

UCH-FC
B. Ambiental
8984
C.1



UNIVERSIDAD DE CHILE FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE PREGRADO

“Evaluación de estrés en *Zonotrichia capensis* a diferentes altitudes”

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente.

VÍCTOR LENIN GUTIÉRREZ IMIL

Dr. Rodrigo A. Vasquéz

Director de Seminario de Título.

Junio de 2012

Santiago - Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el Sr.

“VÍCTOR LENIN GUTIÉRREZ IMIL”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente.

Dr. Rodrigo Vasquéz

Director Seminario de Título

Comisión de Evaluación

Dr. Pablo Sabbat

Presidente Comisión

Dr. Claudio Veloso

Evaluador

Santiago de Chile, Junio 2012

BIOGRAFÍA



Víctor nació en la ciudad de Santiago en el año 1987, durante su niñez fue una persona inquieta y curiosa por saber lo que ocurría en su entorno, hecho que motivo su interés en áreas muy diferentes como el deporte, el arte y la ciencia. En un principio las ganas de aprender y ayudar a los demás lo llevo a priorizar la carrera de medicina dentro de su proyecto de vida, sin embargo durante la enseñanza media su vocación y sus intereses fueron cambiando y tomando un rumbo fijo hacia el área científica, razón por la cual en el 2006 ingreso a estudiar la carrera de Biología ambiental en la Universidad de Chile. Actualmente se encuentra trabajando en el laboratorio de Ecología terrestre y sus ganas de ir mejorando no solo lo han llevado a perfeccionarse en el área científica, sino que también en el área de gestión ambiental. Dos aristas muy importantes en el desarrollo de nuestra sociedad.

Dedicado a mis Padres
Luis Gutiérrez y Orabia Práxedes
Por su apoyo, confianza y amor incondicional

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres por entregarme toda una vida de enseñanzas y valores. A mi madre Orabia por mostrarme que siempre existe alguna razón por la que una sonrisa puede nacer, a mi padre Luis por enseñarme que todo esfuerzo y perseverancia tiene sus recompensas. A mis 3 hermanos, Marco, Pamela y Aquiles, por apoyarme y estar conmigo frente a la adversidad. A Sonia por estar conmigo y ayudarme a crecer en la vida. A todos los integrantes de la familia Gutiérrez e Imil porque a pesar de todos los problemas, cada uno me ha mostrado el camino a su manera.

A todos mis amigos por esas eternas charlas de contenidos trascendentales así como también de contenidos vanales que dejan entrever su amistad incondicional

A mi tutor Rodrigo Vásquez, por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio, por su buena voluntad, y por haberme permitido trabajar en uno de sus proyectos que me permitió desarrollar mi memoria de título.

Y finalmente para los integrantes del laboratorio que respondieron a mis dudas y me acompañaron a mis terrenos. También para aquellos con los que compartí momentos de ocio y entretenimiento, ya que la buena convivencia es parte fundamental dentro del trabajo.

Este seminario fue financiado gracias al FONDECYT N° 1090794, ICM-P05-002, PFB-

23-CONICYT

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de figuras	VI
Índice de Tablas.....	VI
Resumen.....	VII
Abstract.....	VIII
Introducción.....	1
• El concepto de alostasis.....	1
• Rol de los glucocorticoides en los eventos de estrés.....	3
• Condiciones ambientales y Esfuerzo Reproductivo.....	6
• Hipótesis.....	8
• Objetivos.....	9
Materiales y Métodos.....	10
• Sitios de estudio.....	10
• Captura, medición y muestras de sangre.....	12
• Análisis de corticosterona.....	14
• Análisis estadístico.....	14
Resultados.....	16
Discusión.....	20
Conclusiones.....	28
Referencias.....	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Áreas de muestreo de <i>Z. capensis</i>	10
Figura 2.	Concentraciones de corticosterona en función del tiempo de captura y manipulación diferenciadas por localidad y sexo.....	15
Figura 3.	Concentraciones de corticosterona en función del tiempo de captura y manipulación a baja y alta altitud.....	16
Figura 4.	Concentraciones de corticosterona en función del tiempo de captura para machos y hembras.....	18

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Medidas de los rasgos morfológicos de <i>Z. capensis</i> (La Parva y Picarquín).....	19
----------	--	----

Resumen

Cuando los organismos son sometidos a eventos de estrés, pueden generar diferentes respuestas adaptativas que permiten mantener la homeostasis de los sistemas esenciales para la vida. Este proceso se conoce como alostasis, y cuenta con algunos mediadores importantes, como por ejemplo, las hormonas adrenales, neurotransmisores, y citoquinas del sistema inmune, entre otros. Particularmente, los glucocorticoides son mediadores que han sido ampliamente estudiados en los últimos años, y corresponden a hormonas liberadas por la corteza adrenal en respuesta a una cascada de secreciones peptídicas originadas en el hipotálamo. Se ha observado que cuando el costo de mantener la homeostasis (i.e., carga alostática) incrementa como resultado de algún evento de estrés predecible (e.g., cambios estacionales) o impredecible (e.g., tormentas y desastres naturales), los niveles de glucocorticoides también aumentan, impulsando diferentes estados de emergencia en la historia de vida. En este trabajo se utilizó el protocolo de estrés de captura para comparar la respuesta adrenocortical al estrés de la especie *Zonotrichia capensis* (chicol), a lo largo de un gradiente altitudinal. Las concentraciones de la hormona fueron comparadas a los 0-3, 15 y 30 minutos desde la captura, en chicolos reproductivos, provenientes de hábitat de baja (Picarquín 593 m s.n.m) y de alta altitud (La Parva, 2.529 m s.n.m). Los resultados mostraron que estos ambientes diferentes no ejercen un efecto significativo en los niveles de corticosterona. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre los sexos, en donde los machos tuvieron niveles hormonales mayores que las hembras.

Abstract

When organisms experience stress conditions, they can trigger different flexible responses allowing the maintenance of the homeostasis, and thus maintaining the life systems, via a process called allostasis. This process has important mediators, such as adrenal hormones, neurotransmitters, and cytokines, among others. Particularly, glucocorticoid mediators have been broadly studied in recent years. Glucocorticoids are released by the adrenal cortex in response to a cascade of peptide secretions originated in the hypothalamus. When the organism has to cope with stressful predictable (e.g., seasonal change) or unpredictable (e.g., storm and natural disaster) events, that increase the cost of maintaining homeostasis (i.e., allostatic load), the hypothalamus stimulates the secretion of glucocorticoids, thus triggering different emergency life history stages. In this study I used the capture stress protocol in order to compare the adrenocortical response to handling stress in the species *Zonotrichia capensis* (Rufous-collared sparrow) throughout an altitudinal gradient. Hormone concentrations were compared at 0-3, 15 and 30 minutes after capture, in birds breeding at low altitude (Picarquín 593 m s.n.m.) and high altitude (La parva, 2529 m s.n.m.). Our results show no different corticosterone concentrations between different environments. However, sexes showed significant differences, with males having higher level of corticosterone concentrations than females.

1. Introducción

1.1 El concepto de alostasis

En general el ciclo de vida de los vertebrados está compuesto por diferentes estados secuenciales dentro de la historia de vida (Jacobs, 1996; Wingfield, 2005) como por ejemplo, los estados reproductivos y no reproductivos de las aves. Estos estados, a su vez, presentan un conjunto de sub-estados (e.g., maduración de gónadas, conductas territoriales, cambios en el ámbito de hogar, entre otros). La progresión temporal en la que se desarrollan estos estados dependen de ciertas señales ambientales (e.g., cambios en el fotoperiodo y/o en las temperaturas) que pueden ser percibidas por los individuos para activar los estados relevantes que definen estos ciclos de vida predecibles (Jacobs & Wingfield, 2000). Sin embargo, también existen eventos que no pueden ser anticipados, i.e., perturbaciones del ambiente, los cuales requieren de un ajuste inmediato de la fisiología y de la conducta del individuo (Jacobs & Wingfield, 2000; McEwen & Wingfield, 2003; Wingfield, 2003).

Este proceso de ajuste que involucra tanto eventos predecibles como impredecibles, se encuentran descritos bajo el concepto de alostasis, que literalmente significa “estabilidad a través del cambio” (McEwen, 2000; Schulkin, 2003; Sterling & Eyer, 1998). Este término fue introducido para evitar la ambigüedad que se produce con el término de estrés, el cual, desde sus orígenes (véase Cannon 1932; Selye, 1946, 1956) ha acarreado principalmente dos problemas. El primer problema guarda relación con la poca precisión de la palabra, ya que puede llegar a abarcar 3 tipos de conceptos- el estímulo que causa el estrés, las respuestas fisiológicas y conductuales que se activan

por el estímulo y las consecuencias patológicas derivadas de la sobre-estimulación de las respuestas de emergencia (Le moal, 2007; Romero, 2004). El segundo problema con el concepto de estrés proviene por la incapacidad de definir rigurosamente estos 3 conceptos anteriormente descritos, los cuales quedan expresados en la imposibilidad de responder inequívocamente a las siguientes 3 preguntas: (i) ¿Cuándo el estímulo es un estresor?, (ii) ¿Qué respuestas conductuales y fisiológicas son consideradas como respuestas al estrés?, y (iii) ¿En qué momento una respuesta de estrés que se considera beneficiosa, se vuelve un problema patológico? El intento más común por resolver este dilema ha consistido en definir como estresor a un estímulo que perturba o amenaza con perturbar la homeostasis (e.g., Chrousos & Gold, 1992). Sin embargo, el término de homeostasis tiene sus limitaciones ya que solo considera las modificaciones morfológicas, fisiológicas y conductuales después de que ya han ocurrido los cambios ambientales (e.g., aclimatación) (Wingfield, 2005). Por el contrario, la alostasis da cabida a una serie de respuestas que incluyen tanto la capacidad de anticipar los cambios ambientales, lo que eventualmente permite asumir de forma anticipada un determinado estado de historia de vida, como también la capacidad de cambiar en respuesta de un evento impredecible. Aunque en este último caso, por definición, los cambios ocurren después de que se manifiesta el evento (i.e., una forma de aclimatación), en este modelo se requiere de interruptores que anticipen los estados de historia de vida antes de los cambios ambientales (Wingfield, 2005). Bajo esta mirada tanto los eventos impredecibles (e.g., conflictos en las jerarquías sociales, la competencia por un recurso, influencia de tormentas y desastres naturales, entre otros)

como los eventos predecibles (e.g., cambios estacionales que impulsan la migración y la hibernación) son igualmente importantes, ya que el concepto guarda relación con el costo que sufre el organismo cuando los mediadores de la alostasis (e.g., hormonas adrenales, neurotransmisores, citoquinas del sistema inmune, entre otros), encargados de mantener la homeostasis de los sistemas esenciales para la vida (e.g., pH, temperatura corporal, niveles de glucosa y tensión de oxígeno), son secretados con demasiada frecuencia o son administrados de forma ineficiente (McEwen, 1998; McEwen & Wingfield, 2003). Para referirse a este costo, existe otro concepto que se denomina carga alostática, la cual puede ser descrita como el desgaste que acumula el individuo (McEwen & Wingfield, 2003).

1.2 Rol de los glucocorticoides en los eventos de estrés

Dentro de los sistemas fisiológicos que responden al estrés, el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) y el sistema nervioso autónomo (particularmente la respuesta simpática de la medula adrenal) han sido ampliamente estudiados (McEwen & Wingfield, 2003). Particularmente en el eje HPA ocurre una cascada de señales que finalmente llevan a la producción de glucocorticoides (GCs), hormonas que se encuentran relacionadas con el síndrome de adaptación general enunciado por Selye (1946). Como veremos más adelante, estas hormonas actúan como mediadores de la alostasis y su secreción tiene amplios beneficios adaptativos, sin embargo, cuando existe una sobreproducción y/o irregularidad en el funcionamiento del mediador, pueden tener

consecuencias dañinas para el organismo (McEwen & Wingfield, 2003; Sapolsky et al., 2000)

Los glucocorticoides, como la corticosterona, son hormonas secretadas por la corteza adrenal en respuesta a una cascada de secreciones peptídicas originadas en el hipotálamo, incluyendo la glándula pituitaria anterior (Norris, 1997) y cuando no se encuentra asociada a un tipo de globulina, la hormona ingresa a las células corticales adrenales a través del torrente sanguíneo interactuando con receptores de membrana (los que regulan efectos de acción rápida, dentro de unos pocos segundos o minutos) o con receptores genómico intracelulares (que regulan los efectos de acción lenta, que usualmente toman varias horas) (Breuner *et al.*, 2003).

La acción de los GCs puede clasificarse en tres tipos (Norris, 1997; Sapolsky *et al.*, 2000). El primero se encuentra asociado al desarrollo, especialmente antes del nacimiento. El segundo involucra el proceso del post-natal, en donde los niveles basales de la hormona, que cambian con el tiempo del día y la estación, están involucrados en la regulación de la glucosa (específicamente, los transportadores de glucosa de las células), en los efectos de la osmoregulación a través de la actividad de canales iónicos, y la interacción con el sistema inmune. El tercero está relacionado al aumento de la secreción de glucocorticoides en respuesta a un amplio espectro de perturbaciones ambientales, a menudo denominado estrés (Wingfield, 2008). De esta manera estas hormona del eje hipotalámico-hipofisiario-adrenal se encuentra regulando varios aspectos de la fisiología y del comportamiento de vertebrados (Sapolsky *et al.*, 2000) y sus niveles altos en un evento de stress puede impulsar un estado de emergencia que puede incluir una serie de

respuestas como la supresión de procesos no vitales tales como la reproducción, el incremento de la gluconeogenesis, y la aparición de algunas conductas de escape o de refugio que buscan aumentar la probabilidad de sobrevivencia del organismo (Wingfield & Ramenofsky, 1999; Sapolsky *et al.*, 2000; Dhabhar, 2002; Wingfield, 2003) y disminuir la carga alostática, concepto que también puede ser interpretado en función de la demanda energética del organismo (Goyman & Wingfield, 2004; McEwen & Wingfield, 2003). Sin embargo, cuando los eventos de estrés son constantes, las secreción de Gcs puede llegar a un nivel crónico y producir la inhibición del sistema reproductivo, distrofia muscular, reducción de la función inmune, reducción de las tasas de crecimiento, degradación de proteínas (perdida de la musculatura), daños neurológicos (Sapolsky, 1993; Sapolsky *et al.*, 2000; Wingfield & Romero, 2000), llegando incluso a la muerte del individuo. De esta manera, existe un compromiso entre los costos y beneficios de circulación de la hormona (Wingfield *et al.*, 1990; Ketterson *et al.*, 1992; Kitayski *et al.*, 1999). Por lo tanto, teniendo en cuenta que los GCs controla una serie de rasgos de la historia de vida de un animal, el sistema hormonal constituye una primera etapa por la cual los individuos se adaptan a diferentes ambientes (Denver *et al.*, 2010). Dentro de este contexto y para los fines de este trabajo, la palabra estrés será utilizada para describir aquellos eventos que pueden ser percibidos como una amenaza y que desencadenan respuestas fisiológicas y conductuales como parte del proceso de alostasis, en donde también se incluyen aquellos eventos que resultan normales dentro del ciclo de vida (McEwen & Wingfield, 2003).

1.3 Condiciones ambientales y esfuerzo reproductivo.

Varios estudios han puesto gran interés en el comportamiento y la fisiología de aves que se encuentran viviendo en zonas de altas latitudes (Astheimer *et al.*, 1994; Wingfield *et al.*, 1994; Wingfield *et al.*, 1995; Astheimer *et al.*, 1995; Romero *et al.*, 1997; Romero *et al.*, 1998; Wingfield *et al.*, 2008). Por ejemplo, los ambientes árticos se caracterizan por presentar estaciones reproductivas cortas, eventos climáticos impredecibles, disponibilidad de comida variable y fluctuaciones en el número de depredadores que pueden exacerbar la ya alta demanda energética que generan los eventos reproductivos y el cuidado parental. Precisamente en estas circunstancias la activación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) puede realizar una serie de cambios fisiológicos y conductuales que ayudaran a enfrentar estos eventos de estrés (Pereyra & Wingfield, 2003; Wingfield & Hunt, 2002).

Diversos estudios han comparado y han descrito las semejanzas entre estos ambientes de alta latitud con los ambientes de alta altitud (e.g., Boonstra, 2004; Astheimer *et al.*, 1995; Morton, 1978; Morton & Sherman, 1978). Sin embargo, son escasos los estudios que han evaluado los efectos que tiene la altitud en el estado de estrés a través de los niveles de corticosterona (Bears *et al.*, 2003; Richardson *et al.*, 2003). Al igual que en ambientes árticos, los hábitat de mayor elevación presentan estaciones reproductivas más cortas, frecuentes tormentas y climas extremos (Sabo, 1980; Bears, 2002). De esta manera, al igual que en algunas especies árticas que suprimen los niveles de glucocorticosterona frente a factores de perturbaciones lábiles (Astheimer *et al.*, 1995; wingfield *et al.*, 1998; Romero *et al.*, 2000; wingfield *et al.*, 2002), se espera que en

estos hábitats de alta altitud las especies de aves presenten supresión de la sensibilidad adrenocortical durante los períodos reproductivos. Por otra parte, dado que las demandas energéticas de por sí ya son alta durante este periodo, principalmente por el cuidado que prestan los padres a su descendencia (Clutton Brock, 1991), esperaríamos que la respuesta adrenocortical entre sexos, refleje el cuidado parental que asignan machos y/o hembras en el cuidado de sus crías.

La especie *Zonotrichia capensis* (chincol) representa un buen modelo para estudiar los cambios asociados a esta hormona, ya que su amplio rango de distribución, el que va desde el sur de México hasta el sur de Argentina y Chile (Kalma, 1970) permite observar poblaciones de este paseriforme en zonas que poseen condiciones ambientales muy diferentes. Particularmente esta especie puede encontrarse a lo largo de un gradiente altitudinal que va desde los 0 hasta los 5300 m s.n.m. (Chapman, 1940; Davis, 1971). Los hábitats que se encuentran a grandes altitudes presentan condiciones restrictivas para el organismo en donde la variabilidad climática, las bajas temperaturas, la nieve y la menor disponibilidad de alimentos (Pereyra & Wingfield, 2003) pueden exacerbar la actual demanda energética sobre todo en la estación reproductiva (King, 1974; Walsberg, 1983). Es por esta razón que muy pocas especies son capaces de sobrevivir en estas condiciones climáticas, lo que se ve reflejado en el descenso de la diversidad de especies tanto en hábitats de altas latitud como altitud (Billings & Mooney, 1968). Una gran cantidad de investigaciones se han realizado en esta especie debido a su amplio rango de distribución, lo que ha permitido abordar como este tipo de ave responde a diferentes ambientes a través de cambios conductuales y/o fisiológicos

(Busch *et al.*, 2010; Cheviron & Brumfield, 2009; Cavieres & Sabat, 2008; Wada *et al.*, 2006; Van Dongen, Maldonado, Sabat & Vásquez, 2010). En este trabajo, se propuso investigar la influencia de la altitud y el sexo sobre la respuesta de estrés medida en esta especie utilizando el glucocorticoide, glucocorticosterona, como un indicador del estado fisiológico de las aves. Para esto se compararon los niveles basales de la hormona y la sensibilidad adrenocortical entre dos poblaciones pertenecientes a la cordillera de Los Andes y al valle central de Chile.

1.4 Hipótesis

Teniendo en cuenta lo anterior, en este trabajo se plantearon dos hipótesis:

- 1- Los individuos de la especie *Zonotrichia capensis* que viven en hábitats de alta altitud presentan una supresión de la sensibilidad adrenocortical durante los períodos reproductivos lo cual les permite mantener o aumentar su adecuación biológica frente a condiciones climáticas adversas.
- 2- Dado que la época reproductiva es un periodo de alta demanda energética, principalmente por el cuidado que prestan los padres a su descendencia, los individuos que inviertan más energía en el cuidado parental, presentarán una supresión de la respuesta adrenocortical. En el caso de *Zonotrichia capensis*, se espera que las hembras gasten más energía en el cuidado parental que los machos.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Determinar si existen diferencias en la respuesta adrenocortical de dos poblaciones de chincoles que habitan altitudes contrastantes

1.5.2 Objetivos específicos

- a) Describir cómo cambian los niveles de corticosterona bajo el protocolo de estrés de captura y manipulación, en dos poblaciones de chincoles que habitan ambientes de diferentes altitudes (Pícarquin y La Parva, 593 y 2529 m s.n.m. respectivamente).
- b) Comparar la respuesta adrenocortical entre poblaciones.
- c) Comparar la respuesta adrenocortical entre los sexos.
- d) Comparar rasgos morfológicos entre las diferentes poblaciones.

2. Materiales y Métodos

2.1 Sitios de estudio

Los ejemplares de *Z. capensis* fueron capturados en dos sesiones de muestreo durante el año 2010. La primera fue realizada en (i) Picarquín durante los primeros días de noviembre. Esta localidad pertenece a la comuna de San Francisco de Mostazal ubicada aproximadamente 60 km al sur de Santiago ($33^{\circ}57'34,42''\text{S}$ $70^{\circ}37'41.03''\text{O}$; elevación 593 m s.n.m). El segundo muestreo se llevó a cabo durante la primera semana de diciembre en (ii) La Parva, localidad ubicada 65 km al noreste de Santiago ($33^{\circ}20'42.70''\text{S}$ $70^{\circ}18'10.88''\text{O}$; elevación: 2529 m s.n.m).

Los sitios de estudio se encuentran dentro de Chile central, zona que presenta un tipo de clima mediterráneo (di Castri & Hajek, 1976) con una marcada estacionalidad tanto en las temperaturas como en las precipitaciones. Sin embargo esta descripción no considera el gradiente altitudinal y es por esta razón que La Parva, a diferencia de Picarquín, presenta un clima de alta montaña. Santibáñez y Uribe (1990), basados en los datos disponibles para la región Metropolitana, han clasificado el clima de alta montaña de esta zona como un clima templado mediterráneo microtermal subhúmedo. Las precipitaciones ocurre durante los meses de invierno, principalmente en forma de nieve (Rozzi *et al.*, 1989), con estimaciones anuales de 400-900 mm para las altitudes por sobre el límite arbóreo (Arroyo *et al.*, 1982, Santibáñez & Uribe, 1990).

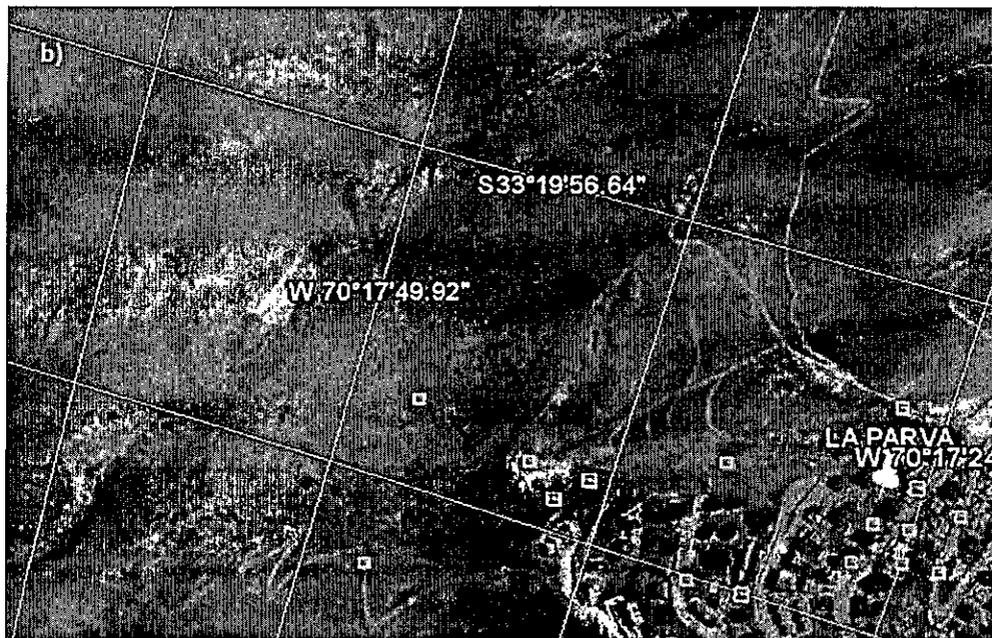
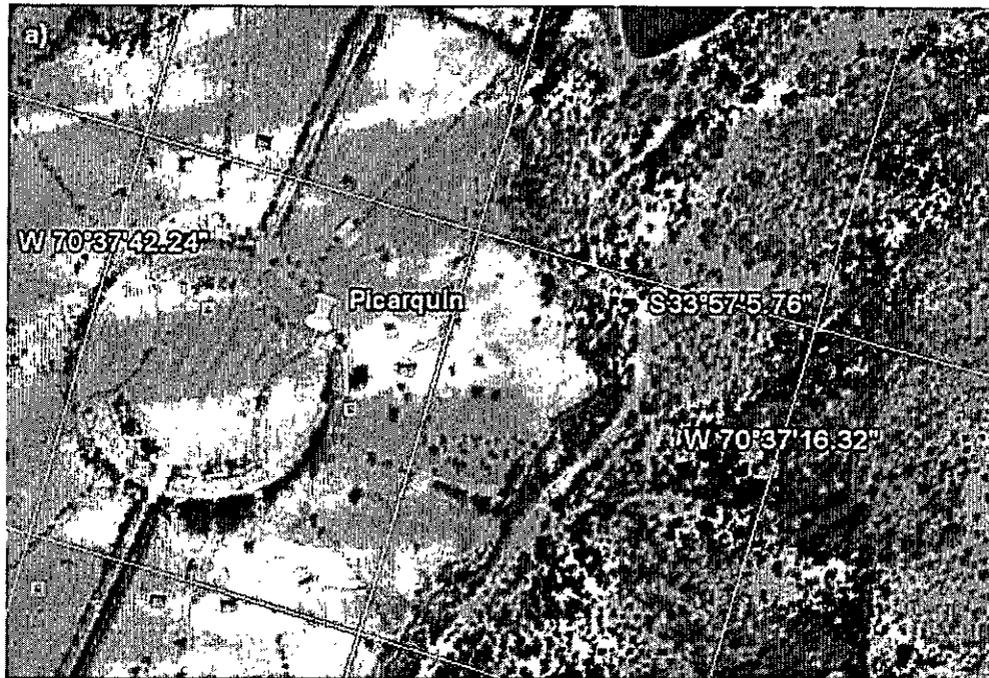


Fig. 1. Áreas de muestreo de *Z. capensis*. (a) La Parva, localidad ubicada en la comuna de Huechuraba sobre los 2529 m s.n.m. (b) Pícarquín, localidad ubicada en la comuna de San Francisco de Mostazal, a 593 m s.n.m.

La temperatura media anual de La Parva bordea los 6 ° C (Cavieres *et al.*, 1998) mientras que en verano, las temperaturas medias bordean los 10 °C. Vegetacionalmente esta zona corresponde al límite altitudinal superior del matorral sub-andino, caracterizado por la dominancia de arbustos achaparrados como *Chuquiroma oppositifolia*, *Berberis empetrifolia*, *Nardophyllum lanatum*, y la presencia de especies anuales como *Chaetanthera spp* (Arroyo *et al.*, 1981; Cavieres *et al.*, 1998).

Por otro lado Pícarquín se encuentra dentro de la región del Libertador Bernardo O'higgins en donde la temperatura media anual bordea los 13,1° C, mientras que en verano, las temperaturas bordean los 18°C (Dirección Meteorológica de Chile, 2010). Vegetacionalmente esta zona se encuentra dentro de la región ecológica del matorral y del bosque esclerófilo, subregión del bosque esclerófilo en la denominada unidad del bosque esclerófilo de la pre-cordillera andina (Gajardo, 1994). Las principales especies arbóreas o arbustivas que se encuentran en dicha formación corresponden a las siguientes: *Acacia caven* (Espino), *Maytenus boaria* (Maitén), *Solanum ligustrinum* (Natri), *Muehlenbeckia hastulata* (Quilo), *Eucaliptus globulus* (Eucalipto), *Prunus dulcis* (Almendro), *Rubus ulmifolius* (Zarzamora), *Quillaja saponaria* (Quillay), *Cryptocarya alba* (Peumo), *Lithrea caustica* (Litre), *Colliguaja odorifera* (Colliguay) y *Berberis chilensis* (Richa).

2.2 Captura, medición y toma de muestras de sangre

Las aves de Pícarquín fueron capturadas entre las 7:00 h de la mañana y las 13:00 h de la tarde utilizando redes nieblas las cuales fueron monitoreadas constantemente. Para este

primer evento de muestreo se lograron capturar 10 ejemplares de la especie (7 machos y 3 hembras), antes de que las precipitaciones de la segunda semana de noviembre diezmaran las poblaciones de chincoles en todas las zonas aledañas a la comuna de San Francisco de Mostazal. En La parva las capturas se realizaron en tiempos menos acotados, entre las 7:00 y las 18:00 de la tarde, con el fin de aumentar el número de muestra. Así durante la primera semana de diciembre se lograron capturar 16 individuos, de los cuales solo a 12 (5 machos y 7 hembras) se les aplicó el procedimiento de forma completa.

Para atraer a los chincoles a las redes y facilitar la captura de los ejemplares, se utilizaron reproductores de audio mp3 en sitios cercanos a las redes con la grabación de un con-específico. Posteriormente, se empleó el protocolo de estrés de captura (véase Wingfield *et al.*, 1997) para medir la sensibilidad adrencortical que se encuentra determinada por el incremento de la circulación de corticosterona en respuesta a la captura y la manipulación de los individuos. (Wingfield, 1994).

Después de la captura, una primera muestra de sangre fue tomada dentro de los 3 primeros minutos puncionando la vena alar con una aguja y colectando entre 40 μ l y 70 μ l de sangre en microtubos heparinizados para tener una medida del nivel de circulación basal de la hormona, la cual no aumenta hasta los 3 primeros minutos después de la captura (véase Wingfield, Smith & Farner, 1982; Kitaysky, Wingfield & Piatt, 1999). Terminada la primera extracción, las aves fueron colocadas en bolsas de género y sacadas nuevamente a los 15 y 30 minutos siguientes para repetir el procedimiento.

Entre los períodos de extracción las aves fueron sexadas en función de la presencia o ausencia de la protuberancia cloacal (presente durante la época reproductiva). También esta instancia fue aprovechada para medir los rasgos morfológicos utilizando un dinamómetro para la masa, reglas con topes para medir el largo del ala y de la cola y un pie de metro empleado para medir el tarso y el culmen. En la mayoría de las especies estudiadas, este régimen de muestreo no ha debilitado a las aves en ningún aspecto, razón por la cual es una herramienta muy eficaz para monitorear y evaluar las respuestas de estrés en poblaciones de vida libre (Wingfield, 1994; Wingfield & Ramenofsky, 1999).

2.3 Análisis de corticosterona

Los microtubos con las muestras de sangre fueron centrifugados (9000 g durante 5 min) dentro de las primeras 6 horas de extracción para separar los diferentes componentes sanguíneos. Con una jeringa de 100 μ l se extrajo el plasma y se almacenó en tubos Eppendorf, los cuales luego de ser etiquetados se refrigeraron a -20°C . Una vez finalizado el trabajo de campo, las muestras fueron enviadas en un contenedor con hielo seco a la Universidad de California, Davis, Estados Unidos, al laboratorio del Dr. John C. Wingfield, lugar en donde se llevaron a cabo los radioinmunoensayos para determinar las concentraciones plasmáticas de la hormona glucocorticosterona.

2.4 Análisis estadístico

Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el Software Statistica 7. A todos los datos se les realizó pruebas de normalidad (i.e., test de Shapiro-Wilks) y de homogeneidad de varianza (i.e., test de Levene). En los casos en que la prueba estadística correspondía a un análisis de varianza de medidas repetidas, los datos también fueron evaluados para el supuesto de esfericidad. Cuando una variable no presentaba distribución normal, los datos fueron transformados y normalizados (utilizando logaritmo natural) con el fin de seguir utilizando la estadística paramétrica y modelos lineales (GLM). Antes de comparar las dos poblaciones, y debido a que los animales utilizados en la población de alta altitud (La Parva) fueron capturados durante un rango amplio de horario diurno, y cómo es posible que los perfiles hormonales cambien a lo largo del día, dichos animales fueron separados en dos grupos control, según la hora de captura (i.e., antes y después de las 13:00 h). Mediante un Andeva de medidas repetidas de dos vías se observó que los dos grupos no presentaban diferencias significativas ($F= 0,06$, $df= 1$, $p=0,81$) entre los horarios de captura, razón por la cual se consideraron como un único grupo. Cuando el Andeva indicaba diferencias significativas en alguna variable (tiempo, sexo, altitud), se procedió a realizar la prueba a posteriori de Tuckey.

Para darle un mayor poder estadístico a los resultados obtenidos para el sexo (debido al bajo número de muestras por localidad), se realizaron dos pruebas. Un Andeva de medidas repetidas de dos vía que considera sexo y altitud y otro que considera solo el sexo (macho-hembra). Esta última prueba se llevó a cabo después de observar que la altitud no tuvo ningún efecto en la respuesta adrenocortical.

3. RESULTADOS

3.1 Respuesta al estrés dentro de las elevaciones

Tanto en machos como hembras la forma de la respuesta al estrés no fueron diferente dentro de cada elevación (Interacción Sexo* Tiempo: $F= 0,27$; $df= 1$; $p > > 0,05$, Fig. 2). En las dos localidades es posible observar como los niveles de corticosterona se elevan después de transcurrir el tiempo de captura (Andeva de medidas repetidas de dos vías: $F = 22, 71$; $df = 2$; $p < 0,00001$). Sin embargo, el incremento solo fue significativo durante los primeros 15 minutos (Test de Tukey $p < 0,0001$), ya que posteriormente no se observó un aumento considerado.

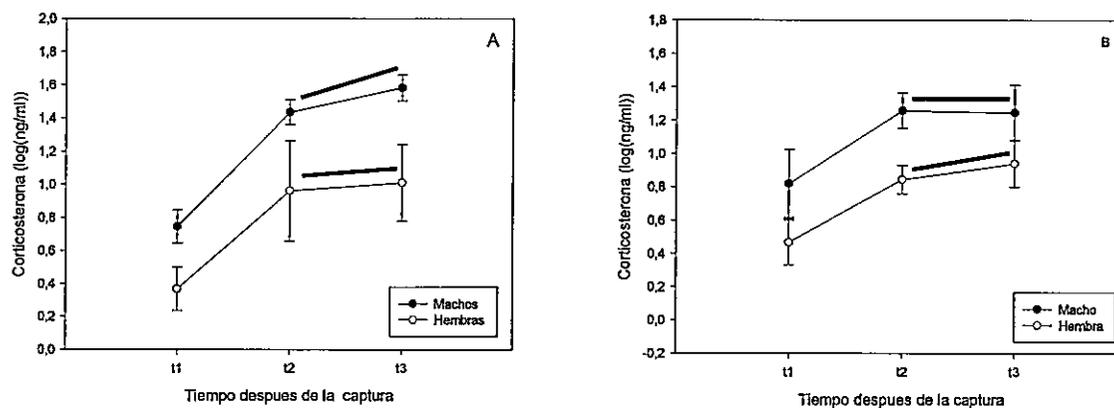


Fig. 2. Concentraciones de corticosterona (media \pm EE) en función del tiempo de captura y manipulación. a) Animales capturados en La Parva (2529 m s.n.m), 5 machos y 7 hembras. b) Animales capturados en Picarquín (593 m s.n.m.), 7 machos y 3 hembras. (t1=0-3min., t2= 15min, t3= 30min.). Las barras negras indican ausencia de diferencias significativas entre los puntos conectados.

3.2 Efecto de la elevación en la respuesta al estrés

La elevación no se correlacionó con los niveles basales ni con los niveles de estrés inducidos. Si diferenciamos los individuos por localidad y por sexo, la altitud no presenta un efecto significativo sobre los niveles de corticosterona (Andeva de medidas repetidas de dos vías: $F = 0,86$; $df = 1$; $p \gg 0,05$). Por otro lado, si separamos las poblaciones por altitud (Fig. 3), aunque es posible observar niveles hormonales mayores en la localidad de Picarquín, tampoco se observan diferencias significativas entre las poblaciones (Andeva de medidas repetidas de dos vía: $F = 2,05$; $df = 1$; $P \gg 0,05$).

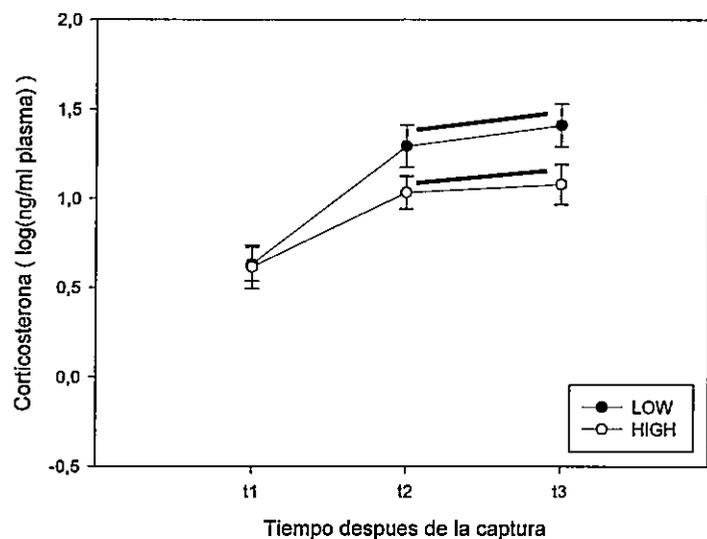


Fig. 3. Concentraciones de corticosterona (media \pm EE) en función del tiempo de captura y manipulación (t1: 0-3 minutos, t2: 15 min, t3: 30 min) a baja (n=10) y alta altitud (n=12). Las barras negras indican ausencia de diferencias significativas entre los puntos conectados.

3.3 Efecto del sexo en la respuesta al estrés

Al considerar el sexo en el estudio, se nota que existen diferencias significativas entre machos y hembras (Fig. 2.). Los machos tienen niveles hormonales mayores que las hembras (Andeva de medidas repetidas de dos vías: $F= 17,25$; $df = 1$; $p < 0,0008$), sin embargo tomando en cuenta que el número de muestras por sexo es muy pequeño y que la localidad no tuvo efectos sobre la altitud, con el objetivo de favorecer la potencia estadística y disminuir el error de tipo I, es posible juntar las poblaciones de las dos localidades y separarlas solo por sexo (Fig. 4). En este caso los machos siguen siendo significativamente diferente de las hembras (Andeva de medidas repetidas de dos vías: $F= 20,34$, $df= 1$, $p < 0,0003$, para mayor detalle sobre el análisis estadístico ver tabla 1).

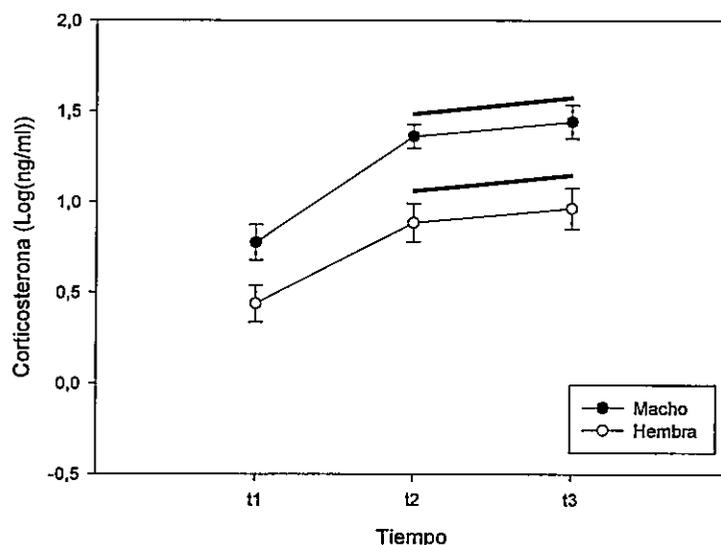


Fig. 4. Concentraciones de corticosterona (media \pm EE) en función del tiempo de captura (t1: 0-3 minutos, t2: 15 min, t3: 30 min) para machos (n= 12) y hembras (n=10). Las barras negras indican ausencia de diferencias significativas entre los puntos conectados.

Tabla 1 Resultados del ANDEVA de medidas repetidas para los datos de corticosterona transformados a logaritmo

Variabes	df	MS	F	p
sexo	1	2,44179	17,2466	0,000749
altitud	1	0,12105	0,8550	0,368884
sexo*altitud	1	0,03802	0,2685	0,611402
Error	16	0,14158		
Tiempo	2	1,87834	22,7086	0,000001
Tiempo*sexo	2	0,01533	0,1854	0,831682
Tiempo*altitud	2	0,12003	1,4511	0,249313
Tiemp*sexo*altitud	2	0,02693	0,3256	0,724465
Error	32	0,08271		

3.4 Rasgos morfológicos

Durante el protocolo de captura y extracción fue posible realizar mediciones morfométricas de los individuos pertenecientes a las dos localidades. Al realizar el ANDEVA de una vía las medidas del peso, tarso, culmen y ala no presentaron diferencias significativas (peso: $F= 0,93$; $df= 1$; $p= 0,35$. tarso: $F=0,98$; $dg= 1$; $p= 0,33$. culmen: $F= 2,68$; $dg=1$; $p= 0,12$ ala: $F=0,07$; $df= 1$; $p=0,79$.), no así el largo de la cola que fue significativamente más larga en los individuos de La Parva ($F= 23,69$, $df=1$; $p < 0,001$.), en comparación con los individuos de Picarquín (Tabla 2).

Tabla 2 Medidas de los rasgos morfológicos de *Z. capensis* (La Parva y Pícarquín)

Rasgos Localidad	Peso (g)	Longitud Tarso (mm)	Longitud culmen (mm)	Longitud Ala (mm)	Longitud Cola (mm)
Pícarquín	21,90± 0,46	20,97±0,24	12,22 ± 0,14	77,40± 0,99	64,9± 0,66
La Parva	22,50± 0,42	21,28±0,22	12,53 ± 0,13	77,04± 0,91	69,2 ± 0,60

4. DISCUSIÓN

En nuestro trabajo la altitud no tuvo un efecto significativo en los niveles de corticosterona. En *Z. capensis* las concentraciones basales de la hormona (0-3 min.) no se diferenciaron entre las poblaciones de *Z. capensis* de La Parva y de Pícarquín. Esto puede sugerir que en ambientes de mayor altitud existen suficientes adaptaciones que permiten que los individuos no sufran un aumento crónico de esta hormona (Bear *et al* 2003). Por otro lado, los niveles de estrés inducido tampoco presentaron diferencias significativas entre las poblaciones de diferentes ambientes.

Aunque nuestros resultados no respaldan nuestra primera hipótesis, la cual se basó en trabajos anteriores que muestran una supresión de la respuesta adrenocortical al estrés en aquellas aves que habitan ambientes extremos (Wingfield *et al.*, 1992; Silverin, 1997, 1998; Kitaysky *et al.*, 1999; O'Reilly & Wingfield, 2001; Wilson & Holberton, 2004), debemos considerar que la mayoría de estas investigaciones se han realizado estudiando la respuesta adrenocortical a lo largo de un gradiente latitudinal, y no comparando zonas

de diferentes altitudes. Por lo tanto, es posible que nuestros resultados reflejen un mecanismo de regulación alternativo para aquellas aves que habitan ambientes alpinos. Sin embargo, algunos investigadores han defendido nuestra hipótesis, principalmente porque ambos ambientes, según la literatura, son muy semejantes (e.g Richardson et al., 2003; Wingfield, 1984; Pereyra & Wingfield., 2003). Tanto las zonas árticas como las zonas alpinas se encuentran por encima de la línea arbórea, en donde es posible encontrar climas más extremos (Richardson *et al.*, 2003) caracterizados por estaciones reproductivas cortas, eventos climáticos impredecibles, y frecuentes cambios en la temperatura y en la disponibilidad de alimento (Astheimer *et al.*, 1992; Wingfield, 1984), lo que eventualmente lleva a inferir que los individuos que se enfrentan a estos tipos de ambientes, deberían presentar la misma respuesta adrenocortical (Pereyra & Wingfield., 2003; Boonstra., 2004; Martin & Rubenstein., 2008). Sin embargo, los resultados de esta memoria indican lo contrario.

De manera similar Bear & Smith (2003) encontraron que los niveles basales de corticosterona y los niveles de estrés inducido no difieren entre poblaciones de la especie *Junco hyemelais oregonus* que se reproducen a baja y alta altitud (i.e., 1000 y 2000 m s.n.m, respectivamente), y solamente encontraron un efecto marginal de la altitud a los 60 minutos después de la captura. Sin embargo sería muy precipitado atribuir este efecto a una supresión de la respuesta adrenocortical. Por otro lado, se ha observado que a pesar de las semejanzas que existen entre los ambientes árticos y alpinos, las aves que habitan sobre los 3500 m s.n.m. en la “Meseta Tibetana Qinghai” (i.e., *Pyrgilauda ruficollis*, *Onychostruthus taczanowskii* y *Pyrgilauda blanfordi*) se diferencian

fuertemente de las especies árticas en su respuesta adrenocortical. De hecho, algunos trabajos previos han indicado que las poblaciones de estos ambientes, como la especie *Leucosticte Tephrocotis*, (ave especialista alpina) son capaces de aumentar su respuesta adrenocortical frente a un eventos de estrés asociado a la incubación (Richardson & Wingfield, 2001, Unión americana de Ornitólogos, datos no publicados). Este mecanismo opuesto a la supresión, se ha visto incluso en especies cercanas a *Z. capensis*, en particular, en sub-especies de *Zonotrichia leucophrys* (i.e., *Z.l. nuttalli*, *Z.l. pugetensis*, *Z.l. gambelii*), especie que ha sido capaz de aumentar sus niveles de corticosterona para ocupar zonas alpinas y así ampliar su ámbito de hogar (Addis., et al 2011a). Por lo tanto, a pesar de que la especie *Junco hyemalis* y *Z. capensis* no tuvieron un aumento de la respuesta adrenocortical, ninguna de las especies que han sido estudiadas en estos tipos de ambientes han presentado una supresión de los niveles de corticosterona con respecto a los con-específicos que habitan zonas de baja altitud. Por lo tanto, estas diferencias fisiológicas pueden estar dando cuenta de las verdaderas condiciones ambientales que pueden estar experimentando las poblaciones. Bajo este punto de vista, si consideramos el ámbito de hogar de las especies que habitan ambientes árticos y alpinos, encontraremos que a pesar de las semejanzas que existen, las aves que habitan ambientes alpinos son capaces de volar y viajar a través del gradiente altitudinal para llegar a lugares que sean menos hostiles, mientras que las especies del ártico se encuentran mucho más lejos de aquellas zonas en donde las condiciones son más favorables (Richardson et al., 2003). Este tipo de conductas, que implican la inhibición de la territorialidad y abandono del nido, pueden estar favorecidas por el aumento de los

niveles de corticosterona en la sangre que finalmente promueven el escape a bajas altitudes para evitar perturbaciones por períodos cortos de tiempo (Silverin, 1986; Wingfield *et al.*, 1983; Wingfield & Ramenofsky, 1997; Wingfield & Silverin, 1986; Breuner & Hahn, 2003). Posiblemente por esta razón las aves que habitan ambientes elevados no presentan un mecanismo de supresión de la respuesta adrenocortical con respecto a las poblaciones de baja altitud, ya que no resultaría óptimo en este tipo de ambientes.

Particularmente en La Parva, es posible que existan componentes biológicos y ambientales, que estén determinando que la población de *Z. capensis* (la cual no se diferenció de sus conespecíficos de baja altitud) presente un mecanismo intermedio entre la supresión y el aumento de los niveles de corticosterona. Por ejemplo, a diferencia de los individuos de baja altitud (i.e., que residen todo el año en el mismo lugar), los individuos de tierras altas son migrantes altitudinales (Chapman, 1940), lo cual implica que deben realizar un gasto energético extra, en comparación con sus con-específicos no-migratorios, para poder llegar y restablecer sus territorios en los sitios de reproducción (Addis *et al.*, 2011b). Por otro lado, en comparación con trabajos anteriores, *Z. capensis* se reproduce en zonas que se encuentran por sobre los 2500 m s.n.m. Frente a esta situación es probable que a diferencia de especies con-genéricas como *Z. leucophrys pugetensis* (que se encuentra entre los 900 y 1500 m s.n.m), los chincoles de acuerdo a su elevación se encuentren expuestos a condiciones más similares a zonas árticas (Richardson *et al.*, 2003). Quizás por esta razón, en estas poblaciones tampoco existe un aumento en la respuesta adrenocortical, ya que los sitios

de refugios se encuentran más lejanos. Por lo tanto, es posible que el aumento o la supresión de la respuesta adrenocortical en aves de altitud, varíe dependiendo de la elevación de los sitios de reproducción, lo cual finalmente podría determinar en qué situaciones son convenientes las conductas de escape.

Al considerar el sexo en la respuesta adrenocortical, fue posible observar que los machos de *Z. capensis* tienen mayores niveles de corticosterona que las hembras. Si consideramos los niveles basales de la hormona, los machos de otras especies como por ejemplo *Calcarius pictus*, también han mostrado mayores niveles de corticosterona que las hembras, esto ha sido relacionado directamente con la época reproductiva, en donde los machos deben establecer sus territorios y a su vez enfrentarse a otros tipos de estresores relacionados a la competencia sexual (Astheimer *et al.*, 1995; Meddle *et al.*, 2003; Bókony *et al.*, 2009). Por otro lado, esta diferencia de la respuesta adrenocortical entre sexos, se ha visto en trabajos anteriores (Wingfield, Smith & Farner, 1982; Astheimer, Buttemer & Wingfield, 1994; Wingfield, O' Reily & Astheimer, 1995; Silverin, Arvidsson & Wingfield, 1997) y ha sido explicada considerando el grado de cuidado parental.

Es sabido que el cuidado parental durante la época reproductiva es el período de mayor demanda energética (Astheimer *et al.*, 1995; Silverin, 1998). Por lo tanto, si tenemos en cuenta que los altos niveles de corticosterona pueden inhibir las respuestas conductuales y fisiológicas involucradas en este proceso (Moore & Zoeller, 1985; Sapolsky, 1985; Silverin, 1986; Wingfield & Silverin, 1986; Wingfield, 1988) y por el contrario, fomentar las conductas de escape (Astheimer *et al.*, 1992) que pueden llevar al abandono

anticipado de las áreas reproductivas (Silverin *et al.*, 1989), es de esperar que para prevenir el deterioro del esfuerzo reproductivo en especies que se reproducen en ambientes extremos, existan mecanismos de regulación de la corticosterona que permitirían asegurar la descendencia (Wingfield, 1988, 1994; Wingfield *et al.*, 1995). Por esta razón, la respuesta adrenocortical al estrés no solo ha sido asociada a los diferentes tipos de ambientes reproductivos, sino que también al cuidado parental de las crías. En una revisión de 16 especies de aves que se reproducen en el ártico y sub ártico, se encontró que existe una relación inversa entre la respuesta adrenocortical y el grado de cuidado parental (i.e., incubación y alimentación de los polluelos) (Wingfield *et al.*, 1995). De acuerdo a lo anterior, la respuesta al estrés mediada por la corticosterona guardaría relación con los papeles que cumplen los padres en el proceso de cría, en donde no necesariamente las hembras son las que se llevan el mayor gasto energético (e.g., Las hembras de la especie *Calidris mauri* suelen abandonar a los pichones recién eclosionados; véase Holmes, 1973 y Erckmann, 1981).

Normalmente los tipos de cuidado parental son descritos de acuerdo al tipo de apareamiento que pueden presentar las especies. Por ejemplo, el cuidado parental proporcionado por especies poligámicas y poliándricas, se restringe solo a uno de los padres (i.e., cuidado uniparental), mientras que en especies monogámicas, dependiendo del grado en que los padres comparten las tareas del cuidado parental, pueden presentar un cuidado biparental igual o desigual entre sexos que finalmente se refleja en la respuesta adrenocortical (O'Reilly & Wingfield, 2001). En nuestro caso, *Z. capensis* es una especie socialmente monógama que presenta un tipo de cuidado biparental desigual,

ya que los machos en su gran mayoría se dedican a defender los territorios (Bush *et al.*, 2004, Moore *et al.*, 2004) mientras que las hembras cuidan en mayor grado de la descendencia (Miller & Miller, 1968, Kalma, 1970). Aunque en esta especie, el concepto de cuidado biparental desigual es cuestionable, ya que en algunos trabajos se asume que ambos sexos cuidan en igual grado a la descendencia (Lynn *et al* 2009), solo las hembras prestan incubación a los huevos, y la mayoría de los estudios relacionados al cuidado parental indican que los individuos que realizan esta labor presentan una respuesta adrenocortical más baja que su pareja reproductiva (O'Reilly & Wingfield, 2001), por esta razón se requiere una mayor rigurosidad sobre los periodos de muestreo (i.e apareamiento, incubación, alimentación de pichones), ya que es factible encontrar variaciones intra-específicas dentro de la misma época reproductiva (Silverin, 1988; Romero & Wingfield, 1999; Meddle *et al.*, 2003; Pereyra & Wingfield, 2003).

Aunque en su gran mayoría, los rasgos morfométricos que fueron evaluados no se diferenciaron significativamente entre las dos poblaciones, la cola presentó tamaños significativamente mayores en los individuos de la población de La Parva. En relación a lo anterior, algunos estudios sostienen que los individuos con la cola externa más larga podrían ser más eficientes en la captura de insectos voladores (Cox, 2010). Por otro lado, este mismo autor también plantea que el aumento en el largo de la cola (e.g., *Hirundo rustica*) puede ser el resultado de procesos selectivos que favorecen la elongación de este rasgo; así los individuos más aptos podrían efectuar eventos de migración frente a perturbaciones ambientales (e.g., declinación de la vegetación, sequía y reducción de la abundancia de insectos). De acuerdo a lo anterior, es posible que los chincoles de La

Parva presenten colas más largas que sus conespecíficos que posiblemente otorgarían ventajas en el vuelo, permitiendo la captura de insectos en un ambiente donde su abundancia es baja (Richardson et al., 2003; Swan, 1963; Papp, 1978). Colas más largas también podrían contribuir en mejorar el vuelo en migraciones altitudinales (Chapman, 1940). Sin embargo, se requieren mayores estudios para poner a prueba estas hipótesis.

5. Conclusión

Aunque la supresión de la respuesta adrenocortical en ambientes extremos es un mecanismo que ha sido ampliamente sugerido en la literatura, al parecer esta estrategia no aplica para todos los tipos de ambientes adversos. Así, no es posible establecer una regla general para los diferentes tipos de hábitats ya que por un lado pueden existir condiciones propias del lugar que pueden estar afectando los resultados (e.g., diferentes rangos de elevación entre las investigaciones), como también estados del ciclo de vida diferentes (e.g., poblaciones residentes versus migratorias).

Por otro lado, considerando que los niveles de corticosterona dan cuenta del grado de estrés en el que se encuentran los individuos, los resultados sugieren que la reproducción corresponde al período de mayor gasto energético, ya que sin consideración del tipo de ambiente en que ocurre, aquellos individuos que prestan el mayor cuidado parental, en nuestro caso las hembras, presentan una fuerte disminución de los niveles hormonales de la respuesta adrenocortical, en relación a los machos.

6. Referencias

- Addis E.A., Clark A.D., Wingfield J.C. 2011 b. Modulation of androgens in southern hemisphere temperate breeding sparrows (*Zonotrichia capensis*): an altitudinal comparison. *Horm Behav.* 60: 195-201.
- Addis E.A., Davis J.E., Miner B.E., Wingfield J.C. 2011 a. Variation in circulating corticosterone levels is associated with altitudinal range expansion in a passerine bird. *Oecologia* 167: 369-378.
- Arroyo M.T.K., Armesto J.J., Villagrán C. 1981. Plant phenological patterns in the high andean cordillera of central Chile. *Journal of Ecology.* 69: 205-223.
- Arroyo M.T.K., Primack R., Armesto J.J. 1982. Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of central Chile. I. Pollination mechanisms and altitudinal variation. *American Journal of Botany.* 69: 82- 97.
- Astheimer L.B., Buttermer W.A., Wingfield J.C. 1995. Seasonal and acute changes in adrenocortical responsiveness in an Arctic- Breeding bird. *Hormones and Behavior.* 29: 441-457.
- Astheimer L.B., Buttermer W.A., Wingfield J.C, 1994. Gender and seasonal differences in the adrenocortical response to ACTH challenge in an Arctic passerine - *Zonotrichia leucophrys gambelii*. *General and Comparative Endocrinology.* 94: 33-43.
- Astheimer L.B., Buttemer W.A., Wingfield J.C. 1992. Interactions of corticosterone with feeding, activity and metabolism in passerine birds. *Ornis Scand.* 23: 355-365.
- Bears H. 2002. How and why a small songbird, the Oregon Junco (*Junco hyemalis oregonus*), breeds over a steep elevation gradient: Shifting life-histories, adaptations, and cost and benefits with elevation. M.Sc. Thesis. University of British Columbia, Vancouver, British Columbia.
- Bears H., Smith J.N.M., Wingfield J.C. 2003. Adrenocortical sensitivity to stress in dark-eyed juncos (*Junco hyemalis oregonus*) breeding in low and high elevation habitat. *Ecoscience.* 10: 127-133.
- Billing W. D., Mooney H.A. 1968. The ecology of arctic and alpine plants. *Biological review.* 43: 481-429.
- Boonstra R. 2004. Coping with changing Northern Environments: The Role of the Stress Axis in Birds and Mammals. *Integr. Comp Biol.* 44: 95-108.

- Bókony V., Garamszegi L.Z., Hirschenhauser K., Liker A. 2008. Testosterone and melanin- based black plumage coloration in birds. *Behavioral Ecological and Sociobiology*. 62:1229-1239.
- Breuner C.W., Orchinik M., Hahn T.P., Meddle S., Moore I.T., Owen-Ashley N., Sperry T.S., Wingfield J.C. 2003. Differential mechanisms for regulation of the stress response across latitudinal gradients. *Am. J. Physiol.* 285: R594- R600.
- Busch D.S., Wingfield J.C., Moore I.T. 2004. Territorial aggression of a tropical passerine, *Zonotrichia capensis*, in response to a variety of conspecific intruders. *Behaviour*. 141: 1173-1188.
- Bush D.S., Addis E.A., Clark A.D., Wingfield J.C. 2010. Disentangling the effects of environment and Life History Stage on Corticosterone Modulation in Costa Rican Rufous Collared Sparrows, *Zonotrichia capensis costaricensis*.
- Cavieres G., Sabat P., 2008. Geographic variation in the response to thermal acclimation in rufous-collared sparrows: are physiological flexibility and environmental heterogeneity correlated? *Funct. Ecol.* 22; 509-515.
- Cavieres L.A., Peñaloza A., Pápic C., Tambutti M. 1998. Efecto nodriza del cojín *Laretia acaulis* en la zona alto-andina de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural*. 71: 337-347.
- Chapman F. M. 1940. The post-glacial history of *Zonotrichia capensis*. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 77: 381-438.
- Cheviron A.Z., Brumfield R.T. 2009. Migration - Selection Balance and local adaptation of mitochondrial Haplotypes in Rufous - Collared Sparrows (*Zonotrichia capensis*) along an elevational gradient. *Evolution* 63-6: 1593-1605.
- Chrousos G.P., Gold P.W., 1992. The concepts of stress and stress system disorders overview of physical and behavioral homeostasis. *J. Am. Med. Assoc.* 267: 1244-1252.
- Clutton-Brock T.H. 1991. *The Evolution of Parental Care*. Princeton: Princeton University Press.
- Davis J. 1971. Breeding and molt schedules of the rufous-collared sparrow in coastal Peru. *The Condor* 73: 127-146.
- Denver R.J., Hopkins P.M., McCormick S.D., Propper C.R., Riddiford L., Sower S.A., Wingfield J.C. 2010. Comparative endocrinology in the 21 st century. *Integrative and Comparative Biology*. 49, 339-348.

- Dhabhar F.S. 2002. Stress-induced augmentation of immune function. The role of stress hormones, leukocyte trafficking, and cytokines. *Brain Behav. Immun.* 16: 785-798.
- Di Castri F., Hajek R. 1976. *Bioclimatología de Chile*. Editorial Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 128 p.
- Erckmann W.J. 1981. The Evolution of Sex-Role Reversal and Monogamy in Shorebirds. Ph.D. dissertation, University of Washington, Seattle.
- Gajardo R. 1994. *La Vegetación Natural de Chile. Clasificación y Distribución Geográfica*. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 165p.
- George C. 2010. Bird migration and Global Change. En W.C George (eds), *Land Birds: Evolutionary Adaptability*. pp 219-223. Island Press. Washington, DC.
- Goyman W., Wingfield J.C. 2004. Allostatic load, social status and stress hormones: the costs of social status matter. *Anim. Behav.* 67: 591-602.
- Holmes R.T. 1973. Social behaviour of breeding Western Sandpipers (*Calidris mauri*). *Ibis*. 115: 107-123.
- Jacobs J.D. PhD diss. 1996. Regulation of life history strategies within individuals in predictable and unpredictable environments. Univ. Washington Seattle USA.
- Jacobs J.D., Wingfield J.C. 2000. Endocrine control of life-cycle stages: a constraint on response to the environment. *Condor* 102:35-51.
- Kalma D.L. 1970. Some aspects of the breeding ecology and annual cycle of three populations of the rufous-collared sparrow (*Zonotrichia capensis*) in Western Panama, pp. 218. New Haven: Yale.
- Ketterson E.D., Nolan V.J.R., Wolf L., Ziegenfus C. 1992. Testosterone and avian life histories: effects of experimentally elevated testosterone on behavior and correlates of fitness in the Dark-eyed Junco (*Junco hyemalis*). *American Naturalist* 140: 980-999.
- King J.R. 1974. Seasonal allocation of time and energy resources in birds. En R.A. Paynter [ed.], *Avian energetics*. pp 4-70. Publ. Nuttall Ornithol. Club 15: 1-334.
- Kitaysky A.S., Wingfield J.C., Piatt J.F., 1999. Dynamics of food availability, body condition and physiological stress response in breeding black - legged Kittiwakes. *Funct Ecol.* 13: 577-584.

- Le Moal M. 2007. Historical approach and evolution of the stress concept: a personal account. *Psychoneuroendocrinology*. 32: S3-S9.
- Lynn S.E., Prince L.E., Shook D.M., Moore I.T. 2009. Supplementary Testosterone Inhibits Paternal Care in a Tropically Breeding Sparrow, *Zonotrichia capensis*. *Physiological and Biochemical Zoology*. 82: 699-708.
- Martin L.B., Rubenstein D.R. 2008. Stress hormones in tropical birds: patterns and future directions. *Ornitologia Neotropical*. 19 (Suppl.): 207-218.
- McEwen B.S. 1998. Protective and damaging effects of stress mediators. *New Engl. J. Med.* 338: 171-9.
- McEwen B.S. 2000. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 22:108-124.
- McEwen B.S., Wingfield J.C. 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm Behav.* 43: 2-15.
- Meddle S.L., Owen-Ashley N.T., Richardson M.I., Wingfield J.C. 2003. Modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of an arctic-breeding polygynandrous songbird, the Smith's longspur, *Calcarius pictus*. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*. 270: 1849-1856.
- Miller A.H., Miller V.D. 1968. The behavioral ecology and breeding biology of the Andean sparrow, *Zonotrichia capensis*. *Caldasia*. 10: 83-154.
- Moore F.L., Zoeller R.T. 1985. Stress-induced inhibition of reproduction: Evidence of suppressed secretion of LH-RH in an amphibian. *Gen. Comp. Endocrinol.* 60: 252-258.
- Moore I.T., Wada H., Perfito N., Busch D.S., Wingfield J.C. 2004. Territoriality and testosterone in an equatorial population of rufous-collared sparrows, *Zonotrichia capensis*. *Animal Behaviour*. 67: 411-420.
- Morton M.L., Sherman P.W. 1978. Effects of a spring snows torm on behavior, reproduction, and survival of Belding's g round squirrels. *Can J Zool.* 56: 2578-2590.
- Morton M. L. 1978. Snow condition and the onset of breeding in the mountain white-crowned sparrow. *Condor*. 80: 285-289.
- Norris D. O. 1997. *Vertebrate Endocrinology*. 3rd ed. Academic Press, New York, New York.

O'Reilly K. M., Wingfield J.C. 2001. Ecological factors underlying the adrenocortical response to capture stress in arctic-breeding shorebirds. *General and Comparative Endocrinology*. 124: 1-11.

Pereyra M.E., Wingfield J.C. 2003. Changes in plasma corticosterone and adrenocortical response to stress during the breeding cycle in high altitude flycatchers. *General and comparative Endocrinology*. 130: 222-231.

Richardson M.I., Moore I.T., Soma K.K., Lei F.M., Wingfield J.C. 2003. How similar are high latitude and high altitude habitats? A review and a preliminary study of the adrenocortical response to stress in birds of the Qinghai- Tibetan Plateau. *Acta ZOO Sin.* 49:1-19.

Romero L. M., Ramenofsky M., Wingfield J.C. 1997. Seasonal and migration alters the corticosterone response to capture and handling in an Arctic migrant, the white crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 116: 71-177.

Romero L. M., Soma K. K., O'Reilly K. M., Suydam R., Wingfield J. C. 1998. Hormones and territorial behavior during breeding in snow buntings (*Plectrophenax nivalis*): An arcticbreeding songbird. *Horm. Behav.* 33: 40-47.

Romero L.M. 2004. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends Ecol. Evol.* 19: 249-255.

Rozzi R., Molina J.D., Miranda P. 1989. Microclima y períodos de floración en laderas de exposición ecuatorial y polar en los Andes de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural*. 62: 75-84.

Sabo S. R. 1980. Niche and habitat relations in subalpine bird communities of New Hampshire. *Ecological Monographs*. 50. 241-259.

Santibáñez F., Uribe J.M. 1990. Atlas agroclimático de Chile. Regiones Quinta y Metropolitana. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Fac. de Ciencias Agrarias y Forestales, Dep. de Ingeniería de Suelos, 65 p.

Sapolsky R. 1993. Endocrinology alfresco: Psychoendocrine studies of wild baboons. *Recent Prog Horm Res.* 48-437.

Sapolsky R. M. 1985. Stress-induced suppression of testicular function in the wild baboon: Role of glucocorticoids. *Endocrinology*. 116: 2273.

Sapolsky R.M., Romero L.M., Munck A.U. 2000. How do glucocorticosteroids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. *Endocr.* 21: 55-89.

Schulkin J. 2003. Rethinking homeostasis. Mit Press. Cambridge. Massachusetts.

Selye H. 1946. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *Journal of Clin. Endocrinol.* 6: 117-230.

Silverin B. 1986. Corticosterone-binding proteins and behavioral effects of high plasma levels of corticosterone during the breeding period in the Pied Flycatcher. *Gen. Comp. Endocrinol.* 64: 67-74.

Silverin B. 1997. The stress response and autumn dispersal behaviour in willow tits. *Animal Behaviour* 53: 451-459.

Silverin B. 1998. Behavioural and hormonal responses of the pied flycatcher to environmental stressors. *Animal Behavior.* 55: 1411-1420.

Silverin B., Arvidsson B., Wingfield J.C. 1997. The adrenocortical responses to stress in breeding Willow Warblers *Phylloscopus trochilus* in Sweden: effects of latitude and gender. *Funct. Ecol.* 11: 376-384

Sterling P., Eyer J. 1988. Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. En S. Fisher y J. Reason (eds.), *Handbook of life stress. Cognition and Health.* pp 629-649. John Wiley & Sons. New York.

Wada H., Moore I.T., Breuner C.W., Wingfield J.C. 2006. Stress responses in tropical Sparrows: Comparing Tropical and Temperate *Zonotrichia*. *Physiological and Biochemical Zoology.* 79: 784-792.

Walsberg G.E. 1983. Avian ecological energetics. En D.S. Farner, J.R. King y K.C. Parkes (Eds.), *Avian Biology*, vol. 7. pp 161-220. Academic Press, New York.

Wilson C.M., Holberton R.L. 2004. Individual risk versus immediate reproductive success: a basis for latitudinal differences in the adrenocortical response to stress in Yellow Warblers, *Dendroica petechia*. *Auk.* 121: 1238-1249.

Wingfield J.C., Moore I.T., Vasquez R.A., Sabat P., Busch S., Clark A. 2008. Modulation of the adrenocortical responses to acute stress in northern and southern populations of *Zonotrichia*. *Ornitol. Neotrop.* 19: 241-251.

Wingfield J.C., Romero L.M. 2000. Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates. En B.S. McEwen (ed.), *Handbook of physiology*, section 7: The endocrine system, volume 4; Coping with the environment; Neural and

endocrine mechanisms. pp 211-236. Oxford University Press, Oxford.

Wingfield J.C. 1988. Changes in reproductive function of freelifving birds in direct response to environmental perturbations. En M.H. Stetson (eds), *Processing of Environmental Information in Vertebrates*. pp 121-148. Springer-Verlag, Berlin.

Wingfield J.C. 2003. Control of behavioural strategies for capricious environments. *Anim. Behav.* 66: 807-816.

Wingfield J.C., Hunt K., Breuner C., Dunlap K., Fowler G.S., Freed L., Lepson J. 1997. Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. En J.R. Clemmons & R. Buchholz (eds.). *Behavioural approaches to conservation in the wild*. pp 95-131. Cambridge University Press, Cambridge.

Wingfield J.C., Hunt K.E. 2002. Arctic spring: hormone-behavior interactions in a severe environment. *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol.* 132: 275-286.

Wingfield J. C., Ramenofsky R. 1999. Hormones and the behavioral ecology of stress. En P.H.M. Balm (eds.), *Stress physiology in animals*. pp 1-51. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Wingfield J. C., Vleck C.M., Moore M.C. 1992. Seasonal changes of the adrenocortical response to stress in birds of the Sonoran Desert. *Journal of Experimental Zoology*. 264: 419-428.

Wingfield J.C. 1994. Modulation of the adrenocortical response to stress in birds. En S. Tobe (eds.) *Perspective in Comparative Endocrinology*. pp 520-528. National Research Council of Canada, Ottawa, Ontario.

Wingfield J.C. 2005. The Concept of Allostasis: Coping With a Capricious Environment. *Journal of Mammalogy*. 86: 248-254.

Wingfield J.C., 1984. Influence of weather on reproduction. *J. Exp. Zool.* 232, 589-594.

Wingfield J.C., Hegner R.E., Dufty A.M., Ball G.F. 1990. The challenge Hypothesis: Theoretical implications for patterns of testosterone secretion, Mating System, and Breeding Strategies. *The american naturalist*. 136: 829-846.

Wingfield J.C., Maney D.L., Breuner C.W., Jacobs J.D., Lynn S., Ramenofsky M., Richardson R.D. 1998. Ecological bases of hormone-behavior interactions: the "emergency life history stage". *American Zoologist*. 38: 191-206.

Wingfield J.C., Moore M.C., Farner D.S. 1983. Endocrine responses to inclement weather in naturally breeding populations of white-crowned sparrows. *Auk*. 100: 56-62.

Wingfield J.C., O'Reilly K.M., Astheimer., L.B. 1995. Ecological bases of the modulation of adrenocortical responses to stress in Arctic birds. *AM. Zool.* 35: 285-294.

Wingfield J.C., Ramenofsky M. 1997. Corticosterone and facultative dispersal in response to unpredictable events. *Ardea.* 85: 155-166.

Wingfield J.C., Silverin B. 1986. Effects of corticosterone on territorial behavior of free-living song sparrows, *Melospiza melodia*. *Hormones and Behavior* 20: 405-417.

Wingfield J.C., Smith J.P., Farner D.C. 1982. Endocrine responses of white-crowned sparrows to environmental stress. *Condor.* 84: 399-409.