



**UNIVERSIDAD DE CHILE**



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**INFLUENCIA DEL MEDIO AMBIENTE TÉRMICO  
SOBRE EL DESARROLLO DEL PULMÓN DE LA  
CODORNIZ JAPONESA (*Coturnix coturnix japonica*)**

**BERNARDITA BELÉN MARTÍNEZ MARTÍNEZ**

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

**PROFESOR GUÍA MAURICIO CANALS LAMBARRI**

**Financiamiento:** FONDECYT 1040694

SANTIAGO, CHILE

2012



# UNIVERSIDAD DE CHILE



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

## INFLUENCIA DEL MEDIO AMBIENTE TÉRMICO SOBRE EL DESARROLLO DEL PULMÓN DE LA CODORNIZ JAPONESA (*Coturnix coturnix japonica*)

### BERNARDITA BELÉN MARTÍNEZ MARTÍNEZ

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

NOTA FINAL: .....

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : MAURICIO CANALS L.	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO: RICARDO OLIVARES P-M.	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO: LUIS ALBERTO RAGGI S.	.....	.....

SANTIAGO, CHILE  
2012

## ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	2
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1.	Respiración	5
2.1.1.	Aparato respiratorio de las aves	10
2.2.	Termorregulación	15
2.3.	Plasticidad Fenotípica	17
2.4.	Simorfosis	19
2.5.	Características biológicas de la especie en estudio	22
3.	HIPÓTESIS	23
4.1.	Objetivo general	23
4.2.	Objetivos específicos	23
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	24
5.1.	Modelo animal	24
5.2.	Diseño experimental	24
5.3.	Análisis de los datos	28
6.	RESULTADOS	29
6.1.	Masa corporal ( $M_b$ ) y volumen pulmonar ( $V_L$ ).	30
6.2.	Estructura pulmonar.	33
6.3.	Capacidad de difusión de oxígeno-tejido ( $DtO_2$ ).	35
6.4.	Relación alométrica entre variables estructurales con la masa corporal.	36
7.	DISCUSIÓN	37
8.	CONCLUSIONES	40
9.	BIBLIOGRAFÍA	41

## RESUMEN

Tradicionalmente los estudios genéticos se han basado sólo en los rasgos que responden a un componente genético heredable, y el efecto del ambiente se consideraba interferencia en la expresión total de estos caracteres. Sin embargo, recientemente ha habido un replanteamiento a esta idea, y la plasticidad fenotípica ha dejado de ser considerada como “ruido”, cobrando importancia puesto que, contribuye a la variedad fenotípica y debido a que la selección actúa directamente sobre aquellos fenotipos más adaptados a ciertos ambientes.

Estas variaciones influenciadas por el medio pueden ser tanto fisiológicas como morfológicas, y por lo general aparecen sólo en momentos precisos de la ontogenia, principalmente en animales jóvenes que aún se encuentran en desarrollo.

Entre los órganos que son sensibles a ser afectados se encuentran aquellos asociados a la obtención de energía, como por ejemplo, el sistema digestivo o el sistema respiratorio. De esta forma existen variados experimentos que señalan respuestas adaptativas en individuos expuestos a diferentes condiciones ambientales en las que es necesario aumentar el consumo de oxígeno o se hace más difícil de conseguir. En las aves, estos estudios se hacen importantes puesto que sus pulmones se encuentran entre los de mayor eficiencia conocida.

En esta memoria en particular, se trabajó con codornices japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), un ave de desarrollo muy precoz, que fueron expuestas a temperaturas bajo su zona de neutralidad (ARE), comparadas a un grupo control (BRE), para observar la aparición de modificaciones a nivel de parámetros morfométricos pulmonares (densidad de superficie respiratoria y grosor de la barrera aire-sangre) y en la capacidad de difusión de oxígeno pulmonar, la cual depende directamente de éstos.

Los resultados muestran que no hubo diferencias entre el grupo ARE y el grupo BRE, las mediciones obtenidas corroboraron datos existentes para aves de similares características en estudios anteriores. Esto podría ser explicado por la precocidad de las crías de codorniz, las cuales ya podrían haber desarrollado vías para resistir bajas temperaturas al momento del experimento, o al hecho de que las estructuras no presenten plasticidad en el rango de temperaturas usado en estos experimentos.

## SUMMARY

Traditionally, genetic studies have been based only on features that respond to a heritable genetic component, and the effect of the environment was considered interference in the total expression of these characters. However, recently there has been a rethinking of this idea and phenotypic plasticity is no longer considered as "noise", having gained importance in contributing to the phenotypic variety and because selection acts directly on those phenotypes that are better adapted to certain environments.

These variations influenced by the environment may be both physiological and morphological, and usually appear only at key moments of ontogeny, especially in young animals that are still developing.

Among the organs that are susceptible to be affected are those associated with energy production, such as the digestive or respiratory system. Thus there are various experiments that indicate adaptive responses in individuals exposed to different environmental conditions in which oxygen is more difficult to obtain or it is necessary to increase the oxygen consumption. In birds these studies are important due to their lungs being among the most efficient ones.

In this particular study we worked with Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*), birds of very early development, which were exposed to temperatures below its neutrality area (HR group), compared to a control group (LR group) to observe the occurrence of modifications of pulmonary morphometric parameters (respiratory surface density and thickness of the air-blood barrier) and the oxygen diffusion capacity lung, which is directly dependent on them.

The results show no differences between the HR and the LR groups; the measurements we obtained corroborate existing data for birds of similar characteristics in previous studies. This could be explained by the precocity of the

young quail, which already may have developed ways to resist low temperatures at the time of the experiment, or the fact that the structures do not exhibit plasticity in the temperature range used in this experiments.

# 1. INTRODUCCIÓN

La plasticidad fenotípica de características fisiológicas o flexibilidad fisiológica, la cual ha sido visualizada como una respuesta adaptativa, es muy común entre las especies de vertebrados (Pigliucci, 1996; Sabat y Bozinovic, 2000; Pigliucci *et al.*, 2006), pero así mismo otras características morfológicas parecen ser más rígidas y son raramente modificadas por estímulos ambientales (Sabat *et al.*, 1998). Además, algunos autores han reportado la existencia de flexibilidad morfológica y fisiológica durante la ontogenia, pero ausencia de respuesta cuando los animales son adultos, ésto es, un patrón inflexible de reacción (Toloza y Diamond, 1990; Biviano *et al.*, 1993; Bozinovic, 1993; Zhao *et al.*, 1996). De este modo, la plasticidad de algunas características morfológicas pueden depender del momento ontogenético durante el cual actúa la aclimatación (Sabat y Bozinovic, 2000), mientras para otras no (McKechnie *et al.*, 2007). En consecuencia, los estudios de variabilidad fenotípica inducida por el medio ambiente, pueden subestimar la respuesta plástica potencial si en éstos sólo se utilizan animales adultos (Schlichting y Pigliucci, 1998). Numerosos estudios, han demostrado la existencia de variación estructural, durante el desarrollo de los órganos respiratorios en mamíferos (Collins *et al.*, 1986, Winkler y Cheville, 1987; Castleman y Lay 1990; Massaro y Massaro, 2002) y aves (Seymour *et al.*, 2004; Runciman *et al.*, 2005). Adicionalmente, se ha reportado que las estructuras relacionadas con las capacidades aeróbicas sufren cambios ontogenéticos dramáticos, y además, parecen ser más plásticas en mamíferos altriciales que en los precociales durante el desarrollo (Tenney y Remmers, 1966; Burri, 1974; Blanco *et al.*, 1991, Burri *et al.*, 1991, Hammond *et al.*, 1999 y 2001, Canals *et al.*, 2000, McMurtry, 2002). Por ejemplo, la septación alveolar en mamíferos precociales se desarrolla en el útero, mientras en animales altriciales la septación es postnatal (Collins *et al.*, 1986, Winkler y Cheville, 1984, Castleman y Lay, 1990, Massaro y Massaro, 2002); los alvéolos de rata (*Rattus sp*) no se desarrollan adecuadamente sino hasta el día 7

después de nacidas; su barrera alvéolo-capilar comienza a adelgazarse entre la segunda y tercera semana (Burri, 1974, Burri *et al.*, 1991), y la ramificación de las vías aéreas de esta especie varía durante el desarrollo postnatal (Canals *et al.*, 2000). La influencia del clima en las capacidades metabólicas de los roedores ha sido bien documentada (Rosenmann y Morrison, 1974, Bozinovic y Rosenmann, 1989, Tieleman *et al.*, 2002, 2003, Novoa *et al.*, 2005), sin embargo, los resultados parecen ser contradictorios en consideración a los desafíos respiratorios inducidos ambientalmente. Por ejemplo, mientras la altitud no parece afectar la septación en *Cavia porcellus* y *Ovis aries* (Tenney y Remmers, 1966), la hipoxia incrementa el tamaño y la superficie alveolar en ratas (*Rattus sp.*) (Blanco *et al.*, 1991). Hammond *et al.* (1999 y 2001), reportaron cambios fenotípicos en el roedor *Peromyscus maniculatus*, aclimatado a altas y bajas altitudes; estos autores demostraron que los roedores adaptados a bajas presiones parciales de oxígeno tienen mayor hematocrito y masa cardíaca y pulmonar que aquellos que lo estaban a altas presiones parciales. Considerándose las demandas energéticas impuestas por el estilo de locomoción, se han reportado asociaciones entre el tamaño del eritrocito y la capacidad de difusión y variaciones en la morfología del árbol bronquial (Canals *et al.*, 2007 y 2008).

Considerando la estricta asociación entre el consumo de oxígeno y la capacidad estructural de difusión de oxígeno (conductancia de oxígeno), y la proposición que sugiere que el estado de diseño estructural es proporcional a las necesidades funcionales a consecuencia de una morfogénesis regulada (hipótesis de simorfosis) (Weibel *et al.*, 1991 y 1992; Seymour *et al.*, 2004 y 2008; Canals *et al.*, 2005 y 2007; Runciman *et al.*, 2005; Figueroa *et al.*, 2007); se espera que las variables involucradas en el intercambio y distribución de los gases tengan la habilidad de cambiar durante el desarrollo postnatal de acuerdo a las diferentes demandas metabólicas impuestas por el ambiente térmico.

Existen pocos estudios del ajuste estructura-función durante el desarrollo. Por ejemplo, en mamíferos, resultados durante la ontogenia de *P. darwini* apoyan la hipótesis de simorfosis (Canals *et al.*, 2009a, 2009b y 2010), en forma similar a los

estudios de Seymour *et al.* (2004 y 2008) y Runciman *et al.* (2005) en aves. De esta forma, el objetivo de este trabajo, fue estudiar el ajuste de las estructuras a diferentes etapas del desarrollo en la codorniz precocial *Coturnix coturnix japonica*, bajo dos regímenes térmicos los cuales implican diferentes requerimientos energéticos.

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1.Respiración**

La función primaria del sistema respiratorio en los vertebrados es el intercambio gaseoso, esto es, entregar oxígeno desde el ambiente a los tejidos y remover el dióxido de carbono desde los tejidos (Powell, 2000; Robinson, 2003). El oxígeno es la molécula más importante adquirida desde el ambiente externo. Es un factor importante para el metabolismo aeróbico y un recurso necesario para el crecimiento y desarrollo, puesto que participa en la generación de energía, decisiva en todos los eventos biológicos a nivel molecular, ecológico y evolutivo (Maina, 2000).

La tasa respiratoria de un animal revela su ritmo de vida, determinando la medida en la cual un animal utiliza sus recursos para alcanzar las demandas impuestas por el ambiente (Maina, 2000). Así mismo, la estructura del pulmón se adapta para alcanzar las exigencias de oxígeno de un animal, lo cual a su vez se refleja en variados factores tales como el peso corporal y el modo de subsistencia (Maina y King, 1984), siendo las especies más pequeñas las que consumen más oxígeno (Robinson, 2003).

A diferencia de otros factores moleculares que pueden acumularse en el cuerpo, debido a su alta toxicidad, el oxígeno molecular no puede ser almacenado, y debe ser proporcionado continuamente desde el exterior (Maina, 2000). Los movimientos respiratorios ingresan aire fresco a los pulmones, y el corazón bombea sangre con una baja concentración de oxígeno a los pulmones. El oxígeno es difundido desde el aire a la sangre en los pulmones, y esta sangre con una alta concentración de oxígeno retorna al corazón vía circulación pulmonar. La sangre arterializada es bombeada a los distintos órganos y tejidos corporales vía circulación sistémica. Finalmente, el oxígeno difunde fuera de los capilares sistémicos a los tejidos y por último, a las mitocondrias en el interior celular. El dióxido de carbono se

mueve desde las células al ambiente, siguiendo los mismos pasos, pero en dirección opuesta. A menudo ésto es referido como la cascada de oxígeno, porque el nivel de oxígeno decrece a cada paso en el modelo (Powell, 2000).

Estructuralmente, los órganos de intercambio gaseoso comprenden dos compartimentos conteniendo los medios respiratorios separados por una barrera de tejido. No existen tejidos o células que sean absolutamente distintivas de los órganos respiratorios. Una superficie no especializada, por ejemplo, una membrana celular (Fig.1), es el medio de intercambio de gas más elemental (Maina, 2000). Esta no especificidad morfológica de los órganos respiratorios, especialmente la de aquellos componentes estructurales básicos, puede atribuirse al hecho de que en todos los órganos de intercambio de gases, simple o complejo, en la respiración de agua o aire, el flujo de oxígeno y dióxido de carbono ocurre por el mismo proceso: difusión (Maina, 2000), es decir, el movimiento pasivo de los gases a favor de un gradiente de concentración (Maina, 2002b; Robinson, 2003).

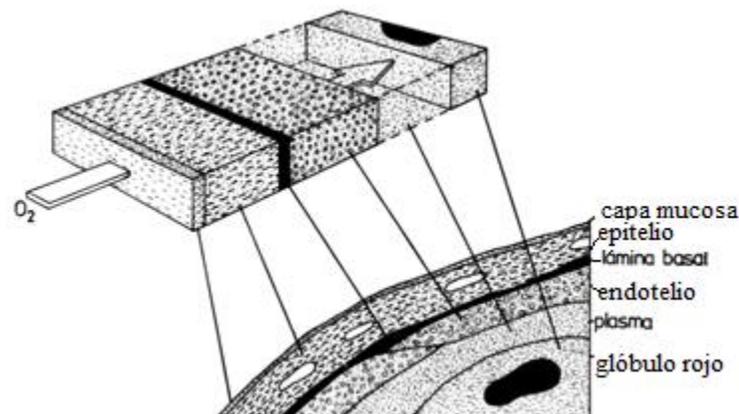


Figura 1, Ruta del oxígeno en las branquias, donde se observan las diferentes capas de tejido por las cuales es difundido (Modificado de Maina, 2000).

Las principales características estructurales que promueven la capacidad de difusión (influjo de oxígeno) de un órgano respiratorio, son una extensa superficie respiratoria y una delgada barrera de tejido (Maina, 2000; Weibel, 1983 y 2009).

El espacio siempre es un recurso valorado en el cuerpo y por lo tanto los órganos internos deben tener el tamaño y la organización apropiados. En los pulmones, un gran área de superficie, se alcanza a través de la subdivisión de las vías aéreas en pequeñas unidades terminales de intercambio gaseoso, las cuales, sin embargo, son particularmente susceptibles al colapso y además su expansión es costosa (Maina, 2000).

Por otro lado, en todos los taxones, el grosor de la barrera parece haber sido optimizado. La reducción intermitente del grosor de la barrera aire-sangre maximiza la capacidad de difusión del pulmón, sin sacrificar su integridad mecánica y la capacidad de realizar funciones metabólicas (Maina, 2002b; Weibel, 1983), es así como alrededor de la mitad de la superficie está formada solo de dos delgadas capas celulares, separadas apenas por una única membrana basal fusionada, y la otra mitad contiene fibras de soporte y los centros metabólicos. Resultando en que esta distribución irregular del grosor de la barrera es más favorable para el intercambio gaseoso, e incluso mostrando una conductancia hasta tres veces superior que si el mismo tejido estuviera dispuesto en una membrana de un grosor regular (Weibel, 1983).

Comparando valores de un amplio rango de mamíferos terrestres (incluido el ser humano), murciélagos y aves, entre los vertebrados respiradores de aire, la subdivisión más importante del tejido de intercambio gaseoso y la barrera aire-sangre más delgada se encuentran en los pulmones de las aves (Maina, 2000).

En este aspecto, la morfometría pulmonar ha demostrado ser un valioso enfoque para comprender la relación entre la forma y función del diseño y el comportamiento animal (Maina, 2002a). En particular, las técnicas morfométricas han permitido la identificación de las subunidades funcionales involucradas en determinar la capacidad de difusión, la cual es la medición más elemental de la función pulmonar (Runciman *et al.*, 2005).

Esta capacidad total de difusión (aire-eritrocito) o conductancia de oxígeno, ofrece un excelente modelo para el estudio de la optimización estructural del pulmón,

pues es la única variable que depende exclusivamente de parámetros morfométricos intrapulmonares, (Weibel *et al.*, 1991). La capacidad de difusión morfométrica pulmonar total ( $D_L O_2$ ) estima la conductancia máxima posible en el pulmón bajo condiciones de ventilación y perfusión óptimas sobre la barrera completa (Maina y King, 1984), e indica la capacidad de éste para impulsar un gas desde los alvéolos hasta la sangre capilar, siendo definida por la cantidad de gas transferida desde los alvéolos hasta la sangre capilar por unidad de tiempo y en función del gradiente de presión parcial media (Maina, 2002a). Está determinada por la relación entre el área de la superficie respiratoria (AA) y la media armónica del grosor de la barrera aire-sangre ( $\tau_h$ ) (Weibel, 1970-1971; Gehr *et al.*, 1981; Maina y King, 1984; Maina, 2002a). A su vez, AA puede expresarse como el producto del volumen del tejido pulmonar de intercambio ( $V_{L_p}$ ), la densidad de superficie respiratoria ( $DS_r$ ), y el coeficiente de permeabilidad de Krogh ( $\kappa$ ) (Gehr *et al.*, 1981; Maina, 2002a), el cual es el producto de la solubilidad del gas ( $\alpha$ ) y el coeficiente de difusión ( $D$ ) (Maina, 2002a), que surge del estudio de los gases en fisiología.

El flujo de oxígeno,  $DO_2$ , debe ser proporcional a la superficie (S) e inversamente proporcional al grosor de la barrera ( $\tau$ ), esta razón multiplicada por el coeficiente de permeabilidad  $\kappa O_2$ :

$$DO_2 = \kappa O_2 \cdot S / \tau$$

Este modelo sólo considera el primer paso de la transferencia de  $O_2$ , a través de la barrera de tejido. Sin embargo, el proceso completo involucra tres pasos: la transferencia a través de la barrera de tejido al plasma, la difusión de  $O_2$  a través del plasma y la unión del  $O_2$  a la hemoglobina dentro de los glóbulos rojos (Weibel, 1983).

El oxígeno al atravesar subsecuentemente estos compartimentos se encontrará con la resistencia de cada uno de ellos: la resistencia de la barrera ( $R_T$ ), del plasma ( $R_p$ ) y la del eritrocito ( $R_E$ ), siendo la sumatoria de todas ellas la resistencia total ( $R_L$ ), lo cual expresado en términos de sus recíprocos:

$$1/D_{LO2} = 1/D_{tO2} + 1/D_{PO2} + 1/D_{EO2}$$

De esta manera la conductancia total ( $D_{LO2}$ ) puede descomponerse en la contribución a ella proveniente de la barrera aire-sangre ( $D_{tO2}$ ), del plasma ( $D_{PO2}$ ) y del eritrocito ( $D_{EO2}$ ) (Gehr *et al.*, 1981; Maina, 2002a; Maina y King, 1984, Weibel, 1983).

En algunos estudios son consideradas las conductancias para todos los componentes, otros pueden incluir sólo a la membrana y el plasma, sin incluir el eritrocito, o reportan sólo la capacidad de difusión de la barrera aire-sangre ( $D_{tO2}$ ).

### 2.1.1. Aparato respiratorio de las aves

Entre los vertebrados, el sistema de sacos aéreos y pulmones de las aves es el más complejo y eficiente de los órganos de intercambio gaseoso (Maina, 2000).

La estructura del sistema respiratorio de las aves es única entre los vertebrados, con pequeños pulmones que no cambian de volumen durante la respiración y nueve sacos que actúan como fuelles para ventilar el pulmón pero que no participan del intercambio gaseoso (Maina y King, 1984; Powell, 2000). En la mayoría de las especies, existen nueve sacos aéreos, los cuales pueden distinguirse en grupos funcionales craneales y caudales (Fig.2). Aparentemente durante la evolución, las aves segregaron las funciones de intercambio y ventilación. Esta partición heterogénea contrasta con la partición homogénea de los mamíferos, en que los alvéolos realizan tanto la función ventilatoria como de intercambio gaseoso (Powell, 2000), por lo que son ventilados por oleadas (bidireccionalmente), permitiendo que el aire fresco se diluya en el aire viciado (del espacio muerto), constituyendo un sistema ineficiente de ventilación (Maina, 2000).

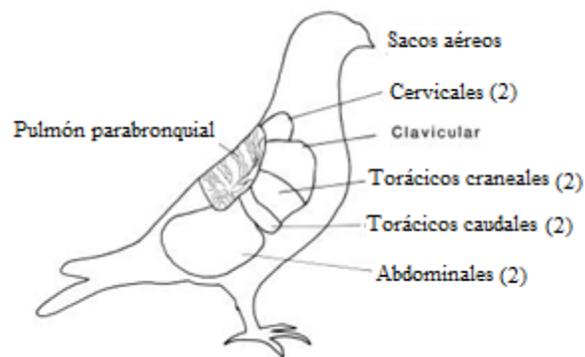


Figura 2, Sistema respiratorio de un ave, donde se observan el pulmón parabronquial y los sacos aéreos (Modificado de Powell, 2000).

Careciendo de diafragma, los pulmones, han sido desplazados al techo de la cavidad celómica donde se encuentran adjuntos a las costillas, siendo cuadrilaterales en forma, compactos, e inexpandibles (Maina, 2000).

Las unidades funcionales del intercambio gaseoso en el pulmón de las aves son los parabronquios, también llamados bronquios terciarios puesto que se originan de los bronquios secundarios. El lumen parabronquial está delineado por una malla de músculo liso, el cual delinea la entrada al atrio irradiándose desde el lumen parabronquial. El atrio conduce al infundíbulo, y finalmente, a los capilares aéreos de 2 a 20  $\mu\text{m}$  de diámetro y aproximadamente de un cuarto del diámetro parabronquial de largo (Fig.3).

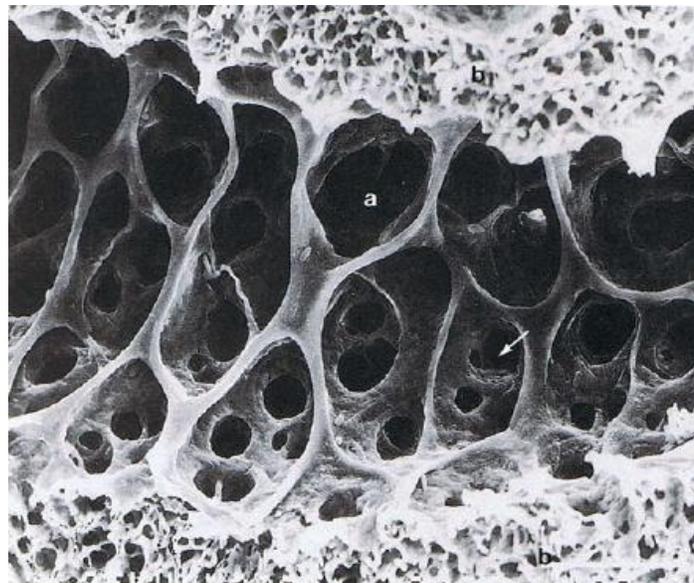


Figura 3, Microfotografía electrónica de barrido de un parabronquio cortado longitudinalmente, del pulmón de *Gallus gallus*. En la superficie se observan los atrios (a), en cuyo piso se encuentran los infundíbulos (flecha) que llevan a los capilares aéreos del tejido intercambio (b). Aumento 200X. (McLelland, 1990).

Estos capilares extremadamente angostos (4–10  $\mu\text{m}$ ), comprenden la mayor parte del tejido parabronquial de intercambio del pulmón aviar y sólo son factibles debido a los pulmones pequeños y no expansibles de las aves. Durante la respiración, el volumen de los pulmones varía en apenas un 1,4 % e incluso al ser apretados, ésto no causa un colapso significativo de los capilares aéreos (Maina, 2000).

Los capilares aéreos se entrelazan con una red similar de capilares sanguíneos en el manto parabronquial, proveyendo una gran superficie de intercambio gaseoso, mayor a la encontrada en mamíferos (Maina, 2000; Powell, 2000). Los capilares sanguíneos se encuentran expuestos perpendicularmente al aire parabronquial mediante corrientes cruzadas (Fig. 4) y gracias a ésto, la concentración de oxígeno en la sangre arterial puede exceder la del aire espirado (Maina, 2000), siendo funcionalmente superior al *pool* uniforme de los alvéolos pulmonares de mamíferos, ya que se alcanza un mayor grado de arterialización para grados semejantes de ventilación (Maina y King, 1984).

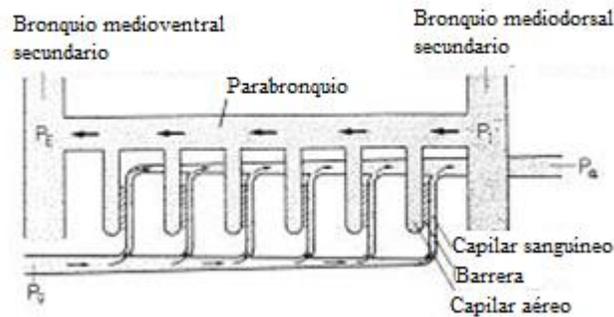


Figura 4. Modelo de corrientes cruzadas para el intercambio gaseoso en el pulmón aviar (Powell, 2000).

Esta particular anatomía del sistema respiratorio de las aves, lo propone teóricamente como un modelo de intercambio gaseoso más eficiente que el modelo mamífero (Powell, 2000). El estudio de la estructura del tejido de intercambio del pulmón aviar, a través de métodos morfométricos, indica que parámetros pulmonares como el grosor de la barrera aire-sangre y el área de superficie por gramo de peso vivo, son mejores en las aves si se comparan con los mamíferos, exhibiendo, consiguientemente, una mayor capacidad de difusión para oxígeno anatómica por gramo de peso corporal (Maina y King, 1984).

A pesar de que ha sido reportada una alta densidad de la superficie respiratoria y una barrera aire-sangre delgada en varias especies de aves pequeñas, como *Colibri coruscans*, la mayoría de las aves tienen valores similares de densidad de superficie respiratoria y espesor de la barrera aire-sangre (Maina, 2002a). Sin embargo, los órdenes que contienen aves cursoriales (por ejemplo, Galliformes, Struthioniformes y Sphenisciformes), parecen tener un mayor grosor de dicha barrera (Maina, 2002a).

Los pulmones de los pequeños pájaros con metabolismos masa-específicos altos exhiben diferentes mejoras morfométricas, como aquellos de las pequeñas especies paseriformes, que tienen una mayor tasa metabólica y operan a una temperatura corporal más alta, y son superiores a aquellas no paseriformes (Maina, 2002b). Incluso se ha encontrado que en aquellas especies de aves más activas, la proporción de tejido de intercambio es mayor (Maina y King, 1984). A su vez, las aves planeadoras que gastan menos energía en el vuelo tienen pulmones relativamente inferiores (Maina, 2002b).

Figuroa *et al.* (2007), en estudios en aves y mamíferos, encontraron que la barrera aire-sangre era más fina en la tórtola (*Zenaida auriculata*), siendo casi tan fina como la de la paloma *Columbia livia* (Maina, 2002a). Estos autores encontraron al mayor valor de  $\tau_h$  en la perdiz *Nothoprocta perdicaria* ( $0,469 \pm 0,02 \mu\text{m}$ ), mostrando, una barrera aire-sangre más gruesa que la mayoría de las especies de aves estudiadas hasta el momento. La mayoría de los pájaros tienen una menor  $\tau_h$ , en general, que oscilan entre  $0,099$  y  $0,385 \mu\text{m}$ . Sólo el avestruz *Struthio camelus* y el

pingüino *Spheniscus humboldti* tienen  $\tau_h$  de aproximadamente 0,5  $\mu\text{m}$  (Maina, 2002b). El valor de  $\tau_h$  en *N. perdicaria* se aproxima a la de los Galliformes, que van desde 0,318-0,346  $\mu\text{m}$ , en las aves de corral como *Gallus gallus*, a 0,385  $\mu\text{m}$  en *Meleagris gallopavo*.

Las especies domésticas presentan barreras aire-sangre gruesas, disminución de la superficie respiratoria y menor capacidad de difusión pulmonar, en comparación con las especies con mayores requerimientos energéticos (Maina, 2002a), lo cual podría explicar los valores de *N. perdicaria*.

## 2.2. Termorregulación

Los mamíferos y aves son homeotermos y capaces de mantener su temperatura corporal en un ambiente frío. La homeotermia endotérmica resulta de altos niveles de producción de calor durante el reposo en virtualmente todos los tejidos, sostenida en forma aeróbica, de la producción termorreguladora y la prevención de las pérdidas de calor excesivas gracias al pelo o plumaje, siendo costosa de mantener a nivel energético (Marjoniemi, 2001).

Todos los tejidos vivos producen calor como un subproducto del metabolismo. Esta producción obligatoria mínima de calor se estima comúnmente con la medición de la tasa metabólica basal (Marjoniemi, 2001). Las tasas metabólicas máxima y basal de los endotermos determina la sobrevivencia de los animales en situaciones extremas, en hábitats desérticos y fríos, y representa factores claves, determinando los límites de su distribución (Novoa *et al.*, 2005).

Esta termogénesis obligatoria es independiente de cambios a corto plazo en la temperatura ambiental; en contraste, la termogénesis termorreguladora ocurre a temperaturas bajo la zona de termoneutralidad, en respuesta a exposición aguda al frío. El propósito de la termogénesis regulatoria es incrementar la producción de calor en ambiente frío, para mantener la temperatura corporal a pesar de una pérdida aumentada. La termogénesis regulatoria puede ocurrir en el músculo como termogénesis por temblor, y en la grasa parda y posiblemente en otros tejidos como termogénesis “no por temblor” (Marjoniemi, 2001).

El embrión de ave atraviesa por una transición termorreguladora, desde actuar como poiquiloterma en su huevo, hasta convertirse en homeoterma en el momento de la eclosión o poco después (Black y Burggren, 2004). Las aves más juveniles tienen sólo una capacidad limitada para mantener su temperatura corporal en un ambiente frío, un cuerpo pequeño y aislamiento débil expone a los polluelos a la pérdida de calor.

En relación a la madurez al momento de la eclosión y el patrón de desarrollo post eclosión, las aves se dividen en dos grupos principales: precociales y altriciales.

A la eclosión, los polluelos precociales tienen un plumaje esponjoso, e innervación y función muscular bien desarrollada. Los polluelos dejan el nido pronto luego de la eclosión, y frecuentemente están expuestos a temperaturas bajo la zona de termoneutralidad, apoyados por su habilidad para incrementar la producción de calor después de la eclosión. Por otro lado, las nidadas altriciales salen del huevo casi o completamente sin plumaje y los ojos cerrados, y exhiben poca actividad motora más que “pedir”. Las aves altriciales son totalmente incapaces de sobrevivir sin la alimentación y calor de sus padres. Su temperatura corporal responde pasivamente a los cambios en la temperatura ambiental, indicando que son poiquilotermos y que carecen de producción de calor termorreguladora (Marjoniemi, 2001).

Los prerequisites para que aparezca la capacidad de termogénesis regulatoria, son la madurez de los músculos esqueléticos y el control neuronal de estos músculos (Marjoniemi, 2001). Los pollos adultos pueden aumentar la ventilación pulmonar y el gasto cardíaco para elevar las tasas de transporte de  $O_2$  en apoyo al incremento de  $VO_2$ , por lo que también es crucial la madurez de los sistemas respiratorio y cardiovascular, para asegurar la entrega eficiente de  $O_2$  que sostenga esta producción metabólica de calor y la regulación de la temperatura corporal (Black y Burggren, 2004).

### **2.3. Plasticidad Fenotípica**

La plasticidad fenotípica puede ser definida como la capacidad de un genotipo para producir múltiples fenotipos, es decir, un cambio en la expresión de una o más características, en respuesta a la exposición a diferentes ambientes físicos y bióticos durante su ontogenia (Pigliucci, 2005; Miner *et al.*, 2005; Novoa *et al.*, 2005; Ksiazek *et al.*, 2009), siendo crucial para mantener la homeostasis en medios cambiantes (Novoa *et al.*, 2005).

La plasticidad fenotípica puede tomar variadas formas, desde cambios en la fisiología hasta alteraciones de la estructura morfológica y cambios en el repertorio conductual (Chambel *et al.*, 2005), visualizándose mediante el uso de normas de reacción, las cuales muestran los valores de una característica fenotípica, o el set de fenotipos expresados por un genotipo a través de dos o más ambientes o tratamientos (Whitman y Agrawal, 2009).

La plasticidad fue una vez considerada “ruido”, pero ahora es ampliamente considerada como adaptativa bajo un vasto despliegue de circunstancias. Puede iniciarse tanto por estímulos, como por factores ambientales como temperatura o niveles de oxígeno que afectan directamente la homeostasis o el desarrollo, y señales ambientales, las cuales tienden a ser estímulos no dañinos (fotoperiodo o químicos relacionados con depredadores) (Whitman y Agrawal, 2009), igualmente, se ha demostrado su ocurrencia en respuesta a variaciones estacionales y en experimentos de aclimatación térmica en numerosas especies de mamíferos (Novoa *et al.*, 2005).

La mayor ventaja de la plasticidad fenotípica resulta del hecho que los organismos pueden hacer frente a ambientes fluctuantes e impredecibles en una escala ecológica de tiempo, sin involucrar cambios en el genotipo o procesos micro evolutivos. De esta forma, se ha propuesto que la habilidad para modificar el fenotipo puede ser superior en especies o poblaciones que experimentan mayores cambios en las variables ambientales, por ejemplo, la temperatura, que aquellas que raramente experimentan fluctuaciones ambientales extremas (Novoa *et al.*, 2005).

Variadas especies muestran plasticidad fenotípica, la cual se visualiza a través de la respuesta adaptativa, siguiendo el principio de optimización del diseño animal (Sabat y Bozinovic, 2000). Sin embargo, en algunos casos, puede representar respuestas inevitables de los organismos que no implican una mejora de desempeño (Chambel *et al.*, 2005), por ejemplo, la producción de espinas o armaduras pesadas en una presa en respuesta a la presencia de predadores puede ayudar a su defensa, pero reduce la capacidad de alimentación, migración, apareamiento, fecundidad, etc.; siendo a menudo difícil determinar que fenotipos son favorables o adaptativos, ya que en un contexto puede serlo y en otro ser completamente perjudicial. Por lo tanto, el beneficio de cualquier fenotipo es relativo a un tiempo y lugar específico y a la presencia o ausencia de individuos que interactúen (Whitman y Agrawal, 2009).

En cuanto al momento en el cual un individuo es capaz de responder a cambios ambientales, existen variaciones, algunas especies se mantienen sensibles durante gran parte de su vida, sin embargo, en otras, los procesos de desarrollo crean ventanas específicas cuando esta plasticidad es posible, y si no reciben el estímulo apropiado durante ese período crítico, simplemente no ocurre. El desarrollo es particularmente susceptible a perturbaciones, con múltiples consecuencias, por esto la teoría de la plasticidad está tan unida al desarrollo (Whitman y Agrawal, 2009).

Numerosos estudios han demostrado que los procesos relacionados a la adquisición y gastos de energía, de los cuales depende la persistencia y reproducción de los animales, se encuentran entre los más sensibles a cambios en las condiciones ambientales y estarían intrínsecamente limitados por el diseño del organismo, (Ksiazek *et al.*, 2009; Canals *et al.*, 2010).

## 2.4.Simorfosis

La simorfosis es definida como un estado de diseño estructural proporcional con las necesidades funcionales, y resultante de un proceso de morfogénesis regulada, mediante el cual la formación de elementos estructurales está regulada para satisfacer pero no exceder los requerimientos del sistema funcional (Taylor y Weibel, 1981; Canals *et al.*, 2010), de forma que la capacidad máxima de sus partes debería estar equilibrada, no existiendo eslabones con un diseño superior o inferior en las cadenas (Seymour *et al.*, 2004).

El término fue usado para describir aquellos sistemas con factores de seguridad cercanos a 1,0; estos factores sirven para minimizar la zona de superposición entre las capacidades propias de sus componentes y las cargas a las cuales puede llegar a ser sometido, evitando que pudiese resultar en una falla de desempeño (Diamond, 2002).

La hipótesis fue desarrollada por Taylor y Weibel (1981) analizando la cascada de oxígeno para mamíferos en ejercicio, midiendo estructura y función de cada nivel y luego realizando comparaciones interespecíficas con técnicas alométricas (Seymour *et al.*, 2004). Y aunque primeramente la simorfosis se propuso para la vía del oxígeno en mamíferos, luego se estableció como una hipótesis general de diseño económico (Canals *et al.*, 2010).

Una predicción importante de este principio es que si las demandas funcionales cambian, los componentes estructurales deben cambiar en concordancia, debido a que la construcción y la mantención de estructuras, más allá de lo necesario, tiene un costo elevado (Bacigalupe y Bozinovic, 2002). De esta forma, la hipótesis propone que si las estructuras ajustadas a las necesidades funcionales se combinan con una estricta economía de energía y materiales, el resultado sería un diseño óptimo para la función a la que sirve (Weibel *et al.*, 1991 y 1992; Canals *et al.*, 2010).

De esta forma, de acuerdo a los principios de diseño óptimo y la simorfosis en biología (Weibel *et al.*, 1998), las diversas construcciones de los órganos de

intercambio de gases deben conceder ciertas ventajas funcionales e incurrir en menos costos para el desarrollo, operación y mantención (Maina, 2002b). Animales con altos requerimientos energéticos presentan soluciones de compromiso estructural y fisiológico para la eficiencia energética requerida, demandas ambientales y limitaciones del estilo de vida. Puesto que el vuelo es una de las formas de locomoción más costosas a nivel energético, estos compromisos son particularmente evidentes en animales voladores (Canals *et al.*, 2005).

En aves precociales y altriciales, se han encontrado diferencias en las velocidades de desarrollo de las estructuras pulmonares y diferencias en las leyes alométricas que rigen el crecimiento de los órganos entre adultos y crías (Timmwood *et al.*, 1987; Seymour *et al.*, 2004 y 2008; Runciman *et al.*, 2007); es decir, cambios en su dimensión, correlacionados con cambios en el tamaño total (Gayon, 2000). Sin embargo, tanto en especies altriciales como en precociales, el desarrollo de la capacidad de difusión de oxígeno es paralelo a las demandas energéticas, lo que sugiere un desarrollo simórfico de las estructuras, es decir, una morfogénesis adecuada a las demandas funcionales (Timmwood *et al.*, 1987; Seymour *et al.*, 2004 y 2008; Runciman *et al.*, 2007).

Por ejemplo, en aves precociales como los pavos domésticos (*Meleagris gallopavo*), hay un rápido desarrollo inicial de los parámetros necesarios para la respiración seguido por un desarrollo un poco más lento posterior a la eclosión (Seymour *et al.*, 2008). En aves altriciales como el pelícano (*Pelecanus conspicillatus*), el patrón de desarrollo de los componentes pulmonares es similar al de los pavos antes de la eclosión, pero continúan desarrollándose rápidamente después de nacer, varias veces, alcanzando valores que exceden a los de los pavos e igualando o incluso excediendo los de las aves adultas en general (Runciman *et al.*, 2005). Por otro lado, *Alectura lathamii*, un pavo australiano precocial, tiene mayor metabolismo máximo y mayor capacidad de difusión de oxígeno que los pelícanos de la misma masa, comportándose en forma similar a *Meleagris gallipavo* (Seymour *et al.*, 2008).

Aún no existe una solución definitiva al debate generado por la hipótesis de la simorfosis, habiendo tanta evidencia a favor como en contra (Bacigalupe y Bozinovic, 2002; Canals, 2010). Respecto a la cascada de oxígeno, Weibel *et al* (1991 y 1992) encontraron que el volumen mitocondrial, el gasto cardíaco y el volumen capilar variaban con la masa corporal con el mismo exponente alométrico que el consumo máximo de oxígeno, sugiriendo que la fosforilación mitocondrial tendría la misma tasa en todos los mamíferos, lo que concuerda con la hipótesis de simorfosis. Sin embargo, los mismos autores que propusieron la hipótesis observaron que la capacidad de difusión del pulmón estaba sólo parcialmente ajustada a la capacidad máxima de oxígeno tanto en la variación adaptativa (animales de la misma masa adaptados a ambientes con diferentes requerimientos energéticos) como alométrica (animales de diferentes masas en los cuales la adaptación de las capacidades máximas debe ser paralelo a la estructura), por lo que especies de gran tamaño tienen un exceso de capacidad de difusión, mientras las especies pequeñas no (Weibel, 1998; Weibel *et al.*, 1991). Por ejemplo, mientras los factores de seguridad de pequeños animales son también pequeños, pueden alcanzar valores tan altos como 6 en algunos artiodáctilos de gran tamaño. Si bien hay autores que proponen que la presencia de factores de seguridad contradice la economía de materiales de la hipótesis de simorfosis, ésta es consistente con la optimización de órganos y organismos donde actúa la selección natural. Un factor de seguridad con bajo costo de energía y mínima probabilidad de falla sería favorecido por la selección natural (Canals *et al.*, 2010).

No obstante, aun si los animales no están diseñados óptimamente, los modelos de optimización pueden utilizarse para el entendimiento de la evolución de los sistemas fisiológicos. En este sentido, pueden indicar el “mejor” diseño que un organismo puede alcanzar, y por lo tanto el concepto es útil como referencia para determinar las razones de su desvío de la optimización (Bacigalupe y Bozinovic, 2002).

## 2.5. Características biológicas de la especie en estudio

### Codorniz Japonesa (*C. coturnix japonica*):

Las codornices son originarias del norte de África, Europa y Asia, perteneciendo al orden Galliformes y a la familia de los Faisánidos (Phasianidae) (Dueñas, 2009; Pinto *et al.*, 2002). La codorniz europea, *Coturnix coturnix coturnix*, fue introducida a Japón desde China en el siglo XI donde se cruzó con especies salvajes dando lugar a la codorniz doméstica (*C. coturnix japonica*) que es la más difundida a nivel mundial (Lázaro *et al.*, 2005). Los primeros escritos al respecto, los cuales datan del siglo XII, registran que eran criadas por su canto (Pinto *et al.*, 2002).

Esta codorniz se caracteriza por su gran precocidad y elevada productividad, siendo explotada tanto para la producción de carne como de huevos. La producción intensiva de la codorniz japónica empezó en los años veinte en Japón, obteniéndose entonces por selección las primeras líneas de huevo. Entre los años 1930 y 1950 esta codorniz se introdujo con éxito en América y Europa (Lázaro *et al.*, 2005), en donde se criaron líneas específicas para producción de carne y huevos (Schmid y Wechsler, 1997).

Es un ave de pequeño tamaño. El macho presenta la garganta de color canela intenso o marcada con algo de negro en la barbilla, el color canela oscuro llega hasta las mejillas y el abdomen; la hembra es de color crema claro durante toda su vida. Los machos jóvenes son muy similares a la hembra. Los machos alcanzan su madurez sexual entre los 35 y 45 días y las hembras alrededor de los 45 días, momento en el que comienzan su postura. Su período de incubación es de 16-17 días, naciendo las crías con un peso de 10 gramos. A los dos meses, cuando completan su desarrollo, las hembras han alcanzado un peso de 140 gramos y los machos 120 g (Dueñas, 2009). Debido a su pequeño tamaño y corto intervalo entre generaciones, la codorniz japonesa es también popular como animal de laboratorio (Schmid y Wechsler, 1997).

### **3. HIPÓTESIS**

1. Las aves presentan un alto grado de optimización en sus parámetros respiratorios estructurales, lo que se expresa en altas densidades de superficie respiratoria y barreras aire-sangre muy delgadas.
2. La optimización de los parámetros estructurales puede ser modulada ambientalmente durante el desarrollo. Se espera encontrar mejores valores de optimización (mayores densidades de superficie respiratoria, menor grosor de barrera aire-sangre y mayores factores de difusión anatómica), en los individuos sometidos a un ambiente de alto requerimiento energético.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo general**

Estudiar la variabilidad fenotípica, ambientalmente inducida, de parámetros que caracterizan el aparato respiratorio de las aves durante el desarrollo postnatal.

#### **4.2. Objetivos específicos**

1. Observar la variación de los parámetros estructurales respiratorios durante el desarrollo en la especie *C. coturnix japonica*.
2. Determinar el efecto del ambiente térmico sobre los parámetros respiratorios estructurales en el desarrollo postnatal en la especie *C. coturnix japonica*.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Modelo animal

Se trabajó con la especie de ave *Coturnix coturnix japonica*, un ave precocial, muy útil como modelo, ya que es un ave no voladora y por tanto con bajo requerimiento energético de locomoción, lo que permite la comparación con otras aves no voladoras estudiadas por otros autores.

### 5.2. Diseño experimental

Se obtuvieron 24 crías de la especie *Coturnix coturnix japonica*, de 1 día de edad, seleccionadas al azar de varias camadas de un criadero comercial ubicado en Santiago, Chile. A continuación, fueron separados al azar en dos grupos, de 12 individuos cada uno, con diferentes ambientes térmicos, agua *ad libitum* y un fotoperíodo de 12:12 horas de luz y oscuridad en habitaciones termorreguladas.

El primer grupo fue mantenido durante todo el estudio a una temperatura estable de  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  (en condiciones de bajo requerimiento energético: BRE), asumido como control, y el segundo, sometido a estrés térmico con el fin de aumentar su demanda energética y por lo tanto, sus exigencias de oxígeno (alto requerimiento energético: ARE). Los primeros tres días ambos grupos se mantuvieron a  $30^{\circ}\text{C}$  para permitir su aclimatación.

El ambiente de estrés térmico fue establecido disminuyendo la temperatura en  $2^{\circ}\text{C}$  cada dos días hasta llegar a los  $15\pm 1^{\circ}\text{C}$  y luego se mantuvo estable en esta temperatura hasta el momento de su sacrificio. Esta reducción en forma gradual se realizó para evitar una alta mortalidad de las crías en etapas tempranas, las cuales son altamente sensibles a las bajas temperaturas.

Para estudios de morfología pulmonar, se tomaron 3 individuos de cada grupo a los días 10, 16, 24 y 45 ± 1, presentando niveles distintos de exposición térmica (Tabla 1).

Tabla 1,- Exposición térmica acumulada para los dos grupos experimentales (BRE y ARE)		
	BRE	ARE
1 día	30 °C	
10 días	300 °C	260 °C
16 días	480 °C	366 °C
24 días	720 °C	486 °C
45 días (adultos)	1350 °C	801 °C

Los individuos fueron sacrificados usando CO<sub>2</sub>, de acuerdo a las leyes actuales de Chile y los estándares del Comité Ético de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, donde se realizaron los experimentos.

Posteriormente, se realizó una traqueotomía y los pulmones se instilaron *in situ* con glutaraldehído al 2,5% en una solución *buffer* fosfato a 0,01 mol L<sup>-1</sup> (pH = 7,4, 350 mOsm) (Maina, 2002a), utilizando un catéter plástico y se ligó la tráquea para mantener el fijador intrapulmonar. Tras 24 horas los pulmones se removieron por toracotomía y se estimó su volumen (V<sub>L</sub>) por el método de desplazamiento de agua (Scherle, 1970). Inmediatamente después de este procedimiento, ambos pulmones fueron sumergidos en el mismo fijador a 4° C por un mínimo de 2 horas. Lo siguiente, fue procesar el tejido de pulmón derecho e izquierdo para microscopía óptica de rutina (MO) y microscopía electrónica de transmisión (MET). Se realizaron dos cortes de las zonas superior, media y basal, de ambos pulmones, obteniéndose piezas de 1 a 2 mm de grosor, que fueron posteriormente lavadas por un mínimo de dos horas en una solución *buffer* a 4°C, para posteriormente ser postfijados en tetróxido de osmio al 1%, por 1 hora a 4°C. Luego el tejido fue deshidratado en series

crecientes de etanol e infiltrado en epon, construyendo cubos de 2 a 3 mm<sup>3</sup>, de los cuales se obtuvo cortes semifinos de chequeo de 1 µm, teñidos con azul de toluidina al 1%, y cortes ultrafinos de 60-90 nm de grosor, montados en grillas de 200 Mesh, contrastados con citrato de plomo, que fueron revisadas en microscopio electrónico JEOL/JEM 100SX. Las secciones fueron fotografiadas y digitalizadas, y se analizaron doce secciones semifinos (Figura 5) y doce ultrafinas (Figura 6) por individuo usando el *software* Scion Image.

La densidad de la superficie respiratoria (DSr) se estimó mediante el método estereológico de intersección de líneas (Weibel, 1970/71):  $DSr = \frac{2N}{1/2 \cdot P_T \cdot Z}$ , en donde N es el número de intersecciones entre líneas de longitud Z con la superficie respiratoria y P<sub>T</sub> es el número de puntos de prueba.

La media armónica de espesor de la barrera aire-sangre (τ<sub>h</sub>) se estimó por un método estereológico en una grilla de red cuadrada como se sugiere por Weibel

$$(1970/71): \frac{1}{\tau_h} = \frac{3}{2} \cdot \frac{\sum_{j=1}^m f_j \cdot \frac{1}{l_j}}{\sum_{j=1}^m f_j}, \text{ donde } l_j \text{ es el valor promedio de la longitud de}$$

intercepto de las sondas lineales, f<sub>j</sub> la frecuencia de clase j y m es el número de clases.

El grosor de la barrera alvéolo-capilar, la densidad de la superficie respiratoria y el volumen pulmonar permiten la estimación de la capacidad de difusión de oxígeno.

El volumen del parénquima pulmonar se estimó con  $VLp = 0,46 \cdot V_L^*$ , para aves (Maina, 2002a). De las medidas estructurales se estimó la capacidad morfométrica de

difusión de oxígeno en tejido usando:  $DtO_2 = \kappa \frac{DSr \cdot VLp}{\tau_h}$ , donde DtO<sub>2</sub> es la

capacidad de difusión de la barrera aire-sangre y κ es el coeficiente de difusión de Krogh  $\kappa = 4,1 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \text{ mbar}^{-1} = 4,1 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$  (Gehr *et al.*, 1981).

$DS_r$  es la densidad de superficie respiratoria,  $VLp$  es el volumen parénquima pulmonar y  $\tau_h$  es la media armónica de grosor de la barrera aire-sangre (Canals *et al.*, 2005).

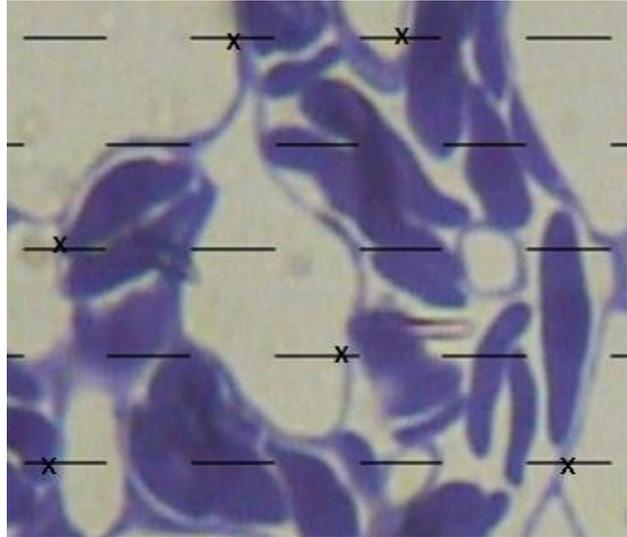


Figura 5. Intersecciones (x) entre las líneas de prueba y la barrera aire sangre en corte semifino de pulmón de *C. coturnix japonica*. Aumento 40x.

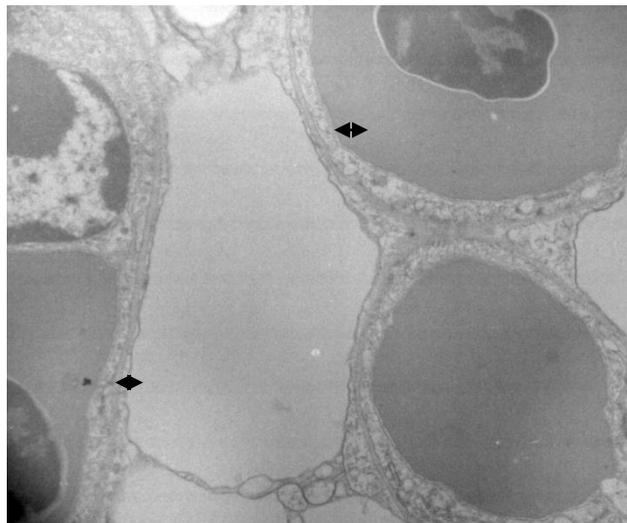


Figura 6. Corte fino pulmón de codorniz,  $\blacktriangleleft\blacktriangleright$  indica la barrera aire sangre. Aumento 7000x.

### **5.3. Análisis de los datos**

Se realizaron comparaciones de las variables estructurales entre los grupos ARE y BRE con ANDEVA de dos vías y ANCOVA de dos vías con el peso corporal como la co-variable en todas las variables en las cuales se detectó efecto del peso corporal, considerando la edad y el ambiente térmico como efectos principales. Se realizaron además análisis de regresión potencial entre las variables estructurales y la masa corporal para determinar las relaciones alométricas entre éstas variables.

La matriz de datos consistió en tres individuos analizados para cada edad y temperatura de aclimatación, la comparación fue realizada desde el día 10 en adelante puesto que al día de nacidos los individuos no habían sufrido las condiciones experimentales.

## 6. RESULTADOS

Los valores de todas las variables de los grupos BRE y ARE para todas las edades medidas se muestran en la tabla 2.

Tabla 2.- Variación del peso corporal (mb), volumen pulmonar (VL), media armónica del grosor de la barrera aire-sangre ( $\tau_h$ ), densidad de superficie respiratoria ( $DS_r$ ), área respiratoria (AR), capacidad de difusión para oxígeno (tejido) (DtO <sub>2</sub> ) y capacidad de difusión para oxígeno (tejido) masa específica (DtO <sub>2</sub> /g) en <i>Coturnix coturnix japonica</i> a diferentes edades de desarrollo y para dos regímenes térmicos (ARE y BRE).				
<b>BRE</b>				
Edad (días)	10	16	24	45
Mb(g)	11,93 ± 2,55	37,5 ± 5.37	74,53 ± 16.00	125,17 ± 7,31
V <sub>L</sub> (cc)	0,15 ± 0,03	0,40 ± 0,15	1,00 ± 0,22	1,14 ± 0,14
$\tau_h$ ( $\mu\text{m}$ )	0,37 ± 0,06	0,45 ± 0,10	0,40 ± 0,03	0,43 ± 0,07
$DS_r$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	1242,7±184,5	1517,3±262,2	1329,2±81,2	965,4±135,7
AR ( $\text{cm}^2$ )	233,5±0,3	938,5 ± 180,6	1562,5 ± 214,9	1862,0±271,3
DtO <sub>2</sub> ( $\times 10^{-5}$ mlO <sub>2</sub> /sPa)	2,59 ± 5,92	8,99 ± 3,62	15,91 ± 2,73	18,14 ± 3,97
DtO <sub>2</sub> /g ( $\times 10^{-6}$ mlO <sub>2</sub> /sPag)	2,51 ± 9,5	2,39 ± 8,25	2,14 ± 0,15	1,44 ± 0,25
<b>ARE</b>				
Edad (días)	10	16	23	46
Mb(g)	9.34 ± 0,79	26.24 ± 1,17	56.28 ± 9.23	129.5 ± 12,52
V <sub>L</sub> (cc)	0,11 ± 0,02	0,24 ± 0,09	0,87 ± 0,28	1,26 ± 0,10
$\tau_h$ ( $\mu\text{m}$ )	0,40 ± 0,09	0,45 ± 0,04	0,43 ± 0,03	0,57 ± 0,18

DS <sub>r</sub> (cm <sup>-1</sup> )	1409,0±88,6	1321,2±112,1	1430,1±196,9	1090,2±176,9
AR (cm <sup>2</sup> )	237,9±88,7	588,6±73,8	1318,7±374,9	2152,9±257,2
DtO <sub>2</sub> (x10 <sup>-5</sup> mlO <sub>2</sub> /sPa)	2,69 ± 0,70	5,41 ± 1,15	12,67 ± 4,26	16,24 ± 4,6
DtO <sub>2</sub> /g (x10 <sup>-6</sup> mlO <sub>2</sub> /sPag)	2,74 ± 0,79	2,05 ± 0,35	2,20 ± 0,40	1,25 ± 0,28

### 6.1.Masa corporal (Mb) y volumen pulmonar (V<sub>L</sub>).

La masa corporal se incrementó con la edad en ambos grupos ( $F_{3,16} = 211,2$ ,  $p < 0,001$ ), detectándose un valor ligeramente menor en el grupo BRE ( $F_{1,16} = 4,0$ ,  $p = 0,06$ ) a los 14 y 21 días, pero valores similares en la adultez (Figura 7). El volumen pulmonar se incrementó con la edad ( $F_{3,16} = 63,1$ ,  $p < 0,001$ ) siguiendo una curva sigmoidea, pero sin diferencias entre los grupos BRE y ARE ( $F_{1,16} = 0,75$ ,  $p = 0,39$ ) (Figura 8).

Fig.7. Variación del peso corporal (mb) con la edad (días) en *Coturnix coturnix japonica*, bajo dos regímenes térmicos (ARE y BRE).

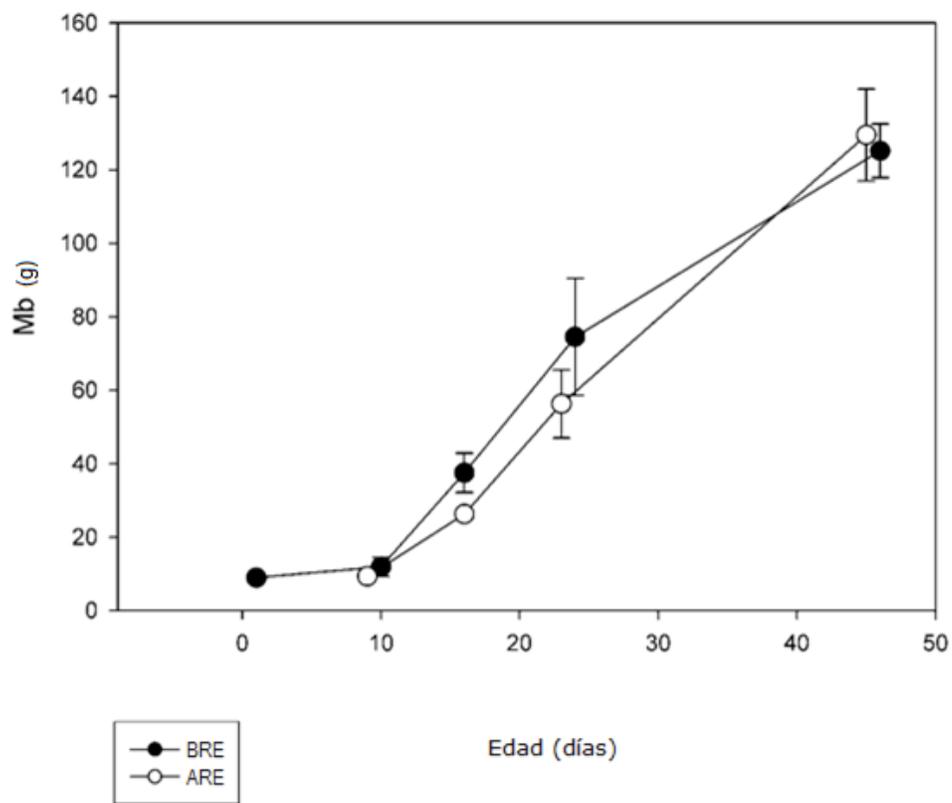
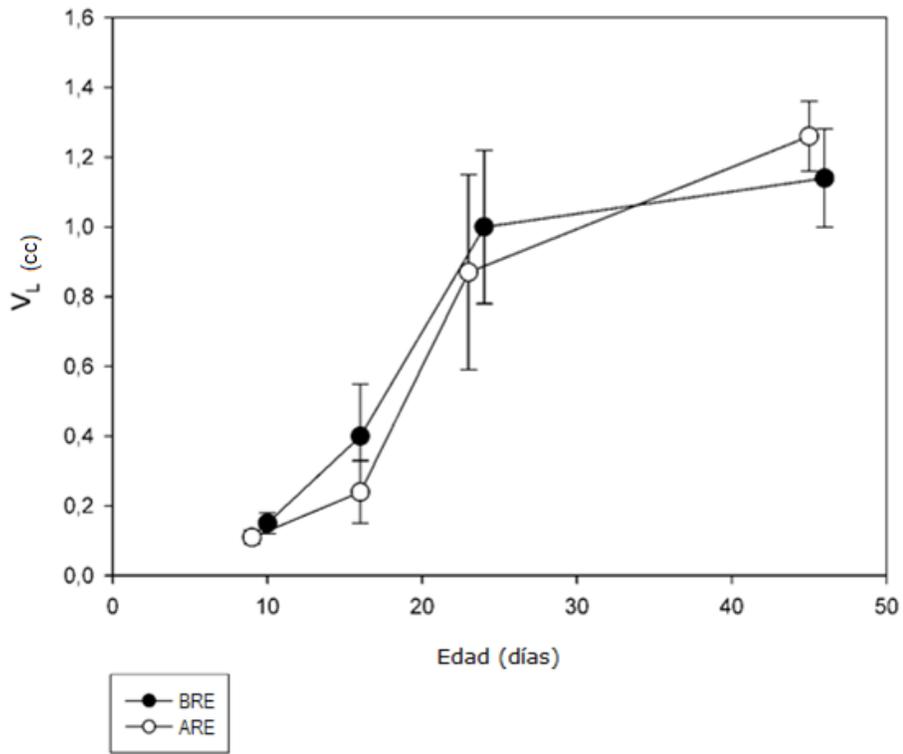


Fig.8. Variación en el volumen pulmonar (VL) con la edad (días) en *Coturnix coturnix japonica*, bajo dos regímenes térmicos (ARE y BRE).



## 6.2. Estructura pulmonar.

El grosor de la barrera aire-sangre no mostró diferencias con la edad ( $F_{3,15} = 0,79$ ,  $p = 0,22$ ), ni tampoco entre los grupos BRE y ARE ( $F_{1,15} = 1,85$ ,  $p = 0,19$ ) (Figura 9). La densidad de la superficie respiratoria decayó lentamente con la edad ( $F_{3,16} = 7,8$ ,  $p = 0,002$ ) pero sin encontrarse diferencias entre los grupos BRE y ARE ( $F_{1,16} = 0,81$ ,  $p = 0,38$ ) (Figura 10).

Fig.9. Variación del grosor de la barrera aire sangre ( $\tau_h$ ) con la edad (días) en *Coturnix coturnix japonica*, bajo dos regímenes térmicos (ARE y BRE).

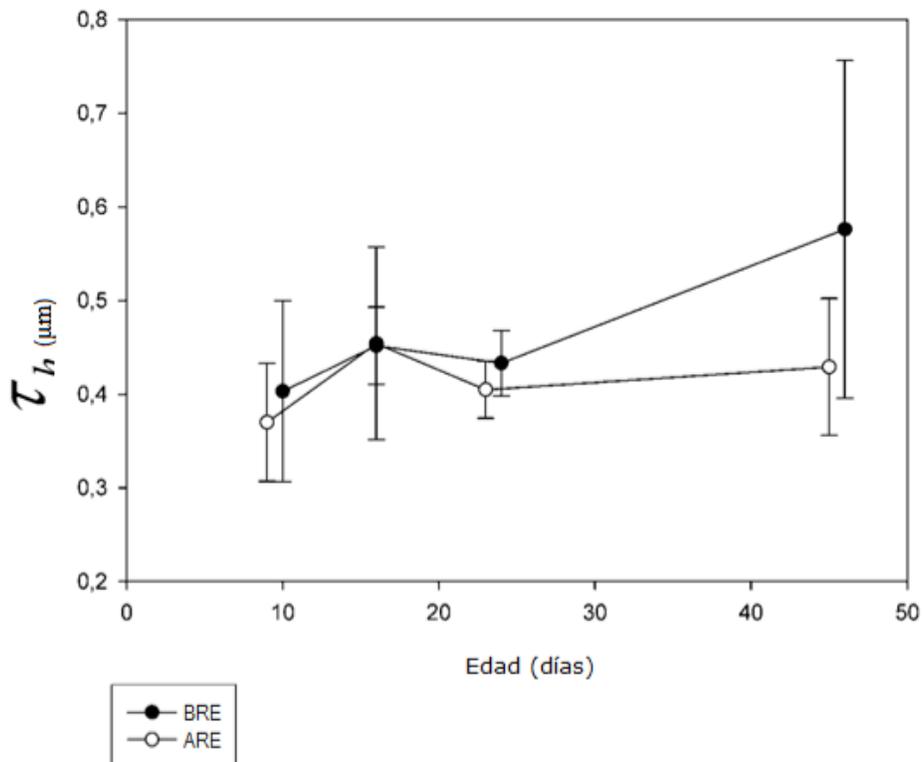
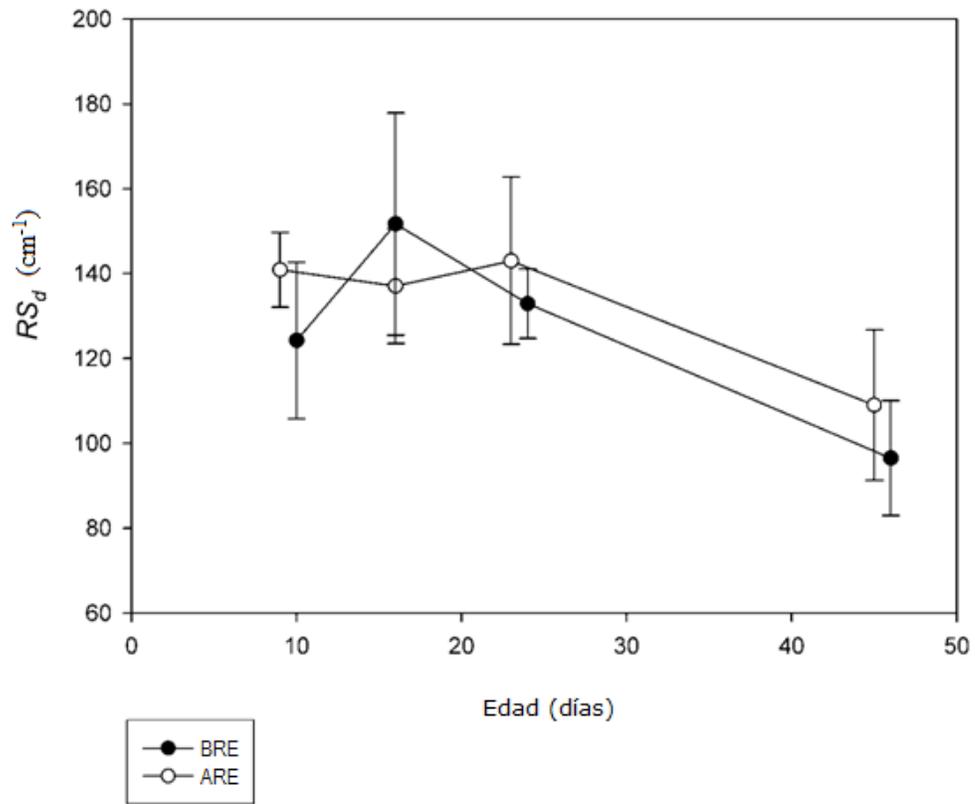


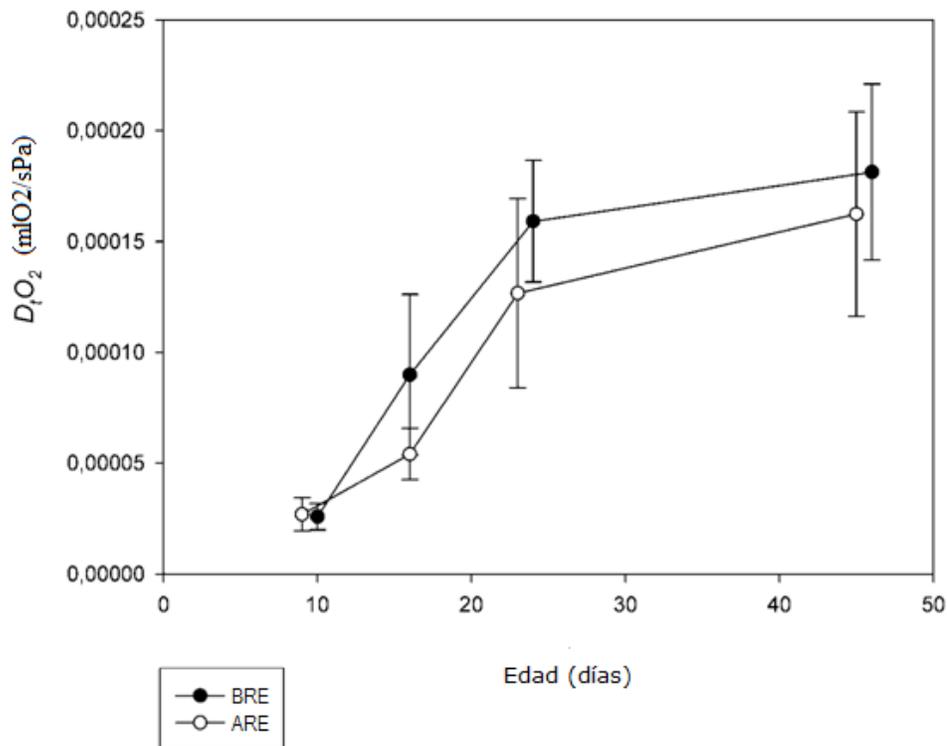
Fig.10. Variación en la densidad de superficie respiratoria (DSr) con la edad (días) en *Coturnix coturnix japonica*, bajo dos regímenes térmicos (ARE y BRE).



### 6.3.Capacidad de difusión de oxígeno-tejido ( $DtO_2$ ).

La capacidad de difusión de oxígeno se incrementó con la edad ( $F_{3,14} = 19,9$ ,  $p < 0,001$ ) de manera similar para los grupos BRE y ARE ( $F_{1,14} = 2,24$ ,  $p = 0,16$ ) (Figura 11), mientras la capacidad de difusión masa-específica disminuyó ( $F_{3,14} = 5,66$ ,  $p = 0,009$ ) sin diferencias entre los grupos BRE y ARE ( $F_{1,14}=0,08$ ,  $p = 0,78$ ).

Fig.11. Variación en la capacidad de difusión para oxígeno-tejido ( $DtO_2$ ) con la edad (días) en *Coturnix coturnix japonica*, bajo dos regímenes térmicos (ARE y BRE).



#### 6.4.Relación alométrica entre variables estructurales con la masa corporal.

El grosor de la barrera aire-sangre y la densidad de superficie respiratoria fueron independientes del peso corporal con exponentes cercanos a 0, La capacidad de difusión de oxígeno (tejido) mostró exponentes cercanos a 0,8 (Tabla 3).

Tabla 3. Exponentes alométricos (con la masa corporal) para el volumen pulmonar (VL), media armónica del grosor de la barrera aire-sangre ( $\tau$ h), densidad de superficie respiratoria (RSd), y capacidad de difusión de oxígeno (tejido) (DtO<sub>2</sub>), durante el desarrollo en *Coturnix coturnix japonica* en dos regímenes térmicos (BRE y ARE). (\*) indica cuando el exponente fue diferente de 0 en los F test en la regresiones de ley de potencias. El coeficiente R2 es indicado entre paréntesis.

	BRE	ARE
VL*	1,03 ± 0,07 (0,94)	1,07 ± 0,06 (0,94)
$\tau$ h	0,004 ± 0,05 (0,001)	0,11 ± 0,06 (0,15)
DSr	-0,104 ± 0,07 (0,11)	-0,08 ± 0,04 (0,08)
DtO <sub>2</sub> *	0,80 ± 0,09 (0,87)	0,74 ± 0,09 (0,87)

## 7. DISCUSIÓN

*Coturnix coturnix japonica* no mostró diferencias en las estructuras pulmonares durante el desarrollo en ambientes de diferentes requerimientos energéticos.

Aunque las variaciones de temperatura se establecieron gradualmente, con el fin de evitar la muerte durante el desarrollo, éstas fueron importantes, ya que la temperatura corporal de esta especie es 42,1°C y la capacidad de termorregulación solamente se alcanza a los 13 días de edad (Spiers *et al.*, 1974). Más aun, ambos regímenes están bajo la zona de termoneutralidad de esta especie y la de otras codornices (Freeman, 1967; Mc Nabb y Mc Nabb, 1977; Blem *et al.*, 1978; Pis y Luznia, 2005). Las temperaturas mínimas críticas varían de acuerdo a la edad y masa corporal de los individuos en estas especies y se estima en 35° C para individuos menores de 1 semana, 31° C a las 2 semanas, 23° C a las tres semanas, 21° C a las 4 semanas y 19° C a las 6 semanas de edad (Freeman, 1967). De esta forma, mientras en el grupo de bajo requerimiento energético (BRE), la temperatura ambiente era ligeramente menor que la temperatura crítica sólo hasta la primera semana, en el grupo de alto requerimiento energético (ARE), ésta estuvo bajo la temperatura mínima crítica durante todo el período experimental.

A pesar de encontrarse en esta condición de mayor requerimiento energético para suplir la pérdida de calor, no hubo diferencias entre los grupos BRE y ARE, tanto en las medidas estructurales del pulmón como en la difusión de oxígeno. Esto significa que esta especie no mostró plasticidad durante el desarrollo de las estructuras pulmonares, estando expuestos a las variaciones de temperatura en estudio.

Una explicación para esto podría ser que la codorniz japonesa es un ave muy precocial y en general, la aparición de la endotermia en el período post-eclosión, ocurre más temprano en aves precociales que en las especies altriciales (Ricklefs *et al.*, 1994; Dietz and Ricklefs, 1997) y en polluelos de gallináceas recién nacidos, la termorregulación conductual está siempre bien desarrollada (Modrey y Nichelmann,

1992; Tzschentke y Nichelmann, 1999). Seymour *et al.* (2008) encontraron diferencias en el desarrollo de la capacidad de difusión de oxígeno en el pavo australiano de matorral *Alectura lathamii*, superprecocial y en el pelícano australiano *Pelecanus conspicillatus*, altricial (Seymour *et al.*, 2004; Runciman *et al.*, 2005). Para la misma masa corporal, los pelícanos muestran un menor consumo de oxígeno que los pavos y el exponente alométrico de metabolismo *versus* masa corporal es mayor en el pelícano que en el pavo, indicando que en el pelícano la tasa de desarrollo es más alta para compensar su bajo desarrollo inicial. En cuanto a la capacidad morfométrica de difusión de oxígeno, encontraron menos capacidad de difusión en los pelícanos durante el desarrollo post-eclosión, y el exponente alométrico  $D_L O_2$ -Mb fue apenas mayor en esta especie.

Para la falta de diferencias en el desarrollo de la morfología pulmonar, otra explicación podría ser que estas estructuras no son plásticas tanto para altriciales o precociales, al menos con los requerimientos térmicos usados en este trabajo, por lo tanto no existiría un efecto ambiental claro. Así, por ejemplo, en el pequeño roedor altricial *Phyllotis darwini*, se ha reportado nula plasticidad en la morfología pulmonar contra requerimientos térmicos, pero sí se observaron diferencias en su capacidad termorreguladora (Canals *et al.*, 2009a y 2009b).

El grosor de la barrera aire-sangre no mostró cambios en las diferentes etapas del desarrollo. Los exponentes alométricos no difieren de 0 para los grupos ARE y BRE. Este resultado es similar a lo encontrado en el pavo australiano de matorral y los pelícanos australianos (Seymour *et al.*, 2008). En individuos de diferentes estados de desarrollo de *C. coturnix* el grosor varió entre 0,37 y 0,57  $\mu\text{m}$ , un valor similar a *Meleagris gallopavo* (Seymour *et al.*, 2008) y cercano al de otros Galliformes, el cual generalmente es alto, entre 0,25 y 0,39  $\mu\text{m}$  (Maina, 2002a). Estos valores contrastan por ejemplo, con el grosor de la delgada barrera aire-sangre de los Columbinos (Maina, 2002a; Figueroa *et al.*, 2007; Canals *et al.*, 2007), con un límite superior de 0,302  $\mu\text{m}$  para *Columbina picui* (Alfaro *et al.*, 2010). Esto probablemente se relacione con el estilo de vida cursorial de los Galliformes, lo que comparten con

otras aves como los Tinamiformes, cuya barrera aire-sangre es muy gruesa, tanto como 0,469  $\mu\text{m}$  reportado en la perdiz chilena *Notoprocta perdicaria* (Figueroa *et al.*, 2007).

Tampoco se encontraron cambios significativos en la densidad de la superficie respiratoria con exponentes alométricos negativos pero no diferentes de 0. La densidad de superficie respiratoria fue baja pero cercana a la reportada en otros Galliformes las cuales varían entre 135 y 192  $\text{mm}^{-1}$  (Maina, 2002a) lo cual deja a *C. coturnix* en el rango menor de este grupo, aunque Duncker (1974) ha reportado mayores valores para esta especie.

El exponente alométrico para  $D_tO_2$  en *C. coturnix* fue algo menor que el reportado para *M. gallopavo*:  $1,23 \pm 0,12$ , pero ligeramente mayor que el valor reportado para aves adultas 0,71 (Maina, 2002a).

## 8. CONCLUSIONES

- Los valores de los parámetros morfométricos, medidos en *Coturnix coturnix japonica*, se asemejan a aquellos obtenidos por otros autores para aves galliformes, es decir, sus pulmones serían inferiores a los de otras aves, lo cual es atribuible a su estilo de vida y locomoción.
- *C. coturnix japonica*, como otras aves precociales, al parecer, presenta a corta edad mecanismos para contrarrestar los efectos de las bajas temperaturas, ya que al eclosionar lo hacen en un estado más avanzado de desarrollo. Es posible que debido a esto, no haya presentado dificultades que le hayan exigido mejoras estructurales en sus pulmones para alcanzar una mayor tasa metabólica. La exposición a bajas temperaturas a una menor edad podría descartar este problema, sin embargo, existe el riesgo de producir muerte en las crías.
- La falta de diferencias en los parámetros entre los grupos de tratamiento y control, podría deberse a una baja plasticidad de esos caracteres o, a que la temperatura no fue lo suficientemente baja como para producir cambios a nivel morfológico, no obstante existe el mismo riesgo que actuando a una edad muy temprana.
- Las comparaciones con aves de tipo altricial serían ideales, para complementar datos y descartar efectos que en este estudio no se pudieron determinar con claridad.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALFARO, C., M., CANALS, FIGUEROA, D.P., SABAT, P., SALLABERRY, M.** 2010. Comparison of the oxygen diffusion capacity of the Picui Ground Dove (*Columbina picui*) with other doves of Chile. *International Journal of Morphology* 28: 127-133.
2. **BACIGALUPE, L. D., BOZINOVIC, F.** 2002. Design, limitations and sustained metabolic rate: lessons from small mammals. *Journal of Experimental Biology* 205: 2963-2970.
3. **BIVIANO, A.B., MARTINEZ DEL RÍO, C., PHILLIPS, D.L.** 1993. Ontogenesis of intestine morphology and intestinal disaccharidases in chickens (*Gallus gallus*) fed contrasting purified diets. *Journal of Comparative Physiology B* 163: 508-510.
4. **BLACK, J.L., BURGGREN, W.W.** 2004. Acclimation to hypothermic incubation in developing chicken embryos (*Gallus domesticus*) II. Hematology and blood O<sub>2</sub> transport. *Journal of Experimental Biology* 207: 1553-1561.
5. **BLEM, C.R.** 1978. The energetics of young Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*. 59: 219-223.
6. **BLANCO, L.N., MASSARO, D., MASSARO, G.D.** 1991. Alveolar size, number and surface area: developmentally dependent response to 13% O<sub>2</sub>. *American Journal of Physiology* 261: 370-377.
7. **BOZINOVIC, F.** 1993. Nutritional ecophysiology of the Andean mouse *Abrothrix andinus*: energy requirements, food quality and turnover time. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 104: 601-604.
8. **BOZINOVIC, F., ROSENMAN, M.** 1989. Maximum metabolic rate of rodents: physiological and ecological consequences on distributional limits. *Functional Ecology* 3: 173-181.

9. **BURRI, P.H.** 1974. The postnatal growth of the rat lung. III Morphology. *Anatomical Record* 178: 77-98.
10. **BURRI, P.H., DBALY, J., WEIBEL, E.R.** 1991, The postnatal growth of the rat lung. I Morphometry. *Anatomical Record* 178: 711-730.
11. **CANALS, M., LABRA, F., NOVOA, F.F., OLIVARES, R.** 2000, Ontogenetic changes in the fractal geometry of the bronchial tree in *Rattus norvegicus*. *Biological Research* 33: 31-35.
12. **CANALS, M., ATALA, C., FIGUEROA, D.P., GUAJARDO, F., OLIVARES, R., ROSENMANN, M., SABAT, P.** 2005. Functional and structural optimization of the respiratory system of the bat *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera, Molossidae): does airway geometry matter?. *Journal of Experimental Biology* 208: 3987-3995.
13. **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. *Revista Chilena de Historia Natural* 80: 275-284.
14. **CANALS M., SABAT, P., VELOSO, C.** 2008. The proximal airway of the bat *Tadarida brasiliensis*: a minimum entropy production design. *Journal of Comparative Physiology B* 178: 377-384.
15. **CANALS, M., MIRANDA, J.P., FIGUEROA, D.P., SABAT, P.** 2009a. Effects of environmental temperature on oxygen diffusion capacity during post-natal development in the altricial rodent, *Phyllotis darwini*. *Revista Chilena de Historia Natural* 82: 153– 162.
16. **CANALS, M., FIGUEROA, D.P., MIRANDA, J.P., SABAT, P.** 2009b. Effect of gestational and postnatal environmental temperature on metabolic rate in the altricial rodent, *Phyllotis darwini* . *Journal of Thermal Biology* 34: 310 – 314.

17. **CANALS, M., FIGUEROA, D., SABAT, P.** 2010. Symmorphosis in the proximal pathway for oxygen in the leaf-eared mouse *Phyllotis darwini*. *Biological Research* 43: 75-81.
18. **CASTLEMAN, W.L., LAY, J.C.** 1990. Morphometric and ultrastructural study of postnatal lung growth and development in calves. *American Journal of Veterinary Research* 51: 789-795.
19. **CHAMBEL, M.R., CLIMENT, J., ALÍA, R., VALLADARES, F.** 2005. Phenotypic plasticity: a useful framework for understanding adaptation in forest species. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 14 (3): 334-344.
20. **COLLINS, M.H., KLEINERMAN, J., MOESSINGER, A.C., COLLINS, A.H., JAMES, L.S. AND BLANC, W.A.** 1986. Morphometric analysis of the growth of the normal fetal guinea pig lung. *Anatomical Record* 216: 381-391.
21. **DIAMOND, J.** 2002. Quantitative evolutionary design. *Journal of Physiology* 542, 2: 337–345.
22. **DIETZ, M.W., RICKLEFS, R.E.** 1997. Growth rate and maturation of skeletal muscles over a size range of galliform birds. *Physiological Zoology* 70: 502– 510.
23. **DUEÑAS, L.** Cria de la codorniz [en línea] <<http://www.geocities.com/sanfdo/codorn.htm>> [consulta: marzo 2009].
24. **DUNCKER, H-R.** 1974. Structure of the avian respiratory tract. *Respiratory Physiology* 22: 1–19.
25. **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. *Biological Research* 40: 193-201.
26. **FREEMAN, B.M.** 1967. Oxygen consumption by the japanese quail *Coturnix coturnix japonica*. *British Poultry Science* 8: 147-152.

27. **GAYON, J.** 2000, History of the Concept of Allometry. *American Zoologist* 40: 748–758.
28. **GEHR, P., MWANGI, D.K., AMMAN, A., MALOIY, G., TAYLOR, C.R., WEIBEL, E.R.** 1981. Design of the mammalian respiratory system.V. Scaling morphometric diffusing capacity to body mass: wild and domestic animals. *Respiratory Physiology* 44: 61-86.
29. **HAMMOND, K.A., ROTH, J., JANES, D.N., DONN, M.R.** 1999. Morphological and physiological responses to altitude in deer mouse *Peromyscus maniculatus*. *Physiological and Biochemical Zoology* 75: 613-622.
30. **HAMMOND, K.A., SZEWCZAK, J., KROL, E.** 2001. Effects of altitude and temperature on organ phenotypic plasticity along an altitudinal gradient. *Journal of Experimental Biology* 204: 1991-2000.
31. **KSIAZEK, A., CZERNIECKI, J., KONARZEWSKI, M.** 2009. Phenotypic flexibility of traits related to energy acquisition in mice divergently selected for basal metabolic rate (BMR). *Journal of Experimental Biology* 212, 808-814.
32. **LÁZARO, R., SERRANO, M., CAPDEVILA, J.** 2005. Nutrición y alimentación de avicultura complementaria: codornices. XXI Curso de Especialización FEDNA. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Madrid, España. [en línea] [http://www.wpsa-aeca.com/img/informacion/24\\_05\\_18\\_CAP\\_XV.pdf](http://www.wpsa-aeca.com/img/informacion/24_05_18_CAP_XV.pdf) [consulta noviembre de 2011]
33. **MAINA, J. N., KING , A. S.** 1984. Correlations between structure and function in the design of the bat lung:a morphometric study. *Journal of Experimental Biology* 111: 43-61.
34. **MAINA, J.N.** 2000. Comparative Respiratory morphology: Themes and principles in the design and construction of the gas exchangers. *Anatomical Record* 261: 25-44.

35. **MAINA, J.N.** 2002a. Some recent advances on the study and understanding of the functional design of the avian lung: morphological and morphometric perspectives. *Biological Reviews* 77: 97-152.
36. **MAINA, J.N.** 2002b. Structure, function and evolution of the gas exchangers: comparative perspectives. *J. Anat.* 201: 281–304.
37. **MARJONIEMI, K.** 2001, Thermogenic mechanisms during the development of endothermy in juvenile birds. [en línea] <<http://herkules.oulu.fi/isbn9514265424/>> [consulta diciembre 2011]
38. **MASSARO, D., MASSARO, G.D.** 2002, Pulmonary alveoli: formation, the “call for oxygen,” and other regulators. *American Journal of Physiology* 282: 345-358.
39. **MCKECHNIE, A.E., CHETTY, K., LOVEGROVE B.G.** 2007. Phenotypic flexibility in the basal metabolic rate of laughing doves: responses to short-term thermal acclimation. *Journal of Experimental Biology* 210: 97-106.
40. **MCLELLAND, J.** 1990. *A Colour Atlas of Avian Anatomy*. Wolfe Publishing Ltd. Aylesbury, Inglaterra. 127 pp.
41. **MCMURTRY, I.F.** 2002. Pre and postnatal lung development, maturation and plasticity. *American Journal of Physiology* 282: 341-344.
42. **MCNABB, F.C.M., MCNABB, R.A.** 1977. The effects of thermal history on body temperature of japanese quail chicks (*Coturnix coturnix japonica*). *Comparative Biochemistry and Physiology A*. 56: 627-629.
43. **MINER, B.G., SULTAN, S.E., MORGAN, S.G., PADILLA, D.K., RELYEA, R.A.** 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution*, 12 (20): 685-692.
44. **MODREY, P., NICHELMANN, M.** 1992. Development of autonomic and behavioural thermoregulation in turkeys (*Meleagris gallopavo*). *Journal of Thermal Biology* 17: 287– 292.

45. **NOVOA, F., RIVERA-HUTINEL, A., ROSENMAN, M., SABAT, P.** 2005. Intraspecific differences in metabolic rate of *Chroecomys olivaceus* (Rodentia: Muridae): the effect of thermal acclimation in arid and mesic habitats. *Chilena de Historia Natural* 78: 207-214.
46. **PIGLIUCCI, M.** 1996. How organisms respond to environmental changes: From phenotypes to molecules (and vice versa). *Trends in Ecology and Evolution* 4 (11): 168-173.
47. **PIGLIUCCI, M.** 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution* 9 (20): 481-486.
48. **PIGLIUCCI, M., MURRANAND, C. J., SCHLICHTING, C. D.** 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology* 209: 2362-2367.
49. **PINTO, R., SOARES, A., TEIXEIRA, L., GOMES, P., DE VARGAS, J.** 2002. Níveis de Proteína e Energia para Codornas Japonesas em Postura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 4 (31): 1761-1770.
50. **PIS, T., LUSNIA, D.** 2005. Growth rate and thermoregulation in reared king quails (*Coturnix cinensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology A*. 140: 101-109.
51. **POWELL, F.L.** 2000. Respiration. In: Whittow, G. (Ed). *Sturkie's Avian Physiology*. 5ª Edición. Academic Press (Elsevier) California, EEUU. pp. 233-259.
52. **RICKLEFS, R.E., SHEA, R.E., CHOI, I.-H.** 1994. Inverse relationship between functional maturity and exponential growth rate of avian skeletal muscle: a constraint on evolutionary response. *Evolution* 48: 1080– 1088.
53. **ROBINSON, N. E.** 2003. Función respiratoria. In: Cunningham, J. (Ed). *Fisiología Veterinaria*. 3ª Edición. Elsevier España, Madrid, España. pp. 467-514.

54. **ROSENMAN, M., MORRISON, P.L.R.** 1974. Maximum oxygen consumption and heat loss facilitation in small homeotherms by He-O<sub>2</sub>. *American Journal of Physiology* 226: 490-495.
55. **RUNCIMAN, S., SEYMOUR, R.S., BAUDINETTE, R.V., PEARSON J.T.** 2005. An allometric study of lung morphology during development in the Australian pelican, *Pelecanus conspicillatus*, from embryo to adult. *Journal of Anatomy* 207: 365-380.
56. **SABAT, P., BOZINOVIC, F.** 2000. Digestive plasticity and the cost of acclimation to dietary chemistry in the omnivorous leaf-eared mouse *Phyllotis darwini*. *Journal of Comparative Physiology B*. 170: 411-417.
57. **SABAT, P., NOVOA, F.F., BOZINOVIC, F., MARTINEZ DEL RÍO, C.** 1998. Dietary flexibility and intestinal plasticity in birds: a field and laboratory study. *Physiological Zoology* 71: 226-236.
58. **SCHERLE, W.** 1970. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie* 26: 57-60.
59. **SCHLICHTING, C.D., PIGLIUCCI, M.** 1998. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sunderland, Sinauer Associated Inc. 400 pp.
60. **SCHMID, I., WECHSLER, B.** 1997. Behaviour of Japanese quail (*Coturnix japonica*) kept in semi-natural aviaries. *Applied Animal Behaviour Science* 55: 103-112.
61. **SEYMOUR, R.S., RUNCIMAN, S., BAUDINETTE, R.V., PEARSON J.T.** 2004. Developmental allometry of pulmonary structure and function in the altricial Australian pelican *Pelecanus conspicillatus*. *Journal of Experimental Biology* 207: 2663-2669.
62. **SEYMOUR, R.S., RUNCIMAN, S., BAUDINETTE, R.V.** 2008. Development of maximum metabolic rate and pulmonary diffusing capacity in the super-precocial Australian Brush Turkey *Alectura lathami*: an allometric and morphometric study. *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology* 2 (150):169–175.

63. **SPIERS, D.E., MCNABB, R.A., MCNABB, F.M.A.** 1974. The development of thermoregulatory ability, heat seeking activities, and thyroid function in hatching Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Comparative Physiology* 89: 159-174.
64. **TAYLOR, C. R., WEIBEL, E. R.** 1981. Design of the mammalian respiratory system. I. Problem and strategy. *Respiratory Physiology* 44, 1-10,
65. **TENNEY, S.M., REMMERS, J.E.** 1966. Alveolar dimensions in the lungs of animals raised at high altitude. *Journal of Applied Physiology* 222: 1528-1530.
66. **TIELEMAN, B.I., WILLIAMS, J.B., BUSCHUR, M.B.** 2002. Physiological adjustments to arid and mesic habitats in larks (Alaudidae). *Physiological and Biochemical Zoology* 75: 305-313.
67. **TIELEMAN, B.I., WILLIAMS, J.B., BLOOMER, P.** 2003. Adaptation of metabolism and evaporative water loss along an aridity gradient. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 270: 207-214.
68. **TIMMWOOD, K.I., HYDE, D.M., PLOPPER, C.G.** 1987. Lung growth of the turkey, *Meleagris gallopavo*. I. Morphologic and morphometric description. *American Journal of Anatomy* 178, 144–157.
69. **TOLOZA, E.M. AND DIAMOND, J.** 1990. Ontogenetic development of transporter regulation in bullfrog intestine. *American Journal of Physiology* 258: 770-773.
70. **TZSCHENTKE, B., NICHELMANN, M.** 1999. Development of avian thermoregulatory system during the early postnatal period: development of the thermoregulatory set-point. *Ornis Fennica* 76: 189–198.
71. **WEIBEL, E.R.** 1970-1971. Morphometric estimation of pulmonary diffusion capacity. I. Model and method. *Respiratory Physiology* 11: 54-75.
72. **WEIBEL, E.R.** 1983, How does lung structure affect gas exchange? *Chest* (83) 4: 657-665.

73. **WEIBEL, E.R.** 1998. Symmorphosis and optimization of biological design: introduction and questions. In: Principles of Animal Design. The Optimization and Symmorphosis Debate (ed. E. R. Weibel, C. R. Taylor and L. Bolis), Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra. pp. 1-11.
74. **WEIBEL, E.R.** 2009. What makes a good lung? Swiss Medical Weekly, (27–28)139: 375-386.
75. **WEIBEL, E.R., TAYLOR, C.R., HOPPELER, H.** 1991. The concept of symmorphosis: A testable hypothesis of structure-function relationship. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 88: 10357-10361.
76. **WEIBEL, E.R., TAYLOR, C.R., HOPPELER, H.** 1992. Variation in function and design: testing symmorphosis in the respiratory system. Respiratory Physiology 87: 325-348.
77. **WHITMAN, D.W., AGRAWAL, A.A.** 2009. What is Phenotypic Plasticity and Why is it Important? In: Whitman, D. W., Ananthakrishnan, T. N. (Eds.). Phenotypic Plasticity of Insects: Mechanisms and Consequences. Science Publishers, Nueva Hampshire, EEUU. pp. 1-63.
78. **WINKLER, G.C., CHEVILLE, N.F.** 1987. The neonatal porcine lung: ultrastructural morphology and postnatal development of the terminal airways and alveolar region. Anatomical Record 210: 303-313.
79. **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. Journal of Nutrition 126: 2036-2043.