

# Cambios estacionales en la actividad de enzimas digestivas en el pequeño marsupial chileno *Thylamys elegans*: disacaridasas intestinales

Seasonal changes in digestive enzymatic activity in the small Chilean marsupial *Thylamys elegans*: intestinal disaccharidases

PABLO SABAT y FRANCISCO BOZINOVIC

Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile,  
Casilla 653, Santiago, Chile

## RESUMEN

Se ha sugerido que los vertebrados carnívoros enfrentados a cambios en la composición química de la dieta, serían incapaces de modular fenotípicamente algunas funciones digestivas, tales como el transporte de nutrientes y las actividades enzimáticas. Sin embargo, en trabajos previos hemos mostrado que *Thylamys elegans*, un pequeño marsupial que habita ambientes Mediterráneos de Chile central, descrito como insectívoro, es capaz de cambiar los niveles de actividad de disacaridasas en función a diferencias en la composición química del alimento. Esta aparente ausencia de restricciones digestivas sugiere que este animal podría comportarse como especie oportunista frente a cambios en la disponibilidad y abundancia de los recursos tróficos. Si esto es así, se esperan cambios estacionales de actividad de disacaridasas intestinales (*i. e.* sacarasa, maltasa y trehalasa) asociados a cambios estacionales en la disponibilidad de insectos y frutos. En el presente trabajo se detectaron diferencias significativas entre las actividades de las disacaridasas entre invierno y verano. Discutimos acerca de los mecanismos de expresión y regulación de dichas disacaridasas y analizamos las consecuencias fisiológicas, conductuales y ecológicas de tales mecanismos.

**Palabras claves:** *Thylamys elegans*, dieta, plasticidad fenotípica, disacaridasas.

## ABSTRACT

It has been suggested that carnivorous vertebrate species are unable to regulate digestive attributes, such as nutrient transport and enzyme activities, when exposed to different diets. However, we have previously shown that the mouse-opposum *Thylamys elegans*, a small insectivorous marsupial inhabiting the Mediterranean environments of central Chile, is able to change its disaccharidase activity levels, in response to differences in the chemical composition of the food items. The absence of such digestive constraint suggest that *T. elegans* may behaves opportunistically in response to changes in the environmental availability and abundance of their trophic resources. Consequently, all else being equal, we expect that seasonal change in intestinal disaccharidases activities (*i. e.*, sucrose, maltase and threase) tend to be correlated with seasonal changes in fruit and insect availability. We detected significant differences between the activities of such disaccharidases between winter and summer. We hypothesize about the mechanisms of regulation and expression of such disaccharidases, and discuss the physiological, behavioral and ecological consequences of such mechanisms.

**Key words:** *Thylamys elegans*, diet, phenotypic plasticity, disaccharidases.

## INTRODUCCION

El pequeño marsupial *Thylamys elegans*, *sensu* Kirsh *et al.* (1993) (Marsupicarnívora: Didelphidae) es una de las especies del ensamble de pequeños mamíferos en el centro, norte y sur de Chile. Los estudios de nicho trófico en diferentes habitats han documentado cambios espaciales y temporales de los hábitos alimentarios en las diferentes especies. Estos cambios dietarios se

han correlacionado con la abundancia y disponibilidad de recursos tróficos en el ambiente. En general, los micromamíferos y especialmente los roedores cricétidos de este ensamble responden como especies oportunistas (Muñoz-Pedreros *et al.* 1990) La excepción es *T. elegans* que siempre se la ha clasificado como una especie insectívora. De los análisis estomacales realizados, más del 90% de la dieta anual de esta especie corresponde a insectos y la

diferencia, en su mayoría, a frutos y semillas. No se han documentado variaciones estacionales o geográficas en la dieta de esta especie (Glanz 1977, Meserve & Glanz 1978, Meserve 1981, Meserve *et al.* 1988).

En marsupiales como *T. elegans* es difícil definir el límite entre carnivoría y omnivoría, en parte debido a la ausencia de información suficientemente detallada de la ecología e historia natural de esta especie. De acuerdo con Hume (1982) las técnicas usuales para determinar el contenido estomacal no permiten un grado de resolución tal que sea posible establecer las proporciones relativas de los distintos tipos de alimentos consumidos.

La conducta trófica de los organismos está influenciada, en parte por la disponibilidad de recursos en el ambiente. Sin embargo, existen restricciones fisiológicas históricas en el sistema digestivo que limitan los procesos de alimentación y digestión, lo que se expresa en un patrón trófico particular (Karasov & Diamond 1988, Martínez del Río & Stevens 1989). Así, las características digestivas están altamente correlacionadas con la dieta natural de los individuos. Particularmente, la actividad de las enzimas disacaridasas localizadas en la membrana plasmática de los enterocitos de vertebrados, es un buen ejemplo de ello. Los animales que no incluyen disacáridos en su dieta, presentan escasa o nula actividad de las disacaridasas específicas (Kerry & Messer 1968, Kerry 1969, Zoppi & Shmerling 1969, Hume 1982, Martínez del Río & Stevens 1988, Stevens 1990, Martínez del Río 1990, Hernández & Martínez del Río 1992). Paralelamente, la capacidad de regular los mecanismos digestivos de acuerdo a los substratos dietarios está presente en especies omnívoras y herbívoras, pero no en carnívoras/insectívoras (Diamond & Buddington 1987, Buddington *et al.* 1987). De esta forma, los insectívoros no sólo presentarían niveles basales de capacidad hidrolítica sino que además no poseerían la maquinaria molecular regulatoria para incrementar la actividad enzimática en la membrana de acuerdo a la composición química de la dieta, a lo que llamamos hipótesis de rigidez fenotípica.

Sin embargo, se ha documentado que *T. elegans* posee actividades importantes de enzimas disacaridasas, similares a las documentadas para especies frugívoras y omnívoras (Sabat *et al.* 1993). Por otro lado, esta especie insectívora es capaz de modular los niveles de disacaridasas según la composición química de la dieta. Así la actividad de sacarasa aumenta significativamente cuando los animales son sometidos a una dieta concentrada de sacarosa, rechazando la hipótesis de rigidez fenotípica (Sabat 1993, Sabat, Bozinovic & Zambrano, resultados no publicados).

Esta aparente incongruencia entre los niveles de disacaridasas presentadas por *T. elegans* y la dieta documentada, plantea la necesidad de analizar la problemática desde otra perspectiva. Así, no sería tan clara la correspondencia entre las características digestivas de *T. elegans* y la dieta documentada para esta especie. Sin embargo, debido al bajo grado de resolución que tienen los análisis dietarios realizados en esta especie, es probable que se haya subestimado la presencia de azúcares en su dieta natural, lo que explicaría los niveles de actividad de disacaridasas en la mucosa intestinal.

Los datos disponibles sugieren que esta especie no poseería una restricción fisiológica a nivel celular para la digestión eficiente de carbohidratos y, sumado a la capacidad de modular sus características digestivas frente a cambios en los niveles de substratos dietarios, podría comportarse como especie oportunista frente a cambios en la disponibilidad y abundancia de recursos tróficos. Si esto es cierto, debieran evidenciarse diferencias en la actividad de disacaridasas entre individuos de *T. elegans* sometidos a una oferta diferencial de nutrientes en el ambiente, asociados por ejemplo a las fluctuaciones estacionales en la disponibilidad de recursos alimentarios (para un estudio estacional de disacaridasas véase Galluser *et al.* 1988).

El objetivo de este trabajo es estudiar la variación estacional de la actividad hidrolítica de disacaridasas intestinales de *T. elegans*, específicamente la actividad de sacarasa maltasa y trehalasa. Debido a que durante el verano existe un marcado au-

mento en la oferta de frutos en el hábitat de *T. elegans* (véase Materiales y Métodos), y si la dieta de esta especie presenta estacionalmente cambios importantes en la composición química (fluctuaciones en la ingesta de azúcares proveniente de frutos) se predice un aumento en los niveles de actividad disacaridásica en aquellos meses en que los frutos son más abundantes. Además, los estudios de regulación de la expresión enzimática en mamíferos han mostrado que los cambios en la actividad enzimática de disacaridasas, aunque mediadas por hormonas (especialmente glucocorticoides) generalmente están asociadas a cambios en la composición química de la dieta (véase Galand 1989). Es por esto que cambios en los niveles de actividad de disacaridasas probablemente se relacionen con cambios en la composición química de la dieta.

Sacarasa, maltasa, y trehalasa son tres glicoproteínas integrales de la membrana

de la chapa estriada de los enterocitos de vertebrados. Sacarasa (complejo sacarasa-isomaltasa) está compuesta de dos subunidades, una de 120 KD y otra de 140 KD, cada una de las cuales posee un único sitio activo. Esta enzima degrada sacarosa, azúcar presente en frutos, a fructosa y glucosa. Posee además actividad catalítica sobre maltosa. Maltasa (complejo maltasa-glucoamilasa) posee un peso molecular de 250 KD y posee dos subunidades proteicas en mamíferos (Prosser 1991). En algunas aves se constituye de una sola cadena polipeptídica. Se encarga de la hidrólisis de maltosa, azúcar presente en tejido animal (glicógeno) y vegetal (almidón), liberando como producto glucosa. Trehalasa es una enzima simple, monomérica, de 65-75 KD. Hidroliza trehalosa, disacárido presente en artrópodos, hongos y algas liberando glucosa (Vonk & Western 1984, Wall & Bailey 1985, Galand 1989, Stevens 1990, Prosser 1991).

TABLA I

Masa corporal ( $M_b$ ), constante de actividad ( $V_{max}$ ) y afinidad ( $K_m$ ) de las enzimas estudiadas en animales de invierno y verano. Todos los valores se presentan como media aritmética  $\pm$  DE.  
Body mass ( $M_b$ ), activity constant ( $V_{max}$ ) and affinity ( $K_m$ ) in three enzymes studied in summer and winter animals.  
All values are expressed as arithmetic mean  $\pm$  SD.

Parámetros	Invierno	Verano	P
$M_b$ (g)	41,37 $\pm$ 10,22	21,75 $\pm$ 2,17	< 0,05
n	7	7	
<b>Sacarasa</b>			
$V_{max}$ (UI/mg prot)	0,098 $\pm$ 0,03	0,174 $\pm$ 0,03	< 0,05
$K_m$ (mM)	9,93 $\pm$ 2,64	3,75 $\pm$ 1,67	< 0,05
<b>Maltasa</b>			
$V_{max}$ (UI/mg prot)	0,079 $\pm$ 0,02	0,085 $\pm$ 0,01	> 0,05
$K_m$ (mM)	2,07 $\pm$ 0,53	0,75 $\pm$ 0,08	> 0,05
<b>Trehalasa</b>			
$V_{max}$ (UI/mg prot)	0,071 $\pm$ 0,01	0,087 $\pm$ 0,02	> 0,05
$K_m$ (mM)	1,91 $\pm$ 1,03	1,54 $\pm$ 0,73	> 0,05

## MATERIALES Y METODOS

*Animales y captura*

Los animales fueron capturados en Chile central en la localidad de El Pangue a 80 km NE de Santiago, en la primera semana de los meses de Septiembre y Enero, los cuales presentan marcadas diferencias en la abundancia de frutos (RO Bustamante, comunicación personal) e insectos (López-Calleja & Díaz-Barraza 1991<sup>(1)</sup>). Inmediatamente después de capturados, los animales fueron pesados con una balanza AVINET ( $\pm 0,5$  g) y se sacrificaron. Se extrajo el intestino delgado y luego de un lavado con solución 0,9% de NaCl se estimó su área midiendo el largo y ancho. Luego de esto se almacenaron las muestras en nitrógeno líquido para su posterior traslado al laboratorio en Santiago. El tiempo transcurrido desde el sacrificio de los animales hasta el almacenamiento en nitrógeno líquido fue inferior a 5 min.

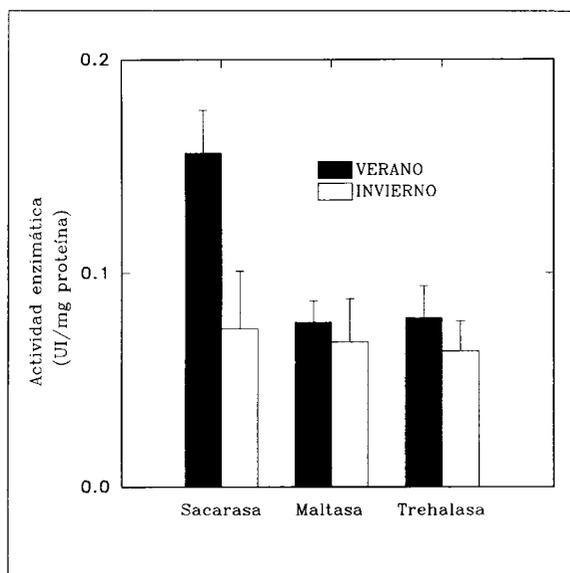


Fig. 1: Actividad enzimática (UI/mg proteína) de disacaridasas medidas en el homogeneizado intestinal de *T. elegans* a 28 mM en dos estaciones. Se detectaron diferencias significativas en la actividad de sacarasa (Wilcoxon,  $P < 0.05$ ). Cada barra representa la media aritmética  $\pm$  DE.

Enzymatic activity (UI/mg proteína) of disaccharidases measured in the intestinal homogenate of *T. elegans* at 28 mM in two season. Significant differences were found in sucrose activity (Wilcoxon,  $P < 0.05$ ). Bars represent arithmetic mean  $\pm$  SD.

*Preparación y ensayo de actividades enzimáticas*

El intestino de los individuos de los dos grupos experimentales, previamente trozado, se homogeneizó con diez volúmenes de una solución NaCl al 1%, en tres pasadas por un homogeneizador de vidrio tipo Potter-Elvehjem con vástago de teflón y una tolerancia de 0,012 pulgadas. El homogeneizado, filtrado mediante una malla de nylon de 110 mesh, se sometió a ultrasonido con el fin de disgregar las partículas en suspensión. La concentración de proteínas se determinó, usando albumina de suero bovino, como estándar (Peterson 1977). Las actividades de disacaridasas se determinaron por medición de la concentración de glucosa liberada según el método de Dahlqvist (1964) modificado por Martínez del Río & Stevens (1988).

Los ensayos enzimáticos se realizaron en un rango de concentraciones (de 0,5 a 100 mM) de sustratos (trehalosa, maltosa y sacarosa) con el fin de caracterizar la cinética, velocidad máxima ( $V_{max}$ ) y afinidad por el sustrato de las enzimas ( $K_m$ ), de las dos estaciones. Las actividades enzimáticas se expresan como UI/mg de proteínas del homogeneizado, siendo UI = micromoles de sustrato hidrolizado por minuto.

*Análisis estadístico*

Las actividades disacaridásicas se compararon utilizando una prueba no paramétrica de Wilcoxon (véase Steel & Torrie, 1985). Para estimar tanto el efecto de las estaciones como el de otras variables (e.g. actividad sacarásica) sobre las actividades enzimáticas, se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA). Los datos se expresaron como media aritmética  $\pm$  DE. El nivel de rechazo para la hipótesis de nulidad fue de 5%.

<sup>(1)</sup> LOPEZ-CALLEJA MV & M DIAZ-BARRAZA (1991) Comportamiento trófico de *Zonotrichia capensis* (Paseriformes) y fluctuación temporal en la disponibilidad del alimento. Archivos de Biología y Medicina Experimentales. 24:R197

## RESULTADOS

*Morfología*

La masa corporal de individuos capturados en invierno ( $41,37 \pm 10,22$  g,  $n = 7$ ) es significativamente superior a la de individuos de verano ( $21,75 \pm 2,17$  g,  $n = 7$ ) ( $P < 0,003$ ).

*Actividades enzimáticas*

La actividad de sacarasa medida a una concentración de 28 mM y expresada como UI/mg proteína es significativamente mayor ( $z = 3,06$ ,  $P < 0,05$ ) en los animales capturados en verano ( $0,156 \pm 0,023$ ) que en aquellos capturados en invierno ( $0,074 \pm 0,027$ ). Tanto la actividad de maltasa ( $z = 0,753$ ,  $P > 0,05$ ) como la de trehalasa ( $z = 1,79$ ,  $P = 0,07$ ) no mostraron diferencias significativas.

Las constantes de afinidad ( $K_m$ ) expresadas en mM mostraron diferencias significativas para el caso de sacarasa ( $z = 2,9$ ,  $P < 0,001$ ) y para maltasa ( $z = 2,37$ ,  $P < 0,05$ ). Trehalasa no muestra diferencias significativas ( $z = 0,86$ ,  $P = 0,38$ ) en su constante de afinidad (Tabla 1). La  $V_{max}$  de las tres actividades enzimáticas sigue el mismo patrón que la actividad medida a una concentración fija de 28 mM (Tabla 1).

## DISCUSION

De las tres actividades enzimáticas estudiadas, la de sacarasa es la única que evidencia un cambio estacional significativo. En efecto, esta actividad expresada tanto como  $V_{max}$  (Tabla 1) o como actividad a 28 mM (Fig. 1), es mayor en verano. Paralelamente, debido a que las actividades enzimáticas son moduladas por la composición química de la dieta (Sabat 1993, Sabat, Bozinovic & Zambrano, resultados no publicados), el aumento en la actividad de sacarasa en verano podría estar correlacionado con un aumento en la ingesta de azúcares en esta temporada, es decir, por un efecto directo de la composición química de la dieta. Debido a que en el sitio de estudio existe una mayor oferta de frutos en verano, es probable que *T. elegans* en esta

estación consuma cantidades importantes de frutos (y quizá otros tejidos vegetales) como suplemento nutricional o como fuente de recurso hídrico. Paralelamente, las diferencias en la disponibilidad de frutos, seguramente determinan cambios estacionales en la dieta de la fauna de artrópodos de la localidad de estudio. Si esto es así, es probable que en los meses de verano *T. elegans* reciba un aporte indirecto mayor de azúcares, mediante el consumo de insectos que a su vez consumen frutos ricos en sacarosa y que poseen azúcares en el tracto digestivo (véase Reeder 1970, Bell 1990, Hernández & Martínez del Río 1992). Lo anterior podría explicar el aumento de la actividad disacaridásica en la estación de verano. Sin embargo, el que la actividad de maltasa no cambie, aparentemente plantearía una cierta contradicción.

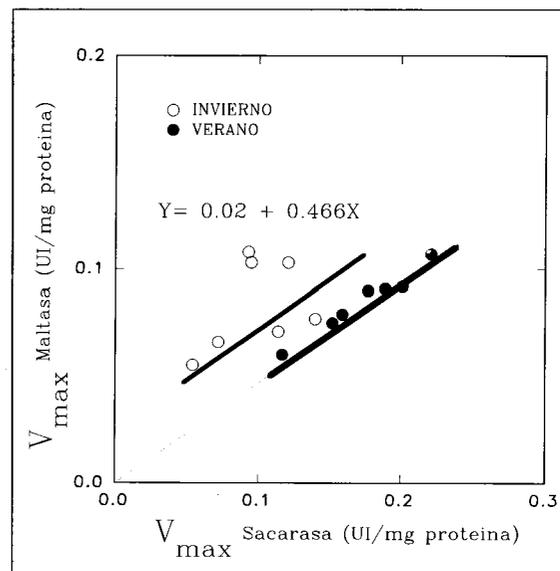


Fig. 2: Relación entre la actividad enzimática intestinal de sacarasa y maltasa en *T. elegans*. La línea gruesa representa la correlación realizada en conjunto con animales aclimatados a dietas experimentales:  $Y = 0.466X$ ,  $r^2 = 0.86$  (Sabat 1993, Sabat, Bozinovic & Zambrano, resultados no publicados). La línea delgada muestra la relación en animales de invierno (notese que la intercepción al eje de las ordenadas es diferente en este grupo)

Relationships between intestinal sucrose and maltase activities in *T. elegans*. Thick line represent the correlation obtained with animals acclimated at experimental diets:  $Y = 0.466X$ ,  $r^2 = 0.86$  (Sabat 1993, Sabat, Bozinovic & Zambrano, unpublished results) Thin line represent a correlation in winter animals (note that the intercept is different in this group).

Como se sabe, las actividades de sacarasa y maltasa en esta especie estaría dada por un sólo complejo enzimático, el complejo sacarasa-isomaltasa, es decir estas dos actividades son dependientes (Sabat, Bozinovic & Zambrano, resultados no publicados). Al realizar un análisis de correlación entre estas dos actividades enzimáticas, éste es significativo y positivo, y el intercepto con el eje de las ordenadas no difiere significativamente de cero (véase Fig. 2).

Es poco claro, entonces, por qué la actividad de maltasa es tan alta en invierno, temporada en la cual la actividad de sacarasa está más deprimida. Como la actividad de sacarasa es más alta en verano que en invierno, no así la de maltasa, es posible pensar en la presencia de isoenzimas que posean actividad maltásica, cuyos mecanismos de regulación podrían ser independientes al de sacarasa. Un aumento en estas isoenzimas compensarían la pérdida o ausencia de expresión de la actividad debido a los bajos niveles de sacarasa-isomaltasa en las membranas.

Al analizar los resultados de este trabajo, en conjunto con los datos obtenidos de animales sometidos a dietas experimentales (Sabat 1993, Sabat, Bozinovic & Zambrano, resultados no publicados), se obtiene que los animales de verano no difieren ni en el intercepto con el eje de las ordenadas ni en la pendiente de la relación de actividad maltásica y sacarásica (ANCOVA  $F_{3,19} = 6,02$ ,  $p < 0,05$ ). Sin embargo, en los animales de invierno, a pesar de no existir una diferencia significativa entre las pendientes, existe una tendencia cuya probabilidad cae en el borde de significancia ( $0.05 < p < 0.1$ ). Esto sugiere que el punto de intersección con la ordenada, en la relación de las actividades enzimáticas de maltasa y sacarasa, sería diferente en este grupo (véase Fig. 2). Esta tendencia sugiere que estos animales presentarían actividad de maltasa independiente del complejo sacarasa-isomaltasa. Esta actividad sería el resultado de la presencia del complejo maltasa-glucoamilasa, lo que estaría dando cuenta de los niveles elevados de maltasa en invierno, comparable a los niveles encontrados en verano. Otro dato que refuerza esta idea es que las

características bioquímicas de maltasa en invierno son diferentes. Esto se deduce del hecho que la afinidad por el sustrato es significativamente menor (mayor  $K_m$ ) que la de los otros grupos estudiados (Tabla 1).

Al igual que lo sucedido con la actividad de sacarasa, la modulación de la actividad de maltasa-glucoamilasa (u otra maltasa) podría estar asociada a cambios en la composición química de la dieta. Como se ha dicho, el disacárido que es hidrolizado por maltasa (maltosa) puede provenir de tejidos vegetales y animales, en forma de polisacáridos complejos como el almidón y glicógeno. Así, los animales en invierno podrían estar consumiendo mayor cantidad de estos sustratos, los que podrían activar o inducir la producción de este complejo enzimático. El mayor tamaño corporal de estos individuos (Tabla 1) probablemente tenga implicancias sobre la dieta natural de los individuos (véase Vézina 1985). Individuos más grandes podrían tener acceso a presas animales mayores, como pequeños reptiles, mamíferos y aves (Mann 1978), presas con altos contenidos de glicógeno, - i.e. sobre el 2% del peso fresco de músculos y del 10% del hígado (Lehninger 1982).

La gran variabilidad encontrada en los niveles de maltasa en animales de invierno podría deberse a una mayor sensibilidad de los mecanismos de regulación de la expresión del complejo maltasa-glucoamilasa, de manera que la historia inmediata de alimentación tendría una importancia crucial. De esta forma, aquellos animales que hubiesen consumido recientemente algunas presas ricas en glicógeno, mostrarían niveles de maltasa significativamente mayores.

El hecho que la  $K_m$  de sacarasa muestre variación estacional plantea la posibilidad de que existan isoenzimas del complejo sacarasa-isomaltasa. Sin embargo, también es posible que, manteniéndose las formas enzimáticas, sus propiedades bioquímicas sean afectadas por algún tipo de efector que produzca modificaciones alostéricas en la enzima, como es el caso de las enzimas del metabolismo aeróbico (Stadtman & Chock, 1978).

Por otro lado, la ausencia de diferencias significativas en la actividad de trehalasa

entre las dos estaciones, sugiere que los niveles del sustrato específico (trehalosa, azúcar de almacenamiento de insectos) se mantiene constante a lo largo del año. Esto se correlaciona con la constancia en la abundancia de insectos entre invierno y verano. Alternativamente es también posible que el mecanismo de regulación de esta enzima sea más rígido y no sea tan sensible a la composición química del alimento, como lo son maltasa y sacarasa.

Por último nuestras observaciones y resultados nos permiten sugerir que, si se desea contribuir en forma significativa a los aspectos teóricos de la ecología fisiológica y conductual del forrajeo y digestión animal, pensamos que es muy importante determinar la composición química de los recursos tróficos junto al origen de éstos. Esto permite establecer tanto correlaciones válidas entre las características digestivas de los organismos y su dieta natural, como las implicancias ecológicas y evolutivas de tales características (Bozinovic 1993).

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por la Universidad de Chile, Beca Tesis de Postgrado PG-094-93 a P. Sabat y el proyecto FONDECYT 1930866 a F. Bozinovic. Agradecemos a C. Martinez del Rio el constante apoyo técnico y teórico, así como la lectura crítica y los aportes de dos revisores anónimos.

#### LITERATURA CITADA

- BELL GP (1990) Birds and mammals on an insect diet: a primer on diet composition analysis in relation to ecological energetics. In: Morrison ML, CJ Ralph, J Verner & JR Jehl (eds.) Avian foraging: theory, methodology, and application: 416-422. Studies in Avian Biology 13, Cooper Ornithological Society, Kansas.
- BOZINOVIC F (1993) Fisiología ecológica de los procesos de alimentación y mecanismos de digestión: modelos y teorías. Revista Chilena de Historia Natural 66: 375-382.
- BUDDINGTON RK, JW CHEN & JM DIAMOND (1987) Genetic and phenotypic adaptation of intestinal nutrient transport to diet in fish. Journal of Physiology. 393:261-281.
- DAHLQVIST A (1964) Method for assay of intestinal disaccharidases. Annals of Biochemistry. 7: 18-25.
- DIAMOND JM & RK BUDDINGTON (1987) Intestinal nutrient in herbivores and carnivores. In: Dejours P, L Bolis, CD Taylor & ER Weibel (eds). Comparative physiology: life in water and on land: 193-203. Fidia Research Series, Volume 9. Liviana Press, Springer-Verlag.
- GALLUSER M, F RAUL & B CANGUILHEM (1988) Adaptation of intestinal enzymes to seasonal and dietary changes in a hibernator: the European hamster (*Cricetus cricetus*). Journal of Comparative Physiology 158B: 143-149.
- GALAND G (1989) Brush border membrane sucrase-isomaltase, maltase-glucoamilase and trehalase in mammals. Comparative development, effects of glucocorticoids, molecular mechanisms, and phylogenetic implications. Comparative Biochemistry and Physiology 94B: 1-11.
- GLANZ W (1977) Comparative ecology of small mammal communities in California and Chile. Ph.D. Thesis. University of California, Berkeley.
- HERNANDEZ A & C MARTINEZ DEL RIO (1992) Intestinal disaccharidases in five species of Phyllostomid bats with contrasting feeding habits. Comparative Biochemistry and Physiology 103B: 105-111
- HUME ID (1982) Digestive physiology and nutrition of marsupials. Cambridge University Press, Cambridge.
- KARASOV WH & JM DIAMOND (1988) Interplay between physiology and ecology in digestion. Bioscience 38: 602-611.
- KERRY KR (1969) Intestinal disaccharidases activity in a monotreme and eight species of marsupials (with an added note on the disaccharidases of five species of sea birds). Comparative Biochemistry and Physiology 29: 1015-1022.
- KERRY KR & M MESSER (1968) Intestinal glicosidases of three species of seals. Comparative Biochemistry and Physiology 25: 437-446.
- KIRSCH JA, RE BLEIWEISS, AW DICKERMAN & OA REIG (1993) DNA/DNA hybridization studies of carnivorous Marsupials. III. Relationships among Species of *Didelphis* (Didelphidae). Journal of mammalian Evolution 1:75-97.
- LEHNINGER AL (1982) Principles of Biochemistry. Worth Publishers, New York.
- MANN, G. (1978) Los pequeños mamíferos de Chile. Gayana: Zoología 40: 1-342.
- MARTINEZ DEL RIO C (1990) Dietary and phylogenetic correlates of intestinal sucrase and maltase activity in birds. Physiological Zoology 63: 987-1011.
- MARTINEZ DEL RIO C & BR STEVENS (1988) Intestinal brush border membrane-bound disaccharidases of the american alligator, *Alligator mississippiensis*. Comparative Biochemistry and Physiology 91B: 751-754.
- MARTINEZ DEL RIO C & BR STEVENS (1989) Physiological constraint on feeding behavior: intestinal membrane disaccharidases of the starling. Science 243: 794-796.
- MESERVE PL (1981) Trophic relationship among small mammals in a Chilean semiarid thorn scrub community. Journal of Mammalogy 62: 304-314.
- MESERVE PL & W GLANZ (1978) Geographical ecology of small mammals in the northern Chilean arid zone. Journal of Biogeography 5: 135-148.

- MESERVE, PL, BK LANG & B PATTERSON (1988) Trophic relationships of small mammals in a Chilean temperate rainforest. *Journal of Mammalogy* 69: 721-730.
- MUÑOZ-PEDREROS A, R MURUA & L GONZALEZ (1990) Nicho ecológico de micromamíferos en un agroecosistema forestal de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* 63: 267-277.
- PETERSON GL (1977) A simplification of the protein assay method of Lowry *et al.* which is more generally applicable. *Analytical Chemistry* 83: 346-356.
- PROSSER CL (1991) *Environmental and metabolic animal physiology*. Wiley-Liss New York.
- REEDER WG (1970) The digestive system. In: Moore J (ed) *Physiology of Amphibia*: 9-142. Academic Press, New York.
- SABAT P (1993) Insectivoría digestión y disacaridasas en *Marmosa elegans* (Marsupicarnívora): una restricción fisiológica-evolutiva? Tesis de Magister, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- SABAT P, F BOZINOVIC Y F ZAMBRANO (1993) Insectivoría en *Marmosa elegans* (marsupicarnívora): una restricción fisiológica-evolutiva? *Revista Chilena de Historia Natural* 66: 87-92.
- STADTMAN ER & PB CHOCK (1978) Interconvertible enzyme cascades in metabolic regulation. *Current Topics in Cellular Regulation* 13:53-95
- STEEL RG & JH TORRIE (1985) *Bioestadística: principios y aplicaciones*. McGraw-Hill, Bogotá, Colombia.
- STEVENS CE (1990) *Comparative physiology of the vertebrate digestive system*. Cambridge university Press, Cambridge.
- VEZINA AF (1985) Empirical relationships between predator and prey size among terrestrial vertebrate predators. *Oecologia* 67:555-565
- VONK HJ & J R WESTERN (1984) *Comparative Biochemistry and Physiology of enzymatic digestion*. Academic Press, London.
- WALL JC & DS BAILEY (1985) Two-dimensional isoelectric focussing/sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoretic mapping and some molecular characteristics of the proteins of the adult guinea-pig small intestinal microvillus membrane. *Biochimica et Biophysica Acta* 815: 175-183.
- ZOPPI G & DH SHMERLING (1969) Intestinal disaccharidase activities in some birds, reptiles and mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology* 29: 289-294.