

*Estrategias de regulación hidrosalina en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum**

Tesis para optar por el Doctorado en Ciencias



Lic. María Belén Baldo

Director: Dr. Daniel Antenucci

**Laboratorio de Ecología Fisiológica y del Comportamiento
Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC)-CONICET
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad Nacional de Mar del Plata
Argentina-2016**

INDICE

Resumen.....	4
Introducción general	5
Capítulo 1	
Variación estacional del balance hidrosalino y correlatos termogénicos en el roedor subterráneo <i>Ctenomys talarum</i>	
Introducción	8
Materiales y métodos	10
Resultados	13
Discusión	17
Capítulo 2	
Efecto de la temperatura ambiental sobre la pérdida de calor por evaporación en el roedor subterráneo <i>Ctenomys talarum</i>	23
Introducción	23
Materiales y métodos	25
Resultados	27
Discusión	31
Capítulo 3	
Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo <i>Ctenomys talarum</i>	35
Introducción	35
Materiales y métodos	37
Resultados	40
Discusión	45
Capítulo 4	
Efecto de la dieta sobre el balance hidrosalino en el roedor subterráneo <i>Ctenomys talarum</i>	51
Introducción	51
Materiales y métodos	52
Resultados	57
Discusión	66

Capítulo 5

Morfometría de turbinas nasales como indicador de eficiencia en la regulación del balance hídrico en *Ctenomys talarum*: comparaciones inter e intraespecíficas..... 69

 Introducción 69

 Materiales y métodos 71

 Resultados 74

 Discusión 91

 Apéndice I..... 95

Conclusión general 97

Bibliografía 99

RESUMEN

La regulación hidrosalina es esencial para mantener en funcionamiento los distintos sistemas biológicos, y resulta en un desafío de distinta índole dependiendo de la interacción entre las características del hábitat, la fisiología y ecología del organismo en estudio. Al igual que otros roedores subterráneos, *Ctenomys talarum* (tuco-tuco) habita cuevas con alta humedad atmosférica, presenta baja tasa metabólica y alta conductancia térmica. Esta especie no consume agua libre y se distribuye en la zona de médanos fijos de la costa bonaerense, donde el clima es templado y a su vez presenta fluctuaciones estacionales en la calidad, variedad y abundancia de alimento vegetal. Además, existe una amplia diferencia en las características atmosféricas entre las cuevas subterráneas de los tuco-tucos, y la superficie exterior, que es explorada por los individuos durante el forrajeo, y los períodos de dispersión y reproducción. En este trabajo se analizaron las estrategias de regulación hidrosalina en *C. talarum*, y particularmente se evaluó el ajuste de las vías de pérdida de agua a través de la evaporación pulmocutánea, orina y heces, frente a la estacionalidad en condiciones naturales (Capítulo 1), y en cautiverio, ante la exposición a distintas temperaturas ambiente (Capítulo 2, sólo evaporación), diferentes humedades atmosféricas de aclimatación (Capítulo 3), y dietas de distinto contenido de agua y sales (Capítulo 4). Por último, y como acercamiento a la regulación de la evaporación por respiración, se realizó un estudio intra e interespecífico de la morfometría de los turbinales nasales de *C. talarum* (Capítulo 5).

Se observaron variaciones a nivel evaporativo y urinario a lo largo del año, y en función de modificaciones en la temperatura y humedad ambiente. A su vez, la composición del plasma se mantuvo constante, lo que indicaría que estos individuos son capaces de hacer los ajustes necesarios para mantener su equilibrio sin alcanzar límites extremos. Si bien *C. talarum* normalmente no produce orina tan concentrada como la de roedores de ambientes xéricos, tiene la habilidad de concentrarla hasta 3 veces más de lo que su ambiente le exige en las condiciones más extremas de baja disponibilidad de agua, característica posiblemente relacionada con su historia evolutiva. Además, la elevada tasa de pérdida de agua por evaporación, medida en aire seco, sería contrarrestada por la alta humedad de las cuevas, donde pasan la mayor parte del tiempo. En consecuencia, las condiciones silvestres en su distribución actual, no representarían un desafío para esta especie, aun considerando las variaciones a lo largo del año en las condiciones bióticas y abióticas, ya que existen compensaciones tanto fisiológicas como comportamentales.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Uno de los desafíos más grandes de la vida terrestre es la conservación del agua. Ésta es un componente esencial del cuerpo, y su balance debe ser regulado para lograr el equilibrio alostático necesario para el funcionamiento de los distintos sistemas. En mamíferos, la obtención de agua ocurre por vía exógena, a partir de su ingesta directa o a través de los alimentos, y endógena, continuamente por la producción de agua metabólica durante el catabolismo, que mantiene al conjunto de procesos fisiológicos. Al mismo tiempo, se pierde agua a través de la respiración, excreción y evaporación cutánea (Díaz y Cortés, 2003). En el caso de roedores, como otros organismos con elevada relación superficie/volumen corporal, y gran actividad metabólica respecto de su masa, se caracterizan por una mayor tasa de recambio energético e hídrico. Sin embargo, existe un abanico de estrategias morfológicas, fisiológicas, y comportamentales que se integran y permiten reducir la probabilidad de sufrir desequilibrios hidrosalinos. Así, la construcción de madrigueras, la especialización de la dieta, los hábitos de vida nocturno y/o subterráneo serían estrategias ecológicas que contribuyen a la supervivencia en ambientes desafiantes (Bozinovic y Gallardo, 2006; Bozinovic et al., 2007). Por otra parte, especializaciones morfológicas y fisiológicas a nivel de la recaptación del vapor de agua en los turbinales nasales, de la concentración de orina por los riñones (Cortés et al., 1990; Díaz et al., 2006; Castellar et al., 2015), y la absorción del agua intestinal (Gallardo et al., 2001; Bozinovic y Gallardo, 2006) son recursos característicos de diversas especies asociadas a ambientes hídricamente desfavorables.

Ctenomys talarum (tuco-tucos) es un roedor subterráneo solitario que habita en los pastizales costeros de la provincia de Buenos Aires (Comparatore et al., 1991), y cuyas cuevas comprenden un sistema de galerías cerradas caracterizadas por un túnel principal conectado con varias ramas laterales, algunas de las cuales están conectadas con el exterior mediante entradas o “bocas”, generalmente ocluidas (Antinuchi y Busch, 1992; 93 Vassallo, 2006). Consecuentemente, su atmósfera presenta baja concentración de oxígeno, alto nivel de dióxido de carbono, y saturación de vapor de agua (90-98% humedad relativa, para temperatura ambiente de 25-28 °C; Baldo, comunicación personal), tal como ocurre en las cuevas de otros roedores fosoriales (McNab, 1966). A pesar de que los tuco-tucos viven en ambientes méxicos, particularmente en cuevas saturadas de vapor de agua, experimentan continuamente variaciones atmosféricas cuando salen de las mismas a forrajear (del Valle et al., 2001) y en ciertos momentos del año para dispersar y reproducirse (Malizia et al., 1995; Zenuto et al., 2002; Schleich, 2010). Además, *C. talarum*

presenta la particularidad de incorporar agua solamente a través de la dieta (Zenuto et al., 2001; Baldo et al., 2014), por lo que estaría afectado por la variación en la disponibilidad y diversidad de la misma (Comparatore et al., 1995), y por la fluctuación estacional en el contenido de agua de los pastos costeros de los que estos individuos se alimentan (del Valle et al., 2001; Fanjul et al., 2006). Por ello, se espera una regulación precisa del balance entre adquisición y pérdida de agua y sales. Por otra parte, las características morfo-fisiológicas de esta especie son similares a las encontradas en otros roedores subterráneos, especialmente su baja tasa metabólica basal, comparada con la de roedores de superficie de similar tamaño (ver Luna et al., 2009). Esto contribuiría con un bajo requerimiento energético y una baja tasa de intercambio hídrico, lo cual disminuye la necesidad de disipación de calor (Buffenstein, 2000).

OBJETIVOS

El objetivo general de la presente Tesis Doctoral fue identificar las diferentes estrategias de regulación hidrosalina en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*. El trabajo consta de 5 capítulos, en cada uno de los cuales se plantean los siguientes objetivos particulares:

CAPÍTULO 1

Determinar la variación estacional en los componentes del balance hidrosalino de individuos de *C. talarum*, evaluando la pérdida de agua por evaporación, la tasa metabólica basal y parámetros derivados, el contenido de agua en heces, la osmolaridad y concentración de urea e iones plasmáticos y urinarios, a lo largo del año.

CAPÍTULO 2

Analizar el efecto de la temperatura ambiente sobre la pérdida de agua por evaporación y el metabolismo energético en *C. talarum*.

CAPÍTULO 3

Evaluar la influencia de la humedad ambiente relativa sobre la condición fisiológica de *C. talarum*, analizando los niveles de pérdida de agua por evaporación y parámetros metabólicos asociados, valores de osmolaridad y concentración de urea e iones en plasma y orina, frente a condiciones contrastantes en la humedad atmosférica.

CAPÍTULO 4

Analizar aspectos del balance hidrosalino en *C. talarum* en respuesta a variaciones en la dieta, a nivel de la pérdida de agua por evaporación, heces y orina, y valores de osmolaridad y concentración de iones plasmáticos y urinarios, frente a la administración del pasto *Panicum racemosum*, con distinto contenido de sales y agua.

CAPÍTULO 5

Examinar la morfometría de los turbinales nasales en *C. talarum* a nivel intraespecífico, en adultos de ambos sexos y en cría, e interespecífico a través de comparaciones con otros roedores subterráneos y de superficie, de ambientes méxicos y xéricos.

CAPÍTULO 1

VARIACIÓN ESTACIONAL DEL BALANCE HIDROSALINO Y CORRELATOS TERMOGÉNICOS EN EL ROEDOR SUBTERRÁNEO *CTENOMYS TALARUM*.

INTRODUCCIÓN

La alostasis es el mecanismo que maximiza la eficiencia de los individuos a adaptarse a un ambiente cambiante, y representa un desafío sustancial frente a condiciones extremas, pero también ante cambios bióticos y abióticos abruptos (Sterling, 2004). El balance hidrosalino es uno de los procesos que requiere regulación, ya sea a nivel orgánico y/o celular. Éste implica un desafío no solo en ambientes inhóspitos, sino que también frente a fluctuaciones estacionales. Los cambios climáticos muchas veces se reflejan en la fisiología de los individuos, ya sea en respuesta a la abundancia y diversidad de la dieta, como por la selección de hábitat y las características de historia de vida como la reproducción, entre otros (Díaz y Cortés, 2003; Fanjul et al., 2006). A su vez, la influencia es mayor sobre especies que son selectivas durante el forrajeo, que viven en hábitats particulares y/o que no beben agua libre. Este es el caso de *Ctenomys talarum* (tucutuco), un roedor subterráneo que presenta la particularidad de incorporar agua solamente a través de la dieta (Zenuto et al., 2001; Baldo et al., 2014), y por lo tanto se espera una regulación precisa del balance entre adquisición y pérdida de agua y sales. Dependiendo de la especie, son distintos los mecanismos utilizados para reducir la pérdida de agua, ya sea por las vías pulmocutánea, urinaria, y digestiva, y así mantener constantes el estado de hidratación y los valores plasmáticos de iones. Estudios comparativos que analizan poblaciones de una misma especie en hábitats contrastantes, evidencian distinto grado de flexibilidad fenotípica frente a estresores (Bozinovic et al., 2011; Tracy y Walsberg, 2001a), como por ejemplo una baja ingesta y alta eliminación de agua, que conllevan a un balance hídrico negativo. De hecho, la capacidad de adaptación, hace a la distribución de las especies (Buffenstein, 2000).

Así, existe una amplia variación en la habilidad de recuperar agua entre especies, y generalmente está relacionada con adaptaciones a un ambiente particular (Bozinovic et al., 2007; Bozinovic y Gallardo, 2006; Cortés et al., 1990; Hillenius, 1992). A nivel pulmonar, la pérdida de agua puede reducirse mediante un aumento en la recaptación del vapor de agua exhalado, favorecida por turbinas nasales intrincadas, elevada irrigación sanguínea y concentración de acuaporinas (ver Bozinovic y Gallardo, 2006). En cuanto a la evaporación cutánea, la reducción en la razón

superficie-volumen del individuo a través de cambios posturales (Tracy y Walsberg, 2001a), en la secreción glandular y en la tasa de difusión a través de la piel por reducción en la irrigación y aumento del grosor del estrato córneo (Stein, 2000; Rodland y Hainsworth, 1974), contribuyen a reducir la pérdida de agua por esta vía. A nivel renal, adaptaciones en la morfología del riñón, como lo es una alta razón entre el espesor de médula/corteza, como también un elevado grado de irrigación de las asas de Henle de las nefronas, y aumento en el nivel de expresión de acuaporinas y transportadores iónicos, favorecen la concentración de la orina, y en consecuencia, la recaptación de agua e iones o sustratos en déficit (Díaz y Ojeda, 1999; Díaz y Cortés, 2003; Díaz et al., 2006; Bozinovic y Gallardo, 2006). Este es otro de los factores que contribuyen a mantener los niveles plasmáticos estables. A su vez, la capacidad de absorción de agua de los alimentos también es crítica, y está determinada por el gradiente osmótico y la permeabilidad al agua a nivel intestinal, que puede estar favorecida por un incremento en los niveles de acuaporinas (ver Bozinovic y Gallardo, 2006; Gallardo et al; 2002). Por otra parte, una fuente de obtención de agua es a través del catabolismo de sustratos energéticos, cuya contribución dependerá de la biomolécula utilizada. Así, la producción de agua metabólica puede ser indispensable en muchas especies que no beben agua libre, y que al menos en alguna época del año, su dieta se basa en ítems deshidratados pero que presentan alto contenido lipídico y proteico, como lo son las semillas (Díaz y Cortés, 2003; MacMillen y Hinds, 1983). Así, no solo estrategias morfo-fisiológicas son las que intervienen en el balance hidrosalino, sino que la plasticidad comportamental muchas veces es indispensable para lograr homeostasis, ya sea mediante selección de la dieta, del hábitat, de la postura, entre otros (ver Bozinovic y Gallardo, 2006).

Aún no se conoce cómo afectan los cambios estacionales al balance hidrosalino en tuco-tucos, ni cuáles son las respuestas a los mismos. Para adaptarse a dichas fluctuaciones, los individuos deberían responder mediante ajustes, ya sean fisiológicos o comportamentales. El objetivo de este capítulo fue determinar la variación estacional en los componentes del balance hidrosalino de individuos adultos de *C. talarum*, evaluando parámetros evaporativos, metabólicos, urinarios y plasmáticos. En particular, se determinó estacionalmente la pérdida de agua por evaporación (E), la tasa metabólica basal (TMB) y parámetros derivados, el contenido de agua en heces, la osmolaridad y concentración de urea e iones plasmáticos y urinarios. Hipótesis: *C. talarum* presenta un mayor ajuste en las distintas vías de pérdida de agua durante primavera-verano, cuando las exigencias climática y reproductiva serían mayores.

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPTURA DE ANIMALES Y MANTENIMIENTO

Se utilizaron trampas de captura viva para capturar adultos de *Ctenomys talarum*, en la localidad de Mar de Cobo (37° 46'S, 57° 26'O), Buenos Aires. En todos los casos, se determinó el peso y sexo de los individuos. Se obtuvieron muestras de orina, heces y sangre en el campo. Además, para realizar las mediciones de pérdida de agua por evaporación (E) y metabolismo, 48 individuos fueron trasladados al bioterio del Departamento de Biología, en la Universidad Nacional de Mar del Plata, donde se los dispuso individualmente en cajas plásticas de 30x40x25 cm, conteniendo un refugio y viruta de madera. Se los mantuvo bajo un fotoperíodo de L:O 12:12, a una temperatura ambiente de $T_a = 25 \pm 1$ °C y una humedad relativa del 98-100 % (RH). Los animales fueron alimentados *ad libitum* con una dieta mixta compuesta por batata, achicoria, lechuga, choclo y semillas de girasol. No se proveyó agua, ya que estos organismos no la consumen en forma libre. La aclimatación fue de 18 días, después de la cual se procedió con las mediciones de respirometría para determinar la tasa de pérdida de agua por evaporación y la tasa metabólica basal. La manipulación de los animales fue llevada a cabo de acuerdo a la guía de captura, manejo y mantenimiento de mamíferos en cautiverio de la Sociedad Americana de Mastozoólogos (Sikes y Gannon, 2011) y leyes actuales de Argentina.

MUESTREO Y ANÁLISIS DE ORINA, HECES Y SANGRE.

Se obtuvieron muestras de orina, heces y sangre en condiciones naturales en individuos de *C. talarum*, inmediatamente luego de la captura. El muestreo fue realizado en Mar de Cobo, entre los años 2011 y 2014, para las 4 estaciones del año.

ORINA

La recolección de orina fue por micción espontánea, se almacenó herméticamente y refrigeró hasta llegar al laboratorio. Una vez allí la orina fue congelada a $-18^\circ \pm 2$ °C, hasta su análisis. Las muestras fueron enviadas a al laboratorio de análisis bioquímico veterinario Farestaie, en la ciudad de Mar del Plata. Se obtuvieron valores de osmolaridad, concentración de sodio, potasio, cloruro y urea.

HECES

Las heces fueron colectadas inmediatamente después de su eliminación espontánea. Se almacenaron en forma hermética, y refrigeraron hasta llegar al laboratorio. Cada muestra fue pesada en fresco y en seco, luego de ser deshidratada por completo en estufa eléctrica. El contenido de agua de cada muestra se calculó mediante: $H_2O_{\text{heces}} = \text{peso fresco} - \text{peso seco}$.

PLASMA

Previamente a la extracción, el organismo fue anestesiado con isoflurano por unos segundos, se lo recostó sobre la mesa de trabajo, y se le extrajo sangre. La técnica consistió en la introducción de un capilar en el seno retroorbital del ojo derecho del individuo, conectado por una sonda a una jeringa de recolección, todo el sistema heparinizado. Se extrajeron entre 0,8 y 1 ml de sangre, acorde al tamaño corporal. Para estimar el hematocrito, se cargó con sangre un capilar heparinizado, que se cerró por uno de los extremos y, una vez en el laboratorio, se centrifugó por 15 minutos en una centrífuga para microhematocrito (Giumelli Z-12-D®) y se leyó en un ábaco de lectura. La sangre sobrante se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos (Minispin, Eppendorf®) y se separó y conservó el plasma (sobrenadante) para realizar los análisis bioquímicos de osmolaridad y contenido de sodio, potasio, cloruro y urea. Éstos fueron realizados por el laboratorio Farestaie de Mar del Plata.

ANÁLISIS DE RESPIROMETRÍA EN LABORATORIO

En aquellos individuos que fueron transportados hacia el laboratorio, se realizaron estimaciones de la tasa de pérdida de agua por evaporación (E) y de la tasa metabólica basal (TMB), a 25 ± 1 °C, utilizando un sistema de respirometría de circuito abierto (Lighton, 2008). Para ello, se determinó la TMB mediante el valor de consumo de O_2 . Cada animal fue individualmente ubicado en una cámara (1,8 l) que recibía aire seco y libre de CO_2 a 1,4 l/min. El aire excurrente fue submuestreado a 130 ± 10 ml/min y pasado por un analizador de CO_2 para determinar su producción. Nuevamente, se hizo circular el aire por absorbentes de CO_2 y H_2O , antes de alcanzar el analizador de O_2 . Las mediciones comenzaron 0,5 a 1 hora después de introducir al individuo en la cámara, de manera que el mismo se tranquilizara y mantuviese quieto. Cada 0,5 segundos, se obtuvo el valor de CO_2 y O_2 , monitoreándolos continuamente hasta lograr una lectura estable de 15 min de duración. La tasa de pérdida de agua por evaporación se obtuvo gravimétricamente conectando por 30 min, inmediatamente luego del analizador de CO_2 , una columna conteniendo

absorbente de agua (Drierite®). Dicha columna fue pesada antes y después de ser conectada al circuito, para determinar E. La medición duró entre 1,5 y 2 horas, según cada caso. Cuando los individuos orinaron y/o defecaron dentro de la cámara, los datos fueron descartados y la cámara fue limpiada y secada para repetir la medición. Las estimaciones fueron realizadas a lo largo de todo el día (ver Meroi et al., 2014). Al finalizar, se obtuvo la temperatura corporal (T_c), rectalmente insertando una sonda conectada a un termistor (Cole-Parmer). Se calculó la conductancia térmica húmeda ($C_{húmeda} = TMB / (T_c - T_a)$, ver McNab, 1980), el cociente respiratorio (R, ver Schmidt-Nielsen, 1997), la tasa de producción de agua metabólica ($AM = \text{tasa metabólica} * 0,62 \text{ mg H}_2\text{O/ml O}_2$; Schmidt-Nielsen y Schmidt-Nielsen, 1950b; MacMillen y Hinds, 1983), la pérdida de calor por evaporación ($Q_{perdido} = E * 0,603$; ver Stitt, 1976; Huynh et al., 2007), el calor producido ($Q_{producido} = TMB * 5,011$; ver Haim et al., 2008), y la conductancia térmica seca ($C_{seca} = (Q_{producido} - Q_{perdido}) / (T_c - T_a)$; McNab, 1980).

DATOS DE METEOROLOGÍA

Los datos de variables climáticas se obtuvieron durante los años 2011 y 2014, en los cuales se colectaron las muestras de orina, sangre y heces de los roedores. Se registraron los valores mensuales de temperatura media (T_m), precipitación acumulada (P_p), humedad relativa (%RH) y velocidad media del viento (V), registrados por la estación meteorológica 876920 (SAZM; 37° 55,8'S, 57° 34,8'O, Altitud: 18), y suministrados por http://www.tutiempo.net/clima/Mar_Del_Plata_Aerodrome/876920.htm.

ESTADÍSTICA

Se realizaron ANOVA de 1 vía para determinar si existían diferencias entre estaciones para las variables urinarias, fecales y plasmáticas estudiadas. Cuando no se cumplieron los supuestos del test paramétrico, se procedió a transformar previamente la variable o, en última instancia, a realizar el análisis no paramétrico correspondiente. Para determinar si existían diferencias en las variables respirométricas en función del período reproductivo/no reproductivo (junio a febrero/marzo a mayo, respectivamente; Malizia y Busch, 1991) y del sexo del organismo, se utilizaron análisis ANCOVA. Para cumplir los supuestos del test, se debieron transformar con logaritmo en base 10 los datos de peso corporal, E y TMB. Se realizó análisis de correlación entre las variables urinarias y plasmáticas entre sí, y respecto de la estación de muestreo; además se

analizó la correlación entre el contenido de agua en heces y el peso corporal. Debido al incumplimiento de los supuestos para test paramétricos, se realizó correlación de Spearman.

RESULTADOS

ORINA, HECES Y PLASMA

La osmolaridad de la orina fue diferente entre estaciones (ANOVA de 1 vía; $F_{3,20} = 4,31$; $P = 0,017$), siendo mayor en primavera-verano ($P < 0,050$). A su vez, se registraron diferencias en la concentración de urea (ANOVA de 1 vía; $F_{3,25} = 3,18$; $P = 0,041$), siendo mayor en verano ($P < 0,050$). La concentración de sodio urinario también difirió entre estaciones (ANOVA de 1 vía; $F_{3,29} = 3,69$; $P = 0,023$), pero no la de potasio o cloruro ($F_{3,29} = 0,063$; $P = 0,063$; y $F_{3,26} = 0,793$; $P = 0,509$; respectivamente. Ver Figura 1). Sin embargo, se observó correlación positiva entre la osmolaridad y la concentración de potasio (Spearman; $P = 0,002$; $r = 0,613$; $n = 23$), la de cloruro ($n = 23$; $P = 0,000$; $r = 0,642$), y entre urea y potasio ($n = 28$; $P = 0,000$; $r = 0,615$). Además, la concentración de cloruro se correlacionó con la de sodio ($P = 0,005$; $r = 0,500$; $n = 30$), y con la de potasio ($P = 0,002$; $r = 0,554$; $n = 29$). Si bien no se detectó diferencia significativa al analizar las medias, se observó correlación entre potasio y la estación del año, aumentando la concentración hacia primavera-verano y disminuyendo hacia otoño-primavera (Spearman; $n = 33$; $P = 0,022$).

En el caso del plasma, no se observaron variaciones entre estaciones para la osmolaridad (Kruskal-Wallis; $H = 4,39$; g.l. = 3; $P = 0,222$), las concentraciones de urea (ANOVA de 1 vía; $F_{3,53} = 1,30$; $P = 0,283$), sodio (Kruskal-Wallis; $H = 4,38$; g.l. = 3; $P = 0,223$), potasio (Kruskal-Wallis; $H = 7,32$; g.l. = 3; $P = 0,062$) y cloruro (ANOVA de 1 vía; $F_{3,56} = 2,54$; $P = 0,066$), ni para el hematocrito (sólo disponibles valores de otoño y primavera; ANOVA de 1 vía; $F_{1,15} = 0,303$; $P = 0,590$. Ver Tabla 1). Por otra parte, la osmolaridad plasmática se correlacionó con las concentraciones de sodio (Spearman; $n = 41$; $P = 0,000$; $r = 0,864$) y de cloruro ($n = 41$; $P = 0,000$; $r = 0,792$). A su vez, la urea plasmática se correlacionó con el sodio ($n = 60$; $P = 0,000$; $r = 0,880$). El cloruro plasmático se correlacionó con el sodio ($n = 60$; $P = 0,000$; $r = 0,880$), y con las estaciones de muestreo, mostrando un aumento hacia otoño-invierno (Spearman; $n = 60$; $P = 0,040$). Además, la concentración de potasio plasmático se correlacionó con el sodio en orina ($n = 5$; $P = 0,017$; $r = -1,00$).

El contenido de agua en heces no fue diferente entre estaciones (Kruskal-Wallis; $H = 5,08$; g.l. = 3; $P = 0,166$), ni entre sexos ($P > 0,050$). Sin embargo, se observó una correlación negativa con el

peso corporal (Spearman; $P = 0,023$; $r = -0,274$; $n = 69$). El valor promedio anual obtenido fue de $51,4 \pm 14,4\%$ de agua en heces de *C. talarum*.

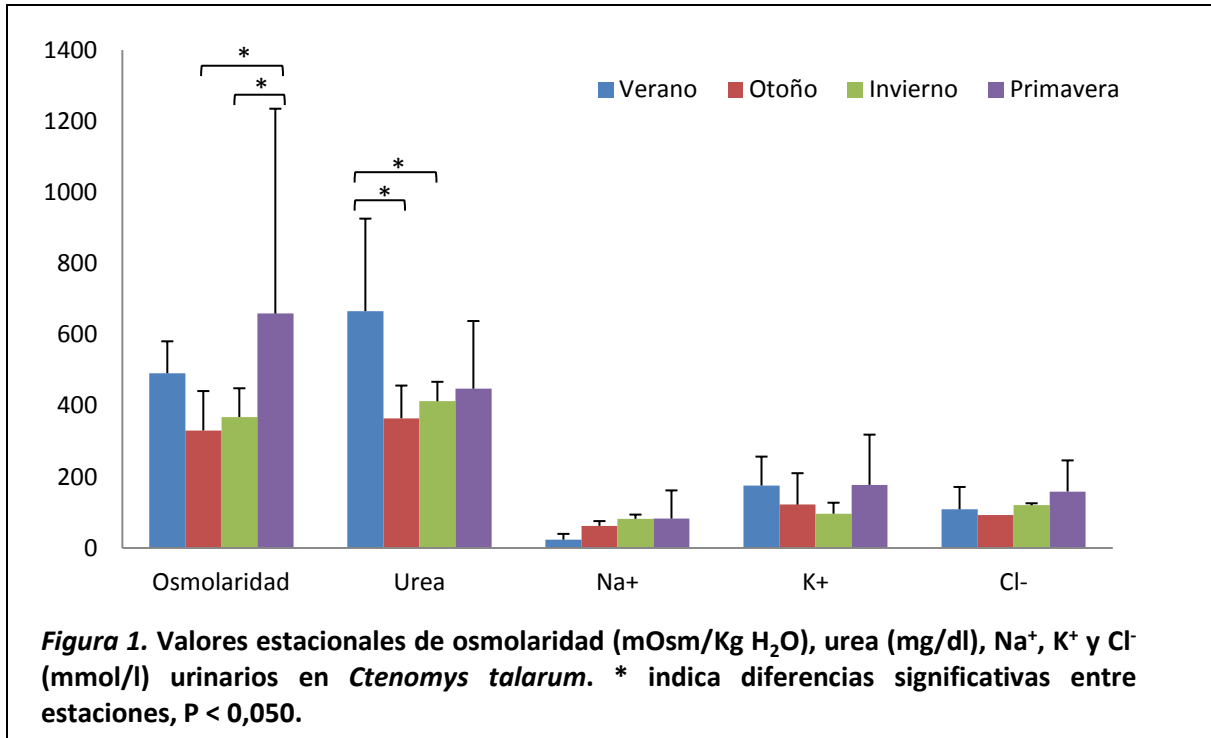


Tabla 1. Valores plasmáticos, estacionales y anuales, de osmolaridad, urea, iones (sodio, potasio, cloruro) y hematocrito para *Ctenomys talarum*. Valores expresados como Media \pm DE. No se observaron diferencias significativas entre estaciones (ver correlaciones en texto).

	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Anual
Osmolaridad (mOsm/KgH₂O)	403,32 \pm 113,2	464,70	348,06 \pm 23,3	392,92 \pm 90,3	382,74 \pm 82,2
Urea (mg/dl)	56,00 \pm 4,2	59,10	65,98 \pm 1,6	62,12 \pm 8,1	60,98 \pm 15,4
Sodio (mmol/l)	166,83 \pm 12,2	183,21 \pm 5,8	167,78 \pm 15,5	158,01 \pm 13,2	164,87 \pm 19,8
Potasio (mmol/l)	5,90 \pm 0,6	5,70 \pm 0,6	6,21 \pm 0,1	5,31 \pm 0,4	5,59 \pm 0,9
Cloruro (mmol/l)	110,66 \pm 8,8	121,53 \pm 1,7	113,20 \pm 9,6	103,31 \pm 10,5	109,28 \pm 15,0
Hetamocrito (%)	-	42,83 \pm 3,3	-	43,33 \pm 3,3	43,88 \pm 5,1

PARÁMETROS EVAPORATIVOS Y METABÓLICOS

No se observó efecto del peso corporal como covariable al analizar la tasa de pérdida por evaporación (E; ANCOVA; $F_{1,38} = 1,29$; $P = 0,263$) en función del sexo y la época (reproductiva o no reproductiva). Se detectaron diferencias significativas en E entre estaciones reproductiva y no reproductiva (ANCOVA; $F_{1,38} = 6,60$; $P = 0,014$. Ver Figura 2), pero no entre sexos ($F_{1,38} = 1,20$; $P = 0,280$), ni para la interacción de estas variables ($P > 0,050$; en todos los casos).

Se detectó efecto del peso corporal sobre la tasa metabólica basal (TMB; ANCOVA; $F_{1,38} = 14,36$; $P < 0,001$). Por otra parte, no se observaron diferencias en la TMB en relación a la época (ANCOVA; $F_{1,38} = 1,00$; $P = 0,329$), al sexo ($F_{1,38} = 0,298$; $P = 0,588$), ni a la interacción de estas variables ($P > 0,05$; en todos los casos). El valor promedio para TMB fue de $122,81 \pm 19,2$ ml O_2/h .

La producción de agua metabólica y de calor, presentaron el mismo comportamiento que la TMB, a partir de la cual fueron calculados. No presentando variaciones entre humedad de aclimatación ni estaciones (ANCOVA; $P > 0,050$), sus valores promedio fueron de $AM = 76,14 \pm 11,9$ mg H_2O/h y $Q_{producido} = 615,38 \pm 96,5$ cal/h. Así mismo, el calor disipado por evaporación ($Q_{perdido}$), varió de forma similar que E, siendo un 28,15% mayor en la época no reproductiva. En consecuencia, la tasa de $Q_{perdido}/Q_{producido}$ también varió entre estaciones (ANCOVA; $F_{1,8} = 4,71$; $P = 0,036$), siendo de $0,53 \pm 0,14$ durante la estación no reproductiva, y $0,45 \pm 0,16$ en la reproductiva.

A su vez, el peso corporal afectó los valores de $C_{húmeda}$ y C_{seca} (ANCOVA; $F_{1,38} = 15,36$; $P < 0,001$; y $F_{1,38} = 4,54$; $P = 0,040$; respectivamente), pero no variaron entre épocas ni sexos (ANCOVA; $P > 0,050$ en ambos casos). El valor promedio de $C_{húmeda}$ fue de $60,25 \pm 12,4$ cal/h $^{\circ}C$, y de $31,43 \pm 10,8$ cal/h $^{\circ}C$ para la C_{seca} , un 51% de la primera. No se observaron diferencias en T_c ni en R para las variables estudiadas, tampoco efecto del peso corporal (ANCOVA; $P > 0,050$). Sus valores promedio fueron $T_c = 35,00 \pm 0,7$ $^{\circ}C$, y $R = 0,88 \pm 0,1$.

PARÁMETROS CLIMATOLÓGICOS

A pesar de observarse variaciones en la precipitación acumulada a lo largo del período analizado (Ver Figura 3), no se detectaron diferencias mensuales ni anuales significativas para este parámetro, ni para la humedad relativa (ANOVA de 2 vías; $P > 0,050$ en ambos casos). Sin embargo, se obtuvieron diferencias significativas para la temperatura media y velocidad del viento entre meses (ANOVA de 2 vías; $P < 0,001$; en ambos casos), pero no entre años ($P > 0,050$; para ambos). La variación de temperatura media se grafica en la Figura 3. En cuanto a la velocidad del

viento, fue menor durante mayo respecto de los meses de septiembre hasta enero ($P < 0,001$). Ver Figura 3.

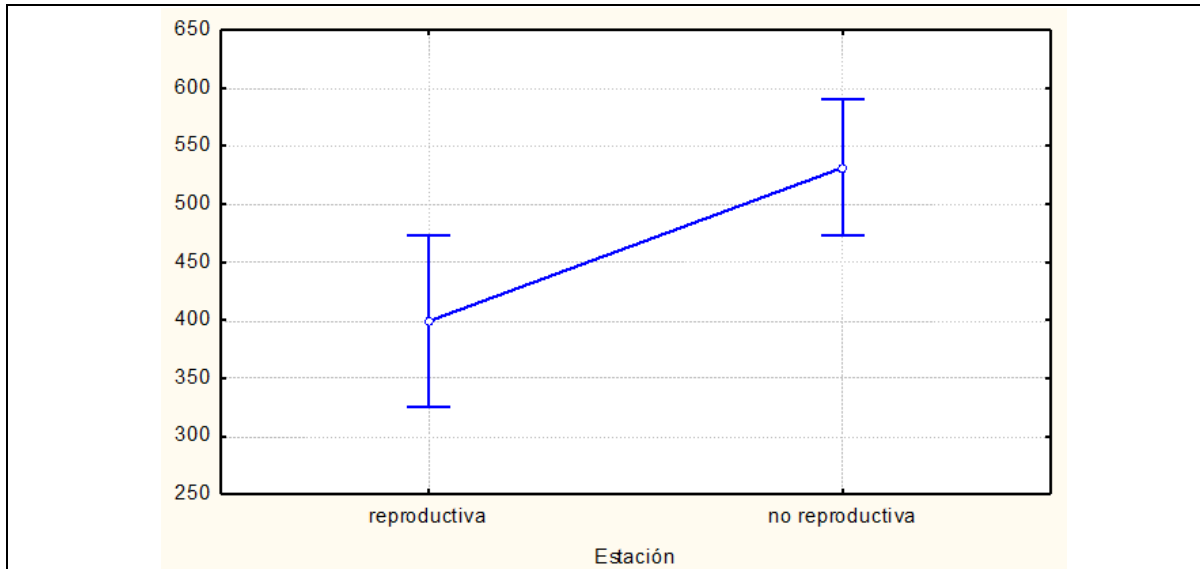


Figura 2. Tasa de pérdida de agua por evaporación (E, mg H₂O/hr) para *Ctenomys talarum* en función de la época (reproductiva, junio-febrero, y no reproductiva, marzo-mayo, respectivamente; Malizia y Busch, 1991). Se observan diferencias significativas ($P < 0,050$).

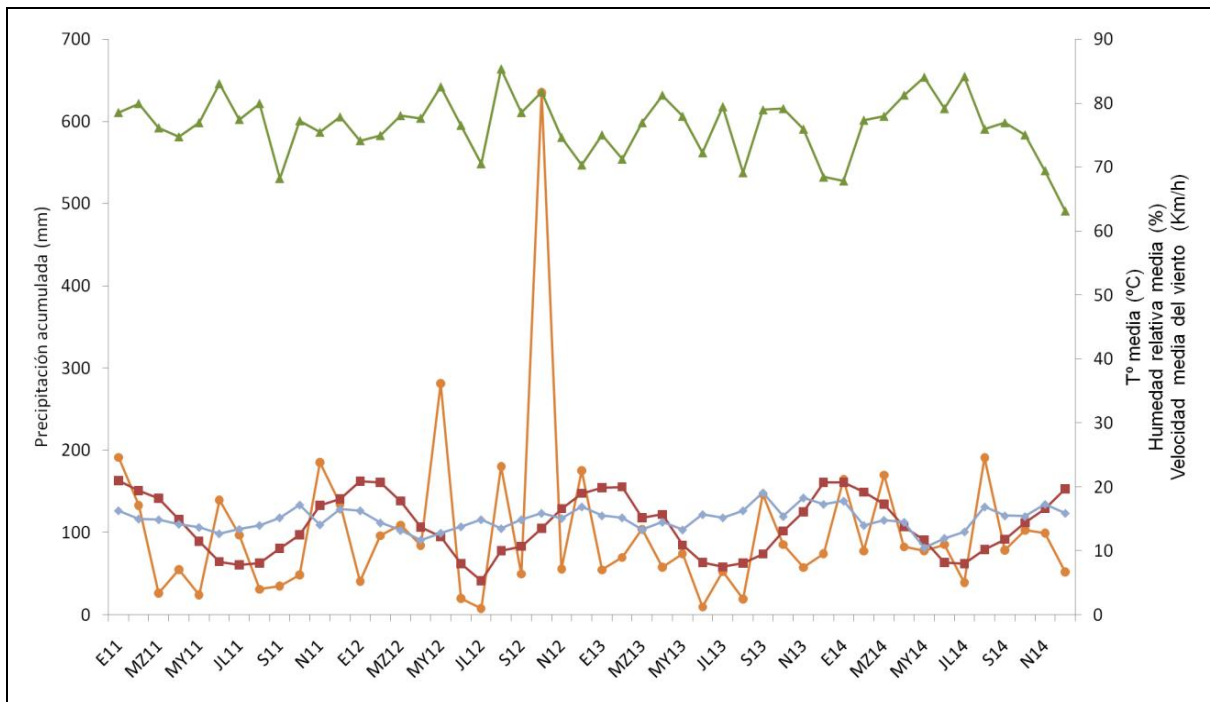


Figura 3. Valores mensuales de precipitación acumulada (mm; círculos naranja), temperatura media anual (°C; cuadrados rojo), humedad relativa (%; triángulos verde), velocidad media del viento (Km/h; rombos celeste), para la zona de muestreo (37° 55,8'S, 57° 34,8'O) durante los años 2011-2014.

DISCUSIÓN

El balance hidrosalino es uno de los procesos capitales para el mantenimiento de la homeostasis en todo ser vivo. En el presente capítulo se analizó la variación estacional en las diferentes vías de pérdida de agua en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*. Si bien estos individuos habitan un ambiente méxico, en cuevas donde la pérdida de agua por evaporación se encontraría reducida debido a la alta humedad atmosférica (90-98% RH a $T_a = 25-28$ °C; Baldo, comunicación personal), podrían estar sometidos a presiones selectivas a nivel de la regulación hídrica. Las variaciones atmosféricas durante las salidas a superficie y, sobre todo, la variación estacional en la disponibilidad del contenido de agua en la vegetación (Fanjul et al., 2006) podrían tener correlatos en ajustes fisiológicos y/o comportamentales. A su vez, los cambios individuales en comportamiento reproductivo, dispersión o forrajeo también afectarían el balance. En el presente trabajo, se detectaron diferencias en la tasa de pérdida de agua por evaporación de tuco tucos entre períodos, siendo menor durante la temporada reproductiva (Ver Figura 2), la cual se corresponde con primavera-verano. Si bien, durante este período la disponibilidad, diversidad específica y contenido de agua de la vegetación aumentan (Fanjul et al., 2006; Comparatore et al., 1991; 1995), la temperatura ambiente (Ver Figura 3) y los requerimientos nutricionales e hídricos de los organismos también aumentan (ver del Valle et al., 2006). Por ello es preciso ajustar aún más las estrategias que maximicen la incorporación y absorción de nutrientes, y que minimicen su pérdida. Del Valle et al., 2001 observó un incremento en la incorporación de ítems dietarios con alto contenido energético durante la estación reproductiva, como semillas, las cuales presentan alto contenido lipídico y son potencial fuente de agua metabólica. A su vez, también ocurre un incremento en la ingesta de especies, asociadas al período estival, con mayor contenido nutricional y grado de digestibilidad, tal como *Bromus* sp. (del Valle et al., 2001; Martino et al., 2007). Si bien en el presente capítulo no se analizó la variación estacional en la cantidad de alimento ingerido, se podría esperar un aumento durante esta estación, ya que *C. talarum* es capaz de realizar ajustes a corto plazo, aumentando el consumo de alimento cuando la calidad de la dieta mejora (ver Martino et al., 2007).

Concomitante con ello, se observa un ajuste a nivel renal, reflejado en un incremento en la concentración de la orina, principalmente en primavera. El valor máximo observado en campo para la osmolaridad urinaria en tuco-tucos fue de 1170 mOsm/Kg durante octubre de 2012, muy inferior a lo observado para roedores xéricos (de 3000 a 8600 mOsm/Kg, ver Díaz y Cortés, 2003). Sin embargo, el valor promedio de osmolaridad urinaria en *C. talarum* fue similar a lo encontrado

en subterráneos desérticos como *Heterocephalus glaber* (i.e. ≈ 350 mOsm/Kg), mientras que el valor máximo observado fue similar a datos obtenidos para dicha especie bajo estrés hidrosalino (Urison y Buffenstein, 1994). Se ha propuesto que la distribución de *H. glaber* estaría determinada por las características de sus cuevas y no por su capacidad de concentrar orina (Buffenstein, 2000). Así, *C. talarum* también podría ser capaz de enfrentar variaciones ambientales más extremas en superficie, contrarrestadas por sus hábitos subterráneos. Sin embargo, serían necesarios estudios de campo intra e interespecíficos para poblaciones de *Ctenomys* en diferentes ambientes para determinar si existe tal flexibilidad. Trabajos realizados para poblaciones de la misma especie pero en ambientes contrastantes, reflejan plasticidad en la concentración urinaria, tal como en *Abrothrix olivaceous*, quien en ambientes semixéricos triplica la concentración alcanzada en ambientes méxicos (Bozinovic et al., 2011). Tal como se espera, la correspondencia entre la variación estacional en la osmolaridad y urea en orina, indica un alto aporte de este metabolito en la concentración urinaria, mientras que los iones evaluados contribuirían, pero en menor medida (ver Yang y Bankir, 2005). A su vez, la correlación entre la concentración de potasio en orina y la época del año podría estar asociada a la variación estacional en la dieta (Mares, 1977). De hecho, se ha encontrado que la concentración de potasio en orina de *C. talarum* en condiciones naturales, o bajo una dieta a base de *Panicum racemosum*, pasto costero abundante naturalmente en el período estival y componente de la dieta de este roedor, fue de aproximadamente el doble ($143,10 \pm 40,3$ mmol/l, valor promedio anual) al obtenido bajo cautiverio frente a una dieta compuesta por mezcla de verduras como batata, maíz, achicoria, lechuga, girasol ($81,17 \pm 6,4$ mmol/l (n=2); Baldo, comunicación personal).

Estos ajustes a nivel urinario serían parte del mecanismo alostático, que permite mantener eficientemente los valores plasmáticos a partir de cambios en variables puntuales. La constancia en la composición del plasma (Tabla 1), a pesar de las fluctuaciones ambientales bióticas y abióticas, y de los cambios anuales en el comportamiento de cada organismo (reproductivo, de dispersión y forrajeo), indican que los tuco-tucos son capaces de hacer los ajustes necesarios para mantener su equilibrio sin alcanzar límites extremos. Al no observarse valores elevados en la concentración de orina bajo las condiciones evaluadas, la regulación dada sería suficiente para afrontar las variaciones ambientales, y no implicaría la máxima explotación de sus estrategias de regulación. Para evaluar esta hipótesis sería necesario complementar con trabajo en laboratorio donde se refuercen las condiciones ambientales desfavorables y se pueda determinar si existe flexibilidad fenotípica frente a una mayor presión sobre el contenido hídrico de la dieta (ver

Capítulo 4). Más aún, se puede determinar el efecto de tales presiones durante la ontogenia, y detectar si tienen efectos en el desarrollo morfo-fisiológico de los organismos. Por otra parte, los valores plasmáticos de osmolaridad y concentración de los iones analizados en *C. talarum* son similares a los observados en el roedor subterráneo *H. glaber* (Urison y Buffenstein, 1994), y en ratas y ratones (ver Yang y Bankir, 2005). Si bien esto mismo ocurre para los niveles de urea, la relación entre las concentraciones en orina/plasma sería menor en *C. talarum* (6 a 12, según la estación) que en la rata topo (16, hasta 52 bajo estrés hidrosalino), y en ratones (200) y ratas (140); (Urison y Buffenstein, 1994; Yang y Bankir, 2005). Aún así, tal como se mencionó previamente, deberían realizarse en tuco-tucos estudios de estrés hidrosalino controlados a través de la dieta, para concluir sobre su plasticidad fenotípica frente a otras especies. A su vez, diferentes presiones durante la ontogenia pueden tener efectos sobre las capacidades individuales, tal como se observó en roedores desertícolas sometidos a restricción hídrica durante el desarrollo, quienes presentaron mayor relación en el espesor médula/corteza de sus riñones (Willmer et al., 2009). En cuanto al hematocrito de los tuco-tucos, estimador del estado de hidratación de los individuos, fue similar al encontrado por Busch 1987, e inferior al reportado para la rata topo (Urison y Buffenstein, 1994), indicando un mayor contenido de agua en sangre en los primeros. Sin embargo, esto también podría representar un mayor nivel de eritrocitos en *H. glaber* quien, por tratarse de un roedor fosorial estricto – en comparación de *C. talarum*, quien hace excursiones en superficie-, presentaría adaptaciones más evidentes a un ambiente hipóxico (Willmer et al., 2009).

En contraposición, no se detectó variación estacional en el contenido de agua de las heces, aunque sí se correlacionó con el peso de los organismos. Debido a la conocida regulación estacional a nivel bioquímico y de los órganos que componen el sistema gastrointestinal de *C. talarum* (del Valle y López Mañanes, 2008), de la ya mencionada variación estacional en la flora que forma parte de la dieta de estos organismos (Comparatore et al., 1995), del alto rendimiento en la digestión de ítems con bajo contenido nutricional (Perissinotti et al., 2009) asociado al comportamiento de coprofagia (Martino et al., 2007), se sugiere que la composición de las heces refleja un alto ajuste independientemente de la fluctuación anual natural. Sin embargo, tal como ocurre para la composición urinaria y plasmática, estudios en condiciones experimentales más extremas son necesarios para determinar si la pérdida de agua a través de las heces es mínima (ver Capítulo 4).

Por otra parte, no se detectaron variaciones estacionales en la TMB, tal como fue descrito por Meroi et al., 2014. Sin embargo, se observó una mayor tasa de evaporación en el período no reproductivo que en el reproductivo. Esta diferencia podría atribuirse a un cambio estacional en la humedad atmosférica de sus cuevas (ver Capítulo 3), tal vez asociado a las variaciones climáticas externas observadas para la temperatura y viento, que a su vez puedan influir sobre la ventilación de las cuevas (Burda, et al., 2007), y en consecuencia una variación en su RH. Por otra parte, la variación en E entre épocas podría relacionarse con la selección de la dieta en función de las fluctuaciones estacionales en su disponibilidad y diversidad (Comparatore et al., 1995; ver Capítulo 4) y su asociación con procesos fisiológicos altamente demandantes energéticamente, como lo es la reproducción (del Valle et al., 2001).

A nivel interespecífico, los valores de E para *C. talarum* son superiores a los encontrados en otros roedores de similar masa corporal, incluyendo otras especies del género (Ver Figura 4; Díaz y Cortés, 2003). Sin embargo, roedores subterráneos como *H. glaber* y *Thomomys bottae* presentan valores aún mayores (Buffenstein y Yahav, 1991; Gettinger, 1984). Dado el microclima húmedo de las cuevas de *C. talarum*, se esperaba que no presentara una fuerte restricción en la E, en comparación con especies desertícolas, pero aún así fue 3,5 veces mayor a la esperada para su masa corporal, para un ambiente méxico (ver Díaz y Cortés, 2003).

A nivel termorregulatorio, la evaporación en tuco-tucos tendría un rol considerable. Si bien la TMB, y así el $Q_{\text{producido}}$, son bajos respecto de roedores de superficie de similar peso (MacNab, 1966), la razón entre el calor perdido por evaporación y el generado metabólicamente en relación a los de otros roedores méxicos y xéricos es elevada (ver Figura 5a; Cortés et al., 2000a; Hind y MacMillen, 1985; Brower y Cade, 1966; Webb y Skinner, 1996). Éste mecanismo, y la elevada conductancia característica de subterráneos (MacNab, 1966), contribuirían en la disipación de calor y, con ello, al control de la temperatura corporal. Sin embargo, son necesarios otros estudios para determinar cómo es la regulación a las diferentes T_{a} s a las que *C. talarum* está expuesto diaria y estacionalmente, y cuál es el nivel de contribución de los mecanismos evaporativos y no evaporativos en el mantenimiento de la T_{c} en esta especie (ver Capítulo 2). La baja tasa metabólica y elevada conductancia, junto al microclima de sus cuevas, que minimiza el efecto de la elevada relación $Q_{\text{perdido}}/Q_{\text{producido}}$ observada, serían características que le permitieron a *C. talarum* no beber agua libre, y probablemente dieron lugar a la evolución del género en ambientes áridos.

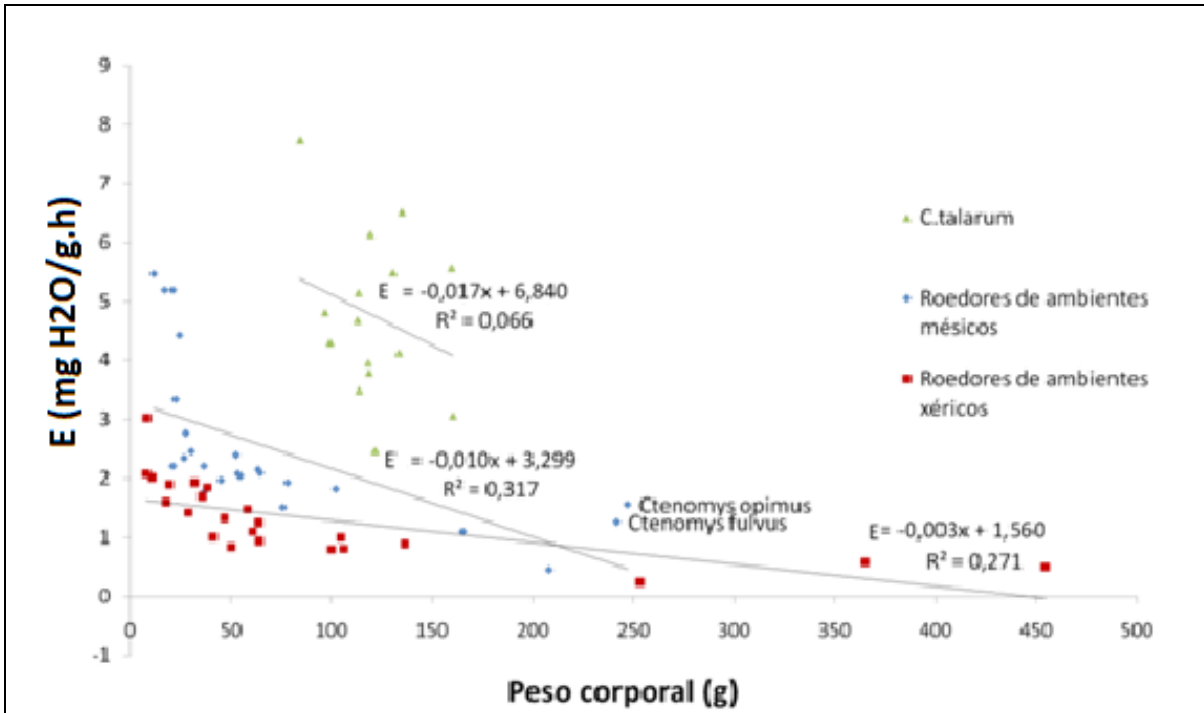


Figura 4. Valores de tasa de pérdida de calor por evaporación masa específicos (mg H₂O/gh), en función del peso corporal (g), para *Ctenomys talarum* (triángulos) y otras especies de roedores, méxicos (rombos) y xéricos (cuadrados).

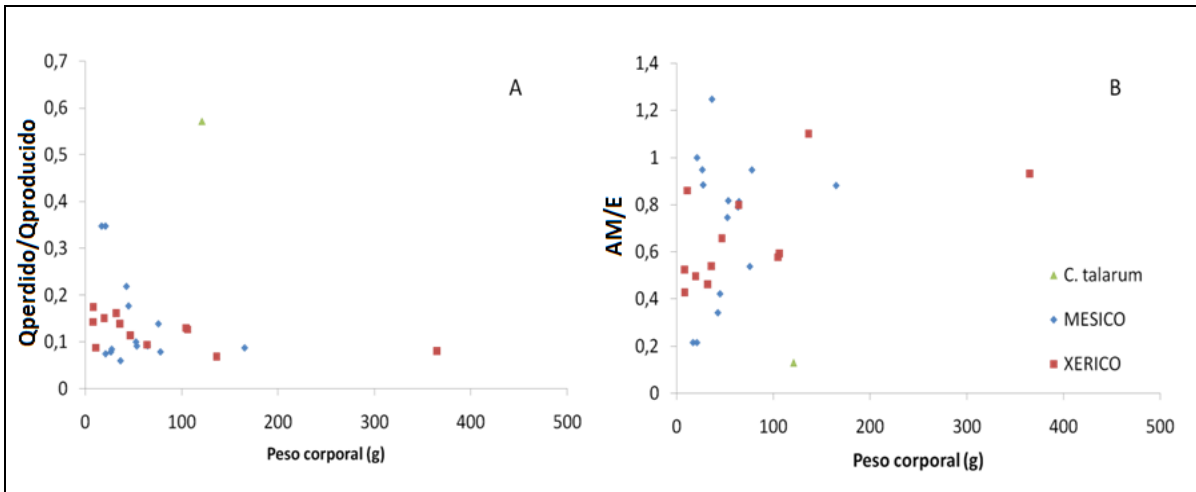


Figura 5. Valores de la razón entre A) calor perdido por evaporación y calor producido ($Q_{\text{perdido}}/Q_{\text{producido}}$) y B) producción de agua metabólica y pérdida de agua por evaporación, en función del peso corporal (g), para *Ctenomys talarum* (triángulos) y otras especies de roedores, méxicos (rombos) y xéricos (cuadrados; Cortés et al., 2000a; Hind y Mac Millen, 1985; Brower y Cade, 1966; Webb y Skinner, 1996).

Se propone entonces, que la capacidad de regulación renal observada en este estudio en relación a la formación de orina, la baja evapotranspiración dentro de las cuevas saturadas de vapor y la baja tasa metabólica (Busch, 1989), representarían adaptaciones que contribuyen en la regulación del balance hidrosalino en tuco-tucos. Las características ecológicas, y los ajustes fisiológicos realizados en distintas etapas de historia de vida, le permite a la especie afrontar los cambios en disponibilidad de agua y sales que anualmente transita, aún produciendo orina más diluida que la de roedores de ambientes xéricos y presentando mayores tasas de evaporación. Por otra parte, aún no ha sido evaluada la capacidad máxima de regulación hidrosalina bajo condiciones extremas. No obstante, en el capítulo 4, se analiza si esta especie es capaz de realizar un ajuste más preciso frente a estrés hidrosalino a nivel dietario, repercutiendo en la capacidad de adaptación a un ambiente cambiante y más austero.

CAPÍTULO 2

EFFECTO DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL SOBRE LA PÉRDIDA DE CALOR POR EVAPORACIÓN EN EL ROEDOR SUBTERRÁNEO *CTENOMYS TALARUM*.

INTRODUCCIÓN

La adaptación a la vida terrestre requiere que los organismos realicen ajustes de la ganancia y pérdida de agua, para así mantener un balance en su presupuesto hídrico. En endotermos, una vía importante de pérdida de agua ocurre a través de la evaporación, la cual involucra la vía cutánea y respiratoria. A pesar que la pérdida de agua por evaporación (E) es inevitable, los individuos son capaces de regularla y aprovecharla para el enfriamiento, ya que el calor producido es disipado al evaporar el agua corporal. Sin embargo, E depende de los gradientes de temperatura y humedad entre la superficie -cutánea o respiratoria- del individuo y el ambiente; así ocurre pérdida de agua, en cada exhalación, cuando el aire cálido y húmedo eliminado se encuentra con una atmósfera más fría y seca en el exterior del organismo (ver McNab, 2002). Se conocen varias estrategias que facilitan la reducción de E a diferentes niveles: morfológico, fisiológico y, también, comportamental.

La pérdida de agua a través de la respiración puede ser modificada a mediante la morfología, irrigación sanguínea, la expresión de acuaporinas y transportadores iónicos a la altura de los turbinales nasales; esto tiene una fuerte influencia en las características del flujo de aire. Generalmente, y dependiendo del ambiente, el aire respirado debe ser acondicionado, siendo necesario calentarlo y humidificarlo cuando ingresa, y enfriarlo y deshidratarlo cuando sale de la cavidad nasal. Esto es llevado a cabo gracias al ampliamente conocido sistema de contracorriente, cuya eficiencia es determinante de la cantidad de agua reciclada y, en consecuencia, del valor de E (Schmidt-Nielsen y Schmidt-Nielsen, 1950a; Jackson y Schmidt-Nielsen, 1964). Existe una amplia variación entre especies en la habilidad de recuperar el vapor de agua exhalado, y generalmente está relacionado con adaptaciones a un ambiente particular (Schmidt-Nielsen et al., 1970; Cortés et al., 1990; Hillenius, 1992).

En cuanto a la E cutánea, la evaporación se encuentra asociada principalmente a la razón superficie-volumen del individuo (Tracy y Walsberg, 2001a), pero también a la tasa de difusión a través de la piel, la cual depende de la irrigación, del grosor del estrato córneo (Rodland y

Hainsworth, 1974), y de la secreción por glándulas sudoríparas (Stein, 2000). Sin embargo, algunos individuos, como ocurre en roedores que habitan cuevas en forma permanente, no presentan este tipo de glándulas (ver Stein, 2000). En consecuencia, la E cutánea se atribuye en su totalidad a la difusión a través de la piel, y su valor es especie-dependiente (Baudinette, 1972; Hillenius, 1992). Entre las estrategias comportamentales, la selección del hábitat es una de las formas de controlar la tasa de evaporación. Vivir en un ambiente relativamente constante, caracterizado por una baja fluctuación térmica entre el día y la noche, y humedad relativa (RH) estable, puede favorecer la regulación de E cuando las estrategias fisiológicas no son suficientes. En algunos casos, la vida en un ambiente subterráneo permite la generación de un microambiente donde es posible llegar a la alostasis, aun cuando las variaciones estacionales en superficie afectan las condiciones en el interior de las cuevas. Como se observó en la ardilla *Otospermophilus beecheyi*, el uso de las cuevas es suficiente para proteger a los individuos de altas temperaturas ambientales durante el día, y bajas durante la noche (Baudinette, 1972). Además, se observó que el roedor subterráneo *Ctenomys talarum* regula su E frente a un cambio en la humedad ambiental. Considerando que la atmósfera de las cuevas presenta una RH cercana al 100%, y que el bajo gradiente de humedad entre el individuo y el ambiente es evidente, estos animales no requerirían de un ajuste fisiológico costoso, ya que su comportamiento los protege de un balance hídrico negativo (ver Capítulo 3). Sin embargo, la RH no es el único parámetro ambiental que afecta la E, sino que también la temperatura ambiental (T_a). La evaporación de agua es también un factor clave en el mantenimiento del balance térmico (McNab, 2002). A pesar de que generalmente se asume que la E es invariable a bajas T_a s (dentro de la zona de termoneutralidad), a altas temperaturas parece ser un mecanismo esencial de transferencia de calor en mamíferos (Withers et al., 2012; Minnaar et al., 2014) y aves (Wolf y Walsberg, 1996). Así, cuando la temperatura ambiental excede la corporal, el calor puede ser disipado no sólo por conducción, convección o radiación, sino que también por evaporación (Zhu et al., 2008; Huynh et al., 2007). En consecuencia, la interacción entre la RH y T_a de la cueva debe ser un importante factor evolutivo que ha determinado la E en aquellas especies que habitan cuevas en forma casi permanente. Además, la producción de calor durante la excavación en un sistema de cueva cerrado, con baja convección y alta humedad, podría causar sobrecalentamiento en estos mamíferos subterráneos, esencialmente a temperaturas por encima de la zona termoneutral. En este escenario, McNab (1966; 1979) propuso que las características de los roedores subterráneos, como su baja tasa de metabolismo mínimo y la alta conductancia térmica húmeda, comparado con especies de superficie, podrían ser

adaptaciones para evitar el sobrecalentamiento durante la excavación (“hipótesis de estrés térmico”; pero ver Vleck, 1971; 1981; Lovegrove, 2003).

En este contexto, el objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto de la temperatura ambiente (T_a) sobre la pérdida de agua por evaporación (E) y el metabolismo energético en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum* (tuco-tucos). Hipótesis: Como se observa en endotermos, la E en *C. talarum* se incrementó con el aumento de la T_a . Debido al uso extensivo de las cuevas, caracterizadas por una atmósfera saturada con vapor de agua, este incremento fue menor al esperado para roedores de superficie.

MATERIALES Y MÉTODOS

ANIMALES Y MANTENIMIENTO

Se capturaron machos adultos de *Ctenomys talarum*, en la localidad de Mar de Cobo (37° 46'S, 57° 26'W), Buenos Aires. Los mismos fueron trasladados de inmediato al bioterio del Departamento de Biología, en la Universidad Nacional de Mar del Plata, donde se los ubicó individualmente en cajas plásticas de 40 x 30 cm, conteniendo un refugio y viruta de madera. El período de aclimatación duró 12 días. El fotoperíodo (L:O 12:12), la humedad (50-60% RH) y la temperatura ambiente ($T_a = 25$ °C) fueron controlados. Los animales fueron alimentados ad libitum con una dieta compuesta por batata, achicoria, lechuga, choclo y semillas de girasol. No se les proveyó de agua ya que estos organismos no la consumen en forma libre. La manipulación de los animales fue llevada a cabo de acuerdo a la guía de captura, manejo y mantenimiento de mamíferos en cautiverio de la Sociedad Americana de Mastozoólogos (Sikes y Gannon, 2011) y leyes actuales de Argentina.

MEDICIONES

Para probar el efecto de la temperatura ambiente (T_a) sobre el balance hídrico y el presupuesto energético mínimo, se realizaron mediciones de la tasa de pérdida de agua por evaporación (E) y de la tasa metabólica (TM), para cada animal a diferentes temperaturas (desde 5 °C hasta 35 °C, cada 5°C). Se reportó la tasa metabólica mínima como tasa metabólica de reposo (TMR), para TM por debajo o por encima de la zona termoneutral (ZT), y tasa metabólica basal (TMB), para TM dentro de la ZT (25 °C - 30 °C en Busch, 1989). Se empleó técnicas respirométricas para estimar E y MR (Lighton, 2008). La tasa metabólica basal y la de reposo se determinaron a través del valor de consumo de O_2 , obtenido por un sistema computarizado de respirometría de circuito abierto y

presión positiva (Sable System, Las Vegas, USA). Los animales fueron individualmente ubicados en una cámara (1,8 l) que recibió aire a 1,4 l/min controlado por un flujímetro (Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, USA). Antes de ingresar a la cámara, el aire pasó a través de un absorbente de CO₂ (IQB®) y agua (Drierite®). El aire excurrente fue submuestreado a 130 ± 10 mL/min. Se lo hizo circular por un analizador de CO₂ (CA-10, Sable Systems) para determinar su producción. Luego, se hizo pasar el aire nuevamente por absorbentes de CO₂ y H₂O (IQB® and Drierite®) antes de alcanzar el analizador de O₂ (FC-1B, Sable Systems). Cada 0,5 segundos, se obtuvo la concentración voltaje-dependiente de CO₂ y O₂ mediante el programa Expedata (Sable Systems). Las líneas de base de los datos de O₂ y CO₂ fueron convertidos a ml de cada usando ecuaciones estándar de respirometría (Withers, 1977). Las mediciones comenzaron 1 hora después de introducir al individuo en la cámara, de manera que el mismo se tranquilizara y mantuviese quieto. El consumo de O₂ y producción de CO₂ fueron continuamente monitoreados hasta lograr una lectura estable de 15 min de duración. La tasa de pérdida de agua por evaporación se obtuvo conectando por 30 min una columna con absorbente de agua (Drierite®), inmediatamente luego del analizador de CO₂. Dicha columna fue pesada antes y después de la conexión, para determinar gravimétricamente el valor de E (ver Berstein et al., 1977 para la validación de esta técnica en un sistema de respirometría de flujo abierto). La medición duró entre 2 y 4 horas, dependiendo del tiempo requerido para alcanzar la temperatura de medición. En los casos en que los individuos orinaron y/o defecaron dentro de la cámara, los datos fueron descartados y la cámara fue limpiada para luego repetir la medición. Debido a que no se ha observado ritmo circadiano en el consumo de oxígeno (Meroi et al., 2014), las mediciones fueron realizadas entre las 8-17 hs, durante la misma semana para cada organismo. Se obtuvo mediciones de peso corporal (P), y de la temperatura corporal (T_c), rectalmente mediante un termómetro digital (Cole-Parmer), al finalizar cada respirometría. Se calculó la conductancia térmica húmeda (C_{húmeda}) mediante $C_{húmeda} = TMB / (T_c - T_a)$, ya que al extrapolar la curva de TM hacia el eje de T_a, la T_c fue diferente de T_a (ver McNab, 1980). Se obtuvo la C_{húmeda} mínima a partir de la media de C_{húmeda} para temperaturas por debajo de la ZT (es decir, 5 °C ≤ T_a < 25 °C; ver Busch, 1989). Para propósitos comparativos, se expresó la C_{húmeda} en cal/h °C.

Para determinar diferencias potenciales en el catabolismo de sustratos, se calculó el coeficiente respiratorio (R) dividiendo la tasa de producción de CO₂ por la de consumo de O₂ (Schmidt-Nielsen, 1997). Además, se obtuvieron otros parámetros, como la tasa de producción de agua metabólica (AM= TM* 0,62 mg H₂O/ml O₂; Schmidt-Nielsen y Schmidt-Nielsen, 1950b; MacMillen y Hinds,

1983), la pérdida de calor por evaporación ($Q_{\text{perdido}} = E * 0,603 \text{ cal/mg H}_2\text{O}$; ver Stitt, 1976; Huynh et al., 2007) y el calor producido ($Q_{\text{producido}} = TM * 5,011 \text{ cal/ml O}_2$; ver Haim et al., 2008). Finalmente, se estimó la conductancia térmica seca (C_{seca}) mediante $C_{\text{seca}} = (Q_{\text{producido}} - Q_{\text{perdido}}) / (T_c - T_a)$.

ESTADISTICA

Todos los datos fueron expresados como media \pm DE. El peso corporal fue analizado para evaluar diferencias entre individuos mediante la prueba de ANOVA de 1 vía, y la diferencia entre sexos se evaluó mediante una prueba de Student. Fueron desarrollados análisis de regresión segmentada para E y TM totales (no normalizados). Las variaciones entre T_a s para T_c , $C_{\text{húmeda}}$, R y cálculos derivados fueron analizadas mediante pruebas de ANOVA de 1 vía. En aquellos casos donde las condiciones de la prueba de ANOVA no se cumplieron, se realizó el análisis no paramétrico correspondiente.

RESULTADOS

PESO CORPORAL

Se detectaron diferencias entre sexos para el peso corporal (P; Student; $t = -2,71$; g.l. = 10; $P = 0,020$). El valor de P promedio fue de $121,24 \pm 8,89 \text{ g}$ para hembras ($n = 7$) y de $142,46 \pm 18,16 \text{ g}$ para machos ($n = 5$). A pesar de ello, no se detectaron diferencias para P entre T_a s (ANOVA de 1 vía; $F_{6,49} = 0,270$; $P = 0,950$).

PÉRDIDA DE AGUA POR EVAPORACIÓN

La tasa de pérdida de agua por evaporación (E) se ajustó a una regresión segmentada, manteniéndose constante a $326 \text{ mg H}_2\text{O/h}$ cuando $T_a < 28,7$, y $E (\text{mg H}_2\text{O/h}) = 17,4 T_a - 173$ para T_a s mayores (ver Fig. 1).

TEMPERATURA CORPORAL, TASA METABÓLICA, CONDUCTANCIA TÉRMICA HÚMEDA Y

COEFICIENTE RESPIRATORIO

La temperatura corporal (T_c) difirió entre T_a s (ANOVA de 1 vía; $F_{6,49} = 7,52$; $P < 0,001$), siendo T_c a $T_a = 35 \text{ °C}$ diferente de lo observado a $5 \text{ °C} < T_a < 25 \text{ °C}$ (Tukey; todos $P = 0,050$; Tabla 1). Al realizar el análisis de regresión segmentada para la TM, se encontró un punto de inflexión en $T_a = 27,2 \text{ °C}$, y se obtuvieron dos ecuaciones de regresión: $TM (\text{ml O}_2/\text{h}) = -7,36 T_a + 319$ y $TM = 119 \text{ ml O}_2/\text{h}$;

por debajo y por arriba del punto de inflexión, respectivamente (ver Fig. 2). El valor de la conductancia húmeda mínima ($C_{\text{húmeda min}}$) fue de $0,078 \pm 0,01 \text{ mlO}_2/\text{g h } ^\circ\text{C}$ debajo de la ZT. Se observaron diferencias en la $C_{\text{húmeda}}$ entre T_a s (ANOVA de 1 vía; $F_{6,49} = 55,92$; $P < 0,001$). Tal como se esperaba, se detectó un incremento de la $C_{\text{húmeda}}$ por encima de la ZT. A $T_a = 35 ^\circ\text{C}$, la $C_{\text{húmeda}}$ fue diferente de lo observado entre $5 ^\circ\text{C}$ y $30 ^\circ\text{C}$ (Tukey; todos $P < 0,001$). Asimismo, la $C_{\text{húmeda}}$ a $T_a = 30 ^\circ\text{C}$ fue diferente de lo observado por debajo de la ZT, excepto a los $25 ^\circ\text{C}$ (Tukey; todos $P < 0,001$; $25 ^\circ\text{C} - 30 ^\circ\text{C}$; $P = 0,19$; Fig. 2). En cuanto a la C_{seca} , ésta fue superior a una $T_a = 35 ^\circ\text{C}$ respecto de lo observado a temperaturas menores (ANOVA de 1 vía; $F_{6,49} = 20,12$; $P < 0,001$; Tukey; todos $P < 0,001$; Fig. 3). El coeficiente respiratorio (R) no difirió entre T_a s (ANOVA; $F_{6,49} = 1,21$; $P = 0,320$; Tabla 1), manteniéndose a un valor constante de $0,88 \pm 0,11$.

OTROS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS

Tanto el agua metabólica (AM) como el $Q_{\text{producido}}$ mostraron el mismo patrón que la TM mínima. Dos ecuaciones diferentes se obtuvieron en cada caso: $\text{AM (mg H}_2\text{O/h)} = -4,56 T_a + 198$ a $T_a < 27,2 ^\circ\text{C}$; $\text{AM} = 73,7 \text{ mgH}_2\text{O/h}$ a $T_a > 27,2 ^\circ\text{C}$; $Q_{\text{producido (cal/h)}} = -36,9 T_a + 1600$ a $T_a < 27,2 ^\circ\text{C}$; $Q_{\text{producido}} = 596 \text{ cal/h}$ a $T_a > 27,2 ^\circ\text{C}$. De la misma manera, Q_{perdido} describió el mismo patrón que E: $Q_{\text{perdido}} = 197 \text{ cal/h}$ a $T_a < 28,7 ^\circ\text{C}$; $Q_{\text{perdido (cal/h)}} = 10,5 T_a - 104$ a $T_a > 28,7 ^\circ\text{C}$. Un indicador de balance hídrico, AM/E , difirió a una $T_a = 35 ^\circ\text{C}$ respecto de $5 ^\circ\text{C}$; $10 ^\circ\text{C}$; $15 ^\circ\text{C}$; y a una $T_a = 30 ^\circ\text{C}$ respecto de $5 ^\circ\text{C}$; $10 ^\circ\text{C}$ (Kruskal-Wallis; $H = 38,36$; g.l. = 6; $P < 0,001$; Dunn; $P < 0,050$). Además, se observaron diferencias para $Q_{\text{perdido}}/Q_{\text{producido}}$ a $T_a = 35 ^\circ\text{C}$ respecto de $5 ^\circ\text{C}$; $10 ^\circ\text{C}$; $15 ^\circ\text{C}$; y a $T_a = 30 ^\circ\text{C}$ respecto de $5 ^\circ\text{C}$; $10 ^\circ\text{C}$ (Kruskal-Wallis; $H = 38,36$; g.l. = 6; $P < 0,001$; Dunn; $P < 0,050$). Los datos se presentan en la Tabla 1.

Efecto de la temperatura ambiental sobre la pérdida de calor por evaporación en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.

Tabla 1. Temperatura corporal (T_c), coeficiente respiratorio (R), y parámetros evaporativos y metabólicos en individuos de *Ctenomys talarum* en función de la temperatura ambiente (T_a). Los valores se expresan como Media \pm DE.

T_a	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
T_c	35,9 \pm 0,6 ^{ab}	35,5 \pm 0,8 ^a	36,0 \pm 0,8 ^{ab}	36,5 \pm 0,3 ^{abc}	36,4 \pm 0,4 ^{ab}	36,5 \pm 0,4 ^{bc}	37,4 \pm 0,8 ^c
R	0,85 \pm 0,09	0,82 \pm 0,05	0,85 \pm 0,13	0,89 \pm 0,07	0,93 \pm 0,08	0,91 \pm 0,17	0,92 \pm 0,08
AM/E	0,54 \pm 0,14 ^a	0,46 \pm 0,15 ^a	0,39 \pm 0,05 ^{ab}	0,33 \pm 0,05 ^{abc}	0,34 \pm 0,16 ^{abc}	0,23 \pm 0,09 ^{bc}	0,18 \pm 0,03 ^c
$Q_{\text{perdido}}/Q_{\text{producido}}$	0,15 \pm 0,03 ^a	0,17 \pm 0,05 ^a	0,19 \pm 0,02 ^{ab}	0,23 \pm 0,04 ^{abc}	0,26 \pm 0,11 ^{abc}	0,38 \pm 0,18 ^{bc}	0,42 \pm 0,07 ^c

AM: producción de agua metabólica (TMB * 0,62 mg H₂O/ml O₂). E: pérdida de agua por evaporación. Q_{perdido} : pérdida de calor por evaporación (E * 0,603 cal/mg H₂O). $Q_{\text{producido}}$: producción de calor (TMB * 5,011 cal/ml O₂). Los valores se expresan como Media \pm DE. Distintas letras indican diferencias significativas entre T_a s ($P < 0,050$).

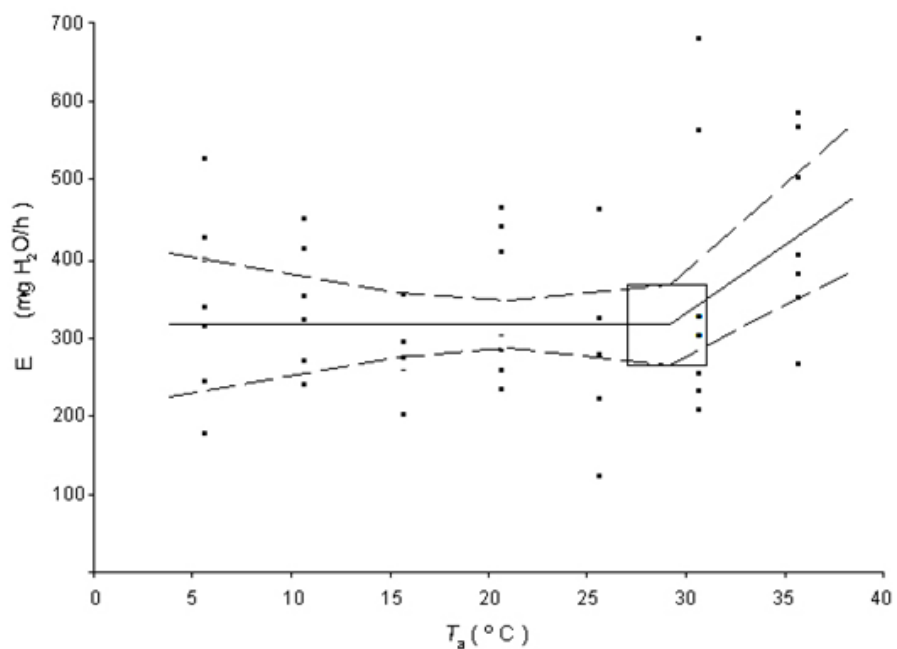


Figura 1. Regresión segmentada para la pérdida de agua por evaporación (E) en función de la T_a , para *Ctenomys talarum*.

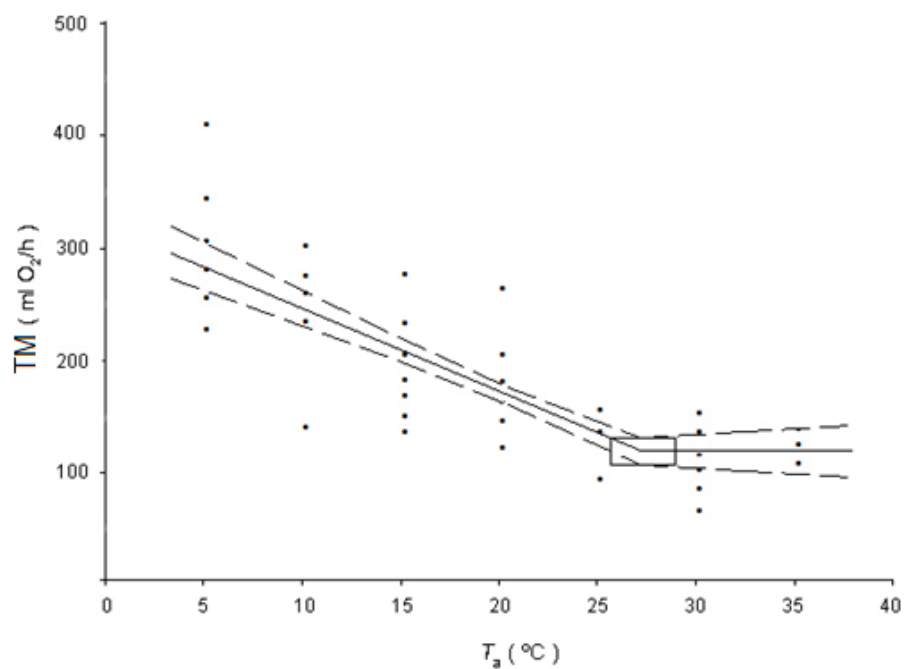
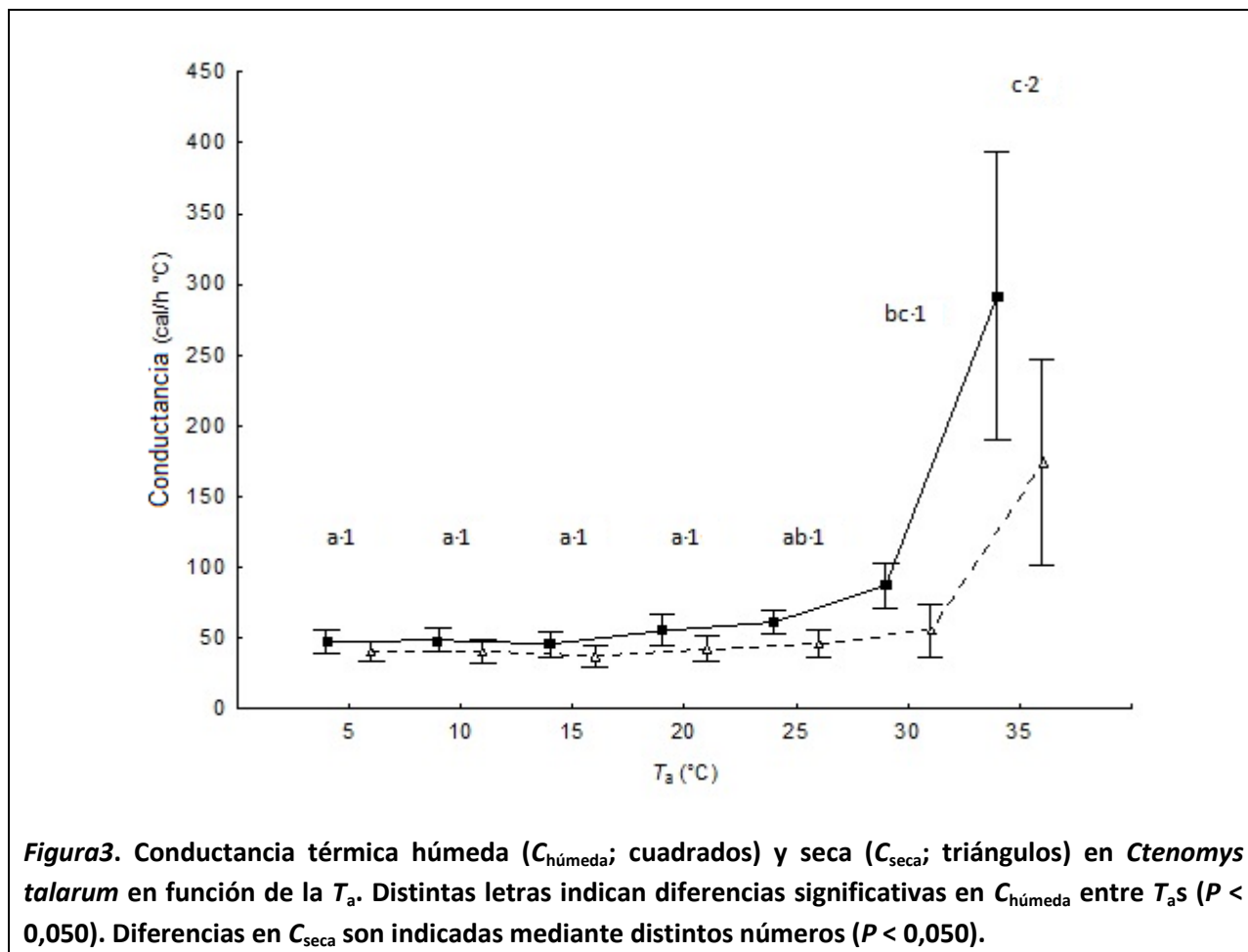


Figura 2. Regresión segmentada para la tasa metabólica (TM) en función de la T_a , para *Ctenomys talarum*.



DISCUSIÓN

Se han llevado a cabo estudios han con el objeto de determinar qué factores contribuyen con la regulación de E (Cortés et al., 1990; Hillenius, 1992; Tracy y Walsberg, 2001b; Cooper y Withers 2014; Withers y Cooper, 2014), debido a su importancia como uno de los principales componentes del presupuesto hídrico y, en consecuencia, a su relevancia a escala ecofisiológica (Tracy y Walsberg, 2001b; Díaz y Cortés, 2003). Además, la E ha sido asociada a la regulación de la T_c , otro proceso relevante al nivel de organismo, el cual puede afectar la estructura del nicho y la distribución de las poblaciones (McNab, 2002; Lovegrove et al., 2013). Es ampliamente conocido que los roedores subterráneos presentan características fisiológicas asociadas a su hábitat, tales como baja TMB y alta conductancia térmica, respecto de roedores de superficie de similar masa corporal. Dichas adaptaciones están relacionadas con la reducción de la probabilidad de sobrecalentamiento durante actividades excavatorias (McNab, 1966; 1979; Luna et al., 2009).

Según Luna y Antinuchi (2007), *Ctenomys talarum* incurre en un costo adicional durante la excavación para disipar el calor producido a altas temperaturas; sin embargo, estos autores no han podido determinar la contribución relativa de la pérdida de calor por evaporación o por conducción. Nuestros resultados sugieren que, en esta especie, la E es una forma efectiva de pérdida de calor a altas T_a s. La pérdida de agua por evaporación a T_a s = 35 °C se incrementa 1,33 veces respecto de la observada entre 5 °C - 25 °C (Fig. 1), existiendo un incremento en la pérdida de calor por evaporación a elevadas T_a s. Además, la temperatura corporal de los individuos de *C. talarum* se mantuvieron dentro de un rango de 35,9 °C a 37,4 °C (desde T_a = 5 °C a T_a = 35 °C, respectivamente). A pesar de que los cambios en T_a afectan T_c , no se alcanza la hipertermia si la temperatura ambiente se mantiene por debajo de los 35 °C. Entonces, a pesar que E aumenta por encima de la ZT, la alta RH dentro de las cuevas representa un desafío para la disipación de calor; en consecuencia, parte de la energía calórica deberá ser almacenada cuando se eleva la T_a (Lovegrove et al., 2013). Se ha observado que en tuco-tucos, los individuos no son capaces de mantener su T_c a niveles normotérmicos a T_a cercanas a los 40 °C (Busch, 1989). Es más, a esta temperatura, ocurre un incremento de un 63% de la TMR, revelando que la disipación de calor es energéticamente costosa (Busch, 1989). Esta posibilidad indica que esta especie no está adaptada a resistir elevados incrementos en la T_a , lo cual es sustentado por el hecho de que *C. talarum* presenta una distribución métrica y templada, y que las cuevas protegen a los individuos de cambios abruptos en la temperatura y la RH (Baudinette, 1972; Baldo et al.; datos no publicados). Sin embargo, el uso extensivo de las cuevas no preserva a los tuco-tucos de encontrar ocasionalmente altas T_a s en superficie, ya que esta especie es activa a lo largo del día y forrajea en superficie (Luna et al., 2000). A pesar de no presentar ritmos circadianos de actividad dentro de las cuevas en el campo (Cutrera et al., 2006), aún se desconoce si estos individuos presentan alguna regularidad en la apertura de entradas a las cuevas, ya sea por alimentación o para la renovación del aire dentro de los túneles. La variación temporal en la activación de trampas de captura y actividades asociadas a la ventilación de las cuevas fue observada a lo largo del día (Antenucci, comunicación personal). Probablemente, el intercambio gaseoso pueda provocar una reducción de la RH en el interior de las cuevas, y en consecuencia, facilitar la E cuando es requerida. Así, la actividad en superficie junto con la ventilación de las cuevas podrían ser comportamientos comunes de disipación de calor.

Por otra parte, la conductancia térmica húmeda aumenta con la T_a con un patrón similar que la E, pero de diferente magnitud. Como fue mencionado antes, la E aumenta ~1,3 veces a T_a = 35°C, pero la $C_{húmeda}$ aumenta aproximadamente 5 veces a la misma temperatura. El incremento de $C_{húmeda}$ por encima de la ZT indica que la componente seca de la pérdida de calor es más importante que el enfriamiento por

evaporación. De hecho, la conductancia térmica seca aumenta ~4 veces a $T_a = 35^\circ\text{C}$ (ver Fig. 3). Las vías no evaporativas de pérdida de calor estarían relacionadas con cambios en la postura, tal como fue observado en especies marsupiales (ej. *Trichosurus vulpecula*, Cooper y Withers, 2008; *Dasyurus geoffroii*, Schmidt et al., 2009). En tuco-tucos se observa una modificación de la postura a altas T_a s: en la cámara de medición, los individuos yacían tendidos con las extremidades extendidas. Así mismo, durante períodos de excavación a altas temperaturas, los tuco-tucos descansan sobre su vientre –caracterizado por pelaje menos denso que el dorsal– (Cutrera et al., 2004), presionándolo contra el sustrato que presenta menor temperatura (Luna y Antinuchi, 2007). Entonces, la pérdida de calor por conducción a través del contacto con el suelo sería la forma no evaporativa más relevante para mantener T_c constante (Baudinette, 1972; Luna y Antinuchi, 2007). Por otro lado, en varias especies se ha observado un aumento en la pérdida de calor por evaporación mediante el esparcimiento de saliva sobre sus pelajes, hocicos o patas (Larcombe et al., 2006; Minnaar et al., 2014). Sin embargo, ninguno de estos comportamientos fueron observados en tuco-tucos a $T_a = 35^\circ\text{C}$, aunque en ciertos casos orinaron y se recostaron sobre el fluido (Luna, observación personal).

Teniendo en cuenta todo, los amplios cambios en la C_{seca} y E se sugiere una fuerte respuesta termorregulatoria a altas T_a s por *C. talarum*. Aún más, se considera que la conducción a través del suelo sería la vía principal de pérdida de calor, lo cual es evidente teniendo en cuenta las características de las cuevas de los tuco-tucos: bajo gradiente de humedad entre el individuo y la atmósfera circundante, lo cual resulta en un potencial evaporativo restringido (Baudinette, 1972; Luna y Antinuchi, 2007). Todos estos mecanismos facilitarían la pérdida de calor, pero al mismo tiempo incrementarían la posibilidad de pérdida de agua. Sin embargo, el comportamiento de ventilación de las cuevas probablemente contribuya a la disipación de calor cuando la E y la conducción no sean suficientes (ver arriba).

La producción de agua endógena ocurre durante las reacciones metabólicas (AM), y consecuentemente, su magnitud depende de la tasa metabólica. La relación entre ganancia y pérdida de agua en el cuerpo es una medida de referencia al evaluar el presupuesto hídrico de las especies. El índice, ampliamente utilizado, de AM/E (MacMillen y Hinds, 1983; Cortés et al., 2000a; Díaz y Cortés, 2003; Zhu et al., 2008) se utiliza como indicador de la capacidad de conservación de agua de cada especie en particular. Teóricamente, existe una T_a a la cual la economía hídrica está balanceada por un equilibrio entre AM y E (MacMillen y Hinds, 1983). En este estudio, los valores para tuco-tucos nunca alcanzaron la unidad (Tabla 1), sino que se mantuvieron por debajo de ~0.60 a todas las T_a s. A pesar de que esta especie no consume agua libre, la baja razón AM/E indica que los organismos requieren de la ingesta de agua exógena para mantener el balance hídrico, especialmente si la T_a se incrementa. De esta manera, se

espera que los individuos requieran de cierto consumo de agua a través de alimentos bien hidratados, especialmente durante períodos en los que la vegetación presenta un menor contenido hídrico (Fanjul et al., 2006). Por otro lado, el balance de $Q_{\text{perdido}}/Q_{\text{producido}}$ se mantiene menor a 1 (aún a alta temperatura: $T_a = 35\text{ °C}$, $Q_{\text{perdido}} = 42\%$ del $Q_{\text{producido}}$, ver Tabla 1). Entonces, como se sugirió previamente, las vías no evaporativas de pérdida de calor son más significativas que la evaporación, aunque la contribución de ésta se incremente con la T_a .

Finalmente, el coeficiente respiratorio es un indicador del tipo de sustrato mayormente utilizado por un individuo en determinadas circunstancias (Schmidt-Nielsen, 1997). En este estudio, detectamos que el R de los tuco-tucos se mantuvo constante a un valor medio de 0,883, como se observó en otros estudios (ver Capítulo 3), sugiriendo que, a todas las T_a s analizadas, se cataboliza una mezcla de sustratos energéticos, principalmente carbohidratos y lípidos (Schmidt-Nielsen, 1997).

En conclusión, la pérdida de agua por evaporación se mantiene baja y prácticamente invariable por debajo de la termoneutralidad, preservando el agua, mientras que no se requiere disipación de calor. Sin embargo, cuando la T_a excede la ZT, la tasa de evaporación se incrementa, pero también lo hace la $C_{\text{húmeda}}$, contribuyendo con la disipación de calor. Sin embargo, se ha demostrado que la C_{seca} es más relevante para este proceso. Además, se ha observado que durante la excavación a altas T_a s (Luna y Antinuchi, 2007), la conducción sería una vía importante de disipación de calor. Así, debido a que las características de las cuevas de los tuco-tucos y su estilo de vida, los mecanismos no evaporativos, y moderadamente, los evaporativos son indispensables para la regulación de T_c , evitando el sobrecalentamiento a altas T_a s.

El desarrollo de estudios sobre estrategias comportamentales relacionadas con la ventilación de cuevas en respuesta a variaciones en RH y temperatura atmosféricas, ayudaría a completar la perspectiva ecofisiológica de este estudio.

CAPÍTULO 3

EFFECTO DE LA ELEVADA HUMEDAD DE LAS CUEVAS SOBRE LA PÉRDIDA DE AGUA POR EVAPORACIÓN Y LOS PARÁMETROS URINARIOS Y PLASMÁTICOS, EN EL ROEDOR SUBTERRÁNEO *CTENOMYS TALARUM*.

INTRODUCCIÓN

Un componente importante del presupuesto hídrico de un organismo es la pérdida de agua por evaporación total (E), y comprende tanto la vía respiratoria como cutánea, contribuyendo esta última con más de un 70% al total (Williams y Tieleman, 2005; Cooper y Withers, 2014). A pesar de que la contribución relativa de ambos puede variar según la especie (Baudinette, 1972; Hillenius, 1992; Williams y Tieleman, 2005; Withers et al., 2012; Minnaar et al., 2014), la E total dependería no sólo de adaptaciones morfológicas y fisiológicas sino que también de variables ambientales. Así la amplia lista de referencias que hasta el momento sustenta que E está determinada básicamente por mecanismos biofísicos está siendo puesta en discusión (Withers y Cooper, 2014), sugiriendo que E puede ser activamente regulada a corto plazo permitiendo hacer frente a condiciones ambientales adversas, y además podría ser modificada por la aclimatación y a lo largo del desarrollo (Tracy y Walsberg, 2001b; Cooper y Withers, 2014; Withers y Cooper, 2014).

La regulación de E sería un proceso complejo, ya que involucra la interacción entre diferentes variables ambientales, como lo son la humedad relativa (RH) y la temperatura ambiente (T_a), mecanismos fisiológicos, como por ejemplo la irrigación y el sistema de contracorriente en el epitelio de los turbinales nasales, y mecanismos comportamentales. Mientras que en ciertas especies la RH y T_a tienen una gran influencia sobre el valor de E (Baudinette, 1972; Zhu et al., 2008; Minnaar et al., 2014), en otras la tasa de evaporación puede ser regulada y mantenida, dentro de un rango, sin variaciones (Cooper y Withers, 2008; Withers y Cooper, 2014). En la zarigüeya australiana *Trichosurus vulpecula*, se observa que E depende de RH y que está directamente relacionada a una T_a de 30 °C pero no a 25 °C, probablemente asociado a la adopción de posturas diferentes (Cooper y Withers, 2008). Este cambio de postura permite un descenso de la E cutánea y genera un microambiente de alta humedad, donde la pérdida de agua por exhalación se reduce (Bintz y Roesbery, 1978). Además, Cooper y Withers (2014) encontraron que *Pseudomys albocinereus* puede controlar E aun cuando los mecanismos termogénicos están al máximo nivel debido a un incremento en la pérdida de calor. Por otra parte, la E contribuye con la pérdida de calor por evaporación, en casos donde la producción de calor excede la posibilidad de

disiparlo por conductancia. Esto depende de la tasa metabólica del individuo, de su temperatura corporal y de la actividad que realice (Huyhn et al., 2007; Zhu et al., 2008).

La eliminación de agua a través de la orina es otra vía importante de pérdida, particularmente en especies que no presentan adaptaciones a nivel renal. Una mayor relación en el espesor de médula/corteza, como un elevado grado de irrigación de las asas de Henle de las nefronas, y aumento en el nivel de expresión de acuaporinas y transportadores iónicos, son indispensables para incrementar la concentración de la orina y, en consecuencia, reabsorber agua e iones o sustratos en déficit (Díaz y Cortés, 2003; Bozinovic y Gallardo, 2006). Así, tanto la regulación a nivel evaporativo como renal son procesos que contribuyen a mantener los niveles plasmáticos en equilibrio, y así la funcionalidad del individuo como un todo.

Las cuevas subterráneas son un medio particular en el cual los organismos viven con una alta humedad relativa y temperatura estables (Burda et al., 2007), siendo un ambiente interesante para determinar el efecto de variables abióticas sobre parámetros fisiológicos relacionados con el balance hídrico, como la concentración de orina y evaporación. En cuanto a mamíferos excavadores, se encontró que en la ardilla de California *Otospermophilus beecheyi*, la humedad ambiental tiene un efecto directo con E pero ningún efecto sobre la tasa metabólica basal (TMB) o la temperatura corporal (T_c). Sin embargo, como el ambiente de la cueva se mantiene estable a pesar de la fluctuación diaria de humedad y T_a en superficie, estos parámetros no afectan significativamente la fisiología de los individuos, sustentando la idea de que las adaptaciones comportamentales tienen un importante rol en la alostasis (Baudinette, 1972). En *C. talarum* se observó una variación temporal en actividades que estarían asociadas a la ventilación de las cuevas a lo largo del día (Antenucci, comunicación personal) y, en consecuencia, al mantenimiento de un microclima estable dentro del nido.

A pesar de que el balance hídrico, y particularmente, E y la capacidad de concentrar la orina han sido ampliamente estudiados en especies de desierto (Schmidt-Nielsen y Schmidt-Nielsen, 1950a; Hinds y MacMillen, 1985; Cortés et al., 2000a; Diaz y Cortés, 2003) y también en algunos mamíferos excavadores (Chew, 1951; Baudinette, 1972), existen pocos trabajos llevados a cabo en especies que habitan túneles cerrados en forma permanente (ver Buffenstein y Yahav 1991, Urison y Buffenstein, 1994), o en especies que viven en sistema de túneles pero experimentan variaciones en RH y T_a durante sus salidas regulares de forrajeo (ver Cortés et al., 2000b).

Así, el objetivo de este capítulo fue evaluar la influencia de la humedad ambiente relativa (RH) sobre la condición fisiológica del roedor subterráneo *Ctenomys talarum*. Particularmente, se pretendió determinar la pérdida de agua por evaporación (E) y parámetros metabólicos asociados, y valores de

*Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.*

osmolaridad y concentración de urea e iones en plasma y orina en tuco-tucos, frente a condiciones contrastantes en la humedad atmosférica. Hipótesis: a) Ante mediciones en aire seco, la E es alta frente a una RH elevada (similar a las cuevas), ya que la especie no presenta estrategias para reducir la pérdida de agua durante la exhalación. b) La E disminuyó al descender la RH, ya que esto compromete el balance hídrico del organismo. c) La aclimatación, al cambio de alta a baja humedad atmosférica, fue más abrupta y duró menos que a la inversa. d) Frente a condiciones de mayor humedad atmosférica se relajaron los mecanismos de concentración de la orina, observándose una menor osmolaridad y concentración de urea e iones en orina de roedores aclimatados a baja humedad ambiente. e) Los tuco-tucos mantuvieron sus niveles plasmáticos relativamente constantes, independientemente de las condiciones de aclimatación, ya que simulaban situaciones naturales (es decir, el microclima de las cuevas -alta humedad- y la atmósfera en superficie -baja humedad-),

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPTURA Y MANTENIMIENTO DE ANIMALES

Se capturaron individuos adultos de *Ctenomys talarum*, en la localidad de Mar de Cobo, Buenos Aires. En todos los casos, se determinó el peso y sexo de los individuos. Se obtuvieron muestras de orina y sangre en el campo. Los animales fueron trasladados de inmediato al bioterio del Departamento de Biología, en la Universidad Nacional de Mar del Plata, donde se los dispuso individualmente en cajas plásticas de 30x40x25 cm, conteniendo un refugio y viruta de madera como sustrato. La temperatura ambiente ($T_a = 25\text{ }^\circ\text{C}$) y el fotoperíodo (L:O 12:12) fueron controlados automáticamente. La alimentación *ad libitum* consistió en una dieta compuesta por batata, achicoria, lechuga, choclo y semillas de girasol. No se proveyó de agua ya que estos organismos no la consumen en forma libre. Se dividieron a los individuos en dos grupos, los cuales se aclimataron a: humedad atmosférica alta (100% RH) o baja (50-60% RH). La aclimatación fue de 20 días, después de la cual se procedió con los experimentos, los cuales consistieron en dos etapas: 1) análisis del efecto de la humedad relativa ambiente sobre la pérdida de agua por evaporación, tasa metabólica de reposo y otros parámetros asociados; 2) determinación del efecto de la humedad ambiente sobre la osmolaridad y contenido de urea e iones en orina y plasma. Para ambas etapas se utilizaron conjuntos diferentes de individuos para evitar posibles efectos de dependencia entre las mediciones. La manipulación de los animales fue llevada a cabo de acuerdo a la guía de captura, manejo y mantenimiento de mamíferos en cautiverio de la Sociedad Americana de Mastozoólogos (Sikes y Gannon, 2011) y leyes actuales de Argentina.

ETAPA 1: EFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE PARÁMETROS RESPIROMÉTRICOS.

Para evaluar el efecto de la humedad relativa (RH) sobre la pérdida de agua por evaporación (E), los individuos capturados fueron asignados al azar a diferentes grupos experimentales. Un grupo fue mantenido por 25 días en una condición de alta humedad (99% RH), mientras que el otro grupo fue mantenido a baja RH (50-60% RH) durante el mismo período. La alta RH representa la condición natural de la atmósfera de las cuevas de *C. talarum* (Baldo, datos no publicados), y una baja RH simula las condiciones atmosféricas de superficie en el ambiente natural de esta especie. Una vez finalizada la aclimatación, se cambió la condición de humedad en los grupos: los animales aclimatados a alta RH se expusieron a baja RH (de ahora en más grupo A→B; n = 7), y los individuos aclimatados a baja RH fueron transferidos a un régimen de alta RH (grupo B→A; n = 7). Se realizaron mediciones de respirometría en el día 0 (correspondiente al día de intercambio de condiciones), 3, 7 y 11. Se realizó una última estimación entre los días 21-30 (día > 21). En todos los casos, se obtuvo el valor de E y tasa metabólica basal (TMB) mediante técnicas respirométricas (Lighton, 2008). Particularmente, la TMB se determinó a través del valor de consumo de O₂, obtenido por un sistema computarizado de respirometría de circuito abierto y presión positiva (Sable System, Las Vegas, USA). Cada animal fue individualmente ubicado en una cámara (1,8 l), de acrílico transparente, que recibía aire a 1,4 l/min controlado por un flujímetro (Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, USA). Previamente a que el aire ingresara a la cámara, se lo hizo circular a través de un absorbente de CO₂ (IQB[®]) y agua (Drierite[®]). El aire excurrente fue submuestreado a 130 ± 10 mL/min para analizar la producción de CO₂ (CA-10, Sable Systems). El flujo principal circuló nuevamente a través de absorbentes de CO₂ y H₂O (IQB[®] y Drierite[®]) antes de alcanzar el analizador de O₂ (FC-1B, Sable Systems). Cada 0,5 segundos, se obtuvo la concentración voltaje-dependiente de CO₂ y O₂ mediante el programa Expedata (Sable Systems). Las líneas de base de los datos de O₂ y CO₂ fueron convertidos a ml para cada gas mediante las ecuaciones estándar para respirometría (Withers, 1977). Las mediciones comenzaron 0,5 a 1 hora después de introducir al individuo en la cámara, de manera que el mismo se tranquilizara y se mantuviera quieto. El consumo de O₂ y producción de CO₂ fueron continuamente monitoreados hasta lograr una lectura estable de 15 min de duración. La tasa de pérdida de agua por evaporación se obtuvo conectando por 30 min, inmediatamente luego del analizador de CO₂, una columna conteniendo absorbente de agua (Drierite[®]). Dicha columna fue pesada antes y después de la conexión, para determinar gravimétricamente la cantidad de agua para estimar posteriormente E (ver Berstein et al., 1977 para la validación de esta técnica en un sistema de respirometría de flujo abierto). La medición se extendió entre 1,5 y 2 horas, dependiendo del tiempo requerido en cada caso. Se descartaron aquellas mediciones durante las cuales

los individuos orinaron y/o defecaron dentro de la cámara. En este caso, se limpió la cámara y se repitió la medición. Debido a que no se ha observado ritmo circadiano en el consumo de oxígeno (Meroi et al., 2014), las mediciones fueron realizadas a lo largo de todo el día. Al finalizar el experimento, se obtuvo el peso corporal utilizando una balanza digital ($\pm 0,01$ g), y la temperatura corporal (T_c), mediante la introducción de 2 cm de sonda en el recto, conectada a un termómetro digital (Cole-Parmer). Se calculó la conductancia térmica mediante $C = TMB / (T_c - T_a)$, ver Seymour et al., 1998. Se obtuvo el valor de la superficie del cuerpo (en cm^2), para relativizar el valor de conductancia térmica. Esto se realizó a partir de la masa corporal, utilizando la ecuación de Meeh (1879) con la constante de Rubner (1883): 10 (masa corporal)^{0,667} (para una descripción detallada ver Walsberg y Wolf, 1995). Para determinar diferencias potenciales en el catabolismo de sustratos, se calculó el cociente respiratorio (R) dividiendo la tasa de producción de CO_2 por la de consumo de O_2 (Schmidt-Nielsen, 1997). Además, se obtuvieron otros parámetros calorimétricos, como la tasa de producción de agua metabólica ($AM = TMB * 0,62$ mg $H_2O/ml O_2$; Schmidt-Nielsen y Schmidt-Nielsen, 1950b; MacMillen y Hinds, 1983), la pérdida de calor por evaporación ($Q_{perdido} = E * 0,603$ cal/mg H_2O ; ver Stitt, 1976; Huynh et al., 2007) y el calor producido ($Q_{producido} = TMB * 5,011$ cal/ml O_2 ; ver Haim et al., 2008).

ETAPA 2: EFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE PARÁMETROS PLASMÁTICOS Y URINARIOS.

Como fue mencionado, para evaluar el efecto de la humedad ambiente sobre la osmolaridad y concentración de iones y urea en plasma y orina, se utilizó un nuevo conjunto de individuos, aclimatados por 20 días, a alta (100% RH) o a baja humedad atmosférica (50-60% RH). Posteriormente, se procedió con la obtención de muestras de orina, la cual consistió en la recolección por micción espontánea. La muestra se almacenó herméticamente y congeló a $-18^\circ \pm 2$ °C, para su posterior análisis. A continuación se obtuvieron las muestras de plasma. Tanto para la extracción de sangre en campo post-captura, como en laboratorio luego de los tratamientos, se anestesió a cada organismo con isoflurano, se lo recostó sobre la mesa de trabajo, y se le extrajo sangre. La técnica consistió en la introducción de un capilar en el seno retroorbital del ojo derecho del individuo, conectado por una sonda a una jeringa de recolección, todo el sistema heparinizado. Se extrajeron entre 0,8 y 1 ml de sangre acorde al tamaño corporal. Para obtener el hematocrito, se cargó con sangre un capilar heparinizado, que se cerró por uno de los extremos y, una vez en el laboratorio, se centrifugó durante 15 minutos en una centrífuga para microhematocrito (Giumelli Z-12-D®) y se leyó en un ábaco de lectura. La sangre sobrante se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos (Minispin, Eppendorf®) y se reservó el plasma (sobrenadante), el cual se congeló a $-18^\circ \pm 2$ °C, hasta su análisis. Tanto las muestras de orina como de plasma fueron enviadas al

Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo Ctenomys talarum.

laboratorio de análisis bioquímico veterinario Farestaie, en la ciudad de Mar del Plata. En ambos casos, se obtuvieron valores de osmolaridad, concentración de sodio, potasio, cloruro y urea.

ESTADÍSTICA

Los datos fueron expresados como media \pm DE. En cuanto a los datos de la etapa 1, se utilizó test de Student para determinar diferencias en el peso corporal entre el día de captura y el día 0, y para cada grupo de individuos antes y después del período de aclimatación. Se utilizó ANCOVA de medidas repetidas para determinar diferencias entre días (efectos dentro de sujetos) y grupos experimentales (A \rightarrow B vs. B \rightarrow A; efecto entre sujetos) para E, TMB, AM, Q_{perdido} y $Q_{\text{producido}}$ entre condiciones experimentales y entre días. En todos los casos se utilizó al peso corporal como covariable. Se realizó un test de ANOVA de medidas repetidas para determinar diferencias en T_c , C, R y los parámetros obtenidos de la combinación de las otras variables (AM/E, $Q_{\text{perdido}}/Q_{\text{producido}}$). Previamente a cada test paramétrico, se evaluaron y confirmaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza.

Para la etapa 2, se utilizó test de Student para determinar si existían diferencias entre años de muestreo (2013-2014), tratamientos (alta-baja RH) y sexos, para osmolaridad, concentraciones de iones y urea en orina y plasma, y para hematocrito. En aquellos casos para los cuales que no se cumplieron los supuestos del test paramétrico, se procedió con el análisis no paramétrico de Mann-Whitney.

RESULTADOS

ETAPA 1: EFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE EVAPORACIÓN, METABOLISMO Y PARÁMETROS ASOCIADOS.

El peso corporal no presentó variaciones entre el día de captura y el día 0 de experimentación (Student, $t_{13} = -1,07$; $P = 0,31$), ni los individuos del grupo B \rightarrow A al finalizar el período de aclimatación ($t_6 = -1,62$; $P = 0,16$). Sin embargo, se observó un incremento en el peso corporal de los individuos del grupo A \rightarrow B luego del período de aclimatación ($146,10 \pm 6,61$ g a $169,12 \pm 6,40$ g; Student; $t_6 = -7,01$; $P < 0,01$).

La pérdida de agua por evaporación fue similar entre condiciones (ANCOVA de medidas repetidas; $F_{1,7} = 1,19$; $P = 0,31$), entre días de experimentación ($F_{4,24} = 1,64$; $P = 0,19$), así como para las interacciones ($F_{4,24} = 0,77$; $P = 0,56$; ver Tabla 1).

No se detectaron diferencias para la TMB entre grupos (ANCOVA de medidas repetidas; $F_{1,7} < 0,01$; $P = 0,98$) entre días ($F_{4,28} = 0,42$; $P = 0,80$) ni para la interacción ($F_{4,28} = 0,38$; $P = 0,82$), similar a lo que ocurrió con la conductancia térmica (ANOVA de medidas repetidas; entre condiciones $F_{1,12} = 0,71$; $P = 0,42$; entre días $F_{4,48} = 1,07$; $P = 0,38$; para la interacción $F_{4,48} = 1,95$; $P = 0,12$). La temperatura corporal

Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo Ctenomys talarum.

fue diferente entre condiciones experimentales (ANOVA de medidas repetidas; $F_{1,12} = 11,22$; $P = 0,01$), pero no entre días o la interacción ($F_{4,48} = 2,06$; $P = 0,11$; $F_{4,48} = 0,68$; $P = 0,59$; respectivamente). El cociente respiratorio también fue diferente entre grupos experimentales (ANOVA de medidas repetidas; $F_{1,12} = 17,09$; $P = 0,01$), pero no entre días ni su interacción ($F_{4,48} = 0,83$; $P = 0,51$; $F_{4,48} = 0,38$; $P = 0,82$; respectivamente). Ver Tabla 1.

En cuanto al resto de las variables, ninguna fue afectada por el régimen de humedad ni el período de aclimatación. Así, fueron obtenidos valores similares para AM entre días y condiciones experimentales (ANCOVA de medidas repetidas; condición $F_{1,7} < 0,01$; $P = 0,99$; día $F_{4,28} = 0,36$; $P = 0,84$; interacción $F_{4,28} = 0,41$; $P = 0,80$), $Q_{\text{producido}}$ (condición $F_{1,7} = 0,03$; $P = 0,87$; día $F_{4,28} = 0,31$; $P = 0,87$; interacción $F_{4,28} = 0,71$; $P = 0,59$), y Q_{perdido} (condición $F_{1,7} = 1,19$; $P = 0,31$; día $F_{4,28} = 1,64$; $P = 0,19$; interacción $F_{4,28} = 0,77$; $P = 0,56$; Tabla 1). Las proporciones calculadas difirieron sólo entre ciertos días (ANOVA de medidas repetidas; AM/E $F_{1,12} = 0,06$; $P = 0,82$; días $F_{4,48} = 3,21$; $P = 0,02$; interacción $F_{4,48} = 1,59$; $P = 1,19$; $Q_{\text{perdido}}/Q_{\text{producido}}$ $F_{1,12} = 0,27$; $P = 0,61$; día $F_{4,48} = 3,81$; $P = 0,01$; interacción $F_{4,48} = 2,59$; $P = 0,05$; Tabla 2).

Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.

Tabla 1. Pérdida de agua por evaporación (E), tasa metabólica basal (TMB), cociente respiratorio (R), temperatura corporal (T_c), y conductancia térmica (C) en individuos de *Ctenomys talarum* para ambos grupos experimentales: A→B (aclimatados a alta humedad ambiente y transferidos a un régimen de baja RH) y B→A (aclimatados a baja RH y transferidos a un régimen de alta humedad ambiente). Los valores se expresan como Media \pm DE.

		Día 0	Día 3	Día 7	Día 11	Día >21
Peso corporal (g)	A→B	146,1 \pm 17,51	150,46 \pm 18,10	155,31 \pm 18,52	161,44 \pm 18,93	169,12 \pm 16,94
	B→A	162,41 \pm 29,21	160,71 \pm 27,25	159,35 \pm 29,32	164,43 \pm 27,75	167,61 \pm 27,35
E (mg H ₂ O/h)	A→B	668,61 \pm 286,55	493,63 \pm 221,62	454,18 \pm 257,14	373,98 \pm 35,57	527,06 \pm 165,61
	B→A	451,97 \pm 208,94	614,68 \pm 126,83	452,78 \pm 198,18	486,90 \pm 141,57	389,80 \pm 99,97
TMB (mL O ₂ /h)	A→B	140,21 \pm 23,34	122,40 \pm 26,72	148,01 \pm 15,63	141,48 \pm 22,03	153,70 \pm 22,29
	B→A	135,36 \pm 18,42	140,50 \pm 28,13	144,72 \pm 29,28	151,13 \pm 11,95	148,30 \pm 15,37
R*	A→B	0,92 \pm 0,07	0,90 \pm 0,07	0,96 \pm 0,11	0,97 \pm 0,09	0,92 \pm 0,01
	B→A	0,86 \pm 0,12	0,82 \pm 0,08	0,83 \pm 0,07	0,88 \pm 0,01	0,87 \pm 0,01
T_c (°C)*	A→B	35,9 \pm 0,4	35,9 \pm 0,4	36,0 \pm 0,5	35,8 \pm 0,4	35,6 \pm 0,3
	B→A	35,5 \pm 0,6	35,1 \pm 0,4	35,0 \pm 0,7	35,0 \pm 0,8	34,9 \pm 0,9
C (mL O ₂ /°C h)	A→B	12,90 \pm 2,28	11,36 \pm 2,31	13,47 \pm 1,07	13,12 \pm 2,06	14,58 \pm 1,97
		(270,85 \pm 40,08) ¹	(234,88 \pm 49,40)	(272,22 \pm 19,01)	(257,24 \pm 31,62)	(278,63 \pm 40,73)
	B→A	12,99 \pm 2,14	13,93 \pm 2,39	14,42 \pm 2,85	15,12 \pm 0,97	15,07 \pm 1,60
		(256,68 \pm 44,76)	(277,85 \pm 54,71)	(287,43 \pm 48,95)	(297,52 \pm 42,65)	(291,24 \pm 36,08)

* T_c y R fueron diferentes sólo entre grupos experimentales (ambos, P = 0,01; ver Resultados). ¹entre paréntesis, conductancia térmica mínima (en W/°C cm²) estimada en función de la superficie corporal (ver Materiales y métodos).

*Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.*

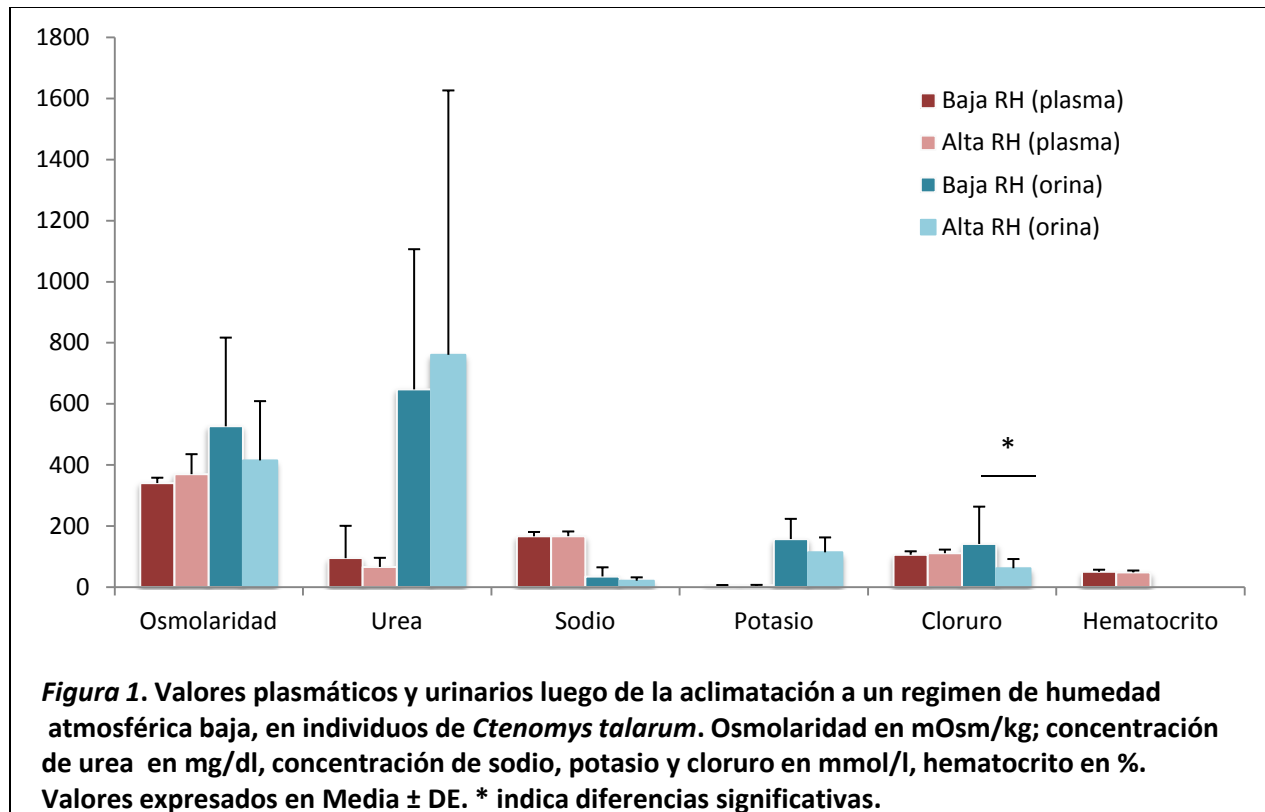
Tabla 2. Parámetros evaporativos y metabólicos estimados en individuos de *Ctenomys talarum* para ambos grupos experimentales: A→B (aclimatados a alta humedad ambiente y transferidos a un régimen de baja RH) y B→A (aclimatados a baja RH y transferidos a un régimen de alta humedad ambiente). AM: producción de agua metabólica (TMB * 0,62 mg H₂O/ml O₂). Q_{producido}: calor producido (TMB* 5,011 cal/ml O₂). Q_{perdido}: calor perdido por evaporación (E * 0,603 cal/mg H₂O). Los valores se expresan como Media ± DE.

		Día 0	Día 3	Día 7	Día 11	Día >21
AM (mg H₂O/h)	A→B	86,93 ± 14,47	76,73 ± 16,76	91,76 ± 9,69	87,71 ± 13,66	95,29 ± 13,82
	B→A	83,92 ± 11,42	87,11 ± 17,44	89,73 ± 18,15	93,70 ± 7,41	91,95 ± 9,53
AM/E	A→B	0,16 ± 0,09	0,17 ± 0,05	0,26 ± 0,14	0,24 ± 0,05	0,20 ± 0,08
	B→A	0,22 ± 0,09	0,15 ± 0,06	0,23 ± 0,11	0,21 ± 0,07	0,25 ± 0,06
Q_{producido} (cal/h)	A→B	702,51 ± 116,93	620,12 ± 135,43	741,58 ± 78,32	708,87 ± 110,36	770,10 ± 111,70
	B→A	678,22 ± 92,30	703,97 ± 140,95	725,13 ± 146,69	757,21 ± 59,85	743,05 ± 77,04
Q_{perdido} (cal/h)	A→B	403,1 ± 172,76	297,6 ± 133,61	273,82 ± 155,02	225,47 ± 21,44	317,76 ± 99,85
	B→A	272,49 ± 125,97	370,58 ± 76,46	272,98 ± 119,48	293,55 ± 85,35	235,01 ± 60,27
Q_{perdido} / Q_{producido}	A→B	0,59 ± 0,26	0,48 ± 0,19	0,36 ± 0,19	0,33 ± 0,08	0,42 ± 0,15
	B→A	0,41 ± 0,02	0,55 ± 0,14	0,39 ± 0,19	0,39 ± 0,11	0,31 ± 0,07

ETAPA 2: EFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE VALORES URINARIOS Y PLASMÁTICOS.

No se detectó efecto de la aclimatación a alta y baja humedad ambiente a nivel plasmático para osmolaridad, sodio, potasio, cloruro y hematocrito ($P > 0,05$ en todos los casos; ver Figura 1), pero sí se detectó diferencias en la concentración de cloruro en orina entre tratamientos (Mann-Whitney; $U = 156,00$; $T = 159,00$; n (menor)= 14; n (mayor)= 15; $P = 0,028$), no así para el resto de los parámetros evaluados ($P > 0,05$). Se detectaron diferencias en plasma antes y después de los tratamientos en el hematocrito (Mann-Whitney; $U = 992,00$; $T = 806,00$; n (menor)= 31; n (mayor)= 42; $P < 0,001$), siendo mayor en los valores de cautiverio respecto de los de campo ($48,83 \pm 6,53$ % vs $45,77 \pm 3,02$ %).

Se observaron diferencias marginales entre sexos para urea plasmática en condiciones naturales (Student; $t = -2,076$; g.l. = 35; $P = 0,045$), pero valores similares para el resto de los parámetros ($P > 0,05$; en todos los casos). A su vez, se detectaron diferencias entre los años de muestreo para osmolaridad, sodio y cloruro en plasma en campo (Mann-Whitney; osmolaridad $U = 0,00$; $T = 427,00$; n (menor)= 14; n (mayor)= 23; $P < 0,001$; sodio $U = 0,000$; $T = 480,00$; n (menor)= 15; n (mayor)= 24; $P < 0,001$; cloruro $U = 4,50$; $T = 475,50$; n (menor)= 15; n (mayor)= 24; $P < 0,001$) y en cautiverio (Mann-Whitney; osmolaridad $U = 2,00$; $T = 128,00$; n (menor)= 5; n (mayor)= 23; $P < 0,001$; sodio $U = 9,00$; $T = 381,00$; n (menor)= 13; n (mayor)= 23; $P < 0,001$; cloruro Student, $t = 5,81$; g.l. = 34; $P < 0,001$), independientemente del tratamiento ($P > 0,05$). Los valores de osmolaridad, sodio y cloruro fueron mayores en el 2013, que al año siguiente (osmolaridad: $449,20 \pm 65,25$ vs $337,261 \pm 15,12$ mOsm/Kg; sodio: $180,54 \pm 15,35$ vs $158,61 \pm 5,37$ mmol/l; cloruro: $119,46 \pm 10,49$ vs $102,56 \pm 6,96$ mmol/l). No se observaron diferencias para el resto de las variables plasmáticas, ni urinarias, entre años ($P > 0,05$).



DISCUSIÓN

Las vías más importantes de pérdida de agua, tanto la pulmocutánea (E) como la renal, han sido estudiadas ampliamente en diversos mamíferos, particularmente en roedores de desierto (Díaz y Cortés, 2003). La contribución de cada vía depende de la especie, las estrategias de las que dispone para conservar el agua, y de su ambiente. Sin embargo, la E es la principal forma de pérdida de calor, particularmente en especies que viven en ambientes cálidos y secos (Tracy y Walsberg, 2002), y caracterizadas por una alta proporción superficie/volumen (Chew, 1951; Cortés et al., 2000a). Sin embargo, aquellos animales que viven en ambientes húmedos también presentarían adaptaciones que previenen la pérdida de agua. A pesar de que la E es superior que en especies de climas extremos, quienes presentan adaptaciones especiales para evitar la pérdida de agua (Cortés et al., 2000a; Tracy y Walsberg, 2002), las especies húmedas también presentan mecanismos que regulan la evaporación que permiten mantener el balance hídrico (Tracy y Walsberg, 2001b; Bozinovic et al., 2011), aun teniendo en cuenta su masa corporal y filogenia. Así, la pérdida de agua por evaporación es un carácter limitado por características ambientales, que muestra una baja señal filogenética (Van Sant et al., 2012).

En el caso del roedor subterráneo *Ctenomys talarum*, quien habita cuevas saturadas de vapor de agua, y que difieren ampliamente respecto de las condiciones externas, se encontró que su E total es

independiente de la RH ambiente. Así, el efecto de cambiar la humedad atmosférica no sería suficiente para desencadenar un ajuste en la tasa de evaporación, o dentro de cierto rango, la pérdida de agua por evaporación estaría estrictamente controlada fisiológicamente. La estabilidad de la TMB, condicionada por la tasa de producción de calor, resulta en una baja tasa de evaporación, que contribuye con el presupuesto hídrico. Valores constantes de E fueron observados en otros mamíferos y no sería un proceso pasivo (Cooper y Withers, 2014). Además, la independencia de E respecto de la diferencia en la presión de vapor de agua entre el individuo y el ambiente sería más común en endotermos de lo que se ha supuesto (Withers y Cooper, 2014).

Un componente de la E es la pérdida de agua por respiración y depende, no solo pero en gran medida, del gradiente de la presión de vapor de agua entre los individuos y la atmósfera circundante (Gates, 2012). En el caso de los tuco-tucos, el pequeño gradiente atmosférico dentro de las cuevas prevendría la evaporación ya que, a pesar de exhalar aire cargado de agua, el aire inhalado también es altamente húmedo. Entonces, se espera que dentro de las cuevas ocurra una baja pérdida de agua corporal en cada ciclo respiratorio, y así, se favorezca la conservación de agua. De esta manera, estrategias comportamentales, tales como vivir dentro de una cueva cerrada, puede ser suficiente para reducir la E (Chew, 1951; Gettinger, 1984; Cooper y Withers, 2008; Gates, 2012). Por otro lado, los individuos encuentran una gran variación en la presión de vapor de agua respecto de la superficie, cuando salen para forrajear, dispersarse o reproducirse. Sin embargo, en este estudio no detectamos variaciones en E para individuos aclimatados a humedades ambientales contrastantes durante mediciones en aire seco. En este contexto sería importante, en futuros estudios, medir tasas de evaporación bajo flujos de aire saturados de vapor de agua, y así extrapolar estos valores a lo que ocurre en condiciones naturales (en cuevas). Aún así, la medición en aire seco permitió evidenciar la estabilidad de E en ambas condiciones de aclimatación, frente a la situación más extrema posible donde la humedad atmosférica es nula.

Se han desarrollado indicadores de la eficiencia de regulación del agua corporal, algunos de ellos asociados a adaptaciones a nivel renal (Bozinovic y Gallardo, 2006). A nivel morfológico, la razón entre el espesor de médula/corteza ó ecuaciones que involucren espesor medular respecto del volumen del riñón, sugieren cierta capacidad de concentración urinaria (Díaz y Cortés, 2003). De hecho, se ha demostrado que el grosor medular y la masa renal, corregidos por la masa corporal, están relacionados con las características del hábitat, se correlacionan positivamente con la concentración urinaria, y presentan señal filogenética (Al-kahtani et al., 2004). Si bien se ha observado que especies de *Ctenomys* de ambientes xéricos presentan una alta relación entre el espesor medular y volumen renal en función de su peso corporal (Díaz y Cortés, 2003), el índice médula/corteza para *C. talarum* es de $M/C=2,3$

Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo Ctenomys talarum.

(Lauria De Cidre, 1974), similar al de *Ctenomys opimus* y menor al de *Ctenomys eremophylus* y *Ctenomys fulvus* (<50%; Díaz y Cortés, 2003). Así también, la concentración de orina en *C. talarum* (ver Resultados, y en Capítulos 1), en condiciones no extremas es de 1/3 a 1/4 de la de *C. eremophylus* (Díaz, 2001), pero se han obtenido valores similares en situaciones puntuales, incluyendo la modificación en la dieta (ver Capítulos 1 y 4). Particularmente, en este estudio no se detectaron diferencias en los niveles de concentración urinaria ni en sus niveles de urea, sodio y potasio bajo la aclimatación a humedades ambientales contrastantes. Sin embargo, se observó una diferencia en la concentración de cloruro en orina. Considerando que los valores plasmáticos no variaron entre condiciones, y que *C. talarum* es capaz de modificar la osmolaridad urinaria (ver Capítulos 1 y 4), las condiciones ambientales naturales no representan un desafío para esta especie.

Además, otros indicadores del nivel de regulación hídrica fueron desarrollados a nivel respiratorio y metabólico (ver Bozinovic y Gallardo, 2006). MacMillen y Hinds (1983) propusieron la proporción AM/E como un indicador fisiológico de la eficiencia en la regulación del agua, sugiriendo que existe una T_a a la cual un individuo puede sobrevivir bajo una dieta seca y sin provisión de agua exógena, y ésta se corresponde con aquella a la cual $AM/E = 1$. En este estudio, se evaluó este parámetro bajo termoneutralidad ($T_a = 25$ °C; Busch, 1989), obteniéndose un valor reducido (0,16 – 0,22 para individuos aclimatados a alta y baja RH respectivamente, al día 0. Ver Tabla 2). Es más, para tuco-tucos no existe una T_a a la cual la razón alcance la unidad (ver Capítulo 2). Entonces, a pesar de que estos individuos no consumen agua libre, se espera que requieran cierto nivel de consumo de alimentos hidratados para mantener el balance hídrico, y que aumenten el consumo de biomasa durante aquellos períodos en los que la vegetación baje su contenido de agua (Fanjul et al., 2006).

La pérdida de agua por evaporación depende tanto de la humedad como el gradiente térmico entre los individuos y la atmósfera circundante (Edwards y Haines, 1978), y es una de las vías de disipación de calor. De esta manera, la pérdida de calor por evaporación ($Q_{perdido}$) es uno de los componentes de la conductancia térmica, la cual es una medida del intercambio de calor y depende no sólo de las características del individuo, como TMB y T_c , pero también de las condiciones ambientales (MacNab, 1966). Al igual que otros roedores subterráneos, *Ctenomys talarum*, se caracteriza por una baja tasa metabólica, y consecuente baja tasa de producción de calor, y una alta conductancia térmica en comparación con roedores de superficie de masa corporal similar (MacNab, 1966; ver Luna et al, 2009). En este estudio no se detectó variación en la TMB entre condiciones experimentales o días, lo que sugiere que la RH ambiental no tendría efecto sobre el costo mínimo, tal como ocurre en otros roedores (Baudinette, 1972; Edwards y Haines, 1978). Sin embargo, se observó que R y T_c difirieron entre

tratamientos, siendo mayor para el grupo A→B en ambos casos (ver Tabla 1). El cociente respiratorio es un indicador del tipo de sustrato energético principalmente utilizado por un individuo (Schmidt-Nielsen, 1975). A pesar de las diferencias observadas, ambos grupos usarían glúcidos como fuente principal ($0,82 \leq R \leq 0,96$). Sin embargo, debido a que $R < 1$, otros sustratos también están siendo metabolizados. Son necesarios más estudios para determinar su naturaleza y nivel de contribución (Schmidt-Nielsen y Schmidt-Nielsen, 1950b), principalmente para el grupo B→A, el cual presenta el menor valor de R, y para el cual la oxidación de lípidos podría estar proveyendo de una mayor cantidad de agua y calor. Sin embargo, estas diferencias en R podrían ser consecuencia de la disparidad en el peso corporal de los grupos, reflejándose en un uso diferencial de sustratos, y no resultado de la condición en la humedad ambiente.

Con respecto a T_c , mientras otros estudios no han encontrado variación relacionada con la RH ambiente (Baudinette, 1972; Edwards y Haines, 1978), otros han detectado una leve correlación (Kay, 1975). En *Dasykaluta rosamondae* se observó independencia de T_c , y de E, a T_a s dentro del rango de termoneutralidad. Entonces, el agua es conservada a bajas RH y T_a , ya que no serían necesarios ajustes en la cantidad de calor perdido para mantener una constancia térmica. Sin embargo, la T_b aumentó frente a una RH > 80%, demostrando termolabilidad (Withers y Cooper, 2014). Para tuco-tucos se observó el mismo patrón: valores superiores en T_c para el grupo aclimatado a alta RH. A pesar de que la E total no mostró variaciones, se asume que la reducida capacidad de disipación de calor a través de la evaporación frente a una alta presión de vapor, resultaría en una elevación de la T_b (Edwards y Haines, 1978).

Finalmente, es importante estandarizar mediciones para poder realizar comparaciones interespecíficas, pero también sería necesario representar las condiciones naturales del ambiente del organismo, para poder extrapolar a lo que ocurre en condiciones silvestres, y lograr detectar cuáles son los desafíos que los individuos enfrentan. En muchos estudios, los valores de E han sido obtenidos en aire seco y sin considerar las condiciones naturales del individuo, ya sea si el animal habita un ambiente méxico o xérico, o si permanece en superficie o es subterráneo. Así, si comparamos la E para tuco-tucos con el valor obtenido por las ecuaciones alométricas estándar para roedores de ambientes xéricos y méxicos (ver Cortés et al., 2000a), encontramos un valor mucho mayor al esperado (ver Tabla 3). Este mismo patrón fue observado en otros roedores subterráneos, tal como *Thomomys bottae* (ver Tabla 3). Sin embargo, la E para *C. talarum* es diferente a la de otros roedores fosoriales, como *Heterocephalus glaber* (ver Tabla 3). Esto puede estar asociado a una diferencia en el comportamiento de ambas especies: mientras que la rata topo es un roedor fosorial estricto, los tuco-tucos se exponen a cambios

Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo Ctenomys talarum.

importantes a la RH cuando salen a superficie, con lo que podrían presentar un mayor control de sus mecanismos evaporativos y así mantener reducida la pérdida de agua, respecto de lo que ocurre en *H. glaber*.

En conclusión, se sugiere que los tuco-tucos logran su balance hídrico ya que son capaces de mantener sus niveles plasmáticos de osmolaridad y concentración de iones, independientemente de la RH atmosférica. A su vez, se demostró que *C. talarum* puede mantener la tasa de evaporación total independientemente de la condición de humedad ambiente. A pesar del tiempo que esta especie naturalmente se encuentra fuera de su cueva (Luna et al., 2000; Vassallo, 2006), y de los cambios atmosféricos que por ello experimenta, la capacidad de estabilizar la tasa de evaporación estaría asociada a la adaptación a ambientes secos a través de su reducción al mínimo posible. En relación a esto, se ha propuesto el surgimiento de la fosorialidad como un mecanismo de supervivencia frente a un incremento en la aridez (Nevo, 1979). Sin embargo, otros estudios son necesarios para evaluar la variación fenotípica intraespecífica a lo largo de un gradiente ambiental (Tracy y Walsberg, 2001a; 2001b; Bozinovic et al., 2011; Díaz y Cortés, 2003).

Efecto de la elevada humedad de las cuevas sobre la pérdida de agua por evaporación y los parámetros urinarios y plasmáticos, en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.

Tabla 3. Datos para pérdida de agua por evaporación (E) para roedores subterráneos. Los valores esperados de E para especies xéricas (^aE = $5,97 M^{-0,416}$) y méxicas (^bE = $17,27 M^{-0,532}$) fueron calculados utilizando ecuaciones alométricas obtenidas por Cortés et al. (2000a).

Especies	Aclimatación a	Condiciones de medición	E medido (mg H ₂ O/gh)	^a E (xéricos)	^b E (mésicos)	Referencias
<i>Ctenomys talarum</i>	99% RH, 25 °C *	Aire seco, 25 °C	4,55 ± 0,64	0,75	1,22	1
<i>Ctenomys talarum</i>	50-60% RH, 25 °C	Aire seco, 25 °C	2,80 ± 0,42	0,72	1,16	1
<i>Ctenomys opimus</i>	Desconocida	RH desconocida, 10-25 °C	1,56	0,60	0,92	2
<i>Ctenomys fulvus</i>	60% RH, 21 °C *	60% RH, 10-25 °C	1,26	0,61	0,94	3
<i>Heterocephalus glaber</i>	70-80% RH, 30 °C *	50-60% RH, 31-34 °C	16,59	1,25	2,34	4
<i>Thomomys bottae</i>	RH desconocida, 24-31 °C	RH desconocida, 27,5 °C	4,30	0,86	1,45	5

*Condiciones similares a las de la atmósfera de las cuevas. Referencias: ¹Este estudio; ²Diaz y Cortes (2003); ³Cortes et al. (2000b); ⁴Buffenstein y Yahav (1991); ⁵Gettinger (1984).

CAPÍTULO 4

EFFECTO DE LA DIETA SOBRE EL BALANCE HIDROSALINO EN EL ROEDOR SUBTERRÁNEO *CTENOMYS TALARUM*.

INTRODUCCIÓN

En organismos cuyo balance hidrosalino está limitado ya sea por la disponibilidad de agua o por características fisiológicas o comportamentales adquiridas a lo largo de su historia evolutiva, la abundancia, calidad y diversidad de la dieta son factores fundamentales para el presupuesto y el mantenimiento de dicho balance (Díaz y Cortés, 2003; Fanjul et al., 2006; del Valle et al., 2006). A su vez, las especies que presentan selectividad sobre la dieta y/o que consumen agua sólo a través de los alimentos se pueden ver más afectadas frente a cambios ambientales que limitan la disponibilidad de agua. Por ello, se espera que estas especies presenten cierta capacidad de regular la pérdida de agua mediante distintas vías, como lo son la evapotranspiración, la orina, y las heces (Bozinovic y Gallardo, 2006).

En el caso de los roedores subterráneos, si bien se espera que la pérdida de agua por evaporación (E) esté restringida por su origen evolutivo en ambientes áridos y favorecida por la alta humedad de sus cuevas (McNab, 1966), se ha encontrado tasas diferentes según la especie (ver Capítulo 3; Díaz y Cortes, 2003; Cortés et al., 2000a; Buffenstein y Yahav, 1991; Gettinger, 1984). A su vez, especies como *Dipodomys merriami* han mostrado ajustes en E bajo condiciones de restricción hídrica (Tracy y Walsberg, 2001b).

En cuanto a la capacidad de concentrar la orina y así reducir la pérdida de agua por esta vía, existe una alta influencia de la filogenia y del ambiente (Al-kahtani et al., 2004), y también es un carácter que presenta gran plasticidad cuando se evalúa bajo condiciones contrastantes de alimentación (Gallardo et al., 2005; Yahav et al., 1990; Urison y Buffenstein, 1994). Sin embargo, esto depende de la especie y las condiciones a las que los individuos se exponen (Ntshotsho et al., 2004). De la misma manera, se observan diferencias en la capacidad de reabsorción del agua contenida en las heces (ver Tracy y Walsberg, 2001a).

En capítulos anteriores se reportó variación estacional en E y en la concentración de orina para *Ctenomys talarum* (Capítulo 1), y modificación de la evaporación en función de la temperatura ambiente (Capítulo 2), mientras que la humedad ambiente en general no tuvo efectos sobre

parámetros urinarios ni E (Capítulo 3). Sin embargo, otro factor que se modifica a lo largo de las estaciones es la dieta (ver Capítulo 1), y se espera que tenga efectos sobre el equilibrio hidrosalino y/o su ajuste. Mas aún, por habitar y alimentarse de pastizales costeros, la dieta de *C. talarum* estaría afectada por la salinidad extra proveniente del rocío marino generado por el efecto del viento sobre el mar. Así, el objetivo de este capítulo fue evaluar aspectos del balance hidrosalino en *Ctenomys talarum*, en respuesta a variaciones en la dieta. Particularmente, se evaluó pérdida de agua por evaporación, heces y orina frente a la administración del pasto *Panicum racemosum*, con distinto contenido de sales y agua. Además, se evaluó osmolaridad y contenido de iones y urea en plasma y orina frente a los distintos tratamientos. También se comparó la tasa de filtrado glomerular, y se analizó el hematocrito y glucemia de los individuos al final del período de experimentación. Hipótesis: a) Los individuos bajo dieta restringida en agua y dieta con sobrecarga de sales presentaron un menor grado de hidratación, mayor osmolaridad y concentración de iones en orina, y una menor tasa de filtrado glomerular, respecto de individuos sometidos a dieta con mayor contenido de agua. b) Organismos bajo restricción hídrica mostraron una menor tasa de evaporación, y una mayor producción de agua metabólica. c) Debido a que los tratamientos simulaban las condiciones naturales más extremas a las que están expuestos, los individuos fueron capaces de osmorregular y mantener su condición fisiológica, reflejando similares valores plasmáticos independientemente del tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPTURA Y ACLIMATACIÓN

Se capturaron 40 individuos adultos de *Ctenomys talarum*, en la localidad de Mar de Cobo, Buenos Aires. Los mismos fueron trasladados de inmediato al bioterio del Departamento de Biología, en la Universidad Nacional de Mar del Plata, donde se los dispuso individualmente en cajas plásticas de 30x40x25 cm (“caja nido”), conteniendo un refugio y viruta de madera húmeda, las que fueron limpiadas regularmente. Los individuos fueron mantenidos a una temperatura ambiente (T_a) de 25 °C, humedad ambiente relativa (RH) del 100% y un régimen de L:O 12:12. El período de aclimatación se extendió 7 días, durante los cuales los individuos fueron alimentados *ad libitum* con una dieta compuesta por *Panicum racemosum*, batata, achicoria, lechuga, choclo y semillas de girasol. No se ofreció agua ya que estos organismos no la consumen en forma libre, sino que a través de los alimentos.

TRATAMIENTOS

A partir del 8vo día de la captura (ver Figura 1), los individuos de *C. talarum* fueron divididos en 4 grupos, los cuales fueron alimentados exclusivamente con *P. racemosum*, proveniente de los médanos de Mar de Cobo, lavado con agua corriente y destilada, y secado en su superficie por evaporación, de manera de eliminar las sales superficiales. Según el tratamiento, el pasto “base” descripto fue procesado diferencialmente: tratamiento 1 (T1), pasto base deshidratado (con 25-30% del peso en agua, similar al mínimo determinado en campo, Fanjul et al., 2006); tratamiento 2 (T2), pasto base sin procesar (contenido de agua de un 60-70%); tratamiento 3 (T3), pasto base rociado con agua destilada (contenido de agua de un 70-80%); tratamiento 4 (T4), pasto base rociado con agua de mar (contenido de agua de un 70-80% + sales, simulando el efecto del rocío marino).



Figura 1. Cronograma de la experimentación.

De manera de controlar el estado de hidratación de la ración de pasto ofrecida, se realizaron pruebas en las que se determinó que existía una constancia en el contenido hídrico de *P. racemosum* por 12 horas consecutivas. De esta manera para poder asegurar el contenido de agua del alimento, los individuos fueron alimentados cada 12 horas, retirando todo excedente de pasto de la ración anterior. Además, a modo de control de deshidratación dentro de las cajas nido de cada individuo, se introdujo una porción del mismo pasto, envuelta en rejilla metálica (para evitar su consumo y mantener bajo la misma atmósfera), que también fue retirada a las 12 hs y cuantificada su humedad. La duración de los tratamientos fue de 10 días (d), comenzando al d8, y finalizando el d19 por la mañana.

Para evitar un posible consumo de viruta de madera de las cajas nido, y de facilitar la cuantificación de pasto consumido y heces producidas (ver más abajo), se realizó una modificación en el piso de las cajas a partir del d8: se ubicó una rejilla metálica sobre la cual se movilizaban los individuos y a través de la cual caían las sobras de alimento y heces eliminadas. Por debajo de la

rejilla se ubicó una capa de algodón húmedo que contribuía al mantenimiento de una RH atmosférica constante del 100% a una temperatura ambiente de 25 °C.

PESO CORPORAL

El peso corporal (P) de cada organismo fue obtenido diariamente a lo largo de la experimentación, de manera de evitar excesiva pérdida de peso, utilizando una balanza digital ($\pm 0,01$ g). En los casos en que el peso de los individuos alcanzó el 75% del peso respecto de la captura (d0), los mismos no se utilizaron para la experimentación, y fueron alimentados *ad libitum* con dieta mixta, similar a la de la aclimatación hasta que recuperaron su peso y fueron liberados al campo.

RESPIROMETRÍA

En los días 7 y 17 desde la captura, es decir previa y posteriormente a la aplicación de los tratamientos, se realizaron mediciones de la tasa de pérdida de agua por evaporación (E) y de la tasa metabólica basal (TMB; ver Figura 1), utilizando un sistema de respirometría de circuito abierto (Lighton, 2008). La tasa metabólica basal se determinó a través del valor de consumo de O₂, obtenido por un sistema computarizado de respirometría de circuito abierto y presión positiva (Sable System, Las Vegas, USA). Cada animal fue individualmente ubicado en una cámara (1,8 l) que recibía aire a 1,4 l/min controlado por un flujímetro (Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, USA). Antes de ingresar a la cámara, el aire pasaba a través de un absorbente de CO₂ (IQB[®]) y agua (Drierite[®]). El aire excurrente de la misma fue submuestreado a 130 ± 10 mL/min. Se lo hizo circular por un analizador de CO₂ (CA-10, Sable Systems) para determinar su producción. Luego, se hizo pasar el aire nuevamente por absorbentes de CO₂ y H₂O (IQB[®] and Drierite[®]) antes de alcanzar el analizador de O₂ (FC-1B, Sable Systems). Cada 0,5 segundos, se obtuvo la concentración voltaje-dependiente de CO₂ y O₂ mediante el programa Expedata (Sable Systems). Las líneas de base de los datos de O₂ y CO₂ fueron convertidos a ml de cada gas usando ecuaciones estándar de respirometría (Withers, 1977). Las mediciones comenzaron 0,5 a 1 hora después de introducir al individuo en la cámara, de manera que el mismo se tranquilizara y mantuviese quieto. El consumo de O₂ y producción de CO₂ fueron continuamente monitoreados hasta lograr una lectura estable de 15 min de duración. La tasa de pérdida de agua por evaporación se obtuvo conectando por 30 min, inmediatamente luego del analizador de CO₂, una columna conteniendo absorbente de agua (Drierite[®]). Dicha columna fue pesada ($\pm 0,0001$ g) antes y después de la conexión, para determinar gravimétricamente el valor de E (ver Berstein et al., 1977 para la

validación de esta técnica en un sistema de respirometría de flujo abierto). La medición duró entre 1,5 y 2 horas, dependiendo del tiempo requerido en cada caso. En los casos en que los individuos orinaron y/o defecaron dentro de la cámara, los datos fueron descartados y la cámara fue limpiada para luego repetir la medición. Debido a que no se ha observado ritmo circadiano en el consumo de oxígeno (Meroi et al., 2014), las mediciones fueron realizadas a lo largo de todo el día. Al finalizar, se obtuvo la temperatura corporal (T_c), rectalmente, mediante un termómetro digital (Cole-Parmer). Se calculó la conductancia térmica húmeda ($C_{húmeda}$) mediante $C_{húmeda} = TMB / (T_c - T_a)$, ver McNab, 1980. Para determinar diferencias potenciales en el catabolismo de sustratos, se calculó el coeficiente respiratorio (R) dividiendo la tasa de producción de CO_2 por la de consumo de O_2 (Schmidt-Nielsen, 1997). Además, se obtuvieron otros parámetros, como la tasa de producción de agua metabólica ($AM = TMB * 0,62 \text{ mg } H_2O/ml \text{ } O_2$; Schmidt-Nielsen y Schmidt-Nielsen, 1950b; MacMillen and Hinds, 1983), la pérdida de calor por evaporación ($Q_{perdido} = E * 0,603 \text{ cal/mg } H_2O$; ver Stitt, 1976; Huynh et al., 2007) y el calor producido ($Q_{producido} = TMB * 5,011 \text{ cal/ml } O_2$; ver Haim et al., 2008). Finalmente, se estimó la conductancia térmica seca (C_{seca}) mediante $C_{seca} = (Q_{producido} - Q_{perdido}) / (T_c - T_a)$.

ANÁLISIS DE ORINA Y HECES

Posteriormente a cada medición de respirometría (d7 y d17), se dispuso a cada individuo en una caja metabólica (Figura 2), compuesta por dos compartimentos separados por una rejilla metálica: la parte superior contiene al organismo, y la inferior colecta orina y heces separadamente. Ésta consiste en un embudo donde caen los desechos, y que desemboca en una boya. La orina cae directamente al vaso de recolección, que contiene glicerina para evitar evaporación, mientras que las heces rebotan en la boya y caen por fuera de dicho recipiente. El tiempo de recolección de orina y heces fue por 12 horas, entre las 20:00 hs y las 08:00 hs del día siguiente. Además, durante los primeros 5 minutos se colectaron las heces eliminadas, se pesaron en fresco y luego se deshidrataron por completo en estufa a 60 °C (peso seco, $\pm 0,01 \text{ g}$), para determinar el contenido de agua de las mismas. Al finalizar las horas establecidas de recolección, se retornó cada individuo a su caja nido, bajo las condiciones previas de mantenimiento y alimentación. En cuanto a la orina, las muestras fueron enviadas a al laboratorio de análisis bioquímico veterinario Farestaie, en la ciudad de Mar del Plata, donde se determinaron la osmolaridad, concentración de sodio, potasio, cloruro, urea y creatinina.

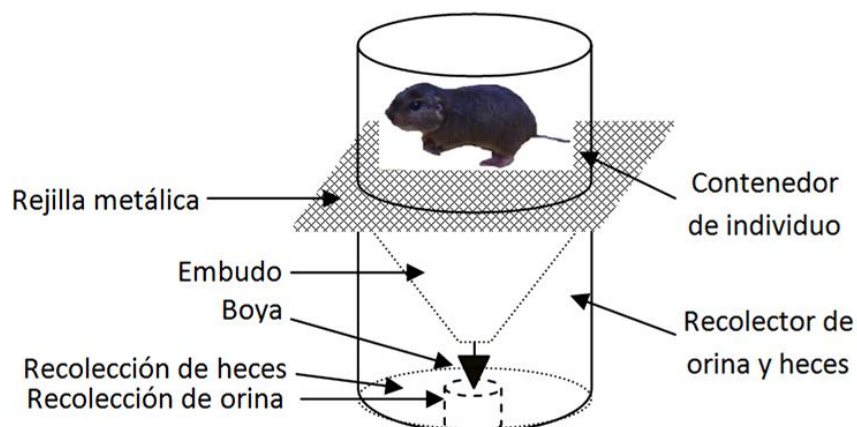


Figura 2. Caja metabólica para la recolección de orina y heces. Ver texto.

CUANTIFICACIÓN DE CONSUMO DE ALIMENTO Y PRODUCCIÓN DE HECES

El día 16 se limpió la caja de cada individuo y se dejó por 24 horas, con el alimento cuantificado, según el tratamiento correspondiente. Al día 17 se recolectaron, deshidrataron por completo y pesaron (peso seco, $\pm 0,01$ g) las sobras de alimento y la producción de heces, de manera de determinar variaciones en el comportamiento alimenticio entre tratamientos.

ANÁLISIS DE SANGRE

Al día 19 post captura, luego de dos días de recolección de heces y orina, se realizó la extracción de sangre de cada individuo. La técnica consistió en la introducción de un capilar en el seno retroorbital del ojo derecho de cada individuo, ya anestesiado con isofluorano, conectado por una sonda a una jeringa de recolección, todo el sistema heparinizado. Se extrajo entre 0,8 y 1 ml de sangre según la condición física. A partir de la muestra se obtuvo el valor de glucosa, mediante un analizador de glucosa en sangre (Onetouch, Lifescan®). Además se hicieron frotis para realizar el conteo de glóbulos blancos. Por otra parte, para obtener el hematocrito, se cargó con sangre un capilar heparinizado, que se cerró por uno de los extremos y se centrifugó por 15 minutos en una centrífuga para microhematocrito (Giumelli Z-12-D®) y se leyó en un ábaco de lectura de microhematocrito. La sangre sobrante se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos (Minispin, Eppendorf®) y se reservó el plasma (sobrenadante) para realizar los análisis bioquímicos de

osmolaridad y contenido de sodio, potasio, cloruro y urea-creatinina. Dichos análisis bioquímicos fueron realizados por el laboratorio Farestaie.

ESTADÍSTICA

Se realizó un ANOVA de medidas repetidas de dos vías, para determinar si existían diferencias entre los d7 y d17 (pre y post tratamiento) y entre tratamientos para E, TMB, conductancia, Tc, y el resto de los parámetros respirométricos estimados, y para las variables urinarias y el contenido de agua en heces. Se realizó un ANOVA de 1 vía para evaluar diferencias entre tratamientos para la tasa de filtrado glomerular, osmolaridad y concentración de urea e iones en plasma, hematocrito, glucemia, consumo de alimento y producción de heces. Para evaluar diferencias en la tasa de pérdida diaria de peso entre tratamientos se realizó ANOVA de medidas repetidas de dos vías. Cuando no se cumplieron los supuestos de los test paramétricos, se realizaron los correspondientes análisis no paramétricos.

RESULTADOS

PESO CORPORAL

A los individuos que alcanzaron el 75% de su peso corporal respecto del d7, se les tomaron las muestras correspondientes a la finalización del tratamiento, y se dio por finalizada la condición de experimentación en ellos. El tratamiento que más individuos presentó con una alta tasa de reducción en el peso corporal fue T1. Fueron 14 los individuos que abandonaron su tratamiento antes del día 19, de los cuales 8 correspondían a T1; sin embargo, sólo 6 finalizaron su participación al día 16, de los cuales 4 pertenecieron al tratamiento T1 y 2 al T4. En la Figura 3 se observa la variación en el peso corporal en función de los días de experimentación, para cada uno de los tratamientos, con su ecuación de regresión correspondiente.

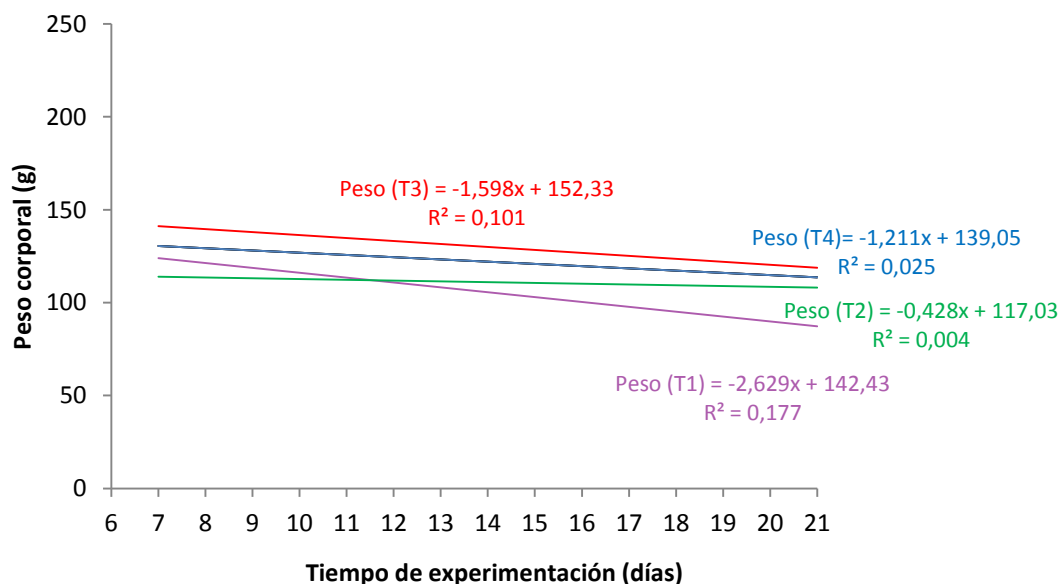


Figura 3. Regresiones para el peso corporal en función del tiempo de experimentación en individuos de *Ctenomys talarum*, frente a la exposición a diferentes dietas (T1, pasto deshidratado, 25-30% agua; T2, con 60-70% de agua; T3, con 70-80% de agua; T4, con 70-80% + sales; ver texto).

PÉRDIDA DE AGUA POR EVAPORACIÓN, TASA METABÓLICA Y PARÁMETROS ASOCIADOS

No se detectaron diferencias en la tasa de pérdida de agua por evaporación entre días de medición o entre tratamientos (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; $F_{1;24} = 2,03$; $P = 0,167$; $F_{3;24} = 0,397$; $P = 0,756$) ni para la interacción ($F_{3;24} = 1,90$; $P = 0,157$). El valor promedio de E fue de $621,89 \pm 222,02$ mg H_2O/h .

En cambio, sí se observaron diferencias en la TMB entre días (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; $F_{1;24} = 24,56$; $P < 0,001$) pero no entre condiciones experimentales ni la interacción ($F_{3;24} = 0,864$; $P = 0,47$; $F_{3;24} = 0,68$; $P = 0,57$). La TMB fue mayor antes que después de la administración de las dietas controladas (d7 > d17), ver Tabla 1. Asimismo, la temperatura corporal fue diferente entre días (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; $F_{1;24} = 25,80$; $P < 0,001$), y entre tratamientos ($F_{3;24} = 5,6$; $P = 0,004$), pero no la interacción ($F_{3;24} = 0,504$; $P = 0,683$). Se observó un mayor valor de T_c previamente al inicio de los experimentos (d7), y para el tratamiento T2 respecto de T4. El resto de las condiciones experimentales no presentaron diferencias significativas. Ver Tabla 1.

Además, la producción de agua metabólica en relación a la pérdida de agua por evaporación (AM/E) varió entre días (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; $F_{1;24} = 12,06$; $P = 0,002$), pero no entre tipos de dietas administradas ni hubo interacción entre las variables (condición $F_{3;24} = 0,739$;

$P = 0,538$; interacción $F_{3;24} = 2,51$; $P = 0,083$). Para el cociente respiratorio se detectó un mayor valor al inicio de la experimentación respecto del final (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; $F_{1;24} = 17,76$; $P < 0,001$), no detectándose diferencias entre condiciones experimentales ni en la interacción de las variables (dieta $F_{3;24} = 0,774$; $P = 0,519$; interacción $F_{3;24} = 2,80$; $P = 0,062$). Los valores se muestran en la Tabla 1.

En cuanto a la conductancia húmeda, se observó un mayor valor para el d7 respecto del d17, y para el T4 respecto de T2 (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; $F_{1;24} = 10,25$; $P = 0,004$; $F_{3;24} = 3,23$; $P = 0,039$) pero no se observaron diferencias en la interacción de ambas variables ($F_{3;24} = 0,917$; $P = 0,447$), mientras que la conductancia seca presentó diferencias entre días y para la interacción entre días y condición experimental (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; días $F_{1;24} = 21,00$; $P < 0,001$; dieta $F_{3;24} = 0,540$; $P = 0,659$; interacción $F_{3;24} = 3,11$; $P = 0,045$), particularmente diferencias entre d7 y d17 para los tratamientos T1 y T4. Ver Tabla 1.

CONSUMO DE ALIMENTO Y PRODUCCIÓN DE HECES

Se observaron diferencias significativas en el nivel de consumo de alimento fresco entre tratamientos (ANOVA de 2 vías; $F_{3;18} = 11,79$; $P < 0,001$; ver Figura 4.a.), pero no entre sexos ($F_{1;18} = 1,77$; $P = 0,201$) ni la interacción ($F_{3;18} = 1,01$; $P = 0,410$). El consumo de alimento fue menor en individuos bajo el tratamiento T1. El consumo de agua a través del alimento fue menor para éste tratamiento (ANOVA de 1 vía; $F_{3;22} = 43,09$; $P < 0,001$), no habiendo diferencias en el consumo de biomasa seca entre condiciones experimentales (ANOVA de 1 vía; $F_{3;22} = 2,85$; $P = 0,061$).

La producción de heces diaria fue significativamente menor en individuos bajo la dieta T1 (ANOVA de dos vías; $F_{3;18} = 6,10$; $P = 0,005$; ver Figura 4.b.), pero no entre sexos ($F_{1;18} = 4,01$; $P = 0,061$) o la interacción ($F_{3;18} = 1,30$; $P = 0,305$). Sin embargo, la producción diaria de heces por masa corporal no mostró diferencias entre tratamientos (ANOVA de 1 vía; $F_{3;22} = 1,96$; $P = 0,150$).

Efecto de la dieta sobre el balance hidrosalino en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.

Tabla 1. Tasa metabólica basal (TMB), producción de agua metabólica/pérdida de agua por evaporación (AM/E), cociente respiratorio (R), temperatura corporal (Tc), conductancia húmeda (C_{húmeda}) y seca (C_{seca}) para *C. talarum* al inicio (d7) y al final de la exposición a diferentes dietas (T1, pasto deshidratado, 25-30% agua; T2, con 60-70% de agua; T3, con 70-80% de agua; T4, con 70-80% + sales). Valores en Media ± DE. Letras diferentes, indican diferencias significativas para cada parámetro (entre días y/o tratamientos), P < 0,050.

	Día 7				Día 17			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
TMB (mlO ₂ /h)	127,95±27,14a	119,26±30,64a	127,87±17,78a	141,84±26,20a	98,33±15,64b	103,44±34,89 b	109,07±15,59 b	113,00±25,2 b
AM/E	0,146±0,06a	0,138±0,05a	0,125±0,03 a	0,193±0,06 a	0,105±0,02 b	0,109±0,03 b	0,124±0,05 b	0,093±0,04 b
R	1,08±0,16a	1,04±0,13 a	1,21±0,35 a	0,993±0,10 a	0,878±0,09 b	1,01±0,22 b	0,794±0,06 b	0,854±0,11 b
T_c (°C)	35,79±1,07 ab	36,72±0,49 a	35,37±0,90 ab	34,84±0,50 b	35,17±0,78cd	35,47±0,89 c	34,71±1,26 cd	33,93±0,64 d
C_{húmeda}	11,99±3,07 ab	10,12±2,20 a	12,52±2,72 ab	14,50±3,17 b	9,70±1,60 cd	9,77±2,86 c	11,25±1,16 cd	12,59±2,39 d
C_{seca}	26,09±15,36ad	21,96±13,29abc	23,68±9,74abc	41,16±13,55ab	12,94±5,63bc	11,31±15,26abc	18,82±12,62abc	6,13±23,46cd

ORINA, PLASMA Y CONTENIDO DE AGUA EN HECES

Se analizó volumen, concentración y composición en iones y urea de orina de 12 horas en individuos expuestos a las 4 dietas diferentes. No se observaron diferencias en el volumen urinario por peso corporal entre días ni tipo de tratamiento, o la interacción (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; día $F_{1,23} = 1,77$; $P = 0,197$; tratamiento $F_{3,23} = 0,682$; $P = 0,568$; interacción $F_{3,23} = 1,64$; $P = 0,208$). Tampoco se observaron diferencias en la osmolaridad de la orina (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; día $F_{1,26} = 1,00$; $P = 0,326$; tratamiento $F_{3,26} = 0,857$; $P = 0,469$; interacción $F_{3,26} = 0,174$; $P = 0,913$). Sin embargo, se detectaron diferencias en la concentración de urea, siendo mayor al final del experimento que al inicio (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; $F_{1,27} = 12,42$; $P = 0,002$), pero similar entre tratamientos ($F_{3,27} = 1,60$; $P = 0,206$) y para la interacción ($F_{3,27} = 1,75$; $P = 0,180$). Ver valores en Tabla 2.

En cuanto al sodio en orina, se observaron diferencias entre días y dietas, pero no para la interacción (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; día $F_{1,27} = 45,72$; $P < 0,001$; tratamiento $F_{3,27} = 7,77$; $P < 0,001$; interacción $F_{3,27} = 2,27$; $P = 0,103$). Particularmente, se detectó un mayor valor al d17 respecto de d7, y para los tratamientos T1 y T4 respecto de T2. Sin embargo, no se observaron diferencias en la concentración de potasio ni cloruro en orina entre días, para la condición de experimentación, ni para la interacción (Potasio: ANOVA-medidas repetidas de dos vías; día $F_{1,19} = 0,431$; $P = 0,519$; tratamiento $F_{3,19} = 1,54$; $P = 0,223$; interacción $F_{3,19} = 1,13$; $P = 0,362$; cloruro: ANOVA-medidas repetidas de dos vías; día $F_{1,20} = 1,73$; $P = 0,204$; tratamiento $F_{3,20} = 2,58$; $P = 0,069$; interacción $F_{3,20} = 2,11$; $P = 0,131$. Los valores se presentan en la Tabla 2).

Se observaron diferencias en el peso seco de heces producidas en 12 horas, por peso corporal, entre días y para la interacción entre días y dieta (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; día $F_{1,29} = 22,81$; $P < 0,001$; tratamiento $F_{3,29} = 2,57$; $P = 0,074$; interacción $F_{3,29} = 3,10$; $P = 0,042$). Así, fue mayor la producción hacia el final del experimento respecto del inicio para los tratamientos T2 y T4, y en el d17 fue mayor para el tratamiento T2 que para el resto; ver Figura 5a. No se encontraron diferencias para el contenido de agua en heces entre días de experimentación, condición ni para la interacción de ambas variables (ANOVA-medidas repetidas de dos vías; día $F_{1,14} = 4,44$; $P = 0,054$; tratamiento $F_{3,14} = 2,73$; $P = 0,060$; interacción $F_{3,14} = 1,38$; $P = 0,291$; ver Figura 5b).

En cuanto a los parámetros cuantificados en plasma al día 19, no se detectaron diferencias entre condición experimental, sexo ni su interacción para osmolaridad (ANOVA de dos vías; condición

$F_{3;14} = 2,04$; $P = 0,154$; sexo $F_{1;14} = 0,279$; $P = 0,606$; interacción $F_{3;14} = 0,141$; $P = 0,933$), concentración de urea (ANOVA de dos vías; condición $F_{3;21} = 2,49$; $P = 0,088$; sexo $F_{1;21} = 1,31$; $P = 0,265$; interacción $F_{3;21} = 0,466$; $P = 0,709$), sodio (ANOVA de dos vías; condición $F_{3;21} = 2,73$; $P = 0,070$; sexo $F_{1;21} = 0,937$; $P = 0,344$; interacción $F_{3;21} = 0,087$; $P = 0,967$), potasio (ANOVA de dos vías; condición $F_{3;21} = 0,144$; $P = 0,932$; sexo $F_{1;21} = 0,278$; $P = 0,604$; interacción $F_{3;21} = 0,238$; $P = 0,869$), o cloruro (ANOVA de dos vías; condición $F_{3;21} = 1,36$; $P = 0,283$; sexo $F_{1;21} = 0,021$; $P = 0,885$; interacción $F_{3;21} = 0,065$; $P = 0,978$). Ver valores en Tabla 2. Tampoco se detectaron diferencias en la glucemia de los individuos (ANOVA de dos vías; condición $F_{3;23} = 1,53$; $P = 0,234$; sexo $F_{1;23} = 1,362$; $P = 0,255$; interacción $F_{3;23} = 0,301$; $P = 0,824$). Sin embargo, el hematocrito presentó diferencias entre sexos, pero no entre tipo de dieta administrada o la interacción (ANOVA de dos vías; condición $F_{3;23} = 1,26$; $P = 0,310$; sexo $F_{1;23} = 22,17$; $P < 0,001$; interacción $F_{3;23} = 0,900$; $P = 0,456$). El hematocrito fue de $45,56 \pm 2,8 \%$ para las hembras y $52,73 \pm 3,5 \%$ para machos.

Efecto de la dieta sobre el balance hidrosalino en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.

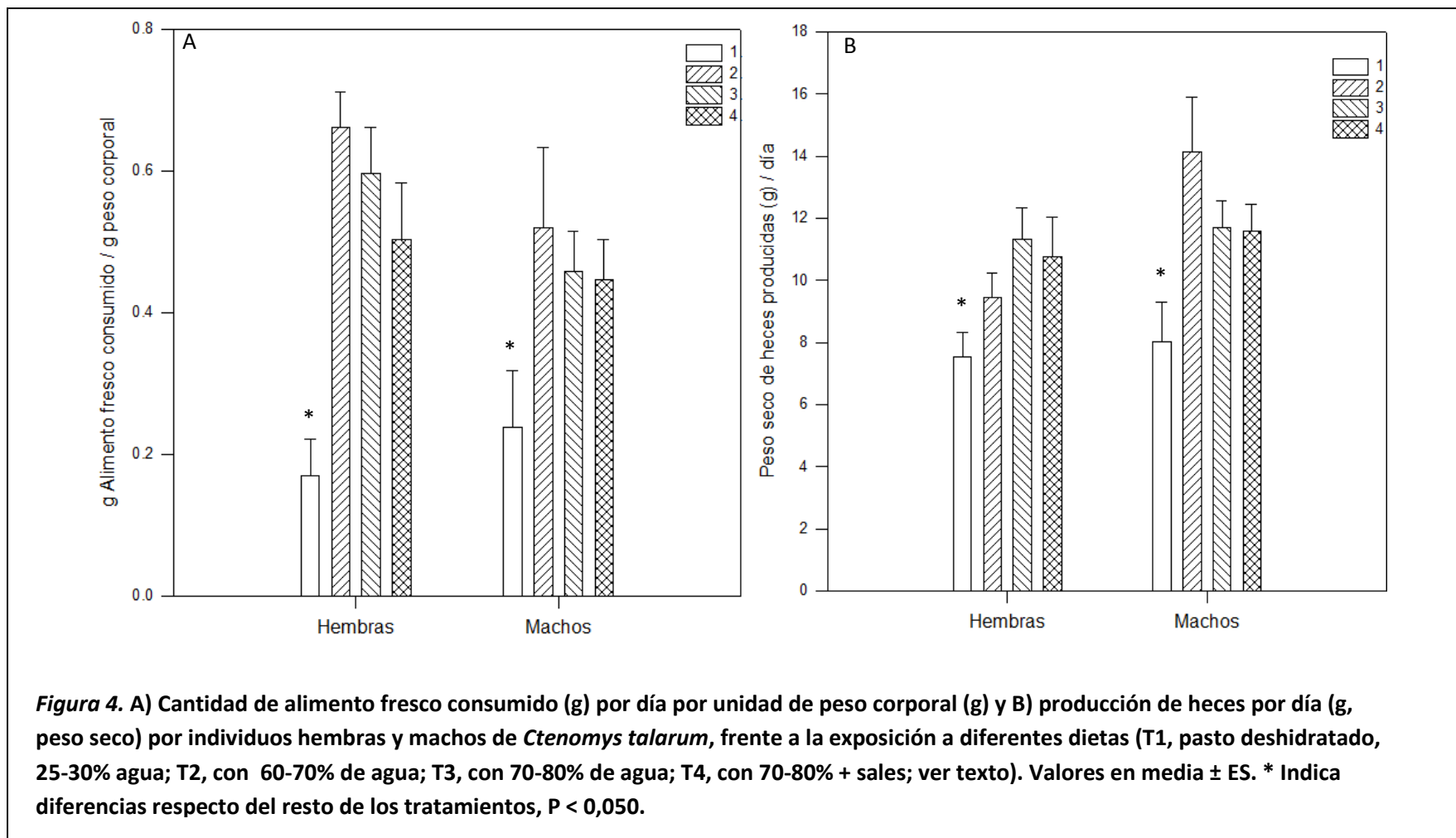


Figura 4. A) Cantidad de alimento fresco consumido (g) por día por unidad de peso corporal (g) y B) producción de heces por día (g, peso seco) por individuos hembras y machos de *Ctenomys talarum*, frente a la exposición a diferentes dietas (T1, pasto deshidratado, 25-30% agua; T2, con 60-70% de agua; T3, con 70-80% de agua; T4, con 70-80% + sales; ver texto). Valores en media \pm ES. * Indica diferencias respecto del resto de los tratamientos, $P < 0,050$.

Efecto de la dieta sobre el balance hidrosalino en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.

Tabla 2. Valores de parámetros urinarios y plasmáticos para *Ctenomys talarum* al inicio (d7) y/o al final de la exposición a diferentes dietas (T1, pasto deshidratado, 25-30% agua; T2, con 60-70% de agua; T3, con 70-80% de agua; T4, con 70-80% + sales). Valores en Media \pm DE. Letras diferentes, indican diferencias significativas entre días y/o tratamientos, $P < 0,050$.

	ORINA								PLASMA			
	Día 7				Día 17				Día 17			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Osmolaridad	450,17	678,50	558,00	522,92	1561,33	813,83	988,33	665,60	363,50	351,00	506,40	379,40
(mOsm/Kg)	$\pm 183,5$	$\pm 245,8$	$\pm 394,8$	$\pm 137,7$	$\pm 1052,7$	$\pm 226,2$	$\pm 426,7$	$\pm 198,5$	$\pm 13,2$	$\pm 6,9$	$\pm 215,4$	$\pm 62,3$
Urea	186,26 \pm	327,45 \pm	556,39 \pm	429,75 \pm	1014,90 \pm	374,63 \pm	1548,81 \pm	732,10 \pm	104,64	84,00	85,60	95,44
(mg/dl)	262,3 a	121,8 a	409,4 a	447,3 a	1088,3 b	111,8 b	1683,9 b	881,1 b	$\pm 16,7$	$\pm 9,4$	$\pm 12,0$	$\pm 16,4$
Sodio	25,39	10,67	23,17	26,92	117,36	32,00	84,50	109,12	167,64	158,75	166,20	177,44
(mmol/l)	$\pm 25,7$ a	$\pm 1,0$ b	$\pm 13,3$ ab	$\pm 17,1$ a	$\pm 37,4$ c	$\pm 21,2$ d	$\pm 61,6$ cd	$\pm 49,0$ c	$\pm 7,7$	$\pm 0,5$	$\pm 15,6$	$\pm 13,5$
Potasio	130,56	148,23	267,53	284,10	212,34	137,35	157,08	270,02	5,89	5,28	5,50	5,59
(mmol/l)	$\pm 31,0$	$\pm 27,9$	$\pm 263,4$	$\pm 488,1$	$\pm 117,7$	$\pm 22,2$	$\pm 28,0$	$\pm 461,6$	$\pm 1,4$	$\pm 0,1$	$\pm 0,9$	$\pm 2,0$
Cloruro	90,18	71,50	364,75	89,86	138,60	71,33	65,40	72,00	113,55	106,75	109,80	115,11
(mmol/l)	$\pm 30,6$	$\pm 33,2$	$\pm 550,7$	$\pm 28,2$	$\pm 64,4$	$\pm 12,0$	$\pm 25,9$	$\pm 38,3$	$\pm 4,7$	$\pm 2,1$	$\pm 7,3$	$\pm 9,3$
Volumen	0,04	0,03	0,03	0,04	0,003	0,03	0,03	0,03	-	-	-	-
orina (ml/g)	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,02$	$\pm 0,01$				

Efecto de la dieta sobre el balance hidrosalino en el roedor subterráneo *Ctenomys talarum*.

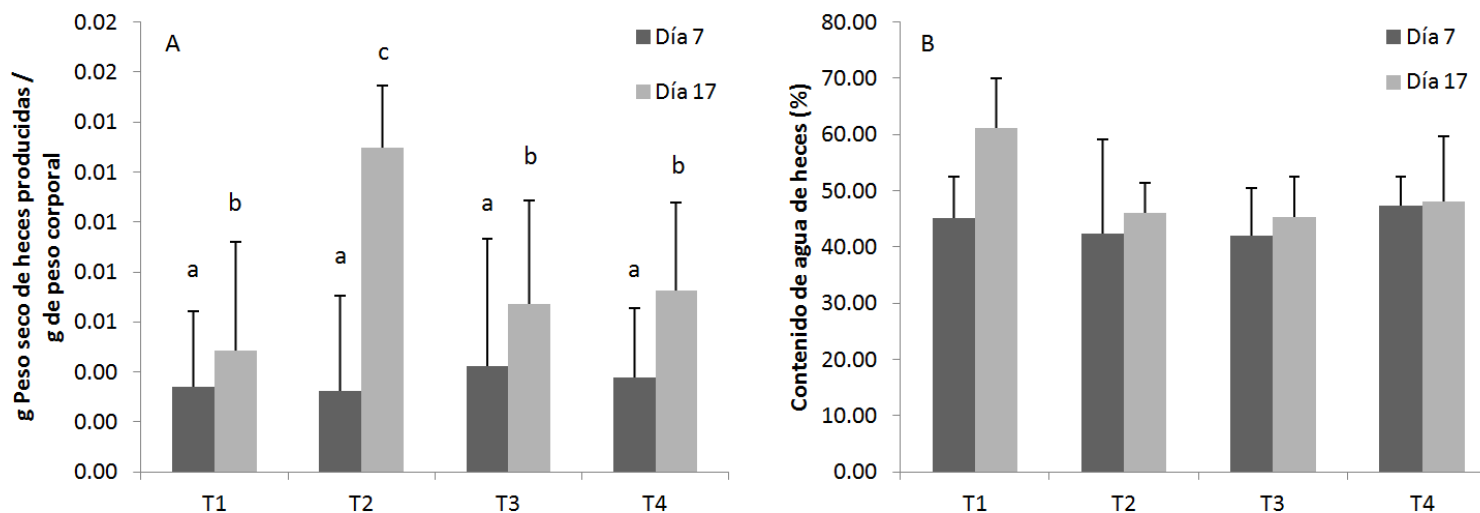


Figura 5. A) Peso seco de heces producidas en 12 hs por peso corporal y B) contenido de agua de heces (%) de individuos de *Ctenomys talarum*, frente a la exposición a diferentes dietas (T1, pasto deshidratado, 25-30% agua; T2, con 60-70% de agua; T3, con 70-80% de agua; T4, con 70-80% + sales; ver texto). Valores en Media \pm DE. Letras distintas indican diferencias significativas, P < 0,050.

DISCUSIÓN

El balance hidrosalino es uno de los equilibrios fisiológicos más importantes a regular, ya que tiene influencia sobre todas las funciones vitales. Cada especie presenta adaptaciones diferentes que le permite minimizar la pérdida de agua y maximizar su obtención, y la complejidad de las mismas depende de la historia evolutiva y de los desafíos del ambiente en el que vive (Díaz y Cortés, 2003; Bozinovic y Gallardo, 2006). *Ctenomys talarum* es un roedor subterráneo herbívoro que habita cuevas saturadas de humedad (Baldo, datos no publicados) y que se encuentra afectado por las fluctuaciones estacionales en la diversidad y características de su dieta (Comparatore et al., 1995). En el presente trabajo se evaluó la respuesta de esta especie a variaciones en el contenido de agua y sales de la dieta, la única vía de incorporación de agua exógena (Zenuto et al., 2001; Baldo et al., 2014), dentro del rango esperado en condiciones silvestres a lo largo del año (ver Fanjul et al. 2006). Particularmente se observó que estos organismos no son capaces de mantener su peso corporal bajo una monodieta del pasto de los médanos, *Panicum racemosum*, y que el descenso es más marcado cuando la dieta presenta un bajo contenido de agua. *C. talarum* es un herbívoro generalista y oportunista con preferencia hacia ítems más nutritiva (del Valle et al., 2001), pero con alta capacidad de digerir fibras (Martino et al., 2007), siendo indispensable una dieta variada, o al menos, más nutritiva para mantener el peso corporal en el tiempo (Perissinotti et al., 2009). A su vez, la preferencia de los ítems alimentarios varía según la disponibilidad estacional (Comparatore et al., 1995) y de sus necesidades fisiológicas, como durante el período reproductivo, cuando se observa un mayor consumo de semillas (Comparatore et al., 1995; del Valle et al., 2001).

La evaporación es una de las vías principales de pérdida de agua en mamíferos (Tracy y Walsberg, 2002), y existen estudios que confirman que ciertas especies son capaces de regularla (Tracy y Walsberg, 2001b). En este estudio, los tuco-tucos no presentaron variaciones en E, independientemente del tipo de dieta al que estuvieron expuestos. Por lo tanto no se evidenciaron ajustes en la pérdida de agua a nivel pulmocutáneo a pesar de la restricción hídrica en la alimentación. Sin embargo, *C. talarum* es capaz de regular su E frente a variaciones en la temperatura ambiente (ver Capítulo 2), y de mantenerla cuando ocurren modificaciones en la humedad ambiente durante termoneutralidad (ver Capítulo 3). Si bien la pérdida de agua por evapotranspiración está altamente influenciada por la genética del organismo, las condiciones de desarrollo y aclimatación afectan fuertemente este carácter en forma indirecta, a través del efecto

de la masa corporal. Por otra parte, las propiedades de la dieta de un individuo, afectarían su tasa evaporativa (Tracy y Walsberg, 2001b). Sin embargo, *C. talarum* no mostró variaciones de E bajo las condiciones propuestas.

Por otro lado, se observó una modificación en la tasa metabólica basal, siendo mayor hacia el inicio de la experimentación pero similar para los distintos tratamientos (Tabla 1). Esto refleja un ajuste a la calidad nutricional de la dieta (Perissinotti et al., 2009) y no a su contenido de agua y sales. A su vez, la temperatura corporal fue mayor también al inicio (día 7; Tabla 1), lo cual probablemente esté asociado a una mayor producción de calor por un metabolismo energético superior. Hacia el final de la experimentación, la conductancia bajó aproximadamente a la mitad. Así, si bien la disipación de calor disminuye, su producción a través del metabolismo también se redujo, resultando en la disminución de la temperatura corporal en relación al inicio.

En cuanto al cociente respiratorio, fue mayor previo al inicio de los tratamientos. Éste está asociado al tipo de fuente energética metabolizado (Schmidt-Nielsen, 1997). Considerando que al inicio de la experimentación $R \sim 1$, los hidratos de carbono serían el principal sustrato energético. Al día 17, el cociente se reduce (Tabla 1), indicando que otras biomoléculas, como proteínas o lípidos, se estarían catabolizando. Teniendo en cuenta la reducción del peso corporal a lo largo de los días, y la concomitante reducción en R, se sugiere que bajo la dieta administrada de calidad moderada, sería necesaria la catabolización de lípidos de reserva. Sin embargo, otros análisis son requeridos para confirmarlo (Schmidt-Nielsen, 1997).

La producción de agua metabólica también se incrementó a partir de la administración de las dietas. Ésta es la fuente endógena de agua que contribuye al balance hídrico. Si bien distintas vías de pérdida de agua, como lo son la evaporación, el volumen y la concentración de orina (Tabla 2), y el contenido de agua en heces (Figura 5.b.) no mostraron variación, la baja digestibilidad de la dieta administrada (Martino et al., 2007) provocaría un mayor requerimiento hídrico en el procesamiento del alimento, independientemente de su contenido hidrosalino. Si bien los tratamientos parecen no mostrar efectos sobre la pérdida de agua, esto podría deberse a que la restricción hídrica impuesta no generaría la presión necesaria para realizar un ajuste, o que la E está fisiológicamente limitada a un mínimo como mecanismo de ahorro. A su vez, los niveles plasmáticos se mantuvieron constantes (Tabla 2), lo que refleja la capacidad de estos individuos de lograr un equilibrio alostático que mantenga el funcionamiento del cuerpo. Sin embargo, las diferencias en la caída del peso indica que estos individuos presentan cierta variabilidad intraespecífica en tolerar dietas de calidad moderada a corto plazo (entre 7 y >12 días), y que

depende no sólo de su aporte de nutrientes, sino también, de agua y sales (ya que T1 presentó una mayor pendiente en la reducción del peso; ver Figura 3). Por otra parte, tal como fue observado por Martino et al., 2007, las dietas de menor calidad resultan en un menor consumo de biomasa y, en consecuencia, en una menor producción de heces (Figura 4). Como se mencionó, no se observó una variación en el contenido de agua de heces, producidas entre tratamientos (Figura 5.b.). Los experimentos fueron diseñados para simular condiciones naturales que *C. talarum* atraviesa estacionalmente en la vida silvestre. No se observaron variaciones en parámetros evaporativos, urinarios, plasmáticos ni en la producción de heces entre dietas de mayor o menor contenido de agua y sales. Las variaciones observadas estuvieron relacionadas más bien con la calidad nutricional del ítem alimenticio suministrado, su procesamiento y rendimiento. Así, se sugiere que las condiciones silvestres no representan un desafío para esta especie, aun considerando las variaciones a lo largo del año en las condiciones bióticas y abióticas, ya que existe una compensación en la preferencia de la dieta en función de su disponibilidad (Comparatore et al., 1995; del Valle et al., 2001). Así también, a pesar de la alta variabilidad encontrada dentro de la especie, se observaron valores elevados en la concentración de orina (día 17, tratamiento T1: 3770 mOsm/Kg), aún 3 veces mayor al pico más alto encontrado en condiciones naturales (ver Capítulo 1). En consecuencia, se sugiere que *C. talarum* es capaz de soportar restricciones superiores a las experimentadas en la naturaleza. Sin embargo, serían indispensables más estudios para determinar su tolerancia fisiológica máxima, si bien no están sujetos naturalmente a condiciones extremas.

Se propone que la capacidad de regulación renal observada en este estudio en relación a la formación de orina, la estable tasa de evapotranspiración, la alta humedad de las cuevas, y la baja tasa metabólica (Busch, 1989), representarían adaptaciones que contribuyen en la regulación del balance hidrosalino en tuco-tucos. Y si bien *C. talarum* normalmente no produce orina tan concentrada como la de roedores de ambientes xéricos (Díaz y Cortés, 2003), tiene la habilidad de concentrarla hasta 3 veces más de lo que su ambiente le exige en las condiciones más extremas de baja disponibilidad de agua, característica posiblemente relacionada con su historia evolutiva.

CAPÍTULO 5

MORFOMETRÍA DE TURBINALES NASALES COMO INDICADOR DE EFICIENCIA EN LA REGULACIÓN DEL BALANCE HÍDRICO EN *CTENOMYS TALARUM*: COMPARACIONES INTER E INTRAESPECÍFICAS.

INTRODUCCIÓN

Se sugiere que en la mayoría de los mamíferos, el desarrollo de la cavidad nasal refleja las demandas de la olfacción, como función primaria de esta estructura (Reznik, 1990; Smith y Rossie, 2008). A su vez el acondicionamiento térmico e hídrico del flujo de aire que la atraviesa es necesario para la detección de olores y el normal funcionamiento de las vías respiratorias inferiores (Reznik, 1990; Gross et al., 1982; Hillenius, 1994). Si bien la fosa nasal presenta generalmente una estructura básica (Moore, 1981), existe una gran variabilidad en cuanto al desarrollo de cada subestructura, tradicionalmente asociada a la filogenia (Van Valkenburgh et al., 2014; Hillenius, 1992, 1994). Es más, se sugiere que la evolución de los turbinales ocurrió en respuesta a un aumento en la tasa ventilatoria en mamíferos concomitantemente con la elevación de la tasa metabólica, antes que por adaptación a condiciones ambientales particulares (Hillenius, 1992). Sin embargo, la presencia de diferencias interespecíficas y la convergencia de ciertas características de la cavidad nasal, han llevado a rastrear causas a nivel ecológico (Van Valkenburgh et al., 2014; Reznik, 1990) y ontogenético, ya que por ejemplo podría haber un efecto epigenético del estímulo mecánico de la corriente de aire durante el desarrollo de las estructuras nasales internas (Coppola et al., 2014). En relación a esto, se espera que la organización y complejidad de las estructuras sean producto de la presión ejercida a lo largo de la evolución de los distintos grupos taxonómicos en relación con la dieta, el hábitat y otros comportamientos (ej, entre primates, Smith et al., 2011; murciélagos, Nelson et al., 2007; carnívoros terrestres vs. acuáticos, Van Valkenburgh et al., 2011; ver Hillenius, 1994). Así, en especies acuáticas el desarrollo de turbinales respiratorios es más evidente que en terrestres, relacionado con requerimientos termorregulatorios más exigentes (Van Valkenburgh et al., 2011), mientras que animales macrosmáticos como cánidos y roedores presentan una estructura olfativa más pronunciada (Van Valkenburgh et al., 2014; Moore, 1981). A su vez, en ciertos organismos especializados en ecolocalización a partir de emisiones nasales (ej, murciélagos), se observa una reducción en la complejidad y dimensión de estructuras de funciones olfativa y respiratoria en pos

del desarrollo de amplias cavidades con protrusiones, importantes para este tipo de comunicación (Nelson et al., 2007).

En cuanto a la estructura general, la fosa o cavidad nasal se encuentra dividida en dos partes por el septo nasal o hueso mesetmoides, siendo que este último se corresponde a la osificación del primero hacia el extremo caudal. Bilateralmente en la cavidad, el hueso etmoides se ramifica formando tabiques óseos que se convolucionan, dando lugar a los turbinas nasales. Generalmente, en mamíferos se observa un nasoturbinal, un maxiloturbinal más o menos ramificado, 4 a 5 endoturbinas y un número variable de ectoturbinas. En los primeros dos casos, los nombres se asocian a los huesos del esqueleto externo a los que los turbinas se fusionan secundariamente a lo largo del desarrollo. Los endoturbinas, también conocidos como etmoturbinas, se numeran del I al V y se unen a la placa etmoidea que forma el piso de la cavidad esfenetmoidea, en la que estos turbinas se desarrollan. En ella además se encuentran los ectoturbinas, también conocidos como inter- y frontoturbinas según su ubicación y características, y que a diferencia de los anteriores, nunca toman contacto con el piso de la cavidad, y se mantienen bastante separados del mesetmoides (Rowe et al., 2005; Van Valkenburgh et al., 2014; Hillenius, 1994; ver Smith et al., 2015).

En cuanto a la función de estas estructuras, y en base a estudios histológicos, se conoce de la presencia de epitelio respiratorio, que media en el acondicionamiento del flujo de aire inhalado y exhalado, epitelio olfativo principal asociado a la identificación sensorial de moléculas volátiles, y epitelio olfativo accesorio relacionado con la individualización de feromonas (Rowe et al., 2005; Kumar et al., 2000). En general, la complejidad de los turbinas nasales contribuye con un aumento de la superficie epitelial de intercambio, siendo que la estructura ósea brinda el sostén de este tejido blando (Rowe et al., 2005). En particular, una superficie respiratoria más amplia implica una mayor área disponible para la condensación y reabsorción del vapor de agua en el aire exhalado, facilitando la homeostasis especialmente en organismos cuyo balance hídrico se encuentra comprometido (Cortés et al., 1990). Si bien para definir la capacidad de regulación es necesario también determinar características como el grado de irrigación sanguínea, la eficiencia del mecanismo contracorriente (Jackson y Schmidt-Nielsen, 1964) y la presencia de transportadores de agua e iones (Gallardo et al., 2008); la morfometría de los turbinas nasales es un importante proxy de la extensión de la superficie de intercambio para el acondicionamiento del flujo de aire y de la reabsorción de agua (Cortés et al., 1990; Rowe et al., 2005).

En base a la bibliografía disponible acerca de la funcionalidad del epitelio de cada uno de los turbinas, se conoce que tanto el maxiloturbinal y las caras externas del nasoturbinal y del endoturbinal I (que dan hacia el maxiloturbinal) presentan epitelio respiratorio (Rowe et al., 2005; Moore, 1981) mientras que la parte interna del nasoturbinal, los endoturbinas I (parte interna), II, III, IV y V, y ectoturbinas, presentan epitelio olfativo principal. Tanto el órgano vomeronasal como el hueso mesetmoides, dentro de la cavidad nasal, son las estructuras que presentan epitelio olfativo accesorio (Rowe et al., 2005; Smith y Rossie, 2008; Kumar et al., 2000; Kumar et al., 1993).

La circulación de aire durante la inspiración ocurre bilateralmente por el ingreso a través del nasoturbinal y maxiloturbinal, que se encuentran espacial y funcionalmente conectados. El nasoturbinal es una vía de ingreso de aire a los endoturbinas, los cuales se encuentran resguardados del flujo fuerte de aire dentro de la cavidad esfenetmoidea, siendo allí más suave la circulación. El aire que ingresa por el maxiloturbinal continúa por el conducto nasofaríngeo hacia las vías respiratorias superiores. Durante la exhalación el aire hace el camino inverso (Craven et al., 2010; ver Smith et al., 2015). El paso de la corriente a través del maxiloturbinal provoca que el aire sea acondicionado térmica e hídricamente, siendo calentado y humidificado durante la inspiración, y enfriado y deshidratado durante la exhalación, gracias al sistema de intercambio de contracorriente presente en la fosa nasal, característico de los animales endotérmicos (Jackson y Schmidt-Nielsen, 1964; ver Smith et al., 2015; Hillenius, 1994). En consecuencia, la extensión de la superficie de intercambio es de gran importancia para incrementar la eficiencia en la recuperación de agua en este sistema.

Así, el objetivo de esta sección fue analizar la morfometría de los turbinas nasales en *Ctenomys talarum* a nivel intraespecífico, en adultos de ambos sexos y en cría, e interespecífico a través de comparaciones con otros roedores subterráneos y de superficie, de ambientes méxicos y xéricos. Hipótesis: Se encontró una asociación entre el desarrollo de la estructura nasal interna con las características ecológicas de las especies, siendo mayor el desarrollo de la región respiratoria de la cavidad nasal en especies de hábitats más secos y fríos, y en aquellas de superficie respecto de las de hábitos subterráneos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizó la morfometría de los turbinas nasales de *Ctenomys talarum* (dos adultos, macho y hembra, y una cría), *Ctenomys tuconax*, *Spalacopus cyanus*, *Octodontomys gliroides*, *Octodon degus* y *Chinchilla lanigera* (todos adultos; ver Tabla 1), a partir de imágenes tomográficas cedidas

por el grupo de investigación *Morfología Funcional* de la Universidad Nacional de Mar del Plata. Los cráneos fueron escaneados mediante microtomografía computada por la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Sao Paulo, Brasil. Este es un método muy utilizado actualmente para el estudio de la fosa nasal, ya que no atenta contra su delicada estructura. En la Tabla 1 se indica el origen de cada espécimen y las características ecológicas de la especie.

A partir del escaneo se obtuvieron cortes coronales (transversales) seriados de los turbinas nasales. Se utilizó el programa Image J para analizar cada sección y para hacer la reconstrucción sagital y horizontal de los turbinas, y así constatar e identificar las estructuras de interés. Para cada corte coronal analizado, y sobre la fosa nasal izquierda, se identificaron los naso-, maxilo- y endo (etmo)- turbinas, senos maxilares, el septo nasal o hueso mesetmoides y los ectoturbinas. Debido a que se trabajó sobre especies que difirieron en la dimensión del cráneo, y para poder estandarizar el proceso de análisis, la medición de dichas estructuras se realizó sobre secciones equidistantes de 240 micras aproximadamente desde el inicio hasta el final de la fosa nasal. Esto fue determinado en función a la inspección preliminar de las series de microtomografías, respetando la relación de baja variación en la morfología en relación al esfuerzo de medición (variación entre imágenes analizadas <25 % en las dimensiones de la cavidad nasal izquierda, en >90% del largo total de la estructura, para todos los cráneos).

A partir de los valores del perímetro de cada estructura y la superficie correspondiente al espacio aéreo que contenían, multiplicados por la profundidad del corte, se obtuvo la superficie de contacto (como estimativo de la superficie epitelial) y volumen aéreo (lumen) relacionado con cada estructura. Teniendo en cuenta que la estructura interna de la cavidad nasal es conservativa en su función dentro del grupo de mamíferos, se obtuvieron los valores de área y volumen de las regiones consideradas como respiratoria y olfativa en cada individuo: como se mencionó anteriormente, se considera con función respiratoria al maxiloturbinal, cara externa del nasoturbinal (de ahora en más, nasoturbinal-R), y endoturbinal I (cara externa enfrentada al maxiloturbinal; endoturbinal I-R), y con función olfativa (principal y accesoria) a la parte interna del nasoturbinal(nasoturbinal-O), endoturbinas (del I, solo parte interna), ectoturbinas, en caso de presentarse (Rowe et al., 2005; Moore, 1981; Smith y Rossie, 2008; Smith et al., 2015), y septo nasal o mesetmoides, según la distancia de corte. Se analizaron estas medidas en forma absoluta y como proporciones en relación a la dimensión total de los turbinas y de la distancia naso-occipital del cráneo como proxy de la talla del individuo. Entonces, se obtuvo un índice que

Morfometría de turbinales nasales como indicador de eficiencia en la regulación del balance hídrico en Ctenomys talarum: comparaciones inter e intraespecíficas.

Tabla 1. Características de las especies e individuos analizados: estadio del desarrollo, peso corporal, sexo, origen, hábitos, distribución geográfica.

Especie	Especimen			Hábitos	Distribución geográfica
	Estadio; distancia N-O	Sexo	Origen		
<i>Ctenomys talarum</i>	1. Adulto; 39,98 mm	m	Mar de Cobo, Buenos Aires	Mésico, subterráneo, solitario, herbívoro (hierbas, semillas)	Buenos Aires, Argentina. Médanos costeros fijos, de arena y tierra, con hierbas y arbustos bajos. Sobre el nivel del mar. Clima templado oceánico.
	2. Adulto; 32,73 mm	h	Aires		
	3. Cría; 21,78 mm	m			
<i>Ctenomys tuconax</i>	Adulto; 51,59 mm	m	El Infiernillo, Tucumán	Xérico, subterráneo	Tucumán, Argentina. Pastizales de altura, suelo compacto. 3000 msnm (a,b). Clima árido frío.
<i>Chinchilla lanigera</i>	sd; 60,40 mm	m	Criadero comercial Agro Kaykun, Mar del Plata, Buenos Aires	Xérico, de superficie, nocturno, omnívoro (hierba, semillas; insectos y huevos de aves)	Norte de Chile a lo largo de la precordillera y Cordillera de los Andes, y de la Costa hasta Talca (a). Se extiende hasta Salta, Argentina (c). Zona árida y escarpada, suelo rocoso o arenoso, con pocos arbustos y hierbas (d). 3000-5000 msnm.
<i>Octodontomys gliroides</i>	sd; 40,32 mm	sd	Museo Municipal de Cs. Naturales Lorenzo Scaglia, Mar del Plata, Buenos Aires	Xérico, cuevas superficiales, herbívoro (cactus)	En los Andes al norte de Chile, Centro-este y sudeste de Bolivia, y noroeste de Argentina. 2000-5000 msnm.
<i>Octodon degus</i>	Adulto; 43,21 mm	m	Instituto de Ecología y evolución de la Universidad Austral de Chile.	Xérico, semifosorial (cuevas subterráneas, pero gran tiempo en superficie), herbívoro (e).	Chile, sobre la ladera oeste de los Andes, entre Vallenar y Curicó (a, e). En estepas xerofíticas centro-chilenas, sabanas y matorrales de la zona costera y valle central. 0-1800 msnm.
<i>Spalacopus cyanus</i>	sd; 32,79 mm	sd	Museo Municipal de Cs. Naturales Lorenzo Scaglia, Mar del Plata, Buenos Aires	Semixérico, subterráneo, colonial, herbívoro (forrajea en la entrada a la cueva; f).	Chile, en dunas y pastizales arenosos de la región costera desde Caldera (27°03'S) hasta Quirihue (36°17'S); en pastizales andinos desde Alicahue (32°19'S) a Los Cipreses (34°01'S), y sabana de acacias en localidades dispersas de la pendiente de la depresión intermedia (g).

h: hembra; m: macho; distancia NO: distancia naso-occipital; sd: sin datos. Referencias: a Woods and Kilpatrick, 2005; b Becerra, 2015; c Chebez 1994; d Spotorno et al. 2004; e Woods y Boraker, 1975; f Torres-Mura y Contreras, 1998; g, Contreras et al., 1987.

permitió la independencia del tamaño asociado a las características de las especies, tanto para el área de la superficie nasal, $I_a = \sqrt{A}/L$, como el volumen del espacio aéreo, $I_v = \sqrt[3]{V}/L$, donde A=área de la superficie del turbinal, L= longitud naso-occipital, V= volumen lumen turbinal. Esto fue calculado tanto para turbinas respiratorias como olfativas. A su vez, se realizó un análisis de regresión para el área de la región respiratoria y olfativa de los turbinas, en función de la distancia naso-occipital, para cada una de las especies analizadas. A partir de la bibliografía disponible, se incorporó al conjunto de datos los valores de áreas de *Rattus norvegicus* y *Mus musculus* (Gross et al., 1982), y un estimativo del largo craneal para estos especímenes (Verts y Carraway, 1998). Dado que se incluyó una variable lineal y otra exponencial, se aplicó log10, para linearizar la función. Además, para aproximar y comparar el nivel de complejidad de los turbinas, se obtuvo el área de la superficie de una esfera del mismo volumen de la región respiratoria y olfatoria de la cavidad nasal de cada individuo. Con este valor, se calculó la razón (R) entre la superficie cuantificada para los turbinas y la calculada para una esfera de similar volumen.

RESULTADOS

ESTRUCTURA GENERAL DE LA FOSA NASAL

Para cada espécimen analizado, se muestra una serie de 6 tomografías equidistantes y continuas, desde la zona distal (anterior) a la proximal (posterior) de la fosa nasal (Figuras 1-8). Debido a la simetría observada entre los lados izquierdo y derecho, este estudio se limitó arbitrariamente a la medición del primero. En general, se observa el desarrollo de las mismas estructuras óseas a lo largo de la totalidad de la fosa en todas las especies estudiadas.

La estructura general de la fosa nasal, comprende una cavidad izquierda y otra derecha, cada una compuesta por un nasoturbinal más o menos tubular, que se extiende en la zona superior a lo largo de toda la fosa y se comunica con estructuras de la parte inferior, distalmente con el maxiloturbinal, y proximalmente con los endoturbinas. Sobre el eje en sentido antero-posterior, los endoturbinas comienzan a observarse donde termina el maxiloturbinal, y aumentan su grado de desarrollo hacia el extremo proximal de la fosa, hacia donde el maxiloturbinal se simplifica en un seno y luego desaparece, siendo que el espacio total de la fosa nasal termina siendo ocupado por el naso- y los endoturbinas (ver corte sagital del cráneo de *C. talarum*, Figura Ap1 en Apéndice).

El maxiloturbinal se caracteriza por desarrollarse inferior/lateralmente al nasoturbinal, a lo largo de la parte media-distal de la fosa, en un espacio variable según la profundidad a la que se lo

evalúe (Figuras 1-8). Este turbinal presenta distinto grado de convolución siendo más complejo en la parte anterior de su desarrollo, simplificándose hacia la parte posterior donde se convierte en seno maxilar. A su vez, la forma y complejidad del maxiloturbinal varía según la especie. Dentro del género *Ctenomys*, *C. tuconax* (Figura 4) presenta mayor desarrollo de tabiques que *C. talarum* (Figuras 1-3), siendo que *S. cyanus* (Figura 8) muestra un nivel de convoluciones similar a la última. Por otra parte, *C. lanigera* (Figura 5), *O. gliroides* (Figura 6), *O. degu* (figura 7) y *C. tuconax* son los que muestran visualmente maxiloturbinas más complejas (más adelante, comparar con valor R, Tabla 2).

Concomitantemente a la reducción de los maxiloturbinas, comienzan a desarrollarse los endoturbinas en la parte central de cada fosa. Éstos están compuestos por tabiques con una serie de ramificaciones y convoluciones, que los dividen en 4 a 5 endoturbinas. La complejidad también varía entre especies, siendo mayor en *C. lanigera* (Figura 5) y menor en *Ctenomys* (Figuras 1-4; más adelante, comparar con valor R, Tabla 2). En todos los casos, el endoturbinal I se proyecta hacia la zona anterior y es el que primero aparece en la serie rostro-caudal. El resto de los endoturbinas no son numerados en este trabajo, ya que la correcta identificación de los mismos no es tan simple, siendo que requiere de un estudio a nivel ontogenético (ver Smith et al., 2015), y esto escapa al objetivo de este estudio. Los senos maxilares finalizan antes que los endoturbinas. En continuación al maxiloturbinal y por debajo de los endoturbinas, se extiende el conducto nasofaríngeo (ver Figuras 1-8, y Figura Ap1 en Apéndice), que conduce el gran flujo de aire inspirado hacia la faringe (ver Smith et al., 2015). Excepto para el género *Ctenomys*, en las especies estudiadas se observa la presencia de ectoturbinas a la altura de la finalización del maxiloturbinal, que se extienden hasta antes que finalicen los endoturbinas (ver Figuras 5-8). Si bien se detectaron algunas diferencias en el número y morfología de endo- y ectoturbinas entre las especies estudiadas, observables en las series de imágenes presentadas, en este trabajo el análisis se centra en la identificación general de las estructuras asociadas a la función respiratoria y a la olfativa, y en la medición de sus superficies y del volumen del espacio aéreo que éstos contienen.

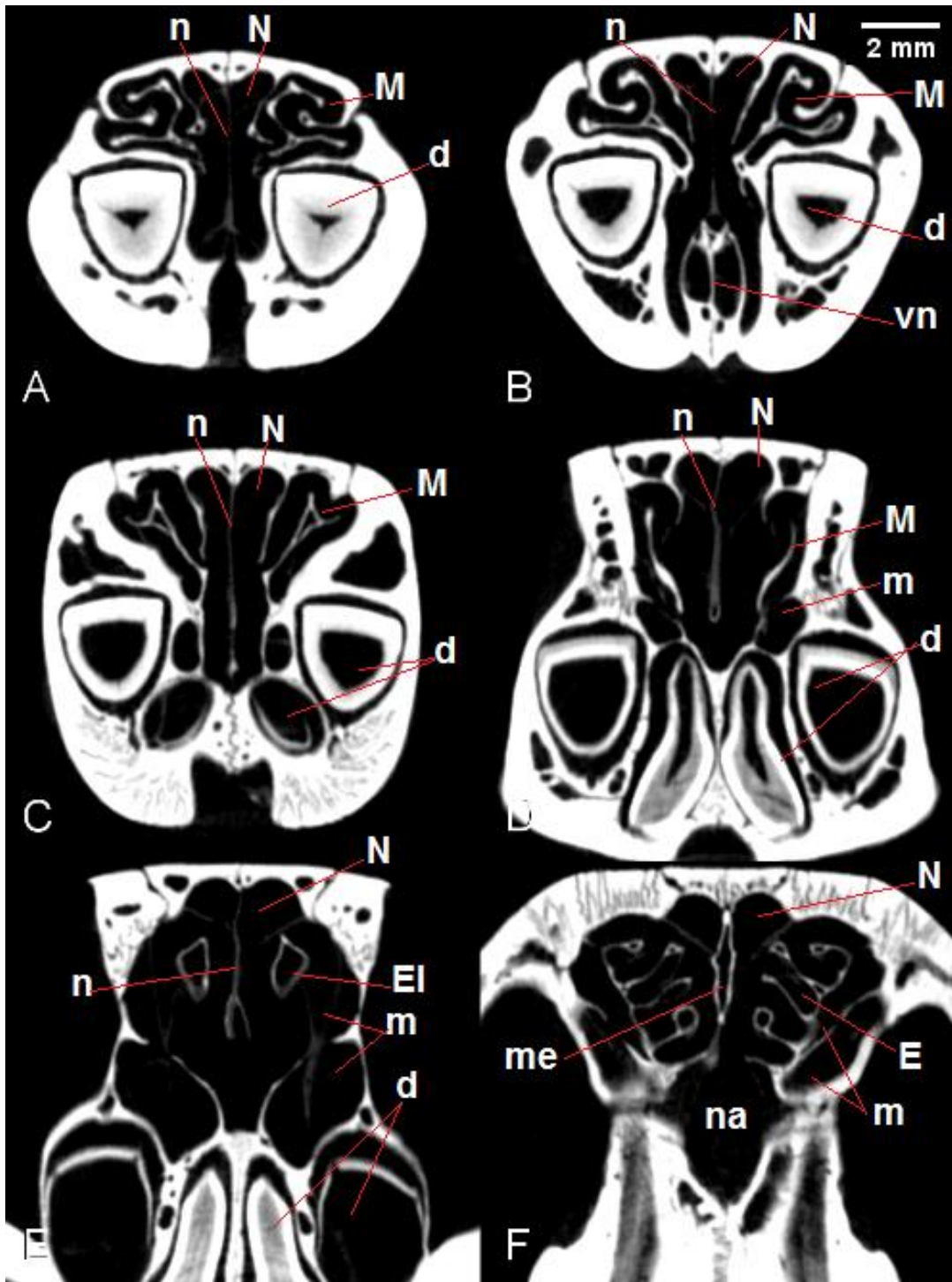


Figura 1. Serie de cortes coronales equidistantes de la fosa nasal del espécimen macho adulto de *Ctenomys talarum*, en sentido antero-posterior. A-C, estructuras de naso y maxiloturbinal, con distinto grado de desarrollo; D, maxiloturbinal más simple y aparición de seno maxilar; E, inicio del desarrollo de endoturbinal I, y senos maxilares más evidentes; F, máximo desarrollo de endoturbinas, y senos maxilares en reducción. Ver Apéndice I por abreviaturas y cortes en plano horizontal y sagital de las mismas estructuras (Figura Ap1).

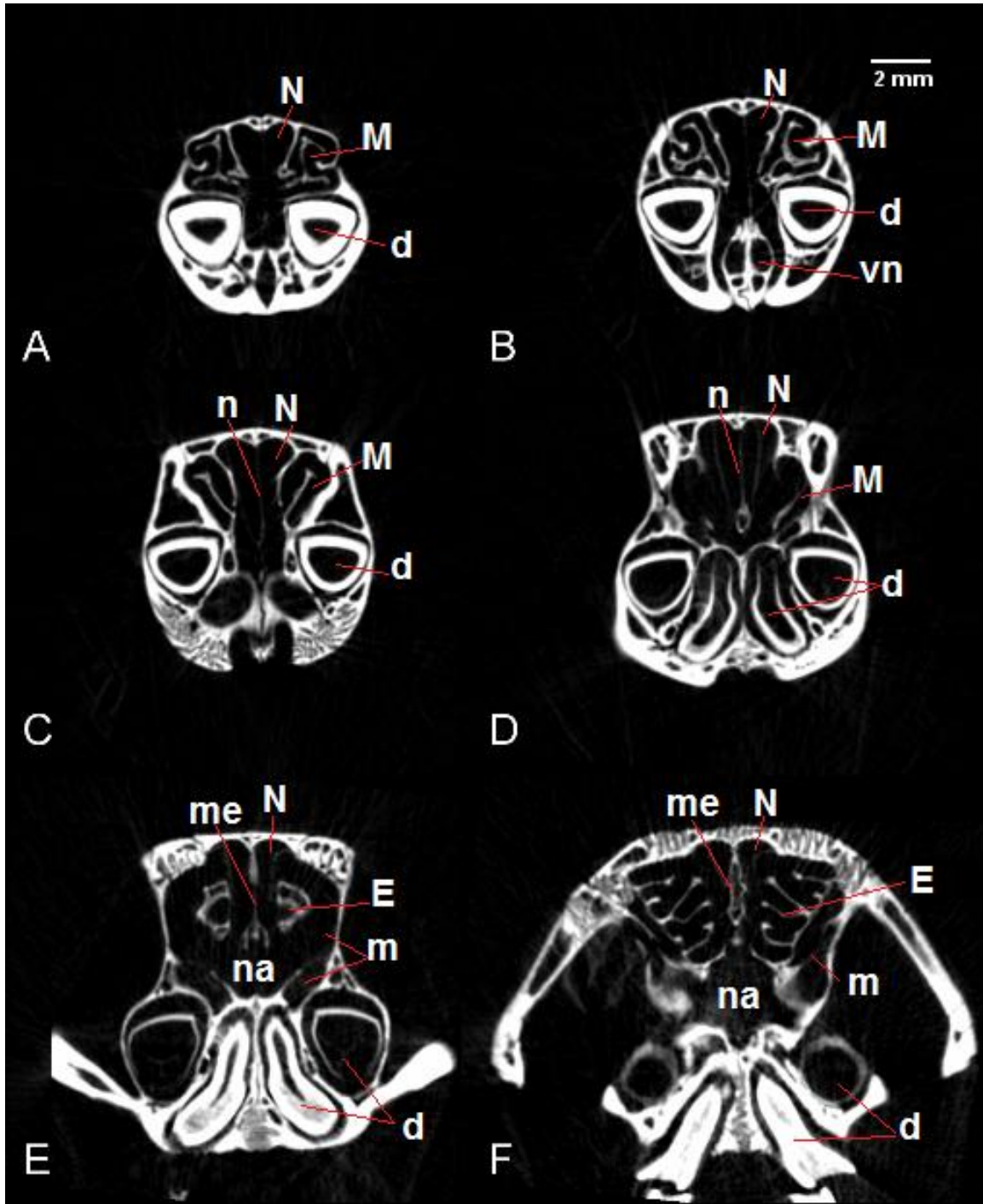


Figura 2. Serie de cortes coronales equidistantes de la fosa nasal del espécimen hembra adulto de *Ctenomys talarum*, en sentido antero-posterior. A-D, naso y maxiloturbinal, con distinto grado de desarrollo; E, endoturbinales en desarrollo, y senos maxilares; F, endoturbinales desarrollados, y senos maxilares en reducción. Ver Apéndice I por abreviaturas.

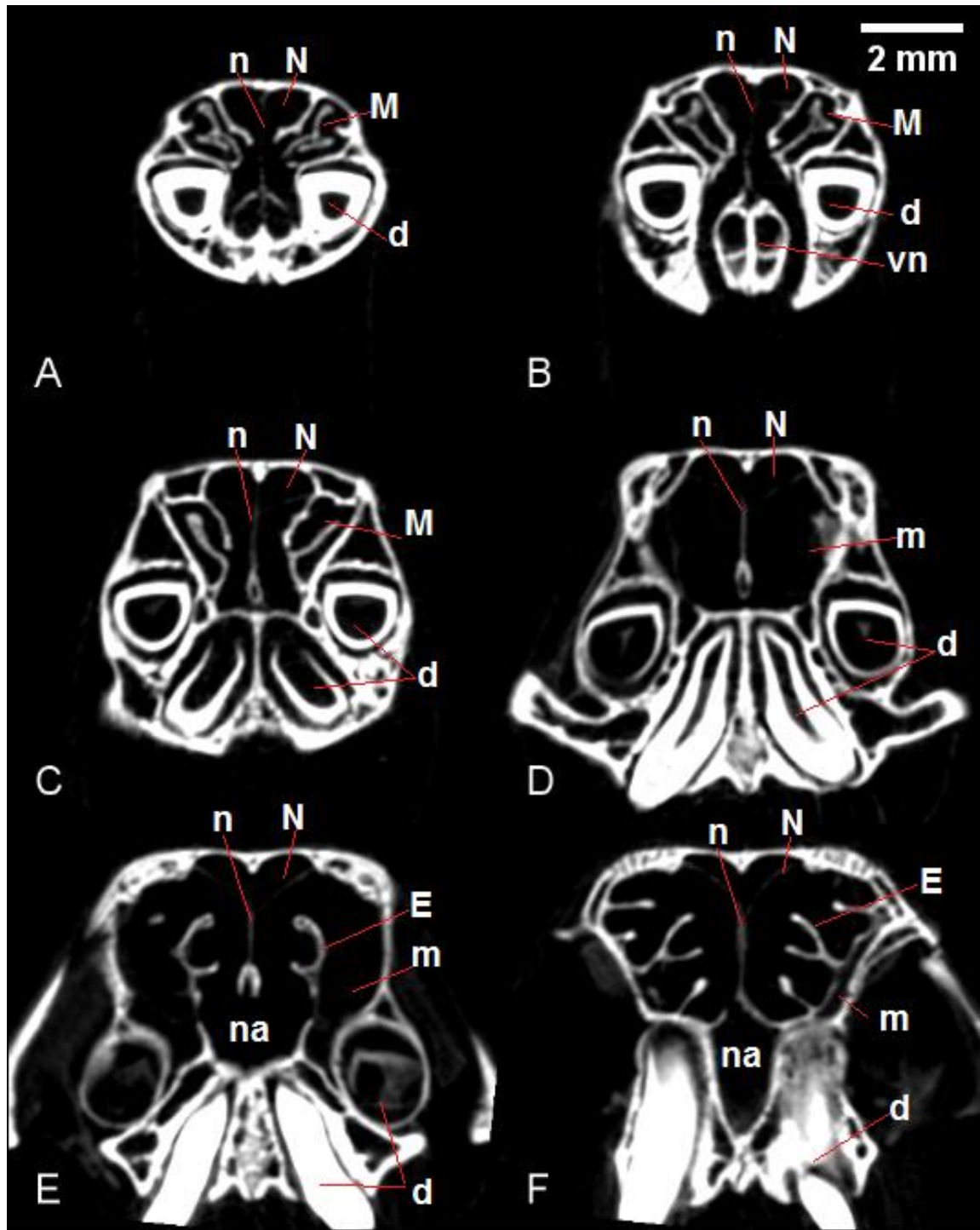


Figura 3. Serie de cortes coronales equidistantes de la fosa nasal del espécimen de cría de *Ctenomys talarum*, en sentido antero-posterior. A-C, naso y maxiloturbinal, con distinto grado de desarrollo; D, nasoturbinal y aparición del seno maxilar; E, endoturbinas en desarrollo, y seno maxilar; F, endoturbinas desarrollados, y seno maxilar en reducción. Ver Apéndice I por abreviaturas.

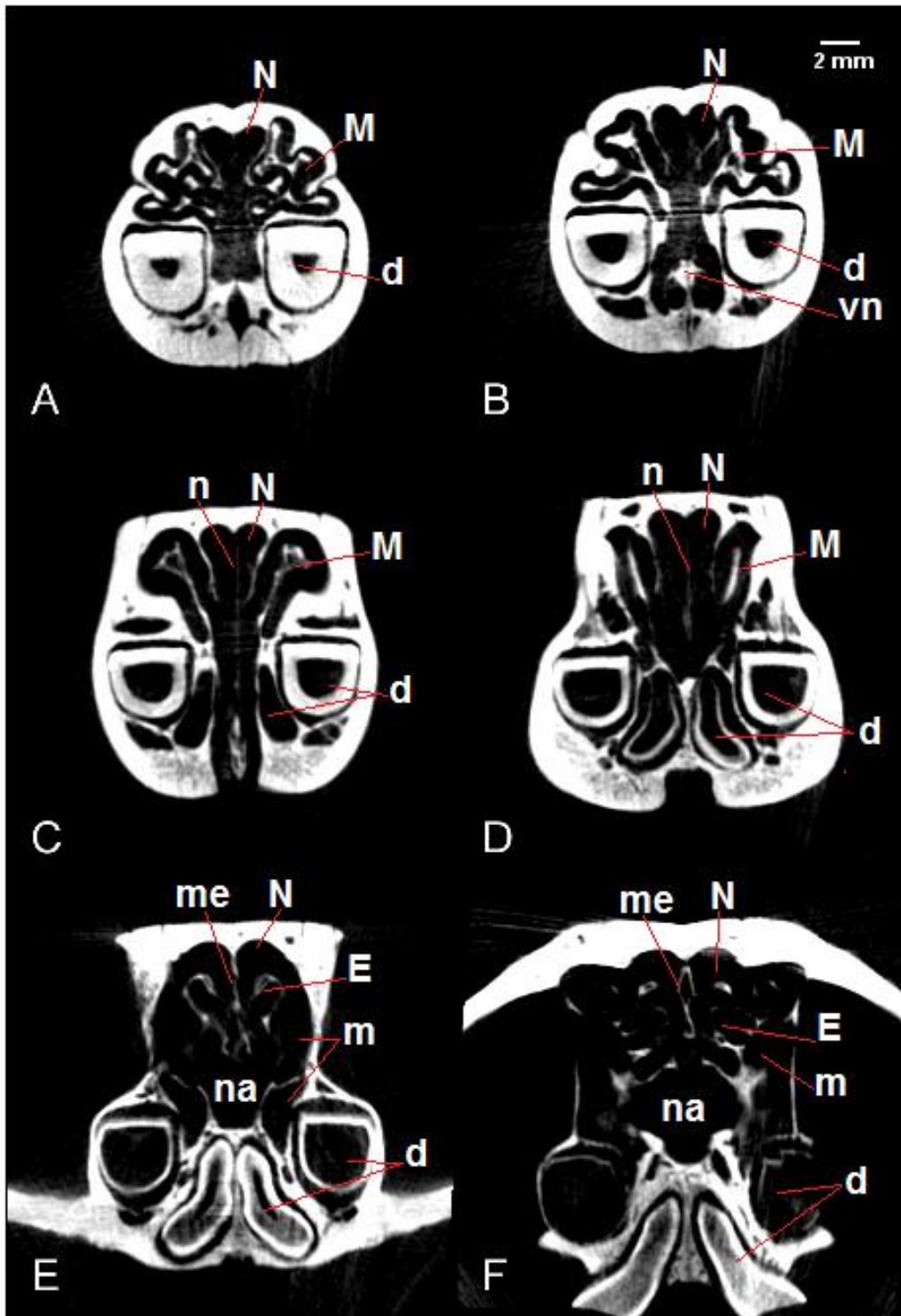


Figura 4. Serie de cortes coronales equidistantes de la fosa nasal del espécimen de *Ctenomys tuconax*, en sentido antero-posterior. A-B, naso y maxiloturbinal, desarrollado; C-D, maxiloturbinal en reducción y nasoturbinal; E, endoturbinales en desarrollo, y senos maxilares; F, endoturbinales desarrollados, y seno maxilar en reducción. Ver Apéndice I por abreviaturas.

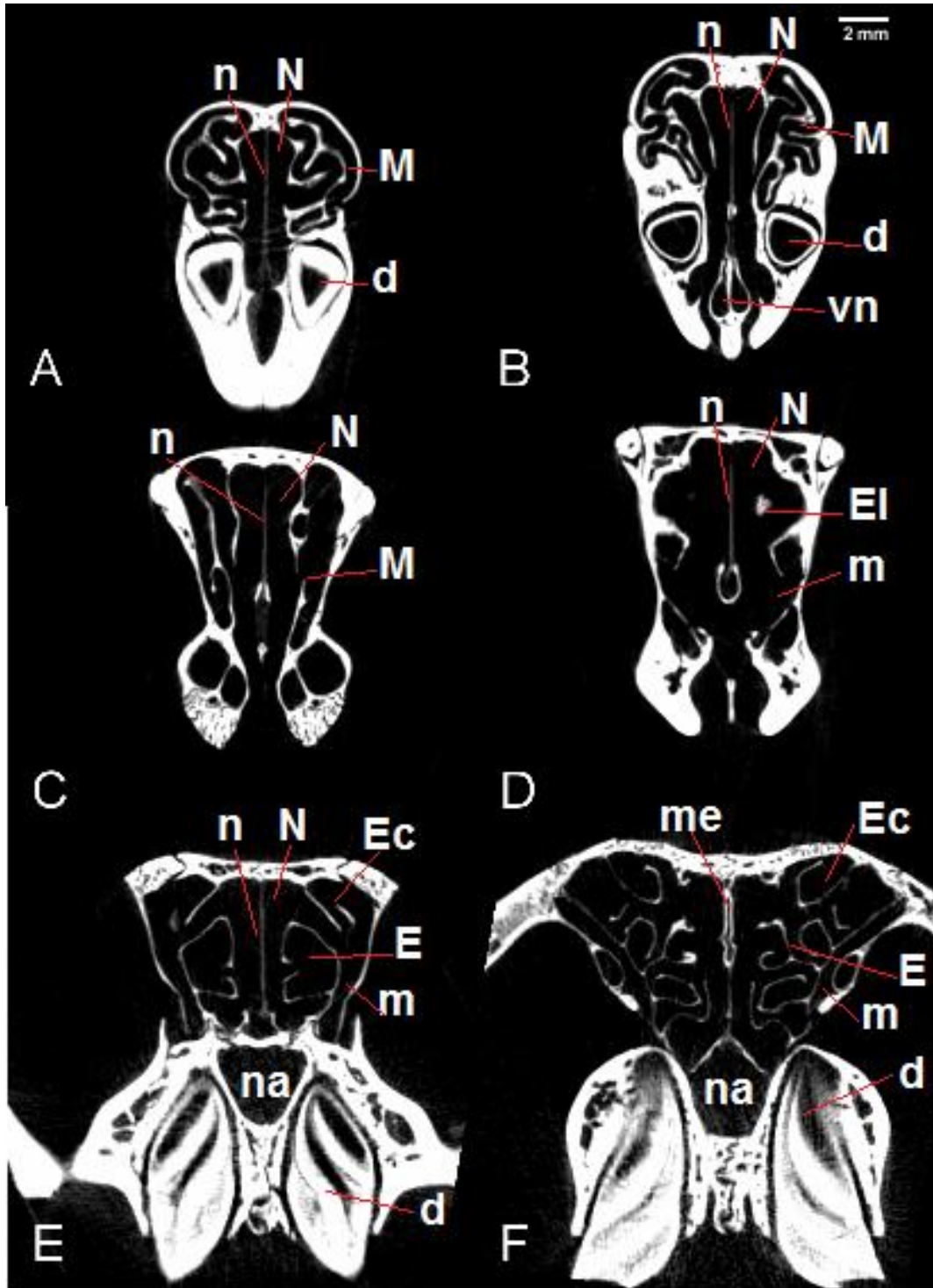


Figura 5. Serie de cortes coronales equidistantes de la fosa nasal del espécimen de *Chinchilla lanigera*, en sentido antero-posterior. A-B, naso y maxiloturbinal, desarrollado; C, maxiloturbinal en reducción; D, nasoturbinal, aparición del seno maxilar y endoturbinal I; E, endoturbinas en desarrollo, y seno maxilar; F, endoturbinas desarrollados, presencia de ectoturbinal, y seno maxilar en reducción. Ver Apéndice I por abreviaturas.

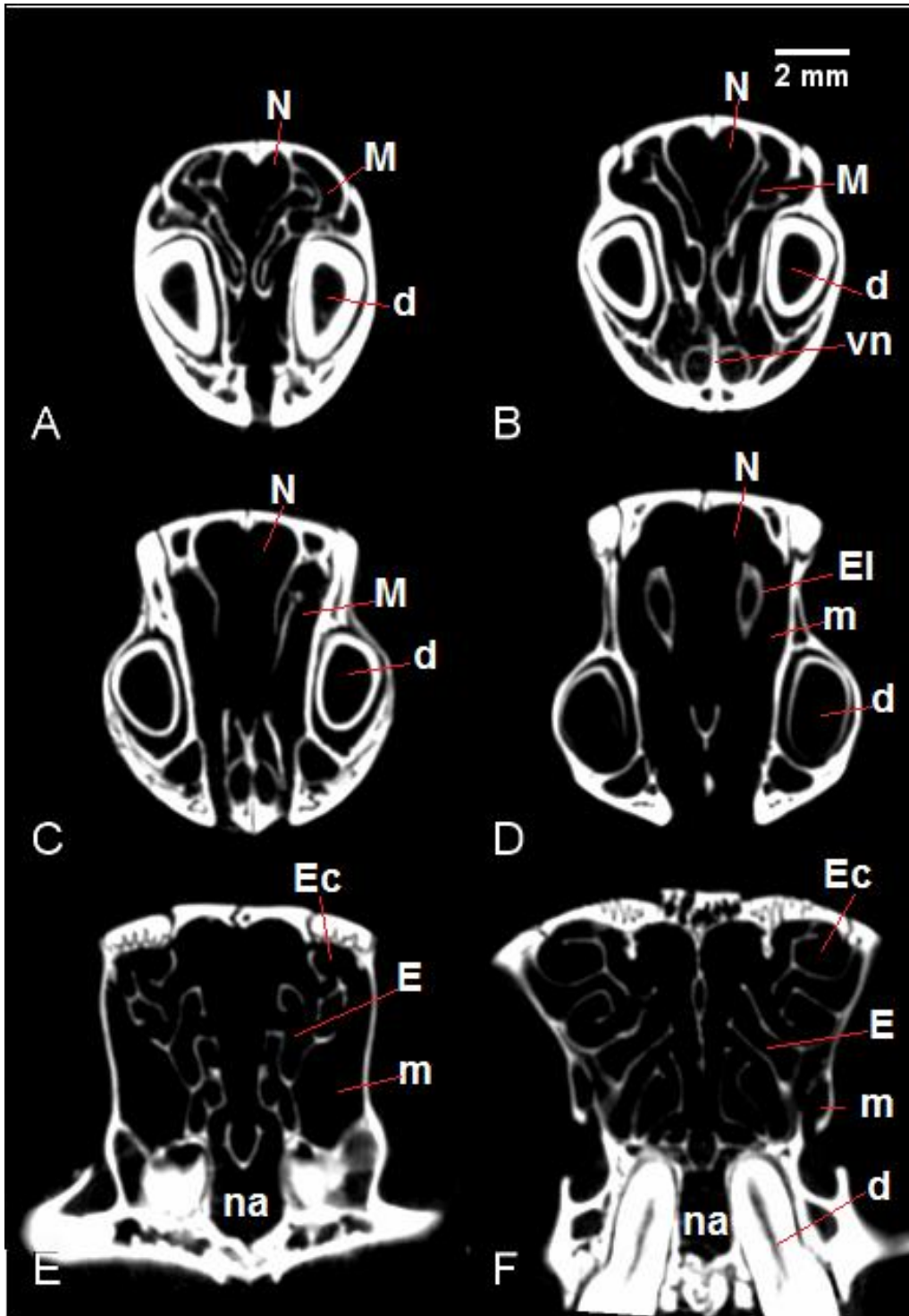


Figura 6. Serie de cortes coronales equidistantes de la fosa nasal del espécimen de *Octodontomys gliroides*, en sentido antero-posterior. A-C, naso y maxiloturbinal, con distinto grado de desarrollo; D, nasoturbinal, aparición del seno maxilar y endoturbinal I; E, endoturbinales y ectoturbinal en desarrollo, y seno maxilar; F, endoturbinales y ectoturbinal desarrollados, y seno maxilar en reducción. Ver Apéndice I por abreviaturas.

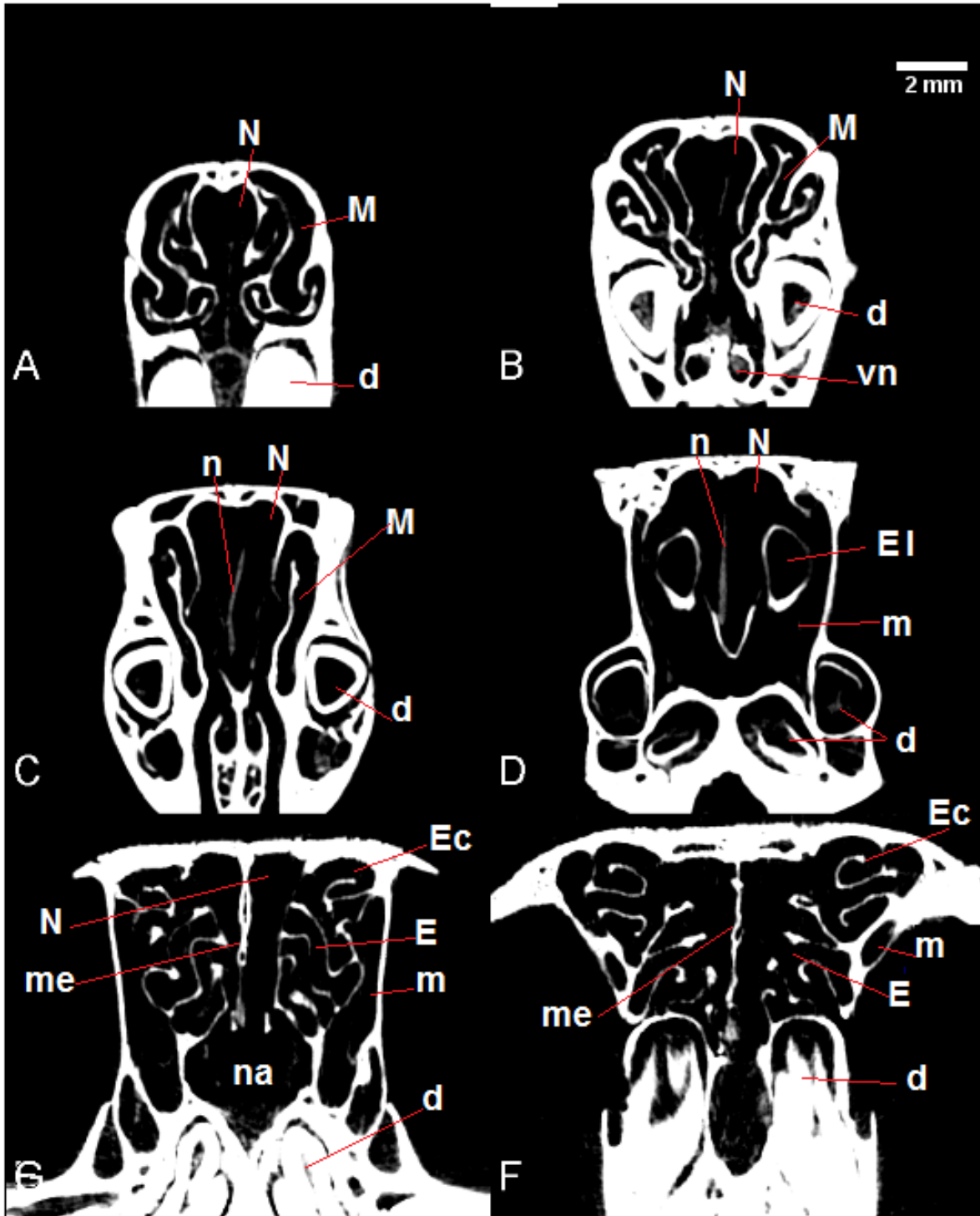


Figura 7. Serie de cortes coronales equidistantes de la fosa nasal del espécimen de *Octodon degus*, en sentido antero-posterior. A-C, naso y maxiloturbinal, con distinto grado de desarrollo; D, nasoturbinal, seno maxilar y endoturbinal I; E, endoturbinas y ectoturbinal en desarrollo, y seno maxilar; F, endoturbinas y ectoturbinal desarrollados, y seno maxilar en reducción. Ver Apéndice I por abreviaturas.

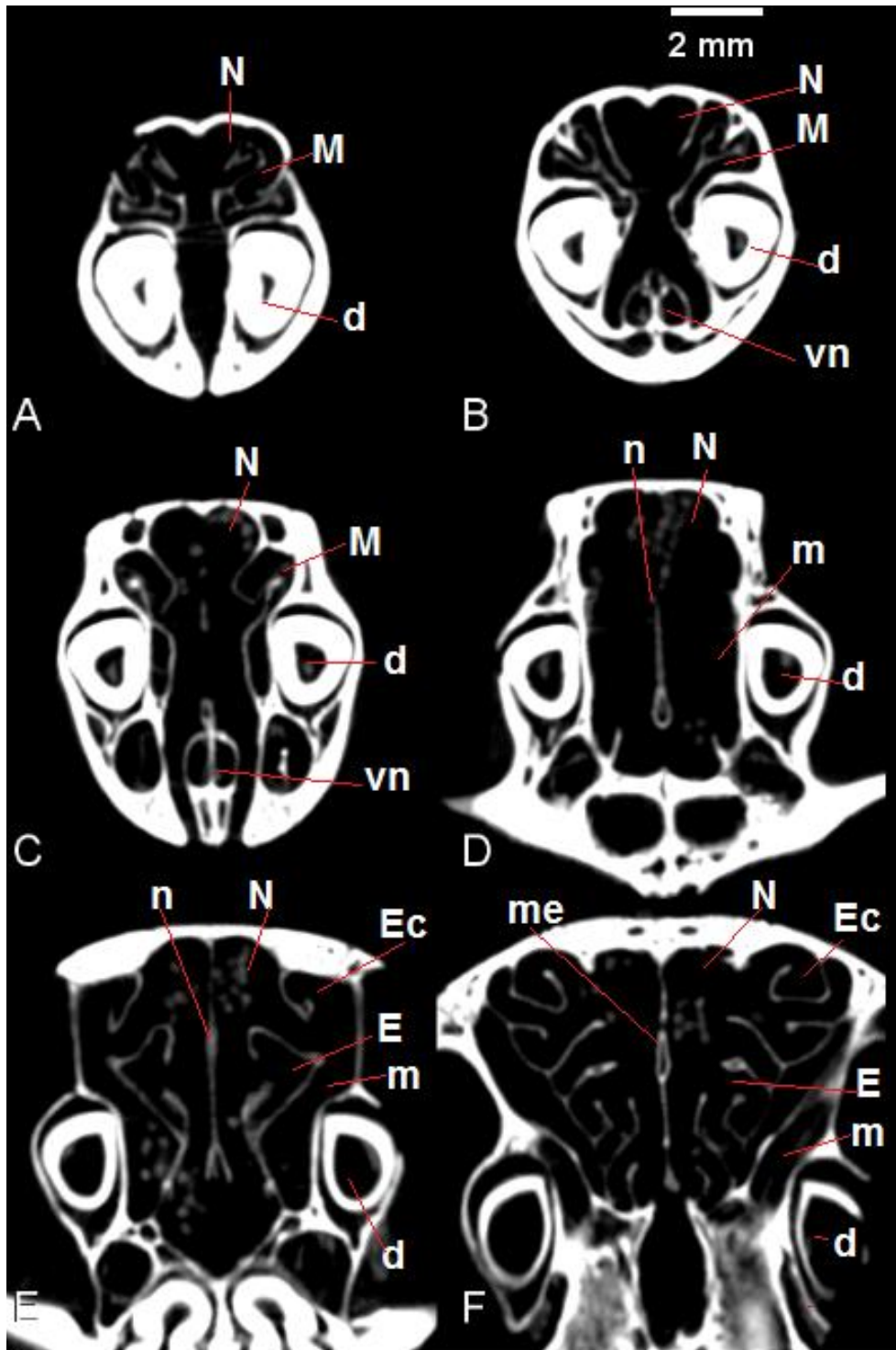


Figura 8. Serie de cortes coronales equidistantes de la fosa nasal del espécimen de *Spalacopus cyanus*, en sentido antero-posterior. A-C, naso y maxiloturbinal, con distinto grado de desarrollo; D, nasoturbinal y seno maxilar; E, endoturbinas y ectoturbinal en desarrollo, y seno maxilar; F, endoturbinas y ectoturbinal desarrollados, y seno maxilar en reducción. Ver Apéndice I por abreviaturas.

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA FOSA NASAL

En la Tabla 2 se detallan las dimensiones de la superficie y volumen aéreo de las estructuras nasales asociadas a la función respiratoria y olfativa (ver Métodos), para cada espécimen estudiado; mientras que en la Figura 9 se muestra la superficie relativa correspondiente a epitelio respiratorio y olfativo respecto de superficie total del epitelio nasal. Los individuos de las especies *C. lanigera* y *C. tuconax* presentaron la mayor extensión absoluta de epitelio nasal total, siendo particularmente mayor la extensión absoluta de epitelio olfativo en *C. lanigera*, mientras que *C. tuconax* presentó la mayor extensión absoluta respiratoria (Tabla 2). El mismo patrón se observó para las dimensiones absolutas del volumen aéreo correspondiente a estructuras respiratorias y olfativas (Tabla 2). A su vez, en el género *Ctenomys* se observa una mayor proporción de epitelio respiratorio respecto de los otros géneros analizados (Figura 9), aunque en valores absolutos la extensión de la superficie respiratoria de *C. talarum* es menor al de algunas de las especies (Tabla 2), mientras que es similar cuando se corrige dicho valor por la distancia naso-occipital (I_a , Figura 11). Además, en *C. talarum* se observan diferencias entre sexos y estadios de desarrollo (adulto vs cría), presentando mayor diferencia entre regiones respiratoria y olfativa en el macho respecto de la hembra, y en adultos respecto de la cría (Figura 9). Las proporciones obtenidas para machos de *C. talarum* y *C. tuconax* son similares (Figura 9), mientras que en valores absolutos, este último presenta la mayor extensión de la región respiratoria (Tabla 1; Figura 10).

La extensión de la superficie de turbinas, corregida por las dimensiones del espécimen (I_a), resultando en valores similares para el área respiratoria para todas las especies, excepto por *C. tuconax* que presentó un índice I_a bastante superior. Asimismo, la región olfativa fue superior para *C. lanigera*, mientras que *C. talarum* presentó los valores más bajos. El resto de las especies estudiadas muestran valores similares entre sí, e intermedio respecto de las anteriores (Figura 10a). En relación al índice determinado para el volumen del espacio aéreo de los turbinas (I_v), se observa el mismo patrón que para I_a , pero menos acentuado (Figura 10b).

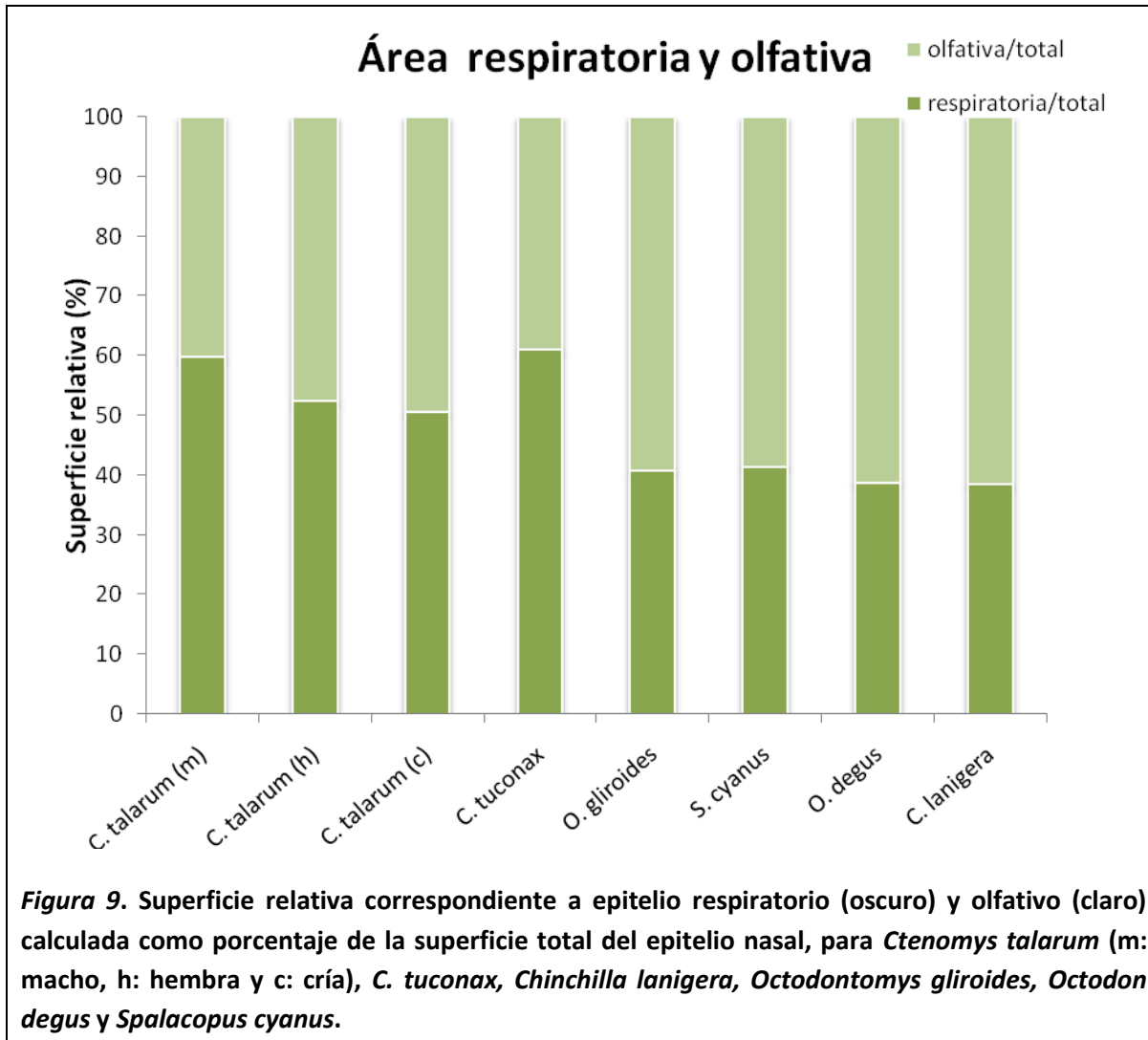
En cuanto a la contribución relativa de cada estructura analizada de la cavidad nasal, el maxiloturbinal representa en promedio un 84% del total de la superficie respiratoria en todos los especímenes estudiados (Figura 11a); mientras que los endoturbinas corresponden al mayor porcentaje de la región olfativa, siendo que el resto de las estructuras representan una proporción semejante para cada espécimen (Figura 11b). En *C. talarum* no se observaron ectoturbinas (Tabla 2).

Además, se obtuvieron valores del incremento de la superficie de contacto dada por las convoluciones de los turbinas, tanto en la zona respiratoria como olfativa, calculado mediante la razón (R) entre la superficie medida de los turbinas y la superficie calculada para esferas del mismo volumen (Tabla 2). La complejidad observada en los turbinas en el análisis de las imágenes tomográficas, respaldado en todos los casos por valores de $R > 1$, indican que la superficie de contacto entre el aire y los tejidos nasales, se encuentra incrementados tanto en la región olfativa como respiratoria. De hecho, en el género *Ctenomys*, quien presentó un mayor desarrollo de la región respiratoria por sobre la olfativa, a su vez presentó valores de R mayores en esta región asociada al acondicionamiento del flujo aéreo. En cambio, el resto de las especies estudiadas que presentaron una mayor proporción de superficie olfativa, presentaron R elevados tanto para los sectores respiratorios como olfatorios, que a su vez fueron similares entre sí, indicando un alto desarrollo de los turbinas independientemente de su función. De esta manera, en estas especies se estaría aprovechando mejor el espacio aéreo a lo largo de toda la cavidad nasal (con mayor grado de convolución), pero asignando una mayor proporción de la misma a la función olfativa. *S. cyanus*, sería la especie con los turbinas de menor desarrollo entre las aquí estudiadas, en cuanto al R y a la extensión absoluta (Tabla 2).

Por último, se obtuvieron las rectas de regresión para el área respiratoria y olfativa (Figura 12 a y b, respectivamente), en función de la distancia naso-occipital como indicador de la dimensión corporal. Se observó un incremento isométrico del área respiratoria y olfativa en función del largo naso-occipital, siendo que los valores observados caen dentro del intervalo de confianza. Sin embargo, las áreas respiratoria y olfativa para *R. norvergicus* caen por fuera del margen superior del intervalo de predicción, y el área olfativa encontrada para *C. talarum* queda por fuera del límite inferior del intervalo de predicción.

Tabla 2. Extensión superficial “epitelial” y volumen del espacio aéreo de las regiones respiratoria y olfativa de turbinas nasales en individuos de *Ctenomys talarum* (m: macho, h: hembra y c: cría), *C. tuconax*, *Chinchilla lanigera*, *Octodontomys gliroides*, *Octodon degus* y *Spalacopus cyanus*. Se muestra la razón entre la superficie cuantificada de la región respiratoria u olfativa, y la superficie calculada para una esfera de similar volumen (R).

		<i>C. talarum</i>	<i>C. talarum</i>	<i>C. talarum</i>	<i>C. tuconax</i>	<i>C. lanigera</i>	<i>O. gliroides</i>	<i>O. degus</i>	<i>S. cyanus</i>
		m	h	c					
EXTENSIÓN de SUPERFICIE (mm ²)	Región respiratoria (total)	263,86	141,01	48,59	570,80	527,84	216,99	271,01	132,11
	Maxiloturbinal	237,90	122,25	41,49	500,20	418,57	180,80	228,91	101,68
	Endoturbinal I-R	6,65	6,02	2,52	18,57	34,47	18,06	17,91	16,26
	Nasoturbinal-R	19,31	12,74	4,58	52,03	74,80	18,14	24,19	14,17
	Región olfativa (total)	166,85	124,07	47,42	364,83	830,16	316,22	403,41	180,10
	Endoturbinas	72,63	65,12	22,24	175,85	501,79	212,55	258,98	93,40
	Ectoturbinas	0,00	0,00	0,00	0,00	80,76	49,26	45,66	28,73
	Nasoturbinal-O	43,08	28,60	12,80	83,36	73,53	39,79	41,21	26,10
	Mesetmoides	51,14	30,35	12,37	105,62	174,09	14,62	57,56	31,87
	ESPCIO AÉREO	Región respiratoria	71,69	33,17	8,82	240,72	153,46	55,48	70,00
	Región olfativa	59,91	37,97	13,27	174,14	348,24	104,51	124,35	57,70
R	Región respiratoria	3,16	2,82	2,35	3,05	3,81	3,09	3,30	2,39
	Región olfativa	2,25	2,27	1,75	2,42	3,47	2,95	3,35	2,49



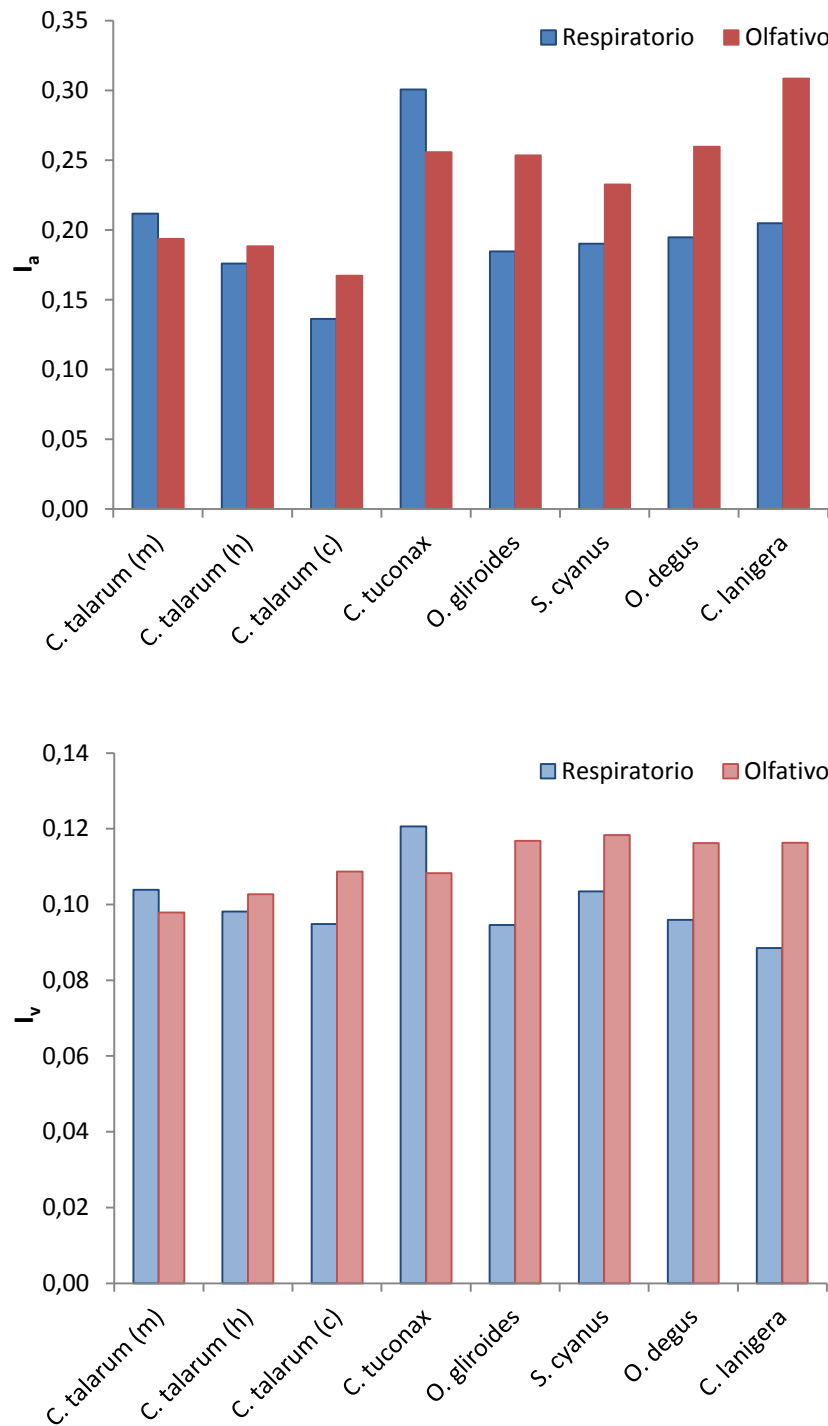
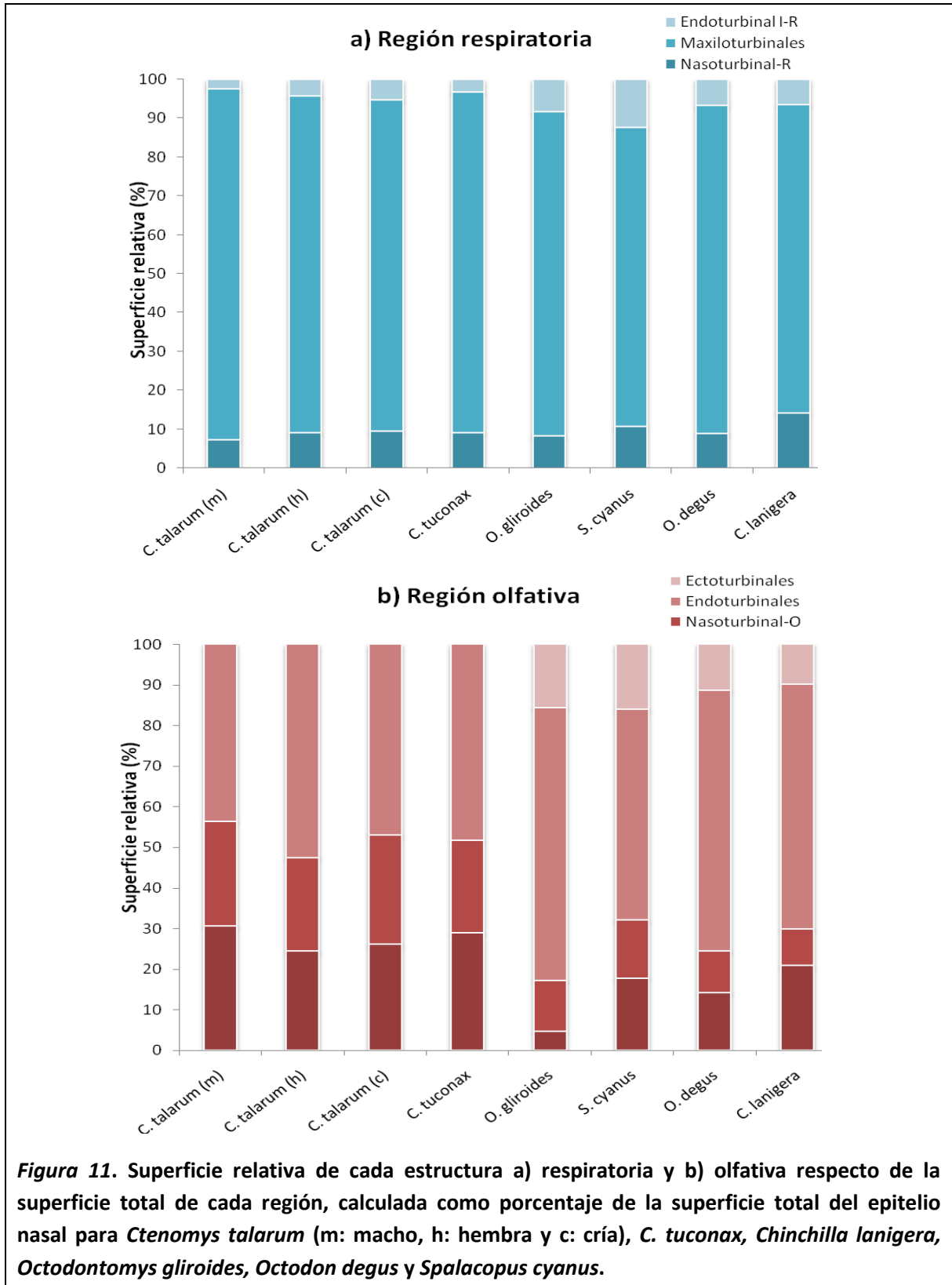


Figura 10. Índices de a) área (I_a) y b) volumen (I_v) para la región respiratoria y olfativa ($I_a=VA/L$; $I_v=^3VV/L$; donde A=área de la superficie del turbinal, L= longitud naso-occipital, V= volumen lumen turbinal), de *Ctenomys talarum* (m: macho, h: hembra y c: cría), *C. tuconax*, *Chinchilla lanigera*, *Octodontomys gliroides*, *Octodon degus* y *Spalacopus cyanus*.



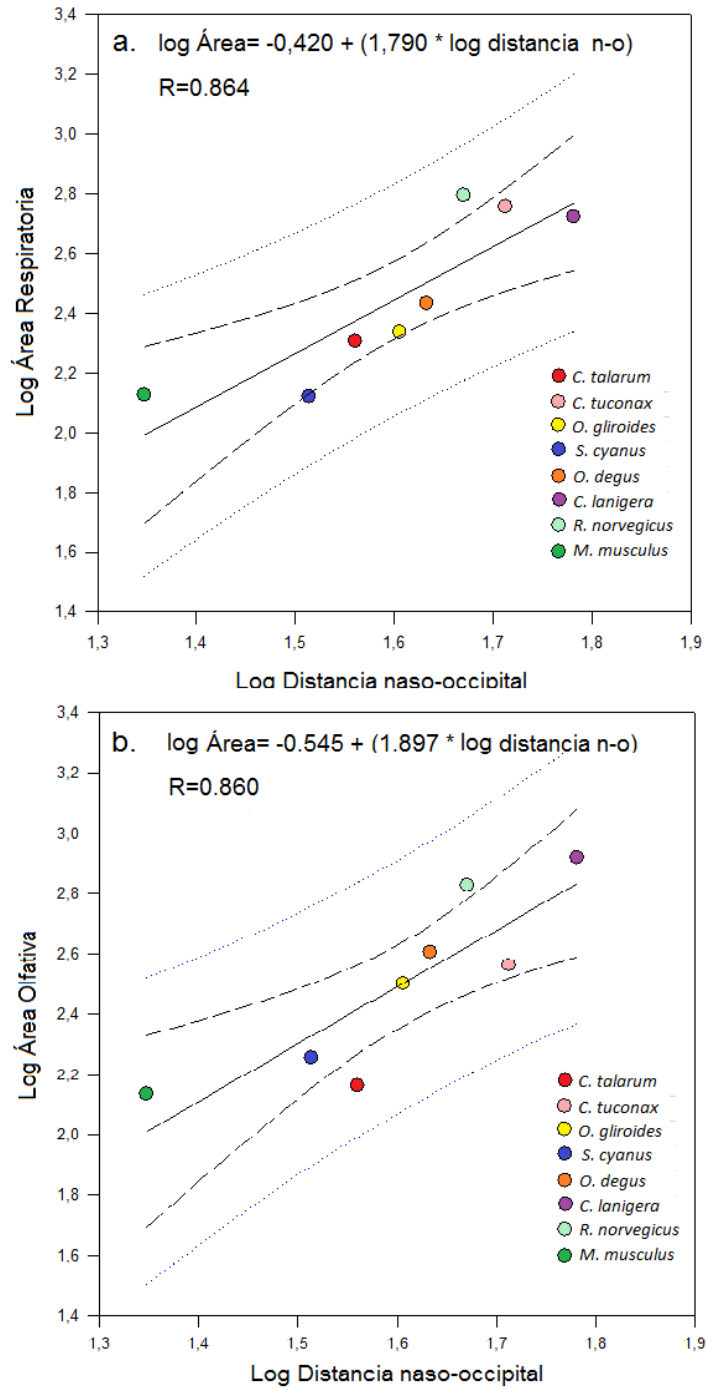


Figura 12. Regresión lineal para el logaritmo del área respiratoria (a) y olfativa (b) en función del logaritmo de la distancia naso-occipital, para *Ctenomys talarum*, *C. tuconax*, *Chinchilla lanigera*, *Octodontomys gliroides*, *Octodon degus* y *Spalacopus cyanus*, *Rattus norvegicus* y *Mus musculus*. En cada caso, se indica ecuación de regresión y valor del R. Se muestra línea de regresión (sólida), intervalo de predicción (línea cortada) e intervalo de confianza (línea punteada).

DISCUSIÓN

La cavidad nasal funciona en gran medida como órgano principal del censado de moléculas odoríferas comunes, como también feromonas, prácticamente indispensable para la supervivencia, tanto en relación al forrajeo, como evasión de predadores y reproducción (Reznik, 1990; Van Valkenburgh et al., 2014; Smith y Rossie, 2008; Rowe et al., 2005). No obstante, en dicha cavidad se encuentra uno de los sistemas termo- e hidrorreguladores más importantes para muchos organismos, cuya eficiencia depende de diversos factores. Las características del sistema de intercambio de contracorriente (Jackson y Schmidt-Nielsen, 1964), para el calentamiento o enfriamiento del flujo de aire (durante la inspiración y la expiración, respectivamente), y el grado de expresión de acuaporinas (Gallardo et al., 2008), asociadas a la reabsorción del agua condensada (durante la expiración) son importantes en la evaluación de la eficiencia regulatoria. Sin embargo, otro indicador importante es la extensión de la superficie de contacto (epitelio nasal) ya que, mediante tabiques o turbinas que se extienden hacia la luz de la fosa nasal, se incrementa el área de contacto e intercambio térmico e hídrico entre el flujo de aire y las paredes de la cavidad (Cortés et al., 1990). En este trabajo se realizó una estimación de la extensión epitelial de la fosa nasal tanto para la región respiratoria como olfativa, a través del análisis de imágenes tomográficas, en distintas especies de roedores.

Si bien el análisis se basó en el estudio de un solo cráneo por especie, excepto para *C. talarum*, se detectaron ciertas similitudes y diferencias morfométricas entre las especies estudiadas. La estructura básica de la cavidad nasal mantuvo su patrón, advirtiéndose la presencia, y similar disposición, de naso-, maxilo-, y endoturbinas en todos los casos, mientras que las especies *C. lanigera*, *O. gliroides*, *O. degus* y *S. cyanus* presentaron también un ectoturbinal bilateralmente. Ambos lados de la cavidad nasal se desarrollaron bastante conservativamente, en forma de espejo. Las variaciones interespecíficas en el grado de convolución de los turbinas se reflejaron en las series de tomografías presentadas (Figuras 1-8), mientras que a nivel cuantitativo se obtuvo la extensión de la superficie de cada estructura (Tabla 2). En cuanto a ello, para el género *Ctenomys* se observó una mayor área de la región respiratoria que olfativa, respecto de la superficie total de turbinas, mientras que en el resto de las especies predominó la región olfativa (Figura 9, Tabla 2), aún corrigiendo los valores por la dimensión del espécimen (l_a , Figura 10). En relación a la extensión absoluta, *C. tuconax* fue el que presentó una mayor superficie respiratoria, mientras que *C. lanigera* presentó el mayor desarrollo de la zona olfativa entre las especies estudiadas (Tabla 2), aún corrigiendo por la distancia naso-occipital en ambos casos (Figura 10).

Igualmente, en todos los casos, el desarrollo de los turbinales tanto respiratorios como olfativo aumentó entre 2 a casi 4 veces la extensión de la superficie nasal, respecto de una hipotética fosa nasal sin tabiques (ver R, en Tabla 2).

La mayor relación de epitelio respiratorio/olfatorio observado en *Ctenomys* (Figura 8), sería característico del género, y no del hábitat ya que se observó el mismo patrón en las dos especies de tucos analizadas (*C. talarum* y *C. tuconax*), aún presentando distinta distribución geográfica y hábitats contrastantes (Tabla 1). Sin embargo, la extensión de la superficie de turbinales fue superior en *C. tuconax*, aun considerando el mayor tamaño corporal de este último (Figura 10). Si bien ambas especies son subterráneas, las diferencias entre hábitats representaría distintas exigencias, siendo que *C. talarum* se presenta en los pastizales de la templada costa bonaerense (suelo húmedo arenoso) y *C. tuconax* en los pastizales del frío y seco Infiernillo (suelo arcilloso, húmedo y compacto; Tabla 1). Dadas las características ambientales, en este caso la temperatura, y no la humedad, estaría ejerciendo mayor presión sobre la eficiencia en el acondicionamiento del aire inhalado, y en consecuencia sobre las características de la región respiratoria de la cavidad. Además, las diferencias en la morfometría nasal podría reflejarse en la tasa de pérdida de agua por evaporación (E). Si bien no se conocen los valores de evaporación para *C. tuconax*, es esperable encontrar una E menor que para *C. talarum*, tanto por disponer de un mayor área para la recuperación del vapor de agua exhalado (Tabla 1), como por presentar una menor tasa metabólica basal (TMB = 0,64 ml O₂/g h para *C. tuconax*, Luna et al., 2009; TMB = 0,95 ml O₂/g h para *C. talarum*, Busch, 1989), lo que implicaría una menor tasa de recambio tanto energético como hídrico. Por otra parte, si bien no hay disponibles valores para la morfometría de turbinales en otras especies de este género, los valores de E para *Ctenomys fulvus* y *Ctenomys opimus* son menores que para *C. talarum* (2,8-4,55 mg H₂O/g h; Capítulo 3), siendo respectivamente de 1,26 mg H₂O/g h (medido a 10-25°C; Cortés et al., 2000b), y 1,56 mg H₂O/g h (medido a 10-25°C; Díaz y Cortés, 2003). Esto sugiere la existencia de adaptaciones interespecíficas para *Ctenomys*, siendo que *C. fulvus* habita el árido Salar de Atacama (Cortés et al., 2000b) y *C. opimus*, a 3200 m.s.n.m. a lo largo del Altiplano de Perú, noroeste de Argentina, norte de Chile y sudoeste de Bolivia (Patton et al., 2015).

Si bien la relación de epitelio respiratorio/olfatorio en las otras especies estudiadas fue inferior a la de *Ctenomys* (Figura 9), en términos absolutos la extensión del área respiratoria fue casi tan alta para *C. lanigera* como para *C. tuconax*, e inferior y similar entre sí para *C. talarum* (macho adulto), *O. gliroides* y *O. degus* (Tabla 2). Sin embargo, al considerar el tamaño del espécimen, el I_a es

similar para todas las especies, excepto para *C. tuconax* que presenta un índice más elevado (Figura 10). Excepto por *C. talarum*, las especies analizadas se distribuyen en hábitats xéricos o semixéricos, y en algunos casos con hábito de vida de superficie. Asociado a ello, se encontraron bajas tasas de evaporación tanto para *O. degus* ($E = 0,89 \text{ mg H}_2\text{O/g h}$, a $10\text{-}20 \text{ }^\circ\text{C}$), como para *C. lanigera* ($E = 0,58 \text{ mg H}_2\text{O/g h}$, a $5\text{-}20^\circ$; Cortés et al., 2000b).

En el caso de *C. talarum* se observan diferencias entre sexos, aunque sólo se estudió un espécimen de cada uno (Tabla 2). En cuanto a la cría, se observa R menores que en adultos (Tabla 2), indicando mayor simplicidad de los turbinales, sugiriendo un desarrollo paulatino a lo largo de la ontogenia de los mismos, tal como fue observado en otras especies (Coppola et al., 2014; Rowe et al., 2005). Así mismo, la diferencia de masa corporal entre hembra y macho de los especímenes de *C. talarum*, tendría efecto sobre el área de los turbinales, probablemente asociado tanto al dimorfismo sexual, como también a posibles diferencias en la etapa del desarrollo (no evaluable aquí). Es más, cuando se evalúa el área de manera independiente del tamaño corporal, la hembra de *C. talarum* presenta mayor superficie olfativa, mientras que el macho, respiratoria (Figura 10).

Por último, el análisis de regresión arrojó una relación isométrica entre las variables de área de la superficie respiratoria y olfativa y la longitud naso-occipital, como indicador de tamaño corporal, teniendo en cuenta que todos los especímenes estudiados son roedores. Considerando las diferencias encontradas entre especies para la superficie de cada sector nasal, éstas parecen asociarse a las diferencias en tamaño corporal. Sin embargo, si bien se realizó una regresión de los valores obtenidos y encontrados en la bibliografía para roedores, sólo fueron utilizadas un total de 8 especies, siendo un número normalmente pequeño para este tipo de análisis. En consecuencia, mientras éste es sólo una aproximación, la Figura 10 que muestra el índice respiratorio más elevado para *C. tuconax* y olfativo para *C. lanigera*, sugiere una posible especialización. Si bien actualmente la bibliografía es acotada en cuanto al análisis morfométrico de áreas respiratoria y olfativa, tanto en roedores (Gross et al., 1982; Cortés et al., 1990) como otros mamíferos (primates, Smith y Rossie, 2008, Rowe et al., 2005; Smith et al., 2011) sería interesante continuar indagando sobre este aspecto dentro de Rodentia, en asociación a la ecología de las especies.

La complejidad de los turbinales nasales en mamíferos, en conjunto a los valores bajos encontrados para la E respiratoria tanto en especies desérticas como mésicas, indica que el desarrollo del mecanismo de recuperación de agua nasal sería una característica intrínseca de la clase y no habría surgido como adaptación a nuevos ambientes (Hillenius, 1992). Relacionado a esto, la endotermia en mamíferos implica una elevación de la tasa metabólica, aproximadamente

11-17 veces la de reptiles, lo que exige un ajuste térmico asociado a un aumento en la pérdida de agua respiratoria, que sólo alcanza 2-5 veces la de dicho grupo (Hillenius, 1992). Esta regulación es reflejada en la complejidad de los turbinas nasales, siendo que la E respiratoria se reduce en un 36-143% durante la respiración naso-faríngea respecto de la oral (Hillenius, 1992).

Por otra parte, los diferentes valores de E dentro de Mammalia (Hillenius, 1992; Díaz y Cortés, 2003) indicarían especializaciones tanto en la fisiología respiratoria como en la morfología interna de la cavidad nasal, dentro del grupo. Smith et al., 2015 plantea una causa ecológica y otra de “competencia de funciones” en relación a la preponderancia del desarrollo de los distintos turbinas en la cavidad nasal. Así, la complejización de los turbinas respiratorios en especies acuáticas respecto de sus parientes terrestres, se asocia a un mayor requerimiento en el acondicionamiento térmico del flujo de aire, que ocurre en detrimento del desarrollo de la región olfativa, de menor importancia por la forma de vida que llevan. Así mismo, en murciélagos, la simplificación de maxiloturbinas y de la región olfativa en distinto grado ocurre en pos del desarrollo de una cavidad funcional a la emisión nasal asociada a la ecolocalización (Nelson et al., 2007).

En conclusión, concomitante a la aparición de la endotermia en mamíferos, surgió la complejización de turbinas nasales que aumentó la eficiencia a nivel termorregulatorio, y con ello, la tasa de recuperación del vapor de agua exhalado. Sin embargo, las diferencias ecológicas de los diversos grupos resultaron en especializaciones y reducción de estructuras (Smith et al., 2015). Para Ctenómidos, se observó un mayor desarrollo de turbinas respiratorios, aunque diferencias en la superficie de extensión según la especie (*C. talarum* y *tuconax*). Sin embargo, se necesitan nuevos estudios para determinar si esta característica es convergente respecto de otros roedores subterráneos relacionándose a su ecología, tal como ocurre con las bajas tasas metabólicas en fosoriales (McNab, 1966), o si depende de la filogenia.

APÉNDICE I

Abreviaturas de las figuras. Entre paréntesis, otro nombre comúnmente utilizado para la misma estructura.

N	Nasoturbinal
M	Maxiloturbinal
m	Seno maxilar
E	Endoturbinal
Ec	Ectoturbinal
n	Septo nasal
me	Mesetmoides
na	Pasaje nasofaríngeo
d	Pieza dentaria
vn	Órgano vomeronasal
C	Cavidad craneal

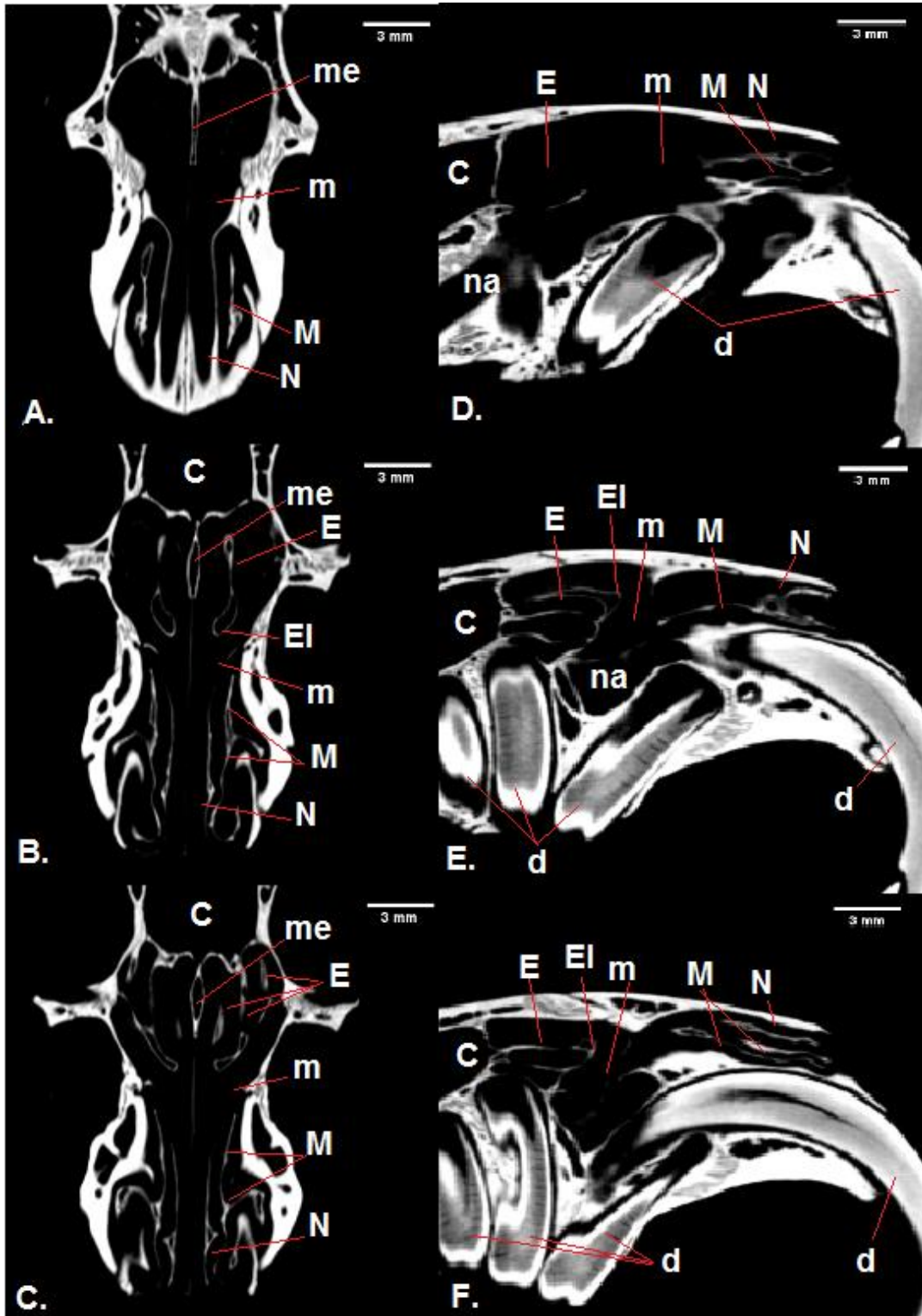


Figura Ap1. Desarrollo de las estructuras de la fosa nasal descritas en la Figura 1 para el espécimen macho adulto de *Ctenomys talarum*, en el plano horizontal (A-C) en sentido dorso-ventral, y sagital (D-F) en sentido externo-medio de la fosa izquierda. Ver Apéndice I por abreviaturas.

CONCLUSIÓN GENERAL

⊗ Se observaron distintos ajustes en el balance hidrosalino de *Ctenomys talarum*, a lo largo del año, y en función de la dieta y variaciones en factores abióticos como temperatura y humedad ambiente.

⊗ En relación a la pérdida de agua por evaporación,

✓ se redujo durante la época reproductiva, correspondiente a primavera-verano, asociado a una mayor exigencia ambiental (aumenta temperatura ambiente y requerimientos nutricionales e hídricos; Capítulo 1);

✓ aumentó cuando la temperatura ambiente superó el rango de termoneutralidad, aunque su contribución fue sólo de una quinta parte de la disipación de calor total (Capítulo 2);

✓ es independiente de la humedad ambiente de aclimatación (dentro de la zona termoneutral y medida en aire seco; Capítulo 3) y de la variación en el contenido hídrico y salino de la dieta (Capítulo 4);

✓ a nivel interespecífico, los valores para *C. talarum* son superiores a los encontrados en otros roedores de similar masa corporal, incluyendo otras especies del género (Capítulo 1). En relación a ello, se observó un mayor desarrollo de turbinas respiratorias respecto de olfativos para las dos especies de *Ctenomys* analizadas, siendo que en valores absolutos la extensión de la zona respiratoria de *C. tuconax* fue similar o incluso superior respecto de especies xéricas medidas, mientras que en *C. talarum* fue acotada, lo que probablemente esté asociado a la alta tasa de pérdida de agua por evaporación observada en relación a otros roedores (Capítulo 5).

⊗ La pérdida de agua a través de las heces no varió estacionalmente (Capítulo 1) ni difirió entre dietas con distinto contenido de agua y sales (Capítulo 4), con lo que la composición de las heces reflejaría un alto ajuste del rendimiento del sistema gastrointestinal de *C. talarum*, independientemente de la fluctuación anual natural de la dieta.

⊗ A nivel urinario,

✓ se observaron ajustes en la concentración de la orina, aumentando hacia la primavera, mientras que existe una correlación entre la concentración de potasio en orina y la época del año, asociada a la variación estacional en la dieta (Capítulo 1);

✓ si bien no se observaron diferencias frente al consumo de alimentos con distinto contenido de agua y sales, por la alta variabilidad encontrada dentro de la especie (Capítulo 4), se

registraron valores del triple para la osmolaridad respecto del pico más alto encontrado en condiciones naturales (Capítulo 1).

✓ a pesar que *C. talarum* normalmente no produce orina tan concentrada como la de roedores de ambientes xéricos, tiene la habilidad de concentrarla hasta 3 veces más de lo que su ambiente le exige en las condiciones más extremas de baja disponibilidad de agua, característica posiblemente relacionada con su historia evolutiva (Capítulo 4).

⊕ La constancia en la composición del plasma independientemente de la estación del año (Capítulo 1), la humedad atmosférica de aclimatación (Capítulo 3) e inclusive la dieta de mayor o menor contenido de agua y sales (Capítulo 4), indica que los tuco-tucos son capaces de hacer los ajustes necesarios para mantener su equilibrio sin alcanzar límites extremos.

⊕ Se sugiere que las condiciones silvestres no representan un desafío para esta especie, aun considerando las variaciones a lo largo del año en las condiciones bióticas y abióticas, ya que existe una compensación en la preferencia de la dieta en función de su disponibilidad.

⊕ Se propone que la capacidad de regulación en relación a la formación de orina, la estable tasa de evapotranspiración, habitar cuevas con alta humedad atmosférica, y la baja tasa metabólica, representarían adaptaciones que contribuyen en la regulación del balance hidrosalino en tuco-tucos.

BIBLIOGRAFÍA

- Al-kahtani, M. A., Zuleta, C., Caviedes-Vidal, E., y Garland Jr, T. 2004. Kidney mass and relative medullary thickness of rodents in relation to habitat, body size, and phylogeny. *Physiological and Biochemical Zoology* 77(3): 346-365.
- Antinuchi, C. D., y Busch, C. 1992. Burrow structure in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Z. Säugetierkd.* 57: 163-168.
- Baldo, M. B., Luna, F., Schleich, C. E., y Antenucci, C. D. 2014. Thermoregulatory development and behavior of *Ctenomys talarum* pups during brief repeated postnatal isolation. *Comp. Biochem. Phys. A* 173: 35-41.
- Baudinette, R.V. 1972. Energy metabolism y evaporative water loss in the California ground squirrel. *J. Comp. Physiol. A* 81: 57-72.
- Bernstein, M.H., Hudson, D.M., Stearns, J.M., y Hoyt, R.W. 1977. Measurement of evaporative water loss in small animals by dew-point hygrometry. *J. Appl. Physiol.* 43: 382-385.
- Bintz, G.L., y Roesbery, H.W. 1978. Evaporative water loss by control y starved laboratory rats y *Spermophilus richardsoni*. *Comp. Biochem. Phys. A* 59: 275-278.
- Bozinovic, F., Rojas, J. M., Gallardo, P. A., Palma, R. E., y Gianoli, E. 2011. Body mass and water economy in the South American olivaceous field mouse along a latitudinal gradient: Implications for climate change. *J. Arid Environ.* 75: 411-415.
- Bozinovic, F., Cruz-Neto, A.P., Cortés, A., Diaz, G.B., Ojeda, R.A., y Giannoni, S.M. 2007. Physiological diversity in tolerance to water deprivation among species of South American desert rodents. *J. Arid Environ.* 70: 427-442.
- Bozinovic, F., y Gallardo, P. 2006. The water economy of South American desert rodents: from integrative to molecular physiological ecology. *Comp. Biochem. Phys. C* 142: 163-172.
- Brower, J.E., y Cade, T.J. 1966. Ecology and physiology of *Napaeozapus insignis* (Miller) and other woodland mice. *Ecology* 47: 46-53.
- Buffenstein, R. 2000. Ecophysiological responses of subterranean rodents to underground habitats. En: Lacey, E.A., Patton, J.L., Cameron, G.N. (Eds.), *Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents*. University of Chicago Press, Illinois, pp. 62-110.
- Buffenstein, R., y Yahav, S. 1991. Is the naked mole-rat *Hererocephalus glaber* an endothermic yet poikilothermic mammal?. *J. Therm. Biol.* 16: 227-232.

- Burda, H., Sumner, R., y Begall, S. 2007. Microclimate in burrows of subterranean rodents-revisited. En: Subterranean rodents: news from underground. Begall, Burda, Scheich Eds. Springer, 398 pp.
- Busch, C. 1989. Metabolic rate and thermoregulation in two species of tuco-tuco, *Ctenomys talarum* and *Ctenomys australis* (Caviomorpha, Octodontidae). *Comp. Biochem. Physiol. A* 93: 345-347.
- Busch, C. 1987. Haematological correlates of burrowing in *Ctenomys*. *Comp. Biochem. Phys. A* 86: 461-463.
- Castellar, A., Bertoli, P.C., Galdino, L.H., Domeniconi, R.F., y Cruz-Neto, A.P. 2015. Differences in physiological traits associated with water balance among rodents, and their relationship to tolerance of habitat fragmentation. *J. Exp. Zool. A* 323: 731-744.
- Chew, R.M. 1951. The water exchanges of some small mammals. *Ecol. Monogr.* 215-225.
- Comparatore, V. M., Cid, M. S., y Busch, C. 1995. Dietary preferences of two sympatric subterranean rodent populations in Argentina. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 68: 197-206.
- Comparatore, V.M., Maceira, N.O., y Busch, C. 1991. Habitat relations in *Ctenomys talarum* (Caviomorpha, Octodontidae) in a natural grassland. *Z. Säugetierkd.* 56: 112-118.
- Contreras et al., 1987. En: Torres-Mura JC & Contreras LC, 1998. *Spalacopus cyanus*. Mammalian Species. *The American Society of Mammalogists* 594: 1-5.
- Cooper, C.E., y Withers, P.C. 2014. Physiological responses of a rodent to heliox reveal constancy of evaporative water loss under perturbing environmental conditions. *Am. J. Physiol.* 307: 1042-1048.
- Cooper, C.E., y Withers, P.C. 2008. Allometry of evaporative water loss in marsupials: implications of the effect of ambient relative humidity on the physiology of brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*). *J. Exp. Biol.* 211: 2759-2766.
- Coppola, D. M., Craven, B. A., Seeger, J., y Weiler, E. 2014. The effects of naris occlusion on mouse nasal turbinate development. *J. Exp. Biol.* 217: 2044-2052.
- Cortés, A., Rosenmann, M., y Bozinovic, F. 2000a. Water economy in rodents: evaporative water loss and metabolic water production. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 73: 311-321.
- Cortés, A., Miranda, E., Rosenmann, M., y Rau, J.R. 2000b. Thermal biology of the fossorial rodent *Ctenomys fulvus* from the Atacama desert, northern Chile. *J. Therm. Biol.* 25: 425-430.

- Cortés, A., Rosenmann, M., y Báez, C. 1990. Función del riñón y del pasaje nasal en la conservación de agua corporal en roedores simpátridos de Chile central. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 63: 279-291.
- Craven, B.A., Paterson, E.G., y Settles, G.S. 2010. The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. *Journal of The Royal Society Interface* 7: 933-943.
- Cutrera, A.P., Antinuchi, C.D. Mora, M.S., y Vassallo A.I. 2006. Home-range and activity patterns of the South American subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *J. Mammal.* 87: 1183-1191.
- Cutrera, A.P., y Antinuchi, C.D. 2004. Cambios en el pelaje del roedor subterráneo *Ctenomys talarum*: posible mecanismo térmico compensatorio. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 77: 235-242.
- Del Valle, J. C., y López Mañanes, A. A. 2008. Digestive strategies in the South American subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Comp. Biochem. Phys. A* 150: 387-394.
- Del Valle, J. C., López Mañanes, A. A., y Busch, C. 2006. Seasonal changes in body composition of *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae): an herbivore subterranean rodent. *Comp. Biochem. Phys. A* 145: 20-25.
- Del Valle, J.C., Lohfelt, M.I., Comparatore, V.M., Cid, M.S., y Busch, C. 2001. Feeding selectivity and food preference of *Ctenomys talarum* (tuco-tuco). *Mamm. Biol.* 66: 165-173.
- Díaz, G.B., Ojeda, R.A., y Rezende, E.L. 2006. Renal morphology, phylogenetic history and desert adaptation of South American hystricognath rodents. *Funct. Ecol.* 20: 609-620.
- Díaz, G., y Cortés, A. 2003. Pequeños mamíferos en los ambientes desérticos: los problemas de conservación de agua. En: Fisiología ecológica y evolutiva. Bozinovic F (Ed). Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile, pp 357-376.
- Díaz, G.B. 2001. Ecofisiología de Pequeños Mamíferos de Las Tierras Áridas de Argentina: Adaptaciones Renales. En: Díaz, G. B., Ojeda, R. A., y Rezende, E. L. 2006. Renal morphology, phylogenetic history and desert adaptation of South American hystricognath rodents. *Funct. Ecol.* 20: 609-620.
- Díaz, G.B., y Ojeda, R.A. 1999. Kidney structure and allometry of Argentine desert rodents. *J. Arid Environ.* 41: 453-461.
- Edwards, R.M., y Haines, H. 1978. Effects of ambient water vapor pressure y temperature on evaporative water loss in *Peromyscus maniculatus* y *Mus musculus*. *J. Comp. Physiol.* 128: 177-184.

- Fanjul, M.S., Zenuto, R.R., y Busch, C. 2006. Seasonality of breeding in wild tuco-tucos *Ctenomys talarum* in relation to climate and food availability. *Acta Theriol.* 51: 283-293.
- Gallardo, P. A., Cortés, A., y Bozinovic, F. 2005. Phenotypic flexibility at the molecular and organismal level allows desert-dwelling rodents to cope with seasonal water availability. *Physiol. Biochem. Zool.* 78: 145-152.
- Gallardo, P., Olea, N., y Sepúlveda, F.V. 2002. Distribution of aquaporins in the colon of *Octodon degus*, a South American desert rodent. *Am. J. Physiol-Reg. I.* 283: R779-R788.
- Gates, D.M. 2012. Biophysical ecology. Courier Corporation.
- Gettinger, R.D. 1984. Energy and water metabolism of free-ranging pocket gophers, *Thomomys bottae*. *Ecology* 740-751.
- Gross, E.A., Swenberg, J.A., Fields, S., y Popp, J.A. 1982. Comparative morphometry of the nasal cavity in rats and mice. *J. Anat.* 135: 83-88.
- Haim, A., Zubidat, A.E., y Van Aarde, R.J. 2008. Daily rhythms of body temperature and heat production of sibling *Mastomys* species from different ecosystems—The response to photoperiod manipulations. *Comp. Biochem. Physiol. A* 151: 505-510.
- Hillenius, W. J. 1994. Turbinates in therapsids: evidence for Late Permian origins of mammalian endothermy. *Evolution* 207-229.
- Hillenius, W. J. 1992. The evolution of nasal turbinates and mammalian endothermy. *Paleobiology* 18: 17-29.
- Hind, D.E., y MacMillen, R.E. 1985. Scaling of energy metabolism and evaporative water loss in heteromyid rodents. *Physiol. Zool.* 58: 282-298.
- Huynh, T.T.T., Aarnink, A.J.A., Heetkamp, M.J.W., Verstegen, M.W.A., y Kemp, B. 2007. Evaporative heat loss from group-housed growing pigs at high ambient temperatures. *J. Therm. Biol.* 32: 293-299.
- Jackson, D.C., y Schmidt-Nielsen, K. 1964. Countercurrent heat exchange in respiratory passages. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 51: 1192–1197.
- Kay, F.R. 1975. Environmental physiology of the banner-tailed kangaroo rat—I. Influences of ambient temperature, humidity y carbon dioxide on body temperature. *Comp. Biochem. Phys. A* 50: 483-488.

- Kumar, P., Timoney, J.F., Southgate, H.H.P., y Sheoran, A.S. 2000. Light and Scanning Electron Microscopic Studies of the Nasal Turbinates of the Horse. *Anat. Histol. Embryol.* 29:103-109.
- Kumar, P., Kumar, S., y Singh, Y. 1993. Histological studies on the nasal ethmoturbinates of goats. *Small Ruminant Res.* 11: 85-92.
- Larcombe, A.N., Withers, P.C., y Nicol, S.C. 2006. Thermoregulatory, metabolic and ventilatory physiology of the eastern barred bandicoot (*Peramelesgunnii*). *Austral. J. Zool.* 54: 9-14.
- Lauria De Cidre, L. 1974. Estudio histológico del riñón de *Ctenomys talarum*. *Mammalia, Ctenomyidae*. *Physis* 86: 157-162.
- Lighton, J.R.B. 2008. Measuring Metabolic Rates: A Manual for Scientists. Oxford University Press, New York.
- Lovegrove, B.G., Canale, C., Levesque, D., Fluch, G., Řeháková-Petrů, M., y Ruf, T. 2013. Are tropical small mammals physiologically vulnerable to Arrhenius effects and climate change?. *Physiol. Biochem. Zool.* 87: 30-45.
- Lovegrove, B.G. 2003. The influence of climate on the basal metabolic rate of small mammals: a slow-fast metabolic continuum. *J. Comp. Physiol.* 173: 87-112.
- Luna, F., Antenucci, C.D., y Bozinovic, F. 2009. Comparative energetics of the subterranean *Ctenomys* rodents: breaking patterns. *Physiol. Biochem. Zool.* 82: 226-235.
- Luna, F., y Antinuchi, C.D. 2007. Energetics and thermoregulation during digging in the rodent tuco-tuco (*Ctenomys talarum*). *Comp. Biochem. Physiol. A* 146: 559-564.
- Luna, F., Antinuchi, C.D., y Busch, C. 2000. Ritmos de actividad locomotora y uso de las cuevas en condiciones seminaturales en *Ctenomys talarum* (Rodentia, Octodontidae). *Rev. Chil. Hist. Nat.* 73: 39-46.
- MacMillen, R.E., y Hinds, D.S. 1983. Water regulatory efficiency in heteromyid rodents: A model and its application. *Ecology* 64: 152-164.
- Malizia, A. I., y Busch, C. 1991. Reproductive parameters and growth in the fossorial rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). *Mammalia* 55: 293-306.
- Malizia, A.I., Zenuto, R.R., y Busch, C. 1995. Demographic and reproductive attributes of dispersers in two populations of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (tuco-tuco). *Can. J. Zool.* 73: 732-738.

- Mares, M. A. 1977. Water economy and salt balance in a South American desert rodent, *Eligmodontia typus*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 56: 325-332.
- Martino, N.S., Zenuto, R.R., y Busch, C. 2007. Nutritional responses to different diet quality in the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (tuco-tucos). *Comp. Biochem. Physiol. A* 147: 974-982.
- McNab, B.K., 2002. *The Physiological Ecology of Vertebrates: A View from Energetics*. Cornell University Press, New York.
- McNab, B.K. 1980. On estimating thermal conductance in endotherms. *Physiol. Zool.* 53: 145-156.
- McNab, B.K. 1979. The influence of body size on the energetics and distribution of fossorial and burrowing mammals. *Ecology* 60: 1010–1020.
- McNab, B.K. 1966. The Metabolism of Fossorial Rodents: A Study of Convergence. *Ecology* 47:712-733.
- Meroi, F.R., Luna, F., y Antenucci, D. 2014. Variación estacional de la tasa metabólica de reposo en *Ctenomys talarum* (Rodentia, *Ctenomyidae*): ausencia de efectos ambientales. *Mastozoología neotropical* 21: 241-250.
- Minnaar, I.A., Bennett, N.C., Chimimba, C.T., y McKechnie, A.E. 2014. Partitioning of Evaporative Water Loss into Respiratory and Cutaneous Pathways in Wahlberg's Epauletted Fruit Bats (*Epomophorus wahlbergi*). *Physiol. Biochem. Zool.* 87: 475-485.
- Moore, 1981. En: Coppola, D.M., Craven, B.A., Seeger, J., y Weiler, E. 2014. The effects of naris occlusion on mouse nasal turbinate development. *J. Exp. Biol.* 217: 2044-2052.
- Nelson, J.E., Christian, K.A., y Baudinette, R.V. 2007. Anatomy of the nasal passages of three species of Australian bats in relation to water loss. *Aust. J. Zool.* 55: 57-62.
- Nevo, E. 1999. *Mosaic Evolution of Subterranean Mammals: Regression, Progression, and Global Convergence*. Oxford University Press, New York.
- Nevo, E. 1979. Adaptive convergence y divergence of subterranean mammals. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 269-308
- Ntshotsho, P., van Aarde, R.J., Nicolson, S.W., y Jackson, T.P. 2004. Renal physiology of two southern African *Mastomys* species (Rodentia: Muridae): a salt-loading experiment to assess concentrating ability. *Comp. Biochem. Physiol. A* 139: 441-447.
- Patton, J.L., Pardiñas U.F.J., y D'Elía G. 2015. *Mammals of South America, Volume 2, Rodents*. The University of Chicago Press, Chicago and London.

- Perissinotti, P.P., Antenucci, C.D., Zenuto, R., y Luna, F. 2009. Effect of diet quality and soil hardness on metabolic rate in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 154: 298-307.
- Reznik, G.K. 1990. Comparative anatomy, physiology, and function of the upper respiratory tract. *Environ. Health Persp.* 85, 171-176.
- Rodland, K.D., y Hainsworth, F.R. 1974. Evaporative water loss and tissue dehydration of hamsters in the heat. *Comp. Biochem. Physiol. A* 49: 331-345.
- Rowe, T.B., Eiting, T.P., Macrini, T.E., y Ketcham, R.A. 2005. Organization of the olfactory and respiratory skeleton in the nose of the gray short-tailed opossum *Monodelphis domestica*. *Journal of Mammalian Evolution* 12: 303-336.
- Schleich, C.E. 2010. Ontogeny of spatial working memory in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Dev. Psychobiol.* 52, 592-597.
- Schmidt, S., Withers, P.C., y Cooper, C.E. 2009. Metabolic, ventilatory and hygric physiology of the chuditch (*Dasyurus geoffroii*; Marsupialia, Dasyuridae). *Comp. Biochem. Physiol. A* 154: 92-97.
- Schmidt-Nielsen, K. 1997. *Animal Physiology: Adaptation and Environment*. Cambridge University Press, New York.
- Schmidt-Nielsen, K., Hainsworth, F.R., y Murrish, D.E., 1970. Counter-current heat exchange in the respiratory passages: effect on water and heat balance. *Resp. Physiol.* 9: 263-276.
- Schmidt-Nielsen, B., y Schmidt-Nielsen, K. 1950a. Pulmonary water loss in desert rodents. *Am. J. Physiol.* 162: 31-36.
- Schmidt-Nielsen, B., y Schmidt-Nielsen, K. 1950b. Evaporative water loss in desert rodents in their natural habitat. *Ecology* 31: 75-85.
- Seymour, R.S., Withers, P.C., y Weathers, W.W. 1998. Energetics of burrowing, running, y free-living in the Namib Desert golden mole (*Eremitalpa namibensis*). *J. Zool.* 244, 107-117.
- Sikes, R.S., y Gannon, W.L. 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *J. Mammal.* 92: 235-253.
- Smith, T., Eiting, T., y Bhatnagar, K. 2015. Anatomy of the nasal passages in mammals. En: Doty R.L., *Handbook of Olfaction and Gustation*, John Wiley & Sons Eds, pp 37-62.

- Smith, T.D., Eiting, T.P., y Rossie, J.B. 2011. Distribution of olfactory and nonolfactory surface area in the nasal fossa of *Microcebus murinus*: implications for microcomputed tomography and airflow studies. *Anat. Rec.* 294: 1217-1225.
- Smith, T.D., y Rossie, J.B. 2008. Nasal fossa of mouse and dwarf lemurs (primates, cheirogaleidae). *Anat. Rec.* 291: 895-915.
- Stein, B.R. 2000. Morphology of subterranean rodents. En: Lacey, E.A., Patton, J.L., Cameron, G.N. (Eds.), *Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents*. University of Chicago Press, Illinois, pp. 19-61.
- Sterling, P. 2004. Principles of allostasis. En: *Allostasis, Homeostasis, and the Costs of Physiological Adaptation*. Schulkin J (Ed). Cambridge University Press, 372 pp.
- Stitt, J.T. 1976. The regulation of respiratory evaporative heat loss in the rabbit. *J. Physiol.* 258: 157-171.
- Tirira, D., Boada, C., Weksler, M., Anderson, R.P., y Gómez-Laverde, M. 2008. *Octodontomys gliroides*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T15091A4493577. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T15091A4493577.en>. ry 2016
- Torres-Mura, J.C., y Contreras, L.C. 1998. *Spalacopus cyanus*. Mammalian Species. *The American Society of Mammalogists* 594: 1-5.
- Tracy, R.L., y Walsberg, G.E. 2002. Kangaroo rats revisited: re-evaluating a classic case of desert survival. *Oecologia*, 133: 449-457.
- Tracy, R.L., y Walsberg, G.E. 2001a. Intraspecific variation in water loss in a desert rodent, *Dipodomys merriami*. *Ecology* 82: 1130-1137.
- Tracy, R.L., y Walsberg, G.E. 2001b. Developmental and acclimatory contributions to water loss in a desert rodent: investigating the time course of adaptive change. *J. Comp. Physiol.* B 171: 669-679.
- Urison, N.T., y Buffenstein, R. 1994. Kidney concentrating ability of a subterranean xeric rodent, the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*). *J. Comp. Physiol.* B 163: 676-681.
- Van Sant, M.J., Oufiero, C.E., Muñoz-García, A., Hammond, K.A., y Williams, J.B. 2012. A Phylogenetic Approach to Total Evaporative Water Loss in Mammals. *Physiol. Biochem. Zool.* 85: 526-532.
- Van Valkenburgh, B., Smith, T.D., y Craven, B.A. 2014. Tour of a labyrinth: exploring the vertebrate nose. *Anat. Rec.* 297: 1975-1984.

- Van Valkenburgh, B., Curtis, A., Samuels, J. X., Bird, D., Fulkerson, B., Meachen-Samuels, J., y Slater, G. J. 2011. Aquatic adaptations in the nose of carnivorans: evidence from the turbinates. *J. Anat.* 218: 298-310.
- Vassallo, A. I. 2006. Acquisition of subterranean habits in tuco-tucos (Rodentia, Caviomorpha, *Ctenomys*): Role of social transmission. *J. Mammal.* 87: 939-943.
- Verts, B.J., y Carraway, L.N. 1998. Land Mammals of Oregon. Berkeley: University of California Press. p 290.
- Vleck, D. 1981. Burrow structure and foraging cost in the fossorial rodent, *Thomomys bottae*. *Oecologia* 49: 391-396.
- Vleck, D. 1979. The energy cost of burrowing by the pocket gopher *Thomomys bottae*. *Physiol. Zool.* 52: 122-135.
- Walsberg, G.E., y Wolf, B.O. 1995. Effects of solar radiation y wind speed on metabolic heat production by two mammals with contrasting coat colours. *J. Exp. Biol.* 198: 1499-1507.
- Webb, P.I., y Skinner, J.D. 1996. Physiological adaptation to aridity in the bushveld gerbil, *Tatera leucogaster*. *J. Zool.* 238: 693-701.
- Williams, J.B., y Tieleman, B.I., 2005. Physiological adaptation in desert birds. *Bioscience* 55: 416-425.
- Willmer, P., Stone, G., y Johnston, I., 2009. Environmental physiology of animals. Second edition. J Wiley and Sons Eds., 768 pp.
- Withers, P.C., y Cooper, C.E. 2014. Physiological regulation of evaporative water loss in endotherms: is the little red kaluta (*Dasykaluta rosamondae*) an exception or the rule? *Proc. R. Soc. B* 281: 20140149.
- Withers, P.C., Cooper, C.E., y Nespolo, R.F. 2012. Evaporative water loss, relative water economy and evaporative partitioning of a heterothermic marsupial, the monito del monte (*Dromiciops gliroides*). *J. Exp. Biol.* 215: 2806-2813.
- Withers, P.C. 1977. Measurements of VO_2 and VCO_2 and evaporative water loss with a flow through a mask. *J. Appl. Physiol.* 42: 120-123.
- Wolf, B.O., y Walsberg, G.E. 1996. Respiratory and cutaneous evaporative water loss at high environmental temperatures in a small bird. *J. Exp. Biol.* 199: 451-457.
- Woods, y Kilpatrick. 2005. En: Ojeda, R., y Bidau. 2013. *Octodon degus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T15088A22240077. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-2.RLTS.T15088A22240077>

- Woods, y Boraker. 1975. *Octodon degus*. Mammalian species. *The American Society of Mammalogists* 67: 1-5.
- Yahav, S., Simson, S., y Nevo, E. 1990. The effect of protein and salt loading on urinary concentrating ability in four chromosomal species of *Spalax ehrenbergi*. *J. Zool.* 222: 341-347.
- Yang, B., y Bankir, L. 2005. Urea and urine concentrating ability: new insights from studies in mice. *Am. J. Physiol-Renal* 288: F881-F896.
- Zenuto, R.R., Vassallo, A.I., y Busch, C. 2002. Comportamiento social y reproductivo del roedor subterráneo solitario *Ctenomys talarum* (Rodentia: Ctenomyidae) en condiciones de semicautiverio. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 75: 165-177.
- Zenuto, R.R., Vassallo, A.I., y Busch, C., 2001. A method for studying social and reproductive behaviour of subterranean rodents in captivity. *Acta Theriol.* 46: 161-170.
- Zhu, W.L., Jia, T., Lian, X., y Wang, Z.K. 2008. Evaporative water loss y energy metabolic in two small mammals, voles (*Eothenomys miletus*) and mice (*Apodemus chevrieri*), in Hengduan mountains region. *J. Therm. Biol.* 33: 324-331