



UNIVERSIDAD DE CHILE



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

CAMBIOS ONTOGENÉTICOS DEL METABOLISMO DE TERMORREGULACIÓN EN *Phyllotis darwini*

JESSICA PAMELA MIRANDA MALDONADO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias
Biológicas

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : MAURICIO CANALS LAMBARRI
PROFESOR CONSEJERO: RIGOBERTO SOLIS MUÑOZ
PROFESOR CONSEJERO: VICTOR PARRAGUEZ GAMBOA

SANTIAGO, CHILE
2012

INDICE

1. Introducción.....	6
2. Revisión Bibliográfica.....	9
2.1. Generalidades.....	9
2.2. Metabolismo.....	10
2.3. Tasa Metabólica Basal.....	11
2.4. Tasa Metabólica Máxima.....	11
2.5. Ontogenia y Termorregulación.....	11
2.6. La temperatura y la Termorregulación.....	12
2.7. Características biológicas de la especie en estudio.....	13
3. Hipótesis.....	16
4. Predicciones.....	16
5. Objetivos.....	16
5.1. Objetivo General.....	16
5.2. Objetivos Específicos	17
6. Material y Métodos.....	17
6.1. Modelo Animal.....	17
6.2. Diseño experimental.....	17
6.3. Análisis.....	20
7. Resultados.....	21
7.1 Recién nacidos.....	21
7.2. Todos los grupos etarios.....	22
8. Discusión.....	27

9. Conclusiones.....31

10. Bibliografía.....32

ABSTRACT

Developmental phenotypic plasticity in the functional aerobic capacity of an altricial rodent, the leaf-eared mouse (*Phyllotis darwini*) was studied. Basal and maximum metabolic rates (because the animal's oxygen consumption is an expression of its aerobic metabolism) were analyzed in both mice acclimatized to high temperature (low energetic requirement on thermoregulation: 30°C) and low temperature (higher energetic requirement: 15°C), at different ontogenetic stages. It was found higher body temperatures and faster developmental rates of the thermoregulatory capacity in neonates born from cold than warm acclimated mothers. This difference could be explained by maternal effects on the litter, such as high levels of catecholamines and thyroxin, higher concentration of the uncoupled protein or larger quantity of brown adipose tissue as a consequence of cold acclimation. As a result, both the exposition of mothers and the maintenance of cold condition during the early development in mice, might be responsible for the high metabolism and better thermoregulatory capacity of newborns.

RESUMEN

Se estudió la plasticidad fenotípica inducida ambientalmente en la capacidad funcional aeróbica en el roedor de desarrollo tardío *Phyllotis darwini*. Se investigaron las tasas metabólicas basales y máximas (la medición del consumo de oxígeno de un animal es una expresión del metabolismo aeróbico de éste) en animales aclimatados a alta temperatura (bajo requerimiento energético de termorregulación: 30°C) y a baja temperatura (alto requerimiento: 15°C), en diferentes etapas del desarrollo. Se encontraron temperaturas corporales más altas y mayores velocidades de desarrollo en las capacidades termorregulatorias en crías nacidas de madres aclimatadas al frío. Esta diferencia podría ser explicada por efectos maternos sobre la camada, como por ejemplo, altos niveles de catecolaminas y tiroxina, o mayores cantidades de grasa parda como consecuencia de la aclimatación al frío. La exposición de las madres y la mantención del frío en las crías durante el desarrollo temprano serían responsables del alto metabolismo y mayor capacidad termorregulatoria de las crías.

1. INTRODUCCION

La plasticidad fenotípica es un concepto central en biología evolutiva contemporánea (Travis, 1994; Padilla y Adolph, 1996; Sabat y Bozinovic, 2000). Una forma importante de este fenómeno es la “plasticidad fenotípica flexible” (Stearns, 1989), la cual se define como la habilidad reversible de modular características fisiológicas y morfológicas en respuesta a condiciones ambientales. La plasticidad fenotípica flexible ha sido estudiada bajo el término de aclimatación o aclimatización por fisiólogos comparativos (Prosser 1991), que han llegado a pensar que es responsable de permitir a los organismos ajustarse a cambios en condiciones ambientales bióticas y abióticas, a través de incrementos en el rendimiento biológico (Hochachka y Somero, 1984; Garland y Carter, 1994; Huey y Berrigan, 1996).

Como ejemplo, varias especies muestran plasticidad digestiva, lo que se ha visualizado como una adaptación, siguiendo el principio de optimización del diseño de los animales (Sabat y Bozinovic, 2000). En contraste, algunas características morfológicas relacionadas con el tiempo de procesamiento de la comida parecen ser más rígidas y son raramente modificadas por la dieta (Hughes, 1993; Sabat *et al.*, 1998). Algunos autores han reportado plasticidad fenotípica de la morfología intestinal durante la ontogenia de un organismo, pero ausencia de respuesta cuando los animales son adultos, es decir, una norma de reacción inflexible (Tolosa y Diamond, 1990; Biviano *et al.*, 1993; Zhao *et al.*, 1996; Bozinovic, 1993). Así, la plasticidad de algunos rasgos morfológicos puede depender de la etapa ontogenética en la cual se dan los actos de aclimatación (Feder, 1998; Sabat y Bozinovic, 2000).

El estado ontogenético de los individuos tendría directa incidencia en su capacidad de manifestar plasticidad (Sabat y Bozinovic, 2000). En consecuencia, estudios de variabilidad fenotípica inducida por el medio ambiente pueden subestimar la respuesta plástica potencial si esos estudios usan sólo animales adultos (Schlichting y Pigliucci, 1998).

Si existe plasticidad, se esperaría que los cambios estructurales en los órganos respiratorios y cardiovasculares responsables del intercambio y la distribución de gases (por ej. ambientalmente inducido) fueran paralelos a las variaciones en la capacidad aeróbica (Canals *et al.*, 2005; Figueroa *et al.*, 2007; Canals *et al.*, 2007).

Existen escasos estudios que indaguen la variabilidad de características fenotípicas a lo largo del desarrollo o de acuerdo a variaciones en las características ambientales (plasticidad fenotípica). Estos aspectos son relevantes, ya que las características morfométricas pueden ser fenotípicamente plásticas y/o sufrir modificaciones durante el desarrollo (Feder, 1998). Diversos estudios han demostrado la existencia de cambios ontogenéticos (definida la ontogenia como la historia individual desde la concepción hasta la vida adulta) de características morfológicas relacionadas con el metabolismo aeróbico en vertebrados. Por ejemplo, la septación alveolar en mamíferos de desarrollo precoz se desarrolla *in utero*, mientras que en animales de desarrollo tardío la septación es post natal (Burri, 1974). En la rata (*Rattus sp.*) no se desarrollan adecuadamente hasta el 7-10° día postnatal, la barrera alvéolo-capilar se comienza a afinar entre la segunda y tercera semana (Burri, 1974).

El proceso ontogenético es complejo porque: i) el crecimiento y maduración de las diferentes estructuras produce demandas paralelas en los recursos de materia y energía, ii) el crecimiento del organismo como un todo puede retardar o ser opuesto al ritmo de

crecimiento o maduración de un órgano en particular, y iii) las capacidades máximas son difíciles de evaluar. Desde el punto de vista del principio de asignación de recursos, se debe resolver cómo desarrollar determinada estructura de una manera adecuada para sus demandas funcionales y a la vez alcanzar un tamaño adulto apropiado en un período razonable. Debido a que diferentes órganos o sistemas de órganos comienzan su función en distintas etapas del desarrollo, tiene sentido esperar que aquellos órganos cuya función se asume en etapas tempranas, también tengan un desarrollo y crecimiento temprano y viceversa. Un apoyo a esta proposición son las diferencias en las habilidades termorregulatorias entre aves de desarrollo precoz y tardío y las diferencias en la septación y desarrollo alveolar en mamíferos desarrollo precoz y tardío (Burri, 1974).

De existir plasticidad fenotípica ambientalmente inducida, es esperable que al someter animales a ambientes de diferentes exigencias energéticas, existan también diferencias en sus habilidades termorregulatorias estrictamente ligadas a la capacidad de difusión de oxígeno en el pulmón.

El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta metabólica y termorregulatoria durante el desarrollo post-natal de individuos de una especie de mamífero pequeño (*Phyllotis darwini*) nacidos y criados en dos ambientes térmicos, uno de bajos requerimientos (30°C) y otro de altos requerimientos energéticos (15°C). En este trabajo se estudió la plasticidad fenotípica inducida ambientalmente en la capacidad funcional aeróbica en el ratón orejudo (*Phyllotis darwini*), un roedor altricial que habita Chile central.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Generalidades

El objetivo de la respiración es suministrar oxígeno a los tejidos y eliminar dióxido de carbono (Guyton y Hall, 1996; Maina, 2000, 2002; Schmidt-Nielsen, 1997). La adquisición de oxígeno desde la atmósfera es su principal propósito, siendo la molécula más importante extraída del ambiente externo. El oxígeno es un importante factor para el metabolismo aeróbico y un recurso necesario para el crecimiento y el desarrollo.

La energía es decisiva en todos los eventos biológicos, desde el nivel molecular, bioquímico, ecológico hasta el evolutivo (Maina, 2000) y la mayoría de los animales satisfacen sus requerimientos energéticos a través de la oxidación de los alimentos, formando dióxido de carbono y agua (Schmidt-Nielsen, 1997), siendo capaces de permanecer por semanas sin alimento, días sin agua, pero sólo minutos sin oxígeno (Maina, 2000).

Los componentes estructurales encadenados que culminan con el aporte adecuado de oxígeno a los tejidos son:

- Capacidad oxidativa mitocondrial: consumo de oxígeno a nivel mitocondrial.
- Difusión periférica: flujo de oxígeno desde los capilares a la mitocondria.
- Convección circulatoria: los componentes estructurales que describen el flujo de oxígeno a nivel circulatorio son el gasto cardíaco y las concentraciones de oxígeno venosa y arterial.
- Difusión pulmonar: intercambio de gas pulmonar.

- Convección ventilatoria: compuesta por la ventilación alveolar y las fracciones de oxígeno espirado e inspirado (Weibel *et al.*, 1991; Hsia, 1998).

El diseño y la eficiencia respiratoria de los intercambiadores de gas (órganos respiratorios) están fuertemente relacionados con el consumo de oxígeno del animal, que es una expresión del metabolismo aeróbico de éste.

El metabolismo de un animal no es constante sino que es dependiente de muchos factores como la temperatura ambiental, la actividad y la alimentación por lo que es necesario hacer algunas definiciones.

2.2 Metabolismo

Se define como la suma de todas las reacciones químicas que se producen en todas las células del organismo.

Se expresa por la intensidad de liberación de calor durante las reacciones químicas.

Se mide por

- Calorimetría directa: mide la cantidad de calor liberada por el cuerpo (calorímetro).
- Calorimetría indirecta: mide la intensidad del metabolismo corporal a partir de la tasa de consumo de oxígeno (respirómetro).

Se esperaría que un animal con alta eficacia de captura y utilización de los recursos energéticos de su ambiente, fuera más hábil para competir con otros miembros de su especie y así mayor será la capacidad de su especie en un sentido evolutivo (Randall *et al.*, 1997).

2.3 Tasa Metabólica Basal

Se define como la tasa de gasto de energía medida en la zona de termoneutralidad (evitando los costos de termorregulación), en individuos que no se están reproduciendo (eliminando el costo de preñez, lactancia, formación de huevos e incubación), en un estado post-absortivo (donde se eliminan los costos asociados con la digestión), durante el período de reposo (eliminando cualquier efecto circadiano), y regulando la temperatura corporal en un nivel de normotermia (McNab, 1997).

2.4 Tasa Metabólica Máxima

Es el mejor estimador de las capacidades máximas de extracción de oxígeno (Weibel *et al.*, 1998). Es la medida de la tasa de consumo de oxígeno bajo requerimientos máximos termorregulatorios o de ejercicio.

2.5 Ontogenia y Termorregulación

Se han realizado diferentes investigaciones acerca de la contribución de mecanismos físicos en la termorregulación de neonatos de cerdos, ovejas y en el hombre. En general, los mamíferos recién nacidos responden similarmente a los adultos a la exposición al frío mediante vasoconstricción periférica inmediata y piloerección, y a la exposición al calor con vasodilatación periférica, sudor y jadeo (Hull, 1973).

El principal medio de producción de calor en los adultos es el escalofrío. Muchos mamíferos recién nacidos no tienen escalofríos y aun así su tasa metabólica aumenta a la exposición al frío, esto estaría explicado por la presencia de un tejido especial llamado grasa parda (BAT: brown adipose tissue).

De muchas formas, la producción de calor en el tejido adiposo tiene ventajas teóricas sobre los escalofríos; por ejemplo, el calor se produce donde más se necesita y donde puede ser fácilmente conservado, y además, es menos dependiente de una fuente inmediata de energía externa. Los factores que determinan el crecimiento y la actividad continua de la grasa parda requieren mayores estudios (Hull, 1973). La grasa parda está presente sólo en mamíferos (Klaus *et al.*, 1991) y es el principal órgano consumidor de oxígeno en el cuerpo. Esto quiere decir que en un pequeño mamífero expuesto al frío, más de la mitad de todo el oxígeno es transferido a la grasa parda, y todo este oxígeno es reducido allí. Pero hay diferencias del desarrollo de la grasa parda en mamíferos. En especies de desarrollo precoz, como liebres y humanos la grasa parda está desarrollada y funcional al nacimiento (Nedergaard *et al.*, 1986) mientras que en las especies de desarrollo tardío como los muridos, la capacidad termogénica de la grasa parda se desarrolla durante los primeros días de vida y, en el hámster inmaduro, no se desarrolla hasta tres semanas después del nacimiento (Nedergaard *et al.*, 1986). En especies de desarrollo tardío la grasa parda está presente y activa en el estado adulto; la grasa parda tiene un reclutamiento que resulta en un mayor contenido mitocondrial en tejidos y en la mayor cantidad y actividad de UCP1 (proteína de desacoplamiento) en mitocondrias (Cannon y Nedergaard 1985; Klaus *et al.*, 1991), aumentando tanto la temperatura como el metabolismo de mamíferos.

2.6 La temperatura y la termorregulación

Uno de los mejores efectos conocidos de frío sostenido en individuos adultos es el aumento de catecolaminas y tiroxina. El frío induce liberación de nor-epinefrina desde las terminaciones nerviosas simpáticas considerado necesario para la estimulación de termogénesis sin escalofríos, atribuible a la grasa parda (Jansky 1973, Nedergaard *et al.*,

1986). Además, el sistema nervioso simpático contribuye a la diferenciación de la grasa parda fetal (Casteilla *et al.*, 1994). El frío activa el sistema simpático y aumenta la secreción de nor-epinefrina, que en la presencia de triyodotironina (T3) estimula la expresión de la proteína de desacoplamiento 1 (UCP1) mediante el receptor β -3-noradrenérgico (Arch, 1989).

2.7 Características biológicas de la especie en estudio

Lauchón orejudo de Darwin (*Phyllotis darwini*):

Roedor robusto con cola larga, con ojos y pabellones auriculares grandes (más de 20 mm). Molares bajos. El pelaje es largo y sedoso con un claro dominio de los pigmentos de color café. El dorso es de tonalidad bruna con importancia variable de las eumelaninas negras, según edad y subespecie. En general, los juveniles son grisáceos y los adultos café-ocres. El pecho y abdomen son muy claros, amarillentos u ocráceos (Muñoz-Pedreros, 2000).

En el matorral esclerófilo de Santiago los adultos pesan $61,5 \pm 3,1$ g. En Concepción su peso promedio disminuye en invierno y se incrementa en agosto, para estabilizarse en los meses de primavera. Su tracto intestinal está adaptado para una gran variedad de alimentos. Su segmento cólico-cecal aumenta de volumen contando, al mismo tiempo, con flexuras más desarrolladas en las formas, ajustadas a un régimen abundante en celulosa (Muñoz-Pedreros, 2000).

Existen unas ocho subespecies, cuatro de ellas en Chile: *Phyllotis darwini rupestris*, *Phyllotis darwini darwini*, *Phyllotis darwini boedeckeri* y *Phyllotis darwini fulvescens*. *P. d. rupestris*, que se distribuyen en el sur de Perú, suroeste de Bolivia, oeste de Argentina; en Chile entre la I Región y las provincias de El Loa y Antofagasta (II Región); *P. d.*

darwini, desde la Provincia de Choapa (IV Región) hasta la Región Metropolitana. *P. d. boedeckeri* ha sido capturado en las provincias de Cauquenes (VII Región) y Ñuble (VIII Región); *P. d. fulvescens* en la provincia de Malleco (IX Región) (Mann, 1978).

Por su extendida distribución, ocupa una gran variedad de hábitats. Con relación a su etología, es de hábitos nocturnos en Fray Jorge y Concepción, con actividad nocturna a crepuscular (81,9 % de su actividad) en Santiago. De gran actividad y extenso radio de acción. Es un animal de gran vivacidad y velocidad de reacción. Busca la protección de piedras y rocas. Está adaptado para correr y trepar. De la asociación de micromamíferos del matorral, esta especie manifiesta un mayor comportamiento de agregación. Posee estrategias termorreguladoras conductuales, condicionadas por su pequeño tamaño (alto gasto de energía / peso-específico), hábitat climáticamente variable, condición de especie no migratoria, buena oferta alimentaria que permite la coexistencia intraespecífica. Estas estrategias conductuales le impulsan a agruparse y construir nidos en condiciones de baja temperatura. Por el contrario, no se agrega ni ocupa nidos a temperaturas altas. Construye un nido esférico de fibras vegetales en una rendija rocosa, que le sirve además de refugio para los adultos. Suele ocupar galerías abandonadas de cururo, *Spalacopus cyanus*, y degu, *Octodon degus* (Muñoz-Pedreras, 2000).

El período reproductivo se presenta entre agosto y febrero en Fray Jorge y entre septiembre y marzo en Concepción. El tamaño de camada fluctúa entre cuatro y ocho crías. En el matorral esclerófilo se establece una densidad promedio de 20,7 ind/há, donde es el micromamífero más abundante. Es una especie esencialmente herbívora, pero en primavera consume una pequeña porción de insectos, la que incrementa en verano. Fuertemente depredado, aparecen sus restos en forma muy frecuente en regurgitados de aves rapaces nocturnas (lechuza común, *Tyto alba* y pequén, *Athene cunicularia*) y en heces de zorros

(*Pseudolapex spp*). También es consumido por el quique (*Galictis cuja*). Es parasitado por el oxiurido *Syphacia phyllotios*. Su éxito en hábitat xéricos pareciera explicarse, no sólo por adaptaciones etológicas y ecológicas, sino que también por especializaciones fisiológicas eficientes en la conservación de agua corporal (evaporación pulmocutánea: 2,34 mg H₂O/g·h). Posee una capacidad de concentración renal que implica un alto grado de especialización fisiológica de la vía renal (concentración urinaria mínima 850 mOsm/kg). Su estado de conservación es sin problemas (Muñoz-Pedrerros, 2000).



www.bio.puc.cl

3. HIPOTESIS

Ambientes de diferentes demandas energéticas provocarán cambios en la maquinaria metabólica, que se expresarán como diferencias en la capacidad termorregulatoria o en los ritmos de maduración de ésta durante la ontogenia de *Phyllotis darwini*

4. PREDICCIONES

Existen dos predicciones contrapuestas:

1. Si las demandas energéticas impuestas por el ambiente frío superan las capacidades de respuesta de las estructuras respiratorias, podría existir una depresión metabólica en los individuos expuestos al frío.
2. Si los individuos son capaces de responder, se podría esperar que los sujetos expuestos al frío tengan metabolismos más altos y que adelanten su capacidad de termorregular a una etapa más temprana del desarrollo.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar los cambios morfológicos (peso) y metabólicos que se producen en el metabolismo de termorregulación durante el desarrollo de *P. darwini* frente a dos ambientes con diferentes demandas energéticas.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar la respuesta metabólica de recién nacidos cuyas madres serán expuestas a ambientes térmicos de distintas demandas energéticas.
2. Estudiar la respuesta del peso corporal durante la ontogenia de individuos expuestos a ambientes térmicos de distintas demandas energéticas.
3. Estudiar la curva de desarrollo del metabolismo de termorregulación de individuos expuestos a ambientes térmicos de distintas demandas energéticas.

6. MATERIAL Y METODOS

6.1 Modelo animal:

Se trabajó con la especie de mamífero: Lauchón orejudo de Darwin, *Phyllotis darwini*.

6.2 Diseño experimental:

Quince machos adultos y 15 hembras adultas de *Phyllotis darwini* fueron capturados en Rinconada de Maipú en Chile central entre septiembre y diciembre del 2005. Los animales fueron llevados al laboratorio donde se mantuvieron en parejas a temperatura ambiente. Después del apareamiento, las hembras gestantes fueron mantenidas en jaulas individuales, en cámaras termorreguladas. Se formaron dos grupos experimentales, con las siguientes condiciones ambientales:

1. Temperatura constante de 30° C (bajo requerimiento energético para homeotermia, en la zona termoneutral) y
2. Temperatura constante de 15° C (alto requerimiento energético de homeotermia, bajo el límite inferior de termoneutralidad para esta especie).

Después del nacimiento, tres individuos sin relación parental fueron seleccionados para cada condición ambiental y etapa de desarrollo: 1 (recién nacido), 7, 14, 21 y 60 días (adulto). Estas crías fueron usadas para estudiar las variables funcionales metabólicas. Además, en cada uno de estos tiempos se midió la masa corporal de los individuos. Así, 3 individuos independientes fueron estudiados para cada categoría de edad y condición ambiental (excepto un grupo con 4), así el número total de individuos estudiados fue 31.

Consumo de oxígeno

Dado que se compararon animales de diferentes edades y madurez termorregulatoria, se utilizaron diferentes métodos para obtener medidas metabólicas. En los recién nacidos, se estudió la curva de consumo de oxígeno versus la temperatura ambiente de 37° C a 23° C, disminuyendo la temperatura 2° C cada 20 minutos. La temperatura corporal fue medida al final de cada período de medición con una termocupla intra-rectal de Cu-constantan. Después de cada medición, se recuperó la temperatura corporal de los individuos utilizando toallas precalentadas. El esquema fue modificado para individuos de 7 días de edad, midiendo cada 5 grados de 30° C a 5° C. Para los animales de 14 días y más, sólo fueron medidas tasas basales y máximas metabólicas.

Tasa Metabólica Basal (BMR)

Las determinaciones de metabolismo basal se realizaron según el siguiente protocolo:

El consumo de Oxígeno (VO_2) se determinó en un sistema de respirometría de flujo abierto computarizado (Cámara metabólica de flujo abierto modelo Fox Box, Sable Systems USA). Las determinaciones individuales se hicieron en cámaras de acero a

temperatura ambiente correspondiente a termoneutralidad, entre 30 y 37° C dependiendo de la edad del individuo. Las cámaras metabólicas recibieron aire seco a una tasa de entre 500 a 800 mL min⁻¹ desde un controlador de flujo (Sierra Instruments) para asegurar una mezcla de aire adecuada en la cámara. El CO₂ fue eliminado y el aire fue secado antes y después de entrar a la cámara. El oxígeno se monitoreó cada 5 segundos mediante un Analizador de Oxígeno 1FC-1B (Sable System). El consumo de oxígeno fue calculado usando la ecuación de Whithers (1977). En animales de 7 o más días de edad las determinaciones se efectuaron en la fase de descanso del ritmo de actividad de la especie.

Tasa Metabólica Máxima de Termorregulación (M_{sum})

A partir de los 14 días, se determinó el M_{sum} en una atmósfera de He-O₂ siguiendo el protocolo de Rosenmann y Morrison (1974), en un respirómetro de circuito abierto. En resumen, una mezcla de He (80 %) y O₂ (20 %) se hizo pasar a través de un medidor de flujo volumétrico previo a la entrada a la cámara. El flujo se mantuvo a 1000 mL min⁻¹ y la temperatura de la cámara fue monitoreada constantemente (0.0 ± 0.5°C). Este flujo mantiene la presión parcial de oxígeno por encima de 150 Torr. La mezcla de gases se pasó a través de gránulos absorbentes de CO₂ (Baralyme y Drierita) situados a la entrada y salida de la cámara. Para asegurarse de que los individuos alcancen la M_{sum} , las mediciones se detuvieron cuando la disminución de VO₂ fue evidente comprobando que la temperatura corporal (termocupla Cole-Parmer de cobre) indicara un estado de hipotermia (< 37°C).

6.3 Análisis:

En recién nacidos, se registró el máximo y mínimo consumo de oxígeno ($M_{\max}(Ta)$ y $M_{\min}(Ta)$ respectivamente) durante el ensayo experimental, y la temperatura corporal al término de cada condición experimental de temperatura ambiental (Ta). Se compararon las repuestas de los dos grupos con un análisis de covarianza, usando el consumo de oxígeno o temperatura corporal como variable respuesta y la temperatura de la cámara (Ta) como covariable.

En orden, al comparar entre los diferentes grupos de edades, en los grupos etarios de 1 y 7 días se seleccionó el mínimo y máximo consumo de oxígeno de cada individuo ($\dot{V}O_{2\min} = \min(M_{\min}(Ta))$ y $\dot{V}O_{2\max} = \max(M_{\max}(Ta))$, respectivamente), para compararlos con el metabolismo basal y máximo de los grupos mayores, de edades 14, 21 y 60 días. Aunque los máximos valores en los grupos de 1 día y 7 días no fueron obtenidos con atmosfera He-O₂, ellos fueron los valores máximos de consumo de oxígeno antes de la depresión metabólica, lo que generalmente ocurrió entre 25°C y 23°C en recién nacidos y entre 10°C y 5°C en el grupo de 7 días. Los valores mínimos fueron obtenidos en la zona termoneutral.

La respuesta de la masa corporal, valores de consumo de oxígeno, temperatura corporal al término de los experimentos de metabolismo máximo fueron analizados con ANOVA de 2 vías, usando temperatura de aclimatación y categorías de edad como factores.

7. RESULTADOS

Consumo de oxígeno y temperatura corporal

7.1 Recién nacidos

El grupo de los neonatos aclimatados a 30° C mostró un consumo de oxígeno más bajo que el grupo aclimatado a 15° C en todas las temperaturas ambientes, tanto en sus valores máximos ($F_{1,45} = 23.48$; $p < 0.001$) (Figura 1) como en sus valores mínimos ($F_{1,45} = 19.83$; $p < 0.001$) (Figura 2). Las crías aclimatadas a 30° C mostraron temperaturas corporales más bajas al término de los experimentos que aquellos aclimatados a 15° C: 31.3 ± 1.86 vs 32.31 ± 2.41 , respectivamente ($F_{1,45} = 5.09$, $p = 0.029$).

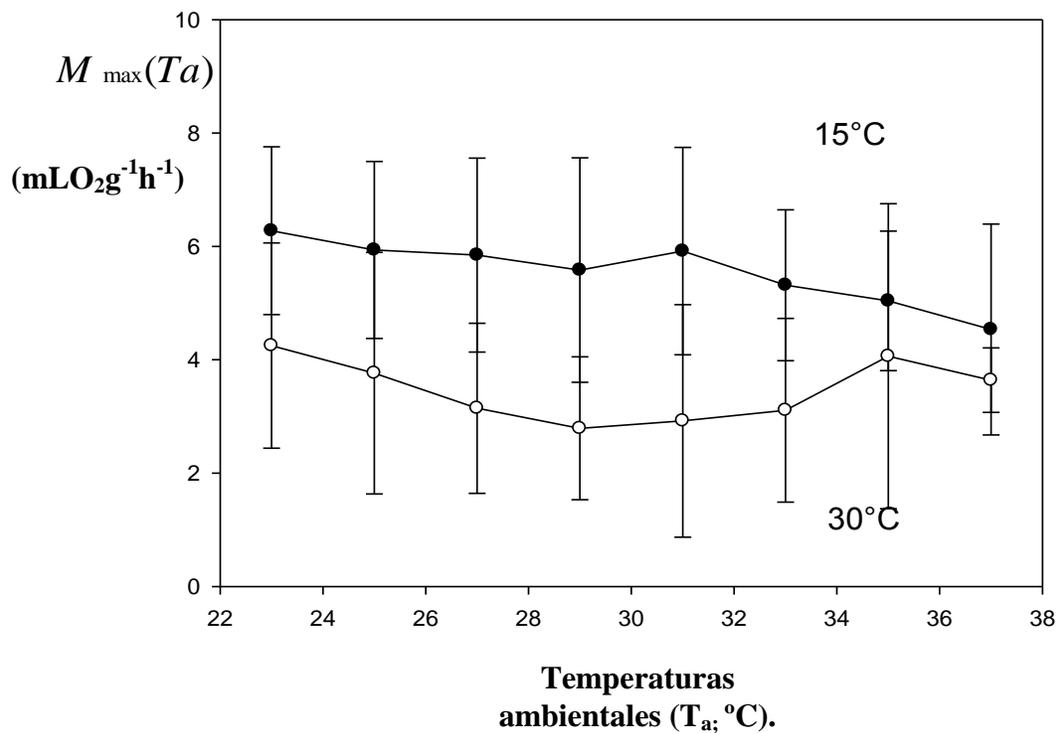


Figura 1.- Metabolismo máximo ($M_{\max}(T)$; $\text{mLO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) de los recién nacidos (un día), nacidos de madres aclimatadas a 30° C y aclimatadas 15° C, ($n = 31$) de la especie *Phyllotis darwini*, expuestos a diferentes temperaturas ambientales (T_a). Las barras indican ± 1 desviación estándar.

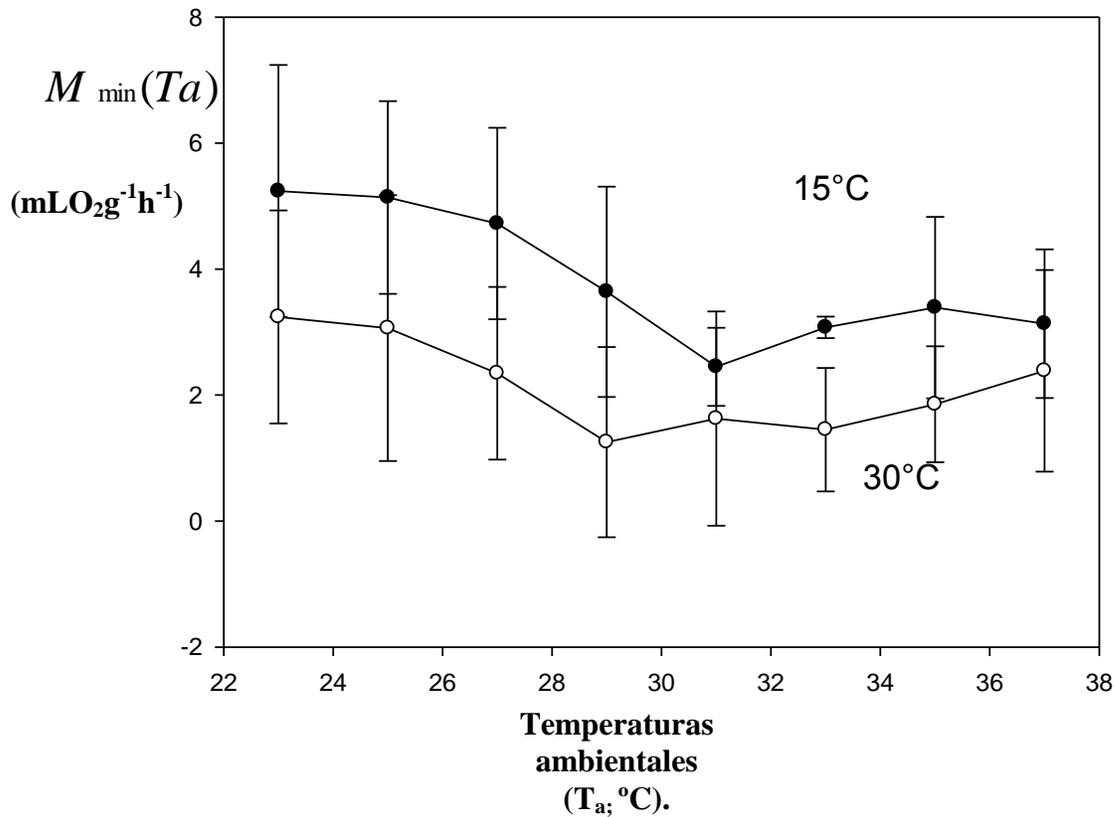


Figura 2.- Tasa mínima metabólica ($M_{\min}(T)$; $\text{mLO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) de los recién nacidos (un día), nacidos de madres aclimatadas a 30°C y a 15°C , de la especie *Phyllotis darwini*, expuestos a diferentes temperaturas ambientales (T_a).

7.2 Todos los grupos etarios

La masa corporal aumentó a un ritmo similar en los dos grupos ($F_{1,21}=0.176$, $p > 0.05$). El metabolismo mínimo aumentó con la edad ($F_{4,21} = 3.05$, $p = 0.039$), con un máximo a los 21 días, luego disminuyó en la etapa adulta (Tabla 1). No se encontraron diferencias en los grupos experimentales de aclimatación (diferentes temperaturas) ($F_{1,21}=2.76$, $p = 0.11$). Aunque la interacción entre los factores no fue significativa, comparaciones *a posteriori* revelaron diferencias entre individuos de 7 días aclimatados a 30°C e individuos de 1 y 7 días aclimatados a 15°C .

Tabla 1.- Masa corporal (Mb) y el consumo de oxígeno mínimo (VO_{2min}) de *Phyllotis darwini* a lo largo del desarrollo postnatal a dos temperaturas ambientales de 15 ° y 30 ° C. Media \pm 1 desviación estándar.

Edad (días)	Mb (g)		VO_{2min} (mLO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	
	15°C	30°C	15°C	30°C
1	3.63 \pm 0.63	3.95 \pm 0.82	2.02 \pm 0.27	1.69 \pm 0.44
7	9.57 \pm 0.94	8.23 \pm 1.04	2.07 \pm 0.16	1.36 \pm 0.35
14	14.63 \pm 0.91	11.53 \pm 2.05	2.22 \pm 0.63	2.11 \pm 0.18
21	18.43 \pm 6.31	16.73 \pm 1.15	2.21 \pm 0.24	2.42 \pm 0.81
60	38.0 \pm 8.23	41.26 \pm 1.47	1.77 \pm 0.03	1.48 \pm 0.37

La relación entre el consumo mínimo de oxígeno y lo esperado para un animal adulto de la misma masa corporal mostró las mismas características, sin diferencias entre los grupos ($F_{1,21}=2.63$, $p = 0.12$). Sin embargo, hubo una diferencia evidente en la edad en la cual la curva cruza el valor la $O/E = 1$ (Figura 3). Esto ocurre en aproximadamente 3.4 días en el grupo aclimatado a 15 ° C y en 10.6 días en el grupo aclimatado a 30 ° C.

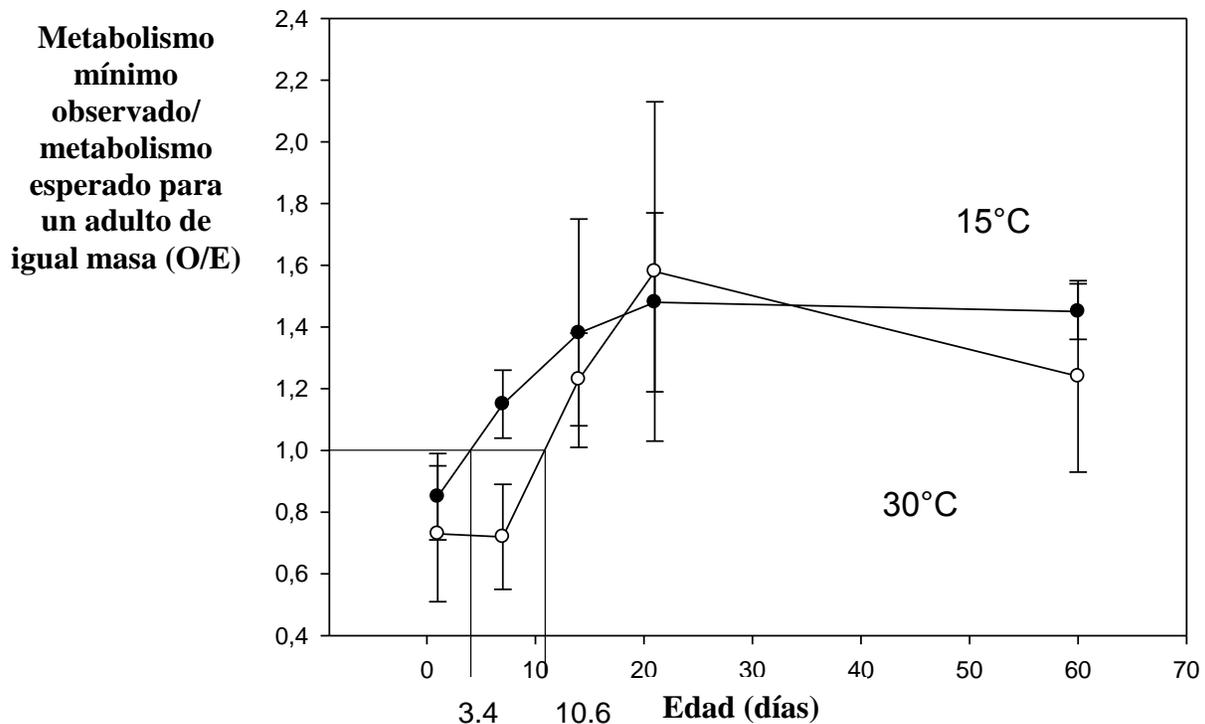


Figura 3.- Razón entre el metabolismo mínimo observado y el esperado para un adulto de igual masa (O/E) de animales aclimatados a 30 ° C y animales aclimatados a 15 ° C, de la especie *Phyllotis darwini*, en diferentes etapas de desarrollo. Los valores esperados se obtuvieron mediante $BMR = 3,4 M_b^{0.71}$ (McNab, 1988). Las líneas continuas indican donde $O/E = 1$ y los días en que las curvas metabólicas interceptan ese valor.

El consumo máximo de oxígeno aumentó con la edad, alcanzando un peak en 14 días y disminuyendo lentamente a mayor edad (Figura 4). No hubo diferencias entre los grupos ($F_{1,21}=2.52$, $p = 0.127$), ni interacción significativa.

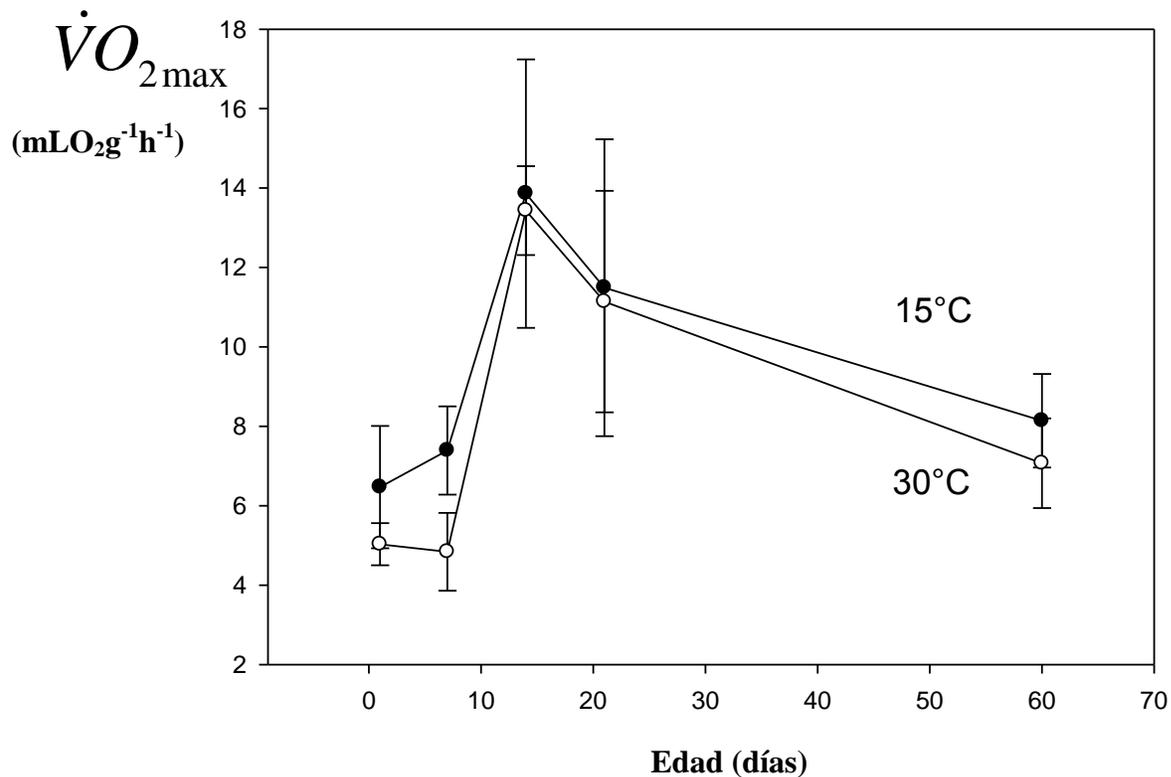


Figura 4.- Tasa metabólica máxima ($\dot{V}O_{2max}$) de los animales aclimatados a 30°C y los animales aclimatados a 15°C, de la especie *Phyllotis darwini*, en diferentes etapas de desarrollo.

La temperatura corporal, al término de los estados experimentales de consumo mínimo de oxígeno, no mostró diferencias para los grupos de edades de 7, 14, 21 y 60 días ($F_{3,16} = 1.43$, $p > 0.05$), ni entre los grupos experimentales ($F_{1,16} = 0.33$, $p > 0.05$). La media fue de $37,01 \pm 1,06$ para el grupo de 30° C y 36.78 ± 0.99 para el grupo a 15° C. La temperatura al final de la etapa experimental para metabolismo máximo mostró diferencias por categorías de edad ($F_{3,16} = 10.85$, $p < 0.01$), pero una respuesta similar para los dos grupos experimentales ($F_{1,16} = 0.28$, $p > 0.05$). Pruebas *a posteriori* revelaron que las diferencias fueron producidas por los grupos de 7 días en ambos diseños experimentales y

el grupo de 14 días a 30° C, comparado con los grupos de 21 y 60 días. Se excluyó del grupo de 60 días a 15° C al individuo que terminó el experimento con una hipotermia extrema de 24.5° C (Tabla 2).

Tabla 2.- Temperatura corporal de los individuos de la especie *Phyllotis darwini* a diferentes edades, al final de los experimentos de VO_{2max} a dos temperaturas ambientales (15° y 30°C)

Edad (días)	Temperatura de aclimatación	
	30°C	15°C
7	22.4 ± 0.4	25.9 ± 4.2
14	28.5 ± 4.7	30.5 ± 4.2
21	33.7 ± 0.4	34.7 ± 0.6
60	34.3 ± 0.4	30.6 ± 5.3

9. DISCUSION

Los mamíferos de desarrollo tardío nacen en un estado relativamente indefenso, con falta de coordinación y sin pelaje, teniendo un largo período de dependencia de sus padres; mientras que los mamíferos de desarrollo precoz nacen cubiertos de pelaje, ojos abiertos y habilidad locomotora inmediata, volviéndose rápidamente independientes de sus padres. Estos dos grupos difieren en sus estrategias de termorregulación después del nacimiento. Los animales de desarrollo precoz son capaces de termorregular en base a la madurez de su maquinaria metabólica y los recursos de energía químicos proporcionados por su madre, mientras que los mamíferos de desarrollo tardío deben depender de los recursos proporcionados por la madre y de estrategias conductuales termorregulatorias, como agruparse con sus hermanos y madre, aislamiento, jerarquías, etc. (Antinuchi y Busch 2001). En los animales de desarrollo tardío el desarrollo en las capacidades termorregulatorias y estructuras respiratorias asociadas con las capacidades aeróbicas se desarrolla después del nacimiento (Burri, 1974; McMurty, 2002; Canals *et al.*, 2000), asociado con una plasticidad post-natal mucho mayor (Blanco *et al.*, 1991, Hammond *et al.* 1999, 2001) que en los mamíferos de desarrollo precoz (Tenney y Remmers, 1966).

La influencia del clima en las capacidades metabólicas ha sido bien documentada (Rosenmann y Morrison, 1974; Bozinovic y Rosenmann, 1989; Tieleman *et al.*, 2002; 2003; Novoa *et al.*, 2005), de acuerdo a ello, se esperaba que en el roedor de desarrollo tardío *Phyllotis darwini*, los individuos expuestos a altas exigencias energéticas termorregulatorias alcanzarían más altos niveles metabólicos y mayor capacidad aeróbica en su etapa adulta. Sin embargo, las únicas diferencias entre los grupos aclimatados se manifestaron 1 día después del nacimiento y, en menor grado, a los 7 días de edad en la respuesta termorregulatoria de los individuos. El grupo aclimatado a baja temperatura

mostró mayores tasas metabólicas (máximas y mínimas) y una mayor capacidad termorregulatoria en estas edades, pero esto no se encontró en la etapa adulta. Además, al nacimiento, ambos grupos eran incapaces de termorregular adecuadamente, lo que fue más evidente en el grupo aclimatado a 30°C, el cual tenía temperaturas más bajas al final de los experimentos y menor metabolismo en las edades más jóvenes. Se encontró un avance en la madurez del metabolismo de termorregulación en el grupo aclimatado a 15°C. Una medida de esto fue el tiempo necesario para alcanzar un metabolismo equivalente con el de un roedor de la misma masa. Esto ocurrió aproximadamente a los 3,4 días en el grupo aclimatado a 15°C y a los 10,6 días en el grupo aclimatado a 30°C, el último valor es similar, a lo descrito para un número de roedores de desarrollo tardío (Malik y Fewell, 2003 ; Lagerspetz, 1966). El grupo de aclimatación en frío mostró una mayor tasa metabólica y una mayor capacidad de termorregulación en estas edades que el grupo de aclimatación a temperaturas altas, pero esta diferencia desapareció a los 21 días en los menores de edad y en adultos. Esta respuesta es diferente a la reportada en individuos juveniles de visón (*Mustela vison*), un mamífero de desarrollo tardío extremo, cuando fueron expuestos a temperaturas diferentes, desde el nacimiento, en la que los animales expuestos al frío tomaron aproximadamente dos semanas más de los animales expuestos a la temperatura cálida para llegar a termorregular (Tauson, *et al.*, 2006).

En nuestro diseño experimental, los hijos se mantuvieron con la madre hasta el destete, de lo contrario podrían haber muerto. Sin embargo, los individuos podrían ahorrar energía agrupándose con la madre y entre ellos (“huddling”), un comportamiento habitual en los recién nacidos, a cualquier temperatura ambiental, lo que les permitiría reducir la superficie y enmascarar el efecto de estrés térmico (Canals *et al.*, 1989, 1997, 1998). Sin

embargo, la posibilidad de realizar esta conducta estaba presente en ambas condiciones experimentales.

Bertin *et al.* (1993) encontraron que el consumo de oxígeno de los cachorros criados en el frío era mayor durante la primera y segunda semana, pero similares a los controles en la tercera semana de vida. Además, Sant Anna y Mortola (2003) encontraron que ratas aclimatadas al frío (5°C) tenían un consumo de oxígeno masa-específico superior a los controles. La temperatura del cuerpo y una mayor tasa metabólica en el grupo de aclimatación al frío puede indicar una mayor madurez en la maquinaria metabólica o una mayor cantidad de tejido metabólicamente activo, por ejemplo, una mayor cantidad de grasa parda al nacimiento (Klaus *et al.*, 1991; Trayhurn, 1993), o en la concentración de la proteína de desacoplamiento 1 de las mitocondrias (UCP1). Sant Anna y Mortola (2003) encontraron que ratas expuestas al frío durante el desarrollo postnatal mostraron mayor concentración de la UCP1 (proteína de desacoplamiento 1), y la mayor concentración de proteínas totales en la grasa parda que en los controles. Hace varios años, Lagerspetz (1966) mostró que el incremento en la producción de calor entre las edades de 7 y 15 días, en ratones de laboratorio, se acompañó de un aumento en la actividad de la deshidrogenasa succínica en el hígado, causada probablemente por un aumento de la actividad de la glándula tiroides. En este sentido, el frío puede provocar una liberación de norepinefrina de las terminaciones nerviosas simpáticas, necesaria para la estimulación de la termogénesis sin escalofríos (Jansky, 1973; Nedergaard *et al.*, 1986, Morrison *et al.*, 2000) y para la diferenciación de las mitocondrias fetales (Casteilla *et al.*, 1994). Morrison *et al.* (2000) demostraron que en ratas, la exposición neonatal al frío induce a una alteración permanente del desarrollo de la capacidad de estimulación simpática de la termogénesis mediada por grasa parda en comparación animales no expuestos al frío. Esto es debido a un mayor

contenido de noradrenalina de la grasa parda interescapular y al mayor número de proyecciones de las células del ganglio simpático en la grasa parda. En los reportes mencionados (Bertin *et al.*, 1993; Morrison *et al.*, 2000; Sant Anna y Mortola 2003), ratas jóvenes fueron expuestas a diferentes temperaturas, desde el nacimiento y fueron medidas en una etapa posterior. Se obtuvieron resultados concordantes, pero con exposición de las madres en etapas previas al nacimiento. Esto implica que la exposición de la madre y el mantenimiento de condiciones de frío durante el desarrollo temprano son responsables del metabolismo alto y una mejor capacidad de termorregulación de los controles en los días 1 y 7, probablemente mediada por los mismos mecanismos fisiológicos. Esta termorregulación más rápida de las crías inducida por el frío podría ser un importante efecto materno, con consecuencias importantes para la supervivencia de las crías en ambientes fríos.

9. CONCLUSIONES:

1) La aclimatación a bajas temperaturas tiene como efecto un aumento del metabolismo en las crías desde el primer día de vida, probablemente mediado por efectos maternos de aceleración del proceso de madurez de la maquinaria metabólica.

2) La aclimatación a bajas temperaturas tiene como efecto un adelanto en la capacidad termorregulatoria de las crías.

3) El adelanto en la termorregulación de crías de madres sometidas al frío podría ser un importante efecto materno con consecuencias en la supervivencia.

10. BIBLIOGRAFIA

ANTINUCHI, C.D.; BUSCH, C. (2001). Reproductive energetics and thermoregulatory status of nestlings in Pampas mice *Akodon azarae* (Rodentia: Sigmodontinae). *Comp. Biochem. Physiol.* 74, 319-324.

ARCH, J.R.S. (1989). The brown adipose β -adrenoceptor. *Proc. Nutr. Soc.* 48, 215-223.

BERTIN, R.; DE MARCO, F.; MOUROUX, I.; PORTET, R. (1993). Postnatal development of nonshivering thermogenesis in rats: effects of rearing temperature. *J. Develop. Physiol.* 19, 9-15.

BIVIANO, A.B.; MARTINEZ DEL RIO, C.; PHILLIPS, D.L. (1993). Ontogenesis of intestine morphology and intestinal disaccharidases in chickens (*Gallus gallus*) fed contrasting purified diets. *J. Comp. Physiol. B.* 163, 508-510.

BLANCO, L.N.; MASSARO, D.; MASSARO, G.D. (1991). Alveolar size, number and surface area: developmentally dependent response to 13% O₂. *Am. J. Physiol.* 261, 370-377.

BOZINOVIC, F. (1993). Nutritional ecophysiology of the Andean mouse *Abrothrix andinus*: energy requirements, food quality and turnover time. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 104, 601-604.

BOZINOVIC, F.; ROSENMAN, M. (1989). Maximum metabolic rate of rodents: physiological and ecological consequences on distributional limits. *Functional Ecology* 3, 173-181.

BURRI, P.H. (1974). The postnatal growth of the rat lung. III Morphology. *Anat. Rec.* 178, 77-98.

CANALS, M.; ROSENMANN, M.; BOZINOVIC, F. (1989). Energetics and geometry of huddling in small mammals. *J. Theor. Biol.* 141, 181-189.

CANALS, M.; ROSENMANN, M.; BOZINOVIC, F. (1997). Geometrical aspects of the energetic effectiveness of huddling in small mammals. *Acta Theriol.* 42, 321-328.

CANALS, M.; ROSENMANN, M.; NOVOA, F.F.; BOZINOVIC, F. (1998). Modulating factors of the energetic effectiveness of huddling in small mammals. *Acta Theriol.* 43(4), 337-348.

CANALS, M.; OLIVARES, R.; LABRA, F.; NOVOA, F.F. (2000). Ontogenetic changes in the fractal geometry of the bronchial tree in *Rattus norvegicus*. *Biol. Res.* 33, 31-35.

CANALS, M.; ATALA, C.; OLIVARES, R.; GUAJARDO, F.; FIGUEROA, D.P.; SABAT, P.; ROSENMANN, M. (2005). Functional and structural optimization of the respiratory system of the bat *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera, Molossidae): does airway geometry matter? *J. Exp. Biol.* 208, 3987-3995.

CANALS, M.; DONOSO, C.; FIGUEROA, D.P.; SABAT, P. (2007). Pulmonary hematological parameters, energetic flight demands and their correlation with oxygen diffusion capacity in the lungs. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 80, 275-284.

CANNON, B.; NEDERGAARD, J. (1985). The biochemistry of an inefficient tissue: brown adipose tissue. *Essay Biochem.* 20, 11-164.

CASTEILLA, L.; MUZZIN, P.; REVELLI, J-P.; RICQUIER, D.; CIACOBINO, J-P. (1994). Expression of β 1- and β 3-adrenergic receptor messages and adenylate cyclase β -adrenergic response in bovine perirenal adipose tissue during its transformation from brown to white fat. *Biochem. J.* 297, 93-97.

FEDER, Me. (1998). Testing the evolutionary origin and maintenance of symmorphosis. **In:** Weibel ER, Taylor CR y Bolis L. (Eds.). *Principles of animal design:*

Cambridge University Press: 48-55.

FIGUEROA, D.P.; OLIVARES, R.; SALABERRY, M.; SABAT, P.; CANALS, M. (2007). Interplay between the morphometry of the lungs and the mode of locomotion in birds and mammals. *Biol. Res.* 40, 000-000.

GARLAND, T.; CARTER, P.A. (1994). Evolutionary physiology. *Ann. Rev. Physiol.* 56, 579-621.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. (1996). Respiración. **In:** Tratado de fisiología médica. 9º ed. Mc. Graw-Hill-Interamericana. Madrid, España. pp: 519-588.

HAMMOND, K.A.; ROTH, J.; JANES D.N.; DONN, M.R. (1999). Morphological and physiological responses to altitude in deer mouse *Peromyscus maniculatus*. *Physiol. Biochem. Zool.* 75, 613-622.

HAMMOND, K.A.; SZEWCZAK, J.; KROL, E. (2001). Effects of altitude and temperature on organ phenotypic plasticity along an altitudinal gradient. *J. Exp. Biol.* 204, 1991-2000.

HOCHACHKA, P.W.; SOMERO, N. (1984). Biochemical adaptation. Princeton, Princeton University Press.

HSIA, C.C. (1998). Limits of adaptation in pulmonary gas exchange. **In:** Weibel E.R.; Taylor C.R. y Bolis L. (Eds.). Principles of animal design: The optimization and symmorphosis debate. Cambridge University Press. New York, EEUU. pp: 168-176.

HUEY, R.B.; BERRIGAN, D. (1996). Testing evolutionary hypotheses of acclimation. In *Animals and temperature. Phenotypic and evolutionary adaptation.* (Eds. Jhonson, I.A., Bennett, A.F. pp. 205-237. Cambridge, Cambridge University Press.

HUGHES, R.N. (1993). Diet selection: an interdisciplinary approach to foraging behavior. Oxford, Blackwell Scientific.

HULL, D. (1973). Thermoregulation in young mammals. **In:** Whittow, G. C. (Ed.). Comparative Physiology of Thermoregulation. Academic Press. New York, EEUU. 3:167-200.

JANSKY, L. (1973). Non-shivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. Biol. Rev. 48, 85-132.

KLAUS, S.; CASTEILLA, L.; BOUILLARD, F.; RICQUIER, D. (1991). The uncoupling protein UCP, a membraneous mitochondrial ion carrier exclusively expressed in brown adipose tissue. Int. J. Biochem. 23, 791-801.

LAGERSPETZ, K.Y.H. (1966). Postnatal development of thermoregulation in laboratory mice. Helv. Marine Res. 14, 559-571.

MAINA, J.N. (2000). Comparative respiratory morphology: themes and principles in the design and construction of the gas exchangers. Anat. Rec. 261: 25-44.

MAINA, J.N. (2002). Structure, function and evolution of the gas exchangers: comparative perspectives. J. Anat. 201: 281-304.

MALIK, S.S.; FEWELL, J.F. (2003). Thermoregulation in rats during early postnatal maturation: importance of nitric oxide. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 285, R1366-R1372.

MANN, G. (1978). Orden quirópteros. **In:** Los pequeños mamíferos de Chile (marsupiales, quirópteros, edentados y roedores). Gayana-Zoología. Editorial de la Universidad de Concepción. Concepción, Chile. pp: 40-105.

McNAB, B. (1988). Complications inherent in scaling the basal rate of metabolism in mammals. Quat. Rev. Bio. 63, 25-54.

- McNAB, B.K. (1997).** On the utility of uniformity in the definition of basal rate of metabolism. *Physiological Zoology* 70: 718-720.
- McMURTY, I.F. (2002).** Pre and postnatal lung development, maturation and plasticity. *Am. J. Physiol.* 282, 341-344.
- MORRISON, S.F.; RAMAMURTHY, S.; YOUNG, J.B. (2000).** Reduced rearing temperature augments responses in sympathetic outflow to brown adipose tissue. *Jour. Neurosc.* 20(24), 9264-9271.
- MUÑOZ-PEDREROS, A. (2000).** Orden Rodentia. **In:** Muñoz-Pedrerros A y Yañez J. (Eds). *Mamíferos de Chile*. CEA Ediciones. Valdivia, Chile. pp: 73-126.
- NEDERGAARD, J.; CONOLLY, E.; CANNON, B. (1986).** Brown adipose tissue in the mammalian neonate. In *Adipose tissue* (Eds. Trayhurn, P., Nichols, D.G.) pp. 152-213. London, Edward Arnold.
- NOVOA, F.F.; RIVERA-HUTINEL, A.; ROSENMAN, M.; SABAT, P. (2005).** Intraspecific differences in metabolic rate of *Chromomys olivaceus* (Rodentia: Muridae): the effect of thermal acclimation in arid and mesic habitats. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 78, 000-000.
- PADILLA, D.K.; ADOLPH, S.C. (1996).** Plastic inducible morphologies are not always adaptative: the importance of time delays in a stochastic environment. *Evol. Ecol.* 10, 105-117.
- PROSSER, L. (1991).** *Environmental and metabolic animal physiology*. New York, Wiley-Liss.
- RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. (1997).** Using energy: meeting environmental challenges. **In:** Eckert *Animal Physiology, Mechanisms and Adaptations*. 4^a ed. W. H. Freeman and Company. New York, EEUU. pp: 665-723.

- ROSENMANN, M.; MORRISON, P.L.R. (1974).** Maximum oxygen consumption and heat loss facilitation in small homeotherms by He-O₂. *Am. J. Physiol.* 226, 490-495.
- SABAT, P.; BOZINOVIC, F. (2000).** Digestive plasticity and the cost of acclimation to dietary chemistry in the omnivorous leaf-eared mouse *Phyllotis darwini*. *J. Comp. Physiol. B.* 170, 411-417.
- SABAT, P.; NOVOA, F.F.; BOZINOVIC, F.; MARTINEZ DEL RIO, C. (1998).** Dietary flexibility and intestinal plasticity in birds: a field and laboratory study. *Physiol. Zool.* 71, 226-236.
- SANT ANNA, G.M.; MORTOLA, J.P. (2003).** Thermal and respiratory control in young rats exposed to cold during postnatal development. *Comp. Biochem. Physiol. A* 134, 449-459.
- SCHLICHITING, C.D.; PIGLIUCCI, M. (1998).** Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sunderland, Sinauer Associated Inc.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. (1997).** Respiration. **In:** *Animal physiology, Adaptation and environment.* 5^o ed. Cambridge University Press. Nueva York, EEUU. pp: 5-64.
- STEARNS, C. (1989).** The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience* 39, 436-445.
- TAUSON, A.H.; CHWALIBOG, A.; TYGESEN, M.P. (2006).** Late develop of homoeothermy in mink (*Mustela vison*) kits - a strategy for maximum survival rate. *J. Anim. Physiol.* 90, 38-45.
- TIELEMAN, B.I.; WILLIAMS, J.B.; BUSCHUR, M.B. (2002).** Physiological adjustments to arid and mesic habitats in larks (*Alaudidae*). *Physiol. Biochem. Zool.* 75, 305-313.

- TIELEMAN, B.I.; WILLIAMS, J.B.; BLOOMER, P. (2003).** Adaptation of metabolism and evaporative water loss along an aridity gradient. *Proc. Roy. Soc. London* 270, 207-214.
- TOLOSA, E.M.; DIAMOND, J. (1990).** Ontogenetic development of transporter regulation in bullfrog intestine. *Am. J. Physiol.* 258, G770-G773.
- TENNEY, S.M.; REMMERS, J.E. (1966).** Alveolar dimensions in the lungs of animals raised at high altitude. *J. Appl. Physiol.* 22, 1528-1530.
- TRAVIS, J. (1994).** Evaluating the adaptative role of morphological plasticity. In *Ecological morphology. Integrative organismal biology* (Eds P. C. Wainwright , S.M. Reilly), pp. 99-122. Chicago: Chicago University Press.
- TRAYHURN, P. (1993).** Species distribution of brown adipose tissue: Characterization of adipose tissues from un coupling protein and its mRNA. In *Life in the cold: Ecological, Physiological and molecular mechanisms.* (Eds Carey, C., Florant, G.L., Wunder, B.A. , Horwitz, B.) pp. 361-368. Boulder, Westview Press.
- WEIBEL, E.R.; TAYLOR, C.R.; HOPPELER, H. (1991).** The concept of symmorphosis: a testable hypothesis of structure function relationship. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 88, 10357-10361.
- WEIBEL, E.R.; TAYLOR, C.R.; BOLIS, L. (Eds.) (1998).** Principles of animal design: The optimization and symmorphosis debate. Cambridge University Press. New York, EEUU. pp: 299-306.
- WHITHERS, P.C. (1977).** Measurements of VO_2 , VCO_2 and evaporative water loss with a flow-trough mask. *J. Appl. Physiol.* 42, 120-133.
- ZHAO, X.Q.; JORGENSEN, H.; GABERT, V.M.; EGGUM, B.O. (1996).** Energy metabolism and protein balance in growing rats housed in 18°C or 28°C environments and fed different levels of dietary proteins. *J. Nutr.* 126, 2036-2043.