



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

 **FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS
Y NATURALES**
Naturaleza, Ciencia y Humanismo

IADIZA

CONICET
U.N.CUYO
GOBIERNO
DE MENDOZA

Seminario de Investigación para optar al título de Licenciado en
Ciencias Básicas con orientación en Biología

Plasticidad fenotípica en *Phyllotis xanthopygus*
(Rodentia: Cricetidae): efecto del ambiente térmico
sobre el metabolismo energético

Alumna: Josefina Menéndez Sammartino

Directora: Paola L. Sassi

Lugar de trabajo: Grupo de Investigaciones de la Biodiversidad,

IADIZA, CCT-Mendoza

Año: 2017

Resumen

El estudio de la variación de los parámetros metabólicos y sus consecuencias en el desempeño de los individuos resulta esencial para determinar los factores que moldean el gasto energético de los organismos. El presente trabajo propone evaluar la adecuación de caracteres implicados en el metabolismo energético y su eventual plasticidad a lo largo de una transecta altitudinal. Hipotetizamos que la zona de termoneutralidad (ZTN), temperatura crítica inferior ($T_{C_{inf}}$) y superior ($T_{C_{sup}}$), tasa metabólica de reposo (TMR) y conductancia térmica (CT) son variables plásticas que responden al ambiente térmico experimentado durante el desarrollo. Para poner a prueba esta premisa, medimos las variables mencionadas mediante respirometría en ejemplares de *Phyllotis xanthopygus* colectados en sitios a distinta altura que difieren en temperatura media anual (1700, $T^{\circ}_{media}: 15 \pm 6^{\circ}C$; 2300, $T^{\circ}_{media}: 11 \pm 5^{\circ}C$; 3100, $T^{\circ}_{media}: 7 \pm 5^{\circ}C$), y en una generación posterior, criada en el laboratorio a temperatura constante de $22^{\circ}C$. Predecimos que (a) existirá variabilidad intraespecífica en animales de distinta altitud (generación P): a mayor altura presentarán ZTN más amplia, $T_{C_{inf}}$ más baja y menor CT; pero, (b) individuos mantenidos bajo condiciones homogéneas durante su ontogenia (generación F1) no presentarán diferencias en las variables anteriores, independientemente del sitio de origen de la madre. Para el grupo P encontramos diferencias tanto en los límites como la amplitud de la ZTN (1700: $28^{\circ}C - 38^{\circ}C$; 2300: $25^{\circ}C - 38^{\circ}C$; 3100: $28^{\circ}C - 36^{\circ}C$), pero no así para TMR y CT. La F1 también mostró diferencias en ZTN (1700: $28^{\circ}C - 36^{\circ}C$; 2300: $28 - 36^{\circ}C$; 3100: $28^{\circ}C - 38^{\circ}C$) y en CT (menor para individuos de 2300 m) mientras que la TMR no difirió. Así, de acuerdo a nuestras expectativas, el grupo P mostró variabilidad intraespecífica en la ZTN y con respecto a la F1, sugiriendo un efecto del desarrollo. Sin embargo, contrario a lo esperado, la F1 de los distintos sitios no respondió igual a la homogeneidad del laboratorio. Por lo tanto, nuestros resultados corroboran parcialmente la hipótesis, abriendo nuevos interrogantes. Además, los datos apoyan la hipótesis de variabilidad climática ya que individuos expuestos a mayores amplitudes térmicas exhiben rangos de tolerancia más amplios. Finalmente, las diferencias en los límites de la ZTN, ausencia de una TMR elevada y diferencias en la variabilidad de la CT sugieren que compromisos energéticos, debidos a diferentes regímenes térmicos a través del gradiente altitudinal, podrían estar moldeando la evolución de estos caracteres. Así, este trabajo evidencia la importancia de estudios intraespecíficos en la comprensión de los factores próximos y últimos que operan sobre las variables metabólicas.

Índice

Introducción	3
Objetivos	9
Hipótesis y Resultados Esperados	9
Materiales y Métodos	10
Sitio de estudio	10
Captura de animales y aclimatación	10
Tratamiento experimental	12
Mediciones metabólicas	12
Variables	13
Análisis estadísticos	14
Resultados	15
Curva metabólica	15
Zona de termoneutralidad	17
Tasa metabólica de reposo y Conductancia térmica	19
Valores obtenidos vs esperados teóricamente	20
Discusión	23
Agradecimientos	29
Bibliografía	30
Apéndice	36

Introducción

Los organismos pueden modelarse como sistemas de procesamiento de energía y nutrientes, por medio de eventos de adquisición (forrajeo, digestión y absorción) y de gasto (termorregulación, crecimiento y reproducción; Weiner, 1992). El balance de materia y energía entre estos procesos resulta determinante para la supervivencia y el éxito reproductivo de los organismos; por lo tanto, juega un rol central en la ecología evolutiva de los mismos (Cruz-Neto et al., 2003). Dentro de este contexto, el metabolismo energético es un parámetro clave dado que es indicativo de la tasa a la cual los organismos gastan la energía y, por ende, de la velocidad a la cual consumen y transforman los recursos del ambiente (Cruz-Neto et al., 2003; Brown et al., 2004). En consecuencia, cabe esperar que variables asociadas al metabolismo energético estén sujetas al efecto selectivo del ambiente, respondiendo a su variabilidad mediante la adecuación en caracteres conductuales, fisiológicos y morfológicos. Esto sucede a diferentes escalas espacio-temporales por medio de plasticidad fenotípica lábil, plasticidad fenotípica fija y adaptación local (Pigliucci, 2001; Rezende et al., 2004; Burton et al., 2011).

En endotermos la regulación de la temperatura corporal se logra principalmente a través de mecanismos fisiológicos que producen calor metabólico o disipan el calor excedente. Dado que estos mecanismos son energéticamente costosos, el balance energético de estos organismos se encuentra fuertemente ligado a la temperatura ambiental (McNab, 2002). Para cada especie endotérmica se puede establecer un rango de temperaturas ambientales, denominada zona de termoneutralidad (ZTN), donde la producción de calor se encuentra en equilibrio con la tasa de pérdida de calor gracias a mecanismos físicos (vaso constricción/vasodilatación, piloerección) y comportamentales (postura; McNab, 2012). En consecuencia, la tasa metabólica en este rango de temperatura ambiental representa el costo energético mínimo de mantenimiento del individuo, dado que éste no requiere invertir energía adicional para preservar su temperatura corporal óptima (Figura 1). A temperaturas por encima de la ZTN (temperatura crítica superior – TC_{sup}) el individuo debe comenzar a gastar energía para disipar calor mediante evaporación de agua (ej. sudor, jadeo). Por debajo

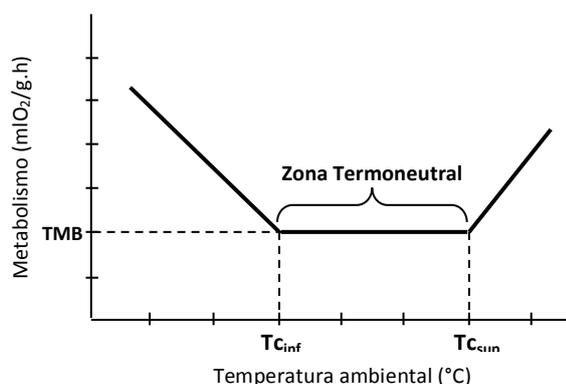


Figura 1. Relación entre la tasa metabólica y la temperatura ambiental en endotermos.

(temperatura crítica inferior – TC_{inf}), debe aumentar su tasa metabólica para reemplazar el calor perdido hacia el ambiente y mantener así su temperatura corporal (ej. termogénesis tiritante y no tiritante; Feldhamer, 2007). Se define como la tasa metabólica basal (TMB) al consumo de oxígeno dentro de la ZTN de un individuo adulto no reproductivo, que se encuentra en reposo, ayuno y en la fase de inactividad del ciclo diario (McNab, 1997). En la práctica, limitaciones de diseño y/o debidas a la especie particular de estudio pueden suponer restricciones para cumplir con esta definición; por ejemplo, en pequeños roedores la condición de inanición causa primero un estado de hiperactividad y luego una disminución de la temperatura corporal (Speakman et al., 2004). En este tipo de casos, donde alguno de los supuestos de la definición de TMB no pueda ser alcanzado, se define a la tasa mínima de consumo de oxígeno como tasa metabólica de reposo (TMR; Speakman et al., 2004). De estos conceptos se desprende que la cantidad de energía necesaria para lograr mantener la homeostasis térmica dependerá en gran parte del grado de facilidad con que el animal intercambia calor con el medio. Esta medida se denomina conductancia térmica (CT) y representa el nivel de aislamiento del individuo. Teniendo en cuenta todos estos conceptos se obtiene que el metabolismo (M) viene dado por la relación $M=CT*(T_b-T_a)$, donde T_b-T_a es el diferencial entre la temperatura corporal y la ambiental (McNab, 2002).

Esto resulta particularmente relevante en micromamíferos dado que, por su alta relación superficie/volumen, las tasas de pérdida y ganancia de calor son más elevadas que en animales de mayor tamaño; es decir, presentan una menor inercia térmica (McNab, 2002). Este fenómeno se ve reflejado en la fuerte relación negativa que existe entre la TMB relativa y el peso corporal, por lo que animales de menor tamaño deben realizar un gasto energético mayor por gramo para mantener su homeostasis térmica (Foley y Cork, 1992; McNab, 2002). Así, de acuerdo al principio de asignación – que establece la existencia de un compromiso entre la distribución de recursos y los procesos que requieren energía (Speakman, 2000) – la termorregulación en los micromamíferos se propone como el paso limitante en la cascada de prioridades para la asignación de energía (Wingfield, 2005). De esto se desprende la premisa de que la temperatura ambiental sea un factor que explique la variabilidad en rasgos metabólicos y termorregulatorios de estos organismos (Rezende et al., 2004).

En este sentido, diversos autores han elaborado relaciones alométricas a partir de la TMB obtenida con respecto a masa corporal para una variedad de grupos taxonómicos, que son utilizadas como parámetro contra el cual comparar desviaciones de lo predicho si la masa corporal fuera el único factor afectando la TMB (Cruz-Neto y Bozinovic, 2004; McNab, 2015). Y,

efectivamente, encontraron que una vez corregido su efecto persiste una variación residual considerable (Rezende 2004; White y Kearney, 2013; McNab, 2015). De acuerdo a lo esperado, estudios comparativos interespecíficos en micromamíferos encuentran que a gran escala los mejores predictores de la TMB independiente de masa corporal son la latitud y la temperatura. Es decir, ambientes con temperaturas mínimas más bajas estarían favoreciendo una tasa metabólica relativamente más alta por una mayor demanda termorregulatoria (Rezende et al., 2004; Naya et al., 2013a; White y Kearney, 2013). A su vez, la temperatura ambiental se correlaciona negativamente con la amplitud de la ZTN y positivamente con las temperaturas críticas; es decir, especies que han evolucionado en ambientes fríos presentan ZTN más amplias y con TC_{inf} y TC_{sup} menores que las de ambientes cálidos (Bozinovic et al., 2014). Sin embargo, estas respuestas no son universales y dependen de diversos factores (Cruz-Neto et al., 2003). Por ejemplo, en situaciones de escasez de recursos o ante dietas de baja calidad, una baja TMB puede resultar ventajosa ya que implica un bajo costo de mantenimiento (Bozinovic et al., 1990; McNab, 2002; Burton et al., 2011). Mueller y Diamond (2001) encontraron que especies de *Peromyscus* de hábitats con baja productividad primaria tenían TMB y tasas de actividad más bajas que aquellas de sitios de alta productividad. Esto resulta relevante para especies de desierto, que se enfrentan no sólo a baja disponibilidad de recursos sino también a altas temperaturas. En consecuencia, una baja TMB no solo disminuye los costos de mantenimiento sino que además implica una menor producción de calor metabólico y una menor frecuencia respiratoria, disminuyendo la tasa de pérdida de agua evaporativa (Rezende et al., 2004). Además, existe una fuerte vinculación entre la tasa metabólica y la conductancia térmica (CT) como un sistema coordinado para la regulación de la temperatura corporal. Tanto un aumento en la TM como una disminución en la CT pueden contribuir a una mayor eficiencia termorregulatoria, evidenciándose una compensación entre ambas variables (McNab, 2002; Naya et al., 2013b). Por ejemplo, se ha visto que en poblaciones de *Peromyscus* de ambientes desérticos, que tienen TMB menores que los de ambientes méxicos, también presentan CT menores de forma que el cociente TMB/CT se mantiene constante (McNab, 2012). Así, la presencia de distintas estrategias termorregulatorias depende de un compromiso entre la capacidad de generar y disipar calor, la capacidad de aislamiento medida por la conductancia, la historia filogenética y el ambiente (Antinuchi et al., 2003).

Este tipo de abordaje interespecífico permite elaborar patrones generales a partir de los cuales generar hipótesis acerca de procesos en tiempos evolutivos pero no da cuenta de mecanismos de ajuste al ambiente claves para comprender la adecuación de las especies en

tiempos ecológicos. Además, los estudios interespecíficos ignoran la variación individual que constituye la materia prima sobre la cual actúa la selección natural (Cruz-Neto y Bozinovic, 2004). Así, estudios intraespecíficos a lo largo de gradientes geográficos naturales resultan una herramienta poderosa para diferenciar entre los factores próximos y últimos de selección de variables asociadas al metabolismo energético, para evaluar su contribución al desempeño de los organismos (Cruz-Neto et al., 2003).

En este contexto, la plasticidad fenotípica juega un rol central en la aclimatización a la variación ambiental (Bradshaw, 2003). La plasticidad fenotípica se define como la habilidad de un genotipo de expresar distintos fenotipos bajo diferentes condiciones ambientales; por lo tanto, le confiere al organismo una amplia versatilidad, implicando mayor *fitness* a través de ambientes múltiples o heterogéneos (Pigliucci, 2001; Ghalambor et al., 2007). Esta propiedad del genotipo suele representarse a través de normas de reacción, que son funciones que describen la relación fenotipo-ambiente, para cada genotipo particular. Se dice que un carácter es plástico cuando su norma de reacción presenta una pendiente distinta de cero; es decir, el carácter toma distintos valores en función de la variación ambiental (Fusco y Minelli, 2010). Así, la plasticidad se verá favorecida en poblaciones expuestas a gran fluctuación climática, que requieren rangos de tolerancia amplios, como así también en aquellas que presentan elevado flujo génico a través de gradientes geográficos, i.e. estructura de metapoblaciones (Sultan y Spencer, 2002; Ghalambor et al., 2007). En consecuencia, la hipótesis de variabilidad climática predice que la plasticidad fisiológica debería aumentar con la latitud, altitud, grado de dispersión y rango de distribución de las especies (Naya et al., 2008). Sin embargo, existen a su vez costos asociados, como mantenimiento de la maquinaria molecular/fisiológica de respuesta al ambiente, que favorecerían la adaptación local sobre la plasticidad (DeWitt et al., 1998; Crispo, 2008).

A su vez, la plasticidad puede ser lábil, respondiendo a factores ambientales en el corto plazo; o fija, donde una señal ambiental influye sobre el fenotipo durante un periodo crítico en las primeras etapas del desarrollo, dando forma a un carácter que se mantiene más allá de la presencia de dicha señal (Scheiner, 1993; Pigliucci, 2001; Piersma y Drent, 2003). La plasticidad lábil abarca al gran número de variables fisiológicas que se ajustan al ambiente mediante aclimatación/aclimatización (Piersma y Drent, 2003), y el metabolismo energético no es una excepción. La tasa metabólica basal, la tasa metabólica máxima (que representa la capacidad termogénica del animal) y/o la conductancia térmica son variables que presentan tanto variación estacional como así también respuestas rápidas ante la aclimatación en el laboratorio,

generalmente aumentando la TM y disminuyendo la CT ante bajas temperaturas (Bozinovic et al., 1990; Novoa et al., 2005; Cheviron et al., 2013;; Zhao et al, 2014). Además, Zhao et al. (2014) mostraron que por aclimatación a bajas temperaturas, la temperatura crítica inferior es capaz de descender resultando en ZTN más amplias. Así, la plasticidad fenotípica lábil permite al organismo adecuarse rápidamente y de forma reversible a condiciones ambientales cambiantes, una característica ventajosa en ambientes estacionales o impredecibles (Stearns, 1989; Pigliucci, 2001). En cambio, la plasticidad fenotípica fija implica que el desempeño actual está fuertemente influenciado por el ambiente experimentado durante el desarrollo, más allá de las condiciones encontradas durante la adultez (Pigliucci, 2001). De esto se desprende que ante condiciones homogéneas de aclimatación, individuos adultos presentarán respuestas similares si el rasgo es lábil mientras que la respuesta diferirá dependiendo de las condiciones bajo las cuales se desarrollaron si el rasgo presenta plasticidad fija (Pigliucci, 2001; Chappell et al., 2007). Por ejemplo, estudios en *Peromyscus maniculatus* a lo largo de un gradiente altitudinal muestran que si bien presenta labilidad en caracteres metabólicos, existe un efecto significativo del sitio de origen; es decir, que el ambiente durante el desarrollo impacta en el fenotipo de forma irreversible (Chappell et al., 2007; Russel et al., 2008).

En la provincia de Mendoza, los Andes alcanzan una gran altitud en una distancia lineal relativamente corta, lo cual implica cambios abruptos en el paisaje, el ambiente térmico y la calidad y disponibilidad de recursos. Por lo tanto, resulta un excelente sistema para estudiar la adecuación de rasgos fisiológicos de pequeños mamíferos a la variación en temperatura ambiental. Para ello, elegimos como modelo de estudio a *Phyllotis xanthopygus* (Rodentia: Cricetidae; Figura 2), un roedor de tamaño pequeño (masa promedio del adulto: 55 g) que habita zonas áridas templadas a través de un extenso rango geográfico a lo largo de la Cordillera de los Andes, desde el sur de Perú hasta el sur de Argentina (Kramer et al., 1999). Se trata de un animal nocturno esencialmente herbívoro, aunque durante el verano también



Figura 2. Individuo adulto de *Phyllotis xanthopygus*. Fotografía de Paola Sassi.

incluye semillas e insectos en su dieta (Kramer et al., 1999; Sassi et al., 2015; Sassi et al., 2016). Tanto el género como la especie han sido muy estudiados en cuanto a variables fisiológicas, evidenciando un nivel relativamente alto de plasticidad lábil (Bozinovic y Nespolo, 1997; Sabat et al., 1999; Nespolo et al., 2001; Rezende et al.,

2001; Naya et al., 2005; Bozinovic et al., 2007). Por ejemplo, Nespolo et al. (1999) encontraron que la aclimatación a bajas temperaturas elevó significativamente la tasa metabólica máxima. Además, se ha visto en la especie hermana, *Phyllotis darwini*, que la capacidad de aclimatación es dependiente de las condiciones experimentadas durante la ontogenia. Específicamente, individuos que se desarrollaron a 15°C exhiben flexibilidad en TMB en la adultez mientras que aquellos nacidos a 30°C presentan una norma de reacción inflexible, siendo su TMB constante independientemente de la temperatura de aclimatación (Cavieres, 2013). Esta plasticidad metabólica observada en todo el género para lidiar con las bajas temperaturas ha sido atribuida a su origen evolutivo en la región Altoandina (Nespolo et al., 2001). Particularmente para la zona de Tunuyán, estudios previos establecen que la especie se distribuye entre los 1300 y 3300 m s.n.m. (Novillo y Ojeda, 2014); por lo tanto, se enfrenta a grandes variaciones de temperatura a lo largo del gradiente, con un descenso pronunciado de la media anual hacia mayores elevaciones (Sassi y Novillo, 2015). Además, estudios genéticos revelan que existe un elevado flujo génico entre los individuos ya que no se evidencia una estructuración entre sitios a lo largo del mismo (Ojeda et al., 2013). Estas características (amplia distribución geográfica y elevado flujo génico) hacen de esta población un modelo particularmente adecuado para poner a prueba hipótesis relacionadas con la plasticidad de caracteres fenotípicos.

En este sentido, dos estudios recientes establecen un patrón interesante. Sassi y Novillo (2015) encontraron ajustes en la tasa de ingesta de energía relacionados con la altura de procedencia de los individuos para ciertos tratamientos térmicos. Ante aclimatación a 16°C los individuos provenientes de menor altitud aumentaron significativamente su tasa de ingesta con respecto a los de mayor altitud, diferencia que se diluye a 25°C (Figura 3a). Un estudio posterior encontró que esta diferenciación intraespecífica a 16°C se pierde en una generación posterior nacida y criada bajo condiciones homogéneas de temperatura en el laboratorio, independientemente del sitio de origen de la madre (Sassi y Fiorio, datos no publicados; Figura 3b). Esto nos sugiere que el ambiente térmico podría revelar diferencias en la eficiencia de los animales para mantener el balance energético y que tal plasticidad sería moldeada durante la ontogenia. Aunque la tasa de ingesta de energía indica indirectamente el ajuste de un organismo a sus requerimientos energéticos, es un parámetro comportamental y por tanto puede presentar mayor flexibilidad y a escalas de tiempo menores que rasgos fisiológicos o morfológicos (Pigliucci, 2001).

En consecuencia, nos preguntamos si la variación fenotípica observada se sustenta en diferencias intraespecíficas a nivel fisiológico y qué factores la estarían determinando. Por lo

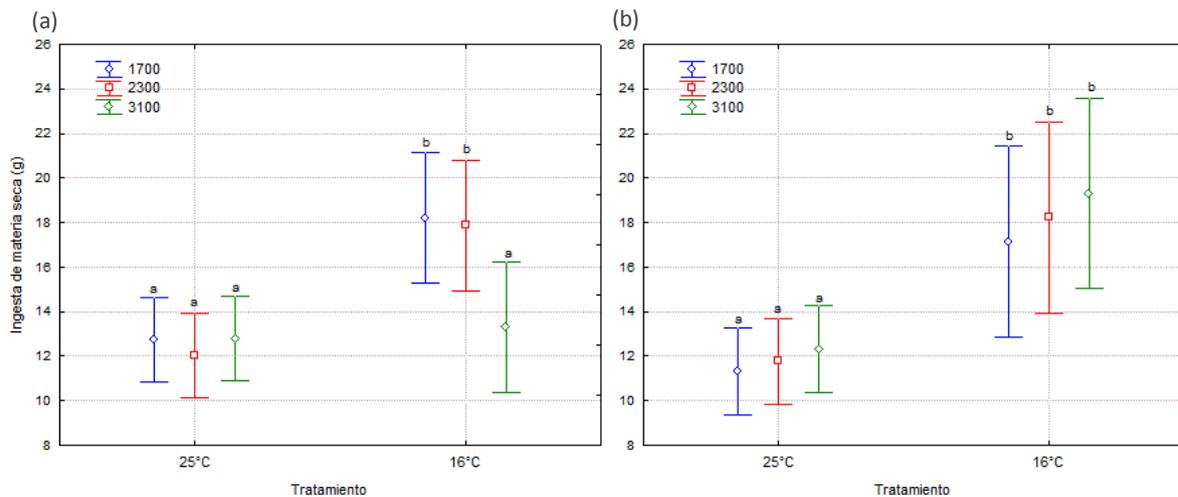


Figura 3. Ingesta de materia seca ante aclimatación a dos temperaturas experimentales. (a) Individuos colectados en distintos sitios altitudinales (P) - adaptado de Sassi y Novillo, 2015. (b) Individuos nacidos en cautiverio cuyas madres fueron colectadas en dichos sitios altitudinales (F1) - datos de Sassi y Fiorio. Valores correspondientes a media \pm DE. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

tanto, en el presente trabajo nos proponemos explorar los mecanismos subyacentes a dichas observaciones conductuales mediante la evaluación de caracteres directamente implicados en el metabolismo energético y su eventual plasticidad.

Objetivos

(a) Determinar si existe variación altitudinal en parámetros de la curva metabólica (ZTN, TC_{inf} , TC_{sup} , TMR) y la conductancia térmica (CT) en *Phyllotis xanthopygus* ante aclimatación a una temperatura uniforme.

(b) Evaluar si existe o no plasticidad del desarrollo, esto es si se encuentra diferenciación en una siguiente generación (F1), criada bajo condiciones homogéneas en el laboratorio.

Hipótesis y Resultados Esperados

Establecemos como hipótesis de trabajo que la zona de termoneutralidad, temperatura crítica inferior y superior, tasa metabólica de reposo y/o conductancia térmica son variables plásticas que responden al ambiente térmico experimentado durante el desarrollo. Por lo tanto, predecimos que:

(a) Individuos provenientes del campo (Generación parental, en adelante P) aclimatados a 16°C mostrarán diferencias intraespecíficas: aquellos provenientes de mayor altitud presentarán ZTN más amplia, una TC_{inf} más baja y menor CT que los de menor altitud.

(b) Animales nacidos en cautiverio (Generación filial 1, en adelante F1) y mantenidos bajo condiciones homogéneas durante su ontogenia no presentarán diferenciación intraespecífica en las variables anteriores, independientemente del sitio de origen de la madre.

Materiales y Métodos

Sitio de estudio

La zona seleccionada para llevar adelante el estudio se ubica dentro de dos áreas protegidas colindantes, Reserva Provincial del Manzano Histórico y Reserva Manzano Portillo de Piuquenes, localizadas en el departamento de Tunuyán, Mendoza. Se establecieron 3 sitios de muestreo a lo largo de una transecta altitudinal a 1700 (33°35'35,8"S – 69°24'15,6"O), 2300 (33°36'48,4"S – 69°28'42,7"O) y 3100 (33°36'37,9"S - 69°32'14,5"O) m s.n.m. Los sitios se encuentran a una distancia de 3 a 4 km entre sí, abarcando cambios graduales en el paisaje. De acuerdo a Méndez (2011) estos corresponden a diferentes zonas fitogeográficas, los primeros 2 pertenecientes a la región Andina mientras que el de mayor altitud está dentro de la región Altoandina. El sitio a 1700 m.s.n.m. se encuentra dominado principalmente por comunidades de *Eupatorium buniifolium*, *Stipa tenuissima* y *Colliguaja integerrima* mientras que a los 2300 m se encuentran mayormente comunidades de *Junellia scoparia*, *Junellia juniperina* y *Adesmia horrida*. En cuanto al sitio de 3100 m predominan las comunidades de *Berberis empetrifolia* y *Azorella monantha* (Méndez, 2011). Si bien la cobertura vegetal no varía significativamente entre los sitios, el de 2300 m presenta una riqueza y diversidad mayor (Sassi et al., 2016).

En cuanto al clima, se trata de una zona semiárida con temperatura media anual que ronda los 15°C y precipitación media anual de 303 mm (www.climatedata.org). La zona muestra una marcada estacionalidad, con lluvias concentradas en el verano y temperaturas que pueden alcanzar los 30°C mientras que durante el invierno se registran temperaturas bajo cero y las precipitaciones principalmente ocurren en forma de nieve. Particularmente para nuestros sitios de muestreo, datos de temperatura tomados durante 2 años por *dataloggers* (Extech®USB Temperature Dataloggers, rango -40 a 70°C, resolución 0,1°C, precisión ± 1,0°C (-10 a 40°C)) muestran un marcado descenso de la temperatura media anual hacia mayores elevaciones: 14,91 ± 6,83 °C (1700 m), 11,15 ± 5,65 °C (2300 m) y 7,40 ± 5,6 °C (3100 m) (Sassi y Novillo, 2015; Figura 4).

Captura de animales y aclimatación

Se realizaron 2 campañas entre los meses de febrero y diciembre de 2016; sin embargo, en la campaña de diciembre no se pudo acceder al sitio más elevado debido a derrumbes en el camino que imposibilitaron el tránsito. En cada campaña se colocaron 60 trampas tipo Sherman de captura viva por sitio de muestreo durante 3 noches consecutivas. Las mismas se

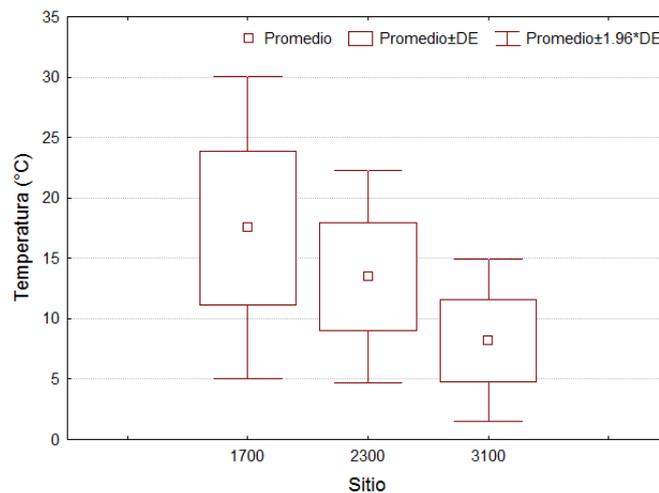


Figura 4. Temperatura media anual de los sitios de estudio. Temperaturas ambientales tomadas por *dataloggers* colocados en cada sitio altitudinal (1700, 2300 y 3100 m s.n.m.) a lo largo de 2 años. Valores correspondientes a media \pm DE y $1,96*DE$. Distintas letras indican diferencias significativas en temperatura promedio.

distribuyeron en 3 transectas de 20 trampas y fueron cebadas con avena y mantecol®. Se revisaron diariamente y los animales colectados se identificaron a nivel de especie o género, se les determinó el sexo y se les tomaron medidas estándar (peso, largo de pata, cola y oreja). Todos aquellos que no fueran de la especie *P. xanthopygus* eran soltados en el sitio luego de tomarles los datos.

Se colectaron un total de 8 individuos de *P. xanthopygus* de 1700 (3 machos y 5 hembras), 5 de 2300 (3 machos y 2 hembras) y 5 de 3100 (1 macho y 4 hembras) para conformar el grupo P, que fueron trasladados al bioterio del IADIZA, CCT-Mendoza. Allí, se colocaron en jaulas individuales de 30x30x40 cm con agua y comida (alimento balanceado para chinchilla Chindiet® (Equidiet Company S.A.)) *ad libitum*, a una temperatura de 22°C y fotoperiodo 12L:12O. Las hembras capturadas fueron pesadas una vez por semana para evaluar la posibilidad de preñez y la jaula revisada periódicamente para establecer la fecha de parto. En caso de tener crías, permanecieron con las mismas hasta los 30 días de edad, momento en que realizamos el destete. Los individuos fueron mantenidos bajo estas condiciones de aclimatación al cautiverio durante 1 mes antes de comenzar el tratamiento experimental. En el caso de las hembras reproductivas este periodo se extendió hasta el momento del destete.

En cuanto a las crías, obtuvimos un total de 10 individuos F1 por altura: 9 machos y 1 hembra de madres de 1700 ($n_{\text{madres}}=4$), 6 machos y 4 hembras de madres de 2300 ($n_{\text{madres}}=3$) y 8 machos y 2 hembras de madres de 3100 ($n_{\text{madres}}=4$). Desde el nacimiento y durante la lactancia, todos fueron mantenidos bajo condiciones estándar de laboratorio (22°C, fotoperiodo 12L:12O, agua y comida *ad libitum*) hasta los 3 meses de edad, momento en que

alcanzan la adultez, antes de comenzar el tratamiento experimental (Sabat y Bozinovic, 2000; Canals et al., 2009; Cavieres, 2013).

Tratamiento Experimental

Todos los individuos, tanto P como F1 de los 3 sitios, fueron aclimatados durante 3 semanas a 16°C, manteniendo el fotoperiodo 12L:12O y comida y agua *ad libitum*. Este tipo de diseño nos permite diferenciar entre 2 fuentes de plasticidad fenotípica: plasticidad fisiológica lábil, mediante la comparación de individuos traídos del campo aclimatados a condiciones homogéneas – jardín común – y plasticidad fija del desarrollo, mediante la comparación de la descendencia de individuos silvestres nacida y criada bajo jardín común (Cheviron et al., 2013). Una vez finalizada la aclimatación, se midió tasa metabólica de reposo (TMR), zona de termoneutralidad (ZTN) – temperatura crítica inferior (TC_{inf}) y superior (TC_{sup}) – y conductancia térmica (CT).

Mediciones Metabólicas

Se utilizó un sistema de respirometría de circuito abierto (Field Metabolic System; Sable Systems, Anderson, NV) para cuantificar la tasa de consumo de oxígeno (VO₂). Cada animal, luego de ser pesado con una balanza electrónica, fue situado en una cámara de medición que recibe aire seco y libre de CO₂ a un flujo de 730 ml/min. Esto se logra mediante la incorporación de cal sodada (absorbente de CO₂) y Drierite (absorbente de agua) colocados en serie, previo al ingreso de la cámara (Figura 5). El aire excurrente es luego muestreado cada 1 segundo mediante el analizador de O₂ FoxBox Respirometry System (rango: 0-100% - precisión: 0,1% - resolución: 0,0001%; Sable Systems, Anderson NV) y el consumo de O₂ analizado utilizando el programa ExpeData (Sable Systems, Anderson, NV) siguiendo la ecuación:

$$VO_2 \text{ (mlO}_2\text{/h)} = \frac{TF * 60 * (FiO_2 - FeO_2)}{1 - FiO_2}$$

donde TF es la tasa de flujo de aire y FiO₂ y FeO₂ son la concentración fraccional de oxígeno incurrente y excurrente, respectivamente (Withers, 1977).

Las mediciones se realizaron a través de una rampa de temperaturas ambientales (10°, 15°, 20°, 25°, 28°, 30°, 32°, 34°, 36° y 38° C) durante 30 min cada una, a excepción de la primera (10°C) que duraba 50 min para que el animal se estabilice (adaptado de Zhao et al., 2014). Para lograr una temperatura ambiental constante, la cámara con el animal se colocó dentro de una cabina Peltier-effect cuya temperatura es controlada mediante un controlador de temperatura PELT-5 (rango: -5 a 65°C – estabilidad: 0,01 a 0,2°C; Sable System, Anderson, NV; Figura 5). Al

inicio y final de cada una de las mediciones se realizó una línea base de 1 min de duración para establecer la concentración de gases atmosféricos como valor de referencia contra el cual comparar. Dado que en general esta especie presenta hábitos nocturnos (Kramer et al., 1999; Sassi et al., 2015), todas las estimaciones se realizaron entre las 09:00-20:00 hs para evitar un posible efecto del ritmo circadiano (McNab, 1997; Zhao et al., 2014).

Variables

- ✓ Tasa metabólica: se calculó a partir de los valores estables más bajos de consumo de oxígeno a lo largo de 5 minutos a cada temperatura ambiental.
- ✓ Zona termoneutral: rango de temperaturas ambientales donde la TM es mínima.
- ✓ Tasa metabólica de reposo: corresponde a la TM mínima, dado que los animales no se encontraban en estado de ayuno (Speakman et al., 2004).
- ✓ Conductancia térmica: se calculó como la pendiente de la curva metabolismo-temperatura ambiental, para la zona entre los 10°C y la TC_{inf} (Castellanos-Frías et al., 2015).
- ✓ TMR obtenida/esperada por masa corporal: la TMR obtenida para cada grupo fue comparada con los valores predichos para mamíferos: $TMB (mLO_2/g.h) = 3,42 * Mc^{-0,25}$ (Kleiber, 1961); pequeños herbívoros: $TMB (mLO_2/g.h) = 7,65 * Mc^{-0,38}$ y roedores: $TMB (mLO_2/g.h) = 4,18 * Mc^{-0,32}$ (McNab, 1988), donde Mc es la masa corporal.
- ✓ CT obtenida/esperada por masa corporal: la CT obtenida para cada grupo fue comparada

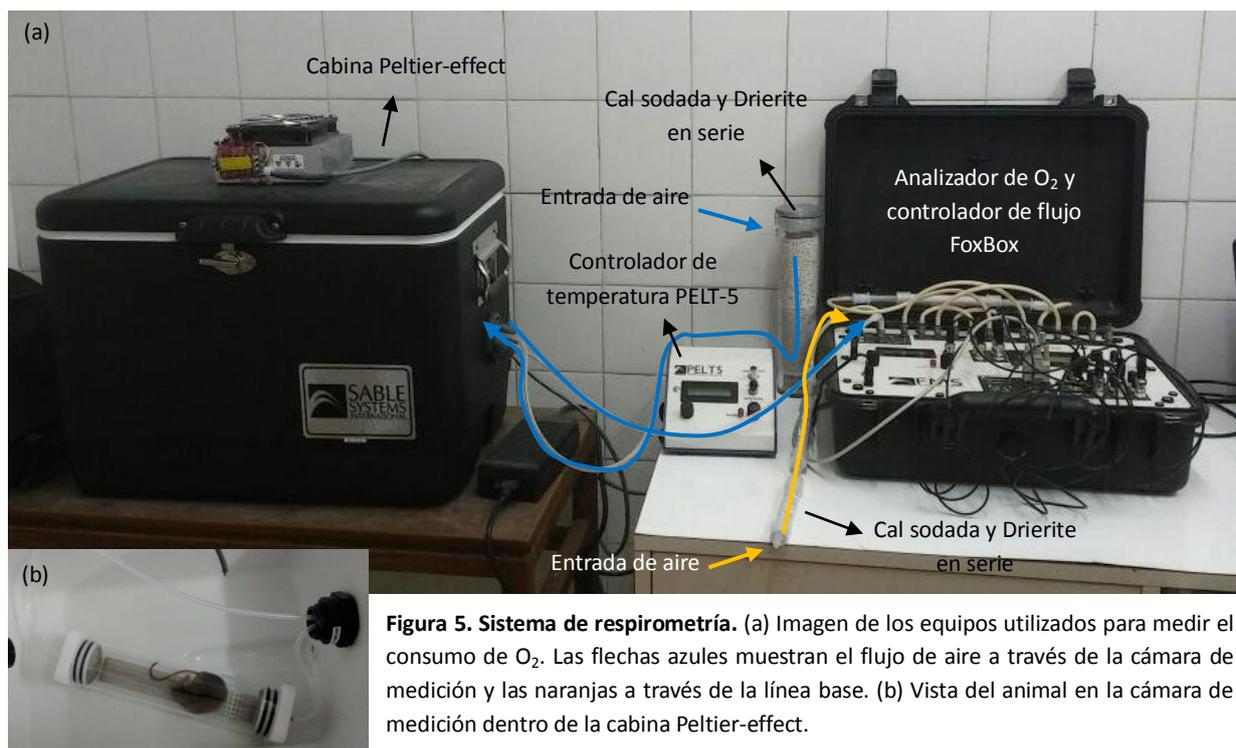


Figura 5. Sistema de respirometría. (a) Imagen de los equipos utilizados para medir el consumo de O₂. Las flechas azules muestran el flujo de aire a través de la cámara de medición y las naranjas a través de la línea base. (b) Vista del animal en la cámara de medición dentro de la cabina Peltier-effect.

con los valores predichos para mamíferos, de acuerdo a $CT(m\text{IO}_2/g.h.^{\circ}C) = 1 * Mc^{-0,5}$ (Morrison y Ryser, 1951), donde Mc es la masa corporal.

Análisis Estadísticos

Dado que el peso corporal influye directamente sobre la tasa metabólica y la conductancia térmica, trabajamos con valores de consumo de oxígeno peso-específicos. Para evaluar la influencia del sexo sobre las variables respuesta se realizaron ANOVAs independientes para cada generación con sexo como variable categórica y consumo de oxígeno y conductancia térmica como variables respuesta.

Para evaluar el efecto del sitio de procedencia sobre la curva metabólica realizamos ANOVAs de medidas repetidas para cada generación con consumo de oxígeno como variable respuesta, temperaturas como niveles y altura como variable categórica. A su vez, se repitió esta metodología para cada altura con generación como variable categórica para evaluar el efecto del desarrollo sobre la curva de metabolismo.

Para estimar el rango de temperaturas que componen la ZTN de cada grupo, se realizaron ANOVAs de medidas repetidas para cada altura en cada generación, con consumo de oxígeno como variable respuesta y las temperaturas como niveles. Se utilizó un test de Tukey para realizar comparaciones *a posteriori* y se definió la ZTN como el rango de temperaturas que no presentara diferencias significativas entre sí. Las TC_{inf} y TC_{sup} corresponden a los límites de la misma.

En cuanto a la TMR y la CT, se analizaron intrageneracionalmente mediante un MANOVA con altura como variable categórica e intergeneracionalmente por cada sitio con generación como variable categórica. La CT fue transformada a $\log_{10}(CT)$ para cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad requeridos por la estadística paramétrica (Zar, 2010). La proporción del valor obtenido para TMR y CT con respecto al esperado para masa corporal fue transformado a $\arcsenov(\text{proporción}/2)$ (Zar, 2010); sin embargo, con la transformación no se logró cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En consecuencia, se analizaron mediante estadística no paramétrica a través de un test de Kruskal-Wallis por generación con altura como variable categórica y por sitio con generación como variable categórica.

Resultados

Dado que en algunas especies de micromamíferos existen diferencias en tasa metabólica entre los sexos (Gordon, 1993; Castellanos-Frías, 2015), se evaluó en primera instancia su efecto sobre las variables respuesta. No encontramos diferencias entre machos y hembras en la tasa de consumo de oxígeno (P: $F_{(10,7)}=0,968$, $p=0,535$; F1: $F_{(10,19)}=0,656$, $p=0,75$) ni en la conductancia térmica (P: $F_{(1,16)}=3,84$, $p=0,068$; F1: $F_{(1,28)}=0,654$, $p=0,425$) peso-específicas. Por lo tanto, esta variable no fue incluida en el resto de los análisis.

Curva Metabólica

✓ Análisis intrageneracional

La variación de temperatura ambiente tuvo un efecto significativo sobre la tasa metabólica en los grupos de animales de ambas generaciones (P: $F_{(9,135)}=133,91$, $p<0,0001$; F1: $F_{(9,243)}=190,44$, $p<0,0001$); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre grupos procedentes de distintas alturas en el patrón global (P: $F_{(2,15)}=0,62$, $p=0,554$, Figura 6; F1: $F_{(2,27)}=2,77$, $p=0,081$, Figura 7).

Para F1 se encontró además que la interacción Temperatura*Altura resultó significativa, no así en la generación P (P: $F_{(18,135)}=0,67$, $p=0,832$; F1: $F_{(18,243)}=2,53$, $p=0,0008$). Particularmente, los individuos F1 de 3100 m presentaron TM más elevadas a 10°C y 15°C (10°C: $VO_{2,1700}=3,29$; $VO_{2,2300}=2,84$; $VO_{2,3100}=3,47$ mlO₂/g.h; 15°C: $VO_{2,1700}=2,59$; $VO_{2,2300}=2,53$; $VO_{2,3100}=2,99$ mlO₂/g.h; pruebas *a posteriori* de Tukey, $p<0,05$; Figura 7).

✓ Análisis intergeneracional

No se encontraron diferencias en la tasa de consumo de oxígeno para ninguna de las 3 alturas en el patrón global (1700: $F_{(1,16)}=0,09$, $p=0,774$; 2300: $F_{(1,13)}=0,35$, $p=0,563$; 3100: $F_{(1,13)}=1,33$, $p=0,269$). La interacción Temperatura*Generación tampoco resultó significativa (1700: $F_{(9,144)}=0,5$, $p=0,873$, Figura 8; 2300: $F_{(9,117)}=1,24$, $p=0,278$, Figura 9; 3100: $F_{(9,117)}=0,67$, $p=0,732$, Figura 10).

Zona de Termoneutralidad

Analizando los grupos por altura para cada generación obtuvimos que tanto los límites de la zona termoneutral como su amplitud presentaron diferencias. Las pruebas *a posteriori* de Tukey (Tabla A1-A6) revelaron que en la generación P los individuos provenientes del sitio a 1700 m presentan una ZTN con amplitud de 10°C dada por una temperatura crítica inferior de

28°C y una temperatura crítica superior de 38°C (Figuras 6 y 8). El grupo de 2300 m presentó la ZNT más amplia, con una temperatura crítica inferior de 25°C y una superior de 38°C, obteniendo una amplitud de 13°C (Figuras 6 y 9). Finalmente, para los animales de 3100 m obtuvimos el rango más acotado, presentando el límite inferior a 28°C y el superior a 36°C, dando una amplitud de 8°C (Figuras 6 y 10).

En cuanto a la generación F1, las pruebas *a posteriori* de Tukey mostraron un desplazamiento de las temperaturas críticas con respecto a lo obtenido para la P. Tanto los individuos cuyas madres provinieron del sitio a 1700 m como a 2300 m presentaron una ZNT con amplitud de 8°C determinada por el límite inferior a 28°C y el superior a 36°C (Figura 7); es decir, presentaron una ZNT más acotada que la P por una disminución de la $T_{c_{sup}}$ en ambos casos y además un aumento la $T_{c_{inf}}$ para los de 2300 m (Figuras 8 y 9). En cambio, el grupo F1 de 3100 m presentó un aumento en el rango con respecto a la P, mostrando una amplitud de 10°C dada por una temperatura crítica inferior de 28°C y una superior de 38°C (Figuras 7 y 10).

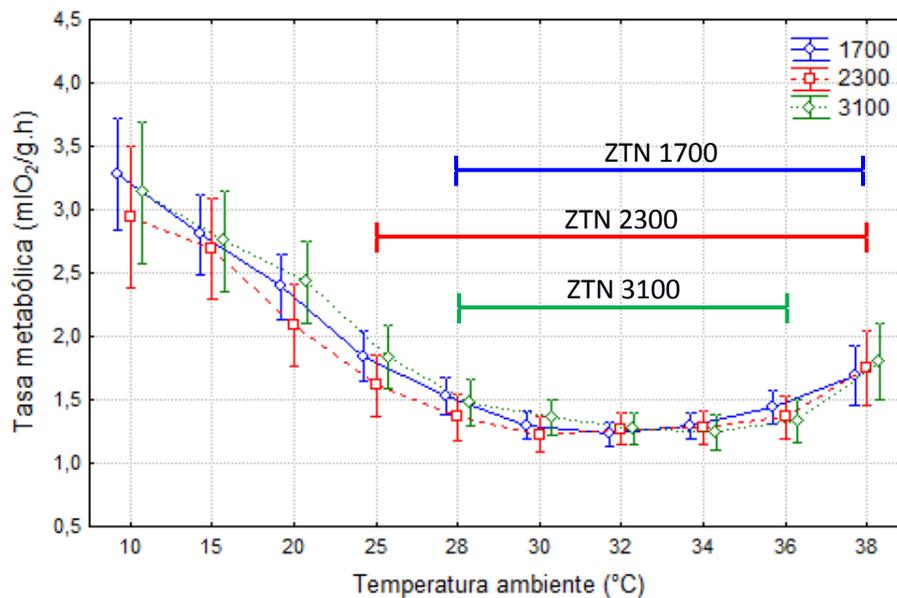


Figura 6. Curva metabólica para la generación P. Consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas para individuos provenientes de 3 sitios altitudinales (1700, 2300, 3100 m s.n.m.). Los valores corresponden a $\text{media} \pm \text{IC}_{95\%}$. Los corchetes ilustran las ZNT calculadas para cada sitio.

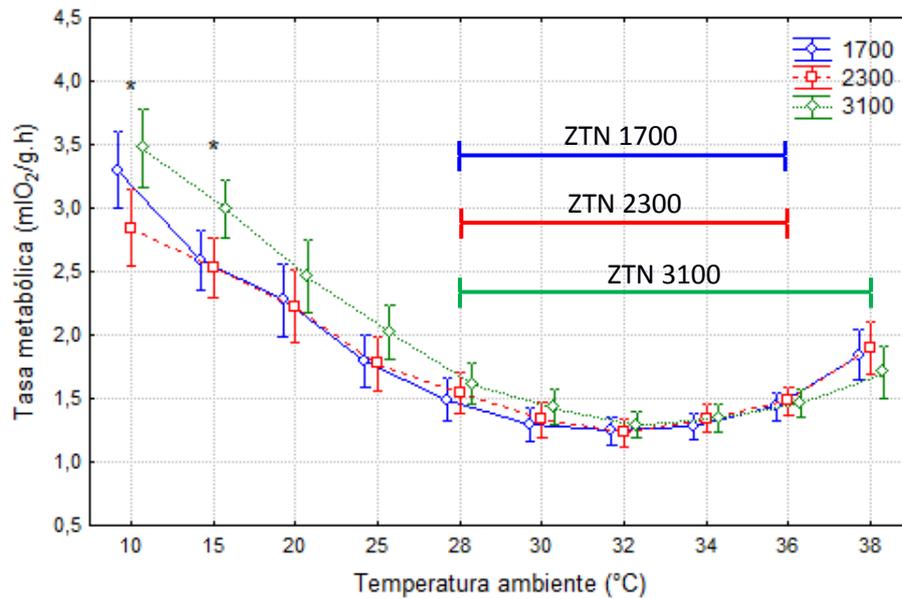


Figura 7. Curva metabólica para la generación F1. Consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas para individuos cuyas madres fueron capturadas de los 3 sitios altitudinales (1700, 2300, 3100 m s.n.m.). Los valores corresponden a media±IC95%. Asteriscos denotan diferencias significativas entre alturas para una determinada temperatura ($p < 0,05$). Los corchetes ilustran las ZTN para cada sitio.

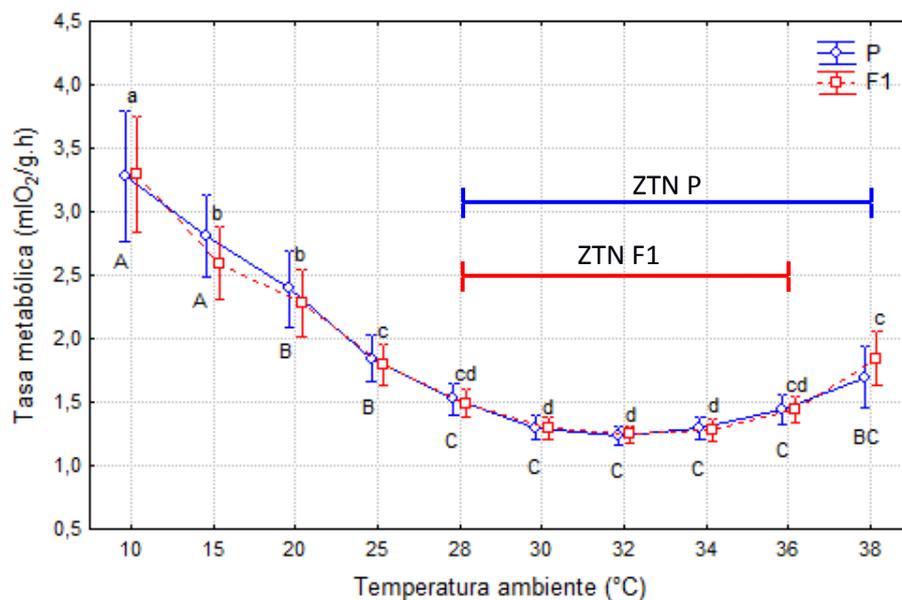


Figura 8. Curva metabólica para el sitio de 1700 m. Consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas para individuos procedentes (P) y nacidos de madres (F1) del sitio a 1700 m s.n.m. Los valores corresponden a media±IC95%. Distintas letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre temperaturas ambiente para generación P. Distintas letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre temperaturas ambiente para generación F1. Los corchetes ilustran las ZTN para cada generación.

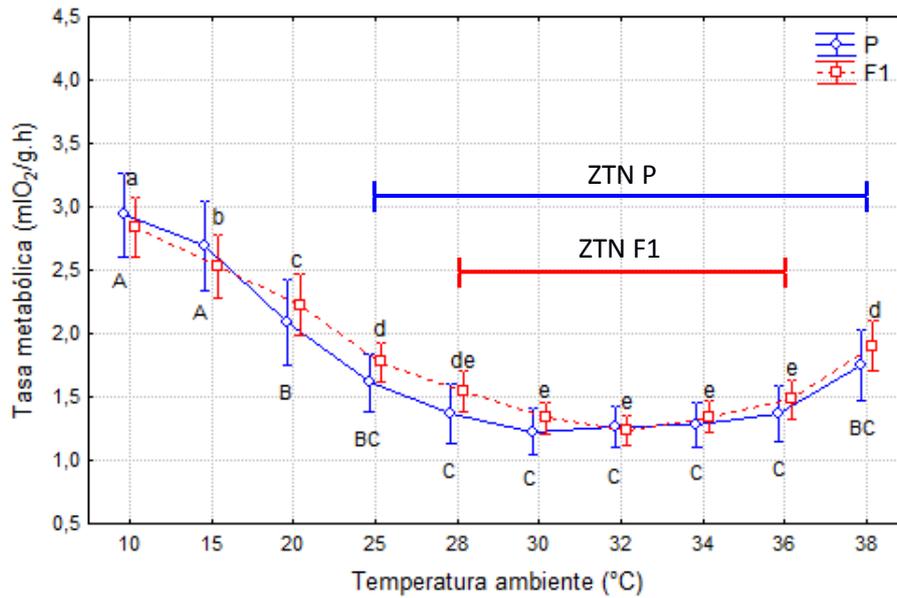


Figura 9. Curva metabólica para el sitio de 2300 m. Consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas para individuos procedentes (P) y nacidos de madres (F1) del sitio a 2300 m s.n.m.. Los valores corresponden a $\text{media} \pm \text{IC95\%}$. Distintas letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre temperaturas ambiente para generación P. Distintas letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre temperaturas ambiente para generación F1. Los corchetes ilustran las ZTN para cada generación.

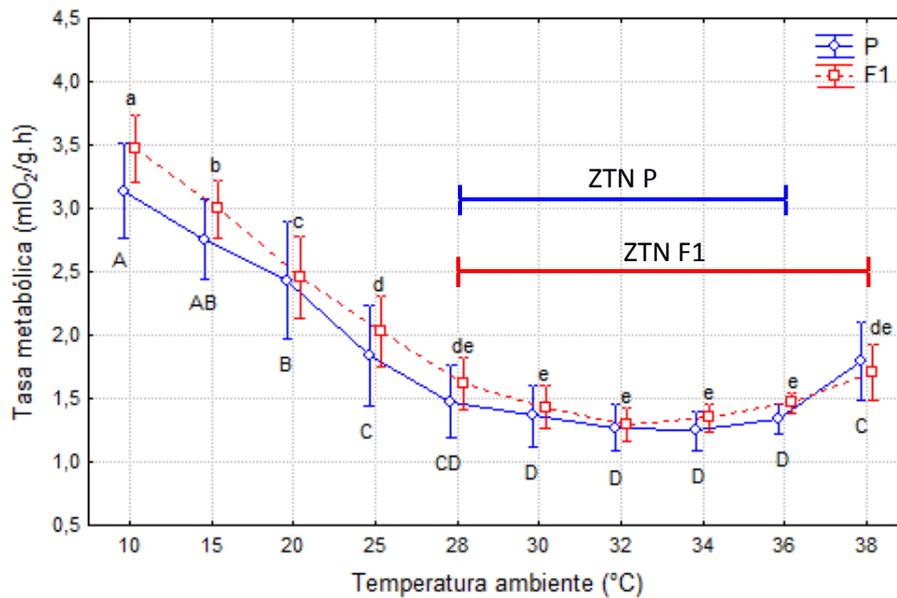


Figura 10. Curva metabólica para el sitio de 3100 m. Consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas para individuos procedentes (P) y nacidos de madres (F1) del sitio a 3100 m s.n.m.. Los valores corresponden a $\text{media} \pm \text{IC95\%}$. Distintas letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre temperaturas ambiente para generación P. Distintas letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre temperaturas ambiente para generación F1. Los corchetes ilustran las ZTN para cada generación.

Tasa Metabólica de Reposo y Conductancia Térmica

✓ Análisis intrageneracional

El grupo de animales P no presentó diferencias en TMR y CT entre los sitios de procedencia ($F_{(4,28)}=0,03$; $p=0,998$) mientras que para la F1 se obtuvo un efecto significativo de la altura ($F_{(4,52)}=2,61$, $p=0,046$). En este caso, los animales cuyas madres provenían del sitio a 2300 m presentaron valores significativamente más bajos de CT que los de 3100 m (prueba *post-hoc* de Tukey, $p=0,039$; Figura 11) mientras que la TMB no presentó diferencias (prueba *post-hoc* de Tukey, $p>0,05$; Figura 12).

✓ Análisis intergeneracional

No se encontraron diferencias entre las generaciones para ninguna de las 3 alturas (1700: $F_{(2,15)}=0,04$, $p=0,963$; 2300: $F_{(2,12)}=2,11$, $p=0,164$; 3100: $F_{(2,12)}=0,32$, $p=0,73$; Figuras 11 y 12).

Por último, podemos observar que para la CT, si bien las medias no son estadísticamente diferentes tanto entre alturas como entre generaciones, la P de 3100 presenta una desviación estándar mucho menor que el resto de los grupos (Figura 11).

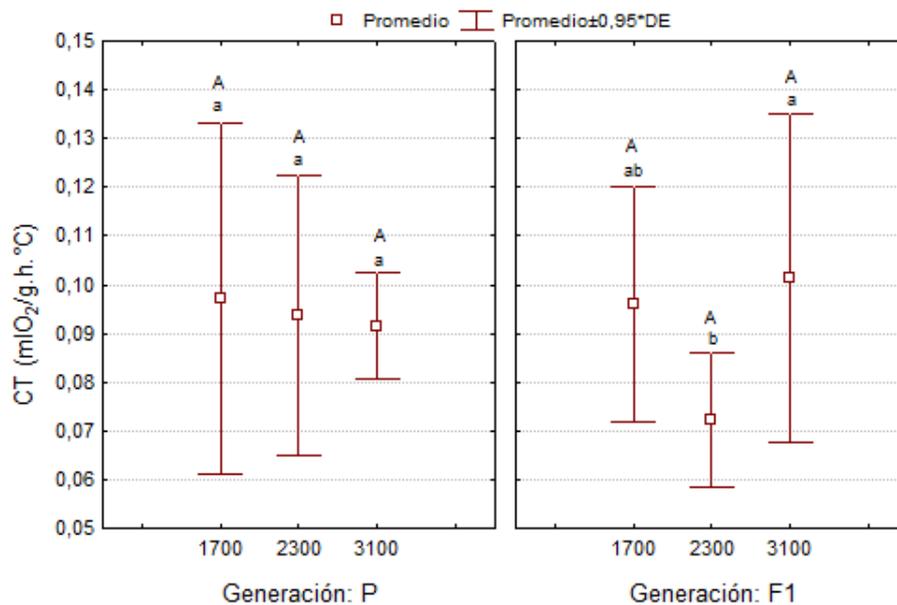


Figura 11. Conductancia térmica. Valores de CT para individuos P y F1 de los tres sitios altitudinales (1700, 2300, 3100 m s.n.m.). Se muestran las medias \pm DE. Distintas letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre generaciones. Distintas letras minúsculas indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre alturas.

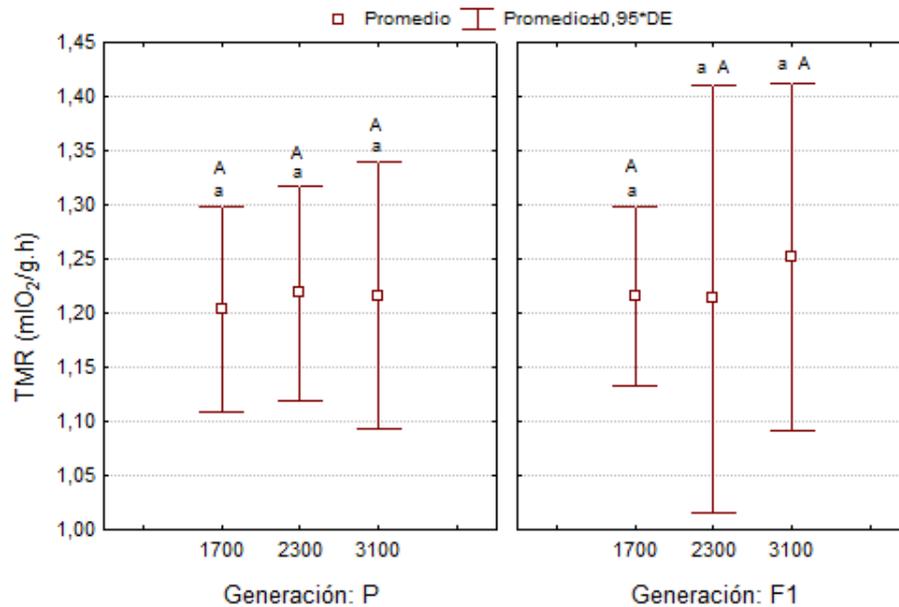


Figura 12. Tasa metabólica de reposo. Valores de TMR para individuos P y F1 de los tres sitios altitudinales (1700, 2300, 3100 m s.n.m.). Se muestran las medias \pm DE. Distintas letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre generaciones. Distintas letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre alturas.

Valores obtenidos vs esperados teóricamente

Tasa Metabólica de Reposo

La proporción de la TMR obtenida con respecto a la predicha por masa corporal se encuentra dentro de lo esperado para mamíferos ($P=1,02 \pm 0,088$; $F1=1,01 \pm 0,121$) y roedores ($P=1,12 \pm 0,102$; $F1=1,11 \pm 0,134$). Sin embargo, se observa en general que en ambas generaciones la TMR obtenida resulta menor que la esperada para pequeños herbívoros ($P=0,79 \pm 0,076$; $F1=0,78 \pm 0,095$) (Figura 13). No se hallaron diferencias en ninguna de estas variables debido a los factores altura de procedencia o generación (Tabla A7-A8).

Conductancia Térmica

✓ Análisis intrageneracional

Para la generación P se obtuvo que las medias de CT obtenida vs. esperada por masa corporal se encontraron por debajo de la unidad (i.e. presentan una CT media menor a la esperada para mamíferos). Sin embargo, no muestran diferencias significativas entre los grupos colectados a distintas altitudes ($H_{(2,18)}=1,07$, $p=0,585$) aunque la dispersión de los valores evidencia una clara diferencia entre ellos. Los animales procedentes de 1700 m presentan una varianza elevada, con lo cual el intervalo incluye a la unidad ($0,805 \pm 0,304$), el grupo de 2300

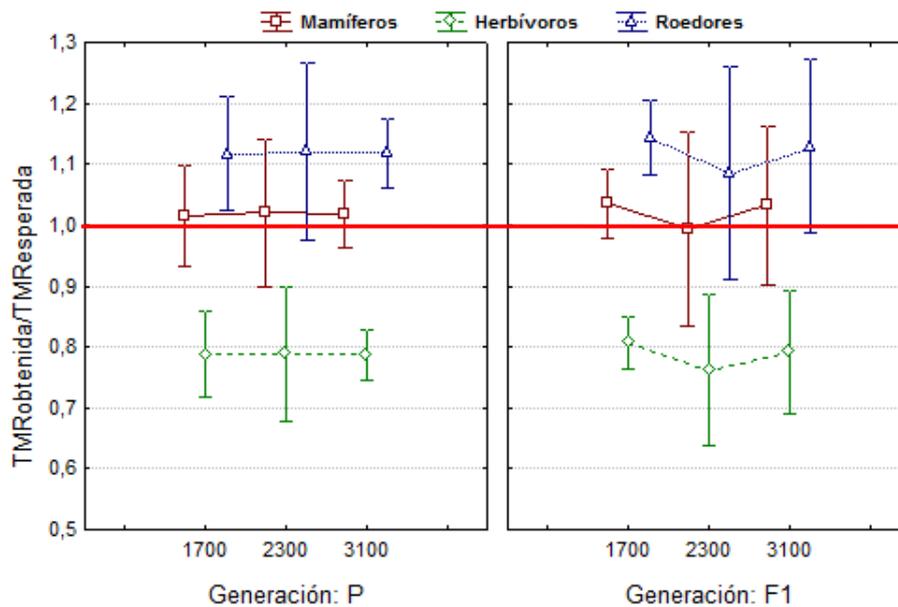


Figura 13. Proporción de tasa metabólica de reposo obtenida vs esperada por masa corporal. Se muestran las proporciones de TMR esperada para mamíferos, roedores y pequeños herbívoros en individuos P y F1 de los tres sitios altitudinales (1700, 2300, 3100 m s.n.m.). Los valores corresponden a media±DE. No hubo diferencias significativas para ninguna de las variables.

presentó una varianza intermedia ($0,749 \pm 0,157$) y en el de 3100 la varianza fue muy reducida alcanzando a lo sumo valores del 80% de lo esperado ($0,751 \pm 0,048$) (Figura 14).

En cuanto a la F1, la altura de procedencia de la madre tuvo un efecto significativo ($H_{(2,30)}=9,83$, $p=0,007$), con individuos de 2300 m presentando valores más bajos que los de 1700 y 3100 m. Las medias estuvieron por debajo del valor esperado, pero únicamente para los individuos F1 de 2300 la varianza fue pequeña, quedando claramente por debajo de la unidad (1700: $0,813 \pm 0,207$; 2300: $0,565 \pm 0,116$; 3100: $0,802 \pm 0,261$).

✓ Análisis intergeneracional

El grupo proveniente del sitio a 2300 m fue el único que presentó una diferencia marginalmente significativa entre generaciones (1700: $H_{(1,18)}=0,28$, $p=0,594$; 2300: $H_{(1,15)}=3,84$, $p=0,05$; 3100: $H_{(1,15)}=0,015$, $p=0,903$), siendo menor la proporción de CT esperada en la F1, respecto de la P (Figura 14).

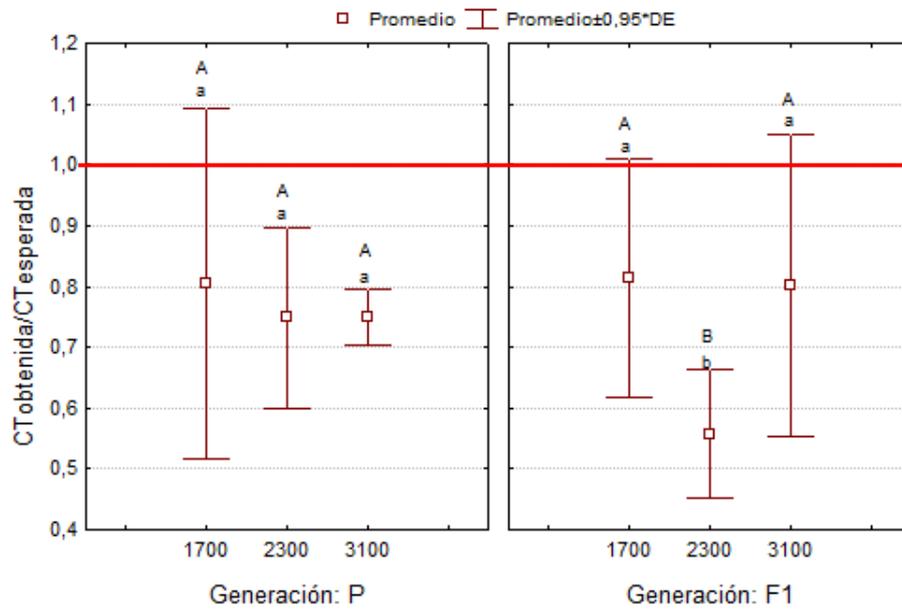


Figura 14. Proporción de conductancia térmica obtenida vs esperada por masa corporal. Se muestran las proporciones de la CT esperada para mamíferos en individuos P y F1 de los tres sitios altitudinales (1700, 2300, 3100 m s.n.m.). Los valores corresponden a media±DE. Distintas letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre generaciones. Distintas letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre alturas.

Discusión

El estudio de la variación de los parámetros metabólicos y sus consecuencias en el desempeño de los individuos resulta esencial para determinar las presiones de selección que moldean el gasto energético de los organismos (Cruz Neto et al., 2003; Rezende et al., 2004; White y Kearney, 2013). Además, evaluar las contribuciones relativas de diferenciación genotípica y plasticidad fenotípica es central para comprender la capacidad de adecuación de las especies ante cambios ambientales (Cheviron et al., 2013). El presente trabajo propuso explorar la existencia de variabilidad intraespecífica en caracteres asociados al metabolismo energético a lo largo de un gradiente altitudinal y su potencial plasticidad en una generación posterior criada bajo condiciones homogéneas en el laboratorio. Obtuvimos que tanto los límites como la amplitud de la ZTN variaron entre sitios de procedencia y generaciones; sin embargo, la F1 no respondió igual a la homogeneidad del laboratorio. Además, estas diferencias no se explicaron por variaciones en TMR o CT. Por lo tanto, si bien los resultados obtenidos corroboran sólo parcialmente nuestra hipótesis, sí parecerían reflejar la existencia de diferencias entre las poblaciones y un efecto de las condiciones experimentadas durante el desarrollo.

En cuanto a la primera predicción, esperábamos que los individuos procedentes del sitio a mayor altitud presentaran una zona de termoneutralidad más amplia, una temperatura crítica inferior más baja y menor conductancia térmica que los de menor altitud. Si bien los animales procedentes de los diferentes sitios altitudinales (P), aclimatados a 16°C, mostraron variabilidad intraespecífica en la zona de termoneutralidad, obtuvimos el patrón contrario ya que los animales de 3100 m presentaron la menor amplitud de ZTN por una disminución de la $T_{c_{sup}}$. La hipótesis de variabilidad climática predice rangos de tolerancia más amplios a mayor altitud, con una mayor plasticidad hacia menores temperaturas (Naya et al., 2008; Araújo et al., 2013; Zhao et al., 2014). Sin embargo, los datos de temperatura tomados en nuestros sitios de estudio indican que la amplitud térmica disminuye con la altitud. Esta diferencia se debe a que, si bien la media anual disminuye hacia mayores elevaciones, todos los sitios exhiben temperaturas mínimas bajas (por debajo de 0°C) mientras que las temperaturas máximas difieren en mayor medida, ya que rondan los 30°C a 1700 m mientras que a 3100 m no superan los 20°C. En el contexto fisiológico de nuestra especie de estudio esto significa que todos los sitios suponen un desafío termorregulatorio dado por temperaturas ambientales que se encuentran muy por debajo de la termoneutralidad; en cambio, sólo a 1700 m, y

ocasionalmente 2300 m, se encuentran ante temperaturas cercanas a la temperatura crítica superior. Por lo tanto, el rango más acotado de la ZTN exhibida por los animales de 3100 m se condice con el hecho de que representa el ambiente menos variable en términos de temperatura. A su vez, para las temperaturas críticas inferiores no se obtiene una disminución consistente hacia mayor altitud en concordancia con las mínimas ambientales, dado que resultó de 28°C para 1700 m y 3100 m y de 25°C para 2300 m. El hecho de que sólo los animales del sitio intermedio presenten $T_{c_{inf}}$ más bajas resulta confuso y es probable que se deba a un efecto del muestreo, dado que se tiene un número reducido de animales del sitio intermedio y de arriba. En cambio, la diferencia en las máximas ambientales sí se ve reflejada en las temperaturas críticas superiores, que son de 38°C para 1700 m y 2300 m mientras que es de 36°C para 3100 m. En este sentido, la teoría de limitación por disipación del calor propone que altas temperaturas ambientales imponen un límite extrínseco al gasto de energía, y por ende a los procesos metabólicos, debido al riesgo de hipertermia (Speakman y Krol, 2010). De acuerdo a ello, estudios recientes en *P. xanthopygus* encontraron evidencia de que altas temperaturas ambientales impondrían un límite tanto a la tasa y patrón de actividad (Sassi et al., 2015) como a la inversión energética destinada a la lactancia (Sassi et al., en revisión). Por lo tanto, bajo este marco y para nuestra zona de estudio, se plantea la alternativa de que el desafío energético diferencial podría no estar dado por el frío (ya que su magnitud no difiere en gran medida entre los sitios) sino más bien por el calor, favoreciendo el aumento de la $T_{c_{sup}}$ en la P de los sitios a 1700 y 2300 m. Esta idea concuerda con la distribución geográfica de la especie, que se encuentra restringida a la Cordillera de los Andes a latitudes intermedias mientras que a altas latitudes (Chubut, Santa Cruz) se lo puede encontrar a nivel del mar (Steppan, 1998). A su vez, este fenómeno también podría explicar las diferencias observadas en el grado de variabilidad intrapoblacional de la conductancia térmica. A menor altitud se presenta un compromiso entre la capacidad de generar y disipar calor; en cambio, la disminución de las temperaturas máximas con la altura beneficiaría de manera consistente un mayor aislamiento térmico, restringiendo así la variabilidad en este carácter.

En cuanto a la segunda predicción, esperábamos que las diferencias intraespecíficas se diluyeran en la F1, debido a condiciones homogéneas durante el desarrollo. Encontramos que tanto los límites como la amplitud de la ZTN de la F1 variaron con respecto a la P; es decir, estos caracteres presentaron plasticidad fenotípica. Particularmente, para el grupo de 1700 se obtuvo un acotamiento en la amplitud de la ZTN debido a una menor $T_{c_{sup}}$ (28°C -38°C en P vs 28°C-36°C en F1), para los animales de 2300 m el rango también disminuyó debido tanto a un

aumento de la $T_{c_{inf}}$ como una disminución de la $T_{c_{sup}}$ (25°C-38°C en P vs 28-36°C en F1) mientras que para los ejemplares de 3100 m la amplitud fue mayor gracias a un aumento en la $T_{c_{sup}}$ (28°C-36°C en P vs 28°C-38°C en F1). Podemos observar que para los primeros dos grupos las diferencias intraespecíficas presentadas por la P se diluyeron en la siguiente generación de acuerdo a lo predicho. Sin embargo, en la F1 el grupo de 3100 m se diferenció de los otros dos tanto en la $T_{c_{sup}}$ como en la TM a 10°C y 15°C. Si bien las diferencias entre generaciones no fueron significativas, podemos observar que para temperaturas por debajo de la ZTN la TM de la F1 tiende a aumentar con respecto a la de P. Estos resultados nos indican que si bien estos rasgos metabólicos presentan plasticidad durante el desarrollo, la F1 de distintos sitios no responde de la misma manera a la homogeneidad del laboratorio (22°C). La magnitud de la variación con respecto a la P posiblemente se debe a diferencias entre las temperaturas del laboratorio y del lugar de origen. En individuos procedentes de 3100 m, que experimentan una temperatura media anual de 6,1°C, la $T_{c_{sup}}$ y la TM son menores posiblemente debido a la exposición a temperaturas relativamente más bajas durante el desarrollo, en comparación a la generación F1. A su vez, la exposición a temperaturas máximas mayores en los sitios a 1700 m y 2300 m determinarían una temperatura crítica superior más alta en la P de estas alturas. Asimismo, la exposición constante a 22°C que experimentó la F1 podría explicar el acotamiento de la zona termoneutral respecto de la P, en concordancia con lo sugerido por Araújo et al. (2013) para el efecto del aumento de temperatura media sobre los rangos de tolerancia térmica. En línea con estos resultados, Cheviron et al. (2013) encontraron que si bien la capacidad termogénica de *Peromyscus maniculatus* provenientes de distintas altitudes presenta tanto plasticidad lábil como fija, existen diferencias intraespecíficas que se mantienen más allá del desarrollo, que los autores atribuyen a diferenciación genética entre las poblaciones; es decir, adaptación local. Además, existe una segunda fuente de plasticidad irreversible que este tipo de diseño experimental no permite controlar: los efectos maternos. Se ha visto en diversos grupos taxonómicos que el estado fisiológico de la madre tiene efectos significativos sobre el metabolismo de las crías (Burton et al., 2011). En nuestro diseño si bien la F1 se desarrolló bajo condiciones homogéneas en el laboratorio, las madres provenían del campo ya preñadas; por lo tanto, existe toda una serie de factores (temperatura, dieta, riesgo de depredación, productividad primaria, etc) que pueden haber afectado diferencialmente el estado de esas hembras y, por ende, el fenotipo de las crías. Estudios que evalúen la contribución de estas dos causas de variabilidad fenotípica serían un gran aporte al entendimiento de los mecanismos que modulan la respuesta al ambiente en esta especie.

Dado que la ZTN se caracteriza por presentar un balance igual a cero entre las tasas de producción y pérdida de calor, cabe esperar que cambios en sus límites estén determinados por variaciones en la conductancia térmica y/o la TMR (McNab, 2012; Naya et al., 2013; Zhao et al., 2014). Nuestros resultados no se correspondieron con esta premisa dado que para P no se encontraron diferencias en CT ni TMR entre los grupos de distinta altitud que pudieran explicar las diferencias en zona de termoneutralidad. A su vez, los desplazamientos de la misma producidos en la F1 tampoco se correspondieron con diferencias en TMR y CT entre las generaciones. Además, el hecho de que los individuos F1 de 2300 m presentaran una CT menor que los de 1700 m y 3100 m resulta incluso contradictorio dado que la $T_{c_{inf}}$ se elevó a 28°C con respecto a la P que presentó el límite a 25°C. Es decir, que los animales F1 con una tasa de pérdida de calor menor debido a un mejor aislamiento (i.e. CT más baja) pierden el equilibrio térmico con el medio y deben comenzar a invertir energía para termorregular a una temperatura ambiental más alta que los P menos aislados (CT más alta). En este sentido, diferencias sutiles en la temperatura corporal de individuos procedentes de distinta altitud, podrían involucrar eventos de adecuación local e implicar demandas variables en términos del ajuste metabólico (Cruz-Neto et al., 2003). Además, el comportamiento (postura, ritmo y tasa de actividad), tasa de pérdida de agua evaporativa y nivel de estrés son factores que pueden afectar tanto la CT como la TMR (Gordon, 1993; Speakman et al., 1993). Por lo tanto, posibles variaciones no controladas en alguno de estos parámetros podrían explicar los resultados obtenidos. En conclusión, con nuestros datos no nos es posible plantear un mecanismo subyacente a la determinación de las temperaturas críticas de la ZTN. A su vez, tampoco podemos atribuir con seguridad las diferencias intraespecíficas encontradas previamente para tasa de ingesta a variaciones en el grado de conductancia térmica de los individuos.

El hecho de que la TMR obtenida sea igual o menor a la esperada por masa corporal para todos los grupos de individuos (P y F1 de las 3 alturas) nos sugiere que esta variable no responde de acuerdo al patrón general que predice un aumento de la misma en zonas más frías. De acuerdo a Careau (2013), en especies que presentan torpor la TMB resulta independiente de la temperatura ambiental mientras que la tasa metabólica máxima (TMM) presenta una relación negativa, con lo cual la capacidad aeróbica aumenta permitiendo una alta velocidad de recalentamiento. En sintonía con ello, Rezende et al. (2001) encontraron que para distintas especies de *Phyllotis* distribuidas a lo largo de un rango altitudinal existen diferencias en TMM pero no en TMB, relacionadas con la historia térmica compartida por las mismas. Esto nos sugiere que ante el compromiso entre mantener una temperatura corporal

elevada y mantener un balance energético positivo, *P. xanthopygus* presenta una respuesta estratégica de supervivencia. Presenta un costo basal de mantenimiento reducido, baja tasa de pérdida de calor mediante una CT promedio más baja a la esperada por masa corporal y, según bibliografía, una elevada tasa metabólica máxima y de termogénesis no tiritante para afrontar los desafíos termorregulatorios (Rezende et al., 2001; Nespolo et al., 2001). Esta premisa concuerda con la diferencia encontrada en la comparación intergeneracional donde individuos P de 3100 m, expuestos a bajas temperaturas durante su desarrollo, tienden a presentar TM más bajas (i.e. menores costos) a temperaturas por debajo de la ZTN que la F1 desarrollada a 22°C. Sin embargo, cabe resaltar que existe una amplia gama de factores bióticos y abióticos que difieren entre los sitios y con el laboratorio más allá de la temperatura ambiental que pueden explicarlo. Entre ellos, tanto la calidad como disponibilidad del alimento puede influir sobre el balance energético y la TM (Burton et al., 2011; McNab, 2015). Si bien la diversidad y calidad nutricional (nitrógeno y fibra) de la dieta no difiere entre las poblaciones a pesar de diferencias en la oferta trófica entre los sitios (Sassi et al., 2016), no se tienen datos del valor energético de las mismas ni del costo de forrajeo asociado en cada sitio y en qué medida éstos difieren con lo que experimenta la F1.

Concluyendo, en el presente trabajo comprobamos tanto la presencia de variabilidad intraespecífica como un efecto del desarrollo en la determinación de parámetros de la curva metabólica. A su vez, encontramos evidencia de que *Phyllotis xanthopygus* presenta una estrategia de supervivencia que no sigue el patrón general de respuesta de la TMB a la temperatura ambiental. La presencia de compromisos – como la capacidad de generar y disipar calor o de mantener un balance energético positivo ante condiciones adversas – podrían estar moldeando la evolución de estos caracteres. Así, nuestros resultados suman evidencia en favor de la importancia de estudios intraespecíficos en la diferenciación de los factores próximos y últimos de selección de variables metabólicas. Finalmente, si bien logramos comprobar en parte nuestra hipótesis, este trabajo abre lugar a nuevos interrogantes para investigaciones a futuro. En primer lugar, resta explicar fehacientemente el patrón altitudinal observado previamente para la ingesta de energía, o las diferencias encontradas en las temperaturas críticas. De acuerdo a la bibliografía, estudios en diferentes especies de roedores demuestran que la aclimatación también actúa sobre la capacidad termogénica, la actividad enzimática y la eficiencia digestiva entre otras (Bozinovic et al., 1990; Hammond et al., 1999; del Valle et al., 2004; Cavieres, 2013; Zhao et al., 2014). Por ende, sería un gran aporte el estudio de otras variables fisiológicas relacionadas al metabolismo energético para obtener una imagen más

completa del funcionamiento del organismo. Además, es necesario completar al menos el n de 10 individuos P por altura e incluso podría ser beneficioso aumentarlo con el objeto de comprobar si las tendencias observadas son producto de diferenciación biológica o un efecto del muestreo. En segundo lugar, resulta sumamente interesante la interacción observada en la F1 entre la TM a bajas temperaturas y el sitio de origen de las madres. ¿Presentan estas variables a su vez un componente plástico dado por efectos maternos que determinen la respuesta de las crías o habrá diferenciación genética entre las poblaciones? ¿Existirá un efecto de la historia térmica, de forma tal que la respuesta no dependa de la temperatura absoluta sino de la diferencia entre las temperaturas experimentadas? En este sentido, repetir el experimento en una generación F2, de forma tal que se controle también la ontogenia de las madres y bajo diferentes temperaturas de desarrollo, podría ayudar a responder estas preguntas. Por último, cabe resaltar que la mayoría de los estudios en fisiología térmica se enfocan en las adaptaciones al frío mientras que la eficiencia y plasticidad de los mecanismos termorregulatorios por encima de la ZTN han sido mucho menos estudiadas. En este trabajo hemos encontrado evidencia de que, dentro de ciertos límites, la temperatura crítica superior responde a las condiciones ambientales. Bajo el actual escenario de cambio climático investigaciones que evalúen la capacidad de adecuación de las especies a las altas temperaturas serán de crucial importancia para comprender y estimar sus vulnerabilidades relativas ante este fenómeno global.

Agradecimientos

Quiero dar las gracias a las numerosas personas que me acompañaron a lo largo de esta etapa y a las instituciones que colaboraron con mi formación:

A mi directora, por el apoyo, dedicación y la gran formación brindada, tanto académica como personal.

A los integrantes del GIB, por la ayuda y aportes brindados durante este trabajo, tanto en el campo, el bioterio y la oficina.

A todo el cuerpo de la FCEN, por la excelente formación académica brindada y siempre estar disponibles para ayudarnos.

Al programa TRACES-FCEN, SAPOE y el Consejo Interuniversitario Nacional por las becas otorgadas.

Y por sobre todo a mi familia y amigos, por la paciencia y el apoyo incondicional durante todos estos años.

Bibliografía

- _ Antinuchi CD, Cutrera AP, Luna F y Xenuto R. 2003. Animales y temperatura: estrategias termorregulatorias durante la ontogenia. Pp. 399-420. En: Fisiología Ecológica y Evolutiva: Conceptos y Casos de Estudio en animales, F. Bozinovic (ed.). Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- _ Araújo MB, Ferri-Yáñez F, Bozinovic F, Marquet PA, Valladares F y Chown SL. 2013. Heat freezes niche evolution. *Ecology Letters*, 16: 1206-1219.
- _ Bozinovic F, Novoa FF y Veloso C. 1990. Seasonal changes in energy expenditure and digestive tract of *Abrothrix andinus* (Cricetidae) in the Andes range. *Physiol Zool*, 63: 1216-1231
- _ Bozinovic F y Nespolo RF. 1997. Effect of ambient temperature and energy demands on digestive functions in the leaf-eared mice (*Phyllotis darwini*) from central Chile. *Int J Biometeorol*, 41: 23–25.
- _ Bozinovic F, Muñoz JLP y Cruz-Neto AP. 2007. Intraspecific variability in the basal metabolic rate: testing the food habits hypotheses. *Physiol Biochem Zool*, 80: 452–460.
- _ Bozinovic F, Ferri-Yáñez F, Naya H, Araújo MB y Naya DE. 2014. Thermal tolerances in rodents: species that evolved in cold climates exhibit a wider thermoneutral zone. *Evol Ecol Res*, 16: 143-152.
- _ Bradshaw D. 2003. Vertebrate ecophysiology—an introduction to its principles and applications. Cambridge University Press. Cambridge.
- _ Brown JH, Gilgooly JF, Allen AP, Savage VM y West GB. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85: 1771-1789.
- _ Burton T, Killen SS, Armstrong JD y Metcalfe NB. 2011. What causes intraspecific variation in resting metabolic rate and what are its ecological consequences? *Proc R Soc B*, rspb20111778.
- _ Canals M, Figueroa DP, Miranda JP y Sabat P. 2009. Effect of gestational and postnatal environmental temperature on metabolic rate in the altricial rodent, *Phyllotis darwini*. *J Therm Biol*, 34: 310–314.
- _ Careau V. 2013. Basal metabolic rate, maximum thermogenic capacity and aerobic scope in rodents: interaction between environmental temperature and torpor use. *Biology letters*, 9: 20121104.

- _ Castellanos-Frías E, García-Perea R, Gisbert J, Bozinovic F y Virgós E. 2015. Intraspecific variation in the energetics of the Cabrera vole. *Comp Biochem Physiol A*, 190: 32–38.
- _ Cavieres Parada G. 2013. Flexibilidad fisiológica y plasticidad del desarrollo en *Phyllotis darwini*: efecto de la variabilidad climática a lo largo de un gradiente latitudinal (Tesis doctoral). Universidad de Chile, Santiago de Chile.
- _ Chappell MA, Hammond KA, Cardullo RA, Russell GA, Rezende EL y Miller C. 2007. Deer mouse aerobic performance across altitudes: effects of developmental history and temperature acclimation. *Physiol Biochem Zool*, 80: 652-662.
- _ Cheviron ZA, Bachman GC y Storz JF. 2013. Contributions of phenotypic plasticity to differences in thermogenic performance between highland and lowland deer mice. *J Exp Biol*, 216: 1160-1166.
- _ Crispo E. 2008. Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. *J. Evol. Biol*, 21: 1460-1469.
- _ Cruz-Neto AP, Briani DC y Bozinovic F. 2003. La tasa metabólica basal: ¿una variable unificadora en energética animal? Pp 379-395. En: *Fisiología Ecológica y Evolutiva: Conceptos y Casos de Estudio en animales*, F. Bozinovic (ed.). Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- _ Cruz-Neto AP y Bozinovic F. 2004. The relationship between diet quality and basal metabolic rate in endotherms: insights from intraspecific analysis. *Physiol Biochem Zool*, 77: 877-889.
- _ del Valle JC, Mañanes AAL y Busch C. 2004. Phenotypic flexibility of digestive morphology and physiology of the South American omnivorous rodent *Akodon azarae* (Rodentia: Sigmodontinae). *Comp Biochem Phys A*, 139: 503-512.
- _ DeWitt TJ, Sih A y Wilson DS. 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends Ecol Evol*, 13: 77-81.
- _ Feldhamer GA, Drickamer LC, Vessey SH, Merritt JF y Krajewski C. 2007. *Mammalogy: adaptation, diversity, ecology*. JHU Press, Baltimore, Maryland.
- _ Foley WJ y Cork SJ. 1992. Use of fibrous diets by small herbivores: how far can the rules be 'bent'?. *Trends Ecol Evol*, 7: 159-162.
- _ Fusco G y Minelli A. 2010. Phenotypic plasticity in development and evolution: facts and concepts. *Phil Trans R Soc B*, 365: 547-556.

- _ Ghalambor CK, McKay JK, Carroll SP y Reznick DN. 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Funct Ecol*, 21: 394-407.
- _ Gordon CJ. 1993. Temperature regulation in laboratory rodents. Cambridge University Press, Cambridge.
- _ Hammond KA, Roth J, Janes DN y Dohm MR. 1999. Morphological and physiological responses to altitude in deer mice *Peromyscus maniculatus*. *Physiol Biochem Zool*, 72: 613-622.
- _ Kleiber M. 1961. The Fire of Life. Wiley, New York.
- _ Kramer KM, Monjeau JA, Birney EC y Sikes RS. 1999. *Phyllotis xanthopygus*. *Mamm Species*, 617: 1-7.
- _ McNab BK. 1988. Complications inherent in scaling the basal rate of metabolism in mammals. *Q Rev Biol*, 63: 25-54.
- _ McNab BK. 1997. On the utility of uniformity in the definition of basal rate of metabolism. *Physiol Zool*, 70: 718-720.
- _ McNab BK. 2002. The Physiological Ecology of Vertebrates: A view from energetics. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- _ McNab BK. 2012. Extreme measures: the ecological energetics of birds and mammals. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- _ McNab BK. 2015. Behavioral and ecological factors account for variation in the mass-independent energy expenditures of endotherms. *J Comp Physiol B*, 185: 1-13.
- _ Méndez E. 2011. La vegetación de los altos Andes: El flanco oriental del Cordón del Portillo (Tunuyán, Mendoza, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 46: 317-353.
- _ Morrison PR y Ryser PA. 1951. Temperature and metabolism in some Wisconsin mammals. *Fed Am Soc Exp Biol*, 10: 93-94.
- _ Mueller P y Diamond J. 2001. Metabolic rate and environmental productivity: well-provisioned animals evolved to run and idle fast. *PNAS*, 98: 12550-12554.
- _ Naya DE, Bacigalupe LD, Bustamante DM y Bozinovic F. 2005. Dynamic digestive strategies in response to increased energy demands: a study in the leaf-eared mouse (*Phyllotis darwini*). *J Comp Phys*, 175: 31-36.

- _ Naya DE, Bozinovic F y Karasov WH. 2008. Latitudinal trends in digestive flexibility: testing the climatic variability hypothesis with data on the intestinal length of rodents. *The American Naturalist*, 172: E122-E134.
- _ Naya DE, Spangenberg L, Naya H y Bozinovic F. 2013a. How does evolutionary variation in basal metabolic rates arise? A statistical assessment and a mechanistic model. *Evolution*, 67: 1463-1476.
- _ Naya DE, Spangenberg L, Naya H y Bozinovic F. 2013b. Thermal conductance and basal metabolic rate are part of a coordinated system for heat transfer regulation. *Proc R Soc B*, 280: 20131629.
- _ Nespolo RF, Opazo JC, Rosenmann M y Bozinovic F. 1999. Thermal acclimation, maximum metabolic rate, and nonshivering thermogenesis of *Phyllotis xanthopygus* (Rodentia) in the Andes mountains. *J Mammal*, 80: 742-748.
- _ Nespolo RF, Opazo J y Bozinovic F. 2001. Thermal acclimation and non-shivering thermogenesis in three species of South American rodents: a comparison between arid and mesic habitats. *J Arid Environ*, 48: 581-590.
- _ Novillo A y Ojeda R. 2014. Elevation patterns in rodent diversity in the dry Andes: disentangling the role of environmental factors. *J Mamm*, 95: 99-107.
- _ Novoa F, Rivera-Hutinel A, Rosenmann M y Sabat P. 2005. Intraspecific differences in metabolic rate of *Chroeomys olivaceus* (Rodentia: Muridae): the effect of thermal acclimation in arid and mesic habitats. *Rev Chil Hist Nat*, 78: 207-214.
- _ Ojeda AA, JP Coria, A Novillo y PL Sassi. 2013. Diversidad genética del pericote patagónico, *Phyllotis xanthopygus* (Rodentia: Sigmodontinae) a lo largo de un gradiente altitudinal en ambientes áridos de los Andes Centrales, Mendoza. *Jornadas Argentinas de Mastozoología SAREM*, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.
- _ Piersma T y Drent J. 2003. Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends Ecol Evol*, 18: 228-233.
- _ Pigliucci M. 2001. *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. Baltimore, MD: Johns Hopkins University Press.
- _ Rezende EL, Silva-Durán I, Novoa FF y Rosenmann M. 2001. Does thermal history affect metabolic plasticity?: a study in three *Phyllotis* species along an altitudinal gradient. *J Therm Biol*, 26: 103-108.
- _ Rezende EL, Bozinovic F y Garland Jr T. 2004. Climatic adaptation and the evolution of basal and maximum rates of metabolism in rodents. *Evolution*, 58: 1361-1374.

- _ Russell GA, Rezende EL y Hammond KA. 2008. Development partly determines the aerobic performance of adult deer mice, *Peromyscus maniculatus*. *J Exp Biol*, 211: 35-41.
- _ Sabat P, Lagos JA y Bozinovic F. 1999. Test of the adaptive modulation hypothesis in rodents: dietary flexibility and enzyme plasticity. *Comp Biochem Phys A*, 123: 83-87.
- _ Sabat P y Bozinovic F. 2000. Digestive plasticity and the cost of acclimation to dietary chemistry in the omnivorous leaf-eared mouse *Phyllotis darwini*. *J Comp Physiol B*, 170: 411-417.
- _ Sassi PL y Novillo A. 2015. Acclimating to thermal changes: Intraspecific variation in a small mammal from the Andes Mountains. *Mamm Biol*, 80: 81-86.
- _ Sassi PL, Taraborelli P, Albanese S y Gutierrez A. 2015. Effect of temperature on activity patterns in a small Andean rodent: behavioral plasticity and intraspecific variation. *Ethology*, 121: 840-849.
- _ Sassi PL, Cuevas MF, Menéndez J y Dacar MA. 2016. Feeding strategies of a small mammal (*Phyllotis xanthopygus*, Rodentia: Cricetidae) at diverse altitudes in the Central Andes, Argentina. *Ethol Ecol Evol*, DOI: 10.1080/03949370.2016.1188158.
- _ Sassi PL, Menéndez J y Cuevas MF. Geographic variation in life history traits: factors that shape energy investment to reproduction in a highland dwelling rodent. En revisión.
- _ Scheiner SM. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu rev ecol syst*, 24: 35-68.
- _ Speakman JR, McDevitt RM y Cole KR. 1993. Measurement of basal metabolic rates: don't lose sight of reality in the quest for comparability. *Physiol Zool*, 66: 1045-1049.
- _ Speakman JR. 2000. The Cost of living: Field Metabolic Rates of Small Mammals. *Advances in Ecological Research*, 30: 177-297.
- _ Speakman JR, Król E y Johnson MS. 2004. The functional significance of individual variation in basal metabolic rate. *Physiol Biochem Zool*, 77: 900-915.
- _ Speakman JR y Król E. 2010. Maximal heat dissipation capacity and hyperthermia risk: neglected key factors in the ecology of endotherms. *J Anim Ecol*, 79: 726-746.
- _ Stearns SC. 1989. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience*, 39: 436-445.
- _ Stepan SJ. 1998. Phylogenetic relationships and species limits within *Phyllotis* (Rodentia: Sigmodontinae): concordance between mtDNA sequence and morphology. *J Mammal*, 79: 573-593.

- _ Sultan SE y Spencer HG. 2002. Metapopulation structure favors plasticity over local adaptation. *The American Naturalist*, 160: 271-283.
- _ Weiner J. 1992. Physiological limits to sustainable energy budgets in birds and mammals: ecological implications. *Trends Ecol Evol*, 7: 384-388.
- _ White CR y Kearney MR. 2013. Determinants of inter-specific variation in basal metabolic rate. *J Comp Physiol B*, 183: 1-26.
- _ Wingfield JC. 2005. The concept of allostasis: coping with a capricious environment. *J Mammal*, 86: 248–254.
- _ Withers PC. 1977. Measurement of VO₂, VCO₂ and evaporative water loss with a flow-through mask. *J Appl Physiol*, 42: 120–123.
- _ Zar JH. 2010. *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River: Prentice Hall.
- _ Zhao ZJ, Chi QS, Liu QS, Zheng WH, Liu JS y Wang DH. 2014. The shift of thermoneutral zone in striped hamster acclimated to different temperatures. *PloS one*, 9: e84396.

Apéndice

Tabla A1. Test de Tukey para generación P de 1700 m. Comparación *a posteriori* del consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas. El recuadro azul corresponde a la ZTN seleccionada.

TEMP	{10}	{15}	{20}	{25}	{28}	{30}	{32}	{34}	{36}	{38}
	3,2851	2,8046	2,3963	1,8459	1,5245	1,3016	1,2317	1,2949	1,4419	1,6956
10		0.0198	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
15	0.0198		0.0851	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
20	0.0002	0.0851		0.0040	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
25	0.0002	0.0002	0.0040		0.3336	0.0046	0.0009	0.0039	0.0919	0.9796
28	0.0002	0.0002	0.0002	0.3336		0.8039	0.4660	0.7761	0.9998	0.9529
30	0.0002	0.0002	0.0002	0.0046	0.8039		0.9999	1.0000	0.9872	0.1099
32	0.0002	0.0002	0.0002	0.0009	0.4660	0.9999		1.0000	0.8522	0.0283
34	0.0002	0.0002	0.0002	0.0039	0.7761	1.0000	1.0000		0.9824	0.0976
36	0.0002	0.0002	0.0002	0.0919	0.9998	0.9872	0.8522	0.9824		0.6631
38	0.0002	0.0002	0.0002	0.9796	0.9529	0.1099	0.0283	0.0976	0.6631	

Tabla A2. Test de Tukey para generación P de 2300 m. Comparación *a posteriori* del consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas. El recuadro azul corresponde a la ZTN seleccionada.

TEMP	{10}	{15}	{20}	{25}	{28}	{30}	{32}	{34}	{36}	{38}
	2,9358	2,6956	2,0851	1,6122	1,3629	1,2268	1,2674	1,2759	1,3636	1,7502
10		0.8328	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
15	0.8328		0.0076	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
20	0.0002	0.0076		0.0785	0.0010	0.0002	0.0003	0.0003	0.0010	0.4443
25	0.0002	0.0002	0.0785		0.8016	0.2595	0.4036	0.4383	0.8041	0.9944
28	0.0002	0.0002	0.0010	0.8016		0.9950	0.9997	0.9999	1.0000	0.2534
30	0.0002	0.0002	0.0002	0.2595	0.9950		1.0000	1.0000	0.9948	0.0350
32	0.0002	0.0002	0.0003	0.4036	0.9997	1.0000		1.0000	0.9997	0.0673
34	0.0002	0.0002	0.0003	0.4383	0.9999	1.0000	1.0000		0.9998	0.0768
36	0.0002	0.0002	0.0010	0.8041	1.0000	0.9948	0.9997	0.9998		0.2556
38	0.0002	0.0002	0.4443	0.9944	0.2534	0.0350	0.0673	0.0768	0.2556	

Tabla A3. Test de Tukey para generación P de 3100 m. Comparación *a posteriori* del consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas. El recuadro azul corresponde a la ZTN seleccionada.

TEMP	{10}	{15}	{20}	{25}	{28}	{30}	{32}	{34}	{36}	{38}
	3,1371	2,7545	2,4307	1,8376	1,4737	1,3625	1,2704	1,2455	1,3338	1,7976
10		0.0695	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
15	0.0695		0.1990	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
20	0.0002	0.1990		0.0007	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0003
25	0.0002	0.0002	0.0007		0.0993	0.0097	0.0012	0.0007	0.0050	1.0000
28	0.0002	0.0002	0.0002	0.0993		0.9939	0.7794	0.6522	0.9708	0.1987
30	0.0002	0.0002	0.0002	0.0097	0.9939		0.9985	0.9912	1.0000	0.0236
32	0.0002	0.0002	0.0002	0.0012	0.7794	0.9985		1.0000	0.9999	0.0029
34	0.0002	0.0002	0.0002	0.0007	0.6522	0.9912	1.0000		0.9990	0.0016
36	0.0002	0.0002	0.0002	0.0050	0.9708	1.0000	0.9999	0.9990		0.0125
38	0.0002	0.0002	0.0003	1.0000	0.1987	0.0236	0.0029	0.0016	0.0125	

Tabla A4. Test de Tukey para generación F1 de 1700 m. Comparación *a posteriori* del consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas. El recuadro azul corresponde a la ZTN seleccionada.

TEMP	{10}	{15}	{20}	{25}	{28}	{30}	{32}	{34}	{36}	{38}
	3,2978	2,5907	2,2770	1,7959	1,4910	1,2942	1,2468	1,2812	1,4396	1,8455
10		0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
15	0.0002		0.3387	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
20	0.0002	0.3387		0.0143	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0435
25	0.0002	0.0002	0.0143		0.3785	0.0087	0.0027	0.0063	0.1801	1.0000
28	0.0002	0.0002	0.0002	0.3785		0.8854	0.6889	0.8413	1.0000	0.1853
30	0.0002	0.0002	0.0002	0.0087	0.8854		1.0000	1.0000	0.9819	0.0025
32	0.0002	0.0002	0.0002	0.0027	0.6889	1.0000		1.0000	0.8975	0.0008
34	0.0002	0.0002	0.0002	0.0063	0.8413	1.0000	1.0000		0.9682	0.0018
36	0.0002	0.0002	0.0002	0.1801	1.0000	0.9819	0.8975	0.9682		0.0734
38	0.0002	0.0002	0.0435	1.0000	0.1853	0.0025	0.0008	0.0018	0.0734	

Tabla A5. Test de Tukey para generación F1 de 2300 m. Comparación *a posteriori* del consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas. El recuadro azul corresponde a la ZTN seleccionada.

TEMP	{10}	{15}	{20}	{25}	{28}	{30}	{32}	{34}	{36}	{38}
	2,8406	2,5271	2,2279	1,7726	1,5471	1,3320	1,2329	1,3445	1,4799	1,9000
10		0.0066	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
15	0.0066		0.0117	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
20	0.0002	0.0117		0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0037
25	0.0002	0.0002	0.0002		0.1458	0.0002	0.0002	0.0002	0.0151	0.8459
28	0.0002	0.0002	0.0002	0.1458		0.1932	0.0064	0.2645	0.9977	0.0013
30	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.1932		0.9632	1.0000	0.6996	0.0002
32	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0064	0.9632		0.9243	0.0761	0.0002
34	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.2645	1.0000	0.9243		0.7944	0.0002
36	0.0002	0.0002	0.0002	0.0151	0.9977	0.6996	0.0761	0.7944		0.0002
38	0.0002	0.0002	0.0037	0.8459	0.0013	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	

Tabla A6. Test de Tukey para generación F1 de 3100 m. Comparación *a posteriori* del consumo de oxígeno a lo largo de una rampa de temperaturas. El recuadro azul corresponde a la ZTN seleccionada.

TEMP	{10} 3,4716	{15} 2,9941	{20} 2,4610	{25} 2,0235	{28} 1,6179	{30} 1,4345	{32} 1,2947	{34} 1,3486	{36} 1,4655	{38} 1,7084
10		0.0173	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
15	0.0173		0.0045	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
20	0.0002	0.0045		0.0419	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
25	0.0002	0.0002	0.0419		0.0795	0.0011	0.0002	0.0002	0.0024	0.3451
28	0.0002	0.0002	0.0002	0.0795		0.9266	0.3103	0.5722	0.9769	0.9996
30	0.0002	0.0002	0.0002	0.0011	0.9266		0.9871	0.9997	1.0000	0.5482
32	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.3103	0.9871		1.0000	0.9518	0.0680
34	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.5722	0.9997	1.0000		0.9965	0.1798
36	0.0002	0.0002	0.0002	0.0024	0.9769	1.0000	0.9518	0.9965		0.7065
38	0.0002	0.0002	0.0002	0.3451	0.9996	0.5482	0.0680	0.1798	0.7065	

Tabla A7. Proporción de TMR obtenida con respecto a lo esperado por masa corporal para cada generación. Comparación intrageneracional de animales provenientes de los 3 sitios altitudinales. Se muestran las medias de las proporciones y valores H del test de Kruskal-Wallis de la TMR obtenida vs esperada para mamíferos, roedores y pequeños herbívoros.

Generación	Variable	Altura	n	Media	H (2,18)	p
P	TMB mamíferos	1700	8	1,02	0,035	0,983
		2300	5	1,02		
		3100	5	1,02		
	TMB roedores	1700	8	1,13	0,088	0,957
		2300	5	1,12		
		3100	5	1,12		
	TMB herbívoros	1700	8	0,8	0,063	0,969
		2300	5	0,79		
		3100	5	0,79		
					H (2,30)	
F1	TMB mamíferos	1700	10	1,04	1,256	0,534
		2300	10	0,99		
		3100	10	1,03		
	TMB roedores	1700	10	1,14	1,086	0,581
		2300	10	1,09		
		3100	10	1,13		
	TMB herbívoros	1700	10	0,81	1,076	0,584
		2300	10	0,76		
		3100	10	0,84		

Tabla A8. Proporción de TMR obtenida con respecto a lo esperado por masa corporal para cada sitio. Comparación intergeneracional de animales provenientes de los 3 sitios altitudinales. Se muestran las medias de las proporciones y valores H del test de Kruskal-Wallis de la TMR obtenida vs esperada para mamíferos, roedores y pequeños herbívoros.

Altura	Variable	Generación	n	Media	H (1,18)	p
1700	TMB mamíferos	P	8	1,02	0,505	0,477
		F1	10	1,04		
	TMB roedores	P	8	1,13	0,284	0,594
		F1	10	1,14		
	TMB herbívoros	P	8	0,8	0,387	0,534
		F1	10	0,8		
					H (1,15)	
2300	TMB mamíferos	P	5	1,02	0,135	0,713
		F1	10	0,99		
	TMB roedores	P	5	1,12	0,135	0,713
		F1	10	1,09		
	TMB herbívoros	P	5	0,79	0,24	0,624
		F1	10	0,76		
3100	TMB mamíferos	P	5	1,02	1,5	0,221
		F1	10	1,03		
	TMB roedores	P	5	1,12	1,215	0,27
		F1	10	1,13		
	TMB herbívoros	P	5	0,79	0,735	0,391
		F1	10	0,79		