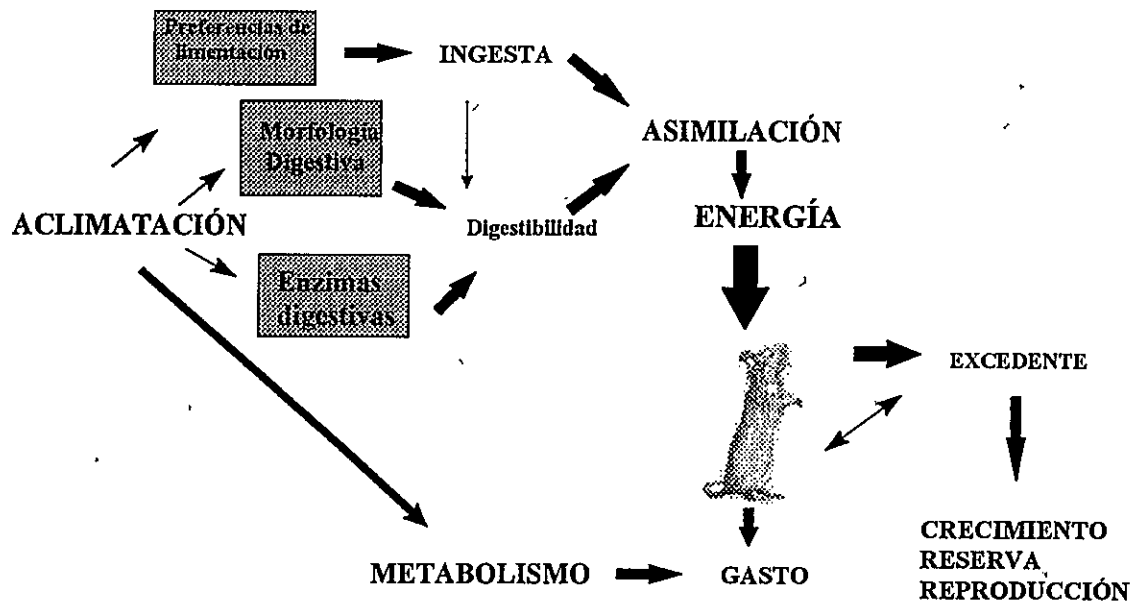


Figura 52.- Esquema explicativo de los efectos de la aclimatación a dietas de distinta composición química en roedores.



**BIBLIOGRAFIA**

- AOAC (Asociacion of Official Analytical Chemists) (1980) Official methods of analitical chemist. 13 th. Edition. Association of Official Analytical Chemist, Washington, D.C., 469 pp
- BALDWIN K.M. & W.W. WINDER (1977) Adaptive responses in different types of muscle fibers to endurance exercise. *Amm. Ny Ac. Sci.*, 301:411-423.
- BALLINGER R.E. & M.E. NEWLIN (1975) Altitudinal acclimation and seasonal variation in hemoglobin of the iguanid lizard *Sceloporus jarrovi*. *Physiol. Zool.* 48:93-96.
- BATZLI G. O. (1986) Nutritional ecology of the california vole:effects of food quality on reproduction. *Ecology*, 67:406-412.
- BATZLI G. O., A. D. BROUSSARD & R. J. OLIVER (1994) The integrated processing response in herbivorous small mammals Pp 334-336 in Chivers D. J. And P. Langer ed. *The Digestive System in Mammals*. Cambridge University Press, Cambridge.
- BELL G.P. (1990) Birds and mammals on an insect diet: a primer on diet composition analysis in relation to ecological energetics. In Morrison M.L., C.J. Ralph, J. Verner & J.R.Jehl (Eds) *Avian foraging: theory, methodology, and applicattion*:416-422. *Studies in Avian Biology* 13, Cooper Ornithological Society, Kansas.

- BIVIANO AB, C MARTÍNEZ DEL RIO & DL PHILLIPS (1993) Ontogenesis of intestine morphology and intestinal disaccharidases in chickens (*Gallus gallus*) fed contrasting purified diets. J. Comp. Physiol B. 163:508-510.
- BJORNDAL J.K., H. SUGANUMA & A.B. BOLTEN (1991) Digestive fermentation in green turtles, *Chelonia midas*, feeding on algae. Bull. Mar. Sci. 48:166-171.
- BOSQUE C. & O. DE PARKA (1992) Digestive efficiency and rate of food passage in ollbird nestlings. The Condor, 34:557-571.
- BOZINOVIC, F. (1993a) Nutritional ecophysiology of the Andean mouse *Abrothrix andinus*: energy requirements, food quality and turnover time. Comp. Biochem. Physiol. 104A: 601-604
- BOZINOVIC, F (1993b) Nutritional ecophysiology of the andean mouse *Abrothrix andinus*: energy requirements, food quality and turnover time. Comp. Biochem. Physiol. 3:601-604.
- BOZINOVIC, F (1995) Nutritional energetics and digestive responses of an herbivorous rodent (*Octodon degus*) to different levels of dietary fiber. J. Mamm. 76:267-637.
- BOZINOVIC, F., C. VELOSO & M. ROSENMAN (1989) Cambios en el tracto digestivo de *Abrothrix andinus* (Cricetidae): efecto de la calidad de la dieta y requerimientos de energía. Rev. Chil. Hist. Nat.. 61 :245-251.
- BOZINOVIC, F., F.F., NOVOA & C., VELOSO (1990) Seasonal changes in energy expenditure and digestive tract of *Abrothrix andinus* in the Andes range. Physiol. Zool. 63: 1216-1231.

- BOZINOVIC, F. & J.F.MERRIT (1991) Conducta, estructura y función de micromamíferos en ambientes estacionales: mecanismos compensatorios. Rev. Chil. Hist. Nat. 64:19-28.
- BOZINOVIC, F. & A. MUÑOZ-PEDREROS (1995) Nutritional ecology and digestive responses of an omnivorous-insectivorous rodent (*Abrothrix longipellis*) feeding on fungus. Physiol. Zool. 68: 474-489.
- BRADFORD, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.
- BRODY T. (1994) Nutritional Biochemistry. Academic Press, Boston. 658 pp.
- BRONSON FH (1989) Mammalian reproductive biology. University of Chicago Press, Chicago.
- BROOKS D.R. & McLENNANN (1991) Phylogeny, ecology, and behavior: a research program in comparative biology. University of Chicago Press. Chicago.
- BUDDINGTON, R.K., J.W., CHEN & J.M., DIAMOND (1987) Genetic and phenotypic adaptation of intestinal nutrient transport to diet in fish. J. Physiol. 393:261-281.
- BUDDINGTON, R.K., J.W., CHEN & J.M., DIAMOND (1991) Dietary regulation of intestinal brush-border sugar and aminoacid transport in carnivores. Am. J. Physiol. 261:R793-R801.

- BUDDINGTON RK, JW CHEN & J DIAMOND (1991) Dietary regulation of intestinal brush-border sugar and aminoacid transprt in carnivores. *Am. J. Physiol.* 261:R793-R801
- CASTRO, G., J. P. MYERS & A. R. PLACE (1989) Assimilation efficiency of sanderlings (*Calidris alba*) feeding on horseshoe crab (*Limulus polyphemus*). *Physiol. Zool.* 62:716-731.
- CLARK M.M., L. TUCKER & B.G. GALEFF JR. (1992) Stud males and dud males: intrauterine position effects on the reproductive succes of male gerbils. *Anim. Behav.* 43:215-221.
- CONOVER D.O. & E.T. SCHULTZ (1995) Phenotypic similarity and evolutionary significance of countergradient variation. *Trends Ecol. Evol.* 10:248-252.
- DE JONG J. (1995) Phenotypic Plasticity as a product of selection in a variable enviromernt. *Am. Nat.* 145:493-512.
- DeWIIT T. J, A. SIH & D. S. WILSON (1998). Vost and limits of phenotypic plasticity. *Trends Ecol. Evol.* 13:77-81.
- DALQVIST, A. (1964). Method for assay of intestinal disaccharidases. *Ann. Biochem.* 7: 18-25.
- DIAMOND, J.M. (1986) Why do disused proteins become genetically lost or repressed?. *Nature* 321:565-566.
- DIAMOND, J.M. (1991) Evolutionary design of intestinal nutrient absortion: enough but too much. *News Phys. Sci.* 6: 92-96

- DIAMOND JM & WH KARASOV (1984) Effect of dietary carbohydrate on monosaccharide uptake by mouse small intestine in vitro. *J. Physiol.* 349:419-440.
- DIAMOND, J.M, & R.K., BUDDINGTON (1987) Intestinal nutrient in herbivores and carnivores. In: *Comparative Physiology: Life in Water and on Land* (P. Dejours, L Bolis, C.D. Taylor, E.R. Weibel). Fidia Research Series, Volume 9. Liviana Press, Springer. Verlag.;556 pp.
- DIAMOND, J.M. & K., HAMOND (1992) The matches achieved by natural selection, between biological capacities and their natural loads. *Experientia* 48:551-557.
- DEREN J.J., S.A. BROITMAN AND N. ZAMCHEK (1967) Effect of diet upon intestinal disaccharidases and disaccharide absorption. *J. Clin. Inv.* 46:186-195.
- DONALD P., PITTS C.C. & POHL S.L. (1981) Body weight and composition in laboratory rats: effects of diets with high or low protein concentrations. *Science* 211:185-186.
- DYKSTRA C.R. & W. H. KARASOV (1992) Changes in gut structure and function of house wrens (*Troglodytes aedon*) in response to increased energy demands. *Physiol. Zool.* 65:422-442.
- FERRARIS, R. P. & J. DIAMOND (1989) Specific regulation of intestinal nutrient transporter by their dietary substrates. *Ann. Rev. Physiol.* 51: 125- 141.
- FUTUYMA D.J (1986) *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, 601 pp.

- FUTUYMA D.J. & G. MORENO (1988) The evolution of ecological specialization. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 19:207-233.
- GALLUSER, M., F., RAUL & B., CANGUILHEM (1988) Adaptation of intestinal enzymes to seasonal and dietary changes in a hibernator: the European hamster (*Cricetus cricetus*). *J. Comp. Physiol.* 158B: 143-149.
- GALAND, G. (1989) Brush border membrane sucrase-isomaltase, maltase-glucoamylase and trehalase in mammals. Comparative development, effects of glucocorticoids, molecular mechanisms, and phylogenetic implications. *Comp. Biochem. Physiol.* 94B: 1-11.
- GATTEN JR., R.E., A.C. ECHTERNACHT & M.A. WILSON (1988) Acclimatization versus acclimation of activity metabolism in lizard. *Physiol. Zool.* 61:322-329.
- GLANZ, W. (1977) Comparative ecology of small mammals communities in California and Chile. Ph.D. diss. University of California, Berkeley.
- GARLAND & ADOLPH (1994) Why not do two-species comparative studies : limitations on inferring adaptation. *Physiol. Zool.* 67 :797-828.
- GARLAND T. & P.A. CARTER (1994) Evolutionary physiology. *Ann. Rev. Physiol.* 56:579-621.
- GOMULKIEWICZ R. & M. KIRKPATRICK (1992) Quantitative genetics and the evolution of the reaction norms. *Evolution* 46: 390-341.
- HAMMOND K. H. & D. N. JANES (1998) The effects of increased protein intake on kidney size and function. *J. Exp. Biol.* 301:2081-2090.

- HARPER A.E., N.J. BENEVENGA & R.M. WOHLHUETER (1970) Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Phys. Rev.* 50:428-558.
- HARVEY P.H. & M.D. PAGEL (1991) The comparative method in evolutionary biology. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press. Oxford.
- HAYES J. P. (1989a) Field and maximal metabolic rates of deer mice (*Peromiscus maniculatus*) at low and high altitudes. *Physiol. Zool.* 62:732-744.
- HAYES J. P. (1989b) Altitudinal and seasonal effects on aerobic metabolism of deer mice. *J. Comp. Physiol. B.* 159:453-459.
- HAYES, J.P. & M.A. CHAPPELL (1986) Effects of cold acclimation on maximum oxygen consumption during cold exposure and treadmill exercise in deer mice, *Peromiscus maniculatus* *Physiol. Zool.* 59:473-481.
- HENNING, S.J. (1981) Postnatal development: coordination of feeding, digestion, and metabolism. *Am. J. Physiol.* 241G: 199-214.
- HENNING, S.J. (1985) Ontogeny of enzymes in the small intestine. *Ann. Rev. Physiol.* 47:231-245.
- HOCHACHKA P.W. AND N. SOMERO (1984) Biochemical adaptation. Princeton University Press, Princeton 538 pp.
- HOFFMAN A.A. (1995) Acclimation: increasing survival at a cost *Trends Ecol. Evol.* 10:1-2.

- HORIE Y. & K. ASHIDA (1973) Adequate protein diet after a low protein diet on protein catabolism in growing rats. *Br. J. Nutr.* 29:23-31.
- Huey, R. B. and D. Berrigan 1996. Testing Evolutionary Hypotheses of acclimation. In *Animals and temperature. Phenotypic and evolutionary adaptation.* (Ian A. Johnston and Albert F Bennett, eds.) Society for experimental Biology, Seminar series 59. Cambridge University Press, Cambridge.
- HOUGHTON M.R., R.G. MORGAN & M. GRACEY (1983) Effects on long-term dietary modifications on pancreatic enzyme activity. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1983:548-554.
- HUME, I.D. (1982) Digestive physiology and nutrition of marsupials. Cambridge University Press. Cambridge. 256 pp.
- HUME, I. D. (1998) Optimization in design of the digestive system. In Weibel E. R., C. R. Taylor and L. Bolis (Eds) *Principles of animal design.* Cambridge University Press, Cambridge. 314 pp.
- HUTCHINSON, V.H., H.B. HAINES & G. ENGBRETSON (1976) Aquatic life at high altitude: respiratory adaptations in the lake Titicaca frog, *telmatobius culeus*. *Respir. Physiol.* 27:115-129.
- JAEGER, J. J. & J. J. McGRATH (1974) Hematologic and biochemical effects of simulated high altitude in Japanese quail. *J. Appl. Physiol.* 37:357-361.
- JHONSON R.L. (1977) *Gastrointestinal Physiology.* The C.V. Mosby Company. St. Louis.



- KARASOV W.H. (1986) Energetics, physiology and vertebrate ecology. *Trends Ecol. Evol.* 1:101-104.
- KARASOV W.H. (1992) Test of the adaptive modulation hypothesis for dietary control of intestinal transport. *Am. J. Physiol.* 267:R496-R502.
- KARASOV, W.H. (1987) Nutrient requirements and the design and function of guts in fish, reptiles, and mammals. In: *Comparative Physiology: Life in Water and on Land* (P. Dejours, L. Bolis, C.D. Taylor, E.R. Weibel). Fidia Research Series, Volume 9. Liviana Press, Springer. Verlag. ;556 pp.
- KARASOV W.H. (1996). Digestive plasticity in avian energetics and feeding ecology. Pp 61-84 in C. Carey, ed. *Avian Energetics and Nutritional Ecology*. Hapman and Hall, New York.
- KARASOV, W.H. & J.M., DIAMOND (1983) Adaptive regulation of sugar and aminoacid transport by vertebrate intestine. *Am J. Physiol.* 245:G443-G462.
- KARASOV, W.H. & J.M., DIAMOND (1988) Interplay between physiology and ecology in digestion. *BioScience* 38: 602-611.
- KARASOV, W.H. & D.J., LEVEY (1990) Digestive trade-offs and adaptations of frugivorous birds. *Physiol. Zool.* 63: 1248-1270.
- KENAGY, G. J. (1987) Energy allocation for reproduction in the golden-mantled ground squirrel. *Symposia of the Zoological Society of London* 57:259-273.
- KHEROUA O. & J. BENEVILLE (1981) Behaviour of digestive enzymes in the pancreatic juice and pancreas of rats fed on a low-protein diet (3p. 100 of

- cereal protein) then on a balanced diet (23.5p. 100 of mixed protein) *Reprod. Nutr. Dev.* 21:901-917.
- KLARK AG & RK KOHEN (1992) Enzymes and adaptation. En: *Genes in Ecology*. RJ Berry, TJ Crawford and GM Hewitt. Blackwell Scientific Publication. Págs 193-228.
- LEE W. B. & D. C. HOUSTON. 1994. Digestive efficiency and gut adaptation in voles. *J. Zool. (London)* 234:683-685.
- LEVEY J.D. & W.H. KARASOV (1989) Digestive responses of temperate birds switched to fruit or insect diet. *The Auk* 106:675-686.
- LEVEY J. D. & GRAJAL A. (1991) Evolutionary implications of fruit-processing limitations in cedar waxwings. *Am. Nat* 138: 171-189.
- LEVINS R. (1968) *Evolution in changing Environments*. Princeton University Press, Princeton, N.J.
- LEROI AM, AF BENNETT & RE LENSKI (1994) Temperature acclimation and competitive fitness: And experimental test of the beneficial acclimation assumption. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 91:1917-1921.
- MAIER HA & DD FEIST (1991) Thermoregulation, growth, and reproduction in alaskan collared lemmings: role of short day and cold. *J. Am. Physiol.* 261.R522-R530.
- MANN G. (1978) Los pequeños mamíferos de Chile. *Gayana:Zoología*, 40:1-324.
- MARTINEZ DEL RIO, C. (1990) Dietary and phylogenetic correlates of intestinal sucrase and maltase activity in birds. *Physiol. Zool.* 63: 987-1011.

- MARTINEZ DEL RIO, C. & B.R., STEVENS (1989) Physiological constraint on feeding behavior: intestinal membrane disaccharidases of the starling. *Science* 243: 794-796.
- MARTINEZ DEL RIO, C., H. G. BAKER & I. BAKER (1992) Ecological and evolutionary implications of digestive processes: bird preferences and the sugar constituents of floral nectar and fruit pulp. *Experientia* 48: 544-550.
- MARTÍNEZ DEL RÍO C, KE BRUGGER, JL RÍOS, ME VERGARA & M WITMER (1995) An experimental and comparative study of dietary modulation of intestinal enzymes in european starlings (*Sturnus vulgaris*) *Physiological Zoology* 68:490-511
- McGRATH J.J. (1971) Acclimation response of pigeons to simulated high altitude. *J. App. Physiol.* 31 :274-276
- MESERVE P.L. & W. GLANZ (1978) Geographical ecology of small mammals in the northern Chilean arid zone. *J. Biogeo.* 5:135-148
- MESERVE P.L. (1981) Trophic relationships among small mammals in a chilean semiarid thorn scrub community. *J. Mamm.* 62:304-314.
- MESERVE P.L., RE MARTIN & J RODRIGUEZ (1983) Feeding ecology of two chilean caviomorphs in a cntral mediterranean savanna. *J. Mamm.* 64:322-325.
- MESERVE PL, RE MARTIN & J RODRIGUEZ. (1984) Comparative ecology of the caviomorf rodent *Octodon degus* in two chilean mediterranean-type communities. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 57:79-89.

- MORAN N.A. (1992) The evolutionary maintenance of alternative phenotypes. *Am. Nat.* 139:971-989.
- MORRISON, P. R., K. KERST, C. REINAFARJE & J. RAMOS (1963) Hematocrit and hemoglobin levels in some Peruvian rodents from high and low altitude. *Int. J. Biometeor.* 7:51-58.
- MUÑOZ-PEDREROS A, R MURUA & L GONZALEZ (1990) Nicho ecológico de micromamíferos en un agrosistema forestal de Chile central. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 63:267-277.
- NEWMAN R.A. (1992) Adaptive plasticity in amphibian metamorphosis. *Bioscience* 42:671-678.
- OBST BS & J DIAMOND (1992) Ontogenesis of intestinal nutrient transport in domestic chickens (*Gallus gallus*) and its relation to growth. *The Auk* 109:451-464.
- PADILLA, D.K. AND S.C. ADOLPH. (1996). Plastic inducible morphologies are not always adaptive: the importance of time delays in a stochastic environment. *Evol. Ecol.* 10:105-117.
- OZOLS A. J. & R.J. KUSCHAK (1978) Digestion and transport of carbohydrates and proteins. *Nahrung* 22:153-161.
- PENRY D.L. (1993) Digestive constraints on diet selection. In Hughes R.N. (Ed) *Diet Selection: an interdisciplinary approach to foraging behaviour*. Blackwell Scientific Publications. Oxford

- PENRY D.L. & P.A. JUMARS (1986) Chemical reactor analysis and optimal digestion. *Bioscience*. 36: 310-315.
- PENRY D. L. AND P. A. JUMARS (1993). Chemical reactor analysis and optimal digestion. *Bioscience* 36:310-315.
- PETERSON, G.L. (1977) A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal. Chem.* 83: 346-356.
- PIGLIUCCI, M. (1996a). How organisms respond to environmental changes: from phenotypes to molecules (and vice versa). *Trends Ecol. Evol.* 11:168-173.
- PIGLIUCCI, M. (1996b) Modelling phenotypic plasticity II. Do genetic correlations matter? *Heredity*, 77:453-460.
- PROSSER CL (1964) Perspectives of adaptation: theoretical aspects. En: *Handbook of Physiology: Adaptation to environment*. Dill DB, EF Adolph and CG Wilber Eds. American Physiological Society, Washington.
- PROSSER, C.L. (1991) *Environmental and metabolic animal physiology*. Wiley-Liss New York.
- PROVENZA F.D. & R.P. CINCOTTA (1993) Foraging as a self-organizational process: accepting adaptability at the expense of predictability. In Hughes R.N. (Ed) *Diet Selection: an interdisciplinary approach to foraging behaviour*. Blackwell Scientific Publications. Oxford
- RAUL F., P. M. SIMON, M. KEDINGER, J.F. GRENIER & K. HAFFEN (1978) Sucrase and lactase synthesis in suckling rat intestine in response to substrate administration. *Biol. Neonate*. 33:100-105.

- RAUL F., P. M. SIMON, M. KEDINGER, J.F. GRENIER & K. HAFFEN (1980) Effect of sucrose refeeding on disaccharidase and aminopeptidase activities of intestinal villus and crypt cells in adult rats. Evidence for a sucrose dependent induction of sucrase in the crypt cells. *Biochim. Biophys. Acta* 630:1-9.
- RAUL F., F. GOSSE, T. GODA & O. KOLDOVSKY (1987) Short-term effect of a high-protein low carbohydrate diet on aminopeptidase in adult rat jejunioileum. Site of aminopeptidase response. *Biochem. J.* J247:401-405.
- REISENAUER A.M. & G.M. GRAY (1985) Abrupt induction of a membrane digestive enzyme by its intrainestinal substrate. *Science* 227:71-90.
- REYNOLDS P.S. & D.M. LAVIGNE (1988) Photoperiodic effects on body size and energetics of the collared lemming, *Dicrostonyx groenlandicus*. *Can. J. Zool.* 66:835-841.
- REYNOLDS T. J. & J. W. WRIGHT (1979). Early postnatal physical and behavioural development of degus (*Octodon degus*). *Lab. Anim.* 13: 93-99.
- REQUES R. & M. TEJEDO. (1997) Reaction norms for metamorphic traits in natterjack toads to larval density and pond duration. *J. Evol. Biol.* 10: 829-851.
- RICKLEFS, R.E & J.M. STARCK (1996) Application of phylogenetically independent contrasts : a mixed progress report. *OIKOS.* 77 :167-172
- RUIZ, G. M. ROSENMANN & A. VELOSO (1989) Altitudinal distribution and blood values in the toad, *Bufo spinulosus* Weigmann. *Comp. Biochem. Physiol.* 94:643-646.

- SABAT, P., F., BOZINOVIC Y F., ZAMBRANO. (1993) Insectivoría en *Marmosa elegans* (marsupicarnívora): ¿una restricción fisiológica-evolutiva? Rev. Chil. Hist. Nat. 66: 87-92.
- SABAT, P. & F. BOZINOVIC (1994) Cambios estacionales en la actividad de enzimas digestivas en el pequeño marsupial chileno *Thylamis elegans*: disacaridasas intestinales. Rev. Chil. Hist. Nat. 67:221-228
- SABAT, P. & F. BOZINOVIC (1995) Dietary chemistry and allometry of intestinal disaccharidases in the toad *Bufo spinulosus*. Rev Ch. Hist. Nat. 69:387-391
- SABAT, P., F. BOZINOVIC & F. ZAMBRANO (1995) Role of dietary substrates on intestinal disaccharidases, digestibility, and energetics in the insectivorous mouse-opossum (*Thylamis elegans*) J. Mamm. 76:603-611.
- SABAT P , FF NOVOA, F BOZINOVIC AND C MARTÍNEZ DEL RÍO (1998) Dietary flexibility and intestinal plasticity in birds: a field and laboratory study. Physiol. Zool. 71:226-236
- SALTIN, B. & L.B. ROWELL (1980) Functional adaptations to physical activity and inactivity. Fed. Proc. 39: 1506- 1513.
- SCHEINER S.M. (1993). Genetics and evolution of phenotypic plasticity. Ann. Rev. Ecol. Syst. 24:35-68
- SHICK J., R. VERSPOHL, H. KERN & G. SCHEELE (1984) Two distinct adaptive responses in the synthesis of exocrine pancreatic enzymes to inverse changes in protein and carbohydrate in the diet. Am. J. Physiol. 247:G611-G616.

- SELMITSCH RD, RN HARRIS & HM WILBUR (1990). Paedomorfosis in *Ambistoma talpoideum*: maintenance of population variation and alternative life history pathways. *Evolution* 44:1604-1613.
- SELKUR, E. E. (1966) *Physiology*. Little, Brown and Company, Boston.
- SIBLY R. M. & P. CALOW. 1986. *Physiological Ecology of Animals*. Blackwell Scientific Publications, Oxford 179.
- SIBLY, R.M. (1981) Strategies of digestion and defecation. En: *Physiological Ecology. An evolutionary approach to resource use* (1981). Townsed, C.R. And P. Caloww (Eds.) Blackwell Scientific Publication.
- STATISTICA. 1997. *Statistica release 5 (Quick Reference) for the Windows 95 operating system*. Third Edition. StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma.
- STEARNS S.C. (1989) The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience* 39:436-445.
- STEARNS S.C. (1994) The evolutionary links between fixed and variable traits. *Acta Palaeontologica Polonica*. 38:215-231.
- SCHMIDT-NIELSEN K.(1990). *Animal Physiology. Adaptation and Enviroment*.Cambridge University Press. New York
- SMITH D.C. & J. VAN BUSKIRK (1995) Phenotypic design, plasticity, and ecological performance in two tadpole species. *Am. Nat.* 145:211-233.
- SNIPES R. L. (1994). Morphometrics methods for determining surface enlargement at the microscopic level in the large intestine and their application Pp234-263.



- In Chivers D. J. And P. Langer eds. *The Digestive System in Mammals*.  
Cambridge University Press, Cambridge.
- STEVENS, C.E. (1990) *Comparative Physiology of the vertebrate digestive system*.  
Cambridge university Press, Cambridge. 300 pp.
- TOLOZA E.M., M . LAM, & J DIAMOND (1990) Ontogenetic development of  
transporter regulation in bullfrog intestine. *Am. J. Physiol.* 258:G770-773.
- TOLOZA E.M., M . LAM, & J DIAMOND (1991) Nutrient extraction by cold-exposed  
mice: a test of digestive safety margins. *Am. J. Physiol.* 261:G608-G620
- TRAVIS, J. 1994. Evaluating the adaptive role of morphological plasticity. In P.C.  
Wainwright and S.M. Reilly eds. *Ecological Morphology. Integrative  
Organismal Biology*, Chicago University Press, Chicago.
- TRUSSELL C. G. (1994) Phenotypic plasticity in an intertidal snail:the role of a  
common crab predator. *Evolution* 50:448-454.
- TULP O., P.P. KRUPP, E., DANFORTH & E.S. GHORTON (1979) Characteristics of  
thyroid function in experimental protein malnutrition. *J. Nutr.* 109:1321-1332.
- TUR J.A., R.V. RIAL, J.M. RAYO, S.A. TARRAGA & M.C. DAMETO (1988)  
Developmental study of digestive motor response to dietary pattern in young  
broilers. *Comp. Biochem. Physiol.* 90:241-247.
- TSUJI J.S. (1988) Thermal acclimation of metabolism in sceloporus lizards from different  
latitudes. *Physiol. Zool.* 61:141-253.
- VAN SOEST P. J. (1982) *Nutritional ecology of the ruminant*. Corvallis, OR: O & B  
Books.

- VAN TIENDEREN H. (1991) Evolution of specialists in spatially heterogeneous environments. *Evolution* 45:1317-1331.
- VAN TIENDEREN (1997) Generalists, specialists, and the evolution of phenotypic plasticity in sympatric population of distinct species. *Evolution* 51:1372-1380.
- VELOSO, C. & F. BOZINOVIC (1993) Dietary and digestive constraints on basal energy metabolism in a small herbivorous rodent. *Ecology* 74:2003-2010.
- VICK R.L. (1987) *Fisiología Médica*. McGraw Hill, México. 1074 pp.
- VIA S. (1993) Adaptive phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment? *Am. Nat.* 142:352-365
- VIA, S. & R. LANDE (1985) Genotype -environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39:505-522.
- VIA S., R. GOMULKIEWICZ, G. DE JONG, S.M. SCHEINER, C.D. SHLICHTING & P.H. VAN TIENDEREN (1995) Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends Ecol. Evol.* 10:212-217.
- VONK, H.J. & J. R., WESTERN (1984) *Comparative Biochemistry and Physiology of enzymatic digestion*. Academic Press, London.
- WEINER J. (1987) Maximum energy assimilation rates in the Hungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *Oecologia* 72:297-302.
- WITHERS P.C. (1977) Measurements of  $VO_2$ ,  $VCO_2$ , and evaporative water loss with a flow through mask. *J. App. Physiol.* 42: 120-123.

WILLIAMS GC (1992) Diversity within and among populations. En: Natural selection: domains, levels and challenges. Oxford Series in Ecology and Evolution, Oxford University Press.

ZAR J.H. (1996) Biostatistical analysis. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey

ZHAO X.Q., H JORGENSEN, V. M. GABERT & B. O. EGGUM. (1996). Energy metabolism and protein balance in growing rats housed in 18 °C or 28°C environments and fed different levels of dietary protein. J. Nutr. 126:2036-2043