

UCH-FC
DOC - B
1864
C. 1

**FORRAJE, ENERGETICA Y DIGESTION DE AVES:
¿QUÉ FACTORES LIMITAN EL PRESUPUESTO DE ENERGIA?**

Tesis

Entregada a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

Doctor en Ciencias con mención en Biología

Facultad de Ciencias

por



MARÍA VICTORIA LÓPEZ CALLEJA

Abril, 1999

Director de Tesis: Dr. Francisco Bozinovic Kuscevic

**FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACIÓN
TESIS DE DOCTORADO**

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato.

MARÍA VICTORIA LÓPEZ CALLEJA

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Biología, en el Examen de Defensa de Tesis rendido el día 15 de Marzo de 1999.

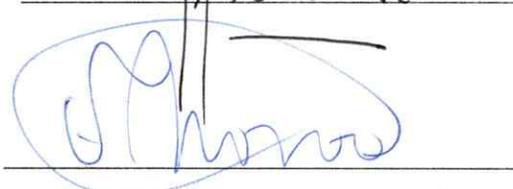
Director de Tesis:

Dr. Francisco Bozinovic



Patrocinante de Tesis:

Dr. Fernando Novoa



Comisión Informante de Tesis:

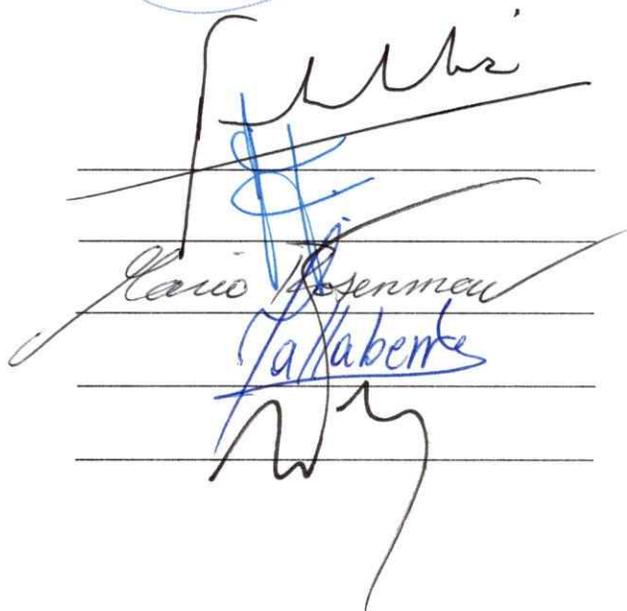
Dr. Nelson Diaz

Dr. Patricio Ojeda

Dr. Mario Rosenmann

Dr. Michel Sallaberry

Dr. Alberto Veloso



AGRADECIMIENTOS

Primeramente deseo agradecer a mi tutor Francisco Bozinovic por su estímulo y confianza. Al Dr. Mario Rosenman por acogerme en su laboratorio y brindarme toda su ayuda teórica y práctica. A Marino por su amor, respeto y apoyo a mi quehacer como bióloga. A mi familia entera por su cariño y apoyo constante, en especial a mi hermano Felix por su confianza.

A mis compañeros de Doctorado y Laboratorio, Pablo, Claudio y Fernando por su apoyo y enriquecedora crítica, y a Antonieta por su irremplazable ayuda en los momentos más duros de mi trabajo. A todos los amigos del Laboratorio de Ecofisiología Animal: Ibin, Enrico, Mauro, Mauricio, Marco, Willy, Antonio y Gonzalo por su afecto. En especial a Andrés Sazo por incommensurable ayuda y buena disposición en las partes más tediosas de mi trabajo. A todos gracias, especialmente por su paciencia con esta Riojana "agallegada".

Aunque aparentemente no tuviera importancia directa con el desarrollo de esta tesis, existen numerosas personas que me apoyaron, y muchas veces reemplazaron, en mis labores de mamá. Sin ellas no habría tenido la tranquilidad necesaria para dedicarme a mi trabajo, gracias Mamá, Cristina, Cecilia, Angélica, León, Angelina y Miriam. Igualmente deseo agradecer el apoyo en terreno de Juan Gutiérrez y Sara

Marchant, de Fernando y Shendy Bravo y de Don Aniceto Bravo, por su gran hospitalidad y animada charla.

Agradezco a los miembros de mi comisión de tesis por la revisión crítica del trabajo, estoy segura que sus comentarios y sugerencias enriquecieron este trabajo. A Carlos Martínez del Río, por su estímulo a mi carrera y atinados comentarios de esta tesis.

Esta tesis fue financiada por el Proyecto FONDECYT 2970002 de doctorado, las becas de tesis del departamento de Postgrado y Postítulo PG-014-96 y PG-035-97 del departamento de Postgrado y Postítulo de la Universidad de Chile.

INDICE DE MATERIAS

Lista de Tablas.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Lista de Abreviaturas.....	xiv
Resumen.....	xv
Summary.....	xvii
INTRODUCCION.....	1
Presupuesto de energía: factores limitantes.....	3
Limitación central.....	4
Limitación periférica.....	5
Modelos de estudio.....	7
OBJETIVO GENERAL.....	10
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	10
HIPOTESIS.....	11
MATERIALES Y METODOS.....	14
Captura y mantención de animales.....	14
Caracterización y preferencias dietarias.....	15
Respuesta por cambio térmico y alimenticio agudo.....	18
<i>Sephanoides sephaniodes</i>	18

<i>Phytotoma rara</i>	20
Respuesta por cambio térmico y alimenticio crónico.....	21
Ingesta.....	21
Digestibilidad.....	22
Tiempo medio de retención.....	23
Presupuesto de tiempo.....	25
Balance energético.....	25
Cambios morfológicos.....	27
Análisis estadístico.....	28
RESULTADOS.....	30
CARACTERIZACIÓN Y PREFERENCIAS DIETARIAS.....	30
<i>Sephanoides sephaniodes</i>	30
<i>Phytotoma rara</i>	33
RESPUESTA AGUDA FRENTE A VARIACIONES EN TEMPERATURA AMBIENTE Y CALIDAD DEL ALIMENTO.....	39
<i>Sephanoides sephaniodes</i>	39
<i>Phytotoma rara</i>	45
RESPUESTA CRONICA FRENTE A VARIACIONES EN TEMPERATURA AMBIENTE Y CALIDAD DEL ALIMENTO.....	51
<i>Sephanoides sephaniodes</i>	51
Balance de peso.....	51
Tasa de ingesta y función digestiva.....	52

Cambios morfológicos.....	57
Tasa metabólica basal.....	60
Gasto diario y balance energético.....	60
Sopor nocturno.....	65
Presupuesto de tiempo.....	66
Relación entre ingesta, gasto y morfología.....	69
<i>Phytotoma rara</i>	70
Balance de peso.....	70
Tasa de ingesta y función digestiva.....	72
Cambios morfológicos.....	77
Tasa metabólica basal.....	80
Gasto diario y balance energético.....	80
Presupuesto de tiempo.....	85
Relación entre ingesta, gasto y morfología.....	88
DISCUSION.....	89
RESPUESTA FRENTE A VARIACIONES AGUDAS DE TEMPERATURA Y DIETA DE ACLIMATAACION.....	89
<i>Sephanoides sephaniodes</i>	90
<i>Phytotoma rara</i>	94
RESPUESTA FRENTE A VARIACIONES AGUDAS DE TEMPERATURA Y DIETA DE ACLIMATAACION.....	97
<i>Sephanoides sephaniodes</i>	97
<i>Phytotoma rara</i>	110

LIMITACION CENTRAL O PERIFÉRICA EN EL BALANCE DE ENERGÍA:	
TIEMPO DE EXPOSICIÓN Y MODELOS DE ESTUDIO.....	118
Tiempo de exposición y mecanismos restrictivos.....	118
Estrategias energéticas, balance y flujo de energía.....	127
CONCLUSIONES.....	134
BIBLIOGRAFIA.....	137

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.- Composición nutricional y energética de las dietas experimentales de <i>Phytotoma rara</i>	18
Tabla 2. Composición nutricional y energética de los alimentos ofrecidos en las pruebas de preferencia.....	38
Tabla 3. Variación del peso corporal en <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos agudos	53
Tabla 4. Variación en tasa de ingesta de alimento y función digestiva en <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	55
Tabla 5. Cambios morfométricos de <i>Sephanoides sephaniodes</i> durante exposición crónica a diferentes condiciones térmicas y tróficas.....	59
Tabla 6. Variación en peso corporal en <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos crónicos.	71
Tabla 7. Variación en tasa de ingesta de alimento y función digestiva en <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	75
Tabla 8. Cambios morfométricos de <i>Phytotoma rara</i> como resultado de la exposición crónica a diferentes condiciones térmicas y tróficas.....	79

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.- Razón de preferencia de *Sephanoides sephaniodes* por diferentes concentraciones de sacarosa..... 31
- Figura 2.- Presencia de los diferentes items tróficos en las fecas de *Phytotoma rara* agrupadas por estaciones..... 34
- Figura 3.- Pruebas de preferencia de *Phytotoma rara* con diferentes items alimenticios 35
- Figura 4.- Ingesta diaria expresada como a) volumen y b) energía de *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos agudos y con ambas dietas..... 39
- Figura 5.- Variación peso corporal (peso final – inicial) de *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos agudos..... 41
- Figura 6.- Ganancia diurna de peso (g) de *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos agudos. 42
- Figura 7. Duración del sopor nocturno en *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos agudos. 43
- Figura 8.- Cuociente energético (A_e/G_r) en *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos agudos térmicos y dietarios..... 44
- Figura 9.- Ingesta diaria de *Phytotoma rara* expresada como a) Materia seca (g/g día) y b) Energía (kJ / g día) en los diferentes tratamientos agudos..... 46

Figura 10.- Variación peso corporal (peso final – inicial) en <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos agudos.....	47
Figura 11.- Digestibilidad de materia (a) y energía (b) de <i>P. rara</i> en los diferentes tratamientos agudos.....	48
Figura 12.- Materia y energía asimilada por <i>P. rara</i> en los diferentes tratamientos.....	49
Figura 13.- a) Cuociente energético (A_e / G_r) y b) Relación entre C_e y variación del peso corporal (g) de <i>P. rara</i> en los diferentes tratamientos agudos térmicos y dietarios.....	51
Figura 14.- Variación del peso corporal de <i>S. sephaniodes</i> en los diferentes grupos experimentales y durante el periodo de aclimatación crónica.....	52
Figura 15.- Cambios en la tasa de ingesta de <i>S. sephaniodes</i> en los grupos experimentales durante el periodo de aclimatación crónica.....	56
Figura 16.- Índice de tiempo de procesamiento (PTI) de <i>S. sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	57
Figura 17.- Variación de la Tasa Metabólica Basal (TMB) en <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos.	60
Figura 18.- Curso diario de gasto energético en <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los cuatro tratamientos crónicos.....	61
Figura 19.- Gasto energético diario de <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos. El gasto diario se presenta dividido en gasto diurno y nocturno.	52

Figura 20.- Gasto mínimo nocturno de <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	63
Figura 21.- Balance de energía en <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos: a) Razón de proporción entre energía asimilada y gastada (A/DEE), y b) Saldo de energía y variación del peso corporal.....	64
Figura 22.- Proporción del gasto diario de energía (DEE) invertido en termoregulación por <i>S. sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	65
Figura 23.- Presencia y duración del sopor para <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	66
Figura 24.- Actividades de forrajeo de <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	67
Figura 25.- Presupuesto de tiempo de <i>Sephanoides sephaniodes</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	68
..	
Figura 26.- Variación del peso corporal de <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes grupos experimentales crónicos y durante el periodo de aclimatación.....	72
Figura 27.- Cambios en la tasa de ingesta de materia húmeda por <i>Phytotoma rara</i> en los grupos experimentales durante el período de aclimatación.....	73
Figura 28.- Tiempo medio de Retención (TRM) de <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	76
Figura 29.- Variación de la Tasa Metabólica Basal (TMB) de <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos.....	80

Figura 30.- Gasto energético diario (DEE) de <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	81
Figura 31.- Gasto energético diurno y nocturno de <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	82
Figura 32.- Gasto mínimo nocturno de <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	83
Figura 33.- Balance de energía en <i>P. rara</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	84
Figura 34.- Proporción del gasto de energía diario invertido en termoregulación por <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos crónicos.....	85
Figura 35. Variación del tiempo invertido en alimentación en <i>Phytotoma rara</i> en los diferentes tratamientos.....	86
Figura 36.- Actividades de forrajeo en los diferentes tratamientos crónicos en <i>Phytotoma rara</i>	87

LISTA DE ABREVIATURAS

A_e	: Energía asimilada
A_{id}	: Área del intestino delgado
A_{max}	: Energía asimilada máxima
AMC	: Coeficiente de materia asimilada
C_e	: Cuociente energético
D_m	: Digestibilidad de materia
D_e	: Digestibilidad de energía
TMB	: Tasa metabólica basal
DEE	: Gasto energético diario
G_r	: Gasto termorregulatorio en reposo
PTI	: Índice de tiempo de procesamiento gástrico
SusMR	: Tasa metabólica diaria sostenida
TRM	: Tiempo de retención medio del alimento
W_b	: Peso corporal
W_{id}	: Peso intestino delgado
W_{co}	: Peso corazón
W_{pu}	: Peso pulmón
W_{ri}	: Peso riñón
W_{hi}	: Peso hígado
W_{gr}	: Peso grasa corporal
W_{mm}	: Peso masa magra
W_c	: Peso carcasa

RESUMEN

La mantención del balance entre adquisición y gasto de energía es crítico para la sobrevivencia y éxito reproductivo de los organismos. Este balance depende de la interacción entre adquisición de materia y energía, su procesamiento y gasto metabólico. Tanto las restricciones de diseño del sistema digestivo como del tipo de alimento ingerido podrían afectar la cantidad de energía que los organismos pueden procesar y asignar en el tiempo (hipótesis de limitación central); además las restricciones ambientales y de diseño que actúan sobre los procesos de gasto de energía también podrían limitar el presupuesto de energía (hipótesis de limitación periférica). Ambas alternativas corresponden a las hipótesis que actualmente se sugieren como reguladoras del presupuesto y flujo máximo de energía en los organismos. Por otra parte las características energéticas del organismo afectan el volumen máximo de energía que los organismos pueden procesar en condiciones de altos requerimientos de energía. Organismos con altas capacidades de gasto de energía se caracterizan por presentar estrategias de forrajeo costosas y alta eficiencia en los procesos

En esta tesis examino simultáneamente los factores proximales que limitarían los procesos de adquisición y gasto de energía y cómo diferentes estrategias energéticas y tróficas pueden afectar estos procesos, para lo cual uso como modelos de estudio dos especies de aves que difieren en estas características, i.e. el Picaflor (*Sephanoides*

sephaniodes) y la Rara (*Phytotoma rara*). Estudie tanto el efecto inmediato como a largo plazo de las variaciones en la calidad de la dieta y ambiente térmico sobre tasa de consumo y peso corporal de ambas especies. Además determiné el efecto a largo plazo de las restricciones dietarias y térmicas impuestas, sobre variables conductuales, morfológicas y energéticas de las dos especies.

A corto plazo *S. sephanoides* alcanza rápidamente capacidades máximas de ingesta de energía y presenta restricción periférica asociada al compromiso entre forrajear y termorregular. *P. rara* en cambio, presenta restricción central alcanzando su capacidad máxima de ingesta rápidamente, pero frente a condiciones térmicas y dietarias extremas, presenta ambas restricciones. A largo plazo ambas especies presentan cambios conductuales, morfológicos y energéticos que en *S. sephaniodes* reflejan compromisos tanto en los procesos de adquisición como de gasto de energía, observándose en ésta especie una alta plasticidad en el manejo diario del balance energético. *P. rara* en cambio, presenta cambios conductuales y morfológicos solo en variables digestivas frente al aumento de los requerimientos térmicos, presentando mayor plasticidad en la capacidad de adquirir y procesar energía y nutrientes, que al nivel de gastos energéticos donde solo modifica su capacidad de aislación.

Estos resultados permiten concluir que, independiente del tiempo de aclimatación, no existe un mecanismo regulador único, pudiendo presentarse restricciones en una o ambas vías energéticas, simultanea o secuencialmente. A corto plazo, el nivel de reservas energéticas y la calidad energética del alimento serían factores

determinantes en la expresión de estas restricciones. A largo plazo, cada especie responde diferencialmente de acuerdo a sus características energéticas y de diseño, pero en general presentan respuestas globales que involucran cambios sincrónicos conductuales, morfológicos y funcionales que comprometen ambas vías de flujo de energía.

ABSTRACT

Balance between energy acquisition and expense is critical for the survival and reproductive success of the organisms. This balance depends on the interaction among matter and energy acquisition, its processing and metabolic expense. Both, the restrictions of design of the digestive system as well as the type of ingested food could affect the quantity of energy that the organisms can process and assign through time (hypothesis of central limitation). In addition, both environmental and animal design restrictions act on the processes of energy expense, and they could limit the energy budget (hypothesis of peripheral limitation). Both alternatives correspond to the hypotheses that actually are suggested as regulators of the budget and maximum flow of energy in the organisms.

In this thesis, I examined simultaneously the proximal factors that would limit both energy acquisition and expense processes. Moreover, considering that different trophic and energetic strategies can affect these processes, I used as models of study two

species of birds that differ in these characteristics, i.e. the small Chilean fire-crown hummingbird (*Sephanoides sephaniodes*), and the rufous tailed plant-cutter (*Phytotoma rara*). I studied immediate and chronic effects of the variations in the diet quality and thermal conditions on food consumption and body weight of both species. I also registered the long term effects of the dietary and thermal restrictions upon behavioral, morphological and functional variables of both species.

On a short term, *S. sephaniodes* reaches maximum capacities of energy intake rapidly and presents peripheral restriction as a compromise between foraging and termorregulation. On the other hand, *P. rara* presents central restriction, reaching its maximum capacity of ingesta quickly, but under extreme thermal conditions and poor diet, presents both restrictions. In the long term, both species present behavioral, morphological and functional changes. These changes in *S. sephaniodes* reflect compromises in the processes of both energy acquisition and expense. These birds present a high plasticity in the daily handling of the energetic balance. On the other hand, *P. rara* presents behavioral and morphological changes only in digestive variables, brought about by an increase of thermal requirements. Raras also present greater plasticity in the capacity of acquiring and processing energy and nutrients than in their capacity of spending energy. At this level, *P. rara* only modifies its capacity of insulation.

These results allow me to conclude that, irrespective of the time of acclimatization, there is no unique regulatory mechanism. Restrictions in one or both

energetic pathways are observed simultaneously or sequentially. In a short term, the level of energy storage and the energy quality of the food would be decisive factors in the expression of these restrictions. On the long term, each species responds differently according to its energy characteristics and design. Nevertheless, in general both species present global answers comprising synchronous behavioral, morphological and functional changes that involve both pathways of energy flow.

INTRODUCCION

La mantención del balance entre la adquisición y gasto de energía es crítico para la sobrevivencia y éxito reproductivo de los organismos. Este balance depende de la interacción entre los procesos de adquisición de materia y energía, su procesamiento digestivo y el gasto metabólico (Karasov 1986, Weiner 1992). Al visualizar a los organismos como sistemas transformadores y abiertos al flujo de materia y energía (Wiegert 1968, Townsend & Calow 1981), está implícito el supuesto que la eficiencia de los procesos de adquisición, asignación y gasto de energía presentan límites (Karasov 1986, Weiner 1992).

Numerosos trabajos señalan que bajo condiciones de altos requerimientos de energía que se prolongan en el tiempo (Karasov 1986, Weiner 1992), se observa que los organismos tienen un límite máximo de gasto de energía (Drent & Daan 1980, Karasov 1986, Peterson *et al.* 1990, Bryant & Tatner 1991). Esta tasa metabólica máxima sostenible (SusMR) es importante en términos ecológicos y evolutivos, pues determina tanto los límites de tolerancia al frío y la distribución de las especies (Root 1988); así como la capacidad de gasto durante el período reproductivo, afectando caracteres de historia de vida de los individuos, como por ejemplo el tamaño óptimo de la camada (Drent & Daan 1980).

El volumen máximo de flujo de energía en los organismos esta definido entonces, por la relación que existe entre los gastos mínimos de mantención de un organismo o tasa metabólica basal (TMB), y la tasa metabólica máxima sostenible, SusMR (Peterson *et al.* 1990, Bryant & Tatner 1991). Peterson *et al.* (1990) propone que SusMR se relaciona con TMB en una función del tipo costo/beneficio. Se postula que una mayor capacidad de gasto energético implicará un aumento en la capacidad reproductiva (véase Williams 1966), pero determinará también un aumento en los gastos de mantención. Esto dado por el incremento del tejido biosintético (véase Bennet & Ruben 1978). Numerosos antecedentes apoyan esta propuesta. Así, se ha descrito una relación positiva entre hábitos alimenticios y gasto energético, donde aves con estrategias de forrajeo costosas presentan altas TMB y gastos energéticos diarios (DEE) (McNab 1988, Bryant & Tatner 1991). También, especies que presentan altos DEE en condiciones extremas (SusMR), presentan también TMB más altas (Daan *et al.* 1990, Bryant & Tatner 1991).

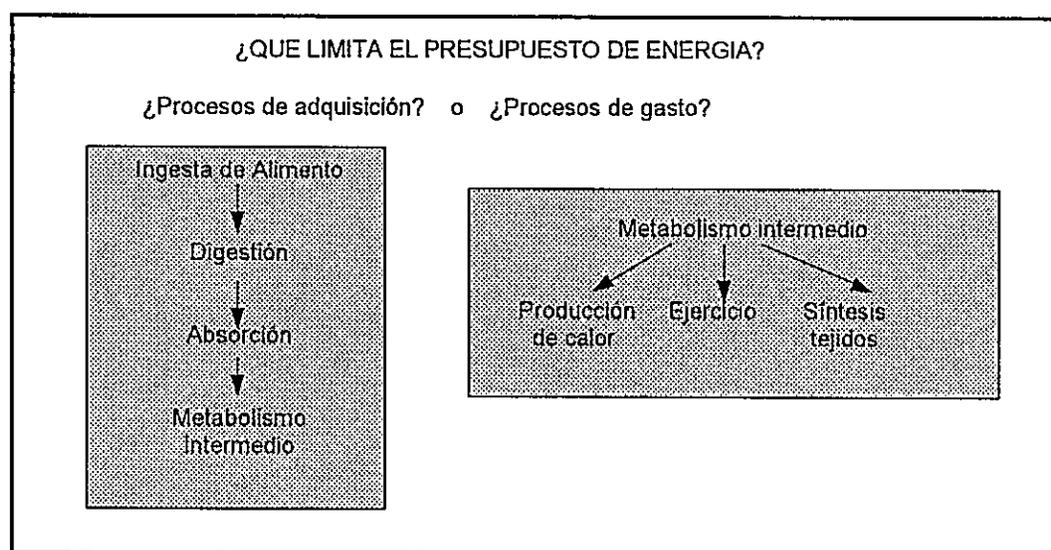
Los vertebrados endotermos, se caracterizan por poseer altas tasas metabólicas, pero también alta variabilidad en la capacidad de gasto (Walsberg 1978). Szarski (1983) sugiere que existe un gradiente de estrategias energéticas donde el volumen de flujo de energía difiere, y que ambos extremos de este gradiente son igualmente ventajosos en términos de adecuación biológica. Formalizando estas ideas, Gnaiger (1987) propone que existen estrategias de uso de energía diferentes que resultan en capacidad de gasto máximo diferencial. Según esto, organismos con estrategia de poder (PS) tendrán mayor capacidad aeróbica y tasa metabólica basal (TMB) más alta asociadas a una capacidad

biosintética mayor. En cambio, según el mismo autor, especies con estrategia económica o frugal (FS, "frugal strategy, *sensu* Szarski 1983) presentarán TMB y capacidad aeróbica más reducidas asociadas a una capacidad biosintética menor. Estas diferencias interespecíficas en el volumen de flujo de energía afectarían diferencialmente la regulación del presupuesto de energía.

Presupuesto de energía: factores reguladores

Para explicar la regulación y límites al presupuesto de energía se han propuesto dos hipótesis alternativas (Peterson *et al.* 1990, Weiner 1992) y que son (véase esquema):

- (i) mecanismo de limitación central (o procesos de adquisición): que postula restricciones en la capacidad de ingestión, digestión y absorción de energía y materia (Sibly 1981, Kirkwood 1983, Peterson *et al.* 1990) y,
- (ii) mecanismo de limitación periférica (o procesos de gasto): que postula restricciones asociadas a la asignación de energía, a los eventos productivos como son los gastos metabólicos de mantención y trabajo (Karasov 1986, Weiner 1992).



Kirkwood (1983), trabajando con aves y mamíferos, propuso que la mantención de un balance energético positivo, en situaciones de altos gastos energéticos, esta limitada por la tasa de ingesta de energía metabolizable (limitación central). Así, la capacidad máxima de ingesta fluctuaría entre 3 a 6 veces la tasa metabólica basal (TMB). Por otra parte, Dreen y Daan (1980) estudiando diversas aves en el período reproductivo, encontraron que la capacidad de gasto no supera a cuatro veces la TMB, limitando el volumen de flujo de energía (limitación periférica). Estos trabajos generaron un creciente interés por explicar cual o cuales factores determinan los límites del flujo de energía en los animales.

Mecanismos de limitación central

La hipótesis de limitación central del presupuesto de energía propone que el proceso de digestión es relevante al restringir la adquisición de la energía metabolizable y entonces las tasas de crecimiento y reproducción (West 1968, Karasov 1990); con implicaciones en la adecuación biológica de los organismos (Pyke 1984, Brown *et al.* 1993). En este contexto, Sibly (1981) propuso que la estrategia de digestión óptima será aquella que maximice la tasa neta de adquisición de energía y nutrientes considerando las características del alimento y del organismo. En esta área Penry y Jumards (1986, 1987) utilizando teoría de reactores químicos, modelaron la dinámica de procesamiento del alimento en el tracto digestivo. Ellos analizan cómo diferentes diseños de sistema

digestivo maximizarían la adquisición de energía y el efecto de las fluctuaciones de la calidad y/o cantidad de alimento ingerido sobre los procesos digestivos. Estos modelos consideran las restricciones asociadas a la capacidad de reacción y absorción de nutrientes, como también al flujo de materia (véase Hume 1989, Hume & Sakaguchi 1991 para mamíferos, Horn & Messer 1990 para peces y Martínez del Río & Karasov 1990 para aves).

Numerosos trabajos han caracterizado las respuestas inmediatas y a largo plazo frente a variaciones de la calidad del alimento. Estas respuestas incluyen cambios anatómicos en tamaño y superficie de absorción del tracto digestivo, conductuales como aumento de la tasa de ingesta y fisiológicos como cambios en el tiempo de tránsito (e.g. Walsberg & Thompson 1990, Brugger 1991, Levey & Duke 1992, Afik & Karasov 1994). En este campo son pocos los trabajos que han estudiado experimentalmente el efecto del aumento de los requerimientos energéticos sobre las capacidades digestivas, destacando el trabajo de Dykstra & Karasov (1992), que describe un aumento en la eficiencia de digestión asociado a un mayor tiempo de retención del alimento en el intestino delgado en respuesta a incrementos crónicos de los requerimientos de termorregulación.

Mecanismos de limitación periférica

Considerando que todos los procesos fisiológicos que tienen efecto positivo sobre la adecuación biológica requieren energía, y que esta proviene del catabolismo controlado de los recursos alimenticios y/o reservas del organismo (Sibly & Calow 1986); la

alternativa de limitación periférica postula que la mantención de un balance energético positivo, en condiciones de gasto máximo, dependerá finalmente de la eficiencia y velocidad a que se realice el proceso de conversión de energía en trabajo (Else & Hubert 1985, Hind *et al.* 1992), donde el límite máximo de gasto estaría definido por la capacidad tisular de generar trabajo biológico (Else & Hulbert 1985, Hinds *et al.* 1993).

Dado que el proceso de conversión de energía en trabajo se realiza a través de la hidrólisis de ATP a nivel mitocondrial (Lehninger 1975), se espera que aquellos organismos que presentan mayor capacidad de gastos presenten mayor cantidad de tejido biosintético. Diversos estudios apoyan esta propuesta, al encontrar que especies caracterizadas por altos gastos de mantención presentan mayor superficie mitocondrial total (Else & Hulbert 1985) y mayor desarrollo de tejido biosintético como hígado, corazón, riñón y masa muscular (Kleiber 1961, Daan *et al.* 1990, McNab 1994). Estas variaciones también se observan intraespecíficamente, donde individuos sometidos experimentalmente a altos requerimientos energéticos muestran un aumento en el tamaño de órganos ricos en mitocondrias (Konarzewski & Diamond 1994).

Hasta la fecha, trabajos de campo y experimentales confirmaban una limitación digestiva frente a variaciones en: calidad energética del alimento (Kenward & Sibly 1977, Karasov *et al.* 1986), ambiente térmico (Dykstra & Karasov 1992) y gastos reproductivos (Drent & Daan 1980). Sin embargo, antecedentes recientes en mamíferos han renovado esta discusión, al encontrar que individuos sometidos a altos

requerimientos energéticos presentan tasas metabólicas sostenidas (SusMR) limitadas por la capacidad de producir trabajo (Koteja 1995, Konarzewski & Diamond 1994, Koteja *et al.* 1994, McDevitt & Speakman 1994a, 1994b, Hammond *et al.* 1994), señalando además que el mecanismo restrictivo estaría relacionado con el estilo de vida de las especies (Koteja 1995).

Hasta donde conozco no existen trabajos que al estudiar los factores que regulan el presupuesto de energía consideren simultáneamente el rol y variabilidad de las supuestas limitaciones (centrales *vs.* periférica), como tampoco el efecto de ambas estrategias energéticas (poder *vs.* frugal) sobre la respuesta observada. En este sentido, las propuestas de limitación central *vs.* periférica han sido abordadas en forma dicotómica y parcial.

Modelos de estudio

Las aves son uno de los grupos de vertebrados más diversos (Sibley & Ahlquist 1990), caracterizados por su gran variación en rangos de tamaños, estrategias de vida, distribución y hábitos tróficos (del Hoyo *et al.* 1992). Este grupo presenta TMB peso específico más alta que otros grupos animales (Kleiber 1961), probablemente por los altos costos de mantención de la endotermia (Benett & Ruben 1978, Nagy 1987) y adaptación al vuelo (véase McNab 1994).

Entre las aves, los picaflones (Apodiformes) están entre los vertebrados endotermos más pequeños, con las tasas metabólicas basales peso específicas más altas (Krüger *et al.*

1982), una estrategia de forrajeo del tipo vuelo sostenido altamente costosa (Walsberg 1978, Wolf & Hainsworth 1983, MacNab 1988). Presentando también, baja capacidad de reserva de energía (Calder 1973). Frente a este compromiso energético los picaflones maximizan diversas funciones (Karasov *et al.* 1986), tales como una eficiencia de asimilación de néctar cercana al 100% (Karasov 1990), cortos tiempos de procesamiento digestivo (Martínez del Río 1992) y una marcada preferencia por néctar con altas concentraciones de azúcar (Wolf & Hainsworth 1983). Otra estrategia presente en picaflones es el uso del sopor como mecanismo de ahorro de energía (Carpenter 1974). Krüger y colaboradores (1982) determinaron que el ahorro energético de estas aves durante el sopor nocturno es cercano al 85%, utilizándolo aún en ambientes con suficiente alimento y temperaturas altas (Hiebert 1991). *Sephanoides sephaniodes* o Picaflor (masa corporal: 5,7 g \pm 0,5) presenta las características antes descritas, además de alta capacidad aeróbica (López-Calleja & Bozinovic 1995), preferencia por néctar con alta concentración de azúcar y eficiencia de asimilación de un 97% (López-Calleja *et al.* 1997). En consecuencia el Picaflor se ajusta al modelo de estrategia de poder (*sensu* Gnaiger 1987).

Por otra parte, en aves la conducta herbívora es extremadamente poco común (Grajal 1991). Este patrón ha sido explicado por el bajo valor energético y la reducida digestibilidad del alimento de origen vegetal (Karasov 1990), como también por limitaciones energéticas y digestivas, asociadas al vuelo (Sibly 1981) y al consumo de dietas voluminosas y pobres (Karasov 1990) respectivamente. Existen antecedentes de pequeños mamíferos que rompen estas limitaciones alométricas (véase Foley & Cork

1992), pero no existe información para aves menores de 100 g (Buchsbaum *et al.* 1986, Gragal *et al.* 1989). *Phytotoma rara* o Rara (masa corporal: 45 ± 5 g), es una de las aves herbívoras más pequeñas descritas hasta la fecha (Goodall *et al.* 1956, Gragal 1991). Ziswiler & Farner (1972) describen a la Rara como herbívora, y señalan que el pico aserrado le permitiría romper la pared vegetal facilitando la digestión. Estructuralmente el sistema digestivo es similar al de un ave frugívora, con un intestino delgado corto, y ciegos pequeños (Girod com. pers.). Sin embargo, pruebas preliminares realizadas en nuestro laboratorio, indican una alta preferencia por alimento de origen vegetal y una baja eficiencia digestiva (López-Calleja & Bozinovic, en prensa), además de una estrategia de forrajeo poco costosa, ramoneando pastos y hierbas por largos períodos, volando solo al verse amenazada (López-Calleja obs. pers). Estos antecedentes indicarían un flujo de energía reducido, característica típica del modelo de estrategia frugal (Gnaiger 1987).

Considerando las características dietarias y los requerimientos energéticos de ambas especies asociados al tamaño corporal y al modo de forrajeo, he considerado a estas especies buenos modelos para este estudio. En este proyecto tanto *S. sephaniodes* como *P. rara* son visualizadas como organismos con distintos diseños que representan a sistemas procesadores/transformadores de materia y energía con diferentes estrategias y limitaciones asociadas a los procesos de obtención y gasto de energía.

OBJETIVO GENERAL

Considerando la información recién expuesta, el objetivo central de esta tesis es estudiar experimentalmente como operan temporalmente los mecanismos de limitación central y periférica en condiciones de flujo máximo de energía, en función tanto de las características de diseño de dos especies de aves que representan a sistemas procesadores/transformadores de materia y energía diferentes, así como de las condiciones del ambiente representadas por variaciones bióticas (alimento) y abióticas (temperatura) diferentes. Se pretende determinar si estos mecanismos operan alternadamente y en forma excluyente o simultáneamente y se complementan.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Los objetivos específicos de este proyecto, son los siguientes:

- 1.- Caracterizar las respuestas conductuales, morfológicas y fisiológicas de dos especies caracterizadas *a priori* por conductas energéticas contrastantes como el Picaflor *Sephanoides sephanoides* (estrategia de poder) y la Rara *Phytotoma rara* (estrategia frugal), frente a aumentos experimentales de los requerimientos energéticos y dietarios. A nivel conductual se determinarán las variaciones en la estrategia de forrajeo, al nivel morfológico, el tamaño de diversos órganos asociados al sistema digestivo, renal, circulatorio y respiratorio, además de masa muscular, plumaje cobertor y grasa corporal. Finalmente a nivel fisiológico se caracterizarán respuestas energéticas y digestivas.

- 2.- Determinar para las dos especies, si el factor limitante en la mantención del presupuesto energético varía según la duración del efecto restrictivo comparando las respuestas experimentales agudas y crónicas. Esto se realizará determinando tanto la ingesta diaria de materia y energía como las variaciones en peso corporal.

- 3.- Estudiar si la recurrencia o importancia relativa de los mecanismos central y periférico es dependiente de las condiciones extrínsecas (bióticas y abióticas) que restringen el presupuesto de energía y/o de las características de diseño de los organismos. Esto se evaluará a través de variaciones experimentales en las condiciones bióticas (alimento) y abióticas (temperatura ambiente), como en el tiempo de exposición a estos cambios (cambios agudos o crónicos).

HIPOTESIS

Con relación a los mecanismos que operan en la regulación del balance de energía:

- 1.- Sólo uno de los mecanismos propuestos actualmente (central o periférico) es prioritario en cada una de las especies estudiadas, y restrictivo del presupuesto energético.

- 2.- Los mecanismos centrales y periféricos son complementarios y actúan simultáneamente regulando el presupuesto de energía.

3.- En condiciones de altos flujos de energía, el modelo energético animal afecta la concurrencia e importancia relativa de los mecanismos regulatorios del balance de energía, los que además cambian en función de las limitaciones ambientales bióticas y abióticas.

PREDICCIONES

1.- Balance energético y factores limitantes:

Si la limitación central es más importante que la periférica, se espera que frente al consumo obligado de alimentos de bajo valor energético y/o aumentos de los gastos de termorregulación, los organismos aumenten la ingesta progresivamente y alcancen una tasa de ingesta máxima, pero pierdan peso corporal debido a un desbalance energético. En cambio, si el gasto máximo está limitado por la capacidad de generar trabajo, los individuos aumentarán la tasa de ingesta proporcional al aumento de los requerimientos energéticos y aunque no muestren evidencias de haber alcanzado un nivel máximo de ingesta (estabilizada) no podrán mantener un balance positivo y perderán peso.

Por otra parte, si ambos mecanismos restrictivos son complementarios se espera que los individuos de ambas especies presenten cambios simultáneos conductuales, morfológicos y/o fisiológicos en variables asociadas al aumento en la ingestión y eficiencia en el procesamiento del alimento y gastos de energía orientados a balancear positivamente el presupuesto de energía.

2.- Estrategias energéticas:

Finalmente, y con relación a las respuestas de las especies en estudio, se espera que individuos con altos requerimientos energéticos y gran capacidad aeróbica como *S. sephaniodes* (estrategia de poder) y baja reserva de energía, presenten limitación central, ya que su capacidad digestiva estará cercana a sus límites máximos respecto a su capacidad de producir energía. Por otra parte, individuos con bajos requerimientos energéticos y baja capacidad aeróbica como *P. rara* (estrategia frugal) presentarían limitación periférica, dado que la capacidad de producir trabajo será limitada respecto a la capacidad de asimilar energía.

MATERIALES Y METODOS

Las especies utilizadas como modelos experimentales son *Sephanoides sephaniodes* (Apodiforme: Trochilidae) y *Phytotoma rara* (Passeriforme: Phytotomidae). Para la realización de este trabajo se utilizaron machos adultos de *S. sephaniodes* (Picaflor), considerando las diferencias morfométricas entre sexos (Egli 1997). Se capturaron un total de 72 picaflores para realizar todos los experimentos (W_b promedio \pm DE = $5,76 \pm 0,46$ g). En el caso de *P. rara* (Rara), se utilizaron individuos de ambos sexos dado que no presentan diferencias morfométricas significativas, se capturaron un total de 45 individuos (peso corporal [W_b] promedio \pm DE = $45,76 \pm 0,46$ g). Para poder realizar todos los experimentos se trabajó durante 1996-1997 con el Picaflor y durante 1997-1998 con la Rara, realizando en ambas especies los experimentos agudos y crónicos, que se detallan más abajo, en período no reproductivo.

Captura y mantención de animales:

Ambas especies se capturaron utilizando redes de niebla, *S. sephaniodes* durante el período otoño-invierno en la localidad "Fundo El Pangué" ($70^{\circ}50'W$, $33^{\circ}31'S$), Curacaví, V Región. y *P. rara* durante verano, otoño e invierno en la localidad de Lipimávida, 130 Km al poniente de Curicó, VII región.

En laboratorio los individuos de ambas especies se mantuvieron en un aviario con temperatura ambiente (T_a) de 25 °C y fotoperíodo L:D = 12:12. Se mantuvieron con alimento (véase más abajo) y agua *ad libitum*. Previo al inicio de los experimentos se trasladaban a jaulas experimentales individuales (30 x 30 x 30 cm para *S. sephaniodes* y 50 x 40 x 40 cm para *P. rara*), ubicadas en una sala experimental acondicionada con fotoperíodo y temperatura regulada.

1.- CARACTERIZACIÓN Y PREFERENCIA DIETARIA:

Con el fin de preparar las dietas experimentales basados en las preferencias tróficas se realizó:

1.1. - Caracterización dietaria:

Sephanoides sephaniodes: Se determinó la concentración de azúcar (porcentaje peso/peso), en néctar de las plantas más utilizadas en el área de estudio (Fundo El Pangue) utilizando un refractómetro (Lyca 7531L). La selección de flores y manipulación previa se ajustó a la metodología utilizada por Smith-Ramirez (1990). Los valores de concentración de azúcar se transformaron a concentración Molar según Bolten et al (1979). Esta información se complementó con diversos antecedentes bibliográficos sobre concentraciones de néctar de las flores utilizadas por esta especie en diferentes localidades de su área de distribución.

Phytotoma rara: Mediante observaciones de terreno y colecta de fecas se caracterizó estacionalmente la dieta de esta especie. Se colectaron muestras de los recursos más utilizados, analizando químicamente su composición, principalmente agua, proteína, fibra, carbohidratos y ceniza (AOAC 1980).

1.2. - Preferencia trófica:

Estos experimentos se realizaron inmediatamente luego de la captura y aclimatación al laboratorio (dos días) de los animales. Para ambas especies se realizaron series experimentales de 4 horas de duración, siempre durante la mañana (0900-1300). En estas series las aves fueron asignadas al azar para evitar el efecto de la serie sobre el consumo de alimento, ofreciendo una cantidad conocida de dos tipos de alimentos. Los comederos se ubicaron en la pared contraria a la única percha de la jaula, a una distancia equidistante de esta y separados unos 10 cm entre ellos. La posición de cada comedero fue cambiada al azar entre individuos. El consumo de alimento fue medido volumétricamente ($\pm 0,2$ ml) para los picaflores y gravimétricamente ($\pm 0,1$ g) para las raras. Se estimaron las pérdidas producidas por evaporación utilizando comederos blancos ubicados en jaulas vacías, determinando la variación en volumen o peso con igual precisión. En el caso del Picaflor se determinó preferencia por alimentos con concentraciones de sacarosa de: 0,25; 0,50; 0,75; 1,0 y 1,25 M. En el caso de *P. rara* se determinó preferencia por larvas, frutas, vegetales y dietas experimentales (preparadas artificialmente).

Utilizando la información de terreno y laboratorio sobre preferencias tróficas se diseñaron las dietas experimentales para ambas especies. En el caso de *S. sephaniodes* se prepararon dos dietas contrastantes, regulando la proporción de sacarosa y manteniendo constante la oferta de proteínas (Vimiprolin -L[®], 0,3g/50ml de solución). Los minerales y vitaminas se incorporaron según las recomendaciones para dietas artificiales de picaflores (Brice et al. 1988). Se utilizó como Dieta Rica (DR) una concentración de sacarosa 0,75 M (256,73 g sacarosa a 1lt H₂O) con un valor energético total de 4,29 kJ/ml. Como dieta pobre (DP) se utilizó una concentración de sacarosa 0,50 M (171,15 g sacarosa a 1 lt H₂O) con un valor energético total de 2,86 kJ/ml.

En el caso de *P. rara* se prepararon dos dietas contrastantes en concentraciones de nutrientes (proteína), material refractario (e.g. fibra cruda y cenizas) y energía (Tabla 1), pero homogéneas en textura y con similar contenido hídrico considerando que estos factores afectan los procesos de digestión en esta especie (López-Calleja & Bozinovic 1998). Se utilizó como base para la preparación la dieta artificial diseñada para aves frugívoras (Denslow et al. 1987), modificando la proporción de proteína de soya (PRO FAM 974 Fort ®), fibra (base alfalfa natural) y carbohidratos (base plátano) (Tabla 1).

Tabla 1: Composición nutricional y energética de las dietas experimentales de *Phytotoma rara*. Los valores (*) están expresados al 100% de materia seca.

	DIETA RICA	DIETA POBRE
Humedad (%)	88,9	89,3
Materia seca (%)	11,1	10,7
Fibra cruda*	5,6	12,3
Proteína*	26,5	19,7
Carbohidratos*	58,4	57,5
Lípidos*	3	2,8
Cenizas*	6,5	7,7
Valor energético (kJ/g)	19,17	18,04

El análisis químico proximal fue realizado en el Laboratorio de Servicios de Análisis, Departamento de Zootecnia, Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile.

2.- CARACTERIZACION DEL BALANCE ENERGÉTICO: TIEMPO DE ACLIMATACION Y MODELOS DE ESTUDIO.

Con el fin de evaluar la respuesta inmediata y a largo plazo frente a cambios térmicos y alimenticios en ambas especies, se realizaron los siguientes experimentos:

2.1.- RESPUESTA POR CAMBIO TÉRMICO Y ALIMENTICIO AGUDO:

Para determinar si existe limitación central o periférica del presupuesto de energía en situaciones de aumentos bruscos de los requerimientos energéticos y/o disminución en calidad del recurso, se realizó el siguiente diseño experimental:

Sephanoides sephaniodes:

Se formaron ocho grupos en total con seis individuos/grupo. Los grupos consistieron en:

- Grupos Dieta Rica (DR = 0,75 M): a 30 °C (termoneutralidad, DR-30), 15°C (DR-15), 10°C (DR-10) y 5 °C (DR-5) y,

- Grupos Dieta Pobre (DP = 0,50 M): a 30 °C (DP-30), 15 °C (DP-15), 10 °C (DP-10) y 5°C (DP-5) respectivamente.

El protocolo experimental fue: Durante tres días luego de la captura los individuos se mantuvieron en jaulas individuales con alimento 0,65 M, complementado con vitaminas (Brice et al 1989) y suplemento proteico (Vimiprotin-L®, 0,3g/50 ml de solución), además se ofrecieron moscas (*Drosophila melanogaster*) y agua *ad libitum*. La sala de mantención tenía fotoperíodo (L:D = 12:12) y temperatura (30°C) constante. Durante este período de aclimatación se registró el peso corporal, así los individuos eran incorporados a las series experimentales sólo cuando mantenían peso corporal por al menos dos días. Las jaulas experimentales (30x 30x30 cm) contenían una percha, comedero y baño. La percha estaba acondicionadas con dos termocuplas, una medía temperatura corporal (T_b) abdominal cuando el individuo se posaba en la percha y la otra registraba la temperatura ambiental (T_a) de la zona cercana a la percha al estar ubicada a unos 10 cm de la percha y a similar altura que esta. Además, cada jaula contenía un comedero graduado (ml) al cual el ave tenía acceso realizando vuelo sostenido. Los individuos eran cambiados a las condiciones térmicas y tróficas de la serie

correspondiente al amanecer del primer día, registrando masa corporal inicial. Al segundo día se registraba a) masa corporal a inicio y término del ciclo de luz y a la mañana siguiente (0,01 g), b) ingesta diaria de alimento (ml/día), y c) frecuencia de ocurrencia de sopor, midiendo variación nocturna de temperatura superficial corporal según Hiebert (1991).

Phytotoma rara:

En el caso de *P. rara* también se formaron ocho grupos con seis individuos cada uno, y al igual que con *S. sephaniodes*, consistieron en cuatro grupos con Dieta Rica (DR) y a 30°C (termoneutralidad), 15, 10 y 5°C y cuatro grupos con Dieta Pobre (DP) y a T_a de 30, 15, 10 y 5°C respectivamente. Previo al inicio de cada serie experimental los individuos se trasladaban del aviario exterior a jaulas experimentales (50x40x40 cm) ubicadas en la sala de mantención habilitada con fotoperíodo (L:D = 12:12) y temperatura (30°C) constante, registrando su peso corporal y proporcionándoles ambas dietas experimentales y agua *ad libitum*. Los individuos eran incorporados a las series experimentales sólo cuando mantenían peso corporal por dos días ($\pm 0,5$ g). Los individuos fueron cambiados a las condiciones térmicas y tróficas de la serie correspondiente al amanecer del primer día, registrando masa corporal inicial. Al segundo día se registró a) masa corporal al inicio y termino del ciclo de luz y a la mañana siguiente (0,01 g), e ingesta diaria de alimento (g/día).

2.2.- RESPUESTA FRENTE A CAMBIO TÉRMICO Y ALIMENTICIO CRÓNICO:

Con el propósito de determinar los efectos que las variaciones en los gastos termorregulatorios y calidad del alimento producen en el proceso de adquisición y gasto de energía simultáneamente, se realizó el siguiente diseño experimental para ambas especies:

Se formaron cuatro grupos experimentales con seis individuos por grupo:

DR-Calor: Grupo Dieta Rica en condiciones de termoneutralidad, 28,5°C (Control),

DP-Calor: Grupo Dieta Pobre en condiciones de termoneutralidad, 28,5°C

DP-Frío: Grupo Dieta Rica en condiciones bajo termoneutralidad, 13,5 °C,

DP-Frío: Grupo Dieta Pobre en condiciones bajo termoneutralidad, 13,5 °C.

Estos individuos se mantuvieron por 15 días bajo estas condiciones, evaluando diariamente: cambio en peso e ingesta de alimento.

Ingesta de alimento:

Se determinó la tasa de ingesta diaria durante el período de aclimatación (ml/día para *S. sephaniodes* y g/día para *P. rara*). Para obtener estos registros, cada mañana se ofrecía alimento fresco previamente medido y en la tarde, luego que se apagaban las luces, se retiraban los comederos y restos de comida para ser nuevamente pesados. Las pérdidas de agua por evaporación del alimento se controlaban utilizando comederos blancos ubicados cerca de las jaulas experimentales.

Al final del período experimental (día 15) y durante 5 días consecutivos, se evaluaron secuencialmente el efecto de los tratamientos en variables conductuales, fisiológicas y morfológicas como: Digestibilidad, tiempo medio de retención, presupuesto de tiempo, balance energético, y cambios morfológicos según las siguientes metodologías:

Digestibilidad:

Luego del período de aclimatación los animales se trasladaron a jaulas metabólicas (igual dimensión que jaulas de experimentales) pero que permiten coleccionar las fecas y restos de comida. Se determinó por gravimetría (0,0001 g) la tasa de ingesta y egesta (g/día) en cada uno de los tratamientos experimentales. En el caso de *S. sephaniodes* las jaulas están acondicionadas con una pieza de plástico continuo que se desplazaba cada hora durante el día, esto permitía coleccionar con microcapilares las fecas (líquidas) producidas. Las fecas producidas durante la noche fueron coleccionadas a la mañana siguiente (véase Martínez del Río 1992). En el caso de *P. rara* las fecas y restos eran coleccionados a la mañana siguiente. Para determinar peso seco, en ambas especies, las fecas fueron secadas por seis días a 60°C. Para estimar la digestibilidad de materia y energía (D_m y D_e) para *S. sephaniodes* y también de fibra (D_f) para *P. rara*, se utilizó siguiente ecuación (Sibly 1981):

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

Donde I = ingesta y E = egesta, medidas en g/día. Para estimar la digestibilidad de energía primeramente se determinó el contenido calórico de las muestras de cada dieta y

fecas mediante una bomba calorimétrica (Parr 1261). En el caso de *S. sephaniodes* solo se realizó digestibilidad de materia, dado que el volumen de fecas producidas fue muy pequeño.

Para expresar la digestibilidad aparente de energía (D_e) se reemplazó el valor en gramos por el contenido calórico de la muestra. En el caso de *P. rara* se realizó también un análisis químico proximal de las fecas en los cuatro tratamientos para determinar el contenido de fibra cruda siguiendo los métodos químicos tradicionales (Van Soest 1982).

Tiempo medio de retención:

Para *S. sephaniodes* se utilizó una estimación indirecta del tiempo medio de retención de la digestión, como es el índice de tiempo de procesamiento (PTI, propuesto por Martínez del Río 1990), donde PTI corresponde al recíproco de la tasa de excreción. Este índice supone que si el volumen de alimento en el tracto digestivo permanece constante durante el tiempo de medición, entonces el recíproco del tiempo de excreción estima el tiempo requerido para procesar un volumen gástrico (Penry & Jumards 1987). Para estimar PTI, los individuos se trasladaban la noche previa a la medición a jaulas experimentales cuyo piso corresponde a una lámina continua de plástico deslizable. Las jaulas estaban instaladas en una repisa que permitía el desplazamiento de la lámina de plástico y además contaba con un vidrio polarizado que no permitía al ave observar los movimientos del investigador. Al inicio del ciclo de luz se proporcionó alimento al ave y no se registró por una hora, considerado tiempo suficiente para llenar el volumen

gástrico en picaflores de este tamaño. Luego de este período se midió (microcapilares) cada 10 min. y por un período de dos horas (12 registros) el volumen de fecas producido.

Para *P. rara* se utilizó el índice Tiempo medio de retención, TMR (Warner 1981):

$$\text{TMR} = \sum m_y t_y / \sum m_y,$$

Donde m_y es la cantidad de marcas excretadas en la *ith* defecación al tiempo *t* luego de administrada la dosis. Se utilizaron 200 marcas plásticas de 0,5 mm² (gravedad específica = 1,01; Grajal et al. 1989), estas se homogeneizaron con cada dieta y se presentaron al ave en cubos de unos 5,0 mm³ para su consumo. Para realizar esta medición cada animal era ubicado en jaulas experimentales similares a las utilizadas con picaflores salvo que de mayor tamaño. Los animales se trasladaban a las jaulas la noche previa a la medición y se mantenían sin alimento durante toda la noche. A la mañana siguiente se ofreció un cubo a cada animal, y luego del consumo del alimento marcado, los animales tenían acceso a los comederos con comida *ad libitum*. La jaula se revisó cada 10 min durante dos horas y cada 30 min las tres horas siguientes y hasta no coleccionar más fecas con marcas.

Presupuesto de tiempo:

Considerando las variaciones de la conducta de forrajeo durante el día (Smith-Ramirez 1990, Smith-Ramirez & Armesto 1998, López-Calleja obs. pers.), todos los registros se realizaron por un período de dos horas y en las primeras horas del día. Durante ese período se determinó el tiempo invertido en descanso, alimentación y vuelo para *S.sephaniodes* y *P. rara* por tratamiento, como también el número y duración de cada evento de alimentación. Para realizar estas observaciones se utilizó una filmadora estándar (Sony) conectada a un grabador de vídeo VHS.

Balance energético:

Para determinar el efecto de cada tratamiento sobre el gasto energético de mantención, se midió TMB. La TMB corresponde al gasto básico de mantención en condiciones de termoneutralidad en reposo, postabsortivo y durante el período de obscuridad. Aunque nuestras mediciones se realizaron durante el ciclo α (ciclo de luz y actividad de estos animales), se utilizó una cámara oscurecida, donde el ave se mantuvo en reposo y sin alimento, se consideraron registros válidos aquellos obtenidos luego de dos horas de medición en estas condiciones. Todos los individuos se midieron en condiciones de termoneutralidad (29°C), independiente de la temperatura experimental de aclimatación (Konarsewsky & Diamond 1994). Dado que la tasa metabólica sostenida (SusMR) corresponde al gasto energético diario, pero en condiciones que se prolongan en el tiempo (Peterson *et al.* 1990), se determinó DEE. Para determinar TMB para ambas especies y DEE para *S. sephaniodes* se utilizó un respirómetro de circuito cerrado

computarizado (Morrison 1951, véase López-Calleja & Bozinovic 1995). Para estimar DEE en *S. sephaniodes* se utilizó una cámara metabólica (30x15x15) que disponía de percha y comedero y permitía fácilmente el vuelo y la alimentación del individuo. Este registro se realizó por un período mínimo de 24 h usando las temperaturas experimentales de aclimatación (30 y 15 °C) y el mismo ciclo experimental de luz - oscuridad.

El gasto energético diario (DEE) de *P. rara* se determinó a través de un sistema computarizado (Datacan V), de flujo abierto (Sable system). Las cámaras metabólicas utilizadas medían 55 x 41 x 41 cm. En este sistema las cámaras reciben aire seco a una tasa de 1000 ml min.⁻¹ desde un contralor de flujo (Sierra Instruments), volumen suficiente para asegurar una mezcla controlada del aire en la cámara. Antes y después de la cámara, el aire pasa a través de gránulos de baralyme (BaOH₂) absorbentes de CO₂ y gránulos de Drierita (CaSO₄) absorbentes de H₂O y es monitoreado cada 10 s por un analizador de O₂ (Applied Electrochemistry modelo S3a/y (Ametek). La temperatura ambiente es mantenida constante dentro de la cámara ($\pm 0,5$ °C), al ubicar la cámara metabólica en un incubador climatizado de mayor tamaño con regulador de fotoperíodo incorporado. El consumo de oxígeno fue calculado según la ecuación de Withers (1977). Las medidas se realizaron por 24 h, considerando 30 min de aclimatación a las condiciones de medición.

Los cursos diarios de consumo de oxígeno en ambas especies permitieron estimar DEE (kJ/g día), y dividirlo en gasto diurno y nocturno (kJ/g 12h). A su vez se

pudo estimar el saldo de energía a través de la razón entre ingesta y gasto de energía (A_e /DEE), donde A_e es la energía consumida y asimilada durante el período de registro y DEE la energía gastada.

Por otra parte, utilizando datos de consumo de oxígeno en condiciones de termoneutralidad y a 15°C (López-Calleja & Bozinovic 1996 para *S. sephaniodes* y datos no publicados para *P. rara*), se determinó el gasto energético de reposo (G_r) para ambas especies y en ambas temperaturas experimentales. Lo anterior permitió calcular el cociente energético (C_e), definido como la razón entre la energía asimilada y el gasto metabólico de reposo según la ecuación:

$$C_e = A_e/G_r,$$

donde A_e es la asimilación diaria de energía (kJ/g día) y G_r es el gasto de reposo diario de energía (kJ/g día). El resultado indica que el valor 1 corresponde a un equilibrio entre ingreso y gasto, valores sobre 1 indican disponibilidad de energía para otras actividades y menor que 1 indica que la energía asimilada no es suficiente para solventar los gastos diarios de reposo.

Cambios morfológicos:

Al final del período de aclimatación y registro de datos, los individuos fueron sacrificados y disectados. Los órganos internos como corazón, pulmón, hígado, riñón y molleja fueron extraídos, limpiados de adherencias grasas y secados (seis días a 60°C),

para determinar cambios en peso seco (AND modelo ER-120A, $\pm 0,01\text{mg}$). El tracto digestivo fue extraído midiendo el largo y área nominal, excluyendo vellosidades y microvellosidades, (pie de metro; $\pm 0,1\text{ mm}$), luego fue secado (seis días a 60°C) determinando el peso seco ($\pm 0,01\text{mg}$). Se colectaron las plumas diferenciando plumas cobertoras que se secaron y pesaron. Se separó la carcasa (masa ósea, muscular y grasa), la cual fue pesada luego de secada. Finalmente se estimó el contenido de grasa total mediante la extracción orgánica (soxhlet, con éter de petróleo como solvente), de la grasa presente en carcasa, piel y sumada a las adherencias de grasa previamente extraídas (*sensu* Konarzewski & Diamond 1994), obteniendo indirectamente el porcentaje de masa corporal magra y ósea (masa muscular y ósea).

Análisis estadístico:

Las variables digestivas, conductuales, energéticas y morfológicas primeramente se compararon utilizando análisis de varianza (ANOVA) de dos vías con interacción, sobre rangos, (Zar 1996), esta prueba es equivalente a una ANOVA no paramétrica pero permite determinar el efecto de los tratamientos e interacción. Para determinar diferencias entre grupos cuando existía interacción se aplicó prueba no paramétrica *a posteriori* ($\alpha = 0,05$) para determinar diferencias entre los grupos (Siegel & Castellan 1988). Para comparar las preferencias tróficas y variación durante el período de aclimatación se utilizó la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas. Se realizaron correlaciones (r_s , Pearson) entre variables morfológicas y fisiológicas para cada especie. Para estimar el efecto de la morfología digestiva y de órganos efectores sobre el gasto

de energía (TMB) e ingesta, se realizó un análisis de regresión múltiple mediante la opción *Forward* paso a paso con variables estandarizadas y con un F de entrada igual a 4 ($P = 0,05$) (Zar 1998). Posterior a un análisis de distribución de cada una de las variables y de manera de satisfacer los requerimientos de normalidad de algunos de los métodos estadísticos, los datos de proporciones se utilizaron transformados por el arcoseno de la raíz cuadrada. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico STATISTICA[®] (1997) para el programa Windows[®]. Los datos se presentan como promedio \pm DE.

RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados ordenados secuencialmente y por especies. Primero se presenta un capítulo sobre la caracterización dietaria en terreno y laboratorio de ambas especies, estos resultados son discutidos brevemente en ésta sección dado que su importancia fue permitir la preparación de las dietas experimentales y comprender algunas respuestas observadas en las especies modelo utilizadas. Posteriormente se presentan los capítulos relevantes para la problemática teórica de esta tesis, con los resultados de los experimentos a corto y largo plazo.

I.-CARACTERIZACIÓN Y PREFERENCIA DIETARIA:

Sephanoides sephaniodes

Sephanoides sephaniodes fue la única especie de picaflor presente en el área de estudio durante el período de otoño e invierno. Durante este período consume principalmente néctar de *Sophora macrocarpa* (mallú), *Tricocereus chilensis* (quintral) y *Eucaliptus globulus* (eucalipto). Estas plantas presentan una concentración de azúcares de $0,79 (\pm 0,21)$ M (promedio \pm DE, n = 50), y un rango de concentración de 0,46 a 1,17 M.

En condiciones de laboratorio, *S. sephaniodes* prefirió significativamente las soluciones concentradas sobre las diluidas, consumiendo indistintamente concentraciones iguales o mayores a 0,75M (Fig. 1). Aunque el picaflor chico es capaz de mantener su peso corporal con concentraciones cercanas a 0,50 M (López-Calleja et al.1997), las rechazó frente a néctares de mayor concentración.

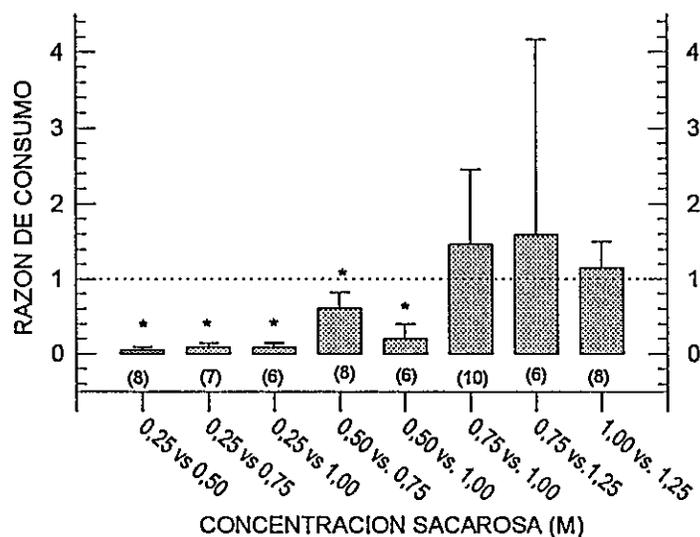


Figura 1: Razón de preferencia entre diferentes concentraciones de sacarosa. Entre paréntesis se presenta el número de individuos por prueba. Símbolo "*" representa diferencias significativas según prueba no paramétrica de Wilcoxon. Línea punteada indica no preferencia.

El picaflor chico (S. sephaniodes) prefiere los alimentos con altas concentraciones de sacarosa, tanto en condiciones de laboratorio como en terreno. El rango seleccionado en laboratorio (0,75 a 1,25 M), no difiere de las concentraciones promedio de néctar de las especies utilizadas por este picaflor en diversas localidades de

su área de distribución, como en Chiloé, Chile con $0,79 \pm 0,11$ M ($n = 11$, Smith-Ramirez 1993), en Neuquen (Argentina), con $0,94 \pm 0,17$ M ($n = 7$, Fraga *et al* 1997), y en la cordillera Santiaguina con 1,21 ($n = 1$ sp, Belmonte 1988), siendo también similar en las zonas de invernada en Chile, con un registro para Chiloe - donde permanecen algunos individuos- de 0,70 (Smith-Ramirez 1993), y dos para Santiago: $0,79 \pm 0,21$ (este trabajo). El rango de consumo, considerando todos los registros para su área de distribución, es de 0,25 a 1,21 M, con un promedio \pm DE de $0,78 \pm 0,2$ M. Este rango y promedio de concentración del néctar es similar al descrito para numerosas especies de flores polinizadas por picaflores (Baker 1975, Pyke & Waser 1981), con un rango de 0,18 a 2,6 M y un promedio de 0,73 M. Esto indica que *S. sephaniodes* utiliza especies con concentraciones de néctar dentro del rango descrito para la mayoría de los picaflores. Pero, por otra parte, claramente selecciona y prefiere especies con concentraciones cercanas a las máximas disponibles, 0,75 a 1,25 M).

La mantención del promedio de concentración de azúcares preferido por los picaflores, se explicaría por la relación entre los altos requerimientos energéticos diarios del grupo, como también por las restricciones físicas y fisiológicas que tiene la manipulación de dietas con concentraciones extremas. Por una parte dietas muy diluidas o con bajas concentraciones de azúcares no permiten la mantención de un balance energético incluso en ambientes térmicamente neutrales (e.g. López-Calleja *et al.* 1997, este trabajo) o dificultan la regulación del balance hídrico (McWhorter 1997). Por otra parte, con mayores concentraciones la viscosidad del néctar aumenta (Baker 1975), lo que afectaría la eficiencia del proceso de alimentación y digestión (Heyneman 1983,

Kingsolver & Daniel 1983). Considerando esta información se seleccionaron para las pruebas experimentales concentraciones de 0,50 M, como dieta pobre (DP) y 0,75 M como dieta rica (DR). No se utilizaron dietas con menor aporte energético porque trabajos previos con esta especie detectaron compromisos energéticos negativos, aun en condiciones de termoneutralidad (véase López-Calleja *et al.* 1997).

Phytotoma rara

El análisis de las fecas de *Phytotoma rara* indica que esta especie consume preferentemente material vegetal durante todo el año (Fig 2), especialmente hojas nuevas de monocotiledoneas sobre especies de dicotiledoneas. Esta preferencia puede estar asociada a la mayor abundancia de pastos agrícolas en el área de estudio (e.g. trigo y avena). El consumo de frutos se concentró en el período de verano, donde el 100% de las muestras presentaron restos de estos ítems. Los frutos consumidos corresponden a moras (*Rubus ulmifolius*), maqui (*Aristotelia chilensis*), palqui (*Cestrum parqui*) y miosporo (*Myoporum temifolium*). La presencia de materia animal fue escasa en las muestras. Se encontraron solo restos de coleópteros y larvas, siendo probable que su ingestión sea casual. Con relación a la diversidad de tipos de presas consumidas, es durante el verano (Fig. 2) donde presentan mayor variabilidad. En invierno esta diversidad baja al consumir exclusivamente materia vegetal.

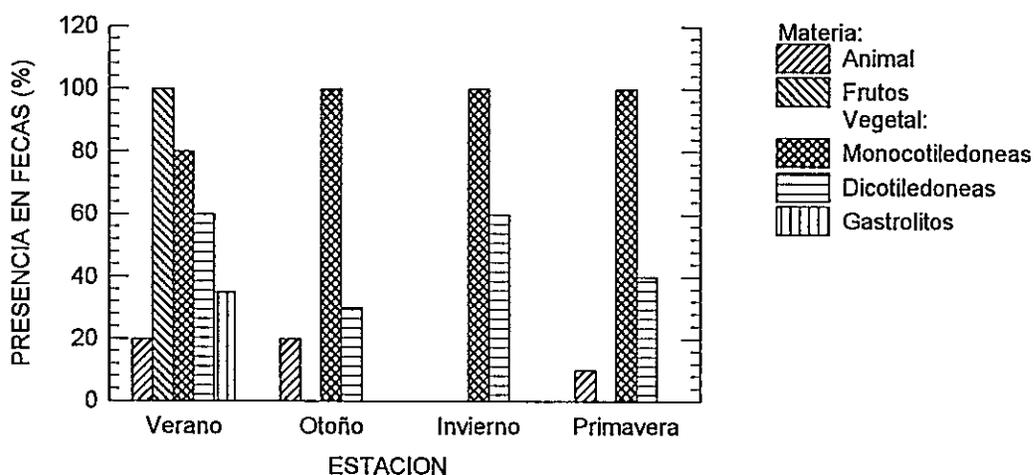


Figura 2. Presencia de los diferentes ítems tróficos en las fecas de *Phytotoma rara* agrupadas por estaciones. Se presenta el porcentaje de presencia de cada ítem en el total de las muestras colectadas por estación.

Estos resultados confirman una conducta herbívora en *P. rara*, al consumir preferentemente materia vegetal durante todo el año. La preferencia por monocotiledoneas respecto a dicotiledoneas detectada en el análisis dietario podría deberse a que las hojas de monocotiledoneas presentarían mayor dificultad de digestión por su estructura venosa más dura (Mauseth 1995), y entonces se preserven en mayor proporción en las fecas. A pesar de estos argumentos, las observaciones realizadas durante los transectos de otoño e invierno confirmarían un mayor consumo de monocotiledoneas sobre dicotiledoneas, ya que de un total de 78 aves observadas, el 59% se observó en el suelo y de estas el 97% estaba consumiendo pastos, mientras que solo el 22,7% de las 32 aves observadas en ramas consumían hojas o brotes. Por otra parte la menor palatabilidad por presencia de taninos está demostrado que afecta la preferencia por alimentos de origen vegetal (Bernays *et al.* 1989, Bozinovic 1997),

pudiendo ser un factor que influya en el consumo preferencial de monocotiledoneas dado que estas especies presentan en general menos concentración de taninos que las dicotiledoneas (Bernays *et al.* 1989).

En la figura 3 se presentan los resultados de las pruebas de preferencia con diferentes items, tanto naturales como dietas preparadas en laboratorio. Cuando sólo se ofrecieron alimentos naturales; *P. rara* prefirió consumir lechuga sobre otros vegetales como brotes de soya y hojas de avena (Fig.3a) pero no mostró una preferencia definida entre lechuga y moras (frutos), consumiendo ambos items en proporciones similares. Frente a la oferta de pulpa de fruta sin semillas (kaki) prefirió la lechuga. Respecto a materia animal (larvas de *Tenebrio molitor*) las aves rechazaron el consumo de este ítem.

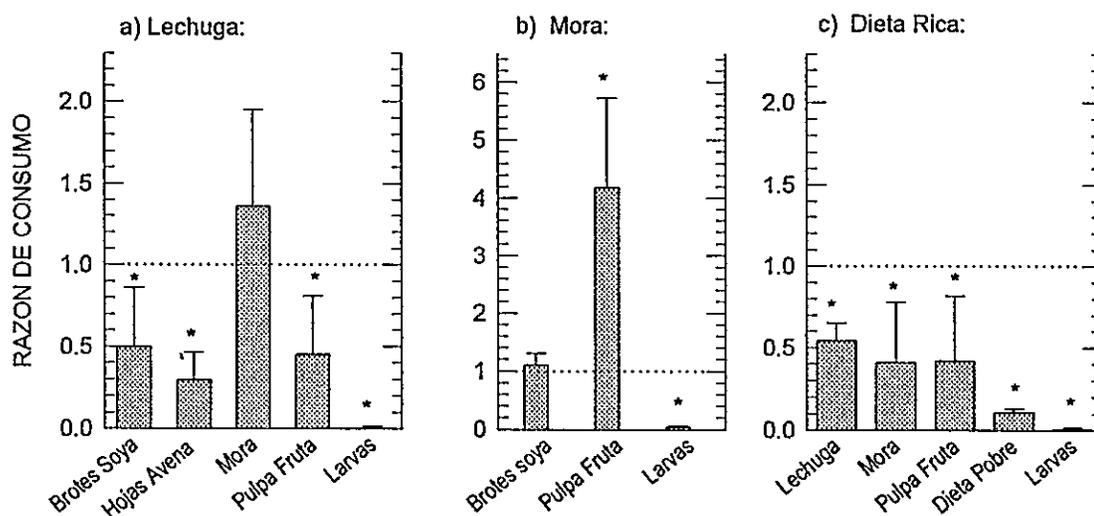


Figura 3: Pruebas de preferencia de *Phytotoma rara* con diferentes ítems alimenticios vs. a) Lechuga, b) Mora y c) Dieta Rica experimental. Se presenta la razón de consumo de materia húmeda del ítem indicado en la barra sobre el alimento principal. Todas las pruebas se realizaron con seis individuos, "*" representan diferencias significativas según prueba no paramétrica de Wilcoxon. Línea punteada indica consumo proporcional (razón de consumo =1).

Al comparar el consumo de frutos (moras) con otros alimentos naturales (Fig. 3b), se observó que las raras prefirieron el kaki (pulpa sin semillas) sobre las moras (con semillas). El consumo de brotes de soya y moras es similar, al igual que lo observado con lechuga (véase Fig 3a). Respecto a las dietas experimentales (Fig. 3c), *P. rara* prefirió la dieta rica experimental (DR) sobre lechuga, frutas y dieta pobre (DP), rechazando el consumo de larvas.

El análisis químico proximal de los alimentos evaluados (Tabla 2) indica que las aves estarían prefiriendo aquellos alimentos con menor porcentaje de material refractario (fibra y cenizas) y mayor proporción de proteínas y carbohidratos (NFE), como lo muestra la preferencia de DR sobre todos los otros ítems. Aparentemente, *P. rara* tiene la capacidad de procesar alimentos muy diluidos, considerando la preferencia por lechuga respecto a otros pastos más secos (Tabla 2). Frente a ofertas de pastos y alimentos con alto porcentaje de carbohidratos (frutos), todos los individuos evaluados y en todas las series realizadas, consumieron frutos, probablemente como complemento a la ingesta de vegetales. Esto es coincidente con los resultados obtenidos del análisis dietario en terreno.

La DR es el alimento con mayor aporte de energía y nutrientes, que además presenta una baja proporción de material refractario como fibra y cenizas. La textura y consistencia de la DR también puede determinar su preferencia, considerando los costos asociados a la manipulación de los alimentos de origen vegetal. Se ha demostrado que

P. rara duplica el tiempo de forrajeo para masticar y macerar, previo a su ingestión, los alimentos de origen vegetal (López-Calleja & Bozinovic, en prensa).

La preferencia por lechuga respecto a otros alimentos de origen vegetal (e.g. avena y brotes de soya) podría explicarse por una ingesta voluntaria de alimentos con mayor aporte hídrico (véase tabla 2), esto considerando que al evaluar la preferencia entre lechuga, avena y brotes de soya no se observan preferencias significativas si el consumo se expresa como materia seca (Wilcoxon, $P > 0,05$). Paralelamente, *P. rara* pareciera compensar la ingesta de carbohidratos incorporando siempre una fracción de frutos cuando estos fueron ofrecidos (véase Fig. 3), siendo esta conducta coincidente con las observaciones de terreno que señalan que *P. rara* consumió frutos cuando estos fueron abundantes. *P. rara* sólo rechazó claramente el consumo voluntario de insectos (larvas), confirmando también la baja tasa de ingesta de éste recurso observada en terreno.

Considerando estos resultados, para la realización de los experimentos agudos y crónicos, se utilizaron las dietas artificiales descritas como dieta rica (DR) y pobre (DP), considerando que la consistencia homogénea de estos alimentos no afectaría diferencialmente la manipulación previa a la ingesta, como se detectó con vegetales naturales (López-Calleja & Bozinovic en prensa). Además, las características nutricionales de la DR se asemejan a la dieta mixta de pastos y drupas, típica de esta especie en verano (véase Fig.2). La dieta pobre (DP) en cambio presenta una composición de nutrientes similar a una dieta exclusiva de materia vegetal (Tabla 2).

Tabla 2. Composición nutricional (%) y energética (kJ/g) de los alimentos ofrecidos en las pruebas de preferencia.

	Dietas Artificiales		Alimentos naturales				
	Dieta Rica (DR)	Dieta Pobre (DP)	Soya (brotes)	Lechuga (hojas)	Avena (hojas)	Kaki (pulpa)	Mora (fruto)
Humedad (%)	88,9	89,3	88,6	94,0	87,8	79,8	71,6
Materia seca (%)	11,1	10,7	11,4	0,6	17,4	21,2	29,4
Fibra cruda	5,58	14,28	10,88	15,00	21,49	4,67	20,88
Proteína (N x 6,25)	26,49	16,91	17,10	25,00	19,89	3,92	7,52
NFE	58,47	52,91	57,63	40,00	48,05	87,26	60,88
Lípidos	2,97	2,80	2,10	3,33	5,40	0,05	6,70
Cenizas	6,49	6,73	12,28	1,67	5,17	4,10	4,01
Valor energético (kJ/g)	19,17	18,09	16,37	16,66	17,83	15,86	18,57

El análisis químico fue realizado en el Laboratorio de Servicios de análisis, Depto. de Zootecnia, Fac. de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile.

II- RESPUESTA AGUDA FRENTE A VARIACIONES EN TEMPERATURA AMBIENTE Y CALIDAD DEL ALIMENTO.

Sephanoides sephanioides

Ingesta de alimento:

La ingesta de alimento cambió significativamente por efecto de la dieta y la temperatura, pero no se observó efecto de la interacción (ANOVA, Dieta: $F_{(1,38)} = 146,2$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(3,38)} = 9,91$; $P < 0,001$). Los grupos DP aumentaron el consumo de alimento respecto a los grupos DR independiente de la temperatura de aclimatación (Fig. 4a). En relación al efecto de la temperatura, se observó un aumento significativo del consumo a los 15°C respecto a la condición control (30 °C), y a los grupos de 10 y 5°C (Fig 4a). Este patrón es similar en ambas dietas.

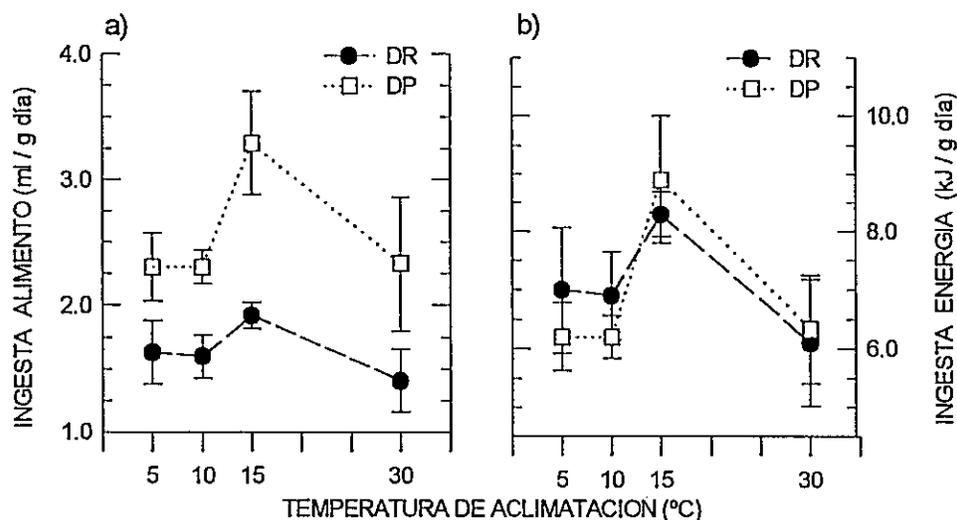


Figura 4: Ingesta diaria expresada como a) Volumen y b) Energía de *Sephanoides sephanioides* en los diferentes tratamientos y con ambas dietas. Se presentan los promedios (\pm DE), Según prueba *a posteriori* no paramétrica para Fig. a) efecto temperatura: los grupos a 15 °C son diferentes a los grupos 30, 10 y 5 °C. Fig. b) efecto temperatura: los grupos a 15 son diferentes a los grupos 30, 15 y 5°C.

La ingesta de energía (Fig. 4b) fue significativamente diferente entre grupos solo por efecto de la temperatura (ANOVA, Dieta: $F_{(1,38)} = 0,002$; $P < 0,96$; Temp. $F_{(3,38)} = 10,57$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(3,38)} = 0,78$; $P = 0,51$), siendo el grupo 15°C el que aumenta marcadamente su ingesta de energía. Se observa también que bajo las mismas condiciones térmicas la ingesta de energía no difiere entre ambas dietas experimentales (Wilcoxon, $P > 0,05$, todos los tratamientos).

Balance de masas:

En relación con el peso corporal (Fig. 5) se observaron diferencias significativas entre tratamientos por efecto térmico (ANOVA: Dieta: $F_{(1,38)} = 0,34$; $P = 0,56$; Temp. $F_{(3,38)} = 9,98$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(3,38)} = 1,35$; $P = 0,27$), siendo el grupo 30 °C el que presentó mayor peso corporal respecto a los otros tres grupos mantenidos bajo termoneutralidad. Los grupos bajo termoneutralidad no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí. Por otra parte al comparar peso inicial y final de cada grupo en particular, se encontró que tanto en condiciones de termoneutralidad y con ambas dietas como en el grupo DR-10, los individuos mantuvieron su peso corporal (Wilcoxon inicial vs. final: $P > 0,05$). Todos los otros grupos perdieron peso corporal durante el experimento (Wilcoxon inicial vs. final, $P < 0,05$).

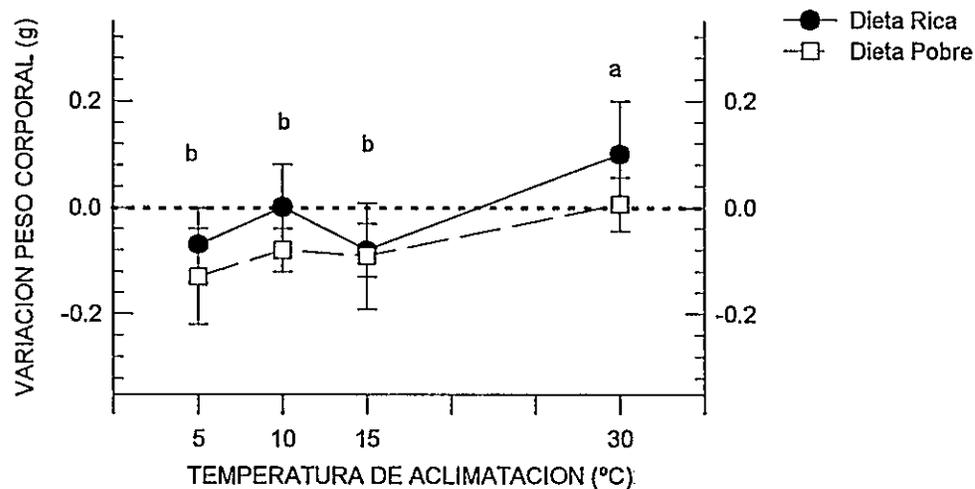


Figura 5: Variación peso corporal (peso final – inicial) de *Sephanoides sephanoides* en los diferentes tratamientos. Se presenta promedio \pm DE. Las letras representan las diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*. La línea punteada indica mantención de peso corporal.

En la figura 6 se presenta la ganancia de peso durante el período de actividad diurna (7:30 a 19:30 h). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos por efecto de la temperatura (ANOVA, Dieta: $F_{(1,38)} = 0,25$; $P = 0,60$; Temp. $F_{(3,38)} = 24,79$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(3,38)} = 2,59$; $P = 0,07$), con una disminución gradual de la ganancia de peso a medida que las condiciones térmicas son mas extremas, donde tres grupos (DP y DR a 5°C y DP-10°C) presentaron incrementos de peso significativamente menores que el grupo DR-30°C.

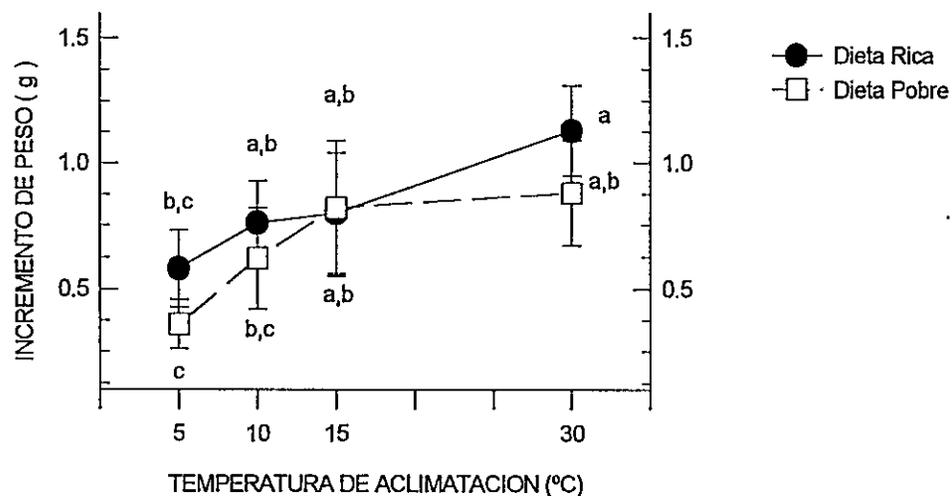


Figura 6: Ganancia diaria de peso (g) de *Sephanoides sephanioides* en los diferentes tratamientos. Se presenta promedio \pm DE. Las letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Sopor nocturno:

La presencia de sopor varió entre los tratamientos, considerando que todos los individuos mantenidos en condiciones térmicas bajo termoneutralidad presentaron sopor nocturno, comparado con el 16% de los individuos del grupo DP-Calor y la ausencia de sopor observada en el grupo DR-30°C. En la figura 7 se presenta el tiempo de duración del sopor en los diferentes tratamientos considerando los individuos que presentaron esta conducta, observándose diferencias significativas entre tratamientos, explicadas por la calidad de la dieta y marginalmente por la interacción de ambos factores (ANOVA, Dieta: $F_{(1,38)} = 4,19$; $P = 0,05$; Temp. $F_{(3,38)} = 2,89$; $P < 0,07$; Interacción: $F_{(3,38)} = 3,41$; $P = 0,04$), siendo el grupo DP-15°C diferente al grupo DR-10°C.

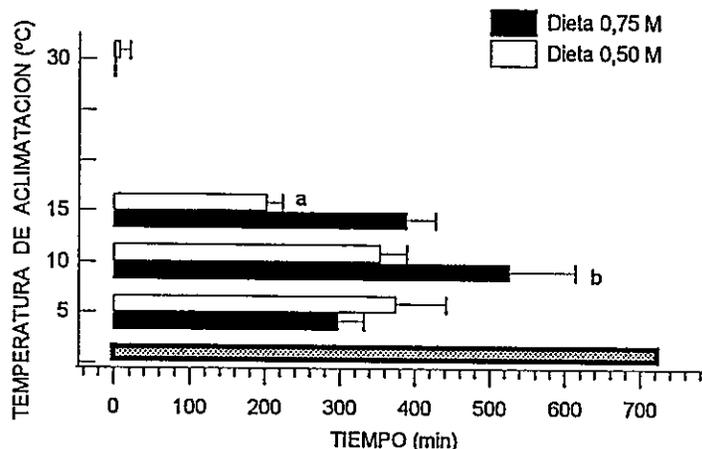


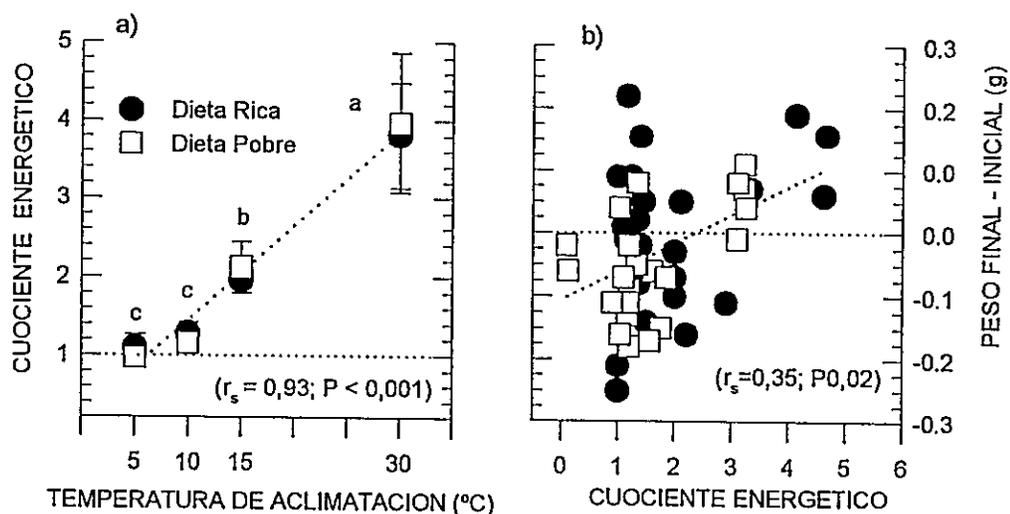
Figura 7. Duración del sopor nocturno en *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos. Los valores corresponden al promedio \pm DE. Línea gris representa el tiempo total de oscuridad. Letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*, los grupos sin letras no fueron diferentes

Balance energético:

Con el objeto de evaluar el efecto del tratamiento sobre el balance energético diario en *S. sephaniodes*, se estimó el cociente energético (C_e) definido como la razón entre la energía asimilada (A_e) y el gasto metabólico en reposo (G_r). La figura 8 presenta la variación en el C_e en los diferentes grupos experimentales. Se observa una disminución significativa del C_e asociada al aumento de los gastos termorregulatorios e independiente de la calidad dietaria, sin efecto de la interacción de ambos factores (ANOVA, Dieta: $F_{(1,38)} = 0,17$; $P = 0,69$; Temp. $F_{(3,38)} = 104,4$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(3,38)} = 1,21$; $P = 0,31$), donde todos los grupos mantenidos a 5 y 10 °C presentan balances energéticos iguales a 1, y significativamente diferentes respecto a los dos grupos mantenidos a 30°C. Los grupos de 15 °C, siendo que presentan balances superiores a 1, son también significativamente diferentes que los grupos mantenidos a 30°C. Para esta estimación se

consideró el potencial ahorro nocturno a través del mecanismo del sopor, estimando el gasto nocturno, para todos los tratamientos, igual a la TMB de esta especie (López-Calleja & Bozinovic 1995).

Figura 8: a) Cuociente energético (A_e/G_r) y b) Relación entre C_e y variación del peso corporal (g) de *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos térmicos y dietarios. Los valores corresponden al promedio \pm DE. Las letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica a posteriori. Línea punteada indica balance igual a 0.



El C_e se correlacionó positivamente tanto con ganancia diurna de peso ($r_s = 0,63$; $P < 0,001$), como con variación de peso (final – inicial) de los individuos ($r_s = 0,43$; $P = 0,002$), indicando que en condiciones térmicas extremas (e.g. 5°C), los individuos deberían destinar casi la totalidad de la energía asimilada a gastos de termorregulación, lo cual afectaría la acumulación de reservas durante el día (ganancia de peso), y por lo tanto podría influir en la mantención del peso corporal luego del período nocturno.

*Phytotoma rara***Ingesta de alimento:**

La tasa de ingesta de alimento, expresada como peso seco de materia (Fig. 9a) varió entre los tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 1,54$; $P = 0,22$; Temp. $F_{(3,39)} = 3,84$; $P < 0,02$; Interacción: $F_{(3,39)} = 8,23$; $P < 0,001$), siendo diferente la ingesta entre los grupos a 15°C y a 5°C por efecto de la temperatura. Como resultado de la interacción se observó que el grupo DP-5°C disminuyó su ingesta a los niveles observados en condiciones de termoneutralidad y con DR, siendo claramente inferior al consumo observado en los grupos DP-15 y 10°C. Al expresar la ingesta como energía (Fig. 9b), se observa que el consumo varió por efecto de la temperatura, resultando la interacción de dieta y temperatura también significativa (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 1,89$; $P = 0,17$; Temp. $F_{(3,39)} = 5,46$; $P = 0,003$; Interacción: $F_{(3,39)} = 9,14$; $P < 0,001$), siendo el grupo DR-15°C significativamente diferente a DP-5°C.

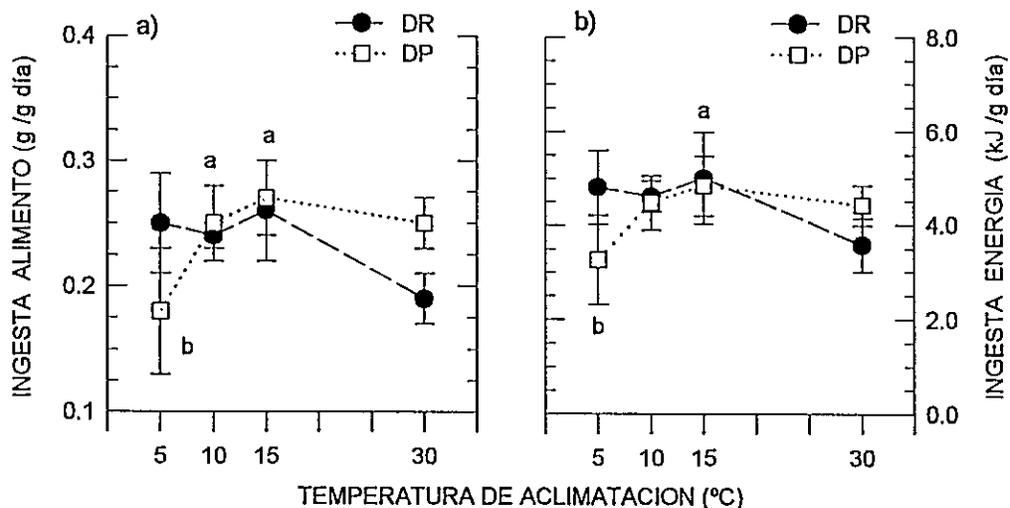


Figura 9: Ingesta diaria de *Phytotoma rara* expresada como a) Materia seca (g/g día) y b) Energía (kJ / g día) en los diferentes tratamientos y con ambas dietas. Se presentan los promedios (\pm DE). Las letras indican grupos diferentes según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Balance de masas:

Todos los individuos utilizados presentaron similar peso corporal al inicio del tratamiento (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 0,35$; $P = 0,56$; Temp. $F_{(3,39)} = 0,28$; $P = 0,84$; Interacción: $F_{(3,39)} = 2,36$; $P = 0,09$), con un peso corporal = $42,8 \pm 1,9$ g (promedio \pm DE). Al término del período experimental, en cambio, se observó una diferencia significativa en peso corporal entre tratamientos tanto por efecto de la dieta, la temperatura como por la interacción de ambas (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 4,18$; $P = 0,01$; Temp. $F_{(3,39)} = 4,18$; $P = 0,01$; Interacción: $F_{(3,39)} = 8,68$; $P < 0,001$). El peso corporal varió significativamente durante el período de aclimatación entre los grupos (Fig. 10), encontrando que los grupos DR y DP a 30°C y DR-10°C mantuvieron su peso corporal con poca variabilidad. Todos los otros grupos disminuyeron significativamente de peso (Wilcoxon inicial vs. final: $Z = 2,0$; $P = 0,04$), al igual que el grupo DP-5°C donde la

perdida de peso fue más notoria (Wilcoxon inicial vs. final: $Z = 2,2$; $P = 0,02$), presentando un claro desbalance de masas.

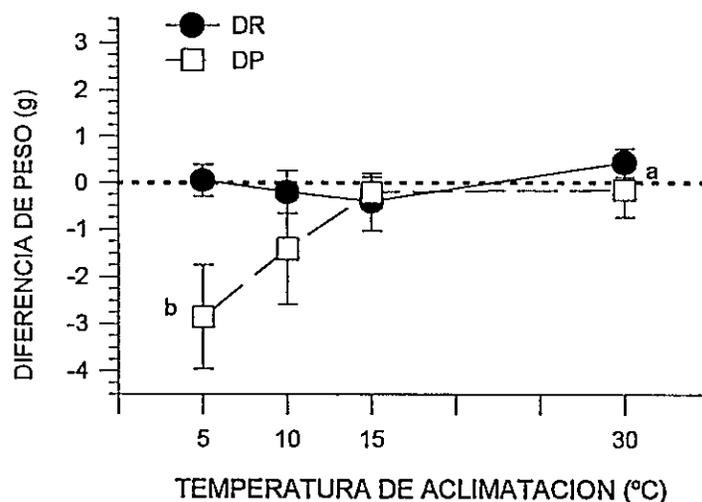


Figura 10: Variación peso corporal (peso final – inicial) en *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. Se presenta promedio \pm DE.. Todos los grupos DR y el grupo DP-30°C fueron diferentes del grupo DP-5°C según prueba no paramétrica *a posteriori*. Línea punteada indica mantención de peso corporal.

Digestibilidad y asimilación de materia y energía:

La digestibilidad de materia (D_m) cambia significativamente entre tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 96,19$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(3,39)} = 2,49$; $P = 0,74$; Interacción: $F_{(3,39)} = 15,65$; $P < 0,001$; Fig. 11a). La digestibilidad de energía (D_m) también cambió entre tratamientos y con el mismo patrón que D_m (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 129,1$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(3,39)} = 0,08$; $P = 0,97$; Interacción: $F_{(3,39)} = 13,32$; $P < 0,001$; Fig. 11b). Tanto D_m como D_e variaron durante el tratamiento por efecto de la dieta y de la interacción dieta - temperatura, presentando mayor digestibilidad los grupos mantenidos

con DR. Al nivel de la interacción dieta - temperatura, los grupos de DR-30 y 15°C presentaron mayor D_m y D_e respecto los mismos grupos térmicos pero mantenidos con DP, y los grupos de 10 y 5°C presentaron digestibilidades intermedias. (Fig. 11a y b).

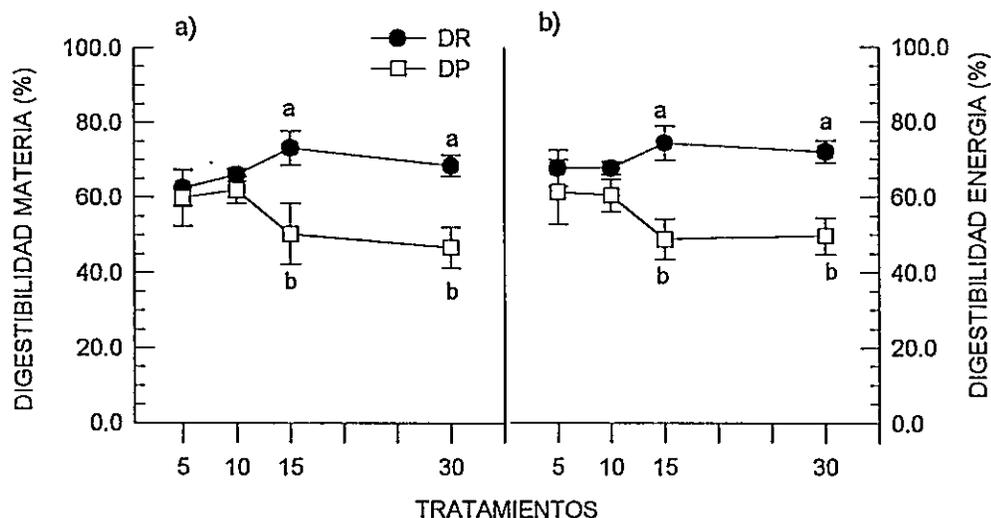


Figura 11: Digestibilidad de materia (a) y energía (b) de *P. rara* en los diferentes tratamientos. Se presentan los promedios \pm DE, las letras representan diferencias entre tratamientos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Esto indica que, en cortos períodos de tiempo, las diferencias en digestibilidad estarían dadas por las características de los componentes de cada dieta, pero las bajas temperaturas (10 y 5°C) producen una modulación de esta función, probablemente asociada al volumen de alimento consumido y al aumento de los requerimientos energéticos.

En la figura 12 se presenta la tasa de materia (A_m) y energía asimilada (A_e) (Ingesta x Digestibilidad) en los diferentes tratamientos. Se encontraron diferencias

significativas entre grupos en A_m (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 17,38$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(3,39)} = 7,82$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(3,39)} = 3,66$; $P = 0,02$), y en A_e (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 44,96$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(3,39)} = 4,67$; $P = 0,007$; Interacción: $F_{(3,39)} = 3,65$; $P = 0,02$), siendo en ambas variables significativo el efecto dietario y la interacción dieta - temperatura. Así, el grupo DR-15°C asimiló más energía y materia que los grupos DP-30 y DP-5°C (Fig. 12a y b). No se observaron diferencias entre los otros grupos.

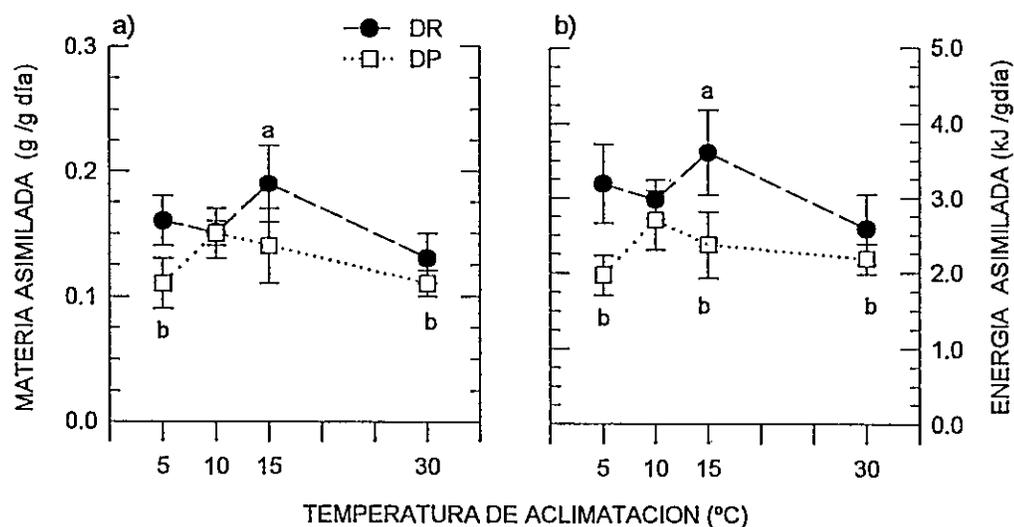


Figura 12: Materia y energía asimilada por *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. Se presentan los promedios \pm DE, las letras representan diferencias entre tratamientos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Balance energético:

Para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos y dietarios sobre el balance energético diario se determinó el Cuociente energético ($C_e = A_e / G_r$), donde A_e representa la energía asimilada y G_r los gastos metabólicos basales de termorregulación a las diferentes temperaturas de aclimatación (M.V. López-Calleja, datos no publicados).

La figura 13a presenta la variación del C_e en los diferentes grupos experimentales. Se observa una disminución significativa del C_e (ANOVA, Dieta: $F_{(1,39)} = 22,31$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(3,39)} = 9,41$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(3,39)} = 3,13$; $P = 0,04$). Donde el C_e disminuyó asociado a la disminución de la temperatura (aumento en los gastos energéticos), de calidad dietaria (disminución en la adquisición de energía), y también por el efecto de la interacción de ambas variables. Así, los dos grupos dietarios mantenidos a 30°C y el grupo DR-15°C presentaron mayor C_e que todos los grupos DP bajo termoneutralidad. El grupo DP-5°C, presenta el C_e más bajo, con un promedio (\pm DE) igual a 0,86 ($\pm 0,11$), donde la energía asimilada no le permitiría cubrir los gastos energéticos termorregulatorios. En este sentido, se determinó que C_E se correlaciona positivamente con el peso final de los individuos, pero solo entre los grupos DP (Fig. 13b), observándose que a menor C_e los individuos perdieron peso hacia el final del tratamiento.

Todo lo anterior indicaría que frente a aumentos bruscos (24 h) de los requerimientos energéticos, *P. rara* modifica la tasa de ingesta, alcanzando una ingesta máxima, que le permite compensar el aumento de los gastos termorregulatorios, por lo menos con la dieta rica (DR). Frente a recursos de baja calidad (DP), y con aumentos extremos de los requerimientos (5°C o menos), *P. rara* maximiza la ingesta de materia, pero igual pierde peso corporal, por lo cual modifica su estrategia, disminuye la ingesta, aumenta la eficiencia y prioriza el uso de las reservas energéticas (grasa y/o tejidos) para compensar el incremento en el gasto energético. Estos resultados sugieren una regulación central del balance de energía en situaciones temporales agudas.

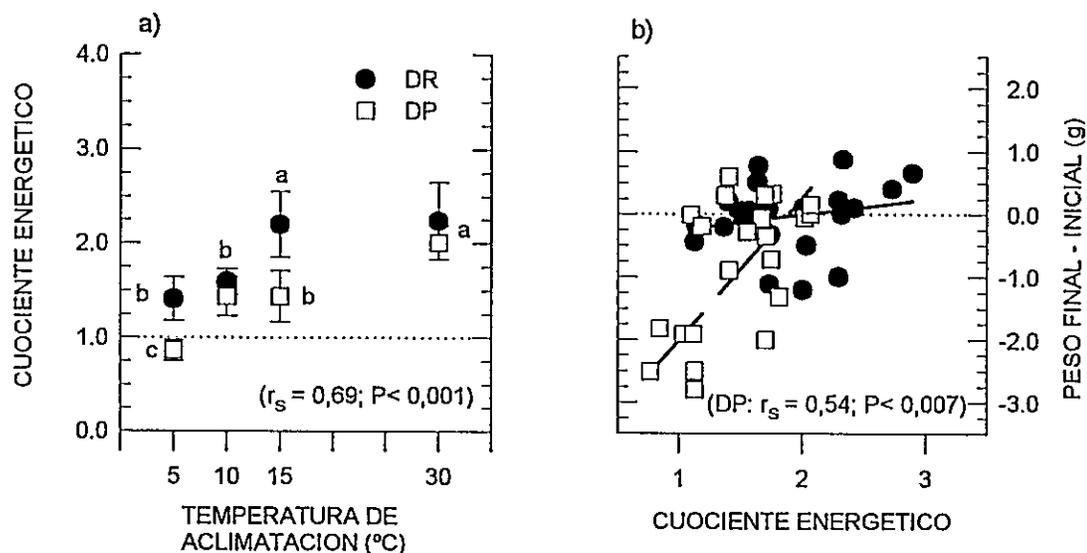


Figura 13: a) Cuociente energético (A_e / G_e) y b) Relación entre C_e y variación del peso corporal (g) de *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos térmicos y dietarios. Fig a: Los valores corresponden al promedio \pm DE, y las letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*. Fig. b: Cada punto representa un individuo. Para ambos gráficos se presenta el coeficiente de correlación de Spearman (r_s).

III. - RESPUESTA CRÓNICA FRENTE A VARIACIONES EN TEMPERATURA AMBIENTE Y CALIDAD DEL ALIMENTO:

Sephanoides sephaniodes:

Balance de peso.

El peso corporal en los cuatro grupos experimentales fue similar al inicio del tratamiento, pero al final del período experimental los grupos presentaron diferencias significativas (Tabla 3). Al analizar la dinámica de cambio de peso de los cuatro grupos experimentales (Fig. 14), se observa que los individuos del tratamiento control (DR-Calor) mantuvieron su peso corporal (Wilcoxon: $Z = 0,94; P = 0,34$), pero el grupo DP-

Frío disminuyó significativamente su peso cerca de un 10% (Wilcoxon: $Z = 2,2$; $P = 0,02$), en cambio los grupos DR-Frío y DP-Calor, disminuyeron su peso, pero cerca de un 5%, aunque aparentemente todos se habrían estabilizado hacia el final del período de aclimatación.

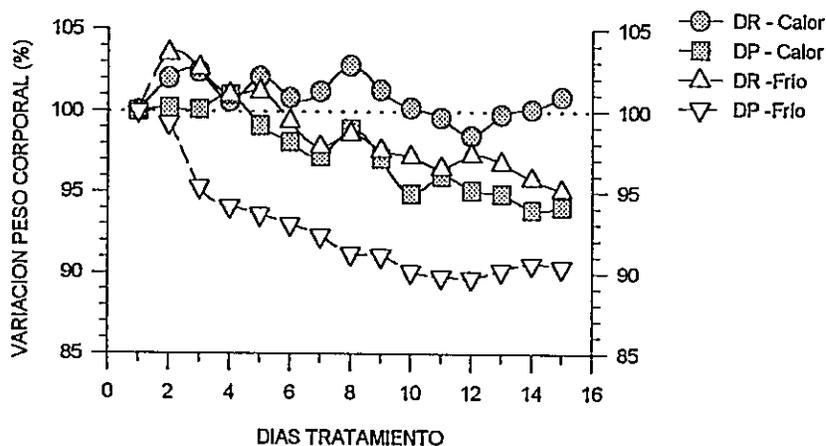


Figura 14: Variación del peso corporal de *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes grupos experimentales y durante el período de aclimatación. Los valores corresponden al promedio y están expresados como porcentaje de cambio de peso ((peso día n / peso inicial)*100).

Tasa de ingesta y función digestiva

La tasa de ingesta varió tanto entre los grupos experimentales, como en cada grupo a través del período de aclimatación (Tabla 4, Fig. 15). El grupo DR-Calor (control), mantuvo constante la tasa de ingesta durante todo el período de aclimatación ($Z = 1,57$; $P = 0,11$), siendo también la menor tasa de ingesta observada.

Tabla 3. Variación del peso corporal en *Sephanooides sephanioides* en los diferentes tratamientos. Los valores corresponden a promedio \pm 1DE. Se presentan los valores F_(1,18) y P obtenidos con ANOVA de dos vías con interacción, en el caso de P > 0,05 se indica ns. (no significativo). Las letras corresponden a las diferencias entre grupos según prueba no paramétrica a posteriori. Entre paréntesis el y bajo el nombre del grupo, se indica el número de individuos por grupo.

	DR - Calor (6)	DP - Calor (6)	DR - Frío (5)	DP - Frío (5)	ANOVA					
					Alimento	Temperatura		Interacción		
					F	P	F	P	F	P
PESO CORPORAL (g)										
Inicial	5,49 \pm 0,12	5,36 \pm 0,21	5,36 \pm 0,29	5,53 \pm 0,13	ns.		ns.		ns.	
Final	5,54 \pm 0,22	5,09 \pm 0,34	5,04 \pm 0,34	5,04 \pm 0,09	ns.		4,08	0,05	ns.	
Diferencia	0,05 \pm 0,21 ^a	-0,34 \pm 0,29 ^{a,b}	-0,26 \pm 0,24 ^{a,b}	-0,50 \pm 0,07 ^b	9,17	0,007	6,08	0,02	3,16	0,09

Al comienzo del tratamiento los picaflones modificaron la tasa de ingesta, principalmente por efecto de la condición térmica de aclimatación (día 1, ver Fig. 15 y Tabla 4), donde los dos grupos aclimatados a frío presentaron una ingesta significativamente mayor que los grupos aclimatados a calor. Este patrón inicial cambió a través del tratamiento, así al final del período de aclimatación, los individuos con dietas pobres presentaron mayor ingesta que los grupos con dieta rica, independiente de la condición térmica (día 15, ver Fig. 15 y Tabla 4). Este cambio en el patrón inicial de consumo se debería a que los grupos aclimatados a frío disminuyen significativamente su tasa de ingesta durante el tratamiento (Wilcoxon, Consumo inicial vs. final: DR-Frío: $Z = 1,89$; $P = 0,04$ y DP-Frío: $Z = 2,02$; $P = 0,04$). Con relación a la ingesta de energía (Tabla 4), no se detectaron diferencias entre grupos, debido a una compensación entre el valor energético de cada dieta y la tasa de ingesta. La digestibilidad de materia es igual entre tratamientos. El hecho que la digestibilidad no cambió entre tratamientos determina que el coeficiente de materia asimilada (AMC) sea mayor en los grupos DP respecto a DR, pero también se observó una interacción significativa donde AMC se mantiene en el ambiente más frío con DP, situación contraria a lo que sucede con DR, donde AMC aumenta en la condición mas fría (Tabla 4).

Tabla 4. Variación en tasa de ingesta de alimento y función digestiva en *Sephanoides sephanioides* en los diferentes tratamientos. Los valores corresponden a promedio \pm DE. Se presentan los valores F_(1,18) y P obtenidos con ANOVA de dos vías con interacción, en el caso de P > 0,05 se indica ns. (no significativo). Las letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica a posteriori. Entre paréntesis el y bajo el nombre del grupo, se indica el número de individuos por grupo.

	DR - Calor (6)	DP - Calor (6)	DR - Frío (5)	DP - Frío (5)	ANOVA: Alimento.		Temperatura.		Interacción.	
					F	P	F	P	F	P
INGESTA Materia (ml/g día)										
Inicial (día 1)	1,47 \pm 0,17 ^a	1,93 \pm 0,23 _{a,b}	2,21 \pm 0,26 _{a,b}	3,34 \pm 0,51 ^b	14,04	0,001	26,5	<0,001	ns	ns
Final (día 15)	1,30 \pm 0,05 ^a	2,43 \pm 0,24 ^c	1,77 \pm 0,18 ^b	2,24 \pm 0,32 ^c	88,50	<0,001	ns.		17,04	<0,001
Energía (kJ/g día)	5,59 \pm 0,19	6,81 \pm 0,76	7,61 \pm 0,68	6,19 \pm 0,75	ns.		6,80	0,02	30,64	<0,001
DIGESTIBILIDAD										
Materia (%)	96,29 \pm 0,97	96,35 \pm 0,87	94,95 \pm 2,17	95,43 \pm 2,07	ns.		ns.		ns.	
AMC ¹ (ml/g día)	1,24 \pm 0,05 ^a	2,32 \pm 0,26 ^b	1,51 \pm 0,17 ^{a,b}	2,14 \pm 0,27 ^b	78,03	<0,001	ns.		14,68	0,01
A _e ² (kJ/g día)	5,31 \pm 0,76	6,48 \pm 0,71	7,32 \pm 0,73	5,96 \pm 0,22	ns.		7,51	0,01	21,31	<0,001

¹ AMC: Coeficiente de materia asimilada, ² A_e: Energía asimilada.

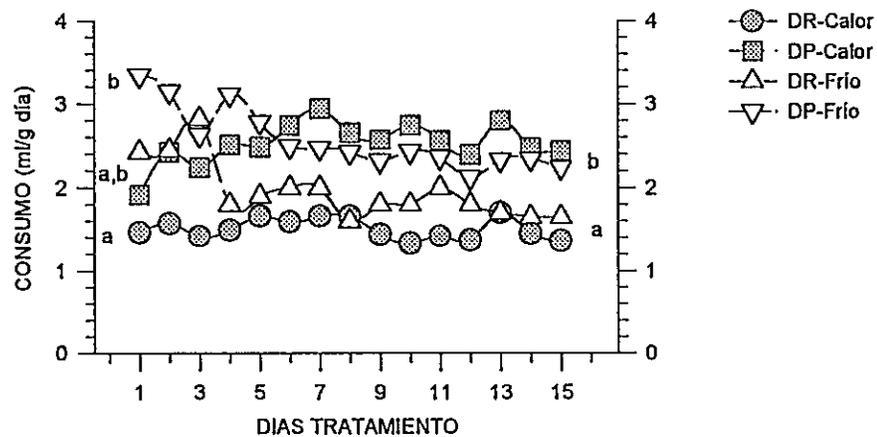


Figura 15: Cambios en la tasa de ingesta de *S. sephaniodes* en los grupos experimentales durante el período de aclimatación. Los valores corresponden a los promedios. Las letras representan diferencias entre grupos evaluadas al inicio y al final del tratamiento según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Con relación al tiempo usado para procesar un determinado volumen de alimento (PTI, Fig. 16), se observó que los individuos presentan PTI significativamente diferentes por efecto de la dieta y la temperatura (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 15,41$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(1,18)} = 4,38$; $P = 0,05$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,31$; $P = 0,58$), con una clara y significativa disminución del tiempo de procesamiento asociado al aumento de las restricciones dietarias y marginalmente térmicas, siendo los grupos mantenidos con DP los que redujeron el PTI respecto al grupo control (DR-Calor).

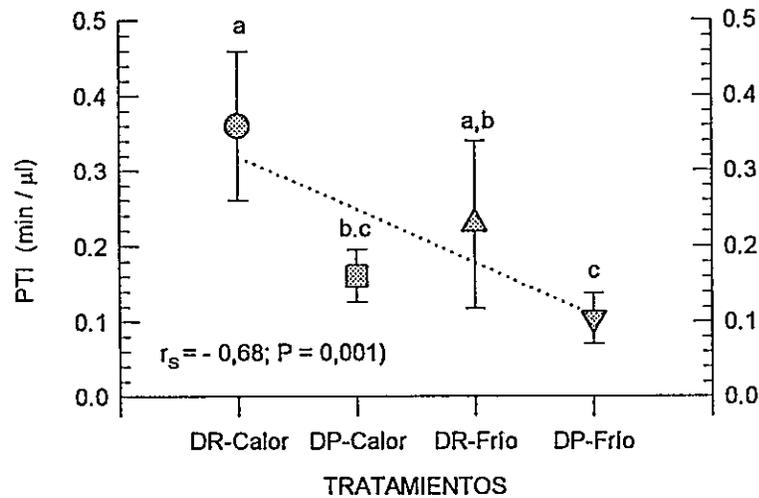


Figura 16: Índice de tiempo de procesamiento (PTI) de *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos. Se presentan los promedios \pm DE. Las letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Cambios morfológicos:

Los individuos presentaron diferencias morfológicas significativas por efecto de los tratamientos (Tabla 5). En general, se observa que el peso de la carcasa (masa ósea, muscular y grasa corporal) cambia significativamente por efecto dietario y térmico independientemente. Así, los individuos aclimatados a DR presentan mayor tamaño de carcasa que los de DP, y al agruparlos por condición térmica son los grupos mantenidos en frío los que aumentaron el tamaño de carcasa. Esta variación dietaria y térmica en la respuesta se explicaría por las variaciones diferenciales en el porcentaje de grasa y masa muscular por tratamiento. El porcentaje de grasa total disminuyó en los grupos DP respecto a los grupos DR, pero la masa magra (ósea y muscular) aumentó en los grupos mantenidos en frío respecto a los mantenidos en calor (Tabla 5). Así, tanto carcasa

como masa magra muestran diferencias al agruparse por temperatura, y la grasa corporal en cambio estaría asociada a las variaciones dietarias de los tratamientos (Tabla 5).

Los órganos productores, como corazón y pulmón, presentaron un incremento significativo en peso en los grupos aclimatados a frío (Tabla 5). Estos órganos también se asocian positivamente solo al efecto térmico experimental.

Al nivel de órganos digestivos se observaron diferencias significativas en riñón, hígado, molleja y área nominal del intestino delgado, A_{id} , (Tabla 5). Estos cambios se expresan en aumentos significativos en masa o superficie (para A_{id}) en los grupos aclimatados a dietas diluidas (DP) respecto a los mantenidos con DR. La molleja es el único órgano digestivo que presenta una variación explicada por la interacción entre condición dietaria y térmica del tratamiento, donde la molleja aumenta significativamente de peso solo en el grupo DP-Frío respecto al grupo control, lo anterior se debería a que el grupo DP-Calor presentó alta variabilidad en su respuesta, observándose solo una tendencia, marginalmente significativa, a que el factor dietario también explique esta variación morfológica (véase Tabla 5).

59
 TABLA 5. Cambios morfométricos de *Sephanoides sephanioides* durante exposición crónica a diferentes condiciones térmicas y tróficas. Se presentan valores ponderados por peso seco total del ave. Datos corresponden a promedio \pm 1DE, n = 6 para ambos tratamientos DR y n = 5 para DP. Se presentan los valores $F_{(1,18)}$ y P obtenidos con ANOVA de dos vías con interacción, en el caso de $P > 0,05$ se indica ns. (no significativo). Las letras representan diferencias entre grupos según prueba *a posteriori* no paramétrica.

	DR - Calor		DP - Calor		DR - Frío		DP - Frío		ANOVA: Alimento		Temperatura		Interacción	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
ORGANOS (mg/g)														
Carcasa	759,2 \pm 22,6 ^{a,b}	719,9 \pm 21,7 ^a	781,0 \pm 16,5 ^b	777,6 \pm 13,8 ^b	4,80	0,04	19,19	<0,001	ns.					
Masa magra	474,4 \pm 28,6 ^a	529,1 \pm 45,6 ^{a,b}	538,6 \pm 50,6 ^b	545,7 \pm 19,6 ^b	4,96	0,04	8,10	0,01	3,32	0,08				
Corazón	12,57 \pm 2,18	14,34 \pm 1,69	16,34 \pm 1,25	16,51 \pm 1,9	ns.		15,06	0,01	ns.					
Pulmón	7,88 \pm 1,55	8,38 \pm 1,03	10,49 \pm 1,74	10,50 \pm 1,18	ns.		13,18	0,01	ns.					
Grasa (%)	38,29 \pm 3,10 ^a	26,47 \pm 5,08 ^b	30,98 \pm 7,01 ^{a,b}	28,85 \pm 2,05 ^b	10,80	0,004	ns.		7,68	0,01				
Plumas cobertoras.	143,22 \pm 17,38	159,08 \pm 9,86	162,02 \pm 15,30	163,27 \pm 11,10	ns.		ns.		ns.					
ORGANOS DIGESTIVOS (mg/g)														
Riñón	1,91 \pm 0,28	2,21 \pm 0,53	1,78 \pm 0,45	2,68 \pm 0,38	8,23	0,01	ns.		ns.					
Hígado	15,12 \pm 1,22	16,70 \pm 2,54	15,30 \pm 1,26	17,79 \pm 1,94	10,47	0,04	ns.		ns.					
Molleja	1,31 \pm 0,28 ^{a,b}	1,61 \pm 0,42 ^{a,b}	1,25 \pm 0,17 ^a	1,65 \pm 0,22 ^b	3,70	0,07	ns.		5,51	0,03				
Intestino delgado :														
peso (mg/g)	11,64 \pm 1,68	11,90 \pm 2,28	11,62 \pm 0,35	12,97 \pm 2,18	ns.		ns.		ns.					
largo (mm/g ^{0,66})	46,79 \pm 3,55	46,81 \pm 2,53	46,47 \pm 2,09	47,19 \pm 2,22	ns.		ns.		ns.					
área (mm ² /g ^{0,66})	177,19 \pm 9,36	194,03 \pm 22,80	180,06 \pm 26,62	216,14 \pm 15,53	9,01	0,007	ns.		ns.					
peso seco total (g)	2,20 \pm 0,14	2,12 \pm 0,11	1,99 \pm 0,33	1,92 \pm 0,04	4,31	0,05	ns.		ns.					

Tasa metabólica basal:

La tasa metabólica basal cambia significativamente por efecto del tratamiento (Fig. 17), donde ambos grupos mantenidos en frío aumentan su TMB entre 19 a 25% respecto a los mantenidos en condición de calor (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 1,0$; $P = 0,32$; Temp. $F_{(1,18)} = 14,9$; $P = 0,001$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,2$; $P = 0,66$). La TMB de los grupos mantenidos en calor (promedio \pm DE = $0,065 \pm 0,007$ kJ/g h, $n=11$), es similar a la descrita previamente para esta especie (promedio \pm DE = $0,064 \pm 0,012$, en López-Calleja & Bozinovic 1995).

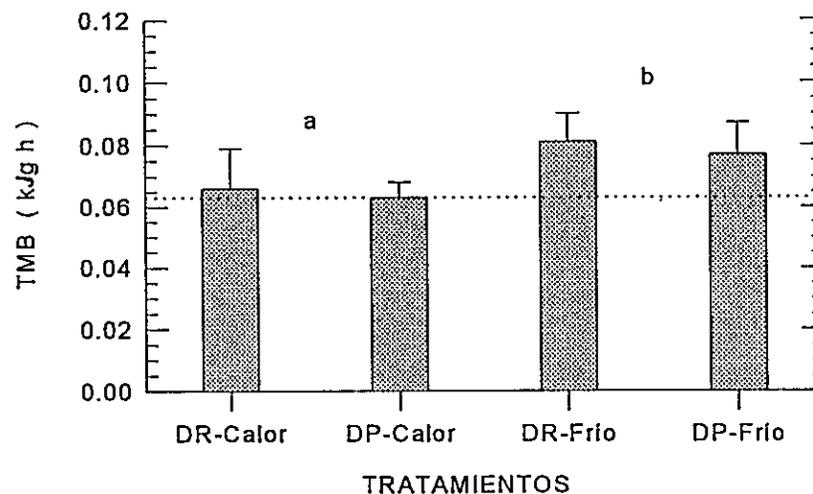


Figura 17: Variación de la Tasa Metabólica Basal (TMB) en *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos. Las letras representan las diferencias entre grupos según prueba a posteriori no paramétrica. La línea punteada corresponde a TMB estimada para esta especie (López-Calleja & Bozinovic 1996).

Gasto diario de energía y balance energético:

Con relación al gasto diario de energía (DEE), en la figura 18 se muestra el curso de medición del gasto diario para cada tratamiento, y se observa que los picaflores se

mantuvieron activos durante todo el período diurno, con mayor actividad en la mañana, decayendo en la tarde. El DEE es diferente entre tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 0,7$; $P = 0,4$; Temp. $F_{(1,18)} = 10,7$; $P = 0,004$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,8$; $P = 0,86$), siendo mayor en los grupos mantenidos en frío respecto a los de calor. Durante la fase de oscuridad todos los picaflores reducen sus gastos energéticos a niveles cercanos a TMB de termoneutralidad ($0,063 \text{ kJ/g h}$), incluso los grupos mantenidos en condición de frío presentan registros inferiores a ésta.

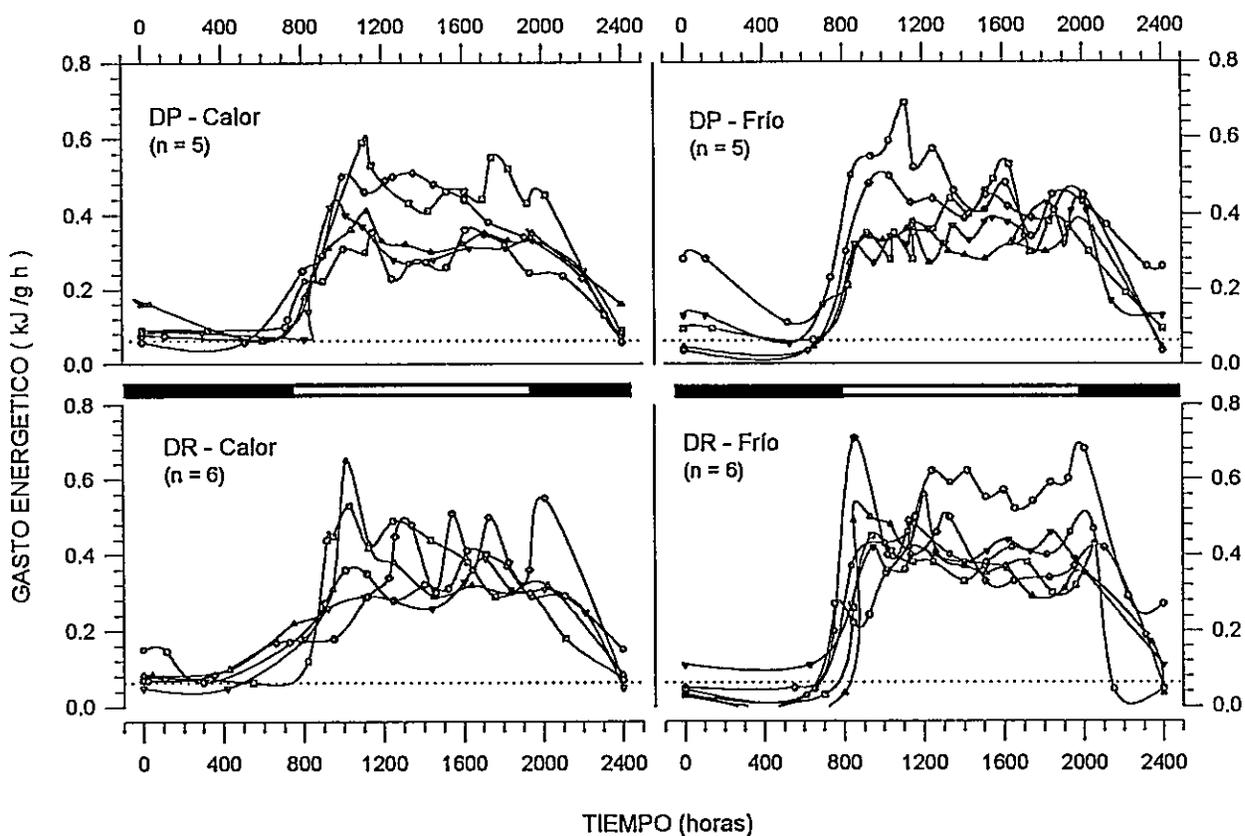


Figura 18: Curso diario de gasto energético en *Sephanoides sephaniodes* en los cuatro tratamientos. Las líneas representan a cada individuo registrado por tratamiento. Las barras claras y oscuras en la sección central del gráfico indican el período de luz y oscuridad durante la medición. La línea punteada representa el metabolismo basal documentado para esta especie (TMB = $0,063 \text{ kJ/g h}$; López-Calleja & Bozinovic 1995).

Al descomponer el DEE en gasto energético diurno y nocturno (Fig. 19), se observa que el gasto diurno fue significativamente diferente entre tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 1.3$; $P = 0,3$; Temp. $F_{(1,18)} = 11,7$; $P = 0,003$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,20$; $P = 0,60$), donde los dos grupos de frío son diferentes a los grupos termoneutrales. A nivel del gasto nocturno total no se observaron diferencias entre grupos, pero si considerando el gasto mínimo nocturno (Fig. 20), donde ambos grupos aclimatados a frío presentaron mínimos nocturnos significativamente más bajos que los dos grupos aclimatados a calor (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 1.26$; $P < 0,28$; Temp. $F_{(1,18)} = 11,70$; $P = 0,003$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,26$; $P = 0,62$).

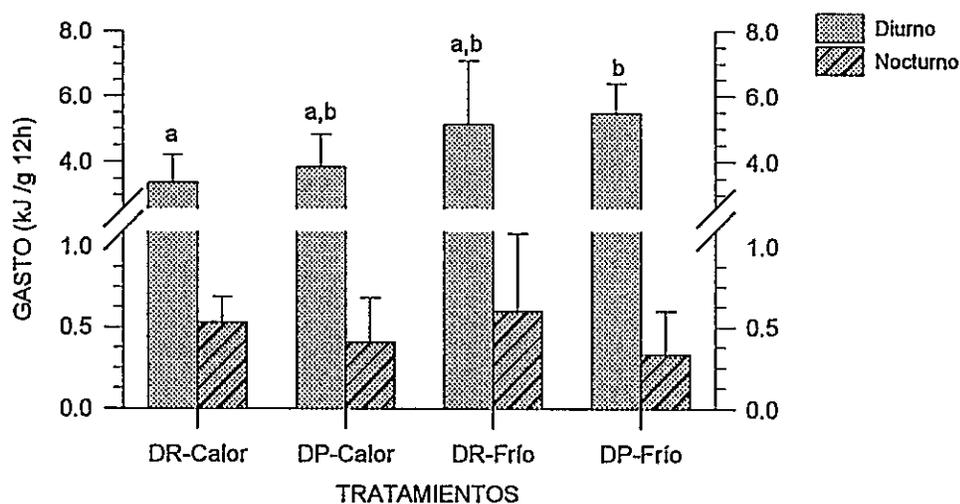


Figura 19: Gasto energético diario de *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos. El gasto diario se presenta dividido en gasto diurno y nocturno. Los valores corresponden a promedio \pm DE. Las letras representan diferencias entre tratamientos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

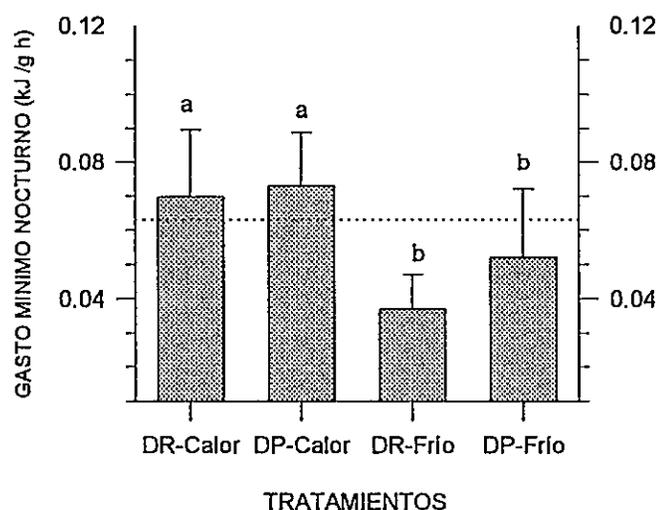


Figura 20: Gasto mínimo nocturno de *Sephanoides sephanioides* en los diferentes tratamientos. Este valor corresponde al registro de consumo de oxígeno más bajo registrado en la noche en el curso de la medición. La línea punteada corresponde a TMB documentado para esta especie. Los valores corresponden a promedio \pm DE. Las letras representan diferencias entre tratamientos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

La razón entre energía ingerida y asimilada (A_e) y gastada (DEE) durante el período de medición (Fig. 21a), fue significativamente diferente entre los tratamientos por efecto térmico (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 0,78$; $P = 0,39$; Temp. $F_{(1,18)} = 16,18$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,58$; $P = 0,46$). Destaca que todos los individuos mantenidos en condiciones de termoneutralidad (DP y DR) y DR-15°C presentaron una razón positiva, no así grupo DP-Frío. Por otra parte, solo se observó una tendencia de cambio al evaluar la variación diaria del peso corporal al final del período de aclimatación (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 2,62$; $P = 0,12$; Temp. $F_{(1,18)} = 4,23$; $P = 0,06$; Interacción: $F_{(1,18)} = 1,05$; $P = 0,33$), explicada porque los individuos de los grupos aclimatados a calor mantienen o aumentan su peso día a día, en cambio los grupos

aclimatados a frío mantienen o pierden peso. Así, no se observa una correlación entre saldo de energía y variación del peso corporal (Fig. 21b).

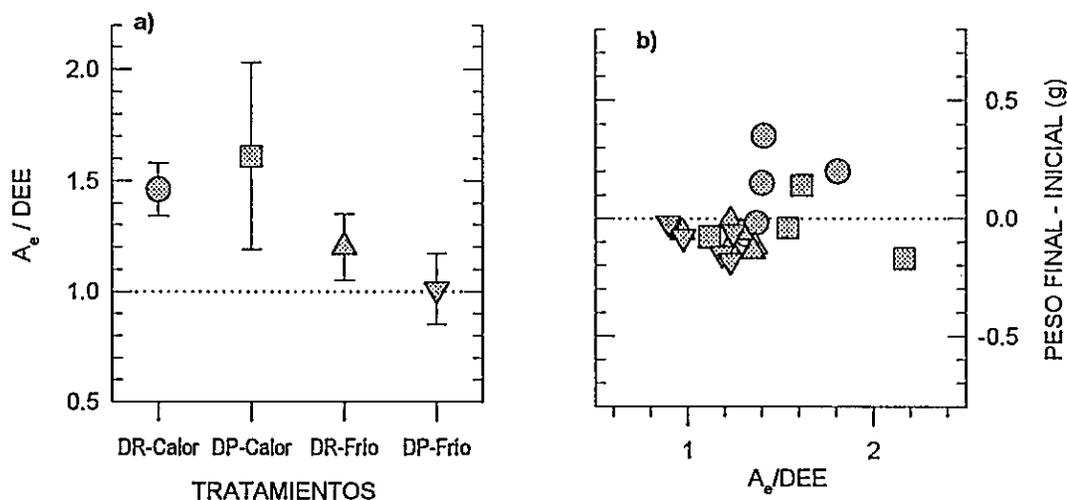


Figura 21: Balance de energía en *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos: a) Razón de proporción entre energía asimilada y gastada (A_e/DEE), y b) Saldo de energía y variación del peso corporal. Se presentan los promedios \pm DE. En Fig. (a) se presentan los promedios \pm DE, donde la línea punteada indica $A_e = DEE$, y en fig. (b) cada punto representa un individuo y los símbolos corresponden a los grupos de fig 30a.

Considerando el gasto de energía por termorregulación (G_r) a las temperaturas experimentales utilizadas (0.063 y 0.174 kJ/gh para tratamiento de 30 y 15°C respectivamente, según López-Calleja y Bozinovic 1995), se estimó el porcentaje del total de energía gastada que habría sido invertida en termorregulación, y la fracción disponible para otras actividades (e.g. forrajeo) por tratamiento. En la figura 22 se grafica el porcentaje del gasto diario de energía (DEE) registrado invertido en termorregulación por tratamiento, encontrando que existen diferencias significativas entre los grupos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 0,01$; $P < 0,76$; Temp. $F_{(1,18)} = 34,01$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,12$; $P = 0,73$). Los dos grupos aclimatados a frío habrían

invertido un 75% del total de la energía diaria producida en termorregulación. Los grupos aclimatados a calor en cambio, invirtieron solo un 40% del DEE en termorregulación.

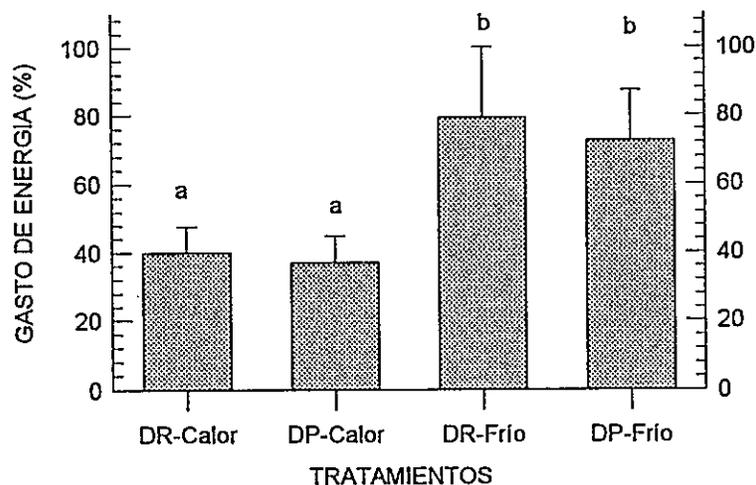


Figura 22: Proporción del gasto diario de energía (DEE) invertido en termorregulación por *Sephanoides sephaniodes* en los diferentes tratamientos. Las letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Sopor nocturno:

Se encontró una relación significativa entre temperatura de aclimatación y presencia de sopor nocturno (Prueba exacta de Fisher, $P=0,0075$), donde todos los individuos bajo termoneutralidad registraron sopor nocturno. En cambio, solo el 50% de los individuos DP-Calor y el 28% de los DR-Calor presentaron esta estrategia.

En relación con la duración del sopor (Fig. 23), y considerando sólo los individuos que presentaron esta conducta, no se observaron diferencias entre los tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,10)} = 0,38$; $P = 0,55$; Temp. $F_{(1,10)} = 0,22$; $P < 0,65$; Interacción: $F_{(1,10)} = 0,04$; $P = 0,83$), siendo el tiempo medio de duración del sopor de $532,1 \pm 157,6$ min. (promedio \pm DE).

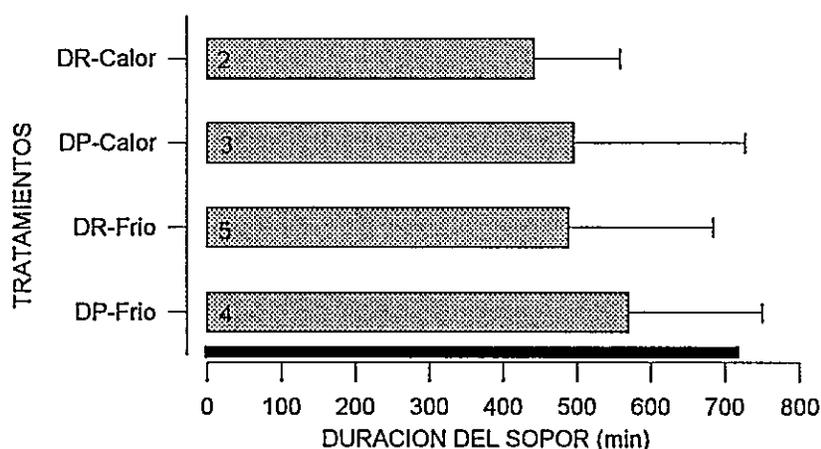


Figura 23: Presencia y duración del sopor para *Sephanoides sephanoides* en los diferentes tratamientos. Los números en la base de las barras indican el número de individuos que realizó sopor nocturno. La línea negra corresponde al período de oscuridad nocturna (720 min.).

Presupuesto de tiempo:

La actividad de forrajeo cambió significativamente entre tratamientos (Fig. 24). Los individuos modificaron la tasa de visitas al comedero dependiendo de los tratamientos (Fig. 24a), siendo los grupos de calor los que realizaron significativamente más visitas a los comederos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 0,71$; $P = 0,41$; Temp. $F_{(1,18)} = 10,35$; $P = 0,006$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,71$; $P = 0,41$). La duración de cada evento de alimentación

(tiempo desde que introducen el pico en el bebedero hasta que lo retiran), presentó un efecto significativo asociado al factor dietario de aclimatación, observándose un aumento en las dietas diluidas (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 10,35$; $P < 0,006$; Temp. $F_{(1,18)} = 0,71$; $P = 0,41$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,22$; $P = 0,64$) (véase Fig. 24b). Al correlacionar ambos parámetros, número de visitas y tiempo medio de extracción de alimento (Fig. 24c), se observa una relación positiva entre ellos, donde los individuos que visitan más veces el comedero lo hacen por períodos de tiempo más corto. Igualmente, el tiempo total de vuelo de alimentación fue significativamente mayor en los grupos mantenidos con DP respecto a los grupos DR (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 5,24$; $P = 0,04$; Temp. $F_{(1,18)} = 0,32$; $P = 0,58$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,01$; $P = 0,94$).

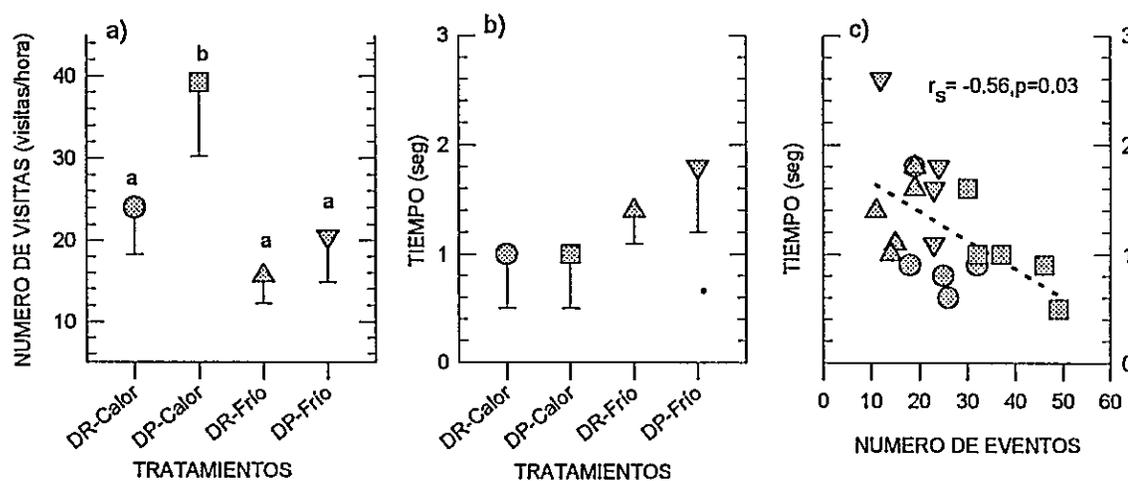


Figura 24: Actividades de forrajeo de *Sephanoides sephanioides* en los diferentes tratamientos: a) Número de visitas a los comederos. b) Tiempo medio del evento de alimentación, y c) Relación entre duración del evento de alimentación y número de eventos por tratamientos. Las letras representan diferencias entre los grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

En relación con la distribución del tiempo entre actividades como reposo y vuelo se observó un cambio significativo por efecto de la aclimatación al frío. En la figura 25a, se observa como ambos grupos mantenidos en frío permanecen significativamente más tiempo en reposo que los grupos aclimatados a calor (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 0,29$; $P = 0,60$; Temp. $F_{(1,18)} = 26,25$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,01$; $P = 0,90$). Además, los grupos mantenidos en frío volaron casi exclusivamente para alimentarse (Fig. 25b) mientras que en los grupos aclimatados a calor, el tiempo de vuelo asociado a forrajeo es significativamente menor (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 1,3$; $P = 0,27$; Temp. $F_{(1,18)} = 32,76$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,58$; $P = 0,45$), representando un 13% del tiempo total de vuelo. Este patrón de actividades es concordante con la disminución en el porcentaje de energía disponible para realizar otras actividades descrito previamente (véase Fig. 22).

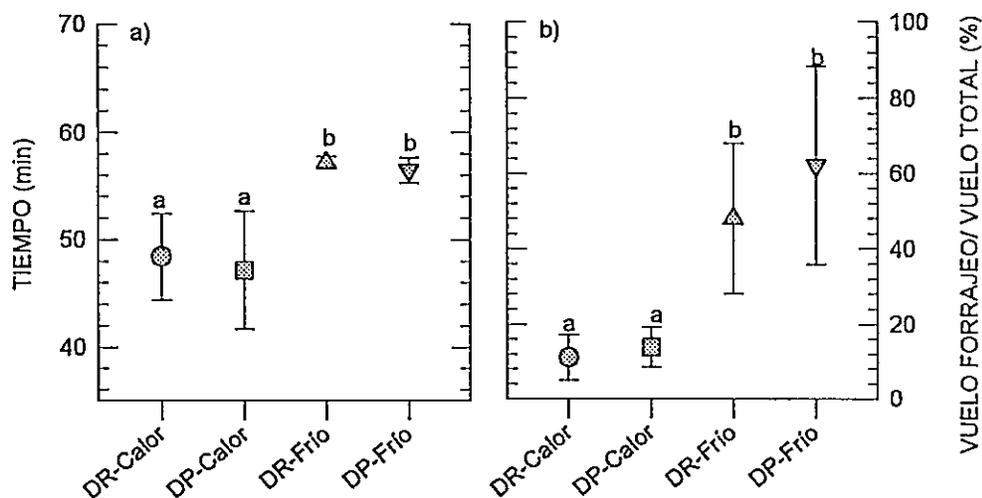


Figura 25: Presupuesto de tiempo de *Sephanoides sephanioides* en los diferentes tratamientos. Se presenta: a) Tiempo de reposo, donde las aves se mantuvieron posadas en una percha; y b) Porcentaje del tiempo total de vuelo correspondiente a actividades de forrajeo (visitas a comedero).

Relación entre la ingesta y gasto de energía y la variación de parámetros morfológicos:

Utilizando una regresión múltiple paso a paso se relacionó tanto el consumo de alimento (ml/g día) como la TMB (kJ/g h) y 14 variables morfológicas (masa organismo vivo, carcasa, masa ósea y muscular, grasa total, plumaje cobertor, corazón, pulmón, intestino, molleja, riñón, e hígado [g], además de largo intestino [mm] y superficie intestino [mm²], y de dos variables agrupadas como: órganos productores (considera corazón + pulmón), y órganos digestivos (considera intestino, molleja, riñón, e hígado), F de entrada = 4. Para TMB se obtuvo que dos variables, órganos productivos (W_{prod}), y grasa (W_g), explican el 45,5% ($P = 0,003$) de la variación en consumo de oxígeno observado a 30°C. La ecuación de regresión de mejor ajuste es: $TMB = 0.073 + 0,02 W_{prod} + 0.01 W_g$. Para determinar que variable estaría secundariamente relacionada con TMB se eliminaron W_{prod} y W_g del análisis. Solamente masa magra W_{mm} se relaciona significativamente con TMB, explicando por sí sola un 25,1% ($P = 0,02$) de su variación.

Con relación a la tasa de ingesta de alimento, se obtuvo que grasa total, W_g , y riñón, W_r , se relacionan significativamente con esta variable, explicando el 53,5% ($P < 0,001$) de su variación. La ecuación de regresión de mejor ajuste es: $Ingesta = 1,83 + 0,20W_g - 0,27W_r$. Al igual que con TMB, se buscó otra variable secundariamente relacionada, encontrando que tanto largo de intestino delgado (L_{id}) como hígado (W_h) explican un 36,1% de la variación en consumo de alimento ($P < 0,001$) cuando se eliminan del análisis grasa total y riñón.

*Phytotoma rara***Balance de peso.**

Todos los grupos experimentales presentaron peso corporal similar al inicio del tratamiento, con un promedio (\pm DE) de $42,8 \pm 2,2$ g. Pero al final del período experimental, los grupos modificaron sus pesos corporales, siendo significativamente diferentes entre tratamientos (véase Tabla 6).

Al analizar la dinámica de cambio de peso de los grupos experimentales (Fig. 26), considerando peso inicial vs. final, se encontró que los grupos mantenidos con DR subieron o mantuvieron su peso corporal durante el tratamiento (Wilcoxon: DR-Calor: $Z=2,20$; $P=0,03$ y DR-Frío: $Z=0,56$, $P=0,58$) (Tabla 6, Fig 26). En el caso del grupo control (DR-Calor), este recuperó y mantuvo su peso durante todo el período de aclimatación, en cambio el grupo DR-15°C presentó una rápida disminución de peso corporal, para comenzar a recuperar masa corporal al séptimo u octavo día de experimentación. Por otra parte, los dos grupos mantenidos con DP perdieron peso corporal significativamente (Ambos grupos: Wilcoxon Peso final vs. inicial: $Z=2,20$; $P=0,02$).

Tabla 6. Variación en peso corporal en *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. Los valores corresponden al promedio \pm 1DE. Se presentan los valores $F_{(1,22)}$ y P obtenidos con ANOVA de dos vías con interacción, en el caso de $P > 0,05$ se indica ns. (no significativo).

PESO CORPORAL (g)	DR-Calor		DP-Calor		DR-Frío		DP-Frío		ANOVA: Alimento		Temperatura.		Interacción.	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Inicial			43,1 \pm 1,8		43,6 \pm 1,7		42,9 \pm 2,8		ns.		ns.			ns.
Final			40,1 \pm 2,4		44,3 \pm 1,8		41,3 \pm 2,9		17,01	<0,001	ns.			ns.
Diferencia			-3,1 \pm 1,8		0,7 \pm 1,5		-1,6 \pm 1,1		75,60	<0,001	ns.			ns.

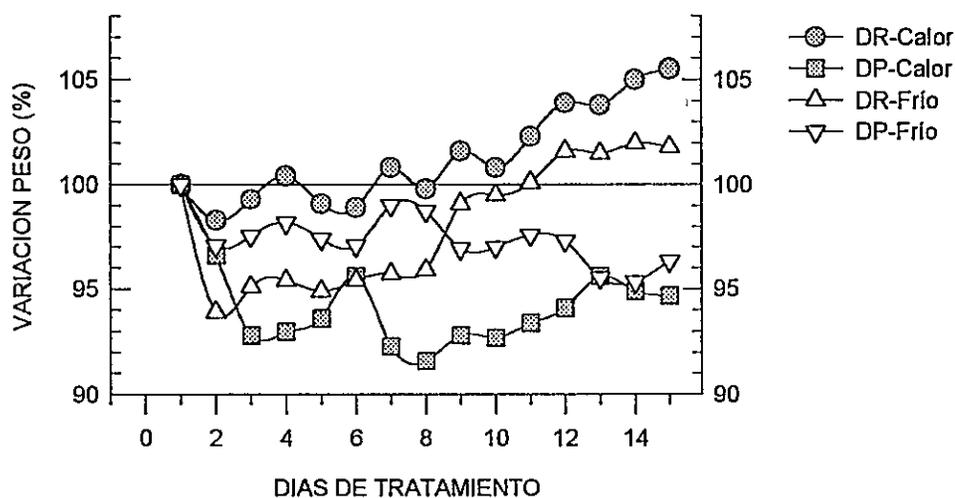


Figura 26: Variación del peso corporal de *Phytotoma rara* en los diferentes grupos experimentales y durante el período de aclimatación. Los valores corresponden al promedio y están expresados como porcentaje de cambio de peso ((peso día n / peso inicial)*100).

Tasa de ingesta y función digestiva

Phytotoma rara presentó una tasa de ingesta similar entre los tratamientos al inicio del período de aclimatación (Tabla 7, Fig. 27). Al final de este período, ambos grupos aclimatados a calor mantienen las tasas de ingesta iniciales (Wilcoxon: DR: $Z = 1,36$; $P = 0,18$ y DP: $Z = 0,10$, $P = 0,91$). En cambio, los dos grupos aclimatados a frío aumentaron significativamente su tasa de ingesta (Wilcoxon: DR: $Z = 2,24$, $P = 0,02$ y DP: $Z = 2,02$, $P = 0,02$), siendo el grupo DP-Frío el que presenta el mayor volumen de alimento consumido.

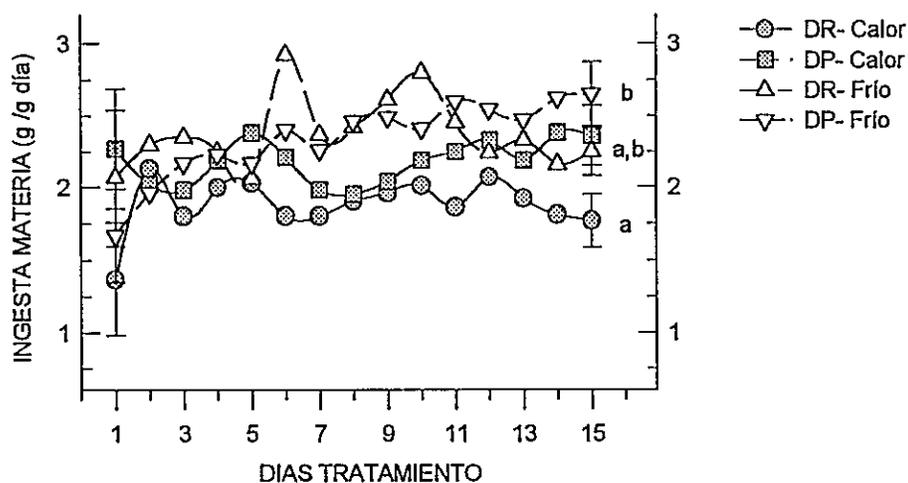


Figura 27: Cambios en la tasa de ingesta de materia húmeda por *Phytoloma rara* en los grupos experimentales durante el período de aclimatación. Los valores corresponden a los promedios. Las letras indican diferencias entre grupos al final del tratamiento según prueba no paramétrica *a posteriori*.

La ingesta de energía fue significativamente diferente entre los grupos al final del período experimental (Tabla 7), donde los dos grupos mantenidos en frío presentaron mayor ingesta de energía que el grupo control (DR-Calor). Al evaluar el efecto de los tratamientos sobre la digestibilidad de materia y energía, se encontraron diferencias significativas (Tabla 7), donde ambas variables disminuyen a medida que las condiciones energéticas y alimenticias son más extremas. Este patrón determina que tanto la materia y energía asimilada por los individuos sean significativamente diferentes entre los tratamientos (Tabla 7), observándose que a pesar del aumento en la ingesta del grupo DP-Frío la materia y energía asimilada no difiere significativamente respecto a los grupos termoneutrales, solamente el grupo DR-Frío aumenta su ingesta de materia y energía significativamente. Por otra parte, se observó que la digestibilidad de

fibra disminuye asociada al tipo de dieta (Tabla 7), siendo mayor en los grupos con dieta rica respecto a los con dieta pobre.

En la figura 28 se muestran los valores del tiempo medio de retención del alimento (TRM) en los diferentes tratamientos. Se observa que TRM varía significativamente según el tratamiento (ANOVA, Dieta: $F_{(1,24)} = 23,48$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(1,24)} = 5,34$; $P = 0,03$; Interacción: $F_{(1,24)} = 0,16$; $P = 0,68$), donde tanto el factor dietario como térmico determinan diferencias en la respuesta. Así los grupos DR presentaron TRM mayores que los grupos DP, y también los grupos Calor presentaron TRM mayores que los grupos Frío. El hecho que ambos factores sean significativos se debería a la variabilidad observada en el grupo DR-Frío. Por otra parte, y aunque el efecto de la interacción no fue significativo, el TRM disminuye significativamente asociado al incremento de las restricciones energéticas y tróficas experimentales ($r_s = 0,61$; $P = 0,001$).

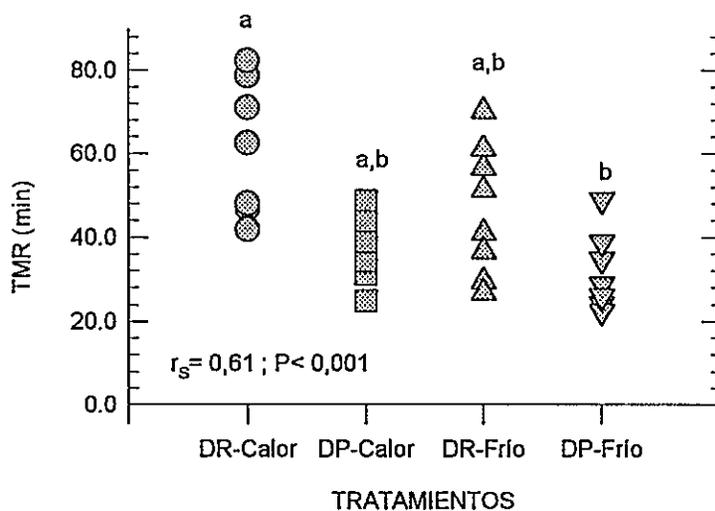


Figura 28: Tiempo medio de Retención (TRM) de *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. Cada punto representa un individuo. r_s : coeficiente de correlación de Spearman. Las letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Cambios morfológicos:

Solo carcasa (masa ósea, muscular y grasa) cambió significativamente entre los cuatro grupos (Tabla 8), observándose una tendencia de disminución del peso de carcasa de todos los grupos respecto al control (DR-Calor). Corazón y pulmón no presentaron modificaciones entre los tratamientos.

Respecto a las variaciones en peso de carcasa, son los grupos mantenidos a 15°C los que redujeron significativamente el tamaño de carcasa respecto a los dos grupos mantenidos a 30°C (ANOVA, Tabla 8). Estas diferencias en peso de carcasa no se expresaron en las variaciones de masa muscular y ósea o de grasa corporal, los dos componentes de la carcasa aquí evaluados. (ver masa magra y grasa corporal, Tabla 8). Aunque grasa corporal no presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos, se observó una correlación significativa y positiva entre peso de carcasa y grasa corporal ($r_s = 0,52$; $P = 0,005$), indicando que la disminución del peso de carcasa en los grupos aclimatados a 15°C se deberían a disminuciones de las reservas de grasa.

El plumaje cobertor, indicador de variaciones en la capacidad de aislación térmica, varió significativamente entre grupos por efecto térmico (Tabla 8), encontrándose que las aves aclimatadas a frío presentan más plumaje cobertor que las aclimatadas a calor.

En la tabla 8 también se presentan los cambios morfométricos de órganos digestivos, observándose cambios significativos al nivel de peso seco de hígado (W_h),

peso y área de intestino delgado (W_{id} , A_{id}), y peso seco de riñón (W_r). Todos estos órganos aumentaron de tamaño en los grupos aclimatados a frío. El riñón (W_r) fue el único órgano que presentó cambios significativos asociados a la interacción de los factores dietarios y térmicos. Con relación al aumento en W_{id} , su cambio en peso se explicaría por una combinación tanto del largo como del área nominal, considerando que ambas variables se correlacionan positivamente con W_{id} ($r_s = 0,62$; $P = 0,004$ para ambas variables). Tanto molleja y páncreas como intestino grueso no presentaron variaciones por efecto de los tratamientos (Tabla 8).

TABLA 8. Cambios morfométricos de *Phytotoma rara* como resultado de la exposición crónica a diferentes condiciones térmicas y tróficas. Se presentan los valores ponderados por peso seco total del ave. Datos corresponden al promedio \pm DE. Se presentan los valores $F_{(1,22)}$ y P obtenidos con ANOVA de dos vías con interacción, en el caso de $P > 0,05$ se indica ns. (no significativo), las letras representan diferencias entre grupos según prueba a posteriori no paramétrica.

	DR - Calor			DR - Frío			DP - Frío			ANOVA:					
	DP - Calor			DP - Frío			DP - Frío			Alimento		Temperatura		Interacción	
	F	P		F	P		F	P		F	P	F	P	F	P
ORGANOS															
EFFECTORES (mg/g)															
Carcasa	868,7 \pm 9,7	848,3 \pm 18,7	834,1 \pm 28,0	841,8 \pm 14,2	ns.	6,63	0,02	ns.	ns.						
Masa magra	623,5 \pm 75,7	631,7 \pm 75,0	624,8 \pm 71,4	675,6 \pm 75,9	ns.	ns.		ns.	ns.						
Corazón	11,24 \pm 1,27	10,13 \pm 0,68	10,44 \pm 1,25	10,58 \pm 1,31	ns.	ns.		ns.	ns.						
Pulmón	6,09 \pm 0,42	7,31 \pm 2,71	7,74 \pm 2,07	6,56 \pm 1,13	ns.	ns.		ns.	ns.						
Grasa (%)	28,02 \pm 9,00	25,46 \pm 9,49	24,99 \pm 9,36	19,69 \pm 9,47	ns.	ns.		ns.	ns.						
Plumas cobertoras	134,49 \pm 16,99	137,38 \pm 15,8	177,3 \pm 17,48*	155,0 \pm 20,16	ns.	13,65	0,001	ns.	ns.						
ORGANOS															
DIGESTIVOS (mg/g)															
Riñón	12,52 \pm 1,12 ^a	13,83 \pm 1,26 ^b	15,02 \pm 1,67 ^b	13,71 \pm 2,01 ^{a,b}	ns.	5,79	0,02	4,44	0,04						
Hígado	47,42 \pm 6,01	48,48 \pm 6,55	56,96 \pm 14,81	67,51 \pm 6,23	ns.	14,82	<0,001	ns.	ns.						
Molleja	10,40 \pm 1,19	9,96 \pm 1,69	8,87 \pm 1,26	9,84 \pm 0,73	ns.	ns.		ns.	ns.						
Páncreas	5,02 \pm 1,23	6,05 \pm 1,38	5,62 \pm 0,67	5,47 \pm 1,32	ns.	ns.		ns.	ns.						
ID ¹ : Peso (mg/g)	50,27 \pm 4,66 ^a	56,41 \pm 8,33 ^{a,b}	59,06 \pm 7,19 ^{a,b}	60,18 \pm 2,54 ^b	5,80	0,02	0,004	ns.	ns.						
ID: Largo (mm/g ^{0,66})	45,47 \pm 2,85	46,17 \pm 2,97	48,27 \pm 4,33	47,29 \pm 3,56	ns.	ns.		ns.	ns.						
ID: Area (mm ² /g ^{0,66})	386,0 \pm 47,6	385,2 \pm 57,1	456,4 \pm 57,4	404,0 \pm 50,9	ns.	4,37	0,04	ns.	ns.						
IG ² : Peso	4,56 \pm 1,84	4,59 \pm 1,31	5,04 \pm 1,09	4,31 \pm 1,30	ns.	ns.		ns.	ns.						
IG: Largo	4,84 \pm 1,32	4,55 \pm 0,79	5,51 \pm 0,82	4,80 \pm 1,57	ns.	ns.		ns.	ns.						
Peso fresco (g)	44,23 \pm 3,24	42,9 \pm 4,65	42,22 \pm 3,51	41,08 \pm 1,57	ns.	ns.		ns.	ns.						

¹ ID: Intestino delgado, ² IG: Intestino grueso.

Tasa metabólica basal:

La TMB no cambia por efecto del tratamiento (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 0,24$; $P = 0,62$; Temp. $F_{(1,18)} = 0,93$; $P = 0,34$; Interacción: $F_{(1,18)} = 0,84$; $P = 0,36$) (Fig. 29). La TMB promedio obtenido es $0,054 (\pm 0,007)$ kJ/g h ($n = 30$), valor similar al registrado para esta especie (promedio \pm DE = $0,050 \pm 0,004$, $n=13$, rango térmico de registro: 32 a 28°C , López-Calleja datos no publicados).

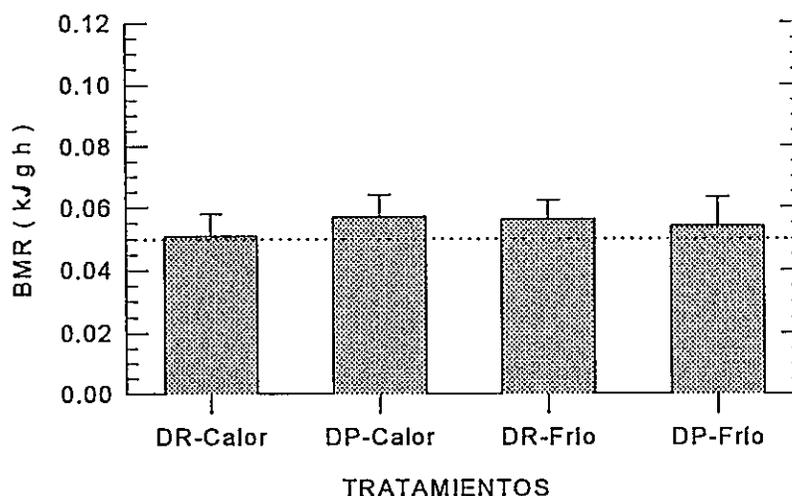


Figura 29: Variación de la Tasa Metabólica Basal (TMB) de *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. La línea punteada corresponde a TMB registrada para esta especie (López-Calleja datos no publ.).

Gasto diario de energía y balance energético:

El gasto diario total de energía es diferente entre tratamientos por efecto de la condición térmica de aclimatación (ANOVA, Dieta: $F_{(1,24)} = 1,7$; $P = 0,21$; Temp. $F_{(1,24)} = 6,93$; $P = 0,01$; Interacción: $F_{(1,24)} = 0,30$; $P = 0,59$), siendo mayor en los grupos de Frío respecto a los de Calor (Fig. 30). Al descomponer el gasto total en diurno y nocturno (Fig. 31), se observa que el gasto diurno es similar entre tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,22)} =$

0,04; $P = 0,96$; Temp. $F_{(1,22)} = 1,57$; $P = 0,35$; Interacción: $F_{(1,22)} = 0,14$; $P = 0,71$), siendo a nivel del gasto nocturno total donde los grupos mantenidos en condiciones térmicas de frío aumentaron significativamente el gasto de energía respecto a los grupos mantenidos en calor (ANOVA, Dieta: $F_{(1,24)} = 2,26$; $P = 0,14$; Temp. $F_{(1,24)} = 9,63$; $P = 0,005$; Interacción: $F_{(1,24)} = 0,23$; $P = 0,63$).

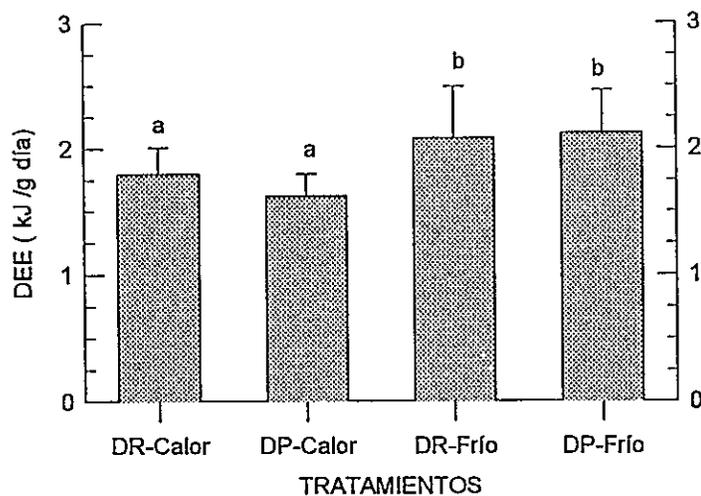


Figura 30: Gasto energético diario (DEE) de *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. Los valores corresponden a promedio \pm DE. Las letras representan diferencias entre tratamientos según pruebas no paramétrica *a posteriori*.

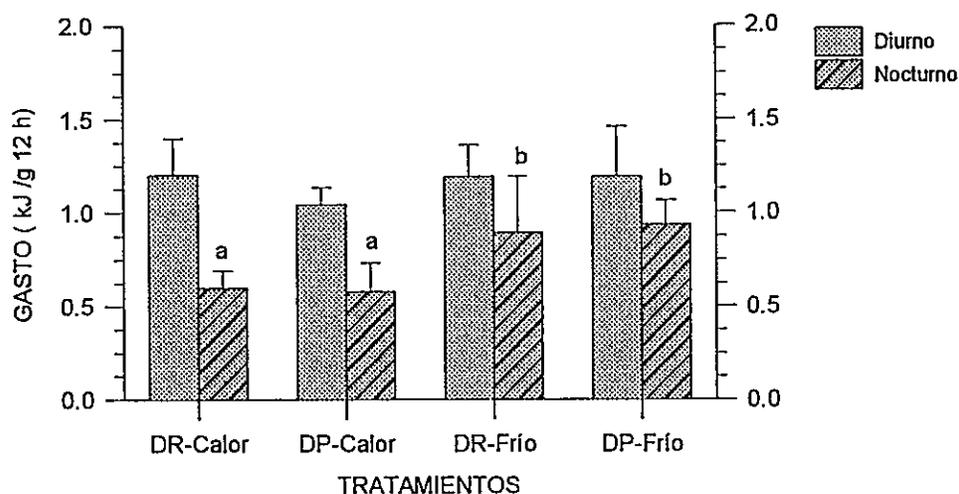


Figura 31: Gasto energético diurno y nocturno de *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. Los valores corresponden a promedio \pm DE. Las letras representan diferencias entre tratamientos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Esta diferencia nocturna estaría determinada por el aumento del gasto metabólico termorregulatorio a 15°C. Esto se confirma revisando los valores mínimos de consumo registrados en el período de oscuridad, observándose que existieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,21)} = 0,24$ $P = 0,63$; Temp. $F_{(1,21)} = 4,12$; $P < 0,04$; Interacción: $F_{(1,21)} < 0,01$; $P = 0,96$), donde los grupos mantenidos en termoneutralidad (calor) presentaron registros de consumo de oxígeno significativamente más bajos que los grupos de frío (Fig. 32).

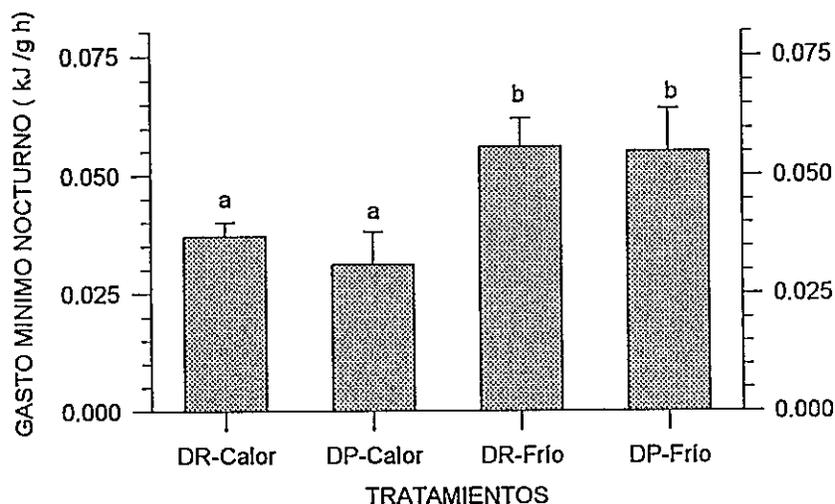


Figura 32: Gasto mínimo nocturno de *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. Los valores corresponden al registro más bajo obtenido en la fase de oscuridad. Se presenta el promedio \pm DE. Las letras indican las diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*.

Utilizando la información de energía asimilada (A_e) y gasto diario (DEE) durante el período de medición, se estimó el saldo de energía (A_e / DEE ; Fig. 33a). El saldo de energía fue diferente entre tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,22)} = 8,65$; $P = 0,007$; Temp. $F_{(1,22)} = 4,18$; $P = 0,06$; Interacción: $F_{(1,22)} = 2,50$; $P = 0,12$), donde los grupos que consumieron DR presentaron un saldo de energía significativamente mayor que los grupos aclimatados a DP. El peso corporal (Peso final – inicial) varió significativamente durante el período de registro entre los cuatro grupos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,22)} = 75,6$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(1,22)} = 1,82$; $P = 0,38$; Interacción: $F_{(1,22)} = 3,32$; $P = 0,08$), siendo ambos grupos DR los que aumentan o mantienen su peso corporal diario respecto a los grupos DP. Así, el saldo de energía se correlaciona significativa y positivamente con la variación diaria de peso al final del período de aclimatación (Fig. 33b).

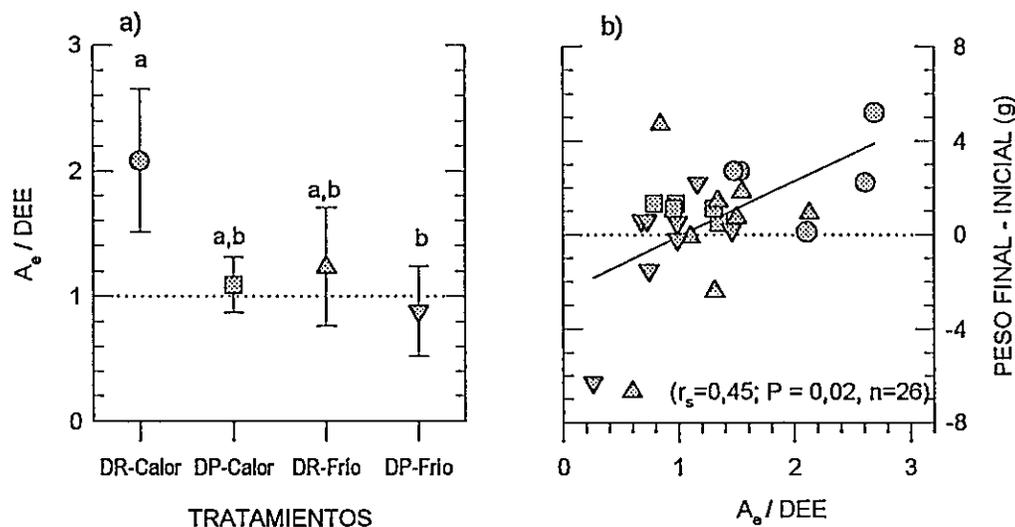


Figura 33: Balance de energía en *Phytoloma rara* en los diferentes tratamientos: a) Razón de proporción entre energía asimilada y gastada (A_e / DEE), y b) Saldo de energía y variación del peso corporal. Las letras identifican las diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*. En Fig. (a) se presentan los promedios \pm DE, donde la línea punteada indica $A_e = DEE$. y en fig. (b) cada punto representa un individuo y los símbolos corresponden a los grupos de fig 33a.

Como una manera de estimar que porcentaje de la energía total se habría invertido en termorregulación en los diferentes tratamientos, se utilizaron los datos sobre gasto mínimo nocturno a 15 y 30°C obtenidos previamente (véase Fig. 32). La figura 34 representa el porcentaje del gasto diario que se debería invertir en termorregulación por tratamiento. Se encontró que no existen diferencias significativas entre los grupos experimentales (ANOVA, Dieta: $F_{(1,22)} = 0,05$; $P = 0,81$; Temp. $F_{(1,22)} = 1,14$; $P = 0,29$; Interacción: $F_{(1,22)} = 0,26$; $P = 0,61$). En general todos los grupos habrían invertido cerca del 50 % del DEE en termorregulación. Esta mantención en el porcentaje de energía invertida en termorregulación se explica por la alta correlación entre DEE y gasto energético nocturno ($r_s = 0,86$; $P < 0,001$), lo que apoya la propuesta que el DEE

aumentó principalmente por efecto del incremento del gasto termorregulatorio y en menor proporción por efecto del gasto de forrajeo.

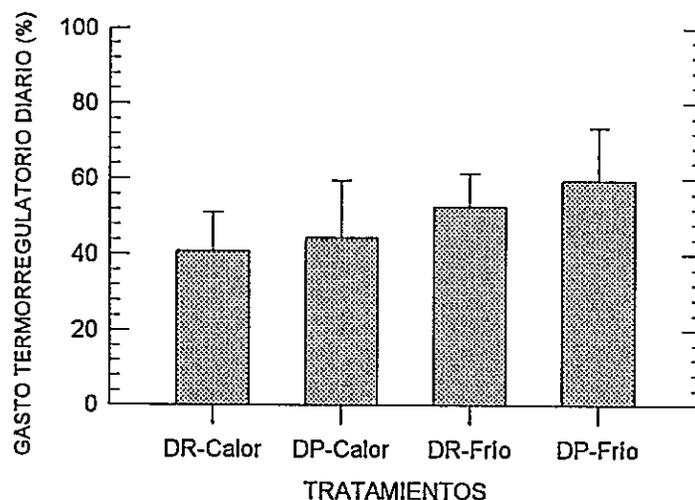


Figura 34: Proporción del gasto de energía diario invertido en termoregulación por *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos.

Presupuesto de tiempo:

Todas las aves evaluadas realizaron desplazamientos desde la percha hacia el comedero para alimentarse (evento de alimentación), y sólo ocasionalmente se movieron para consumir agua o realizar otras actividades. El tiempo invertido en alimentación (Fig. 35), cambió significativamente entre tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,20)} = 3,16$; $P = 0,09$; Temp. $F_{(1,20)} = 13,71$; $P = 0,001$; Interacción: $F_{(1,20)} = 3,16$; $P = 0,09$), donde los grupos de calor (DR y DP) invierten menos tiempo en alimentarse que los grupos de frío. El análisis estadístico indica un efecto marginal de la dieta, y de la interacción entre dieta y temperatura, donde el grupo DP-Calor es el que invirtió significativamente más tiempo forrajeando (véase Fig. 35). Entonces, las condiciones experimentales si

afectaron el presupuesto de tiempo, restringiendo el tiempo disponible para realizar otras actividades.

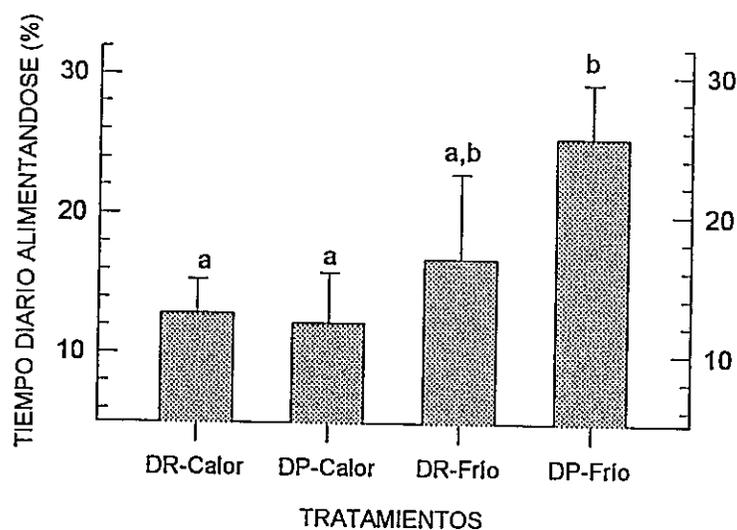


Figura 35. Variación del tiempo invertido en alimentación en *Phytotoma rara* en los diferentes tratamientos. Se presentan los promedios \pm DE. Las letras representan diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*

Al caracterizar la estrategia de forrajeo se observó que el número de visitas a los comederos no varía entre tratamientos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,20)} = 1,98$; $P = 0,18$; Temp. $F_{(1,20)} = 0,24$; $P < 0,63$; Interacción: $F_{(1,20)} = 0,52$; $P = 0,48$; Fig 36a), pero la duración promedio de los eventos de alimentación (Fig. 36b) si cambia entre los grupos (ANOVA, Dieta: $F_{(1,20)} = 0,30$; $P = 0,58$; Temp. $F_{(1,20)} = 23,0$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(1,20)} = 2,92$; $P = 0,10$), donde los grupos aclimatados a frío aumentaron la duración de los eventos de forrajeo. Se observa que es el grupo DP-Frío el que presentó eventos de alimentación más largos, esto es coincidente con el mayor tiempo total de forrajeo observado en este grupo. Los otros dos grupos (DR-Calor y DR-Frío) presentaron alta variabilidad en la respuesta. Al correlacionar el número de eventos con la duración de

los mismos, independiente del tratamiento experimental, se observó una correlación negativa (véase Fig 36c).

Durante el tiempo de alimentación en el comedero se observó que el número de picoteos realizados por evento de alimentación, cambia significativamente entre grupos por efecto de la temperatura (ANOVA, Dieta: $F_{(1,20)} = 0,66$; $P = 0,43$; Temp. $F_{(1,20)} = 18,76$; $P < 0,001$; Interacción: $F_{(1,20)} = 0,04$; $P = 0,85$), siendo los dos grupos de frío los que picotean más veces el alimento por evento que los grupos de calor. Entonces, el tiempo total de alimentación probablemente estaría restringido por el volumen de alimento que estas aves son capaces de manipular durante cada evento de consumo.

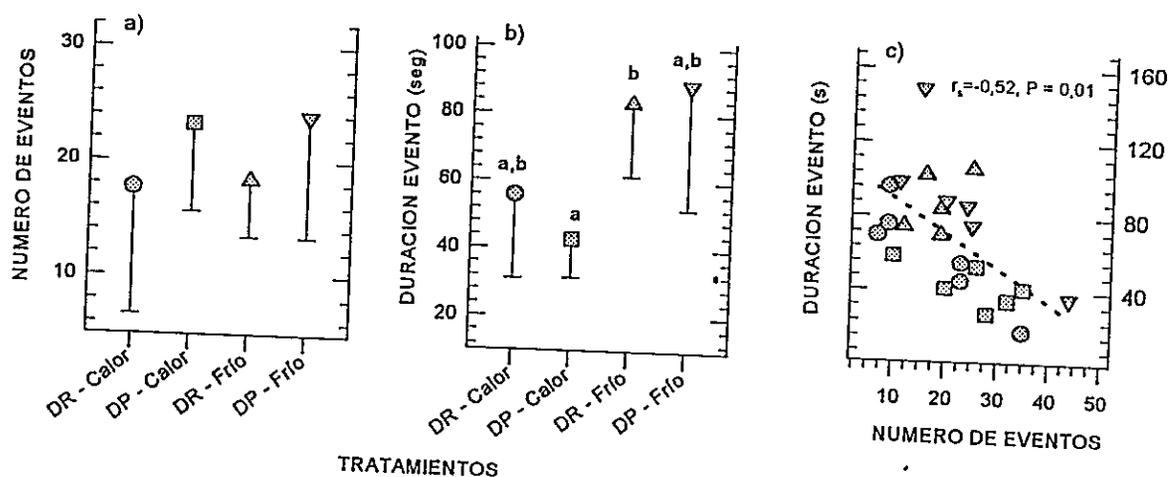


Figura 36: Actividades de forrajeo en los diferentes tratamientos en *Phytotoma rara*: a) Número de eventos de alimentación o visitas a los comederos, b) Tiempo medio del evento de alimentación, y c) Relación entre duración del evento de alimentación y número de eventos por tratamientos. En las fig (a) y (b) se presentan los promedios \pm DE, y las letras indican diferencias entre grupos según prueba no paramétrica *a posteriori*. En fig (c) cada punto representa un individuo, se presenta coeficiente de correlación de Spearman.

Relación entre la ingesta y gasto de energía y la variación de parámetros morfológicos:

Utilizando una regresión múltiple paso a paso se relacionó tanto el consumo de alimento (g/g día) como la TMB (kJ/g h) y 14 parámetros morfológicos (masa organismo vivo, carcasa, masa ósea y muscular, grasa total, plumaje cobertor, corazón, pulmón, intestino delgado y grueso, molleja, riñón, hígado, pulmón, [g], además de largo intestino delgado y grueso[mm] y superficie intestino [mm²], F de entrada = 4). Para TMB se obtuvo que ninguna de estas variables explican las variaciones individuales en TMB, esto confirma que la tasa metabólica basal no cambia significativamente entre los grupos experimentales (véase Fig 17), y que los cambios morfométricos observados no determinan cambios significativos en los gastos de mantención.

Por otra parte, la tasa de ingesta de alimento (peso húmedo) se relaciona significativamente con los cambios de peso corporal total (W_b) y peso de intestino delgado (W_{id}). Ambas variables explican un 34,1% ($P < 0,005$) de la variación observada en la tasa de ingesta. La ecuación de regresión de mejor ajuste es: $Ingesta = 2,27 + 0,55W_b + 0,44 W_{id}$ Para determinar si existía otra variable que relacionada secundariamente con ingesta, se eliminaron del análisis las variables ya identificadas, y se determinó que masa hepática (W_{hi}) por si sola explica un 17,1 % ($P=0,02$) de la variación en tasa de ingesta.

DISCUSION

Retomando los objetivos centrales de esta tesis, discutiré primeramente las respuestas conductuales, morfológicas y energéticas observadas en respuesta a los compromisos en la regulación del balance de energía, considerando el efecto del tiempo de aclimatación en la operación temporal de los mecanismos de limitación central y/o periférico. Para finalizar discutiré el efecto que las características de diseño de los organismos tendrían sobre la recurrencia y peso relativo de los mecanismos de regulación del balance energético.

RESPUESTA FRENTE A VARIACIONES AGUDAS DE TEMPERATURA Y DIETA DE ACLIMATACIÓN.

Según lo propuesto inicialmente, frente a cambios agudos en las condiciones térmicas se esperaba que de existir restricciones digestivas (centrales), las aves alcanzaran y mantuvieran una ingesta máxima pero paralelamente perdieran peso al no ser capaces de mantener el balance energético. Por otra parte una restricción periférica se visualizaría a través de un aumento constante de la ingesta con pérdida paralela de peso, dado que esta ingesta no sería suficiente para compensar el aumento brusco de los gastos energéticos. Estas propuestas descartaban como estrategia prioritaria el uso de las reservas energéticas (tejidos grasos).

Sephanoides sephaniodes

La respuesta de *S. sephaniodes* frente a los cambios agudos de los requerimientos energéticos es más compleja de lo inicialmente propuesto. Los antecedentes indican una conducta similar con ambas dietas, donde la expresión de las restricciones se acentúan con la dieta pobre o diluida. Así, con ambas dietas se alcanza un consumo máximo a los 15°C, que decae en los tratamientos más agudos. Estos cambios en la ingesta de energía se reflejan en el peso corporal, donde sólo los grupos mantenidos a 30 °C y el grupo DR-10°C mantienen peso. Todos los otros grupos reducen significativamente su peso corporal respecto a la condición inicial.

Entonces, ¿Representa la ingesta observada a 15°C la capacidad máxima de ingesta de *S. sephaniodes*? Primeramente los datos demuestran que *S. sephaniodes* posee la capacidad de ingerir mayores volúmenes diarios de alimento, dado que a 15 °C consumió más del doble de DP que DR (véase Fig. 4). Pero por otra parte, al expresar la ingesta como energía, y no como volumen consumido, se observa que ésta fue similar con ambas dietas, lo cual indicaría una restricción a nivel del volumen máximo de energía (o materia seca) capaz de ser procesado. En este contexto es interesante comparar los valores de energía asimilada (A_e) observados con los valores esperados según las ecuaciones para aves y mamíferos propuesta por Kirkwood (1983). Este autor señala que la asimilación máxima de energía (A_{max}) fluctuaría entre $1700 W_b^{0.72}$ kJ/día (W_b en kg), como promedio y $2200 W_b^{0.72}$ como límite máximo para aves y mamíferos.

Los registros de A_{emax} en los grupos de 15 °C fueron de 43,8 kJ/ave día, este valor se ubica entre el promedio y el tope máximo sugerido por Kirkwood (1983). Los dos tratamientos mantenidos en condiciones de termoneutralidad presentaron valores inferiores al promedio predicho, y los tratamientos de 10 °C y 5 °C presentaron valores similares. Entonces, los picaflores, sin aclimatación previa, tienen la capacidad de aumentar rápida y significativamente la ingesta de energía, alcanzando incluso valores mayores que los promedios máximos esperados (Kirkwood 1983). Esta capacidad de modular el volumen y energía consumida tendrían relación con los cambios bruscos en calidad y oferta de alimento que se observan en condiciones naturales (Carpenter *et al.* 1983, Powers & McKee 1994, Tamm 1987, López-Calleja *et al.* 1997).

Pero entonces surge otra pregunta: ¿Porqué los picaflores no mantuvieron las tasas de ingesta máximas observadas en los grupos aclimatados a 15°C al aumentar los requerimientos energéticos? Pareciera que *S. sephaniodes* al maximizar la ingesta de alimentos incurre en altos gastos energéticos asociados tanto a la estrategia de vuelo como al aumento en los compromisos termorregulatorios. Esto, considerando que a pesar de la alta ingesta observada en ambos grupos mantenidos a 15°C, tanto la ganancia diurna de peso, como el peso final no son significativamente diferentes al del grupo DR-10°C. Este grupo consumió menos alimento, gastando menos energía en vuelo sostenido, y permaneció mas tiempo en sopor respecto a los grupos de 15°C.

Respecto al forrajeo en picaflores, es importante considerar que se ha señalado que los picaflores presentan una capacidad máxima de ingesta por evento de forrajeo,

determinada por el volumen de la molleja (DeBenedictis *et al.* 1978), lo cual afecta el patrón de forrajeo diario (Stiles 1971, Hixon *et al.* 1983). Así, en situaciones de altos requerimientos energéticos o dietas diluidas, los picaflores deberían aumentar las visitas al comedero, y por lo tanto, aumentar el tiempo total diario de vuelo sostenido. Por otra parte, y relacionado con los costos de forrajeo, los picaflores en general y *S. sephaniodes* en particular, realizan vuelo sostenido ("hovering") mientras extraen el néctar de las flores (Skutch 1974). El vuelo sostenido tiene altos costos energéticos, estimados en 14 veces el gasto basal (Brackembury 1984, Bartholomew & Lighton 1986). Este valor aumenta en forma proporcional a la longitud del evento de alimentación (Bartholomew & Lighton 1986), y debido al tipo de movimientos alares, propios del vuelo sostenido, incrementa de manera severa la pérdida de calor por convección (Marsh & Dawson 1989). El costo asociado a termorregular es claramente inferior, en el caso específico de *S. sephaniodes* se ha calculado a 5°C en cuatro veces TMB (López-Calleja & Bozinovic 1995). Esta diferencia queda demostrada con los experimentos realizados con *Archilochus colubris* (4,5 g), donde el costo de forrajear volando aumenta significativamente al disminuir la temperatura de 35 a 5°C, siendo significativamente mayor que el costo de alimentarse posado y termorregulando a similar temperatura (Chai *et al.* 1998). Entonces, cuando los picaflores deben ingerir grandes volúmenes de alimento, deben realizar más visitas a los comederos destinando más energía para esta actividad. Esto afectaría la ganancia neta de energía por evento de forrajeo, comprometiendo las reservas de energía mínimas necesarias para el periodo nocturno.

Frente al compromiso energético, *S. sephaniodes* realizó sopor nocturno. Se ha calculado que el sopor nocturno podría representar hasta un 85% de ahorro respecto al gasto metabólico basal (Pearson 1950, Lasiewski 1963, Krüger *et al* 1982), y que sería utilizado como estrategia de emergencia asociada a disminuciones del volumen de reservas energéticas disponibles para termorregular durante el periodo nocturno (Calder 1994). Esto se observó en mis experimentos donde asociado a la reducción de la ingesta, las ganancias de peso (reservas) también se redujeron en los grupos más extremos, lo cual se correlaciona positivamente con la presencia y duración del sopor observado ($r_s = 0,35$; $P = 0,01$), como con los cambios en la temperatura ambiente ($r_s = 0,68$; $P = 0,01$). Trabajos previos realizados con esta especie detectaron que la calidad del alimento y la ganancia neta diaria de energía se correlaciona con presencia de sopor nocturno, incluso manteniendo la temperatura en condiciones de termoneutralidad (López-Calleja *et al.* 1997). Por lo tanto el sopor sería una estrategia comúnmente utilizada por *S. sephaniodes*, e inducida tanto por factores extrínsecos (condiciones ambientales) como intrínsecos (nivel de reservas energéticas). Es más, se ha documentado que los picaflores realizan cortos eventos de sopor durante el día como respuesta a aumentos en los costos de forrajeo (Tiebout 1991), disminuciones de la temperatura y/o reducciones en la disponibilidad de alimento (Beuchat *et al.* 1979, Schuchmann & Schmidt-Marloh 1979). Este sopor diurno permitiría reducciones de hasta un 25% en su gasto metabólico de reposo (Tiebout 1991). Esta alternativa no fue evaluada en este estudio, pero podría explicar la reducción en la actividad de forrajeo en los grupos aclimatados a frío. Es también probable que la baja correlación observada

entre cociente energético, o C_e , y variación del peso corporal ($r_s = 0,35$, $P = 0,02$), se deba a una subestimación del ahorro energético realizado a través del sopor.

En resumen, queda claro que bajo condiciones de altos gastos energéticos de termorregulación, los picaflores deberán realizar más visitas a las fuentes de alimento para obtener suficiente alimento y satisfacer estos gastos, pero el mismo incremento en la frecuencia de visitas determina incrementos en los gastos energéticos y pérdida de calor, imponiendo un compromiso entre maximizar la ingesta o minimizar el costo de forrajeo. Como respuesta los picaflores restringen las visitas al comedero al mínimo necesario, reduciendo los gastos energéticos asociados al forrajeo, e invierten la energía obtenida en termorregulación. En ambas condiciones no logran acumular el volumen suficiente de reservas energéticas para termorregular durante el periodo nocturno y presentan sopor como mecanismo de ahorro de energía. Lo anterior indica que *S. sephaniodes* presenta restricciones centrales y periféricas, asociadas tanto a las capacidades máximas de ingesta de energía como al costo asociado a la adquisición del alimento y al compromiso en el uso de la energía generada.

Phytotoma rara

En el caso de *P. rara* se observó un patrón de respuesta de acuerdo al esperado para los grupos mantenidos con dieta rica (DR), donde asociado al aumento de los requerimientos energéticos (15°C) se alcanza una tasa de ingesta máxima. Esta tasa de

ingesta se mantiene en condiciones térmicas extremas de 10 y 5°C, al igual que el peso corporal. Donde el C_e entre los grupos DR es significativamente diferente entre tratamientos, pero mantiene valores positivos, reflejando que la capacidad de ingesta sobrepasa los gastos termorregulatorios. Esto indica que aún en las condiciones térmicas mínimas experimentales, pero con una dieta energética y nutricionalmente rica – como sería DR – *P. rara* mantiene un balance de masas ajustado, aumentando el volumen de ingesta y probablemente reduciendo gastos extras (e.g. mediante cambios de postura). Por otra parte, en los tratamientos con dieta pobre (DP), la tasa de ingesta alcanza un máximo a los 15°C, pero luego decae gradualmente al disminuir la temperatura (véase Fig. 9), observándose un desbalance de masas y energía en los grupos DP a 10 y 5 °C, donde incluso un individuo del grupo DP-5 °C no sobrevivió. Lo anterior refleja que la interacción de los factores dietarios (DP) y térmicos (-10 °C) aumentan la expresión de las limitaciones digestivas de esta especie.

La ingesta máxima de materia seca en ambos grupos mantenidos a 15°C fue similar y alcanza los $11,6 \pm 1,5$ g/día, valor que no difiere significativamente (ANOVA: $F_{(1,16)} = 4,18$; $P = 0,1$), del obtenido con una dieta exclusiva de lechuga en condiciones de termoneutralidad y luego de seis días de aclimatación ($13,1 \pm 1,7$ g/día, en López-Calleja & Bozinovic, en prensa), esto indica que existiría una rápida modulación de la tasa de ingesta, alcanzando un consumo máximo, determinado por el volumen de materia seca del alimento que estas aves son capaces de procesar. Paralelamente, comparando nuestros datos de asimilación de energía con los valores esperados de A_{max} (Asimilación máxima) basados en la ecuación alométrica para aves paserinas ($A_{max} =$

16,42 g^{0.655}, Karasov 1990), encontré que el consumo en condiciones de DR-30 °C y DP-5°C es menor que el esperado (Wilcoxon, $P < 0,05$), mientras que todos los otros grupos presentan valores de A_{\max} no diferentes del esperado (Wilcoxon, $P > 0,05$), siendo máximo en el grupo DR-15°C con $150,8 \pm 20,7$ kJ/día (promedio \pm DE).

El rápido cambio en la digestibilidad de materia y energía observado entre grupos, correspondería a un cambio en la estrategia de digestión de *P. rara* frente al consumo de dietas pobres (alto porcentaje de material refractario), y probablemente aumentado por los gastos termorregulatorios. Uno de los principios centrales de la teoría de digestión es el compromiso que se establece entre aumentar la tasa de digestión o la eficiencia digestiva (Milton 1981, Penry & Jumars 1987, Martínez del Río & Karasov 1990, Robbins 1993). Este compromiso se explica por la relación inversa entre volumen de materia ingerido y tiempo de retención del alimento (Karasov 1987), y se observa en los grupos DP-10 y 5°C, donde *P. rara* reduce la ingesta de alimento, pero aumenta la eficiencia digestiva (digestibilidad de materia y energía), probablemente aumentando el tiempo de retención del alimento.

Entonces, frente al aumento de los gastos energéticos y oferta de dietas pobres *P. rara* aumenta la ingesta de materia y energía, pero esta estrategia no permite mantener un balance positivo, porque asociado al mayor volumen de alimento ingerido se reduce la eficiencia de asimilación. Frente a la disminución de energía asimilada *P. rara* cambia la estrategia digestiva maximizando la eficiencia, reduciendo la ingesta y probablemente aumentando el tiempo de retención del alimento, con lo cual aumenta

también la digestibilidad. Paralelamente a estos cambios digestivos la Rara utiliza las reservas energéticas, perdiendo peso corporal. Lo anterior indica que *P. rara* presenta prioritariamente restricción central, asociada al volumen máximo de materia que es capaz de procesar y a la composición química de la dieta. Pero frente a condiciones térmicas extremas (5°C), también presenta limitaciones periféricas en la capacidad termorregulatoria.

RESPUESTA FRENTE A VARIACIONES CRONICAS DE LA TEMPERATURA Y DIETA DE ACLIMATACIÓN.

Teóricamente, frente a cambios en las condiciones bióticas (e.g. alimento) y abióticas (e.g. temperatura), los organismos responden primeramente con cambios conductuales, y posteriormente con cambios morfológicos y fisiológicos (Karasov 1990, 1996, Calder & King 1974, Marsh & Dawson 1989). La capacidad y amplitud de estos ajustes serán determinantes en la mantención del balance de masas y energía. En este contexto, discutiré para cada especie si existieron restricciones en el balance energético y a que niveles estas fueron observadas. También discutiré los mecanismos compensatorios observados.

Sephanoides sephaniodes

Las condiciones experimentales afectaron el peso corporal y por lo tanto el balance energético en todos los tratamientos, observándose tres respuestas diferenciales. El

grupo control mantiene su peso corporal, indicando la ausencia de restricciones energéticas y/o dietarias. Los grupos intermedios (DP-Calor y DR-Frío), disminuyen inicialmente ($\pm 5\%$) su peso corporal, y luego lo estabilizan. Finalmente el grupo DP-Frío pierde cerca del 10% del peso corporal, presentando un claro desbalance de peso. El patrón de pérdida y posterior estabilización del peso ha sido descrito para otras aves enfrentadas a reducciones en la oferta y calidad de los recursos como un mecanismo de reducción de los costos de mantención (Waterlow 1986, Cherel *et al.* 1988, Cherel *et al.* 1992). Esta pérdida de peso comprometería las capacidades de reserva de tejidos grasos (Blem 1990). En condiciones naturales, pérdidas de peso prolongadas, sin aparente estabilización, indican el uso de tejidos que no son reservas grasas (e.g. proteínas). Estas reducciones pueden comprometer la sobrevivencia de los organismos, al reducir la capacidad de recuperación de tejidos esenciales, aún si las condiciones ambiente se tornan nuevamente benignas (Murphy 1996).

Modulación en la adquisición de energía.

Aparentemente las características del alimento determinan y limitan el volumen de alimento ingerido. Con DR la ingesta aumentó un 26% por efecto térmico, pero con el alimento DP la ingesta se mantiene a pesar de este efecto (véase tabla 4 y fig. 15). Este resultado no se ajusta a lo esperado, considerando que tanto en los experimentos agudos a 15°C, como al inicio de este experimento, los picaflones aumentaron su ingesta en condiciones de 15°C y en ambas dietas (50 a 70 % con DR y DP respectivamente), comportándose como maximizadores de energía (*sensu* Hixon 1982). Entonces, S.

sephaniodes presenta algún compromiso a largo plazo al consumir grandes volúmenes de alimento, esto determinaría una modificación de la estrategia de alimentación.

Al analizar los cambios asociados a la función digestiva se encontró que la calidad de la dieta se correlaciona positivamente con los cambios observados en las variables digestivas. Así, el PTI presenta una modulación dietaria asociada a la concentración diferencial de azúcares de las dos dietas experimentales. Este resultado concuerda con los aumentos en la velocidad de procesamiento, frente a dietas diluidas o pobres en azúcares, descritos en numerosas especies nectívoras (Karasov & Cork 1996, Levey & Martínez del Río 1998). La digestibilidad de materia en cambio, fue similar entre tratamientos, con un promedio (\pm DE) = 95,8 (\pm 1,7), valor similar al descrito para otros picaflor (Martínez del Río & Karasov 1990, Karasov 1990). Pero resulta interesante que tanto AMC como A_e fueran afectadas por la interacción entre los factores dietarios y térmicos de aclimatación, siendo el grupo DP-Frío el que reduce la materia y energía asimilada, coincidente con la baja de peso observada. Estos resultados son muy interesantes dado que indican por una parte que *S. sephaniodes* se comporta como un maximizador de energía frente a aumentos en los requerimientos energéticos pero solo con DR. Prop y Vulink (1992) trabajando con el ganso *Branta leucopsis*, encontraron que esta especie presenta diferentes eficiencias de extracción y tiempo de tránsito según las circunstancias en las cuales ser maximizador de energía o minimizador de tiempo (*sensu* Hixon 1982) sea más ventajoso. Este puede ser el caso del Picaflor.

La calidad de la dieta afecta claramente la morfología de los órganos digestivos (véase tabla 5). El incremento en tamaño de la molleja en los grupos mantenidos con DP respecto a DR resulta importante, especialmente en picaflores donde el tamaño de la molleja restringe el volumen de alimento ingerido por evento de forrajeo (DeBenedictis *et al.* 1978), y también determina el volumen de alimento que será almacenado en ella como combustible inicial, previó al uso de grasas, durante el período nocturno (Powers 1991). Cualquier incremento en su capacidad favorecería una mayor ingesta por evento de forrajeo, y la duración más prolongada de la última ingesta del día, lo cual demoraría el uso de las reservas de grasa en el periodo nocturno.

El incremento en masa del hígado observado en ambos grupos mantenidos con DP, estaría asociado por una parte a su función detoxificadora de sustancias derivadas de la degradación de proteínas (Schmidt-Nielsen 1990, Brody 1994). Esto considerando que aunque ambas dietas presentaban un porcentaje de proteínas similar, el ingerir mayor volumen de la DP aumenta significativamente la ingesta de proteínas (ANOVA, Dieta: $F_{(1,18)} = 118,7$; $P < 0,001$; Temp. $F_{(1,18)} = 2,83$; $P = 0,11$; Interacción: $F_{(1,18)} = 18,14$; $P < 0,001$). Es sabido que los picaflores de tamaño medio requieren niveles de nitrógeno reducidos por las características de sus dietas (Brice y Grau 1990, Robbins 1993), siendo entonces probable que el incremento de la masa hepática pueda reflejar el aumento de la carga proteica en estos grupos, de hecho la ingesta de proteínas se correlaciona positivamente con masa hepática ($r_s = 0,68$, $P < 0,001$) y renal ($r_s = 0,52$, $P = 0,02$). Este incremento en masa hepática y renal también se ha observado en roedores aclimatados a dietas ricas en proteínas (Zhao *et al.* 1996, Hammond & Janes 1998, Sabat

1998). Por otra parte el hígado es un órgano productor de energía, considerado uno de los más activos biosintéticamente, con una alta actividad gluconeogénica y sintetizadora de ácidos grasos (Suarez *et al.* 1988). Entonces, su incremento también puede dar cuenta de los mayores requerimientos de glucosa y grasa. Glucosa y grasa son utilizadas alternadamente durante el periodo nocturno. Estudios que determinan el cociente respiratorio y su relación con el sustrato metabólico utilizado, han demostrado que los picaflores utilizan en las primeras horas de oscuridad glucosa como sustrato, pero luego dependen de las reservas de grasa (Suarez *et al.* 1990, Powers 1991). Durante el día la glucosa es el principal sustrato metabólico utilizado, dado que su oxidación es la única capaz de producir el ATP requerido durante el vuelo sostenido, y la grasa es el sustrato utilizado para vuelos energéticamente menos costosos, como planeos entre flores y vuelos migratorios (Suarez *et al.* 1986). Basado en estos antecedentes, Suarez y colaboradores (1990) propusieron que los picaflores se comportarían como maximizadores de glucosa o minimizadores de grasa, priorizando la producción de azúcares sobre ácidos grasos, esto explicaría la disminución en las reservas de grasa en los grupos experimentales.

Al igual que el hígado, el riñón incrementa de tamaño en los grupos de DP-Calor y Frío un 16 y un 40% respectivamente (véase Tabla 4). Este aumento sería una respuesta relacionada al mayor volumen de agua y subproductos digestivos procesados, ya que el riñón participa tanto en el proceso detoxificador de proteínas (vía ácido úrico), como en la regulación hídrica (Gill 1989). El procesamiento del agua podría ser una fuente importante de restricción en las dietas más diluidas, especialmente considerando

que el agua sería completamente absorbida al nivel de ID en picaflores (McWhorter 1997), para luego ser eliminada vía renal (Beuchat *et al.* 1990). Aunque, la respiración es una vía alternativa de pérdida de agua, Powers (1992) trabajando con el picaflor *Calipte anna* determinó que la pérdida de agua por evaporación, es relativamente baja respecto a los volúmenes ingeridos en condiciones térmicas de frío. Esto indicaría que la principal vía de regulación hídrica sería renal, y aunque los riñones de picaflores tienen capacidad de excretar grandes volúmenes de agua (Calder & Hiebert 1983), McWhorter (1997) ha propuesto que pueden considerarse uno de los órganos asociados que limitaría la velocidad del procesamiento digestivo del alimento y sus subproductos. Hammond & Janes (1998) ya han documentado un patrón similar en roedores, donde serían órganos asociados al sistema digestivo - como riñones - los que impondrían los límites al proceso de adquisición de energía y nutrientes.

Con relación al tracto digestivo, se observa un cambio sólo en el área nominal del intestino delgado (A_{id} , véase tabla 5), la cual incrementa un 22% en el grupo DP-Frío respecto al grupo control. Estas modificaciones están ampliamente documentado en la literatura para numerosas especies de aves (véase Karasov 1990, 1996) y se relacionan a un incremento de la capacidad de absorción de nutrientes (e.g. monosacáridos). Este cambio también podría reflejar una restricción en la tasa de absorción de agua a este nivel, que según McWhorter (1997) se realiza al nivel de ID en picaflores.

En definitiva, todos estos cambios señalan claramente que *S. sephaniodes* realiza ajustes morfológicos y conductuales destinados a aumentar su capacidad de ingesta y

adquisición de energía y nutrientes frente a dietas diluidas. Pero el hecho que el volumen de ingesta, PTI, digestibilidad y morfología digestiva sean similares entre dietas, independiente de efecto térmico puede indicar que se habrían alcanzado las capacidades máximas de ajuste o márgenes de seguridad en estas variables (“*safety margin*”, *sensu* Alexander 1981). Solo experimentos en condiciones más crónicas a las aquí usadas podrían clarificar este punto. Otra alternativa es que sean restricciones asociadas a las capacidades de gasto las que limitan la ingesta de mayores volúmenes de alimento. La discusión de los cambios energéticos y conductuales observados buscará definir esta situación.

Cambios en capacidad productora.

Los cambios en el peso de la carcasa (masa magra y grasa) se explican por un efecto combinado de los tratamientos, donde los individuos mantenidos en frío aumentan el peso de masa magra (W_{mm}) y los mantenidos con dieta diluida presentan menos reservas de grasa. Es más, todos los individuos del grupo control y algunos de DR-15°C presentaron grasa subcutánea, lo cual no se observó en ninguno de los individuos de los grupos mantenidos con DP. Como ya mencioné, las reservas de grasa son importantes en picaflores, al ser el sustrato metabólico utilizado durante el periodo nocturno (Suarez *et al.* 1990), siendo la manera más eficiente de almacenar energía, al pesar ocho veces menos que un volumen de néctar con igual valor energético (Pyke & Waser 1981, Schmidt-Nielsen 1990). Datos para los picaflores *Calipte anna* y *C. costae* indican que las reservas diarias de grasa, medidas como incremento diario de peso, son utilizadas luego de las reservas de glicógeno en la noche (Powers 1991). Antecedentes sobre

acumulación de grasa en poblaciones invernales de *S. sephaniodes* presentes en el área de estudio y por lo tanto con oferta de alimento de similar concentración a DR (López-Calleja, datos no publicados), indican valores de grasa corporal similares a las condiciones DP-Frío, DR-Frío y DP-Calor, (promedio \pm DE = $26,1 \pm 3,9$, n = 6). Se ha determinado que los picaflores son capaces de aumentar sus reservas grasas, utilizando sopor nocturno, previo a eventos migratorios (Carpenter & Hixon, 1988, Hiebert 1993, Calder 1994). Entonces es probable que las condiciones experimentales, como naturales invernales determinen un mayor uso de los sustratos metabólicos para volar y/o termorregular lo cual compromete el volumen normal de grasa.

El aumento de peso en masa magra, corazón y pulmón de ambos grupos aclimatados a Frío, respecto a los dos grupos mantenidos en calor (Control y DP-Calor), indica un efecto de la aclimatación térmica sobre estos órganos. El aumento de masa magra estaría asociado a un mayor requerimiento de masa muscular específica, destinada a aumentar la eficiencia al tiritar ("shivering"). El tiritar, o temblor muscular, es el mecanismo mas utilizado por las aves para termorregular (Marsh & Dawson 1989), pero presenta restricciones tanto biomecánicas, al requerir una dinámica de contracción muscular distinta al vuelo sostenido como también restricciones circulatorias, debido a que las contracciones isométricas continuas, características del tiritar, limitan la circulación sanguínea (Marsh & Dawson 1989). Considerando que el temblor muscular se caracteriza por contracciones simultaneas y contrarias de músculos antagonistas, mientras que para el vuelo sostenido se utilizan contracciones reciprocas y secuenciales de estos músculos (Rayner 1988, 1996), se ha señalado que el diseño y proporción

muscular en picaflores genera compromisos entre termorregular y volar (Marsh & Dawson 1989, Rayner 1996). Apoyando esta propuesta, se ha observado que la expansividad metabólica en vertebrados en condiciones de termorregulación o ejercicio (e.g. vuelo) son diferentes (Hinds *et al.* 1993), debido a que serían distintos mecanismos de producción de energía al nivel de tejido muscular (Marsh & Dawson 1989). Mas aun, en picaflores, por el desarrollo diferencial de los dos grandes músculos involucrados en el vuelo sostenido (pectoral y supracoracoides), se generaría menor energía al realizar contracciones simultaneas que secuenciales (Marsh & Dawson 1989, Dawson & Connors 1996). Esto explica que la expansividad metabólica de termorregulación en el Picaflor se haya calculado en 8,4 veces la TMB (López-Calleja & Bozinovic 1995), valor claramente inferior a los 12 o 14 veces en que se ha estimado la capacidad expansiva en vuelo sostenido.

En este contexto, el aumento en tamaño de corazón y pulmón en los grupos aclimatados a frío se explicaría por un aumento en la capacidad de entregar nutrientes y oxígeno a tejidos periféricos como los musculares. Incrementos en peso de estos órganos han sido documentados tanto para aves (Piersma *et al.* 1996) como para roedores (Toloza *et al.* 1991, Hammond & Diamond 1992, Konarzewski & Diamond 1994) en situaciones naturales y experimentales bajo termoneutralidad. Estos ajustes reflejarían compromisos termorregulatorios en *S. sephaniodes*, especialmente en situaciones térmicas restrictivas constantes y que se prolongan en el tiempo.

El proceso de aclimatación térmica se refleja en un cambio en la capacidad de producción de calor, con mantención de la capacidad de aislación. Energéticamente, los gastos metabólicos de *S. sephaniodes* aumentaron por efecto de las condiciones experimentales. La TMB aumentó entre un 19% a un 25% en los grupos aclimatados a frío (DR y DP respectivamente) respecto al control. Incrementos de TMB han sido ampliamente documentados para aves de pequeño tamaño en respuesta a disminuciones de la temperatura ambiental (Hart 1962, Gelineo 1969, Pohl & West 1973, Kendeigh & Blem 1974). Así, la TMB se correlaciona positiva y significativamente con el incremento en peso de órganos productivos (corazón y pulmón) además de grasa corporal, que explican el 45 % de su variación (véase regresión múltiple), y secundariamente con peso de masa magra (25,1% de su variación). Se ha sugerido para vertebrados, que cerca del 70% del gasto metabólico en reposo estaría explicado por órganos como riñón, corazón, hígado y cerebro (Krebs 1950, Schmidt-Nielsen 1990, Else & Hulbert 1985). Apoyando esta observación, Daan y colaboradores (1990) trabajan con 22 especies de 7 taxa diferentes de aves y encuentran que el peso de corazón y riñón son mejores predictores de las variaciones de la TMB que el peso corporal. La relación que se observa entre grasa corporal y TMB puede relacionarse al rol que cumplen las reservas energéticas en los picaflores como sustrato metabólico para termorregular. McDevitt y Speakman (1994b) encuentran una relación significativa entre grasa parda y TMB en experimentos de aclimatación al frío en el roedor *Microtus agrestis*. La masa muscular sería en cambio el principal consumidor de oxígeno durante el periodo de actividad (Else & Hulbert 1985), pero dado su incremento en masa, asociado a su papel termorregulador, se explica su relación con TMB. Finalmente, y a

pesar de que órganos del sistema digestivo como molleja, intestino e hígado incrementaron de tamaño, y presentan altos gastos de mantención (Krebs 1950, Schmidt-Nielsen 1990), no se correlacionan con los cambios observados en TMB. El hígado, siendo un órgano muy activo metabólicamente (Krebs 1950, Schmidt-Nielsen 1990, Daan et al. 1990), no se correlaciona con las variaciones de la TMB, esto puede deberse a que las variaciones observadas entre tratamientos se ajustan a sus funciones digestivas y no energéticas como ya se mencionó.

El gasto diario (DEE) fue también mayor en los grupos aclimatados a frío, siendo en el periodo diurno donde se registran estas diferencias (véase Fig. 18 y 19). Esta diferencia estaría asociada al aumento en los gastos energéticos de termorregulación más que de forrajeo, considerando que *S. sephaniodes* aumenta al doble los gastos termorregulatorios - en condiciones de reposo y postabsortivo - a temperaturas de 15°C (López-Calleja & Bozinovic 1995). Los gastos de forrajear en cambio, no aumentan significativamente entre las temperaturas experimentales aquí utilizadas, de 30°C y 15°C (Chai et al. 1998). Más aún, considerando que el tiempo total de vuelo al final del periodo de aclimatación, fue incluso mayor en los grupos aclimatados a calor (véase fig. 25). Estas diferencias en gasto de energía observadas durante el día no se presentan durante el periodo nocturno, debido a las reducciones en el gasto energético asociado al uso de sopor en los grupos aclimatados a frío. Como ya se mencionó en los experimentos de aclimatación aguda, el sopor representa una estrategia de ahorro de energía significativa para estas aves, y se relacionaría con las reservas de grasa acumuladas durante el día. La relación entre presencia de sopor y porcentaje de grasa

acumulada es coincidente tanto en los experimentos agudos (medida indirectamente como incremento diario de peso), como crónicos (medida como grasa total).

Modulación de la conducta.

Aparentemente no existen diferencias en el tiempo total de actividad entre tratamientos. Pero las estrategias de forrajeo si fueron diferentes, al variar el número de visitas y su duración entre los grupos experimentales. Cambios en el presupuesto de tiempo frente a restricciones dietarias y térmicas han sido ampliamente descritos para picaflors (e.g. Tamm 1987, Taylor & Kamp 1985, Tiebout 1991). Relacionado con estos cambios en la estrategia de forrajeo, los grupos mantenidos en frío redujeron los vuelos anexos, no asociados al forrajeo. Se ha descrito que las especies mantenidas en cautiverio reducen el tiempo diario de vuelo, permaneciendo más tiempo en reposo, lo cual se ha explicado por la capacidad de percibir una disponibilidad *ad libitum* de alimento (Hiebert 1992). Aunque este patrón pudo afectar nuestros resultados, igualmente los grupos mantenidos en calor realizaron más vuelos no asociados al forrajeo. El menor tiempo invertido en vuelos anexos de los grupos mantenidos en frío correspondería a una estrategia de ahorro de energía frente al compromiso entre volar o termorregular. Coincidente con esto, se observó que durante el día los picaflors mantenidos en condiciones termoneutrales mantenían una posición característica, con patas, cuello y cabeza erguidas, alejándolas del cuerpo; en cambio los individuos mantenidos en Frío mantenían las patas, cuello y cabeza recogidas sobre el cuerpo al descansar en la percha. Ambas posturas se asocian a mecanismos de disipación de calor o mantención de temperatura corporal en picaflors (Udvardi 1983).

Entonces, *S. sephaniodes* presenta cambios conductuales, morfológicos y fisiológicos asociados tanto a responder a los cambios térmicos como a los dietarios. Aparentemente tanto los procesos digestivos como los productores limitan el balance energético en condiciones crónicas. Esto se visualiza con el análisis del balance energético, a través de la relación entre energía asimilada (A_e) y gastada (DEE). Las diferencias dietarias del grupo DP-30°C respecto al control no se observan en la regulación diaria de energía. Este grupo aumenta la ingesta de alimento, reduce y estabiliza su peso y aumenta la capacidad del sistema digestivo, y aunque aumenta el tiempo de vuelo, no se observan cambios en el gasto de energía. El grupo DR-15°C, aumenta la ingesta de alimento pero no cambia ninguna variable digestiva evaluada, en cambio aumenta la TMB, (aumento en masa al nivel de órganos productores), y el DEE (termorregulación diurna). Siendo la mayor ingesta de alimento y el ahorro de energía – vía cambio conductual y sopor nocturno – lo que permitiría mantener un balance energético ajustado a 0 en este grupo. Finalmente el grupo DP-Frío presenta un nivel de ingesta similar al grupo DP-Calor, a pesar de aumentar sus requerimientos energéticos, como se desprende del incremento en TMB y DEE. Los órganos digestivos como intestino delgado (A_{id}), hígado y riñón aumentaron en área y peso respectivamente, al igual que en el grupo DP-Calor. Esto determina que el volumen de energía permita principalmente la mantención de gastos termorregulatorios, con poca energía anexa que debe distribuirse en forrajeo y aumento de las reservas diarias para mantención durante el periodo nocturno. Frente a estas restricciones los individuos de este grupo reducen sistemáticamente su peso corporal, y presentan balances negativos o cercanos a cero.

Esto permite concluir que en estas condiciones crónicas experimentales (DP-15°C), *S. sephaniodes* presenta restricciones tanto centrales como periféricas en la mantención del balance de energía, alcanzando probablemente los rangos máximos de ajuste digestivo y también energético, pero dada la gran plasticidad conductual que esta especie presenta para adaptarse a estos compromisos, mantiene una condición de balance ajustado a 0 aunque compromete la mantención del peso corporal.

Phytotoma rara

La dinámica de cambio de peso observada en los diferentes tratamientos indica que frente a las diferentes condiciones dietarias y térmicas experimentales las aves presentan procesos de ajuste diferenciales. Resulta interesante que el grupo DR-Frío reduzca más de un 5% su peso corporal al inicio de experimento y luego recupere el peso inicial, a pesar de mantener relativamente estable su ingesta de alimento. Los otros dos grupos (DP-Frío y DP-Calor) también muestran un patrón característico de un ajuste del peso corporal frente a limitaciones crónicas de nutrientes y/o energía, con una reducción inicial del peso y posterior estabilización a un peso menor (Waterlow 1986, Murphy *et al* 1988, Cherel *et al.* 1988, Cherel *et al.* 1992). Lo anterior indica que estos grupos modificaron algún mecanismo morfológico, fisiológico y/o conductual que aumentaría la eficiencia en el proceso de adquisición y/o gasto de materia y energía en este grupo.

Modulaciones en la adquisición de energía.

Phytotoma rara presenta una modulación temporal del volumen consumido, tiempo de tránsito y digestibilidad de materia y energía. La ingesta máxima (A_{max}) de materia seca al final del tratamiento en ambos grupos aclimatados a frío es $11,9 \pm 0,9$ g (promedio \pm DE, $n = 16$), valor similar al observado en los experimentos agudos, y que representa un 31 % de incremento respecto al grupo control. Tanto el TRM, la digestibilidad y la morfología digestiva cambiaron en los tratamientos. La digestibilidad de materia y energía disminuye asociada a la mayor ingesta de alimento como a la calidad de la dieta (véase tabla 7). Esta disminución en digestibilidad se explica porque el tiempo de retención del alimento (TRM) disminuyó significativamente con la dieta pobre, siendo similar al esperado para un passerino de este tamaño sólo en el grupo control (TRM = $29,37 W_b^{0,215}$ min Karasov 1990). Específicamente, los grupos DR-Frío y DP-Calor aumentan la ingesta de materia seca, reducen levemente el TRM y aumentan la superficie absorbente, expresado por el aumento del W_{id} (véase tabla 8), manteniendo la digestibilidad similar respecto al grupo control (véase tabla 7). Estos cambios permitirían al grupo DR-Frío mantener la eficiencia de este proceso (Karasov 1996) y presentar tasas de energía asimilada superiores en un 20% respecto al grupo control (tabla 7). La teoría de digestión (Sibly 1981, Penry & Jumars 1987) predice que en ausencia de aumentos compensatorios en tasa de hidrólisis y/o absorción, una disminución del tiempo de retención producirá una disminución en la eficiencia de digestión. Esto se comprueba en nuestro experimento con *P. rara*, la cual disminuye significativamente el tiempo de retención con la dieta mas diluida (mayor fracción de

material refractario), y aunque el peso de ID (W_{id}) tiende a incrementar en tamaño, no sería suficiente para aumentar la capacidad de hidrólisis y/o absorción y compensar los cambios del tiempo de tránsito. Lo anterior explica la significativa reducción de la digestibilidad de materia, energía y fibra observada en el grupo extremo DP-Frío

Este patrón de modulación entre tiempo de retención del alimento, morfología digestiva y digestibilidad está ampliamente descrito para aves y mamíferos en respuesta a cambios dietarios y térmicos. Así, se ha documentado que aumentos en el porcentaje de fibra en la dieta reducen el tiempo de retención (Malone 1965, Storey & Allen 1982), y/o aumentan la longitud del tracto digestivo (Savory y Gentle 1976, Kenward & Sibly 1978, Al-Joborae 1980, Kehoe *et al.* 1988, Brugger 1991). También se han descrito aumentos en W_{id} como respuesta a mayores requerimientos térmicos (Dykstra & Karasov 1992).

Aumentos del volumen de alimento ingerido y materia asimilada deberían constituir una mayor carga para órganos como intestino, hígado y riñón, dado que los nutrientes ingeridos deben ser hidrolizados y absorbidos en ID, procesados en el hígado y finalmente los subproductos de esta elaboración deben ser eliminados vía renal. En el caso de hígado y riñón no se observó un aumento en volumen por efecto dietario, siendo el efecto térmico de aclimatación el que mejor explica su variación (véase tabla 8). El hígado tiene numerosas funciones relacionadas a su conexión con los sistemas digestivo y circulatorio. Por una parte, todos los nutrientes absorbidos en ID pasan a través del hígado para su transformación y distribución, así los cambios en el peso de hígado se

correlacionan positivamente tanto con ingesta de materia seca ($r_s = 0,55$; $P = 0,002$), como con peso de intestino ($r_s = 0,57$; $P = 0,01$), lo que indicaría que parte importante de la hipertrofia hepática observada podría ser explicada por sus funciones asociadas a la transformación de nutrientes. En este sentido, se ha documentado para aves que la capacidad gluconeogénica del hígado aumenta en el periodo invernal, asociado a los mayores requerimientos de glucosa como sustrato metabólico (véase Dawson & Connors 1996). Por otra parte el hígado es el principal órgano donde se produce la lipogénesis en aves (Herzberg & Rogerson 1990), siendo un fenómeno común en aves el almacenar lípidos previo a eventos de migración o durante el invierno (Carey *et al.* 1978, Dawson *et al.* 1983, Blem 1990). Es factible suponer entonces, que la hipertrofia observada en los individuos aclimatados a condiciones de frío se relaciona con un aumento de la actividad gluco y lipogénica. Con relación al riñón, su tendencia a incrementar de tamaño en el grupo DR-Frío se explicaría también por su función de eliminar las sustancias de desecho asociadas a una mayor ingesta de materia.

Entonces, tanto al nivel morfológico como funcional del sistema digestivo, se observan ajustes que permiten aumentar el volumen de alimento procesado. Este sería el factor restrictivo en la mantención del balance de energía en *P. rara* tanto a corto como a largo plazo.

Modulación en la producción de energía.

En general *P. rara* no presenta cambios en el tamaño de los órganos efectores en respuesta a los cambios experimentales (véase tabla 8). Sólo carcasa disminuye en todos

los grupos respecto a la condición control, y aunque los niveles de grasa corporal no fueron diferentes entre tratamientos, el peso de carcasa se correlaciona positivamente con la variación del porcentaje de grasa corporal total ($r_s = 0,52$; $P = 0,005$). Esto indica que los grupos mantenidos en frío habrían disminuido el porcentaje de grasa corporal.

La tasa metabólica basal (TMB) no varía entre tratamientos, es más, no se encontró ninguna relación entre las variaciones en tamaño de los órganos efectores y TMB (véase análisis de regresión múltiple). Lo que indicaría que ni el aumento de los requerimientos termorregulatorios, ni los incrementos detectados en el peso de hígado, riñón e ID son significativos para determinar un incremento del gasto metabólico basal de *P. rara*. Este resultado es coincidente con datos de campo y laboratorio que señalan que las aves presentarían estrategias alternativas que les permiten regular su temperatura corporal en ambientes bajo termoneutralidad sin incrementar los costos metabólicos de mantención (Calder & King 1974). Entre estas, el aumento del plumaje cobertor es una de las estrategias de aislación térmica descritas (Marsh & Dawson 1989). Esta estrategia fue observada en *P. rara*, que aumenta significativamente el peso del plumaje cobertor en los grupos de frío respecto a los grupos de calor (véase tabla 8). Aunque se ha propuesto que aves paserinas de pequeño tamaño (< 100 g), presentarían principalmente incrementos en la capacidad de producción de calor en respuesta al frío (Dawson *et al.* 1983, Swanson 1991), Novoa y colaboradores (1994), trabajando en ambientes naturales con el paserino *Zonotrichia capensis* (22 g), describen un incremento en plumaje cobertor en invierno respecto al verano, y además una mantención en la TMB, concluyendo que el aumento de aislación permitió compensar el aumento en el gasto

energético por termorregulación en esta especie (Novoa & Rosenmann 1996). Estos resultados son coincidentes con los obtenidos para *P. rara*.

El aumento del gasto energético diario (DEE) en los grupos bajo termoneutralidad se explica por el incremento diferencial del gasto nocturno. Durante la noche, *P. rara* debe aumentar su capacidad de termogénesis para termorregular a 15 °C, aumentando cerca del doble su TMB (López-Calleja, datos no publicados). Esto explica que la fracción del DEE invertido en termorregulación no es diferente entre tratamientos. Con relación al gasto durante el día, se esperaba un incremento en este periodo dado que los grupos aclimatados a frío, forrajearon y consumieron más alimento. Esto no se observó debido a que no requerían volar para alimentarse y ambos alimentos presentaban similar textura, por lo cual tampoco existían costos diferenciales de manipulación del alimento (López-Calleja & Bozinovic, en prensa). Es factible postular que en condiciones naturales, estos cambios deberían expresarse en aumentos en la fracción diurna del DEE, especialmente en aquellos periodos más fríos o con alimento escaso, donde la actividad de forrajeo deba incrementarse. Por otra parte, la mantención de los gastos diurnos entre tratamientos es coincidente con la mantención de masa muscular, ya que según Else y Hulbert (1985), cambios en los gastos diarios se correlacionan positivamente con cambios en masa muscular.

Por lo tanto, *Phytotoma rara* utiliza mecanismos compensatorios morfológicos y conductuales, de ahorro energético, como el aumento de la aislación térmica y la selección de sitios de refugio. Respuestas conductuales y orgánicas asociadas al

aumento de la aislación térmica son alternativas y/o complementarias a las respuestas metabólicas para compensar el incremento en los gastos metabólicos (Gelineo 1969). En este caso se observó un incremento en peso del plumaje cobertor en ambos grupos aclimatados a frío (véase tabla 8), como también una conducta postural característica de evasión de frío, con patas y cuello ocultos y el plumaje inflado, estas conductas son una importante estrategia de ahorro energético en aves (Marsh & Dawson 1989). Además, las aves de los grupos aclimatados a 15°C se mantenían en sectores bajos y cercanos al comedero, sin utilizar la percha disponible salvo ocasionalmente y durante el día. Es probable que los sectores adyacentes al comedero presentaran condiciones microclimáticas más favorables que el área abierta de la percha. Aunque esta alternativa no fue evaluada cuantitativamente, esta descrita como una conducta de evasión al frío la selección de sitios de refugio que permiten minimizar los costos termorreguladores (Kendeight 1961, Buttemer 1985).

Modulación de la conducta.

Los ajustes compensatorios más flexibles en aves frente a restricciones energéticas y dietarias corresponden a cambios en la conducta de forrajeo (Murphy 1996). Acorde con esto, las raras aumentaron el tiempo invertido en forrajear bajo termoneutralidad. Esto es explicado por el mayor tiempo requerido para ingerir el mayor volumen de alimento consumido en los grupos mantenidos en frío. La estrategia de alimentación observada en Rara es mantener el número de visitas al comedero pero modificar su duración según la condición climática.

Luego de 15 días de aclimatación, todos los ajustes morfológicos, fisiológicos y conductuales permitieron que los tres grupos experimentales presenten balances diarios ajustados, no distintos significativamente de 0 (Wilcoxon $Z = 0,82$; $P = 0,41$). Siendo el grupo control el único que mantiene un balance diario claramente positivo. La variación del peso corporal resulta un buen predictor de la condición energética del organismo. Así, son los individuos de los grupos más extremos los que perdieron masa corporal y presentaron balances negativos o solo equilibrados.

En resumen, *P. rara* presentó cambios morfológicos fisiológicos y conductuales principalmente asociados al proceso de adquisición de energía, tanto por efecto dietario como térmico. Los cambios en los procesos asociados al gasto de energía, no reflejan restricciones en la capacidad productiva de esta especie, mas bien reflejan una estrategia de ahorro de energía al aumentar su grado de aislación térmica. Esto permite señalar que *P. rara* presenta principalmente restricciones centrales, que fueron compensadas a través de cambios morfológicos, funcionales y conductuales, e igualmente se reflejaron en reducciones del peso total del organismo. Es probable que condiciones más crónicas, con alimento de menor calidad o condiciones térmicas más extremas, determinen un desbalance significativo entre adquisición y gasto de energía.

LIMITACIÓN CENTRAL O PERIFÉRICA EN EL BALANCE DE ENERGÍA: TIEMPO DE EXPOSICIÓN Y MODELOS DE ESTUDIO.

Tiempo de exposición y mecanismos restrictivos:

A corto plazo (24-48 horas) no existe la posibilidad temporal de modular funciones fisiológicas complejas, observándose respuestas principalmente conductuales (Murphy 1996). Entonces, los organismos pueden responder a incrementos en los requerimientos energéticos aumentando la entrada de energía y/o utilizando sus reservas energéticas para mantener el balance de energía (McDevitt & Seakman 1994a). La selección de una o ambas estrategias estaría sujeta a las características de cada especie y a la plasticidad con que pueden regular el flujo de energía. Así tanto *S. sephaniodes* como *P. rara*, aumentan su ingesta hasta los niveles máximos como primera línea de respuesta. Pero a pesar de este incremento, *S. sephaniodes* no es capaz de acumular el volumen de reservas necesarias para mantener eutermia durante el periodo nocturno por el aumento de los costos asociados al forrajeo y los requerimientos termorregulatorios, y aunque reduce sus gastos energéticos mediante el mecanismo de sopor nocturno, presenta pérdida de peso indicando una restricción central. Frente a cambios más agudos *S. sephaniodes* presenta limitaciones tanto en la adquisición como en la producción de energía para cubrir sus gastos diarios, por lo cual reduce su actividad e ingesta diaria y aumenta el tiempo en sopor nocturno. *P. rara* en cambio, aumenta y mantiene una alta tasa de ingesta, limitada por la capacidad de procesar mayores cantidades de alimento, pero con alimentos pobres los niveles de energía asimilada decaen y frente al aumento en los requerimientos energéticos reduce la ingesta y utiliza sus reservas energéticas, indicando una restricción periférica en condiciones agudas extremas (DP-10 y 5°C).

Considerando los resultados obtenidos, es claro que a corto plazo adquiere relevancia la capacidad de almacenar reservas energéticas (e.g. grasa corporal), y su potencial duración en el tiempo. La duración de las reservas en condiciones de ayuno ("fasting endurance") se relaciona con el tamaño corporal y el gasto basal de las especies (Calder 1996). Por una parte, la capacidad de reservas de energía aumenta asociada al tamaño corporal en una función no isométrica, donde las especies de menor tamaño poseen menor capacidad de reserva que las especies grandes (Calder 1996), y por otra parte la TMB peso específica, disminuye al aumentar el tamaño corporal (Kleiber, 1961, Calder 1996). Esta relación determina que en individuos de pequeño tamaño, como picaflores, las reservas duren menos tiempo que en organismos más grandes, como las ratas. Hanski (1985) encontró que musarañas (Soricidae) de diferentes tamaños corporales (2 a 15 g) responden a cambios energéticos agudos, modificando la conducta de alimentación según el volumen de sus reservas energéticas, donde las especies pequeñas continúan forrajeando y las grandes usan sus reservas. Un resultado similar se observó con el roedor *M. agrestis* (20,8 g), que prioriza el uso de las reservas energéticas sobre el aumento de la ingesta como primera línea de respuesta frente a aumentos bruscos de los requerimientos energéticos indicando un compromiso en su capacidad termorregulatoria (McDevitt & Seakman 1994).

Es esperable entonces que frente a cambios ambientales bruscos (24 a 48 h), los organismos respondan según su nivel de reservas energéticas y flujo de energía. Organismos con gran capacidad de reserva podrán mantener el nivel de gastos

energéticos adecuados para asegurar su sobrevivencia durante ese periodo, combinando el consumo de alimento y el uso de sus reservas de energía (tejidos grasos), pero organismos de pequeño tamaño, con baja proporción de reservas, y en general altos gastos energéticos deberán mantener una alta actividad de forrajeo tanto para financiar el aumento en los gastos termorregulatorios como para mantener el volumen básico de reservas para financiar los gastos durante el periodo nocturno. Es claro entonces que la regulación del balance de energía presenta escalas temporales diferenciales, especies pequeñas deberán mantener balances a corto plazo y responder con mayor rapidez a los cambios del ambiente que las especies de mayor tamaño.

La capacidad de modular las funciones digestivas rápidamente es la otra línea de respuesta que se observa. Ambas especies aquí estudiadas duplicaron la capacidad de ingesta de energía en un corto periodo de tiempo y con ambos tipos de alimento. Considerando que a corto plazo no existen cambios morfológicos en las estructuras digestivas, un aumento en la tasa de ingesta determinaría una disminución del tiempo de tránsito lo cual se asocia a una disminución en la eficiencia de asimilación, bajo la premisa que los organismos se comportan como maximizadores de energía (Martínez del Río 1990, Karasov 1996), esto debería reflejarse en una reducción de la energía asimilada. Nuevos antecedentes han propuesto que bajo condiciones de mantención, cuando los animales no están creciendo, reproduciéndose o almacenando grasas, no utilizan toda su capacidad digestiva, presentando un seguro temporal o tiempo libre en los procesos digestivos ("idle time" ver López-Calleja *et al.* 1997). Este tiempo correspondería a un margen de seguridad, que permitiría a los organismos responder a,

por ejemplo, cambios ambientales bruscos. La amplitud de este margen de tiempo libre estaría dada por la calidad del recurso alimenticio. Así el aumento de ingesta permitirían mantener la eficiencia de asimilación, a pesar de modificar el tiempo de tránsito. De hecho ambas especies aquí estudiadas aumentaron cerca del doble su ingesta, probablemente modulando tiempo de tránsito, manteniendo la digestibilidad, resultados que apoyan el modelo de ingesta constante de energía propuesto por López-Calleja y colaboradores (1997). Resultados similares han sido observados en otras especies (Karasov & Cork 1996, Levey & Martínez del Río 1998). Basada en estos antecedentes postulo que las especies, independiente de sus características energéticas, en condiciones de termoneutralidad y con recursos abundantes se comportan como minimizadores de tiempo (*sensu* Hixon 1982) manteniendo tasas de ingesta de energía constantes. Esta estrategia permite enfrentar rápidamente cambios ambientales bruscos modificando la ingesta.

Por otra parte, y en relación con la capacidad diferencial de ingesta máxima observada entre las dos especies modelo, se ha propuesto que la ingesta máxima de energía asimilable (A_{max}) fluctúa en una razón de 3 a 6 veces la TMB (Kirkwood 1983, Kersten & Piersma 1987, Karasov 1990). Al comparar ambas especies se observa que *S. sephaniodes* presenta capacidades cercanas al límite máximo (6,1 a 15°C, ambas dietas) y *P. rara* en el límite mínimo (3,1 a 15°C, ambas dietas) del mismo rango. Lo anterior apoya la idea que ambas especies presentan capacidades de ingesta y volúmenes de flujo de energía diferentes determinados por sus capacidades metabólicas y asociados a sus características de diseño y estrategias de vida. Este resultado concuerda con la

propuesta de clasificación energética de las especies (Szarsky 1983, Gnaiger 1987), como de poder para *S. sephaniodes* y frugal para *P. rara*.

Ahora, y considerando cambios dietarios y térmicos que se observan frente a condiciones específicas que duran en el tiempo, ambas especies presentaron diversos ajustes conductuales, morfológicos y funcionales al nivel de los procesos de adquisición como de gasto de energía. Ambas especies compensan la disminución en la calidad dietaria aumentando la ingesta de alimento y reduciendo el tiempo de tránsito. Pero al nivel morfológico, el cambio en la calidad de la dieta afecta sólo a *S. sephaniodes*. El cambio térmico en cambio, afecta a ambas especies aunque diferencialmente, *S. sephaniodes* aumenta el tamaño de los órganos productivos y la TMB pero no las variables dietarias, y *P. rara* aumenta el tamaño de órganos digestivos y la aislación térmica.

Estas respuestas confirman que *P. rara* presenta la capacidad digestiva de incrementar el volumen de alimento procesado, situación que es coincidente con los requerimientos de una dieta natural diversa, donde los alimentos presentan composición hídrica, nutricional y refractaria muy diferente (véase tabla 2), presentando restricción central asociada al volumen máximo de materia que es capaz de procesar. Esta especie presenta ajustes morfofuncionales a nivel del sistema digestivo solo frente a cambios térmicos, reflejando una limitación central en el flujo de energía a estos niveles experimentales. Así la estrategia energética global de regulación del balance energético es principalmente digestiva, aumentando la ingesta de materia y energía y ajustando el

peso corporal a estas capacidades. En el ámbito de gastos la estrategia observada es reducir la pérdida de calor, aumentando el grado aislamiento térmica.

S. sephaniodes en cambio, a largo plazo presenta claras restricciones dietarias asociadas al grado de dilución del alimento, pero también al volumen de proteínas consumidas, incluso en condiciones de termoneutralidad. Esto también es coincidente con su dieta natural y preferencias, ya que el Picaflor presenta un rango de preferencias tanto en terreno como laboratorio muy restringido, donde siempre selecciona los néctares más concentrados. Además, los néctares naturales presentan reducidos niveles de aminoácidos (Baker 1975), y los picaflores ingieren proteínas mediante el consumo voluntario de insectos (Stiles 1995). Esta especie también presenta ajustes morfológicos y conductuales frente a las restricciones térmicas, aumentando la capacidad de generar calor (mayor TMB, e incremento órganos productivos), lo que indica que también presenta restricción periférica. Entonces *S. sephaniodes*, aumenta el ingreso de energía y la producción de energía hasta los límites que sus sistemas lo permiten.

En los ajustes morfológicos y funcionales observados en esta tesis, el tamaño corporal desempeñaría un papel importante. Si consideramos que existen dos vías de aumentar las capacidades funcionales en los organismos: modificar la eficiencia del proceso y/o el tamaño del órgano o sistema, y considerando que el tamaño corporal y las restricciones de diseño asociadas a este afectan numerosas funciones y definen los límites del tamaño de las estructuras en los organismos, determinando las capacidades máximas de ajuste frente a diversas condiciones ecológicas (Schmidt-Nielsen 1990).

Entonces, organismos de pequeño tamaño deberían presentar alta eficiencia en la operación de sus sistemas, los que funcionarían más próximos a sus capacidades máximas. Esto se observa por ejemplo en picaflores, donde la eficiencia digestiva y de producción de energía es la más alta observada en vertebrados (Karasov 1990, Suarez *et al.* 1988). También en musarañas se observa un patrón similar, donde la capacidad máxima de latidos cardíacos (Morrison *et al.* 1959) esta en el límite de lo factible teóricamente.(Schmidt-Nielsen 1990). Entonces, en estos organismos sólo un incremento en tamaño permitiría aumentar la capacidad funcional (Schmidt-Nielsen 1990). Los vertebrados más pequeños actualmente conocidos ($\pm 2g$) pueden entonces definir un compromiso entre forma y función, donde ciertos órganos funcionan permanentemente cerca de sus capacidades máximas, haciendo a estas especies dependientes de un rango ambiental muy reducido y altamente sensibles a los cambios ambientales térmicos y dietarios. Organismos de mayor tamaño presentarán sistemas menos eficientes y menores restricciones asociadas a incrementar su tamaño y eficiencia, presentando mayor capacidad de respuesta. Esto determina también mayor independencia frente a cambios en el ambiente.

Por otra parte, ambas especies aumentan la capacidad de adquirir y gastar energía como respuesta a las condiciones experimentales más crónicas. Estos cambios en el flujo de energía se correlacionan positivamente con incrementos de estructuras morfológicas relacionadas con estos procesos. Lo que sugiere que ambas especies mantienen las capacidades de órganos en rangos que no exceden los requerimientos fisiológicos en las condiciones de termoneutralidad. Esta estrategia se explicaría por los

altos costos energéticos de mantención que presentan ciertos órganos y (e.g. hígado, riñón, ID, Krebs 1950). Este patrón de incremento ha sido descrito como respuesta frente a aumento de los requerimientos en numerosos vertebrados en condiciones de campo y experimentales y en órganos digestivos (Karasov 1986, 1996), como productores (Konarzewski & Diamond 1994). También se ha observado inversamente este patrón, donde especies mantenidas en cautividad con alimento *ad libitum* y termoneutralidad, reducen el tamaño de órganos digestivos (e.g. estomago, intestino delgado), órganos efectores (e.g. hígado, riñón, masa muscular) y variables metabólicas (TMB) respecto a condiciones naturales (Karasov 1996, Piersma *et al.* 1996).

Con relación a los factores limitantes de la regulación del balance de energía, se ha propuesto que ambas vías de flujo funcionan en serie y han evolucionado coajustados y óptimamente como un conjunto (Peterson *et al.* 1990, Hammond & Diamond 1992), fundamentado en que construcciones excesivas son costosas de mantener e inútiles en sistemas que funcionan en serie, por lo cual no serían evolutivamente ventajosas (Taylor & Weibel 1981). El primer punto en contra de una visión de ajuste a nivel del balance o flujo de energía es que los procesos de adquisición de energía se dan en serie, pero los procesos de gasto se presentan en paralelo (Weiner 1992). Es más, aunque los procesos digestivos se dan en serie, algunos de los componentes de esta serie presentan varias funciones, por ejemplo órganos como hígado que presenta importantes funciones digestivas y también productoras que tienen alta relevancia en la actividad metabólica (Krebs 1950, Daan *et al.* 1990, Scott & Evans 1992). Por otra parte, existen episodios durante el ciclo anual de las especies donde claramente ambos procesos no

funcionan sincrónicamente, como durante los periodos pre-migratorios cuando las aves aumentan su capacidad de ingesta sin incrementar, o incluso reduciendo sus gastos para acumular reservas energéticas (Alerstam & Lindström 1990). Finalmente se ha demostrado que incluso en situaciones de altos requerimientos, donde se esperaría un co-ajuste, sólo una de las dos vías aparece restringiendo el flujo de energía, encontrando antecedentes de especies que presentan restricciones a nivel de adquisición de energía, donde la capacidad absorptiva del ID sería un factor determinante (“cuello de botella”) de la capacidad tope de ingesta (Kirkwood 1983, Daan *et al.* 1990). Esta tesis confirma que el sistema digestivo puede ser restrictivo de los procesos de adquisición de energía, pero mis resultados me permiten postular que órganos asociados al sistema digestivo – como hígado – también son determinantes y restrictivos en este proceso. Por otra parte, también se han documentado restricciones en la capacidad termorregulatoria, observándose que la capacidad de producir energía es diferente según su destino, e.g. reproducción, vuelo o termorregulación (e.g. Hind *et al.* 1990, Daan *et al.* 1990), encontrando especies que a corto y largo plazo presenta restricciones en la capacidad de producir energía primeramente que en la de adquirirla (McDevitt & Speakman 1994a, 1994b, Konarzewski & Diamond 1994) lo cual rechaza la hipótesis de limitación central. Todos estos antecedentes se oponen a una hipótesis de co-ajuste en los procesos de adquisición y gasto de energía.

Entonces, y considerando lo expuesto anteriormente, los resultados aquí obtenidos confirman que no existe un mecanismo regulador único ni un acoplamiento entre ambos procesos como tampoco una única posible respuesta. Aparentemente los

organismos presentan compromisos digestivos y/o energéticos dependiendo de los factores de restricción y de las estrategias energéticas que los caracterizan. Esta variabilidad en la operación de los factores de restricción se explicaría porque estrategias de vida y características de diseño específicos se asocian a diferentes niveles especialización morfológica, fisiológica y conductual, siendo probable que la capacidad de ajuste o de reserva de los sistemas involucrados en el balance energético sean diferentes según estas características. A nivel general sin embargo, este trabajo permite proponer que más que un co-ajuste en las capacidades de ambas vías del flujo de energía, lo que se observa es un proceso de regulación integral del presupuesto energético. Este proceso depende de las características de diseño y estrategias de vida propias de cada especie, donde el balance de energía puede regularse en cortos o largos períodos de tiempo, y compromete la modulación de numerosas variables, tanto conductuales, morfológicas como fisiológicas, siendo la capacidad máxima de cambio o plasticidad de estas variables la que determinará los límites y capacidades máximas a corto y largo plazo en la mantención de un balance positivo.

Estrategias energéticas, balance y flujo de energía.

Con relación a las estrategias energéticas que estas especies representarían, y como se mencionó inicialmente *S. sephaniodes* presenta una TMB peso específica y capacidad aeróbica más alta que la esperada para un ave de su tamaño corporal (López-Calleja & Bozinovic 1995). En este trabajo se confirma que consume y prefiere néctar con altas concentraciones de sacarosa (0,75 a 1,25 M), que presenta alta eficiencia digestiva (95

%), y altos volúmenes de ingesta. Al nivel de flujo de energía se confirma el alto volumen de energía que procesan diariamente, al casi cuadruplicar los gastos basales en diversas condiciones crónicas, incluso a 30°C, sextuplicando la TMB frente a cambios ambientales y/o dietarios agudos y restrictivos. Dado que no se observaron incrementos de peso, se confirma que este excedente energético es utilizado casi totalmente para financiar los gastos asociados a su estrategia de forrajeo y actividades termorregulatorias diurnas. Pero los continuos episodios de sopor nocturno observados en todos los tratamientos crónicos y agudos, confirman que este nivel de flujo es aún insuficiente para financiar todos los gastos energéticos de esta ave.

Por otra parte, *P. rara* presenta una dieta preferentemente herbívora, y aunque tiene una TMB de 0,055 kJ/gh (este trabajo), 15% superior a la esperada para su tamaño corporal (Daan *et al.* 1990), presenta una capacidad aeróbica máxima de termorregulación de 5 x TMB (López-Calleja, datos no publicados), valor levemente inferior al documentado para aves paserinas de menor tamaño (*Z. capensis*, 20 g [Novoa *et al.* 1990], y *Junco hyemalis*, 17 g [Swanson 1991]). A nivel del flujo de energía, *P. rara* presenta menor flujo de energía que el Picaflor tanto en condiciones crónicas (1,5 veces TMB), como agudas (3,1 veces TMB). Es más, este volumen de energía en condiciones crónicas esta en el rango más bajo de los descritos, similar por ejemplo al registrado para la codorniz *Callipepla gambelli*, (1,3 veces TMB, Peterson *et al.* 1990).

El balance de energía final (razón A/ DEE) es una manera global, a nivel del organismo completo, de evaluar los efectos de todos los cambios particulares. Ambas

especies mantienen balances diarios ajustados, y solo los grupos extremos presentan individuos con balance negativo (véase Fig. 21 para *S. sephaniodes* y Fig. 36 para *P. rara*). Ambas especies presentan un manejo diferencial del flujo de energía, siendo probable que la capacidad de incrementar los gastos metabólicos sea otra característica de las estrategias de poder, y la capacidad de disminuir los gastos sea característica de una estrategia más frugal o económica. Esto explicaría la ausencia de un patrón asociado a tamaño corporal en las respuestas de aclimatación al frío (véase Novoa & Rosenmann 1995). Propongo que las especies que presenten claras estrategias energéticas de poder aumentan sus gastos metabólicos en condiciones de estrés térmico, en cambio especies claramente frugales los reducirán mediante aumentos de la capacidad de aislación y/o cambios conductuales.

El balance energético, como resumen de los procesos asociados a la ingesta y gasto de energía de los organismos, tiene relevancia en la adecuación biológica al integrar todos los aspectos de la vida del individuo. Cambios en el manejo de la energía están fuertemente relacionados con aspectos de la historia de vida, calidad de la dieta, requerimientos y uso en el tiempo. Este balance está limitado tanto en las capacidades máximas como mínimas. El límite inferior corresponde a la condición de reposo, postabsortiva, y de termoneutralidad del organismo, o TMB. El gasto diario en condiciones naturales y reproductivas y/o termorregulando es considerado por otra parte la condición más extrema de gasto energético (DEE_{rep} y/o DEE_{ter} respectivamente) y representa el límite superior. Los resultados obtenidos en esta tesis a nivel intra e interespecífico se ajustan a la propuesta de proporcionalidad entre gastos basales y

máximos (Daan *et al.* 1990, Koteja 1991, Konarzewski & Diamond 1994, Peterson *et al.* 1990, Bryant & Tatner 1991), esta propuesta se fundamenta teóricamente en que aumentos en la capacidad de gasto requieren aumentos en las capacidades metabólicas, por incrementos del tejido biosintético (Bennet & Ruben 1979). Esta relación es clara al comparar diferentes clases de vertebrados, donde tanto aves como mamíferos tienen tasas metabólicas basales varias veces mayores que vertebrados extotermos (Bennet & Ruben 1979).

Al igual que con DEE, también se ha sugerido que la ingesta máxima de energía (A_{max}) es proporcional a TMB dado que existen compromisos de costo y beneficio que determinan que aumentos en la capacidad metabólica a largo plazo requieren aumentos en la capacidad de adquirir la energía necesaria para su mantención (Kirkwood 1983, Lindström & Kvist 1995). El hecho que tanto DEE y A_{max} en condiciones crónicas extremas sean proporcionales a BMR no es raro, considerando los resultados obtenidos en esta tesis a nivel del balance energético total. Como he mencionado anteriormente, organismos sometidos a situaciones de altos requerimientos energéticos presentarán a largo plazo balances equilibrados, donde tanto el gasto como la ingesta se observan acoplados, esto no significa un co-ajuste funcional entre ambos procesos, mas bien se explica por manejo integral del volumen de energía procesada. Este volumen de energía procesada si estará determinado por las características de diseño de los organismos y sus restricciones morfológicas y funcionales, donde el tamaño corporal también es un factor determinante.

Entonces, las tasas máximas de metabolismo energético son relevantes tanto a corto como largo plazo, a corto plazo pueden determinar la sobrevivencia de los animales en situaciones extremas, como por ejemplo en bajas temperaturas o al escapar de predadores (Karasov 1986). Por otra parte, las tasas máximas sostenidas en el tiempo son determinantes en la adecuación biológica de las especies, al definir los límites en las capacidades de gasto en procesos prolongados en el tiempo, como por ejemplo reproducción o periodos de estrés térmico (Peterson *et al.* 1990). Existen numerosas maneras de relacionar gastos energéticos mínimos y máximos (Hinds *et al.* 1993), entre estos la expansividad metabólica sostenida (SusMR/TMB) da cuenta de la capacidad máxima de incrementar los gastos diarios respecto a los gastos basales, pero en una condición que se mantiene en el tiempo (Peterson *et al.* 1990). El hecho que bajo esta situación la expansividad metabólica sea menor que la expansividad metabólica instantánea, estimada frente a cambios térmicos o de actividad física (véase Peterson *et al.* 1990), indica claramente que los sistemas involucrados en el flujo de energía también presentan límites temporales y que el utilizar capacidades máximas sostenidas involucra no sólo los sistemas de adquisición y gasto de energía, sino la mantención de la homeostasis del organismo, incluyendo por ejemplo la eliminación de desechos y la regulación de los requerimientos hídricos y nutricionales. Los requerimientos de energía, agua y nutrientes no necesariamente están en equilibrio y a largo plazo un compromiso nutricional o hídrico puede determinar mayor e incluso menor ingesta de energía que la requerida (Murphy 1996). Numerosos trabajos confirman que los organismos seleccionan sus presas para satisfacer diferencialmente estos requerimientos (véase Belovsky 1987). Pudiendo en condiciones crónicas afectar la expresión de las

capacidades máximas energéticas de los organismos. Esta puede ser la explicación de la reducción de ingesta observada particularmente en el grupo más extremo de *S. sephaniodes*, un compromiso entre ingesta de energía y proteínas y la degradación y eliminación de sus desechos. Ejemplos similares se han descrito para roedores que consumen dietas con alto porcentaje de material deterrente (Karasov 1989).

Con relación a la expansividad metabólica sostenida, diversos trabajos en vertebrados endotermos, encuentran una proporcionalidad entre la razón de incremento, confirmando que las especies que presentan bajas TMB presentan proporcionalmente bajos DEE y viceversa (Karasov 1986, Kirkwood 1983, Peterson *et al.* 1990). Drent & Daan (1980) proponen una razón óptima de 4 veces TMB que reflejaría un nivel de gasto máximo donde se optimiza la capacidad de trabajo. Razones mayores o menores a 4x determinarían reducciones en la adecuación biológica de los organismos. De hecho, la frecuencia de rangos iguales o cercanos a 4 es alta en numerosos registros de expansividad metabólica sostenida obtenidas en diferentes vertebrados (Daan *et al.* 1990, Lindström & Kvist 1995), apoyando una relación directa entre la variación de TMB y su efecto en DEE. También se ha observado que muchas especies no presentan este valor, presentando valores entre 2 a 7, independiente del peso corporal (Daan *et al.* 1990, Lindström & Kvist 1995), indicando que existen muchas especies que funcionarían en rangos de flujo de energía no óptimos, o también puede indicar que no existe una relación directa exclusiva entre gastos mínimos y máximos. Esta variabilidad observada en la expansividad metabólica sostenida se puede explicar porque tanto el tamaño corporal como las estrategias de vida y especialmente el método de obtención

del alimento afectan diferencialmente los gastos diarios (Walsberg 1978, McNab 1988a, b). TMB y DEE, varían en paralelo, y las características de diseño del organismo (e. g. tamaño de órganos) las afectan a ambas, pero la estrategia de forrajeo afectaría directamente sólo a FMR, e indirectamente a TMB al estar asociada a las características de diseño del organismo (Ricklefs 1996). Esta propuesta es consistente con los resultados obtenidos en esta tesis, dado que *S. sephaniodes* presenta volúmenes de flujo mayores que *P. rara*, explicados por sus diferencias morfológicas y estrategias de forrajeo. También se apoya en la variabilidad observada dentro de taxa similares, como por ejemplo en anuros (Taigen 1983), lagartos (Anderson & Karasov 1981), mamíferos (McNab 1988b), y aves (Daan *et al.* 1990), siendo la base de la diferenciación entre las estrategias energéticas de poder y frugal (Szarski 1983, Gnaiger 1987), donde en general las especies que presentan alta TMB y FMR (o DEE) y razones FMR/TMB mayores presentan estrategias de forrajeo costosas y selección de alimentos ricos energéticamente (McNab 1988a, Nagy 1987). Propongo finalmente que la expansividad metabólica en condiciones sostenidas en el tiempo da cuenta de la interacción entre tamaño corporal y estrategia de forrajeo, donde tanto las interacciones organismo - ambiente como la estrategia de forrajeo se reflejan directamente en FMR (o DEE), e indirectamente y a través de las características de diseño (diseño y función de tejidos y órganos) del organismo en TMB.

CONCLUSIONES

Primeramente y con relación a los mecanismos proximales actualmente propuestos como reguladores del presupuesto de energía, los resultados aquí obtenidos permiten concluir que no existe una vía restrictiva única. La especie frugal presenta restricción en la vía de adquisición de energía, específicamente al nivel de la capacidad máxima de ingesta de materia seca. La especie de poder presenta restricciones en ambas vías energéticas, reflejado tanto en la capacidad máxima de ingesta de energía como en el compromiso entre termorregular y forrajear.

Con relación al efecto del tiempo de aclimatación, la capacidad de respuesta de los organismos cambia temporalmente. Cambios bruscos en calidad del alimento y ambiente térmico, producen respuestas conductuales determinadas tanto por las capacidades máximas de ingesta de materia y energía, como por el volumen de reservas energéticas de cada organismo. Ambas especies utilizaron ambas líneas de respuesta. La rápida capacidad de aumentar la ingesta de materia indica que las especies en condiciones térmicas y dietarias benignas se comportan como minimizadores de tiempo, consumiendo el alimento necesario para satisfacer sus requerimientos energéticos y nutricionales. Solo frente a situaciones específicas, como serían crecimiento, reproducción, período premigratorio y condiciones térmicas rigurosas los organismos responderían maximizando la capacidad de ingesta de energía.

Frente a restricciones dietarias, térmicas o combinadas que se prolongan en el tiempo ambas especies presentan ajustes conductuales, morfológicos y funcionales. Estos ajustes contemplan cambios al nivel de los procesos de adquisición, metabolismo intermedio y gasto de energía, aunque las restricciones se presenten solo en una de éstas vías de flujo. Esto indica que a pesar que los procesos de adquisición se presentan en serie y los de gasto en paralelo, el proceso de regulación del balance de energía funciona globalmente. Cambios en la vía de ingreso repercuten en la vía de los gastos y viceversa. Aunque se rechaza una visión de sistemas co-ajustados, se postula una respuesta integral frente a cambios de efecto parcial en ambas especies.

Las especies estudiadas se ajustan a los modelos energéticos propuestos inicialmente. *S. sephaniodes* representa un modelo de estrategia de poder, con altos flujos de energía, estrategia de forrajeo costosa, rango de preferencia dietaria reducido y alta eficiencia en los procesos de adquisición y gasto. Esta especie modifica tanto su capacidad de ingesta como de gasto frente a aumentos en sus requerimientos energéticos. Presenta compromisos periféricos entre termorregular o volar frente a restricciones térmicas, y también compromisos digestivos frente a restricciones dietarias. *P. rara* se ajusta al modelo de estrategia frugal, principalmente por presentar un flujo de energía reducido, estrategia de forrajeo sedentaria, alta diversidad dietaria y, comparado con la estrategia de poder, menor eficiencia en los procesos de adquisición. A diferencia de la especie de poder, presenta compromisos digestivos frente a restricciones térmicas, por lo cual mantiene los niveles de gasto aumentando su aislación térmica.

Postulo que esta clasificación energética es válida, y que las especies de poder presentarán respuestas globales frente a cambios dietarios y térmicos, debido a que tanto los procesos de adquisición y gasto de energía funcionan cercanos a sus capacidades máximas. Lo anterior determinaría que estas especies sean sensibles a cambios térmicos y dietarios del ambiente, y entonces deberían ser preferentemente migratorias.

Finalmente, y a un nivel de generalización mayor, propongo que para explicar la alta variabilidad observada en la expansividad metabólica sostenida (SusMR/TMB) en los organismos, es fundamental considerar tanto las características energéticas como las restricciones de tamaño de los organismos. Estos factores afectan diferencialmente los flujos mínimos y máximos de energía en los organismos, donde mayores gastos de forrajeo determinan mayores gastos diarios, pero no necesariamente mayores gastos basales. En cambio, tamaños pequeños determinan mayores gastos basales peso específicos pero no necesariamente mayores gastos diarios.

BIBLIOGRAFIA

- AFIK D & WH KARASOV, 1995. The tradeoffs between digestion rate and efficiency in the yellow-rumped warblers, and its ecological implications. *Ecology* 76: 2247-2257.
- ALEXANDER RM, 1981. Factors of safety in the structure of animals. *Sci. Prog.* 67:109-130.
- AL-JOBORAE FF, 1980. The influence of diet on the gut morphology of the starling (*Sturnus vulgaris*). PhD. diss, Oxford University, Oxford.
- ANDERSON RA & WH KARASOV, 1981. Contrasts in energy intake and expenditure in sit and wait and widely foraging lizards. *Oecologia* 49:67-72.
- BAKER HG, 1975. Sugar concentrations in nectars from hummingbird flowers. *Biotropica* 7:37-41.
- BARTHOLOMEW GA & JRB LIGHTON 1986. Oxygen consumption during hover-feeding in free-ranging Anna hummingbirds. *J. Exp. Biol.* 123:191-199.
- BENNET AF & JA RUBEN, 1978. Endothermy and activity in vertebrates. *Science* 206:649-654.
- BERNAYS G, G COOPER DRIVER & M BILGENER, 1989. Herbivores and plant tannins. In *Advances in ecological research*. Vol. 19:263-302. Academic Press, New York.
- BEUCHAT CA SB CHAPLIN & ML MORTON, 1979. Ambient temperature and daily energetics of two species of hummingbirds, *Calypte anna* and *Selasphorus rufus*. *Physiol. Zool.* 52:280-295.
- BEUCHAT CA, WA CALDER & EJ BRAUN, 1990. The integration of osmoregulation and energy balance in hummingbirds. *Physiol. Zool.* 63:1059-1081.

- BELMONTE E, 1988. Características de la secreción de nectar en *Eccremocarpus scaber* R. et P. (Bignoniaceae) en relación a los hábitos de sus polinizadores. Tesis de Magíster en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- BELOVSKY GE, 1978. Diet optimization in a generalist herbivore: the moose. *Theo. Population Biol.* 14:105-134.
- BLEM CR, 1990. Avian energetic storage. *Current. Ornithol.* 7:59-113.
- BOZINOVIC F, 1997. Diet selection in rodents: an experimental test of the effect of dietary fiber and tannins on feeding behavior. *Rev. Chi. Hist. Nat.* 70:67-71.
- BOZINOVIC F & M ROSENMANN, 1989. Maximum metabolic rate of rodents: physiological and ecological consequences of distributional limits. *Func. Ecol.* 3:173-181.
- BRACKENBURY J, 1984. Physiological responses of birds to flight and running. *Biol. Rev.* 59:559-575.
- BRICE AT & CR GRAU, 1991. Protein requirements for maintenance of the adult Costa's hummingbird (*Calypte costae*). *Physiol Zool.* 64:611-626.
- BRODY T 1994. *Nutritional biochemistry*. Academic Press, Boston, 658 pp.
- BROWN JH, PA MARQUET & ML TAPER, 1993. Evolution of body size: consequences of an energetic definition of fitness. *Am. Nat.* 142:573-584.
- BRUGGER KE, 1991. Anatomical adaptation of the gut to diet in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *Auk* 108:562-567.
- BRYANT DM & P TATNER 1991. Intraspecies variation in avian energy expenditure: correlates and constrains. *Ibis* 133:236-245.
- BUCHSBAUM R, J WILSON & I VALIELA, 1986. Digestibility of plant constituents by Canada geese and Atlantic brant. *Ecology*: 67:386-393.
- BUTTEMER WA, 1985. Energy relations of winter roost-site utilization by american goldfinches (*Carduelis tristis*). *Oecologia* 68:126-132.
- CALDER WA, 1973. An estimate of the heat balance of a resting hummingbird in a chilling climate. *Comp. Biochem. Physiol.* 46A:291-300.

- CALDER WA, 1996. *Size, function, and life history*. Dover Publications, Inc., NY. 431 pp.
- CALDER WA, 1994. When hummingbirds use torpor in nature? *Physiol. Zool.* 67:1051-1076.
- CALDER WA & JR KING, 1974. Thermal and caloric relations of birds. In *Avian biology*, DS Farner & JR King eds., vol., 4, pp 259-413, Academic Press, London.
- CALDER WA & SM HIEBERT, 1983. Nectar feeding, diuresis, and electrolyte replacement of hummingbirds. *Physiol. Zool.* 56:325-334.
- CARPENTER 1974. Torpor in an Andean Hummingbird: Its ecological significance. *Science* 183:545-547.
- CARPENTER FL & MA HIXON, 1988. A new function for torpor: fat conservation in a wild migrant Rufous hummingbird. *Condor* 90:373-378.
- CARPENTER FL, DC PATON & MA HIXON, 1983. Weight and adjustment of feeding territory size in migrant hummingbirds. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 80: 7259-7263.
- CHAI P, CHANG AC & R DUDLEY, 1998. Flight thermogenesis and energy conservation in hovering hummingbirds. *J. Exp. Biol.* 201:963-968.
- CHEREL I, J-P ROBON & Y LeMAHO, 1988. Physiology and biochemistry of long-term fasting in birds. *Can. J. Zool.* 66:159-166.
- CHEREL I, J-P ROBIN, A HEITZ, C CALGARI & Y LeMAHO, 1992. Relationship between lipid availability and protein utilization during prolonged fasting. *J. Comp. Physiol. B* 162:305-313.
- DAAN S, D MASMAN, AM STRIJKSTRA & GJ KENAGY, 1990. Daily turnover during reproduction in birds and mammals: its relationship to basal metabolic rate. *Acta XX Congressus Internationalis Ornithologici. Vol IV:1976-1988.*
- DAWSON WR, RL MARSH & ME YACOE, 1983. Metabolic adjustments of small passerine birds for migration and cold. *Am. J. Physiol.* 245:R775-R767.
- DAWSON WR & TP O'CONNOR, 1996. Energetic features of avian thermoregulatory responses. In *Avian energetic and nutritional ecology*. C. Carey ed, pp. 85-125. Chapman & Hall, New York.

- DeBENEDICTIS PA, FB GILL, FR HAINSWORTH, GH PIKE & LL WOLF 1978. Optimal meal size in hummingbirds. *Am Nat.* 112: 301-316.
- DEL HOYO J, A ELLIOTT & J SARGATAL, 1992. Handbook of the birds of the world. Lynx editions, Barcelona.
- DIAMOND JM, WH KARASOV, D PHAN & FL CARPENTER, 1986. Digestive physiology is a determinant of foraging in hummingbirds. *Nature* 320:62-63.
- DRENT RH & S DAAN, 1980. The prudent parent: energetic adjustment in avian breeding. *Ardea* 68:225-252.
- DYKSTRA CR & WH KARASOV, 1992. Changes in gut structure and function of house wrens (*Troglodytes aedon*) in response to increased energy demands. *Physiol. Zool.* 65:422-442.
- EGLI G, 1996. Biomorfología de algunas aves de Chile central. *Boletín Chileno de Ornitología* 3:2-9.
- ELSE PL & AJ HULBERT, 1985. Mammals: an allometric study of metabolism at tissue and mitochondrial level. *Am. J. Physiol* 248:415-421.
- FOLEY WJ & SJ CORK, 1992. Use of fibrous diets by small herbivores: how far can rules be "bent"? *TREE* 7:159-162.
- FRAGA RM, AE RUFFINI & D GRIGERA, 1997. Interacciones entre el picaflor rubí *Sephanoides sephanioides* y plantas del bosque subantártico en el Parque Nacional Nahuel Huapi, Argentina. *Hornero* 14: 224-234.
- GELINEO S, 1969. Heat production in birds in summer and winter. *Bulletin l'Académie serbe des Sciences et des Arts. Cl. de Sciences Mathématique et Naturelles T.* 46:99-105.
- GILL FB, 1989. *Ornithology*. WH Freeman & Co. NY. 600 pp.
- GNAIGER E 1987. Optimum efficiencies of energy transformation in anoxic metabolism: the strategies of power and economy. pp. 7-36, In *Evolutionary physiological ecology*, P Calow ed., Cambridge University press, Cambridge.

- GRAGAL A, 1991. Digestive efficiency of the hoatzin (*Opisthocomus hoatzin*), a folivorous bird with foregut fermentation. PhD. diss. University of Florida, Gainesville, Florida, USA, 111 pp.
- GRAJAL A, SD STRAHL, R PARRA, MG DOMINGUEZ & A NEHER 1989. Foregut fermentation in the hoatzin, a Neotropical avian folivore. *Science* 245:1131-1134.
- GOODALL JD, AW JOHNSON & RA PHILIPPI, 1956. *Las aves de Chile, su conocimiento y sus costumbres*. vol. I, Platt Establecimientos gráficos, Buenos Aires.
- HAINSWORTH FR, 1974. Food quality and feeding efficiency: the efficiency of food assimilation by hummingbirds. *J. Comp. Physiol.* 88:425-431.
- HANSKI I, 1985. What does a shrew do in an energy crisis?. pp 247-254, In *Behavioral ecology. Ecological consequences of adaptive behaviour*. RM Sibly & RH Smith eds., Blackwell Scientific Pub. Oxford.
- HAMMOND KA, 1998. The match between load and capacity during lactation: where is the limit to energy expenditure?. pp 205-211, In *The optimization and symmorphosis debate*. ER Weibel, DR Taylor & L Bolis eds., Cambridge University Press, Cambridge.
- HAMMOND KA & DN JANES, 1998. The effects of increased protein intake on kidney and function. *J Exp. Biol.* 301: 2081-2090.
- HAMMOND KA & J DIAMOND, 1992. An experimental test for a ceiling on sustained metabolic rate in lactating mice. *Physiol. Zool.* 65:952-977.
- HAMMOND KA, M KONARZEWSKI, R TORRES & J DIAMOND, 1994. Metabolic ceilings under a combination of peak energy demands. *Physiol. Zool.* 67:1479-1506.
- HART JS 1962. Seasonal acclimatization in four species of small wild birds. *Physiol. Zool.* 35:224-236.
- HEYNEMAN AJ, 1983. Optimal sugar concentration of floral nectars – dependence on sugar intake efficiency and foraging costs. *Oecologia* 60:198-213.

- HIEBERT S, 1991. Seasonal differences in the response of rufous hummingbirds to food restriction: body mass and the use of torpor. *Condor* 93:526-537.
- HIEBERT S 1993. Seasonal changes in body mass use of torpor in migratory hummingbirds. *Auk* 110:787-797.
- HINDS DS, RV BAUDINETTE, RE MACMILLEN & EA HALPERN, 1993. Maximum metabolism and the aerobic factorial scope of endotherms. *J. Exp. Biol.* 182:41-56.
- HIXON MA, 1982. Energy maximizers and time minimizers: theory and reality. *Am. Nat.* 119: 596-599.
- HIXON MA, CARPENTER FL & DC PATON, 1983. Territory area, flower density, and time budgeting in hummingbirds: an experimental and theoretical analysis. *Am. Nat.* 122: 135-138.
- HORN MH & KS MESSER, 1992. Fish guts as chemical reactors: a model of the alimentary canals of marine herbivorous fishes. *Marine Biol. Ann. Rev.* 27:167-272.
- HUME ID 1989. Optimal digestive strategies in mammalian herbivores. *Physiol. Zool.* 62:1145-1163.
- HUME ID & E SAKAGUCHI, 1991. Patterns of digesta flow and digestion in foregut and hindgut fermenters. pp 427-451, In *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*, T Tsuda, Y Sasaki & R Kawashima eds., Academic Press, San Diego.
- KARASOV WH, 1986. Energetics, physiology and vertebrate ecology. *TREE* 1:101-104.
- KARASOV WH, 1987. Nutrient requirements and the design and function of guts in fish, reptiles and mammals. In *Comparative physiology: life in water and on land*, P. Dejours, L. Bolis, CD Taylor & ER Weibel eds., Fidia Research series, vol. 9, Liviana Press, Springer Verlag.
- KARASOV WH, 1989. Nutritional bottleneck in a herbivore, the desert wood rat (*Neotoma lepida*). *Physiol. Zool.* 62: 1351-1382.
- KARASOV WH, 1990. Digestion in birds: chemical and physiological determinants and ecological implications. *Studies in Avian Biol.* 13:391-415.

- KARASOV WH, 1996. Digestive plasticity in avian energetics and feeding ecology. pp 61-85, In *Avian energetic and nutritional ecology*, C. Carey ed., Chapman & Hall, NY.
- KARASOV WH & J CORK, 1996. Test of a reactor-based digestion optimization model for nectar-eating rainbow lorikeets. *Physiol. Zool.* 69:117-138.
- KARASOV WH, JM DIAMOND & FL CARPENTER 1986. Food passage and intestinal nutrient absorption in hummingbirds. *Auk* 103:453-464.
- KEHOE FP, CD ANKNEY & BRT ALISAUSKUS, 1988. Effects of dietary fiber and diversity on digestive organs of captive mallards (*Anas platyrhynchos*). *Can. J. Zool.* 66:1597-1602.
- KENAGY J, 1987. Energy allocation for reproduction in the golden-mantled ground squirrel. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 57:259-273.
- KENDEIGH SC & CR BLEM, 1974. Metabolic adaptation to local climate in birds. *Comp. Biochem. Physiol.* 48:175-187.
- KENWARD RE & RM SIBLY, 1977. A woodpigeon (*Columba palumbus*) feeding preference explained by a digestive bottleneck. *J. Appl. Ecology* 14:815-826.
- KERSTEN M & T PIERSMA, 1987. High levels of energy expenditure in shorebirds: metabolic adaptations to an energetically expensive way of life. *Ardea* 75: 175-187.
- KINGSOLVER JG & TL DANIEL, 1983. Mechanical determinants of nectar-feeding strategy in hummingbirds: Energetics, tongue morphology, and licking behavior. *Oecologia* 60:214-226.
- KIRKWOOD JK, 1983. A limit to metabolizable energy intake in mammals and birds. *Comparative Bioch. and Physiol.* A75:1-3.
- KLEIBER M, 1961. *The fire of life*. Wiley Co. New York, New York. 454 pag.
- KONARZEWSKI M & J DIAMOND, 1994. Peak sustained metabolic rate and its individual variation in cold-stressed mice. *Physiol. Zool.* 67:1186-1212.
- KONARZEWSKI M & J DIAMOND, 1995. Evolution of basal metabolic rate and organ masses in laboratory mice. *Evolution* 49:1239-1248.

- KOTEJA P. 1991. On the relation between basal and field metabolic rates in birds and mammals. *Funct. Ecol.* 5: 56-64.
- KOTEJA P, 1995. Maximum cold-induced energy assimilation in a rodent, *Apodemus flavicollis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 112A:479-485.
- KREBS HA, 1950. Body size and tissue respiration. *Biochem. Biophys. Acta* 4:249-269.
- KRÜGER K, R PRINZINGER & KL SCHUCHMANN, 1982. Torpor and metabolism in hummingbirds. *Comp. Biochem. Physiol.* 73A:679-689.
- LASIEWSKI RC, 1963. Oxygen consumption of torpid, resting, active and flying hummingbirds. *Physiol. Zool.* 36:122.
- LEHNINGER AL, 1973. *Bioenergetics*. 2nd edition, WA Benjamin. Inc. Menlo Park. California, 242 pp.
- LEVEY DJ & GE DUKE, 1992. How do frugivores process fruit? Gastrointestinal transit and glucose absorption in cedar waxwings (*Bombycilla cedrorum*). *Auk* 109:722-730.
- LEVEY DJ & C MARTINEZ DEL RÍO, 1998. Rapid modulation of retention time in a fruit-eating bird: Ecological implications and test of a model. *Physiol. Zool.* (en prensa)
- LINSTROM A & A KVIST, 1995. Maximum energy intake rate is proportional to basal metabolic rate in passerine birds. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 261: 337-343.
- LOPEZ-CALLEJA MV, 1995. Dieta de *Zonotrichia capensis* (Emberizidae) y *Diuca diuca* (Fringillidae): Efecto de la variación estacional de los recursos tróficos y la riqueza de aves granívoras. *Rev. Chi. Hist. Nat.* 68: 321-331.
- LOPEZ-CALLEJA MV & F BOZINOVIC, 1995. Maximum metabolic rate and aerobic scope in the small-sized Chilean hummingbirds *Sephanoides sephanoides*. *Auk* 112:1034-1036.
- LOPEZ-CALLEJA MV & F BOZINOVIC, 1999. Feeding behavior and assimilation efficiency of the rufous-tailed plantcutter: a small avian herbivore. *Condor* (en prensa).

- LOPEZ-CALLEJA MV, F BOZINOVIC & C MARTÍNEZ DEL RÍO, 1997. Effects of sugar concentration on hummingbirds feeding and energy use. *Comp. Biochem. Physiol.* 118A: 1291-1299.
- MALONE CR, 1965. Dispersal of plankton: rate of food passage in mallard ducks. *J. Wildl. Manage.* 29:529-533.
- MARSH RL & WR DAWSON, 1989. Avian adjustments to cold. pp. 205-253, In *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, LCH Wang ed., vol 4., Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg.
- MARTINEZ DEL RIO C, 1990. Sugar preferences in hummingbirds: the influence of subtle chemical differences on food choice. *Condor* 92:1022-1030.
- MARTINEZ DEL RIO C & WH KARASOV, 1990. Digestion strategies in nectar and fruit eating birds and the composition of plant rewards. *Am. Nat.* 136:618-637.
- MARTINEZ DEL RIO 1992. Sugar preferences in hummingbirds: the influence of subtle chemical differences on food choice. *Condor* 92:1022-1030.
- MAUSETH JD, 1995. *Botany. An introduction to plant biology*. 2nd edition, Saunders College Publishing, London, 794 pp.
- McDEVITT RM & JR SEAKMAN, 1994a. Limits to sustainable metabolic rate during transient exposure to low temperatures in short-tailed field voles (*Microtus agrestis*). *Physiol. Zool.* 67:1103-1116.
- McDEVITT RM & JR SEAKMAN, 1994b. Central limits to sustainable metabolic rate have no role in cold acclimatation of short-tailed field vole (*Microtus agrestis*). *Physiol. Zool.* 67:1117-1139.
- McNAB BK, 1988a. Food habits and the basal rate of metabolism in birds. *Oecologia* 77:343-349.
- McNAB BK, 1988b. Complications inherent in scaling the basal rate of metabolism in mammals. *Q. Rev. Biol.* 63:25-54.
- McNAB BK, 1994. Energy conservation and the evolution of flightlessness in birds. *Am. Nat.* 144:628-642.

- McWHORTER TJ, 1997. Energy assimilation, protein balance, and water absorption in broad-tailed hummingbirds, *Selasphorus platycercus*. Master diss., University of Wyoming, Laramie, Wyoming, 89 pp.
- MILTON K, 1981. Food choice and digestive strategies of two sympatric primate species. *Am. Nat.* 117: 469-505.
- MORRISON PR, 1951. An automatic manometric respirometer. *Rev. Sci. Instrum.* 22:264-267.
- MORRISON PR, FA RYSER & AR DAWE, 1959. Studies on the physiology of the masked swed *Sorex cinereus*. *Physiol. Zool.* 32:256-271.
- MURPHY ME, 1996. Nutrition and Metabolism. pp 31-60, In *Avian energetics and nutritional ecology*, C Carey ed., , Chapman & Hall, New York.
- MURPHY ME, JR KING & J LU, 1988. Malnutrition during postnuptial molt of white-crowned sparrows: feather growth and quality. *Can. J. Zool.* 66:1403-1413.
- NAGY KA, 1987. Field metabolic rates and food requirement scaling in mammals and birds. *Ecol. Monog.* 57:111-128.
- NOVOA FF, F BOZINOVIC & M ROSENMAN, 1990. Maximum metabolic rate and temperature regulation in the rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis*, from Chile central. *Comp. Biochem. Physiol.* 95:181-183.
- NOVOA FF, FE BOZINOVIC & M ROSENMAN, 1994. Seasonal changes of thermal conductance in *Zonotrichia capensis* (Emberizinae), from central Chile: the role of plumage. *Comp. Biochem. Physiol.* 107: 297-300.
- NOVOA FF & M ROSENMAN, 1996. Cambios estacionales en las capacidades energéticas de *Zonotrichia capensis* (emberizinae) en Chile central. *Rev. Chi. Hist. Nat.* 69: 379-385.
- PEARSON OP, 1960. The metabolism of hummingbirds. *Condor* 52:145-152.
- PENRY DL, 1993. Digestive constraints on diet selection. pp. 32-55, In *Diet selection, an interdisciplinary approach to foraging behaviour*, RN Hughes ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- PENRY DL & PA JUMARS, 1986. Chemical reactor analysis and optimal digestion. *Bioscience* 36:310-314.
- PENRY DL & PA JUMARS, 1987. Modeling animal guts as chemical reactors. *Am. Nat.* 129:69-96.
- PETERSON CC, KA NAGY & J DIAMOND, 1990. Sustained metabolic scope. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 87:2324-2328.
- PIERSMA T, L BRUJINZEEL, R DRENT, M KERSTEN, J VAN DER MEER & P WIERSMA, 1996. Variability in basal metabolic rate of a long distance migrant shorebird (Red knot, *Calidris canutus*): reflects shifts in organ sizes. *Physiol Zool.* 69:191-217.
- POHL H & GC WEST, 1973. Daily and seasonal variation in metabolic response to cold during rest and forced exercised in common redpoll. *Com. Biochem. Physiol.* 45: 851-867.
- POWERS DR, 1991. Diurnal variation in mass, metabolic rate and respiratory quotient in Anna's and Costa's hummingbirds. *Physiol. Zool.* 64:850-870.
- POWERS DR, 1992. Effect of temperature and humidity on evaporative water loss in Anna's hummingbird (*Calipte anna*). *J. Comp. Physiol B* 162: 74-84.
- POWERS DR & T MCKEE, 1994. The effect of food availability on time and energy expenditures of territorial and non-territorial hummingbirds. *Condor* 96:1064-1075.
- PROP J & T VULINK, 1992. Digestion by barnacle geese in the annual cycle: the interplay between retention time and food quality. *Funct. Ecol.* 6:180-190.
- PYKE GH, 1984. Optimal foraging theory: a critical review. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15:523-538.
- PYKE GH & NM WASER, 1981. The production of dilute nectars by hummingbirds flowers. *Biotropica* 13: 260-270.
- RAYNER JMV, 1988. Form and function in avian flight. pp 1-66, In *Current Ornithology*, vol 5, RF Jonston ed., Plenum Press, New York.

- RAYNER JMV, 1996. Biomechanical constraints on size in flying vertebrates. pp 83-106, In *Miniature vertebrates: the implications of small body size*, PJ Miller ed., Clarendon Press, London.
- RICKLEFS RE, 1996. Avian energetics, ecology and evolution. pp 1-30, In *Avian energetics and nutritional ecology*, C Carey ed., Chapman & Hall, New York.
- ROBBINS CT, 1993. *Wildlife Feeding and nutrition*. 2nd edition, Academic Press, New York, 351 pp.
- ROOT 1988. Energy constrain on avian distribution and abundance. *Ecology* 69:330-339.
- SABAT P, 1988. Plasticidad digestiva en roedores, costos asociados a la aclimatación. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, 136p.
- SAVORY CJ & MJ GENTLE, 1976. Effects of dietary dilution with fibber on the food intake and gut dimensions of Japanese quail. *Br. Poult. Sci.* 17:561-570.
- SCHMIDT-NIELSEN K, 1990. *Animal physiology*. Adaptation and environment. 4th edition, Cambridge University Press, 602 pp.
- SCHUCHMANN KL & D SCHMIDT-MARLOH, 1979. Temperature regulation in non-torpid hummingbirds. *Ibis* 121:354-356.
- SCOTT I & PR EVANS, 1992. The metabolic output of avian (*Sturnus vulgaris*, *Calidris alpina*) adipose tissue liver and skeletal muscle: implications for BMR/body mass relationships. *Comp. Biochem. Physiol.* 103A, 329-332.
- SIBLEY CG & JE AHLQUIST, 1990. *Phylogeny and classification of birds: a study in molecular evolution*. Yale University Press. New Haven, Connecticut. 976 pp.
- SIBLY RM, 1981. Strategies of digestion and defecation. pp. 109-139, In *Physiological Ecology: an evolutionary approach to resources use*, CR Townsend & P Callow eds., Sinauer, Suderland, Massachusetts.
- SIBLY RM & P CALOW, 1986. *Physiological ecology of animals: an evolutionary approach*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 179 pp.
- SKUTCH AF, 1974. *The life of the hummingbirds*. Octopus Books Ltd. London.

- SMITH-RAMIREZ C, 1993. Los picaflones y su recurso floral en el bosque templado de la Isla de Chiloé, Chile. *Rev. Chi. Hist. Nat.* 66: 65-73.
- STILES FG, 1971. Time, energy and territoriality of the Anna hummingbird (*Calipte anna*). *Science* 173:818-820.
- STOREY ML & NK ALLEN, 1982. Apparent and true metabolizable energy of feedstuffs for mature, nonlaying female emden geese. *Poult. Sci.* 59:1275-1279.
- SUAREZ RK, GS BROWN & PW HOCHACHKA 1986. Metabolic sources of energy for hummingbirds flight. *Am. J. Physiol.* 251:537-542.
- SUAREZ RK, GS BROWN, W VOGEL, GS BROWN & PW HOCHACHKA, 1988. Biosynthetic capacity of hummingbird liver. *Am. J. Physiol.* 255: R699-R702.
- SUAREZ RK, JRB LIGHTON, CD MOYES, GS BROWN, CL GASS, & PW HOCHACHKA, 1990. Fuel selection in rufous hummingbirds: ecological implications of metabolic biochemistry. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:9207-9210.
- SZARSKI H, 1983. Cellsize and the concept of wasteful and frugal evolutionary strategies. *J. Theor. Biol.* 105:201-209.
- SWANSON DL, 1991. Seasonal adjustment in metabolism and insulation in the dark-eyed junco. *Condor* 93: 538-545.
- TAMM S 1987. Tracking varying environments: sampling by hummingbirds. *Anim. Behav.* 35:1275-1734.
- TAIGEN TL, 1983. Activity metabolism of anuran amphibians: implications for the origin of endothermy. *Am. Nat.* 121:94-106.
- TAYLOR JM & JW KAMP, 1985. Feeding activities of the Anna's hummingbird at subfreezing temperatures. *Condor* 87:292-293.
- TAYLOR CR & ER WEIBEL, 1981. Design of the mammalian respiratory system. *Respir. Physiol.* 44: 1-164.
- TIEBOUT HM, 1991. Daytime energy management by tropical hummingbirds: responses to foraging constraint. *Ecology* 72:839-851.
- TOLOZA EM, M LAM & J DIAMOND 1991. Nutrient extraction by cold-exposed mice: a test of digestive safety margins. *J. Am. Physiol.* 608-620.

- TOWNSEND & CALOW, 1981. Introduction. In *Physiological Ecology: an evolutionary approach to resources use*, CR Townsend & P Callow eds., Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- UDVARDY MDF 1983. The role of feet in behavioral thermoregulation of hummingbirds. *Condor* 85:281-285.
- WALSBERG GE, 1978. Energy expenditure in free-living birds: patterns and diversity. *Actas XVII Congressus internationalis Ornithologici*. Deutsche Ornithologen-Gesellschaft. pag 300-306.
- WATERLOW JC, 1986. Metabolic adaptation to low intakes of energy and proteins. *Ann. Rev. Nutr.* 6:495-529.
- WEST GC, 1968. Bioenergetics of captive willow ptarmigan under natural conditions. *Ecology* 49:1035-1045.
- WEINER J, 1992. Physiological limits to sustainable energy budgets in birds and mammals: ecological implications. *TREE* 7:384-388.
- WOLF LL & FR HAINSWORTH, 1983. Economics of foraging strategies in sunbirds and hummingbirds. In *Behavioral Energetics: the cost of survival in vertebrates*, WP Aspey & SI Lustick eds., pp. 223-264. Ohio State Univ. Press, Columbus.
- WIEGERT RG, 1968. Thermodynamic consideration in animal nutrition. *Am. Zool.* 8:71-81.
- WILLIAMS GC, 1966. *Adaptation and natural selection*. Princeton University Press, Princeton.
- ZAR JH, 1996. *Bioestadistical analysis*. 3rd edition, Prentice Hall Inc., Ney Jersey, 662 pp.
- ZHAO XQ, H JORGENSEN, VM GABERT & BO EGGUM, 1996. Energy metabolism and protein balance in growing rats housed in 18°C or 28°C environments and fed different levels of dietary protein. *J. Nutr.* 126: 2036-2043.
- ZISWILER V & DS FARNER 1972. Digestion and the digestive system. pp. 343-430, In *Avian Biology*, Farner DS & JR King eds., vol II, Academic Press, NY.