

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

EFFECTO DE LA DIETA EN EL FRACCIONAMIENTO
ISOTÓPICO DE ^{13}C Y ^{15}N EN EL MURCIELAGO
Glossophaga soricina (CHIROPTERA:
PHYLLOSTOMIDAE).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(AMBIENTAL)

P R E S E N T A :
LETICIA MIRON MELO

DIRECTOR DE TESIS DR. GERARDO HERRERA MONTALVO



MÉXICO, D. F.

MAYO 2005

COORDINACIÓN

m343911



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

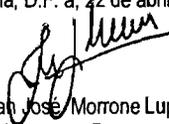
Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 18 de abril del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental) del(a) alumno(a) **Mirón Melo Leticia** con número de cuenta **90195545** con la tesis titulada: **"Efecto de la dieta en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N en el murciélago *Glossophaga soricina* (Chiroptera: Phyllostomidae)"**, bajo la dirección del(a) **Dr. Luis Gerardo Herrera Montalvo**.

Presidente:	Dr. Víctor Sánchez-Cordero Dávila
Vocal:	M. en C. Pedro Morales Puente
Secretario:	Dr. Luis Gerardo Herrera Montalvo
Suplente:	Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
Suplente:	Dra. Kathryn Elizabeth Stoner

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a, 22 de abril del 2005


Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

*Dedicada a los seres
Con los que he compartido
Lo mismo la felicidad que la tristeza;
Que se han alegrado con mis triunfos
Y han llorado conmigo los fracasos.
A todos ustedes solo les puedo decir*

¡GRACIAS!

A mis queridos padres:

Margarita y Jorge

Mis hermanos:

Sonia, Jorge, David, Daniela

A los nuevos integrantes de la familia

Adriana y Lalo

*“Ecology is nice, behavior is good,
but first you have to know the anatomy and physiology”*

Horst Schewassman

You are that you eat...plus a few per mil

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. L. Gerardo Herrera Montalvo, por su confianza, su asesoría, el apoyo logístico y las facilidades que me dio para terminar este trabajo.

Al M. en C Pedro Morales Puente, por su valiosa aportación para la conclusión de este trabajo, gracias por compartir su experiencia y conocimiento. Gracias por su orientación y su tiempo.

A los miembros del Jurado Dra. Kathryn E. Stoner, Dr. Víctor Sánchez - Cordero y Dr. René Cárdenas, su asesoría y sugerencias, las cuales siempre fueron certeras, y que contribuyeron a la mejoría del presente trabajo.

Agradezco al Dr. Keith Hobson, del Servicio Canadiense de Vida Silvestre por su ayuda para llevar a cabo el análisis isotópico.

Agradezco a CONACYT por el apoyo económico que me brindo. Gracias también a CONACYT y a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM, por el apoyo brindado al proyecto “¿Cómo cubren sus necesidades proteicas los animales frugívoros en el trópico” Un enfoque ecofisiológico” (proyectos 31849-N y IN205999, de CONACYT y DGAPA, respectivamente). El presente trabajo fue uno de los varios obtenidos a partir de dicho proyecto.

Agradezco especialmente al M. en C. Pedro Morales, a la M. en C. Edith Cienfuegos Alvarado y al Laboratorio Universitario de Geoquímica Isotópica del Instituto de Geología de la UNAM, por su ayuda, orientación, tiempo y paciencia.

Gracias a la Departamento de Patología de la Facultad de Veterinaria, por su ayuda al analizar las muestras de orina.

Agradezco especialmente Dr. Fernando A. Cervantes Reza (curador de la Colección Nacional de Mastozoología), a Yolanda Hortelano Moncada y a Julieta Vargas Cuenca, por las facilidades otorgadas para el secado de las muestras de sangre y alimento.

Gracias a al personal de la Biblioteca del Instituto de Biología, Andrés Ramírez, Miguel Ángel Vilchis, Georgina Ortega, José y Gerardo, por su valiosa ayuda al recabar la información necesaria, gracias además por los buenos momentos que pasamos juntos.

Agradezco al Dr. Alberto Rojas, por su orientación en el manejo de murciélagos en cautiverio, así como por la dieta proporcionada durante la primera etapa de adaptación de los murciélagos.

Gracias al Dr. Fernando Álvarez Noguera, por todas las facilidades otorgadas para tener a los murciélagos en cautiverio.

A mí querida amiga Nicté Ramírez Priego, con quien he compartido no solo el trabajo (de campo, de bioterio y de laboratorio), sino una bella amistad. Gracias amiga, porque a pesar de que a veces estábamos a punto de claudicar, llegamos a la meta trazada. Gracias por ayudarme a superar las turbulencias de estos últimos tiempos.

A Pedro, quien a lo largo de casi dieciséis años ha compartido conmigo mil y una experiencias, algunas agradables, otras no tanto; creo firmemente que soy afortunada por conocerte y tenerte a mi lado; mil gracias por todo.

A Alejandro, un amigo entrañable, que ha seguido quitando “piedras” de mi camino, a pesar del tiempo y la distancia. Gracias Alex, por ser mi amigo, por tu paciencia y por ayudarme a ver que a veces las cosas no son lo que parecen, gracias porque eres lo más parecido que tengo a un hermano mayor.

Gracias a quienes han sido parte importante de mi vida: Patricia Illoldi y Miguel Ángel Linaje; gracias por su apoyo incondicional, su amistad, su interés, su ayuda y por supuesto por aquellas interminables pláticas.

Muchas gracias a quienes me ayudaron a localizar las colonias de *G. soricina*: Jorge Villalpando, Rafael Ávila y Guillermo Téllez.

Gracias a aquellos que me ayudaron en el trabajo de campo: Nicté Ramírez, Jorge Villalpando Rosaldo, Nancy Sánchez, Alberto Rojas, Olga García, José Juan Flores Martínez y a Miguel Ángel Vilchis Martínez.

Agradezco especialmente a Julio César Reyna Escame, por que compartimos muchas veces las experiencias de bioterio (y la preocupación porque nuestros animales estuvieran lo mejor posible), gracias por la ayuda que me otorgaste.

Y a todos aquellos que en este momento no me vienen a la memoria, pero que contribuyeron a este trabajo.

ÍNDICE

Resumen	VII
Abstract	VIII
Capítulo I	
Introducción	1
1.1 Factores que afectan el fraccionamiento isotópico	7
1.2 Justificación	23
Hipótesis	25
Objetivos	
Capítulo II	
Método	
2.1 Descripción de <i>Glossophaga soricina</i>	26
2.2 Trabajo experimental	
2.2.1 Zona de colecta	29
2.3 Factor de fraccionamiento isotópico	31
2.4 Balance de nitrógeno	34
2.5 Análisis isotópico	36
2.6 Análisis estadístico	37

Capítulo III

Resultados

3.1 Variaciones en el peso	39
3.2 Dietas	40
3.3 Balance de nitrógeno	41
3.4 Fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N	42

Capítulo IV

Discusión

4.1 Fraccionamiento isotópico	46
4.2 Dieta y Balance de nitrógeno	51
4.3 Efecto de la proporción C : N de la dieta en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N	52
4.4 Otras consideraciones	57

Conclusiones	59
--------------	----

Literatura Citada	60
-------------------	----

Índice de Tablas y Figuras

Tablas

1. Factor de enriquecimiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N obtenidos en condiciones experimentales para algunos mamíferos	5
2. Porcentaje que cada componente aporta al contenido total de proteína, carbohidratos y energía para las dietas 1 y 2	33
3. Balance de nitrógeno de los murciélagos alimentados con la dieta 1(leche) y 2 (soya)	41
4. Valores promedio de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ y del enriquecimiento trófico ($\Delta^{15}\text{N}$ y $\Delta^{13}\text{C}$) en sangre de <i>Glossophaga soricina</i>	45

Figuras

1. Resumen del metabolismo de los aminoácidos	8
2. Ubicación de la zona de colecta	30
3. Peso promedio de los murciélagos durante las fases experimentales	40
4. Fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N de la dieta 1 (leche)	43
5. Fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N de la dieta 2 (soya)	44

Apéndice 1 Análisis estadístico de las variaciones de peso a lo largo de cada periodo experimental	73
--	----

RESUMEN

Recientemente se ha incrementado el uso del análisis de isótopos estables de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) y nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) como una herramienta en la investigación de patrones alimenticios y relaciones tróficas en diversos organismos. Típicamente, las proporciones de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ son ligeramente mayores en los tejidos animales en comparación con su dieta. Este proceso se conoce como fraccionamiento isotópico (el cual es resultado de varios procesos metabólicos). El fraccionamiento isotópico del ^{15}N es en promedio de 3 ‰ y para el ^{13}C de 1‰. Aunque el fraccionamiento isotópico tiene una gran importancia en la interpretación del análisis de isótopos estables, los factores que influyen en el fraccionamiento isotópico no son bien conocidos, sin embargo algunos autores sugieren que las proporciones C : N de la dieta puede afectar la dirección y magnitud del fraccionamiento del carbono y del nitrógeno. El presente trabajo tuvo como objetivo principal evaluar el efecto de la variación en la proporción C : N de la dieta en el fraccionamiento isotópico de $\Delta^{13}\text{C}$ y $\Delta^{15}\text{N}$ en la sangre de un murciélago omnívoro (*Glossophaga soricina*, Chiroptera: Phyllostomidae) en condiciones de laboratorio. Para llevar a cabo este trabajo se colectaron 10 individuos machos juveniles de esta especie, los cuales se adaptaron al cautiverio, en un bioterio del IBUNAM. Se utilizaron dos dietas experimentales, la primera de ellas con una proporción carbono – nitrógeno (C : N) de 26.4 y la segunda con una proporción C : N de 17.6). Los datos obtenidos en el presente trabajo, muestran que en los murciélagos alimentados con la dieta 1 (C : N = 26), el enriquecimiento trófico del ^{15}N ($\Delta^{15}\text{N}$) es menor que el encontrado con la dieta 2 (C : N = 17). En contraste, los murciélagos alimentados con la dieta 1 (C : N = 26), muestran un mayor enriquecimiento trófico de ^{13}C ($\Delta^{13}\text{C}$) comparado con el enriquecimiento obtenido para los murciélagos alimentados con la dieta 2 (C : N = 17); lo que puede indicar que el fraccionamiento isotópico del ^{13}C es menor a menores proporciones C : N. En conclusión el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N depende de las proporciones C : N de la dieta

Palabras clave: *Glossophaga soricina*, fraccionamiento isotópico, ^{15}N , ^{13}C , análisis de isótopos estables.

Abstract

In the last years, stable isotopes of carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) increasingly are being used by ecologists to determine the general diets of particular species and trophic structures in different ecosystems. Typically, the animal tissue is enriched in $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ compared whit their food (isotopic fractionation), due to the metabolic process. On overage, the enrichment of ^{15}N is 3 - 4 ‰, meanwhile the enrichment of ^{13}C is 1 ‰. Despite the great potential value of stable isotopes in a variety of scientific investigations, little attention has been paid to the underlying physiological and biological mechanisms that influencing the isotopic enrichment. Some authors suggested that de food ratio C : N, can be affected the direction and magnitude to the isotopic fractionation

The objective of this work it was evaluate the effect of food ratio C : N on the carbon and nitrogen isotope enrichments in blood of omnivorous bat (*Glossophaga soricina*, Chiroptera: Phyllostomidae). The bats were from a captive breeding colony maintained in greenhouse facilities at the Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

For this work, it were used two trial foods, the first with a ratio C : N = 26.4 ($\delta^{13}\text{C} = -20.6\text{‰}$ and $\delta^{15}\text{N} = 3.8\text{‰}$), the second trial food with a ratio C : N de 17.6 ($\delta^{13}\text{C} = -22.7\text{‰}$ and $\delta^{15}\text{N} = 1.03\text{‰}$). Under the first food regime, the fractionation of nitrogen isotopes for blood was lower (4.49 ‰) that the blood fractionation of de second food trial (4.79 ‰). To the contrary, the bats to feed on the first food showed a greater fractionation of carbon (1.51 ‰) to compare de isotopic fractionation of *G. soricina* under the second food regime (0.25‰). The isotopic signature of tissues depends on both elemental concentration and isotopic signatures of the diet.

Key words: *Glossophaga soricina*, isotopic fractionation, ^{15}N , ^{13}C , stable isotopes

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Recientemente se ha incrementado el uso del análisis de isótopos estables de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) y nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) como una herramienta en la investigación de patrones alimenticios y relaciones tróficas en diversos organismos, como insectos (Web *et al.* 1998), peces (Pinnegar *et al.* 2001), aves (Hobson, 1995; Kelly 2000) y mamíferos (Ben-David *et al.* 1997; Kelly, 1999, Herrera *et al.* 2001 a, b). Esta aplicación se basa en el hecho de que los animales reflejan en sus tejidos la composición isotópica de grupos generales de alimentos ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) y nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) en los tejidos proporciona información sobre lo que el animal asimiló de estos alimentos (Roth y Hobson, 2000). La información derivada de estos análisis puede ser a corto, mediano o largo plazo dependiendo del metabolismo del tejido analizado (Herrera *et al.* 2001b). Por ejemplo, en el gerbo (*Muriones unguiculatus*: Muridae) el pelo tarda en reemplazar su contenido isotópico de carbono en 47.5 días y su análisis proporciona información integrada de la alimentación del animal a largo plazo, mientras que en el cerebro, el músculo, el hígado y la grasa de este animal el recambio ocurre en 28.2, 27.6, 15.6 y 6.4 días, respectivamente, y su análisis informa sobre la dieta a mediano y corto plazos (Tieszen *et al.* 1983).

Típicamente, las proporciones de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ son ligeramente mayores en los tejidos animales en comparación con la dieta. Este proceso se conoce como fraccionamiento o cambio trófico (Focken y Becker, 1998). Desde hace relativamente pocos años, algunos autores han acuñado el término fraccionamiento isotópico para describir las diferencias en los valores isotópicos de la dieta y el tejido analizado (Ponsard y Averbuch, 1999).

El fraccionamiento isotópico del $\delta^{15}\text{N}$ en los tejidos de los consumidores es en promedio de 3 ‰ (Fantle *et al.* 1999). Esta diferencia ha permitido utilizar el análisis de isótopos estables de ^{15}N para definir niveles tróficos (Pinnegar *et al.* 2001). El fraccionamiento isotópico del ^{13}C es de cerca de 1 ‰ (Oelbermann y

Scheu, 2002). Debido a que los isótopos estables del carbono no sufren cambios tróficos sustanciales, el análisis isotópico de este elemento ha sido usado para indicar la contribución relativa de las plantas con diferentes rutas fotosintéticas a la dieta de un organismo (Gannes *et al.* 1997; Sponheimer *et al.* 2003), o para determinar la contribución relativa de alimentos de origen marino y terrestre (Hobson y Clark, 1992a).

A pesar de la creciente aplicación de esta técnica, poca atención se ha puesto en entender cuáles son los mecanismos fisiológicos y bioquímicos fundamentales del fraccionamiento trófico (Adams y Sterner, 2000), lo cual puede dificultar la interpretación de los resultados. Las concentraciones isotópicas de los componentes bioquímicos que conforman los alimentos pueden fraccionar o cambiar cuando son incorporados en los tejidos, y la dirección y magnitud de estos cambios depende del metabolismo tisular (Tieszen *et al.* 1983). Estos cambios son debidos a los efectos de asimilación de los componentes bioquímicos de la dieta (los cuales tienen diferentes valores isotópicos) y al fraccionamiento isotópico (Hobson y Clark, 1992b). Los componentes de los tejidos (lípidos, carbohidratos y proteínas) tienen tasas de recambio isotópico características que dependen de las proporciones de adquisición, síntesis y catabolismo (Hawkins, 1991). La tasa de recambio en las proteínas, por ejemplo, depende de la regulación metabólica, la movilización de aminoácidos, la eliminación de polipéptidos no funcionales y los procesos de termorregulación (Hawkins, 1991).

El fraccionamiento isotópico del nitrógeno ocurre durante la síntesis de aminoácidos (Adams y Sterner, 2000). Los grupos amino que contienen ^{14}N son favorecidos durante la transaminación y desaminación, lo cual da como resultado la excreción preferencial del isótopo ligero (^{14}N) y la acumulación del isótopo pesado (^{15}N ; Hobson y Roth 2000; Peterson y Fry, 1987). Shoeller (1999) plantea que el fraccionamiento isotópico difiere en las reacciones de transaminación, y que esto puede ser explicado en función de las diferencias en el contenido isotópico de los aminoácidos, ya que algunos aminoácidos como el glutamato tienen una mayor proporción del isótopo pesado (Gannes *et al.* 1998).

Las bases químicas del fraccionamiento involucran las bajas frecuencias de vibración de los anillos químicos del ^{15}N comparados con los del ^{14}N . El ^{15}N tiende a formar anillos de mayor energía que el ^{14}N , lo que reduce la probabilidad de que éste sea utilizado en las reacciones química (Adams y Sterner, 2000).

El fraccionamiento trófico de los isótopos del carbono puede estar asociado a varios procesos que pueden contribuir al enriquecimiento como son: a) la pérdida preferencial del ^{12}C en el CO_2 durante la respiración, b) la incorporación preferente de los compuestos de ^{13}C durante la digestión, c) el fraccionamiento metabólico durante la síntesis de diferentes tipos de tejidos (DeNiro y Epstein, 1978; Gannes *et al.* 1998), y d) la formación de lípidos pobres en ^{13}C , lo que esta acompañado con el enriquecimiento del sustrato remanente (Focken, 2001). En cada caso, existen evidencias de que el fraccionamiento ocurre durante estos procesos, pero no se puede generalizar.

Existen varios trabajos que han evaluado los factores de fraccionamiento isotópico de los isótopos de carbono y nitrógeno para mamíferos (Tabla 1). Los valores de fraccionamiento isotópico obtenidos en estos trabajos indican que el enriquecimiento trófico de ^{13}C puede ir de 0.6‰ en la zorra roja (*Vulpes vulpes*; Roth y Hobson, 2000) hasta 3.6‰ en el flamenco (*Phoenicopterus chilensis*, *Phoenicopterus ruber roseus* y *P. ruber ruber*; Mizutani, 1992). Mientras que el enriquecimiento de ^{15}N oscila entre 0.5‰ en saltamontes (*Melanoplus sanguinipes*; DeNiro y Epstein, 1987) hasta 5.6 ‰ en el flamenco (*Phoenicopterus chilensis*, *Phoenicopterus ruber roseus* y *Phoenicopterus ruber ruber*, Mizutani, 1992).

Los valores de fraccionamiento isotópico han sido obtenidos en laboratorio para roedores (DeNiro y Epstein, 1978; Tieszen *et al.* 1983), invertebrados acuáticos (Adams y Steiner 2000; Webb *et al.* 2000), aves (Hobson y Clark, 1992), mamíferos marinos (Hobson *et al.* 1996) y carnívoros terrestres (Roth y Hobson, 2000).

Aunque el fraccionamiento isotópico tiene una gran importancia en la interpretación del análisis de isótopos estables, los factores que influyen en el fraccionamiento isotópico no son bien conocidos (Allen, 1998). Algunos autores

han sugerido que factores como la edad (Oelbermann y Scheu, 2002), la fisiología digestiva (Roth y Hobson, 2000), el estrés nutricional (Hobson y Clark, 1992b; Adams y Sterner, 2000), el estrés hídrico (Ambrose y DeNiro, 1986), la pérdida de peso (Allen, 2000), la calidad de la dieta (Webb *et al.* 1998; Adams y Sterner, 2000), y la contribución relativa de diferentes fuentes proteínicas a la dieta (Allen, 1998) puede afectar el fraccionamiento isotópico de carbono y nitrógeno. Estos factores serán discutidos a continuación.

Tabla 1. . Factor de enriquecimiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N obtenidos en condiciones experimentales para algunos mamíferos. El factor de enriquecimiento isotópico se define como la diferencia que existe entre la composición isotópica del tejido del animal y la composición isotópica de la dieta ($\Delta = \delta_{\text{tejido}} - \delta_{\text{dieta}}$). Los valores reportados se dan en partes por mil (‰).

Animal	Nombre Científico	Tejido	$\Delta^{13}\text{C}$	$\Delta^{15}\text{N}$	Autor
Orden Chiroptera					
Murciélago	<i>Glossophaga soricina</i>	Sangre	2.7		Voigt <i>et al.</i> (2003)
Murciélago	<i>Leptonycteris curasoae</i>	Sangre	2.8		Voigt <i>et al.</i> (2003)
Murciélago	<i>Glossophaga soricina</i>	Sangre	-	3.2	Voigt y Matt (2004)
Murciélago	<i>Leptonycteris curasoae</i>	Sangre	-	3.0	Voigt y Matt (2004)
Orden Carnívora					
Zorra	<i>Vulpes vulpes</i>	Músculo	1.1	3.3 – 3.5	Roth y Hobson, 1999
Zorra	<i>Vulpes vulpes</i>	Pelo	2.6	3.3 – 3.5	Roth y Hobson, 1999
Zorra	<i>Vulpes vulpes</i>	Sangre	0.4-0.6	4.2	Roth y Hobson, 1999
Orden Pinnipeda					
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Bazo	1.3	2.1	Hobson <i>et al.</i> 1996
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Corazón	1.2	3.1	Hobson <i>et al.</i> 1996
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Bigotes	3.2	2.8	Hobson <i>et al.</i> 1996
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Hígado	0.6	3.11	Hobson <i>et al.</i> 1996
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Músculo	1.3	2.4	Hobson <i>et al.</i> 1996
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Pelo	2.8	3.0	Hobson <i>et al.</i> 1996
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Piel	2.8	2.3	Hobson <i>et al.</i> 1996

Tabla 1 Continuación

Animal	Nombre Científico	Tejido	$\Delta^{13}\text{C}$	$\Delta^{15}\text{N}$	Autor
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Pulmón	1.8	2.3	Hobson <i>et al.</i> 1996
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Riñón	1.3	2.7	Hobson <i>et al.</i> 1996
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Sangre	1.7	1.7	Hobson <i>et al.</i> 1996
Focas	<i>Phoca spp.</i>	Células sanguíneas	1.5	1.7	Lesage <i>et al.</i> , 2002
Focas	<i>Phoca spp.</i>	Suero	0.8	3.1	Lesage <i>et al.</i> , 2002
Focas	<i>Phoca spp.</i>	Pelo	2.3	2.3	Lesage <i>et al.</i> , 2002
Foca	<i>Phoca spp.</i>	Uñas	2.8	2.3	Lesage <i>et al.</i> , 2002
Orden Rodentia					
Gerbo	<i>Meriones unguiculatus</i>	Cerebro	1.0	-	Tieszen <i>et al.</i> 1983
Gerbo	<i>Meriones unguiculatus</i>	Grasa	- 3.0	-	Tieszen <i>et al.</i> 1983
Gerbo	<i>Meriones unguiculatus</i>	Músculo	1.0	-	Tieszen <i>et al.</i> 1983
Gerbo	<i>Meriones unguiculatus</i>	Pelo	1.0	-	Tieszen <i>et al.</i> 1983
Ratón	<i>Mus musculus</i>	-	1.0		DeNiro y Epstein, 1978
Ratón	<i>Mus musculus</i>	Músculo	-	2.9	Minagawa y Wada, 1984
Rata	<i>Rattus sp.</i>	-	-	3.6	Minagawa y Wada, 1984
Orden Artiodactyla					
Toro	<i>Bos taurus</i>	Sangre		4.2	Steele y Daniels (1978)

FACTORES QUE AFECTAN EL FRACCIONAMIENTO ISOTÓPICO

Metabolismo del nitrógeno

El nitrógeno está presente en el cuerpo animal casi exclusivamente en forma de proteínas (98%) y el resto como ácidos nucleicos, urea, amonio y otros productos nitrogenados (Schoeller, 1999).

El nitrógeno es obtenido de la dieta (Morris, 1991) y utilizado principalmente para la síntesis de proteínas (McDonald *et al.* 1995), una parte de las cuales son utilizadas para la construcción y mantenimiento de tejidos, mientras que otras son utilizadas como componentes específicos en la digestión, la oxidación, la respiración o como hormonas (Berg y Kolenbrander, 1970).

Las proteínas son producto de la combinación de 20 α -aminoácidos (McDonald *et al.* 1995), algunos de los cuales deben ser suministrados de manera específica por los alimentos, ya que los tejidos son incapaces de sintetizarlos (aminoácidos esenciales). Otros aminoácidos se obtienen directamente de la dieta (aminoácidos no esenciales; Guyton, 1994) pero pueden formarse a partir de intermediarios por un proceso denominado transaminación, utilizando el nitrógeno amínico de otros aminoácidos que estén en exceso (Murray *et al.* 1998).

Durante la transaminación, el nitrógeno es tomado de un α -aminoácido y añadido a un α -cetoácido, dando como resultado la formación de un nuevo aminoácido (Alemany, 1986). Las necesidades reales de ciertos aminoácidos esenciales para un organismo dependen de la existencia de otros aminoácidos (McDonald *et al.* 1995) y de otros factores como la edad, el estado de salud y procesos propios de la especie como reproducción, migración, hibernación, etc. (Shoeller, 1999).

El glutamato ocupa un papel importante en la transaminación, desempeñando una función reguladora del metabolismo de los aminoácidos, y su presencia determina la disponibilidad de otros aminoácidos. Por tanto, el glutamato estabiliza las proporciones de síntesis y utilización o eliminación de los aminoácidos en exceso. El glutamato es además importante por el amplio número de aminoácidos

que se sintetizan a partir de él o del 2-ceto-glutarato. Este aminoácido también sirve como elemento captador en la degradación de otros aminoácidos, como la glutamina, la prolina, la histidina y los del ciclo de la urea (Alemany, 1986). El glutamato es el único aminoácido en los tejidos de los mamíferos que sufre la desaminación oxidativa en una magnitud apreciable (McDonald *et al.* 1995).

Otro proceso importante en el metabolismo de los aminoácidos es la desaminación oxidativa, la cual tiene lugar en el hígado. Un aminoácido se forma mediante la deshidrogenación e hidrolización al cetoácido correspondiente con producción de NH_4^+ (Ganong, 2000). En la figura 1 se resume el metabolismo de los aminoácidos.

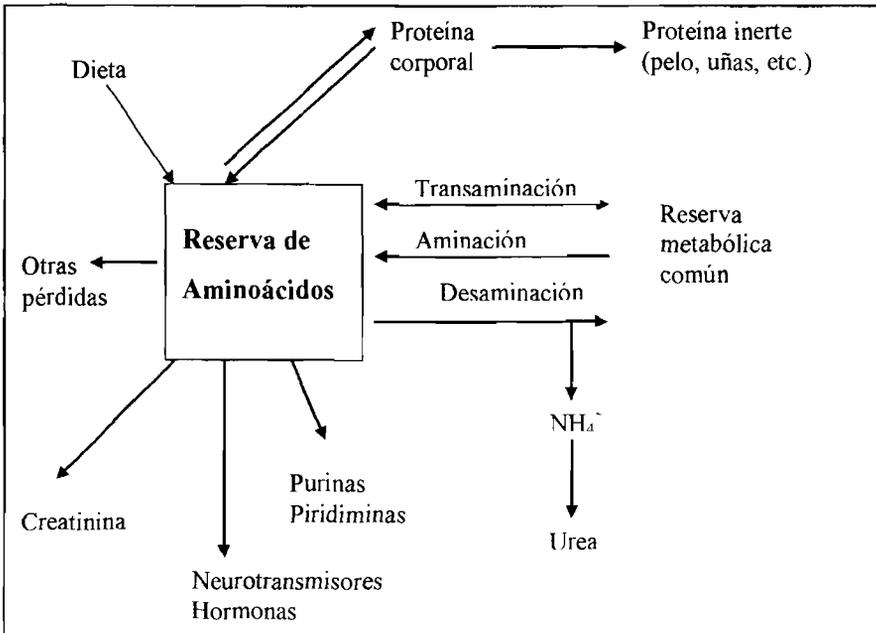


Figura 1 Resumen del metabolismo de los aminoácidos (Modificado de la figura 17-17 de Ganong, 2000)

Durante los procesos de deaminación y transaminación, las enzimas remueven de manera preferencial los grupos amino con ^{14}N . Consecuentemente, el nitrógeno excretado es enriquecido en ^{14}N (Gannes *et al.* 1998), mientras que los tejidos se enriquecen en ^{15}N (Fantle *et al.* 1999; Schoeller, 1999). Los aminoácidos esenciales exhiben pocos cambios en su composición isotópica, mientras que los aminoácidos que son sintetizados o modificados en parte dentro del cuerpo pueden experimentar cambios en sus valores de $\delta^{15}\text{N}$ de mayor magnitud (Pinnegar y Polunin, 1999), como es el caso de aquellos derivados del glutamato (Gannes *et al.* 1998). Hare (1991) aisló ocho de los aminoácidos del colágeno de cerdo y encontró que todos ellos presentaban un enriquecimiento en comparación con los mismos aminoácidos provenientes de la dieta, siendo los más enriquecidos el glutamato y el aspartato (6 y 3 ‰, respectivamente; citado en Hatch *et al.* 1995).

La interpretación de la composición isotópica de los tejidos animales se complica por un fenómeno denominado "isotopic routing" (Gannes *et al.* 1997). Este fenómeno se produce porque los isótopos contenidos en los diferentes componentes de la dieta no son mezclados antes de ser asignados a los componentes tisulares. En lugar de esto, son asignados diferencialmente a tejidos específicos, por lo que los tejidos no reflejan la composición isotópica de la dieta, sino la composición isotópica del nutriente a partir del cual el tejido fue sintetizado (Gannes *et al.* 1997).

Ingestión de proteínas: Todos los organismos requieren que la dieta de la cual se alimentan les proporcione proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas, en cantidades suficientes, para la síntesis de compuestos necesarios para el mantenimiento, crecimiento y reproducción (Morris, 1991). Un estado nutritivo equilibrado se da cuando un organismo tiene aporte de nutrientes conveniente para su crecimiento y / o mantenimiento. Estos requerimientos incluyen: a) fuentes de energía para mantener todos los procesos corporales, b) aporte de proteínas y aminoácidos para mantener un balance positivo de nitrógeno, c) agua y minerales suficientes para compensar su pérdida e

incorporación a los tejidos corporales, y d) contribución suficiente de aminoácidos no esenciales y vitaminas no sintetizadas por el cuerpo (Randall *et al.* 1997).

Las proteínas por sí mismas no son necesarias en la dieta, lo que es esencial en la nutrición es el contenido de aminoácidos (Lehninger *et al.* 1995), motivo por el cual el requerimiento de proteínas se define como la suma de los aminoácidos que se requieren para el mantenimiento de los tejidos animales (Morris, 1991). Es decir, cuando la ingestión de nitrógeno de la dieta es igual a la cantidad de nitrógeno que se elimina en la orina, las heces y otras pérdidas, en niveles moderados de actividad física se dice que el animal se encuentra en balance positivo de nitrógeno (Fox y Cameron, 1992). Los requerimientos proteicos de los animales son consecuencia dinámica de la edad (crecimiento, mudas), el estatus fisiológico (estrés o estabilidad), el estado de salud (reparación o restauración de tejidos, infecciones parasitarias, etc.), el estado nutricional (frecuencia de las comidas, digestibilidad y equilibrio de nutrientes, etc.), las necesidades energéticas (influencia hormonal, preñez y lactancia), y los procesos ecológicos propios de la especie (por ejemplo la migración; Murphy, 1996).

En condiciones normales las proteínas de los alimentos son casi completamente digeridas en el estómago donde son degradadas hasta obtener los aminoácidos que las constituyen y, entonces, estos productos finales de la digestión proteínica se absorben con rapidez desde el intestino a la sangre de la vena portal hepática (Mayes, 1997). Durante este proceso se eleva la concentración de aminoácidos en la sangre, pero disminuye a los pocos minutos porque son absorbidos por las células corporales (Guyton, 1994). De este modo se asegura que estos metabolitos y otros productos hidrosolubles de la digestión se dirijan inicialmente al hígado. El hígado tiene la función metabólica primaria de regular la concentración sanguínea de los metabolitos, en particular de la glucosa y los aminoácidos; además, se ocupa de sintetizar las principales proteínas plasmáticas y de desaminar a los aminoácidos que exceden los requerimientos, mediante la formación de urea, la cual es transportada por la circulación hasta el riñón para ser excretada (Murray *et al.* 1998).

La calidad de la dieta puede juzgarse por su contenido de aminoácidos esenciales y el grado en el cual las proteínas son digeridas y absorbidas por el cuerpo (Fox y Cameron, 1992). La calidad nutritiva de las proteínas puede determinarse por hidrólisis completa, la cuantificación de la composición aminoácida y su comparación con la del huevo o leche. El valor obtenido de una proteína indica su valor biológico, factor que es inversamente proporcional a la cantidad de proteína determinada que debe consumirse para mantener a un individuo adulto en equilibrio nitrogenado (Lehninger *et al.* 1995).

Las dietas normalmente contienen una mezcla de proteínas y el hecho de que cualquier proteína tenga un valor biológico alto o bajo no es de importancia. El requerimiento dietético importante es que la ingestión total de proteína debe suministrar todos los aminoácidos esenciales en proporciones suficientes para satisfacer las necesidades de un organismo (Guyton, 1994). Por lo tanto, si se ingiere una mezcla de proteínas, ésta tiene un gran valor biológico, y se dice entonces que los aminoácidos se complementan (Fox y Cameron, 1992).

La idea de que la calidad de la dieta, el contenido de nitrógeno y diferentes proporciones de proteína animal y vegetal, pueden afectar el fraccionamiento isotópico del carbono y del nitrógeno ha sido demostrada en varios estudios, los cuales serán descritos brevemente a continuación.

Webb *et al.* (1998) evaluaron el fraccionamiento de ^{13}C y ^{15}N en saltamontes (*Locusta migratoria*); para ello utilizaron dos dietas experimentales (maíz y trigo) y sus resultados indican que existe un factor de fraccionamiento diferente de acuerdo con la dieta consumida por el organismo. Allen (1998) determinó el efecto de diferentes proporciones relativas de proteínas derivadas de insectos y plantas en el fraccionamiento isotópico de ^{15}N en la sangre de *Bombycilla cedrorum*. El factor de fraccionamiento en dietas con bajas y altas concentraciones de proteína animal fue similar (4.75 y 4.18 ‰, respectivamente), mientras que el fraccionamiento en la dieta con una composición media de proteínas fue mayor (5.4‰).

Algunos autores como Webb *et al.* (1998), Fantle *et al.* (1999), Adams y Sterner (2000) y Oelberman y Scheu (2002) reportaron que alimentos de baja

calidad dan como resultado un mayor enriquecimiento isotópico ^{15}N comparado con el obtenido con alimentos de alta calidad alimenticia, (estos resultados fueron obtenidos para los invertebrados *Locusta migratoria*, *Callinectes sapidus*, *Daphnia magna* y *Pardosa lugubris*, respectivamente). Los resultados de estos autores sugieren que el proceso de fraccionamiento está directamente relacionado con el contenido de N en el alimento. Por lo tanto el fraccionamiento isotópico a través de los niveles tróficos puede depender de la disponibilidad de nitrógeno (Adams y Sterner, 2000).

Fantle *et al.* (1999) demostraron la relación existente entre el contenido de proteínas de la dieta, generalmente expresada como C : N o aminoácidos totalmente hidrolizables (THAA), y el grado en que los Cangrejos azules (*Callinectes sapidus*) fraccionan el ^{15}N y el ^{13}C . Cuando se alimentó a estos organismos con dietas con proporciones C : N de 23 y 17, se produjo una disminución en la tasa de crecimiento de los individuos, una disminución de los valores del $\delta^{13}\text{C}$ del animal en comparación con la dieta, y un fraccionamiento del nitrógeno de entre 2 y 3 ‰. Sin embargo, cuando la dieta tuvo una relación C : N entre 5 y 6, la tasa de crecimiento aumentó, y el fraccionamiento de carbono (- 0.1 a 0.2 ‰) y nitrógeno (0.1 – 0.9 ‰) fue mínimo en comparación con los valores obtenidos cuando la dieta tuvo proporciones C : N de 23 y 17.

Estos autores concluyeron que el fraccionamiento isotópico a nivel molecular depende de la calidad de la dieta, los requerimientos fisiológicos de la especie durante procesos normales como el crecimiento, el recambio de los tejidos, el balance de nitrógeno y la producción de energía metabólica. Estos autores sugieren que otra posible explicación es que el fraccionamiento isotópico del nitrógeno depende de la calidad de la proteína de la dieta y del estrés metabólico causado por una dieta pobre en proteínas (Fantle *et al.* 1999).

Adams y Sterner (2000) variaron el contenido de nitrógeno en la dieta de *Daphnia magna* para evaluar la relación existente entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y la relación C : N de la dieta. Sus resultados indican que el enriquecimiento de ^{15}N está fuertemente relacionado con la relación C : N, en un rango que va desde 0 a

las 6 ‰. Además, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de los organismos están inversamente relacionados con el contenido de nitrógeno de la dieta.

Estrés nutricional y ayuno (inanición): Cuando una dieta contiene solo los niveles mínimos de aminoácidos esenciales para permitir el mantenimiento de los procesos fisiológicos o cuando un organismo carece de alimento por un período largo de tiempo (ayuno o inanición), el resultado es el pobre desempeño de un animal, ya que la carencia de nitrógeno limita la síntesis de compuestos nitrogenados como aminoácidos, purinas, pirimidinas, etc. (Morris, 1991). Durante este proceso el balance de nitrógeno suele ser negativo (Wilson *et al.* 1978).

Cuando un animal no recibe alimento, independientemente de la actividad física que realice, efectúa una gran variedad de procesos internos que son esenciales para la vida. Dichos procesos incluyen la respiración, circulación, mantenimiento de la tonicidad muscular, producción de secreciones internas, etc. Así, ante la ausencia de los nutrientes necesarios para realizar estas actividades el organismo debe evitar la destrucción de sus propios tejidos. Este proceso se conoce como "catabolismo del ayuno" (Maynard *et al.* 1981).

Cuando un organismo está sometido a condiciones de ayuno o estrés alimenticio, las concentraciones de glucosa, ácidos grasos, cuerpos cetónicos y aminoácidos en el torrente sanguíneo tienden a disminuir, y los patrones de flujo de metabolitos en la sangre de un tejido a otro son diferentes a la de aquellos que se han alimentado correctamente (Gibson y Harris, 2002). Por lo tanto, las condiciones de ayuno pueden cambiar las condiciones fisiológicas de un organismo. Por ejemplo, tras un ayuno de toda la noche, casi todo el glucógeno hepático y la mayor parte del glucógeno muscular se han gastado (Lehninger *et al.* 1995). A las 24 horas la concentración de glucosa de la sangre comienza a disminuir, la secreción de insulina se frena y se estimula la secreción de glucagón (Lehninger *et al.* 1995). Durante el período de inanición se incrementa la síntesis de hormonas que estimulan la gluconeogénesis (producción de glucosa a partir de otros metabolitos; Guyton, 1994). Este proceso ocurre tanto en mamíferos como en aves (Maynard *et al.* 1981; McDonald *et al.* 1995).

Este fenómeno produce el incremento en la concentración de aminoácidos, los cuales son utilizados en los procesos de desaminación y transaminación, además de su conversión en glucosa. Por lo tanto, un periodo de disminución del aporte de proteínas, ya sea por estrés nutricional o por inanición, da como resultado la degradación de las proteínas tisulares para mantener una cantidad adecuada de glucosa para sostener la producción de energía en los tejidos críticos tales como el cerebro (es decir, se recicla el nitrógeno; Lehninger *et al.* 1995).

Una pequeña parte de la glucosa sintetizada puede ser convertida en glucógeno, el cual es almacenado en el hígado y en el músculo, pero la mayor parte de esta glucosa es liberada en el torrente sanguíneo, causando una elevación en los niveles de glucosa, además de reducirse la asimilación de la glucosa y aminoácidos en los tejidos periféricos (Randall *et al.* 1997). Los glucocorticoides también estimulan la movilización de ácidos grasos almacenados en los tejidos adiposos, los cuales pueden ser usados como sustrato para la gluconeogénesis en el hígado o metabolizados directamente en el músculo para proveer de energía para la contracción (Ganong, 2000). En conjunto, todos estos procesos están encaminados a incrementar la disponibilidad de energía rápida en los tejidos nervioso y muscular. Los glucocorticoides tienen otros efectos incluyendo la estimulación de secreciones gástricas y la inhibición de la respuesta inmune (Randall *et al.* 1997).

La mayor parte de las proteínas consumidas durante el ayuno provienen del hígado, bazo y músculos, y solo un poco del corazón y del encéfalo (Ganong, 2000). Durante el ayuno, el músculo oxida los aminoácidos ramificados hasta CO_2 y H_2O , que por tanto sirven como sustratos energéticos. Se ha estimado que en tales condiciones, casi un 15% del acetil-CoA formado en el músculo puede proceder de aminoácidos ramificados (Sánchez-Jiménez y Núñez, 1991).

Durante el período de inanición el ser humano sintetiza varios gramos de glucosa al día, la mayor parte de la cual se produce en el hígado (aunque la corteza renal también sintetiza una cantidad apreciable de glucosa). La pérdida de proteínas que ello significa y las pérdidas sustanciales de minerales, dan lugar a la pérdida de agua asociada con estas sustancias, siendo ésta la causa principal del

descenso inicial de peso; sin embargo, a medida que continúa la inanición, una proporción cada vez mayor de pérdida de peso se debe al consumo de grasa corporal (Yung y Schrimshaw, 1978).

Los tejidos animales en estrés nutricional o inanición muestran un incremento progresivo en las proporciones $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ cuando la masa corporal disminuye (Gannes *et al.* 1997) debido a que se reduce la ingesta de nitrógeno (Oelbermann y Scheu, 2002). Los animales durante estos procesos literalmente “viven de su propia carne”. Los mecanismos mediante los cuales los tejidos llegan a estar enriquecidos en ^{15}N son los mismos que causan el fraccionamiento trófico del nitrógeno, aunado al hecho de que el nitrógeno excretado no es reemplazado por el proveniente de las proteínas de la dieta (Gannes *et al.* 1997).

Cabe señalar que el balance del nitrógeno es una suma algebraica de todas las sumas y pérdidas de nitrógeno en todos los tejidos del cuerpo, de modo que podrá ocurrir que algunos tejidos estén ganando nitrógeno mientras que otros tejidos lo estén perdiendo (Oelbermann y Scheu, 2002). En conclusión, los tejidos metabólicamente activos (como por ejemplo el hígado) muestran más fácilmente los efectos del enriquecimiento debido al estrés alimenticio o el ayuno sobre aquellos tejidos con bajas tasas de recambio (como son el pelo, dientes o plumas; Hobson *et al.* 1993).

Recambio de proteínas y síntesis de tejidos: las proteínas animales con pocas excepciones (pelo, pezuñas, uñas y piel) se encuentran en un estado dinámico y continuamente son degradadas y sintetizadas a partir de las proteínas existentes (además de las proteínas que ingresan en el organismo; Morris, 1991; Lehninger *et al.* 1995). Algunas de las proteínas del cuerpo tienen tasas de recambio muy lentas (colágeno y elastina entre otras), mientras que otras recambian muy rápidamente (por ejemplo, las proteínas del hígado o las del intestino; Hawkins, 1991).

Los animales adultos requieren de un suministro regular de aminoácidos para reemplazar aquellos aminoácidos que han sido degradados o que no pueden ser utilizados de nuevo (McDonald *et al.* 1995); mientras que en los animales en crecimiento, la tasa de renovación de las proteínas se incrementa, y está asociada

con las necesidades del nuevo tejido. Durante este proceso algunos aminoácidos se requieren en mayor proporción que otros (Morris, 1991).

Durante el crecimiento, se intercambia el equilibrio entre los aminoácidos y las proteínas corporales a favor de estas últimas, de manera que la síntesis excede la degradación (Ganong, 2000). Cuando un organismo presenta un rápido crecimiento y la dieta de la cual se alimenta le provee energía y nutrientes suficientes da lugar a una rápida biosíntesis de estos materiales para la formación del tejido nuevo (cuando el balance es positivo; Wilson *et al.* 1978). Por lo tanto, el valor isotópico del tejido en cuestión será similar al de la dieta (Fantle *et al.* 1999). De tal manera, cuando se toman muestras de tejido como pelo o plumas, los valores isotópicos de éstos solo proporcionan información de la dieta durante el período en el cual crecieron (Mizutani *et al.* 1992).

Al comienzo de la vida (incluyendo la vida prenatal), los tejidos nervioso y óseo tienen prioridad sobre los nutrientes disponibles y crecen con rapidez, le sigue el tejido muscular y, finalmente, el tejido adiposo (McDonald *et al.* 1995). Por el contrario, cuando un organismo no tiene el suplemento alimenticio adecuado de nutrientes, puede inhibirse el crecimiento o aumentar la tasa catabólica de proteínas y lípidos para proveerse de nutrientes (de manera similar a lo que sucede durante los períodos de ayuno o estrés alimenticio; Fantle *et al.* 1999); y asignarlas para el desarrollo de ciertos tejidos. Hatch *et al.* (1995) compararon el desarrollo y crecimiento de gallinas sometidas a estrés alimenticio con gallinas alimentadas *ad libitum* y encontraron que el desarrollo de las plumas de ambos grupos fue similar.

Los aminoácidos producidos por el catabolismo de las proteínas son deaminados formando cetoácidos, una porción de los cuales son reaminados y reincorporados en los tejidos corporales. Cada transaminación resulta en el fraccionamiento isotópico que aunada con la excreción del nitrógeno dan como resultado la disminución de ^{15}N y la retención de aminoácidos enriquecidos (Gannes *et al.* 1997). Debido a que la proporción de incorporación de estos aminoácidos reciclados depende de la proporción de recambio de los tejidos

relevantes, los mayores enriquecimientos de ^{15}N deben encontrarse en tejidos con altas tasas de recambio (Webb *et al.* 1998).

Recientemente ha sido debatida la idea de que los contenidos de ^{15}N en tejidos animales se incrementan con la edad (Owens, 1987). Los resultados reportados por Fantle *et al.* (1999), Adams y Sterner (2000), Oelberman y Scheu (2002), apoyan esta idea. En contraste Minagawa y Wada (1984), Hobson y Clark (1992b), Webb *et al.* (1998), Roth y Hobson (2000) y Ponsard y Averbuch (1999) no encontraron ninguna correlación entre los valores de fraccionamiento y la edad.

Para la aplicación del análisis de isótopos estables en la descripción de patrones tróficos es importante tomar en cuenta algunas consideraciones relacionadas con la edad del individuo:

- a) Pueden existir diferencias en los valores isotópicos entre crías y madres de mamíferos, debido a que las crías se alimentan de la leche materna, lo cual puede situarla en un nivel trófico superior al de la madre, y en algunos casos puede sobreestimarse los ítems consumidos por las crías (Jenkins *et al.* 2001).
- b) Algunos animales cambian de hábitos alimenticios de acuerdo a sus etapas de su desarrollo (Hobson y Clark, 1992b); y
- c) Las concentraciones de ácido úrico y urea alcanzan niveles potenciales en el plasma sanguíneo, particularmente cuando se incrementa el recambio de proteínas durante el crecimiento (Bearhop *et al.* 2000). Lo que puede traducirse en un mayor fraccionamiento isotópico (Bearhop *et al.* 2000; Bearhop *et al.* 2002).

Excreción del nitrógeno: los mamíferos no tienen un sistema de autorregulación que permita la utilización de los aminoácidos ambientales, por lo tanto tienen que eliminar el exceso de aminoácidos por medio una ruta catabólica (Sallach y Fallen, 1969). La mayoría de los animales terrestres excretan el nitrógeno amínico en forma de urea, por lo que se denominan urotélicos. El amoníaco en las mitocondrias de los hepatocitos se convierten en urea mediante el ciclo de la urea; la producción de la urea tiene lugar casi exclusivamente en el hígado y representa el destino de la mayor parte del amoníaco allí canalizado (Lehninger *et al.* 1995).

Los animales excretan nitrógeno principalmente en tres productos finales: amonio, urea y ácido úrico. Mucho del nitrógeno que compone estos compuestos representa el nitrógeno amínico removido durante el catabolismo. Los aminoácidos provenientes de la dieta en cantidades que exceden las cantidades necesarias para el crecimiento y mantenimiento de la tasa de recambio de las proteínas son preferentemente degradadas sobre los carbohidratos y los lípidos (Campell, 1991).

Una de las consecuencias del catabolismo de los aminoácidos es la producción de amoníaco, que es muy tóxico (Lehninger *et al.* 1995). Parte del mismo, debe emplearse en procesos de aminación, para la síntesis de aminoácidos en el organismo. En este caso, el amoníaco reacciona con el α -cetoglutarato para dar glutamato que seguidamente se utiliza en la síntesis (Lehninger *et al.* 1995). La mayor parte del amoníaco se excreta, en forma de urea en los mamíferos y de ácido úrico en las aves (McDonald *et al.* 1995). La desaminación de los aminoácidos tiene lugar en todos los órganos del cuerpo (Ganong, 2000). En la mayoría de los tejidos, el amoníaco se convierte en glutamina antes de ser transportada hasta el hígado (Murray *et al.* 1998). En el músculo la alanina ocupa el lugar de la glutamina. Después el amoníaco se regenera para la síntesis de urea (McDonald *et al.* 1995).

El ciclo de la urea se lleva en mayor parte en el hígado. A partir de la desaminación de los aminoácidos, se produce NH_4 , el cual se convierte a urea y ésta se excreta en la orina (Ganong, 2000). Los animales urotélicos tienen grandes cantidades del enzima arginasa en el hígado, la cual cataliza la hidrólisis reversible de la arginina en urea y ornitina. (Lehninger *et al.* 1995). La urea tiene la ventaja funcional de ser una molécula muy hidrosoluble e inocua, con una elevada proporción de nitrógeno en su composición (Kay, 1998), lo que permite su eliminación, con relativamente escasa inversión de energía por el organismo al ser concentrada en la orina y eliminada al exterior (Alemany, 1986).

Cuando existe un exceso de aminoácidos, estos son rápidamente catabolizados a amonio. En los mamíferos, el amonio es rápidamente convertido en urea y distribuido en el pool hídrico (Bondi, 1988). Cerca del 88% del nitrógeno

excretado se encuentra en la orina, principalmente en forma de urea, pero cerca del 7% esta presente como amonio y 10% como creatinina y otras moléculas (Shoeller, 1999). Sin embargo no toda la urea es retenida en el riñón, ya que una porción pasa al intestino, donde está sujeta a modificación bacteriana, produciendo amonio y proteínas bacterianas, las cuales son eliminadas posteriormente a través de las excretas (Maynard *et al.* 1981). Otra manera de eliminar el nitrógeno podría ser a través de la producción de leche, por el sudor, desprendimiento de piel y por crecimiento de uñas y pelo (Lehninger *et al.* 1995).

Aunque la mayoría del nitrógeno corporal esta conformado por aminoácidos (Ganong, 2000), no podemos asumir que todo el nitrógeno es isotópicamente idéntico (Shoeller, 1999), ya que se ha demostrado la existencia de variaciones isotópicas entre aminoácidos (Hare *et al.* 1991). El fraccionamiento del nitrógeno ocurre cuando el isótopo ligero es excretado como NH_3 , mientras que el nitrógeno remanente es en su mayor parte ^{15}N (Steele y Daniel, 1978; Minagawa y Wada, 1984; Gannes *et al.* 1998).

Los animales que consumen una dieta limitada o libre de nitrógeno pero adecuadas en los demás aspectos, siguen perdiendo nitrógeno en las heces y la orina. El nitrógeno de las heces procede de las enzimas y restos de células del tracto digestivo, así como de restos de microorganismos (Maynard *et al.* 1981). El nitrógeno urinario desciende hasta estabilizarse, lo cual sugiere que los animales disponen de una reserva proteica que puede utilizarse en las épocas de escasez de nitrógeno (Bondi, 1988). Al volver a administrar nitrógeno en la dieta, la cantidad de nitrógeno excretado en la orina aumenta como consecuencia de la pérdida de aminoácidos procedentes de los alimentos que no pueden utilizarse (Bondi, 1988). La excreción total de nitrógeno puede variar de acuerdo a la dieta y al estado fisiológico del individuo, pudiendo ser mayor cuando el consumo de proteína es alto o menor cuando una dieta con bajo contenido de proteína es consumida (Linder, 1991).

El fraccionamiento isotópico del nitrógeno asociado con el ciclo de excreción ha sido usado en estudios de poblaciones de vertebrados para explicar las fluctuaciones de $\delta^{15}\text{N}$ en función de las condiciones ambientales (por ejemplo de

estrés hídrico; Ambrose, 1991). Los animales tolerantes a la sequía generalmente tienen valores más bajos de $\delta^{15}\text{N}$ que aquellos que están obligados a tomar agua (Sealy *et al.* 1987).

Metabolismo del carbono:

El fraccionamiento trófico del ^{13}C en los tejidos de los consumidores es en promedio de 1 ‰ (Oebemann y Scheu, 2002). Debido a que este isótopo no sufre cambios sustanciales en su paso por el organismo, se ha usado para indicar la contribución relativa de las plantas con diferentes rutas fotosintéticas en la dieta (Gannes *et al.* 1997), entre otras aplicaciones (Hobson y Clark, 1992a).

La reconstrucción de dietas utilizando los $\delta^{13}\text{C}$ de los tejidos en animales depende de la transferencia directa de carbono proveniente de la dieta (Hobson y Clark, 1992 a), del conocimiento de la magnitud y dirección del enriquecimiento trófico, así como de la velocidad con la cual el carbono es asimilado, incorporado y eliminado de los tejidos animales (Tieszen y Boutton, 1988).

La habilidad de hacer inferencias a partir de los valores tisulares de ^{13}C puede ser reforzada con el conocimiento de los mecanismos con los cuales los componentes bioquímicos de la dieta son incorporados en los tejidos animales (Van der Merwe, 1982). Sin embargo, no son bien conocidos los factores que intervienen en el metabolismo del carbono. El fraccionamiento del isótopo del carbono por los consumidores puede estar asociado a varios procesos que pueden contribuir al enriquecimiento como son la incorporación preferente de los compuestos de ^{13}C durante la digestión, el fraccionamiento metabólico durante la síntesis de diferentes tipos de tejidos, y la pérdida preferencial del ^{12}C en el CO_2 durante la respiración.

Incorporación preferente de los compuestos de ^{13}C durante la digestión y los procesos metabólicos: el aparato gastrointestinal es la vía de entrada a través de la cual ingresan sustancias nutritivas, vitaminas, minerales y líquidos al cuerpo. Las proteínas, grasas y carbohidratos son desdoblados en unidades absorbibles, principalmente en el intestino delgado (Ganong, 2000). El resultado

final de la acción de las enzimas digestivas es la transformación de los alimentos en compuestos que puedan ser absorbidos y asimilados (McDonald *et al.* 1995). Estos productos son, para los carbohidratos, los monosacáridos (principalmente la glucosa); para las proteínas, los aminoácidos; para el triacilglicerol, los ácidos grasos, el glicerol y los monoacilgliceroles; y para los ácidos nucleicos, las nucleobases, los nucleósidos y las pentosas (Mayes, 1997).

Debido a que todos los tejidos son un complejo de proteínas, carbohidratos y grasas, es importante tomar en cuenta que cada uno de esos componentes pueden sufrir fraccionamiento en diferente grado o en diferente dirección (Hatch *et al.* 1995). Las diferencias en los valores isotópicos del carbono entre lípidos y otros componentes pueden ser explicadas por el proceso de fraccionamiento del isótopo de carbono durante la síntesis o asimilación de estos nutrientes (Focken, 2001).

Por ejemplo Hatch *et al.* (1995) reportaron que los cambios observados en los valores de ^{13}C en hemoglobina de gallinas, no son debidas al cambio de dieta, sino que son el resultado del proceso de fraccionamiento durante el metabolismo de los aminoácidos. Esto concuerda con los resultados de Hare *et al.* (1991) quienes aislaron ocho aminoácidos del colágeno del hueso de puercos en crecimiento y encontraron que todos ellos estaban enriquecidos en ^{13}C en comparación con los mismos aminoácidos provenientes de la dieta.

Además se debe tomar en consideración otros procesos fisiológicos, como son por ejemplo la muda y la reproducción, los cuales requieren una mayor demanda de energía, y no es claro cuál es el efecto de estos procesos en las reservas endógenas del cuerpo. Por ello se han realizado algunos estudios concernientes con la dinámica de los nutrientes durante estos procesos para establecer la dinámica de la pérdida de tejidos o la movilización de nutrientes durante estos procesos (Hobson y Clark, 1992a).

Otro factor importante que debe tomarse en cuenta, son las relaciones existentes entre las diferentes rutas metabólicas de las proteínas, carbohidratos y lípidos (Ganong, 2000), y los procesos de eliminación de estos componentes (McDonald *et al.* 1995).

El fraccionamiento metabólico durante la síntesis de diferentes tipos de tejidos: los procesos metabólicos y fisiológicos de este proceso fueron descritos en la sección de metabolismo del nitrógeno. En el trabajo desarrollado por DeNiro y Epstein (1978) se mostró que en animales pequeños los $\delta^{13}\text{C}$ son similares a los $\delta^{13}\text{C}$ de la dieta, aunque con un ligero enriquecimiento en ^{13}C . Datos aportados por Tieszen *et al.* (1983) demuestran que el recambio isotópico es diferente dependiendo del tejido analizado, siendo más rápido en hígado y grasa (vida media de 6.4 y 15.6 días respectivamente), mientras que este período fue mayor en músculo, pelo y cerebro.

La pérdida preferencial del ^{12}C que constituye el CO_2 durante la respiración: El metabolismo de los carbohidratos y grasas, dos de los mayores componentes nutricionales de los animales, dan como resultado la producción de dióxido de carbono y agua como productos de desecho. El dióxido de carbono es removido vía exhalación por los pulmones mientras que el agua es removida por los órganos excretores (Kay, 1998). En los animales, el fraccionamiento isotópico del carbono ocurre primariamente durante la respiración con la pérdida preferencial del ^{12}C que forma el $^{12}\text{CO}_2$, durante la oxidación de los grupos acetilo derivados del catabolismo de los lípidos, proteínas y carbohidratos (Hobson *et al.* 1993). Sin embargo, estos efectos de fraccionamiento son generalmente menos pronunciados que los descritos para el nitrógeno (Focken y Becker, 1998) o inexistentes (Teeri y Schoeller, 1979)

1.2 Justificación

Recientemente, el análisis de isótopos estables se ha incorporado a la batería de técnicas usadas para describir patrones alimenticios de los murciélagos (Ceballos *et al.* 1996; Cryan *et al.* 2004; Des Marais *et al.* 1980; Fleming, 1995; Fleming *et al.* 1993; Herrera *et al.* 1993, 1998, 2001 a, b, 2002; Nassar *et al.* 2003).

A pesar de la gran diversidad ecológica dentro de este grupo de mamíferos (Neuweiler, 2000), existen dos estudios sobre los valores de fraccionamiento trófico en dos especies de murciélagos nectarívoros. Voigt *et al.* (2003) determinaron el fraccionamiento isotópico de ^{13}C en sangre, los cuales fueron de 2.8‰ y 2.7‰ para *L. curasoae* y *G. soricina* respectivamente. Por otro lado Voigt y Matt (2004) obtuvieron experimentalmente los valores de fraccionamiento isotópico de ^{15}N en sangre de *L. curasoae* y *G. soricina*, los cuales fueron de 3.0‰ y 3.2‰, respectivamente. En ambos casos, los murciélagos registraron pérdidas de peso (aproximadamente 8% de su peso corporal). Los resultados de estos autores están influenciados por la pérdida de peso de los animales, lo que puede afectar la validez de los resultados obtenidos, así como limitar su generalización. De acuerdo con estos autores la pérdida de peso en estos murciélagos fue debido al estrés alimentario ya que la dieta proporcionada no satisfizo las necesidades nutricionales de la especie (Voigt *et al.* 2003; Voigt y Matt, 2004).

Actualmente varios autores sugieren que la calidad de la dieta (proporciones C : N; Allen, 1998; Fantle *et al.* 1999; Webb *et al.* 1998), puede afectar la dirección y magnitud del fraccionamiento isotópico del nitrógeno. Estos autores sugieren que debido a que las proporciones C : N disminuyen a lo largo de los niveles tróficos (por ejemplo los carnívoros ingieren más proteínas que los herbívoros y omnívoros) se espera una mayor fraccionamiento isotópico en los niveles tróficos superiores (Ponsard *et al.* 1993). Sin embargo, algunos autores han obtenido resultados completamente diferentes a los anteriores. Así, bajo condiciones experimentales controladas, se ha reportado un mayor fraccionamiento isotópico cuando un animal ha sido alimentado con una dieta vegetal (alta proporción C : N) en contraposición con el fraccionamiento isotópico obtenido cuando ha sido

alimentado con una dieta animal (o una mezcla de ambos, lo que equivale a proporciones C : N menores que las encontradas en dietas netamente vegetales; Hobson y Clark, 1993; Focken y Becker 1998).

Por otro lado, el efecto de las proporciones C : N en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C ha sido evaluado en muy pocos trabajos (Fantle *et al.* 1999; Oelberman y Scheu 2002 y Pearson *et al.* 2003), dichos trabajos coinciden en que el fraccionamiento isotópico del ^{13}C es mayor a mayores concentraciones de carbono de la dieta.

El presente trabajo tuvo como objetivo principal evaluar el efecto de la variación en la proporción C : N de la dieta en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N en la sangre de un murciélago omnívoro (*Glossophaga soricina*, Chiroptera: Phyllostomidae) en condiciones de laboratorio. Aún cuando existe evidencia de que las proporciones C : N, influyan directamente en el fraccionamiento isotópico del ^{13}C , en este trabajo se evaluará la magnitud y dirección del fraccionamiento isotópico del ^{13}C , y se evaluará la relación existente entre la concentración de C en la dieta y el fraccionamiento isotópico del ^{13}C . Para cubrir los objetivos se alimentó un grupo de murciélagos con dos dietas experimentales, la primera de ellas con una proporción carbono – nitrógeno (C : N) de 26.4 y la segunda con una proporción C : N de 17.6.

HIPÓTESIS:

El fraccionamiento isotópico del nitrógeno está inversamente relacionado con la proporción C : N de la dieta, por tanto el fraccionamiento isotópico del ^{15}N será mayor a menores proporciones C : N. El fraccionamiento isotópico del carbono está directamente relacionado con la concentración de este elemento en la dieta por lo que a mayor concentración de carbono será mayor el fraccionamiento de ^{13}C .

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la concentración relativa de C : N en la dieta, sobre el fraccionamiento isotópico de $\delta^{15}\text{N}$ en la sangre de un murciélago omnívoro (*Glossophaga soricina*, Chiroptera: Phyllostomidae), bajo condiciones de cautiverio.

Evaluar el efecto de la concentración de carbono en el fraccionamiento isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ en sangre de *Glossophaga soricina* bajo condiciones de cautiverio.

Objetivos particulares:

- Evaluar el efecto de las variaciones del peso de los individuos en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N a través del tiempo.
- Determinar el balance de nitrógeno de los individuos alimentados con la dieta 1 y 2 respectivamente
- Determinar la dirección y magnitud del fraccionamiento isotópico $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$
- Evaluar el efecto de las proporciones C : N en el fraccionamiento isotópico de ^{15}N en sangre de *G. soricina*.
- Evaluar el efecto de la concentración de C en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C en sangre de *G. soricina*.

CAPÍTULO II:

MÉTODO

2.1 Sujeto de estudio:

El presente estudio se realizó con individuos de la especie *Glossophaga soricina handleyi*.

Características generales: La especie es de talla pequeña: la longitud del antebrazo es menor de 38 mm (Medellín *et al.* 1997) con un peso de entre 8 -12 g (Miranda, 2002) con hocico alargado y provisto de una hoja nasal. Las orejas son cortas y redondeadas; el labio inferior está escotado en su porción media. La lengua es protractil y está provista de papilas filiformes. La membrana interfemorales es amplia y en ella está incluida la cola, con excepción de su porción media distal que es libre. La coloración varía de gris-acanelado a café canela con el vientre es más claro (Villa, 1966). La lengua tiene una gran cantidad de papilas especializadas para coleccionar néctar. El aparato digestivo es modificado para procesar néctar en corto tiempo (Arita y Martínez, 1990). Sin embargo, Pacheco-R. y Salazar (1990) señalan que el estómago es muy especializado, y señalan que de acuerdo a la anatomía gástrica se muestra hasta cierto punto una reminiscencia de sus hábitos alimentarios insectívoros y de frutas blandas.

Diagnosis: El cráneo presenta el rostro largo y la caja craneana semiglobosa y el arco cigomático simple. Las diferencias entre esta especie y *G. comissarisi* son a nivel de cráneo son que *G. soricina* presenta incisivos procumbentes y el premaxilar alargado, mientras que *G. comissarisi* no tiene incisivos procumbentes ni el premaxilar alargado (Medellín y Arita, 1997; Ceballos y Miranda, 1986).

Distribución en México: Esta especie se distribuye por la vertiente del Pacífico desde Sonora y en el Golfo de México desde Tamaulipas hasta Paraguay y hasta el norte de Argentina. Esta especie también se ha encontrado en algunas islas adyacentes a la región norte de Sudamérica (Álvarez *et al.* 1991).

Patrón reproductivo: Varios autores sugieren que *G. soricina* tiene el patrón reproductivo de los murciélagos frugívoros, con picos bimodales de preñez y lactancia, es decir, es Poliestrico Bimodal (Fleming, *et al.* 1972; Rasweiler, 1973; Heithaus, *et al.* 1975; Wilson, 1979; Sánchez, *et al.* 1985; Willing, 1985; Ceballos y Miranda, 1986). Wilson (1979) sugiere que *G. soricina* tiene variaciones en sus picos de natalidad de acuerdo a la variación geográfica, además de que algunos autores creen que los períodos de preñez, lactancia y destete de los murciélagos nectarívoros están sincronizados con los ciclos de abundancia de recursos (picos de floración y fructificación; Fleming, 1972; Willing, 1985, 1993), pero hay que contar con los datos precisos de la fenología (Arita y Martínez, 1990).

Hábitos alimentarios: Los hábitos alimentarios de *G. soricina* han sido estudiados por muchos autores, los cuales han reportado que esta especie consume una gran variedad de frutas, polen néctar e insectos. Se cree que estos organismos son poco específicos en lo que a fuentes de alimentación se refiere (Boncorso y Gush, 1987; Arita y Martínez, 1990; Howell y Burch, 1974). Gardner (1977) reporta que esta especie está considerada como netamente omnívora o facultativa y concuerdan con esto los resultados obtenidos por Fleming *et al.* (1972), Pacheco y Salazar (1990) y Ayala y D'Alessandro (1973). Lemke (1984) considera a esta especie como polinívora. Quiroz *et al.* (1986) consideran a esta especie como polinofaga facultativa y que satisface sus necesidades nutricionales con otros recursos alimentarios tales como invertebrados (insectos y arácnidos) y néctar. Además, indican que sus características morfológicas y fisiológicas ponen de manifiesto su capacidad para suplir su dieta con el consumo de partes florales, frutos e insectos.

La mayoría de los trabajos existentes sobre hábitos alimentarios de *G. soricina* se hicieron con base a un análisis de contenido estomacal, examen de heces o por observación directa del autor. Entre los alimentos consumidos por esta especie se encuentran:

a) Frutos: Se reporta el consumo de *Muntingia calabura* (Ramírez-Pulido y Armella, 1987), *Piper amalago*, *Ficus ovalis*, *Cecropia peltata* (Bonaccorso y Gush, 1987), *P. hispidum*, *P. auritum*, *C. obtusifolia* (Gaona, 1997), y miembros de la

familia Melastomaceae (Howell y Burch, 1974). Heithaus *et al.* (1975) encontraron remanentes de frutos de siete especies, predominantemente *Muntingia calabura*. Willing (1993) reporta que en Brasil esta especie tiene preferencia por *Solanum* y *Visma*.

b) Polen y néctar: Se reporta el consumo de polen de *Pseudobombax ellipticum* (Arita y Martínez, 1990; Eguiarte, *et al.* 1987); *Agave sp.* (Lemke, 1984), *Inga sp.*, *Musa paradisiaca*, *Macuna sp.*, *Pitcaina sp.*, *Crescentia sp.*, así como polen de las familias Hymenaceae y Bombacaceae (Howell y Burch, 1974). En Guerrero se encontró polen de *Bauhinia unguolata*, *Ipomoea sp.*, *Combretum farinosum*, y de la familia Cactaceae (Quiroz *et al.*, 1986). Heithaus *et al.* (1974) encontraron polen de cerca de veinte especies predominando el polen de *Crescentia sp.* Wilson (1979) menciona cerca de 41 especies y 11 familias de polen encontrados en contenidos estomacales de *G. soricina*. Un estudio reciente realizado en la región de Chamela reporta que se encontró polen de 15 especies de plantas (Stoner, 2003).

c) Insectos: Se han encontrado restos de Lepidópteros (Howell y Burch, 1974), arácnidos (Quiroz, *et al.* 1986) e himenópteros (Willing, 1993).

Hábitos generales de comportamiento: *G. soricina* es de hábitos gregarios y forma colonias numerosas, en las cuales al parecer no hay segregación sexual (Coates-Estrada y Estrada, 1986). Esta especie vive en cuevas y se ha encontrado asociada con *Sturnira sp.* (Corona, 1993), *Artibeus jamaicensis* y *Macrotus waterhousii* (Goodwin, 1970). Sus refugios diurnos generalmente se encuentran cerca de árboles con frutos y en la vegetación riparia (Ceballos y Miranda, 1986). Esta especie es de hábitos de forrajeo solitario, no siempre usa la misma ruta al volar, de ahí que sea difícil volver a capturarlo (Heithaus *et al.* 1975). *G. soricina* realiza sus actividades de forrajeo a pocos metros de altura (Bonacorso y Gush, 1987). En contraposición con esto, Ramírez-Pulido y Armella (1987) reportan que en Guerrero esta especie tiene un alto índice de recaptura.

2.2 Trabajo experimental

Zona de colecta: la colecta de los individuos de *G. soricina* se llevó a cabo durante la segunda semana de marzo de 2001 en una cueva ubicada en un potrero a 16 Km. de Teloloapan en el estado de Guerrero (18° 22' latitud norte y 99° 52 ' longitud oeste) a una latitud de 1640 msnm (Figura 2). La temperatura media anual en la zona es de 21.9 ° C y la precipitación media anual es de 911.1 mm (INEGI 2001).

La vegetación de la zona está compuesta por selva baja caducifolia (*Ipomoea walcottiana*, *Cordia elaeagnoides*, *Bursera simaruba*, *Acacia comigera*, *Lysiloma acapulquiensis*), pastizal (*Hyparrhenia rufa*, *Panicum maximum*, *Bouteloa filiformis*, *Aristida adscensionis*, *Digitaria decumbers*), bosque de pino-encino y áreas destinadas para la agricultura (*Zea mays*, *Phaseolus vulgaris*, *Mangifera indica*) y la cría de ganado (bovino y caprino, INEGI 2001).

Captura de ejemplares: la captura se llevó a cabo con redes de niebla colocadas a la entrada y a la salida de la cueva conocida como "Los Siete Cuartos", además de que se utilizaron redes de golpeo para la colecta de ejemplares en las paredes y techo de la cueva. Se colectaron 12 individuos machos juveniles.

Adaptación de los murciélagos al cautiverio: los ejemplares se colocaron en una jaula y se transportaron de inmediato a las instalaciones de la Universidad Simón Bolívar (Ciudad de México), donde se adaptaron al cautiverio. Durante los cuatro primeros días, los murciélagos fueron alimentados con trozos de plátano y manzana. Después de este período, se les alimentó con una dieta proporcionada por personal de la Universidad Simón Bolívar junto con trozos de fruta. La dieta fue ofrecida inicialmente en bajas concentraciones hasta llegar a una concentración media. Los murciélagos permanecieron en las instalaciones de la Universidad Simón Bolívar durante 24 días. Durante este período murieron cuatro individuos. Posteriormente los murciélagos fueron trasladados a un bioterio del Instituto de Biología de la UNAM. Antes de comenzar el trabajo experimental, los murciélagos fueron sometidos a un periodo de adaptación (45 días). Durante este

período se aumentó la concentración de la dieta, hasta llegar a la que se utilizaría durante el trabajo experimental.

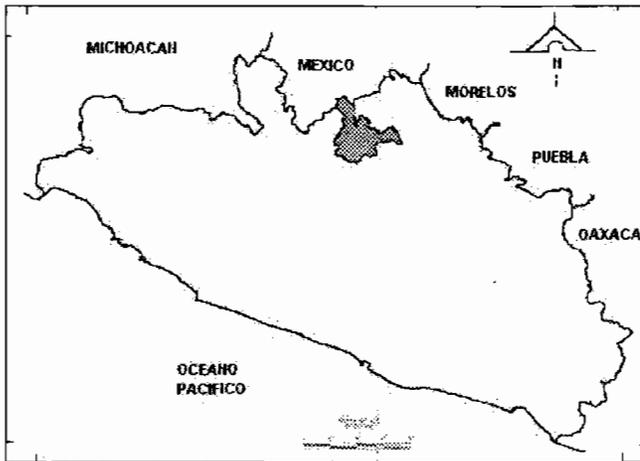


Figura 2. Ubicación de la zona de colecta.

El trabajo experimental se llevó a cabo con ocho individuos, los cuales fueron alojados en una jaula de 0.64 m^2 . La jaula fue construida con madera y recubierta de malla plástica para evitar que los murciélagos se lastimaran. El bioterio se mantuvo a temperatura y humedad constante durante todo el tiempo que duró el trabajo experimental (entre $25 - 27^\circ \text{C}$ y a 30% de humedad relativa). Desde que los animales se mantuvieron en cautiverio se pesaron semanalmente en horario constante con una balanza analítica marca Ohaus con precisión de 0.001 g .

2.3 Factor de fraccionamiento isotópico:

Para determinar el factor de fraccionamiento isotópico de carbono y nitrógeno este trabajo se dividió en dos fases experimentales, cada una representada por una dieta diferente. En ambas fases se utilizaron los mismos individuos ($n = 8$).

La sangre fue elegida para el análisis isotópico debido a que recientemente ha sido utilizada en estudios ecológicos de murciélagos (Fleming *et al.* 1993; Herrera *et al.* 1993; Fleming, 1995; Ceballos *et al.* 1997; Herrera *et al.* 1998; Herrera *et al.* 2001 a, b; Herrera *et al.* 2002) por ser una alternativa de muestreo que permite la colecta de muestras de un mismo individuo a lo largo de un período de tiempo relativamente largo (Hobson y Clark, 1993), sin afectar el estado de salud de los individuos (Swan *et al.* 1991).

Sin embargo, no siempre fue posible extraer sangre de todos los individuos, motivo por el cual en algunos períodos el tamaño de muestra fue variable (entre 5 y 8 muestras por período). La habilidad para extraer diferentes clases de información de un único individuo es particularmente útil para estudios sobre animales que cambian de fuentes alimenticias de acuerdo a la disponibilidad de recursos o a los cambios estacionales (Roth y Hobson, 2000).

Dietas experimentales: el presente trabajo se dividió en varios períodos. El primer período experimental transcurrió durante 90 días (marzo – agosto), durante este período se alimentó a los murciélagos con la dieta 1. La dieta 1 consistió en una mezcla leche de vaca, varios cereales en polvo (trigo, avena, arroz y maíz), plátano y agua. Dicha dieta tuvo una proporción C : N de 26.

Una vez terminado este período y con el propósito de que los animales se acostumbraran a una nueva dieta (dieta 2) se alimentó a los murciélagos con una mezcla de ambas dietas, comenzando con 90% de la dieta 1 y 10% de la dieta 2, hasta llegar al 100% de la dieta 2.

El último período experimental duró 90 días (septiembre – diciembre), la dieta experimental (dieta 2), fue una mezcla de varios cereales en polvo: soya, trigo, avena, arroz y maíz, plátano y agua. Dicha dieta tuvo una proporción C : N de 17.

La composición, el contenido de nitrógeno, de ambas dietas se resumen en la Tabla 2.

Ambas dietas fueron planeadas para que difirieran en las proporciones C : N (Tabla 2). Para determinar el contenido de nitrógeno y carbono total de cada una de las dietas, se analizaron 8 muestras de cada una en un analizador elemental CE Instruments Flash EA 1112.

Para evitar enfrentamientos agresivos entre los individuos, la dieta se dividió en cinco recipientes. La dieta fue administrada junto con agua en cantidades que excedieron el consumo de los murciélagos, para evitar el estrés nutricional y el estrés hídrico, ya que ambos factores pueden alterar el fraccionamiento de los isótopos estables de carbono y nitrógeno (Hobson *et al.* 1992 b). Desde el inicio del trabajo experimental diariamente se tomaron muestras del alimento para su análisis isotópico. El volumen colectado por muestra fue de 1 ml. Las muestras de alimento analizadas correspondieron a la fecha en que se colectaron las muestras de sangre.

Obtención de muestras de sangre: se colectaron aproximadamente 80 microlitros de sangre de la vena del antebrazo de cada individuo con ayuda de una aguja de 0.65 X 25 mm y un tubo capilar con heparina. La sangre se colocó en viales con etanol al 70% y se mantuvo en refrigeración hasta su secado, para posteriormente llevar a cabo el análisis isotópico. La colecta de sangre se llevó a cabo cada dos semanas en horario constante.

Preparación de muestras para el análisis isotópico: las muestras de sangre, y de alimento se secaron en una estufa a 35°C durante 36 y 60 horas respectivamente; una vez secas, las muestras se almacenaron en refrigeración para su posterior análisis isotópico en el Servicio Canadiense de Vida Silvestre.

Tabla 2. Composición de las dietas experimentales

	Composición (g)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)	Energía (KJ)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Dieta 1					-20.60 ± 0.24	3.8 ± 0.81
($44.80 \pm 0.01\text{mg N}$)						
(C : N = 26.40 ± 2.79)					-	-
Leche	11.53	56.20	9.77	241.13	-20.28	5.4
Cereales	15.36	25.52	27.06	248.06	-24.23	2.51
Azúcar	7.68	—	16.86	115.97		
Plátano	90	18.28	46.31	316.43	-25.92	0.64
Agua	475.43					
Total	600	100	100	922.59		
Dieta 2					-22.74 ± 0.47	1.12 ± 0.39
($37.55 \pm 0.02\text{ mg N}$)						
(C : N = 17.60 ± 4.56)						
Soya	3.75	56.20	—	54.49	-25.37	0.78
Cereales	15.36	25.52	30.00	248.06	-24.23	2.51
Azúcar	7.68	—	18.70	115.97		
Agua	90					
Plátano	483.21	18.28	51.30	316.43	-25.92	0.64
Total	600	100	100	734.95		

2.4 Balance de nitrógeno: para determinar si las dietas ofrecidas satisficieron las necesidades de nitrógeno de los murciélagos, se calculó el balance de nitrógeno, mediante la determinación de la cantidad del nitrógeno consumido y excretado de cada ejemplar. Para ello, los murciélagos fueron colocados individualmente en botes de plástico con capacidad de 3 L. Los botes se colocaron de forma invertida, y estaban cubiertos de malla para que los murciélagos pudieran colgarse. En la parte inferior del bote se colocó un embudo de plástico a través del cual se colectó la orina y las heces. El embudo desembocaba en un vaso de precipitado que contenía 1 ml. de aceite mineral para impedir la evaporación de la orina.

El alimento fue proporcionado en un volumen constante (60 ml.) a través de recipientes de plástico cerrados con una pequeña abertura que permitía su acceso a los murciélagos e impedía la pérdida de alimento por evaporación o escurrimiento. Este procedimiento se hizo para cada dieta al final de cada periodo experimental.

Los individuos permanecieron en los botes sólo durante la noche; a la mañana siguiente, se midió el volumen de orina de cada individuo y se pesaron las excretas, después de lo cual fueron refrigeradas hasta su posterior análisis. Debido a que los murciélagos de esta especie son susceptibles al estrés (lo cual puede alterar las condiciones fisiológicas), fue necesario que la colecta de muestras se realizara durante dos noches consecutivas y las muestras analizadas corresponden a la segunda noche.

La cantidad de nitrógeno consumido por cada organismo se calculo de la siguiente manera: el volumen de alimento consumido por noche se obtuvo por diferencia entre el volumen inicial de alimento y el volumen de alimento que quedó en el recipiente (no consumido). Dicho volumen fue transformado a mg (la densidad de ambas dietas fue de 1 g/cm^3) y multiplicada por los mg de N de la dieta. Posteriormente, se analizaron muestras de excretas en un analizador elemental CE Instruments Flash EA 1112 series, con el fin de obtener los mg de nitrógeno excretados. Para el cálculo del nitrógeno excretado por vía fecal se

multiplicó el peso total de las excretas (en mg) por el contenido en mg de N en la excreta.

Debido a que la cantidad de nitrógeno excretado en la orina no pudo ser detectado por el analizador elemental, las muestras fueron analizadas en un espectrofotómetro automatizado Roche Cobasmira-S del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNAM. Debido a que dicho equipo no determina el nitrógeno total, fue necesario realizar una serie de transformaciones a partir de los datos obtenidos de BUN (blood urinary nitrogen), ácido úrico, creatinina y amonio, para obtener la cantidad de nitrógeno excretado en cada uno de estos componentes (en mg). Se asume que la suma de estos valores es igual a la cantidad total de nitrógeno excretado en la orina.

El balance de nitrógeno se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Balance de nitrógeno} = \text{N}_{\text{consumido}} - \text{N}_{\text{excretado}}$$

Donde el nitrógeno excretado es igual a la suma del nitrógeno presente en la orina más el nitrógeno presente en las excretas. Si las dietas proporcionadas a los murciélagos satisficieron las necesidades de nitrógeno el balance de nitrógeno tendrá que ser neutro o positivo (Lehninger *et al.* 1995).

Para determinar si las dietas proporcionadas durante el presente trabajo satisficieron los requerimientos mínimos de nitrógeno de la especie (RMN), se calculó la cantidad de nitrógeno (N en miligramos: mg) consumido por cada individuo, el valor obtenido fue dividido entre el peso del animal en kilogramos, y elevado a la potencia $^{-0.75}$ (este valor se conoce como peso metabólico vivo; Delorme y Thomas, 1996).

$$\text{RMN} = \text{consumo de N (mg)} / \text{peso metabólico vivo (kg}^{-0.75}\text{)} / \text{día}$$

2.5 Análisis isotópico: las muestras (sangre o alimento) fueron pulverizadas en un pequeño mortero y 1 mg de cada muestra fue colocado en una cápsula y sometida a combustión en un Robo-Prep a 1800°C. Como resultado de la combustión hubo separación de gases los cuales fueron analizados en un espectrómetro de flujo continuo (CFIRMS) para la cuantificación de las proporciones de isótopos estables de nitrógeno y carbono en la misma muestra. El CFIRMS involucra la medición automática y de manera secuencial de muestras de isótopos de carbono y nitrógeno no conocidas y las compara con un material de referencia. Se utilizó un estándar de laboratorio (albúmina de huevo) por cada cinco muestras de proporción no conocidas en secuencia. Las proporciones de isótopos estables se reportan como δ denotadas en partes por mil (‰) en relación con un estándar internacional. El estándar internacional para el carbono fue PDB (Pee Dee Belemnite) y se uso aire atmosférico para el nitrógeno.

El análisis isotópico involucra el determinar la proporción de los dos isótopos en la muestra y es expresado por la siguiente fórmula:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\frac{(^{13}\text{C} / ^{12}\text{C})_{\text{muestra}}}{(^{13}\text{C} / ^{12}\text{C})_{\text{PDB}}} - 1 \right] \times 1000$$

Y

$$\delta^{15}\text{N} = \left[\frac{(^{15}\text{N} / ^{14}\text{N})_{\text{muestra}}}{(^{15}\text{N} / ^{14}\text{N})_{\text{atm}}} - 1 \right] \times 1000$$

Basados en la repetición de estándares, los errores en la medición fueron de ± 0.3 ‰ y ± 0.1 ‰ para los isótopos de nitrógeno y carbono, respectivamente (Herrera *et al.* 2001b).

El factor de fraccionamiento isotópico se consideró como la diferencia entre la composición isotópica de ^{15}N y ^{13}C en la sangre del animal y la del alimento (DeNiro y Epstein, 1978, 1981; Hobson y Clark, 1992; Roth y Hobson, 2000). El factor de fraccionamiento isotópico se calculó aplicando la siguiente fórmula:

$$\Delta = \delta^{\text{MT}} - \delta^{\text{MD}}$$

Donde Δ es el fraccionamiento isotópico, δ^{MT} es el valor isotópico de ^{13}C o de ^{15}N de la sangre y δ^{MD} es el valor isotópico de ^{13}C o de ^{15}N de la dieta (Hobson y Clark, 1992b).

2.6 Análisis estadístico: Debido a que uno de los factores que afectan el fraccionamiento isotópico es la pérdida de peso (Allen, 2000) fue necesario evaluar la estabilidad de peso de los murciélagos a través del tiempo experimental. Para determinar si existió variación en los pesos de los murciélagos a lo largo de cada período experimental (comprendiendo a su vez 7 quincenas, para ambas dietas), se utilizó una prueba de Kruskal-Wallis. También se evaluó la variación de los pesos de los individuos en cada quincena en comparación con la siguiente quincena con una prueba t-pareada.

Dos de los enunciados en los cuales se basa el presente trabajo son: primero que las dietas tienen proporción C : N diferente (Tabla 2) y que son isotópicamente diferentes en sus $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Para probar la existencia de diferencias significativas en los valores isotópicos, se utilizó una prueba de U de Mann – Whitney para los valores de $\delta^{15}\text{N}$, mientras que para los $\delta^{13}\text{C}$ se utilizó una prueba de t de Student. Para probar si las dietas diferían en sus proporciones C : N se utilizó una prueba de t de Student.

Uno de los principios de la técnica de isótopos estables, es que el animal refleja en sus tejidos la composición isotópica de su dieta (Gannes *et al.* 1998), una vez que el recambio isotópico ha concluido (Webb *et al.* 1998), Hildebrand *et al.* 1996, reportan que para el oso (*Ursus sp.*) el recambio se lleva a cabo en aproximadamente 28 días (Hildebrand *et al.* 1996).

Para evaluar si el tiempo de recambio ha terminado, se realizó un ANOVA de medidas repetidas, durante las quincenas 6 y 7 (para ambas dietas) para determinar si había cambios significativos en los valores de fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N durante estos periodos. Se utilizó un ANOVA de medidas repetidas debido a que los datos obtenidos para el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N fueron obtenidos a partir de los mismos individuos (factor repetido).

La variación de los pesos en este periodo (semana 6 y 7 para cada dieta), es importante, por lo tanto se llevo a cabo un ANOVA para determinar si existieron diferencias significativas durante este período.

Se compararon los valores de fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N entre la dieta 1 y 2, para lo cual se utilizo un ANOVA, con el objetivo de evaluar si la dieta tiene un efecto sobre el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N .

Los análisis estadísticos se realizaron en el programa SigmaStat para Windows Versión 1. En todos los análisis estadísticos se consideró que existieron diferencias significativas cuando $p < 0.05$. Todos los resultados obtenidos en el presente trabajo se reportan como valores promedio \pm desviación estándar.

CAPITULO III

RESULTADOS:

Los murciélagos se mantuvieron en cautiverio durante quince meses, con una buena condición física. El proceso de adaptación al cautiverio presentó varias dificultades, debido a que los murciélagos de esta especie son nerviosos, sensibles a los cambios de temperatura y humedad, además de que son frágiles y tienden a lastimarse fácilmente. Desde su colecta los murciélagos cambiaron de pelaje (de gris a café oscuro), y se mostraron activos, por lo que se puede considerar que se mantuvieron sanos. Además pasaron por dos períodos reproductivos (caracterizados por el aumento del tamaño de los testículos).

3.1 Variaciones del peso de los murciélagos durante los períodos experimentales: El peso promedio de los murciélagos para la dieta 1 fue de 10.56 ± 0.94 g y de 10.45 ± 0.84 g para la dieta 2. No existieron diferencias significativas en los pesos de los individuos a lo largo de ambos períodos experimentales, (Kruskall-Wallis $K = 3.66$, 6 g. l., $p = 0.722$ y $K = 2.66$, 6, g.l. y $p = 0.885$, para la dieta 1 y 2 respectivamente).

Durante algunas quincenas a través de los periodos experimentales (dieta 1 o 2) existieron pequeñas variaciones en el peso de los murciélagos (caracterizadas por el aumento o la pérdida de peso) y en algunos casos las diferencias en los pesos fueron significativas.

Para la dieta 1 existieron dos períodos que tuvieron diferencias significativas en las variaciones de los pesos uno caracterizado por un aumento de peso (quincena 1 vs. 2, los murciélagos aumentaron en promedio 0.598 g, prueba t-pareada = -3.38, 7 g. l., $p = 0.0188$), mientras que en el otro existió pérdida de peso (quincena 3 vs. 4, los murciélagos perdieron en promedio 0.325 g, t-pareada = 4.33, 7 g. l, $p = 0.0034$; Apéndice 1).

Mientras que para la dieta 2, existieron tres periodos que presentaron diferencias significativas en las variaciones de sus pesos, siendo dos donde se

registró pérdida de peso (quincena 2 vs. 3, con una pérdida del 0.424 g, prueba t-pareada 6.30, 7 ge, $p = 0.004$; y para la quincena 6 vs. los murciélagos perdieron en promedio 0.013 g. t-pareada 2.74, 7 g. l., $p = 0.289$) y uno donde hubo aumento de peso (quincena 3 vs. 4, donde los murciélagos aumentaron su peso en 0.312 g, prueba t-pareada 2.74, 7 ge, $p = 0.0289$).

Sin embargo, en ninguna quincena los murciélagos perdieron más del 4.03% de su peso (Fig. 3).

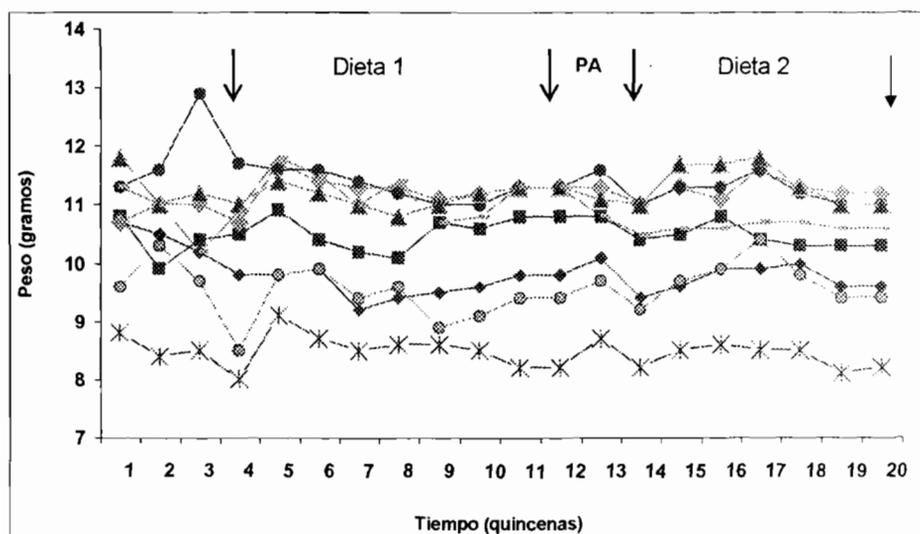


Figura 3. Peso promedio ($n = 8$) de los murciélagos durante las fases experimentales. Cada línea representa un individuo. Las flechas indican el principio y final de cada fase experimental (Dieta 1 y Dieta 2, respectivamente). PA representa el período de adaptación de los murciélagos de una dieta a otra.

3.2 Dietas: Los porcentajes de Nitrógeno (N) de las dietas experimentales fueron de: 0.129 ± 0.014 y 0.141 ± 0.021 , mientras que el contenido de proteínas fue de $0.809 \pm 0.091\%$ y $0.882 \pm 0.135\%$ (para las dietas 1 y 2 respectivamente). Las dietas experimentales presentaron diferencias estadísticas en sus proporciones C : N (prueba t de Student $t = 3.73$, 9 g. l., $p = 0.0047$), siendo

menor la proporción C : N en la dieta 2 (17.6 ± 4.56) que en la dieta 1 (26.4 ± 2.79 ; Tabla 2).

3.3 Balance de nitrógeno: El consumo promedio de alimento para cada individuo fue de 38.87 ± 8.19 ml por día y 41.62 ± 5.75 ml por día para las dietas 1 y 2 respectivamente. En las dos dietas el balance de nitrógeno fue positivo (Tabla 3). La cantidad de nitrógeno consumida por los murciélagos equivale a 1481.88 ± 320.66 mg N / $\text{kg}^{-0.75}$ / día (miligramos de nitrógeno / peso metabólico vivo ($\text{kg}^{-0.75}$) / día), para la dieta 1, mientras que para el segundo experimento fue de 1792.74 ± 273.91 mg N / $\text{kg}^{-0.75}$ / día (miligramos de nitrógeno / peso metabólico vivo ($\text{kg}^{-0.75}$) / día; estos valores representan los requerimientos mínimos de nitrógeno, Delorme y Thomas, 1996)

Tabla 3. Balance de nitrógeno de los murciélagos alimentados con la dieta 1 y 2 (los valores se reportan como promedio \pm desviación estándar). Todos los datos de N están dados en mg.

Dieta	n	Alimento	N Excretado		Balance de Nitrógeno
		consumido (ml)	N Consumido	(Orina + excretas)	$N_{\text{consumido}} - N_{\text{excretado}}$
1	8	38.87 ± 8.19	50.35 ± 11.55	28.93 ± 9.75	21.42 ± 7.21
2	8	41.62 ± 5.75	58.77 ± 8.13	32.90 ± 9.75	25.87 ± 14.32

3.4 Fraccionamiento isotópico de ^{13}C Y ^{15}N : Como se menciona en el método, durante este trabajo se colectaron muestras de sangre de *G. soricina*, a lo largo de cada período experimental (es decir, durante 90 días, para cada dieta); en las figuras 4 y 5 se pueden observar los cambios en el fraccionamiento de cada isótopo a lo largo del tiempo. En las gráficas se puede observar que los valores de fraccionamiento de ^{13}C y ^{15}N sufren cambios notables entre el inicio del experimento y el final del mismo (para ambas dietas). Sin embargo, es notable que hacia en las últimas quincenas, los valores de fraccionamiento isotópico tienden a estabilizarse.

En este trabajo sólo se analizará los datos de fraccionamiento isotópico de ^{13}C Y ^{15}N que corresponden a las quincenas 6 y 7 de cada período experimental, ya que se asume que durante este tiempo el recambio isotópico ha terminado.

Las dietas experimentales fueron significativamente diferentes en $\delta^{13}\text{C}$ (prueba t de Student $t = 10.7$, 12 g. l., $p = < 0.0001$), y $\delta^{15}\text{N}$ ($U = 21.0$, $p = < 0.002$), siendo mayores los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en la dieta 1 (leche; Tabla 4).

Dieta 1 (leche): los valores del factor de fraccionamiento isotópico fueron en promedio de $1.51 \pm 0.20 \text{ ‰}$ y $4.34 \pm 0.23 \text{ ‰}$ para ^{13}C y ^{15}N respectivamente ($n = 10$). Durante estos dos últimos períodos, los valores de fraccionamiento de carbono (ANOVA de medidas repetidas, $F = 1.67$, 1,4 g. l., $p = 0.22$) y nitrógeno no presentaron diferencias significativas (ANOVA de medidas repetidas, $F = 3.32$, 1,4 g. l., $p = 0.14$).

Dieta 2 (soya): los valores promedio de fraccionamiento del carbono fueron de $0.25 \pm 0.15 \text{ ‰}$, mientras que para el nitrógeno fueron de $4.84 \pm 0.36 \text{ ‰}$ ($n = 14$). El análisis estadístico, revela que no existen cambios significativos en el fraccionamiento de ^{15}N (ANOVA de medidas repetidas, $F = 0.420$, 1,8 g. l., $p = 0.53$); sin embargo, el análisis estadístico, muestran que el fraccionamiento isotópico de ^{13}C presenta diferencias significativas (ANOVA de medidas repetidas, $F_{1,8} = 10.1$, 1,8 g. l., $p = 0.013$),

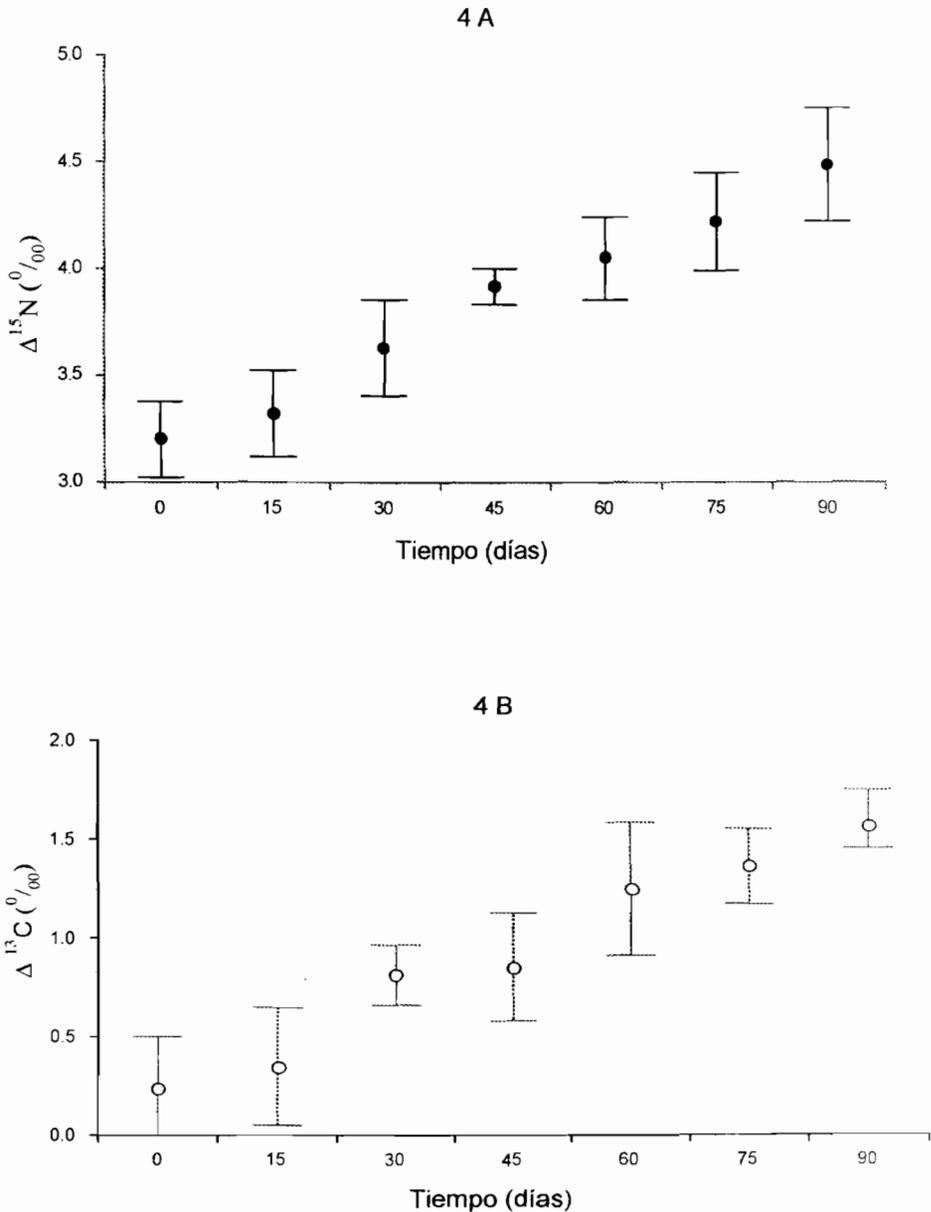


Figura 4. Fraccionamiento isotópico de ^{15}N (4A) y ^{13}C (4B) en sangre de *Glossophaga soricina*, alimentados con la dieta 1, a lo largo del periodo experimental (90 días).

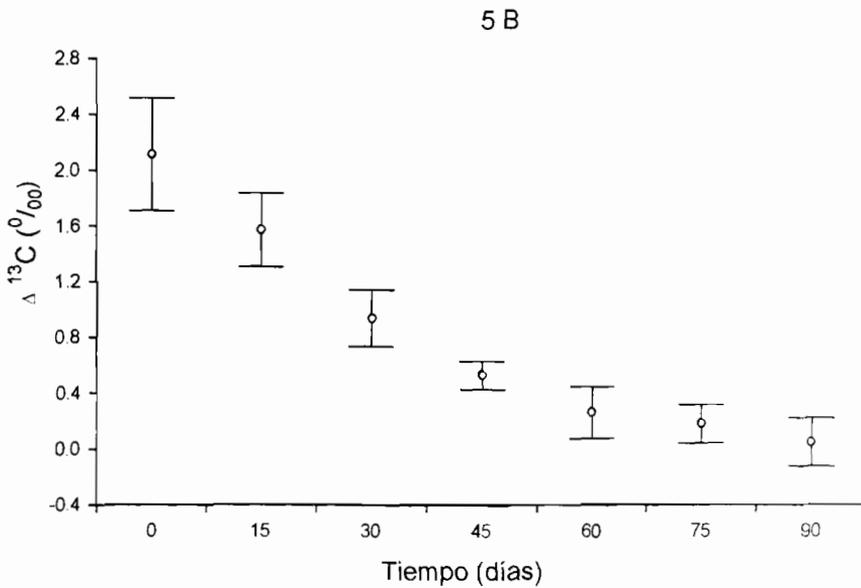
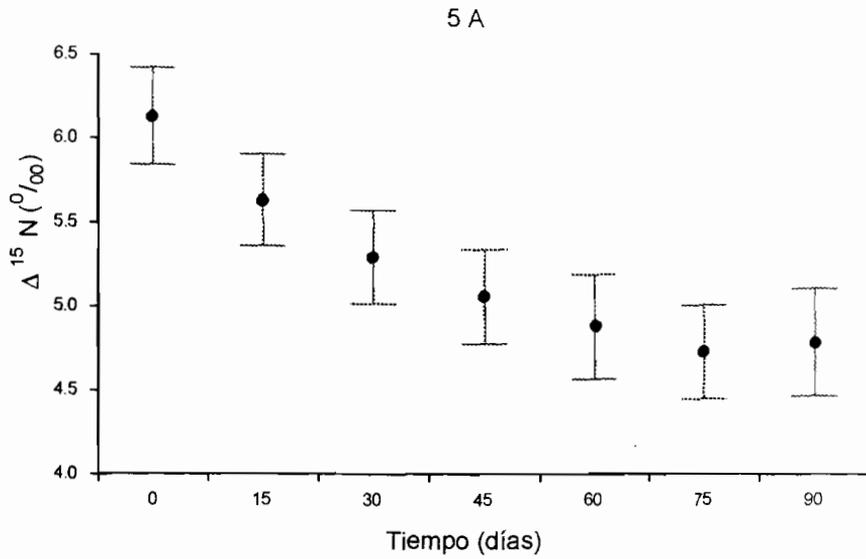


Figura 5. Fraccionamiento isotópico de ^{15}N (5A) y ^{13}C (5B) en sangre de *Glossophaga soricina*, alimentados con la dieta 2, a lo largo del periodo experimental (90 días).

3.5 Factor de fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N en murciélagos con la dieta 1 vs. dieta 2: existieron diferencias significativas en el factor de fraccionamiento isotópico de ^{15}N de las dietas (ANOVA $F = 8.21$, $1,9 \text{ g. l.}$ $p = 0.018$), siendo el fraccionamiento isotópico mayor en la dieta 2 ($4.84 \pm 0.36 \text{ ‰}$) en comparación con la dieta 1 ($4.34 \pm 0.23 \text{ ‰}$). De igual manera, existieron diferencias significativas entre el factor de fraccionamiento isotópico de ^{13}C de las dos dietas (ANOVA $F = 231.9$, $1,9 \text{ g. l.}$ $p = < 0.00$). El fraccionamiento del ^{13}C fue mayor en la dieta 1 ($1.51 \pm 0.20 \text{ ‰}$) en comparación con el fraccionamiento de la dieta 2 ($0.25 \pm 0.15 \text{ ‰}$).

Tabla 4.- Valores promedio (\pm desviación estándar) de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ y del enriquecimiento trófico ($\Delta^{15}\text{N}$ y $\Delta^{13}\text{C}$) en sangre de *Glossophaga soricina* (Gs). Los valores están expresados en partes por mil (‰). Cada período de tiempo es equivalente a dos semanas.

	n	quincena	$\delta^{15}\text{N}$	$\Delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\Delta^{13}\text{C}$
Dieta 1			3.8 ± 0.61		-20.60 ± 0.24	
Gs	5	6	8.02 ± 0.23	4.22 ± 0.19	-19.24 ± 0.19	1.36 ± 0.19
Gs	5	7	8.29 ± 0.16	4.49 ± 0.16	-18.99 ± 0.18	1.57 ± 0.18
Dieta 2			1.03 ± 0.43		-22.74 ± 0.47	
Gs	7	6	5.85 ± 0.28	4.73 ± 0.28	-22.55 ± 0.14	0.27 ± 0.14
Gs	7	7	5.97 ± 0.32	4.79 ± 0.32	-22.69 ± 0.18	0.12 ± 0.11

CAPITULO IV

DISCUSIÓN:

Pocos trabajos han investigado el fraccionamiento isotópico en mamíferos (ver Tabla 1), y solo uno lo ha evaluado en dos especies de murciélagos (Voigt *et al.* 2003). Así mismo, pocos autores han evaluado el efecto de la dieta (con diferentes fuentes proteicas) en el fraccionamiento isotópico del ^{15}N y del ^{13}C (Tieszen *et al.* 1983; Allen, 1998; Webb *et al.* 1998).

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la dieta en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N , en la sangre de *Glossophaga soricina*. Para ello se utilizaron dos dietas, una con contribución proteica 100 % vegetal, mientras que la otra con una contribución del 55% de proteína animal, y del 45% de proteína vegetal. Los resultados obtenidos permitieron comparar el fraccionamiento isotópico con dos dietas con proporciones C : N diferentes.

Para la discusión del presente trabajo, y como primer paso, se discutirán los posibles efectos de algunos factores (como el tiempo de recambio isotópico, el estrés nutricional y la edad) en el fraccionamiento isotópico. Después se discutirá, si las dietas experimentales fueron adecuadas para la especie; es decir, si éstas cubrieron los requerimientos proteicos de *G. soricina*. Para finalmente discutir como influye la proporción C : N en el fraccionamiento isotópico ^{13}C y ^{15}N en la sangre de *G. soricina*.

4.1 Fraccionamiento isotópico

El fraccionamiento isotópico que ocurre durante la discriminación enzimática en los diversos procesos bioquímicos del organismo (DeNiro y Epstein, 1978, 1981) permite el enriquecimiento de los isótopos estables mas pesados entre niveles tróficos. Este factor de enriquecimiento es en promedio de 3.4 ‰ para el ^{15}N (Fantle *et al.* 1999) y de 1‰ para el ^{13}C (Oelbermann y Scheu, 2002). En el presente estudio, el fraccionamiento del ^{13}C fue de 1.51 ± 0.20 ‰ y el del ^{15}N fue de 4.34 ± 0.23 ‰, para la dieta 1, mientras que para la dieta 2, el valor promedio

de fraccionamiento del carbono fue de $0.25 \pm 0.15 \text{ ‰}$, mientras que para el nitrógeno fue de $4.84 \pm 0.36 \text{ ‰}$.

Pocos estudios han evaluado el fraccionamiento isotópico en sangre (Stelle y Daniels, 1978; Hobson y Clark 1993; Hobson *et al.* 1996; Roth y Hobson. 2000; Bearhop *et al.* 2002). Sin embargo, algunos de ellos han encontrado que ciertos factores como la composición sanguínea (Hobson *et al.* 1996), la concentración de lípidos (Bearhop *et al.* 2000), urea (Hobson y Clark, 1993) y carbohidratos (Bearshop *et al.* 2002), entre otros pueden influir en el fraccionamiento isotópico.

Existen otros factores que pueden afectar el fraccionamiento isotópico como son el tipo calidad y digestibilidad del alimento consumido (Allen, 1998; Adams y Sterner, 2000), el balance de nitrógeno (Minagawa y Wada, 1984), las condiciones ambientales (Ambrose, 1991; Ambrose y DeNiro, 1986), las condiciones del organismo tales como estrés hídrico (Ambrose y DeNiro, 1986), períodos de inanición o estrés alimentario (Hobson y Clark, 1992b; Adams y Sterner, 2000), la edad (Oelbermann y Scheu, 2002), así como procesos metabólicos normales como la excreción del nitrógeno (Tieszen y Button, 1988) y el tejido a analizar (Tieszen *et al.* 1983). Todos estos factores son importantes, y evaluaré el posible efecto de estos en los resultados reportados en el presente trabajo. El efecto de la dieta en el fraccionamiento isotópico se analizará en una sección aparte.

Recambio isotópico: El recambio isotópico se define como el tiempo requerido para que los valores isotópicos de ^{15}N o ^{13}C alcancen una meseta, y varía de acuerdo a la especie (Webb *et al.* 1998), pudiendo ser de días, meses o años dependiendo del tejido en cuestión (Tieszen *et al.* 1983). Se ha mostrado que las proteínas y otros componentes tisulares se encuentran en un estado de equilibrio dinámico, con síntesis de nuevos componentes y degradación de viejos componentes (Schmidt - Nielsen, 2001). De manera general, los tejidos metabólicamente activos (páncreas, hígado, sangre) tienen tasas de recambio isotópico más altas que los tejidos menos activos (pelo, plumas, dientes, etc., Tieszen *et al.* 1993; Focken, 2001). Sin embargo, es necesario tomar en cuenta que la tasa de recambio isotópico de algunos tejidos puede ser muy lenta, y que la estimación del cambio trófico cuando se ha cambiado la dieta de un animal puede

estar influenciada por la proporción isotópica de la dieta inicial, cuando se ha mantenido al animal durante mucho tiempo en esta dieta (McCutchan *et al.* 2003).

En experimentos de cambio de dieta para determinar la velocidad de recambio se ha mostrado que la dieta es determinante en la composición isotópica de los tejidos animales (Fry y Arnold, 1982; Tieszen *et al.* 1983). De acuerdo a los resultados reportados por Voigt *et al.* (2003) la tasa de recambio de ^{13}C en la sangre de *G. soricina* es de 120 a 126 días, mientras que para el nitrógeno es de 274 días (Voigt y Matt 2004), en ambos casos el tiempo de vida media del recambio de estos isótopos es muy largo en comparación con los datos reportados para otras especies de un mayor tamaño y con una tasa metabólica más lenta.

El recambio isotópico para la sangre ha sido obtenido para algunas especies de aves como la codorniz (11.4 días; Hobson y Clark, 1992a), cuervos (29.8 días; Hobson y Clark, 1993a), y para algunos mamíferos. Hildebrand *et al.* (1996) encontraron que los isótopos de nitrógeno y carbono en el plasma del Oso negro (*Ursus americanus*) tienen una vida media de 4 días, tardando alrededor de 10 días para llegar al equilibrio (o sea a la integración total) de los isótopos al plasma de los osos. Las células rojas sanguíneas tienen una vida media más larga (de cerca de 28 días) y requieren de más tiempo para incorporar los cambios de la dieta.

Durante las dos últimas quincenas de los experimentos realizados en el presente trabajo no existieron diferencias significativas entre los valores de fraccionamiento para ^{15}N de ambas dietas; caso contrario para los valores de fraccionamiento del ^{13}C de la dieta (2), donde existieron diferencias significativas entre estos valores. En este trabajo no fue un objetivo obtener el tiempo de recambio isotópico, por lo que se aprecia la necesidad de obtener estos valores en condiciones de cautiverio, bajo condiciones controladas. Datos preliminares obtenidos con *G. soricina* indican que la vida media de recambio isotópico es de 23.5 y 25 días para el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente (L. Mirón, en preparación), en ambos casos, el período de tiempo es significativamente menor que los reportados por Voigt *et al.* (2003) y Voigt y Matt (2004), para el ^{13}C y ^{15}N respectivamente. Esta tendencia puede apreciarse en las figuras 4 y 5, en donde se observa, que

durante los primeros días, las variaciones en los valores de fraccionamiento isotópico son rápidas, para volverse lentas después y cerca del día 90, ambos isótopos tienden a estabilizarse.

Estrés nutricional: el estrés nutricional se define como una carencia de nutrientes (Yung y Schrimshaw, 1978). Durante este periodo, la dieta proporciona solo los niveles mínimos de aminoácidos esenciales para permitir el mantenimiento de los procesos fisiológicos, por lo tanto la carencia de nitrógeno limita la síntesis de compuestos nitrogenados como aminoácidos, purinas, pirimidias etc. (Morris 1991). Algunos autores han encontrado evidencia de que cuando un animal esta sometido a estrés nutricional o a ayuno, los valores de fraccionamiento isotópico pueden ser mayores (Gannes *et al.* 1997), como consecuencia del reciclaje de nitrógeno (Hobson *et al.* 1993; Webb *et al.* 1998, Adams y Sterner, 2000)

Hobson *et al.* (1993) sugieren que bajo condiciones de inanición o estrés nutricional, una gran proporción de los compuestos nitrogenados son derivados del catabolismo de las proteínas (y ácidos nucleicos) del mismo organismo. Debido a que la fuente es enriquecida en los valores de ^{15}N con relación a la dieta, un enriquecimiento adicional en el tejido recién formado puede ocurrir. Debido a que los aminoácidos difieren en sus valores $\delta^{15}\text{N}$, estos cambios pueden permitir un enriquecimiento en el tejido (Hobson *et al.* 1993).

Basados en estas observaciones, Gannes *et al.* (1997) sugieren que los cambios en los valores de ^{15}N en orina, pelo, y sangre puede ser un buen indicador de la condición corporal de los animales silvestres, pero los resultados obtenidos por Ben-David *et al.* (1999) sugieren que las diferencias observadas en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre individuos de la misma especie, (siempre y cuando los datos sean tomados en la misma zona y al mismo tiempo), pueden ser resultado de la diferencia en la selección de la dieta, más que del estrés nutricional.

Voigt *et al.* (2003) y Voigt y Matt (2004) argumentan que el tiempo de recambio reportado en su trabajo pueden ser explicado bajo dos posibles escenarios: a) la tasa de recambio fue mayor debido a que los animales entraron en torpor o se encontraban en estado letárgico, ó b) que los murciélagos acumularon un déficit

nutricional, lo cual contribuyó a la pérdida de peso corporal, en tal caso, la movilización de grasas y / o proteínas corporales pudieron afectar las tasas de recambio. Este último argumento, es al parecer el más viable, ya que estos autores reportan que durante el período experimental los murciélagos perdieron cerca del 8 % de su peso corporal inicial, como consecuencia de un déficit de energía y nitrógeno (Voigt *et al.* 2003; Voigt y Matt, 2004)

En comparación con los resultados de Voigt *et al.* (2003), en el presente trabajo se observó una variación de la masa corporal de aproximadamente $\pm 5\%$, lo cual coincide con lo reportado por Arends *et al.* (1995), quienes afirman que los murciélagos con los cuales trabajaron tuvieron estas variaciones de peso, con un aparente buen estado de salud. Una pérdida de peso mayor a este valor puede dar origen a un cambio drástico en el metabolismo de *G. soricina*, como lo demostraron Álvarez *et al.* (1991), quienes reportan que la pérdida de peso por noche de individuos de *G. soricina* en condiciones de cautiverio fue en promedio de entre 5.5 y 18.3 %, lo que provocó cambios muy marcados en la temperatura corporal de los individuos.

En el presente trabajo las variaciones de peso de los murciélagos a lo largo de ambos períodos experimentales fueron mínimas (no existieron diferencias significativas en ninguno de ellos), además de que las pequeñas fluctuaciones encontradas durante quincenas adyacentes se equilibraron a lo largo del tiempo. En comparación con los estudios reportados por Voigt *et al.* (2003) y Voigt y Matt (2004), se puede considerar que en este trabajo no existieron variaciones en el peso de los murciélagos a lo largo del período experimental (como un indicador de estrés alimenticio) y por lo tanto no afectaron el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N . Por lo que podemos asumir que nuestro objetivo fue alcanzado.

Edad: algunos autores han reportado que la edad puede influir en el fraccionamiento isotópico del nitrógeno (Roth y Hobson, 2000), y esto puede ser explicado porque durante el crecimiento la síntesis proteica aumenta en gran medida como consecuencia de la síntesis de tejidos nuevos (Ganong, 2000). Cuando un organismo crece rápidamente y la dieta a partir de la cual se alimenta satisface sus necesidades, el valor isotópico de sus tejidos será ligeramente

mayor al de su dieta (y en muchas ocasiones mayores a las reportadas para los adultos, por lo que podría existir un sesgo en la interpretación de los datos; Owens, 1987). Por otro lado, cuando se trabaja con mamíferos es importante determinar la edad de un animal (si es cría o no) debido a que si un animal se alimenta de su madre, los valores isotópicos de sus tejidos tendrán un valor por encima del de sus progenitoras, siendo esta diferencia tan grande como las existentes entre niveles tróficos (Jenkins *et al.* 2001).

Recientemente ha sido debatida la idea de que los contenidos de ^{15}N en tejidos animales incrementan con la edad (Owens, 1987). Los resultados reportados por Fantle *et al.* (1999), Adams y Sterner (2000), Oelberman y Scheu (2002), apoyan esta idea. En contraste Minagawa y Wada (1984), Hobson y Clark (1992b), Webb *et al.* (1998); Roth y Hobson (2000) y Ponsard y Averbuch (1999) no encontraron ninguna correlación entre los valores de fraccionamiento y la edad.

En el caso del presente trabajo, todos los individuos eran de la misma edad, con lo que se buscó reducir el posible efecto de la edad en los resultados obtenidos. Para ello los individuos fueron capturados en una colonia de maternidad (Willing, 1985). Cuando se capturaron, todos los individuos tenían el pelo de color gris, y la osificación de las falanges era incompleta, por lo tanto se puede asumir que todos los individuos eran de edades similares. Durante el período de adaptación se observó que todos los individuos sufrieron un cambio en el color del pelaje (de gris a café oscuro) al mismo tiempo.

4.2 Dietas y balance de nitrógeno

En promedio, los murciélagos consumieron 38.87 ± 8.19 ml y 41.62 ± 5.75 ml de la dieta 1 y 2 respectivamente (durante la noche). El volumen consumido para cada dieta fue de entre 3 y 5 veces el peso del animal, lo que coincide con lo reportado en la literatura para otras especies de murciélagos (Morrison, 1973; Fleming, 1982; Howell, 1979; Petit y Pors, 1995). Este consumo aparentemente exagerado de alimento, puede ser explicado como un mecanismo fisiológico de compensación entre la cantidad del nutriente consumido en la dieta y los requerimientos proteicos y energéticos de la especie (Fleming, 1998).

La cantidad de nitrógeno contenida en las dietas experimentales (Tabla 2) está en los rangos determinados en frutos, néctar y polen de los que se alimentan de manera natural los murciélagos nectarívoros (Howell, 1974; White, 1993; Martínez del Río 1994; Neuweiler 2000). Los requerimientos de nitrógeno no han sido reportados para *G. soricina*, sin embargo resultados preliminares (L. Tico, com. personal) indican que los requerimientos mínimos de nitrógeno para esta especie son de $115.3 \text{ mg N / kg}^{-0.75} / \text{día}$.

En el presente trabajo, los murciélagos consumieron un promedio de $1481.88 \pm 320.66 \text{ mg N / kg}^{0.75} / \text{día}$, y $1792.74 \pm 273.91 \text{ mg N / kg}^{-0.75} / \text{día}$ en las dietas 1 y 2, respectivamente. En ambos casos el consumo de N fue mayor que el requerido para satisfacer los requerimientos mínimos de nitrógeno de la especie. Por otro lado Studier *et al.* (1994) indican que si la concentración de nitrógeno en las excretas (N eliminado) es menor que la concentración del nitrógeno en el alimento (N consumido), entonces la asimilación de dicho nutrimento es rápida. Por tanto, es posible asumir que las dietas experimentales proporcionadas a *G. soricina* en el presente trabajo son de rápida asimilación, por lo que podemos asumir que ambas dietas satisficieron los requerimientos de nitrógeno de esta especie.

4.3 Efecto de la proporción C : N de la dieta en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{16}N

Todos los organismos requieren que la dieta de la cual se alimentan les proporcione proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas, en cantidades suficientes para la síntesis de compuestos necesarios para el mantenimiento, crecimiento y reproducción (Morris, 1991). Un estado nutritivo equilibrado se da cuando un organismo tiene un aporte de nutrientes conveniente para su crecimiento y/o mantenimiento, incluyendo todas las actividades metabólicas normales de un organismo (Randall *et al.* 1997).

La calidad de la dieta puede juzgarse entre otras cosas, por su contenido de aminoácidos esenciales y el grado en el cual las proteínas son digeridas y absorbidas por el cuerpo (Fox y Cameron, 1992). Es importante recalcar que normalmente las dietas contienen una mezcla de proteínas, y por tanto, el valor

biológico de las proteínas de la dieta (digerida en su conjunto) puede ser mayor al de cada componente de la dieta (Fox y Cameron, 1992).

Aparentemente la proporción de C : N de la dieta, también influye en el fraccionamiento isotópico del ^{13}C (Oelbermann y Scheu, 2002), ya que esta directamente relacionado con el contenido del N en el alimento (Adams y Sterner, 2000). Fantle *et al.* (1999) demostraron la relación existente entre el contenido de proteínas de la dieta (expresada como proporción C : N o aminoácidos totalmente hidrolizables) y el grado en que los Cangrejos azules juveniles (*Callinectes sapidus*) fraccionan el ^{15}N y el ^{13}C . Cuando se alimentó a estos organismos con dietas con proporciones C : N de 23 y 17, existió una disminución en la tasa de crecimiento de los individuos, una disminución de los valores del $\delta^{13}\text{C}$ del animal en comparación con la dieta, y un fraccionamiento del nitrógeno de entre 2 y 3 ‰. Sin embargo, cuando la dieta tuvo una relación C : N entre 5 y 6, la tasa de crecimiento aumentó, y el fraccionamiento de carbono (- 0.1 a 0.2 ‰) y nitrógeno (0.1 – 0.9 ‰) fue mínimo en comparación con los valores obtenidos cuando la dieta tuvo proporciones C : N de 23 y 17.

Lo expuesto anteriormente puede ser explicado por los procesos metabólicos básicos como el crecimiento, el recambio de los tejidos, el balance de nitrógeno y la producción de energía metabólica. Estos autores sugieren que otra posible explicación es que el fraccionamiento isotópico del nitrógeno depende de la calidad de la proteína de la dieta y del estrés metabólico causado por una dieta pobre en proteínas (Fantle *et al.* 1999).

Los resultado de Fantle *et al.* (1999) son corroborados por los estudios realizados por Webb *et al.* (1998) y Adams y Sterner (2000) quienes reportaron que la baja calidad proteica del alimento puede dar como resultado un alto enriquecimiento isotópico comparado con el fraccionamiento derivado de alimentos de alta calidad. El enriquecimiento de ^{15}N y ^{13}C en animales puede incrementarse con el estrés nutricional y el período de ayuno (Ambrose y de Niro, 1986; Hobson *et al.* 1993; Adams y Sterner, 2000), motivo por el cual es tan importante en este estudio el hecho de que los murciélagos no sufrieran

variaciones (estadísticamente significativas) en el peso corporal a lo largo del período experimental.

Los resultados obtenidos por Voigt *et al.* (2003) y Voigt y Matt (2004), están influenciados por la pérdida de peso considerable que sufrieron los murciélagos, ya que la dieta ofrecida no satisfizo las necesidades nutricionales de la especie (aunado al estrés al que están sometidos los animales durante el período experimental).

Los datos obtenidos en el presente trabajo indican que existe una relación entre el fraccionamiento isotópico y las proporciones C : N de la dieta consumida, idea que es apoyada por varios autores (Allen, 1998; Webb *et al.* 1998; Fantle *et al.* 1999; McCutchan *et al.* 2003). Debido a que las proporciones C : N disminuyen a lo largo de los niveles tróficos (por ejemplo los herbívoros ingieren una mayor proporción C : N que los herbívoros y omnívoros) se espera un mayor fraccionamiento isotópico cuando un animal ha sido alimentado con una dieta vegetal (altas proporciones C : N) en contraposición con el fraccionamiento isotópico obtenido cuando ha sido alimentado con una dieta animal (o una mezcla de ambos, lo que equivale a proporciones C : N menores que las encontradas en dietas netamente vegetales; Hobson y Clark 1993; Focken y Becker, 1998); así pues, los valores de fraccionamiento isotópico de una especie que se ha alimentado de una dieta con menores proporciones C : N son más pequeños que aquellos reportados previamente cuando la misma especie fue alimentada con una dieta vegetariana (Focken y Beker, 1998).

El presente estudio demuestra una relación entre el contenido de proteínas generalmente expresado como proporciones C : N y el fraccionamiento isotópico (y por tanto con el enriquecimiento trófico de ^{15}N). Los datos obtenidos en el presente trabajo muestran que en los murciélagos alimentados con la dieta 1 (C : N = 26), el enriquecimiento trófico del ^{15}N ($\Delta^{15}\text{N}$) es menor que el encontrado con la dieta 2 (C : N = 17; Tabla 3). Es decir, el enriquecimiento trófico del nitrógeno es mayor cuando existe una menor proporción C : N. Esta relación puede ser explicada por los procesos metabólicos básicos de los organismos, ya que la magnitud de las diferencias isotópicas entre los consumidores y su dieta, puede

ser el resultado de un equilibrio dinámico entre la composición de la dieta consumida, la proporción de nitrógeno excretado y la eficiencia de absorción de nutrientes (Pinnegar *et al* 2001).

Aún cuando las dietas de los herbívoros contienen cantidades adecuadas de proteína, la mezcla de los aminoácidos derivados de la vegetación probablemente difiera de los requeridos por el animal (Roth y Hobson, 2000). Así pues, los cambios isotópicos asociados con variaciones en las proporciones C : N, podrían ser explicado por la eficiencia con que estos recursos son asimilados por los organismos (Focken, 2001). En general, las proteínas de origen animal casi siempre son nutricionalmente mejores que las derivadas de vegetales y cereales (Guyton, 1994). En general, las proteínas vegetales son digeridas en un 70 – 95%, en comparación con un 85 – 100% de las proteínas de origen animal (Linder, 1991).

En contraste, los murciélagos alimentados con la dieta 1 (C : N = 26), muestran un mayor enriquecimiento isotópico de ^{13}C comparado con el enriquecimiento obtenido para los murciélagos alimentados con la dieta 2 (C : N = 17; Tabla 3); lo que puede indicar que el fraccionamiento isotópico del ^{13}C es menor a menores proporciones C : N, estos datos son similares a los encontrados por Fantle *et al.* (1999), y por Oelberman y Scheu (2002).

Fantle *et al.* (1999) demostraron la relación existente entre el contenido de proteínas de la dieta, generalmente expresada como C : N o aminoácidos totalmente hidrolizables (THAA), y el grado en que los Cangrejos azules (*Callinectes sapidus*) fraccionan el ^{15}N y el ^{13}C . Cuando se alimentó a estos organismos con dietas con proporciones C : N de 23 y 17, se produjo una disminución en la tasa de crecimiento de los individuos, una disminución de los valores del $\delta^{13}\text{C}$ del animal en comparación con la dieta, y un fraccionamiento del nitrógeno de entre 2 y 3 ‰. Sin embargo, cuando la dieta tuvo una relación C : N entre 5 y 6, la tasa de crecimiento aumentó, y el fraccionamiento de carbono (- 0.1 a 0.2 ‰) y nitrógeno (0.1 – 0.9 ‰) fue mínimo en comparación con los valores obtenidos cuando la dieta tuvo proporciones C : N de 23 y 17.

Oelberman y Scheu (2002) encontraron que el enriquecimiento de ^{13}C en *Pardosa lugubris* (Araneae: Lycosidae) depende de la calidad de la dieta; cuando incrementa la proporción C : N, los valores de fraccionamiento isotópico del ^{13}C disminuyen, en comparación con los obtenidos cuando se alimenta a *P. lugubris* con dietas de bajas proporciones C : N (los valores de fraccionamiento isotópico son mayores).

Pearson *et al.* (2003) reportaron que los tejidos de aves (*Dendroica coronata*) alimentados con dietas con altos porcentajes de fruta (concentraciones C: N bajas) presentaron un menor fraccionamiento isotópico, mientras que los tejidos de las aves alimentados con una dieta rica en insectos tuvieron un mayor enriquecimiento isotópico. De acuerdo con estos autores, el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N a través de los niveles tróficos puede depender de la concentración de C y N en la dieta (Pearson *et al.* 2003).

Mientras que el incremento en los valores de fraccionamiento isotópico del ^{15}N a mayores concentraciones de N de la dieta, es explicado por los mecanismos de excreción del ^{15}N y a que más aminoácidos son catabolizados como energía cuando el contenido proteínas de la dieta incrementa (Macko *et al.* 1986; Pearson *et al.* 2003).

Sin embargo no existe una explicación adecuada para el incremento en las tasas de fraccionamiento isotópico del ^{13}C cuando incrementa el contenido de carbono de la dieta (Pearson *et al.* 2003). Otros autores sugieren que el fraccionamiento isotópico del ^{13}C esta influenciado por la cantidad de lípidos y otras sustancias ricas en carbono presentes en la dieta y los tejidos animales (Bearhop *et al.* 2000), y aún cuando las cantidades de estos componentes son mínimos en la sangre (Bearhop *et al.* 2002), el aporte de carbono de cada uno de estos elementos al pool de carbono corporal deberían de ser analizados.

Los resultados reportados por Chamberlain *et al.* 2004, demuestran que el conocimiento de la fuente del fraccionamiento isotópico y su papel bioquímico en la regulación de los valores ^{13}C de los compuestos individuales de la dieta es importante en el análisis isotópico de las cadenas tróficas, además de que cada compuesto no solo puede tener el valor isotópico inicial, sino que también puede

ser sintetizado a partir de los compuestos existentes, además de los añadidos en la dieta (asimilación y biosíntesis). Así pues, el uso preferencial del ^{13}C en el metabolismo de grasas, proteínas y carbohidratos podría explicar los patrones de fraccionamiento isotópico del ^{13}C (y por lo tanto de las tasas de recambio), en los tejidos animales (Voigt *et al.* 2003).

De acuerdo con lo anterior, en un futuro deberán de hacerse pruebas de laboratorio para determinar las tasas de recambio isotópico y los valores de fraccionamiento isotópico en condiciones de cautiverio, y con dietas con diferentes proporciones C : N. Además de que también tendrán que evaluarse el efecto de los diversos componentes de la dieta en el fraccionamiento isotópico de ^{13}C y ^{15}N .

En este contexto podemos asumir que las proporciones C : N efectivamente tienen efecto en el fraccionamiento isotópico del ^{13}C y del ^{15}N .

4.4 Otras consideraciones:

El uso de isótopos estables en la ecología animal ha llegado a ser popular debido a que los datos son obtenidos de manera relativamente fácil. Sin embargo, existen varios supuestos asociados con el uso de estos isótopos que no han sido validados experimentalmente (Owens, 1987; Pearson *et al.* 2003). Uno de los supuestos más fuertes es que los tejidos animales tienen una tendencia a igualar la composición isotópica de los constituyentes de la dieta en un tiempo determinado (recambio isotópico). Sin embargo, este supuesto puede ser inválido debido a que los animales asimilan los componentes de la dieta de manera diferente, además de que los valores de fraccionamiento isotópico dependen de la actividad metabólica del tejido elegido (Pearson *et al.* 2003).

El enriquecimiento del ^{15}N a lo largo de las cadenas tróficas puede variar en un rango de 1.3 a 5.3 ‰ (Minawaga y Wada, 1984). Existen pocos estudios que hayan examinado el efecto del enriquecimiento isotópico en función de la concentración de N en la dieta (Allen, 1998; Webb *et al.* 1998; Fantle *et al.* 1999; Adams y Sterner, 2000). Es interesante mencionar que se ha adoptado

universalmente, la cifra de 3.4 ‰ para describir el fraccionamiento isotópico del ^{15}N como un indicador del nivel trófico. Sin embargo, los estudios recientes que reportan valores de fraccionamiento isotópico demuestran, que si bien en algunos casos es posible extrapolar estos valores a otras especies, esto debe hacerse con cierta reserva, ya que podría extrapolarse solo en animales que tuvieran dietas y condiciones metabólicas similares

Además, es importante recalcar la importancia de obtener los factores de fraccionamiento isotópico (no solo del ^{13}C y ^{15}N , sino de otros isótopos como el ^{34}S y el ^{18}O) en condiciones de laboratorio, donde la dieta sea homogénea y de composición isotópica conocida (Hobson *et al.* 1996). La mayoría de los trabajos realizados para obtener los valores de fraccionamiento isotópico han sido obtenidos bajo estas condiciones (ver Tabla 1)

Un tópico muy interesante a discutir en el trabajo reportado por Voigt *et al.* (2003) sobre el fraccionamiento isotópico de ^{13}C en dos especies de murciélagos glossophagineos (*Glossophaga soricina* y *Leptonycteris curasoae*), alimentados con tres diferentes soluciones, el $\delta^{13}\text{C}$ del alimento ingerido fue calculado a partir del volumen consumido de cada alimento y multiplicado por el ^{13}C de cada alimento. Este cálculo puede ser impreciso debido a que cada individuo puede presentar una preferencia por una dieta en particular. Los valores de fraccionamiento del ^{13}C obtenidos por estos autores (2.6 ± 0.5 ‰) son muy diferentes a los obtenidos en el presente trabajo (1.51 ± 0.20 ‰ y 0.25 ± 0.15 ‰, para las dietas 1 y 2 respectivamente). Las diferencias en los valores de fraccionamiento isotópico del ^{13}C encontradas entre ambos trabajos podrían ser explicadas por la calidad de la dieta y/o composición C : N, (y por las variaciones de peso, como consecuencia del estrés alimenticio) ya que Voigt *et al.* (2003) y Voigt y Matt (2004) utilizaron una mezcla de néctares, los cuales desde el punto de vista alimenticio tienen proporciones C : N pequeñas en comparación con las utilizadas en el presente trabajo.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se trató de controlar la mayoría de los factores que afectan el fraccionamiento isotópico, y solo dejando como variable el contenido de C : N, para evaluar el efecto que este factor tiene en el fraccionamiento isotópico.

Los resultados demuestran que existe una relación directa entre el fraccionamiento isotópico y las proporciones C : N. El fraccionamiento del ^{13}C es mayor a mayores proporciones C : N; mientras que el fraccionamiento del ^{15}N es mayor a menores proporciones C : N.

El presente trabajo es el primero en evaluar el efecto de las proporciones C : N de la dieta en el fraccionamiento isotópico, en una especie de murciélagos omnívoro (*G. soricina*). Sin embargo, también hay que reconocer que los datos aquí obtenidos, pueden utilizarse en campo con algunas limitaciones; ya que solo podrían extrapolarse para otros murciélagos cuando la dieta de estos, sea de proporciones C : N similares a las utilizadas en este estudio. Esto nos lleva a resaltar la importancia de continuar con este tipo de estudios, bajo condiciones controladas, utilizando dietas con un amplio rango de proporciones C : N, para obtener una visión completa de todos los posibles escenarios presentes en la naturaleza.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

LITERATURA CITADA

- Adams TS y RW Steiner (2000) The effect of dietary nitrogen content on trophic level ^{15}N enrichment. *Limnology and Oceanography* 43: 601 – 607.
- Aleman M (1986) Metabolismo de los aminoácidos I: Destino del nitrógeno. En Herrera (Editor) *Bioquímica*. Nueva Editorial Interamericana SA de CV México. 665-690.
- Allen PE (1998) Factors affecting fractionation of stable carbon and nitrogen isotopes in birds. Unpublished. Presented in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. The University of Montana.
- Álvarez J, MR Willing JK Jones y WD Webster (1991) *Glossophaga soricina*. *Mammalian species* 379: 1 - 7.
- Ambrose SH (1991) Effects of diet, climate and physiology on nitrogen isotope abundance in terrestrial foodwebs. *Journal of Archaeological Science*, 18: 293-317.
- Ambrose SH y MJ DeNiro (1986) The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia* 69: 395-406.
- Arends A, FJ Bonaccorso y M Genond (1995) Basal rates of metabolism of nectarivorous bats (*Phyllostomidae*) from semiarid forest in Venezuela. *Journal of Mammalogy* 76: 947 – 956.
- Arita, H T, y Martínez, C (1990) Interacciones flor-murciélago: un enfoque zocéntrico. UNAM: Publicaciones Especiales, Instituto de Biología UNAM.
- Ayala, SC y D'alessandro (1973) Insect feeding behavior of some Colombian Fruit-eating. *Journal of Mammalogy* 54: 266-267
- Bearhop S, MA Teece, S Waldron y RW Furness (2000) Influence of lipid and uric acid on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of Avian Blood: implications for trophic studies. *The Auk* 117, 504 - 507.

- Bearhop S, S Waldron, SC Vitier y RW Furness (2002) Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers. *Physiological and Biochemical Zoology* 75: 451 – 458.
- Ben-David MR, CL McColl, R Boonstra y TJ Karels (1999) ^{15}N signatures do not reflect body condition in Arctic ground squirrels. *Canadian Journal of Zoology*, 77: 1373 - 1378
- Ben-David MR, W Flynn y DM Schell (1997) Annual and seasonal changes in diets of martens: evidence from stable isotope analysis. *Oecologia* 111: 280-291.
- Berg CP y HM Kolenbrander (1970) Nitrogen metabolism in the Mammals. En Campbell J W ed., *Comparative biochemistry of Nitrogen Metabolism: 2. Vertebrates*. Academic Press. New York 950 pp.
- Bonacorzo, F y ThJ Gush (1987) Feeding behavior and foraging strategies of captive phyllostomid fruit bats: an experimental study. *Journal of Mammalogy* 56: 907-920.
- Bondi AA, (1988) *Nutrición animal*. Editorial Acribia. S. A. España. 546 pp.
- Campbell JW (1991) Excretory nitrogen metabolism. En Prosser (Ed.) *Environmental and metabolic animal physiology comparative animal physiology*. Fourth edition. Willey Liss. USA. 231- 276.
- Ceballos G, TH Fleming, C Chávez y J Nassar (1997) Population dynamics of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Jalisco, Mexico. *Journal of Mammalogy*, 78: 1220-1230.
- Ceballos, G y A Miranda (1986) *Los mamíferos de Chamela, Jalisco*. Manual de campo. UNAM. Instituto de Biología.
- Cerling, TE and JM Harris (1999) Carbon isotope fractionation between diet and biapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleontological studies. *Oecologia* 120: 347-363.

- Coates-Estrada, R y A Estrada (1986) Manual de identificación de Campo de los Mamíferos de la Estación de Biología "Los Tuxtlas". Instituto de Biología Dirección General de Publicaciones, UNAM. México.
- Corona, TM (1993) Conocimiento y análisis actual sobre la biología de los murciélagos (Mammalia: Chiroptera) en la cueva del Polvorín, cerro de Oro, Oaxaca. Tesis de Licenciatura. Inédito. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Cryan PM, MA Bogan, RO Rye, GP Landis Y CL Kester (2004) Stable hydrogen isotope analysis of bat hair: As evidence for seasonal molt and long-distance migration. *Journal of Mammalogy*, 85:995–1001.
- DeNiro JM y S Epstein (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42: 495-506
- DeNiro JM y S Epstein (1981) Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45: 341-351.
- Des Marais DJ, JM Mitchell, WG Meinschein & JN Hayes (1980) The carbon isotope biogeochemistry of the individual hydrocarbons in bat guano and the ecology of the insectivorous bats in the region of Carlsbad, New Mexico. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44: 2075-2086
- Eguiarte, L, C Martínez del Río y HT Arita (1987) El néctar y el polen como recurso: el papel ecológico de los visitantes a las flores de *Pseudobombax ellipticum* (H.B.K.) Dugand. *Biotropica* 19: 74-82
- Fantle MS, AI Dittel, SM Schwalm, CE Epifanio y ML Fogel (1999) A food web analysis of the juvenile blue crab, *Callinectes sapidus*, using stable isotope in whole animals and individual amino acids. *Oecologia* 120: 416 – 426.
- Feling (1975) Amino acid metabolism in man. *Annual Review of Biochemistry* 44: 933-955.
- Fleming TH. (1982) Foraging strategies of plant-visiting bats. En Kunz T (editor) *Ecology of Bats*. New York / London; Plenum Press: Pp. 287 – 326.
- Fleming TH. (1988) The short – tailed fruit bat. A study in plant – animal interactions. Chicago: The University of Chicago Press. 365 pp.

- Fleming TH. (1995) The use of stable isotopes to study the diets the plant-visiting bats. En P. A. Racey & S. M. Swift (eds.) Ecology, Evolution an Behaviour of Bats. Zoological Society of London, Claredon Press Oxford. Pp. 99-110.
- Fleming TH., RA Nuñez y L da S Lobo (1993) Seasonal changes in the diets of migrant and non-migrant nectarivorous bats as reveal by carbon stable isotope analysis. *Oecologia* 94: 72-75.
- Fleming, Th, E Hooper y DE Wilson (1972) Three Central American bat communities: structure, reproductive cycles and movement patterns. *Ecology* 53: 556 -569.
- Focken U (2001) Stable isotopes in animal ecology: the effect of ration size on the trophic shift of C and N isotopes between feed and carcass. *Isotopes Environmental and Health Studies* 37: 199 – 211.
- Focken U y K Becker (1998) Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using $\delta^{13}\text{C}$ data. *Oecologia* 115: 337-343.
- Fox BA y AG Cameron (1992) Ciencia de los alimentos: Nutrición y salud. Grupo Noriega Editores. México 457 pp.
- Fry B y C Arnold (1982) Rapid ^{13}C / ^{12}C turnover during growth of brown shrimp (*Panaeus aztecus*). *Oecologia* 54: 200 – 204.
- Gannes LD, C Martínez del Rio y P Koch (1998) Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. *Comparative Biochemistry Physiology* 119: 725-737.
- Gannes LD, C O'Brian y C. Martínez (1997) Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats and a call for more laboratory experiments. *Ecology*. 78: 1371-1276.
- Ganong WF (2000) Fisiología médica. Editorial El Manual Moderno. México. 944 pp.
- Gaona, PO (1997) Dispersión de semillas y hábitos alimenticios de murciélagos frugívoros en la Selva Lacandona, Chiapas. Inédito. Tesis Licenciatura: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, UNAM: México.

- Gardner, AL (1977) Feeding habits. In biology of Bats of the New World Family Phyllostomidae, Part II. (B. J. Backer, J. K. Jones y D. C. Carter Eds.). Special Publications. The museum Texas Tech University 13: 293-350
- Gibson CM y RA Harris (2002) Metabolic regulation in Mammals. Library Cataloguing in Publication Data. 224 pp.
- Goodwin, ER (1970) The ecology of Jamaican bats. *Journal of Mammalogy* 51: 571-579
- Guyton AC (1994) Fisiología y Fisiopatología. Editorial Interamericana – McGraw Hill. México, 722 pp.
- Hall, E. R. 1981. The mammals of North America. John Wiley & Sons, New York . 1: 1 - 90.
- Hatch KA, KA Sacksteder, IW Treichel, ME Cook y WP Porter (1995) Early detection of catabolic state via change in $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of blood proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 212: 719-726.
- Hawkins AJS (1991) Protein turnover: a functional appraisal. *Functional Ecology* 5:222-233.
- Heithaus, RE, TH Fleming y PA Opler (1975) Foraging patterns and resource utilisation in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* 56: 841 – 854.
- Herrera LG, E Gutierrez, K Hobson, B Altube, WG Díaz y V Sánchez-Cordero (2002) Sources of assimilated protein in five species of New World frugivorous bats. *Oecologia* 133: 280 – 287
- Herrera LG, KA Hobson, D Estrada A Manzo, G Méndez y V. Sánchez-Cordero (2001b) The role of fruits and insects in the nutrition of frugivorous bats: evaluating the use of stable isotope models. *Biotropica* 33: 520-528.
- Herrera LG, KA Hobson, L Mirón M, N Ramírez P, G Méndez y V Sánchez-Cordero (2001a) Sources of protein in two species of phytophagous bats in a seasonal dry forest: evidence from stable isotope analysis. *Journal of Mammalogy* 82: 352-361.

- Herrera LG, TH Fleming & JS Findley (1993) Geographic variation in carbon composition of the pallid bat, *Antrozous pallidus*, and its dietary implications. *Journal of Mammalogy* 74: 601-606.
- Herrera LG, Th Fleming & Stenberg (1998) Trophic relationships in a neotropical bat community: a preliminary study using carbon and nitrogen isotopes signatures. *Tropical Ecology* 39: 23 – 29
- Hilderbrand, GV, SD Farley, CT Robbins, TA Hanley, K Titus, y C Servheen (1996) Use of stable isotopes to determine diets of living and extinct bears. *Canadian Journal of Zoology* 2080-2088.
- Hobson K.A. (1995) Reconstructing avian diets using stable-carbon and nitrogen isotope analysis of egg components: patterns of isotopic fractionation and turnover. *The Condor*, 97:752-762.
- Hobson KA y RG Clark (1992a) Assessing avian diets using stable isotope analysis I: turnover of ^{13}C in tissues. *The Condor* 94: 181-188.
- Hobson KA y RG Clark (1992b) Assessing avian diets using stable isotope analysis. II. Factors influencing diet-tissue fractionation. *The Condor*, 94: 189- 197.
- Hobson KA y RG Clark (1993) Turnover of ^{13}C in cellular and plasma fractions of blood: Implications for nondestructive sampling in avian dietary studies. *The Auk* 110: 638-641
- Hobson KA, DM Schell, D. Renouf y E. Noseworthy (1996) Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstructions involving marine mammals. *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Science* 53: 528-533.
- Hobson KA, RT Alisauskas y RG Clark (1993). Stable-nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: Implications for isotopic analysis of diet. *The Condor* 95: 388-394
- Howell DJ (1974) Bats and pollen: physiological aspects of the syndrome of chiropterophily. *Comparative Biochemistry Physiology A* 48: 263-276.
- Howell, D J y D Burch (1974) Food habits of some Costa Rican bats. *Rev. Biol. Trop.* 21: 281-294.

INEGI 2001

- Jenkins SG, ST Partridge, TR Stephenson, SD Farley y CT Robbins (2001) Nitrogen and carbon isotope fractionation between mothers, neonates and nursing offspring. *Oecologia* 129: 336-341.
- Kelly JF (1999) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology* 78: 1 – 27.
- Kelly JF (2000) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology* 78: 1 – 28.
- Kurle CM (2002) Stable-isotope ratios of blood components from captive northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) and their diet: applications for studying the foraging ecology of wild otariids. *Canadian Journal of Zoology*: 80: 902 – 909.
- Lemke, ThD (1984) Foraging ecology of the long-nosed bat, *Glossophaga soricina* with respect to resource availability. *Ecology* 65: 538-548
- Lenhinger AL, DL Nelson y MM Cox (1995) Principios de Bioquímica. Ediciones Omega, S. A. Barcelona. 1013 pp + apéndices.
- Lesage V, MO Hammill y KM Kovacs (2002) Diet - tissue fractionation of stable carbon and nitrogen isotopes in phocid seals. *Marine Mammal Science* 18: 182 – 193.
- Linder MC (1991) Nutrition and metabolism of proteins. En Linder MC (ed) *Nutritional biochemistry and metabolism with clinical applications*. Apleton & Lange. USA, 87-110.
- Macko SA, WY Lee y PL Parker (1982) Nitrogen and carbon isotope fractionation by two species of marine amphipods: laboratory and field studies. *Journal of Experimental Marine Biology Ecology* 63: 145-149.
- Martinez del Rio C (1994) Nutritional ecology of fruit and flower visiting birds and bats. En Chivero y Langer (Editores) *The digestive system in mammals food, form and function*. Cambridge University Press: 103 – 124.
- Mayes P (1997) Digestión y absorción. En Murray RK, DK Granner, PA Mayes y VW Rodwell (Editores). *Bioquímica de Harper. El Manual Moderno*. México. Capítulo 55. 747-760

- Mayes P (1997) Nutrición.1 En Murray RK, DK Granner, PA Mayes y VW Rodwell (Editores). Bioquímica de Harper. El Manual Moderno. México. Capítulo 54. 735 –746.
- Maynard LA, JK Loosli, HF Hintz y RG Wagner (1981) Nutrición animal. McGraw-Hill. México, 640 pp.
- McCutchan Jr. JH, WM Lewis Jr., C Kendall y CC McGrath (2003) Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen and sulfur. *Oikos* 102: 378 – 390.
- McDonald P, Edwards RA, JFG Greenhalgh y CA Morgan (1995) Nutrición animal. Editorial Acribia, S. A. España.576 pp.
- Medellín, AR, y HT Arita (1997) Identificación de los murciélagos de México. Clave de campo. Editado por la Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C. México.
- Minagawa M y E Wada (1984) Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48:1135-1140.
- Mirón Melo L (2000) Análisis isotópico de la dieta de *Glossophaga soricina* (Chiroptera: Phyllostomidae) en Chamela, Jalisco. Inédito. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
- Mizutani H, M Fukuda y Y Kabaya (1992) ^{13}C y ^{15}N enrichment factors of feathers of 11 species of adult birds. *Ecology* 73: 1391-1395.
- Morris JG (1991) Nutrition. En Prosser (editor) Environmental and metabolic animal physiology comparative animal physiology. Fourth edition. Willey Liss. USA. 231- 276.
- Morrison DW (1973) Foraging ecology and energetics of the frugivorous bat *Artibeus jamaicensis*. *Ecology* 59: 716 – 723.
- Morrison DW (1980) Efficiency of food utilization by fruit bats. *Oecologia* 45: 270 – 273.
- Murphy ME (1996) Nutrition and metabolism. En Carey C (Ed) Avian energetics and nutritional ecology. Chapman y Hall, New York 31-60.

- Murray RK, DK Granner, PA Mayes y VW Rodwell (1998) Bioquímica de Harper. Editorial Manual Moderno SA de CV, México 1021 pp.
- Nassar JM, H Beck, L Da S. L. Sternberg, y TH Fleming (2003) Dependence on cacti and agaves in nectar-feeding bats from venezuelan arid zones. *Journal of Mammalogy*, 84:106–116, 2003.
- Neuweiler G (2000) *The biology of Bats*. Oxford University Press. New York. 310 pp
- Oelbermann K y S Scheu (2002) Stable isotope enrichment ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) in a generalist predator (*Pardosa lugubris*, Araneae: Lycosidae): effects of prey quality. *Oecologia* 130: 337-344.
- Owens NJP (1987) Natural variations in ^{15}N in marine environment. *Advances in Marine Biology* 24: 389-451.
- Pacheco, R y E Salazar (1990) Anatomía gruesa y descriptiva de los quirópteros frugívoros de la Costa Chica de Guerrero, México. Inédito. Tesis conjunta (Licenciatura: Carrera de Biología) ENEP Zaragoza, UNAM. México.
- Pearson SF, DJ Levey, CH Greenberg y C Martinez del Rio (2003) Effects of elemental composition on the incorporation of dietary nitrogen and carbon isotopic signatures in an omnivorous songbird. *Oecologia*, 135: 516 - 523
- Peterson BJ y B Fry (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review in Ecology and Systematic* 18: 293 - 320.
- Petit S y L Pors (1995) Survey of columnar cacti and carrying capacity for nectar-feeding bats on Curaçao. *Conservation Biology* 10 (3) 769 – 775.
- Pinnegar JK y NVC Polunin (1999) Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Functional Ecology* 13: 225-231.
- Pinnegar JK, N Campbell y NVC Polunin (2001) Unusual stable isotope fractionation patterns observed for fish host-parasite relationships. *Journal of Fish Biology* 59: 494-503.
- Ponsard S y P Averbuch (1999) Should growing and adult animals fed on the same diet show different $\delta^{15}\text{N}$ values? *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 13: 1305-1310.

- Quiroz, DL, S Xelhuantzi, y C Zamora, C., 1986. Análisis palinológico del contenido gastrointestinal de los murciélagos *Glossophaga soricina* y *Leptonycteris yerbabuenae* de las grutas de Juxtlahuaca, Guerrero. Instituto Nacional de Antropología e Historia. Colección Científica. México.
- Ramírez-Pulido, J y MA Armella (1987) Activity patterns of neotropical bats (Chiroptera: Phyllostomidae) in Guerrero, Mexico. *The Southwestern Naturalist* 32(3): 363-370
- Randall D, W Burggren y K French (1997) *Eckert: animal physiology*. WH Freeman and Company, USA. Segunda Edición. 800 pp.
- Rasweiler, JJ (1973) Care and management of the long-tongued bat, *Glossophaga soricina* (Chiroptera: Phyllostomatidae), in the laboratory, with observations on estivation induced by food deprivation. *Journal of Mammalogy* 54 (2): 391-404.
- Roth JD y KA Hobson (2000) Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissue of captive red fox: implications for dietary reconstruction. *Canadian Journal of Zoology* 78: 848-852.
- Sallach HJ y LA Fahien (1969) Nitrogen metabolism of amino acids. En Greenberg DM (Ed.) *Metabolic Pathways*. Vol. III. 'Amino acids and tetrapyrroles. Academic Press. USA. 1-94.
- Sánchez, HC, TC Chaves, GA Nuñez, DE Ceballos, y MA Gurrola (1985) Notes on distributions and reproduction of bats from coastal regions of Michoacán, Mexico. *Journal of Mammalogy* 66: 544-553
- Sánchez-Jiménez F e I. Nuñez (1991) Fuentes de aminoácidos, transporte y vías centrales del metabolismo de aminoácidos. En Herrera (Editor) *Bioquímica*, Tomo I. Editorial Interamericana – McGraw Hill. 869-898.
- Schmidt-Nielsen K, 2001. *Animal Physiology: adaptation and environment*. Cambridge University Press. 612 pp.
- Schoeller DA (1999) Isotope fractionation: Why aren't we what we eat?. *Journal of Archaeological Science* 26: 667-673.

- Sealy JC, NJ van der Merwe, JA Lee Thorp y LJ Lanham (1987) Nitrogen isotopic ecology in southern Africa: implications for environmental and dietary tracing. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51: 2707
- Sponheimer M, TF Robinson, BL Roeder, BH Passey, LK Ayliffe, TE Cerling, MD Dearing y JR Ehleringer (2003) An experimental study of nitrogen flux in llamas: is ^{14}N preferentially excreted?, *Journal of Archaeological Science* 30: 1649-1655.
- Steele KW y RM Daniel (1978) Fractionation of nitrogen isotopes by animals: a further complication to the use of variations in the natural abundance of ^{15}N tracer studies. *Journal of Agricultural Science* 90: 7-9.
- Stoner, KE., KAO Salazar y RCR Fernández y M Quesada (2003) Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, Mexico: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation* 12:357-373 (1.311).
- Stoner, KE (2002) Murciélagos nectarívoros y frugívoros del bosque caducifolio de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, pp. 379-395. En: *Historia Natural del bosque caducifolio de Chamela*. F. A. Noguera, M. Quesada, J. Vega, A. Garcia-Aldrete, eds. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Studier EH, SH Sevick, DM Ridley y DE Wilson (1994) Mineral and nitrogen concentrations in feces of some neotropical bats. *Journal of Mammalogy* 75: 674 – 680.
- Sullivan CH y HW Krueger (1981) Carbon isotope analysis of separate chemical phases in modern and fossil bone. *Nature* 292, 333–335.
- Swan DE, AJ Kuenzi, ML Morrison, y S DeStefano (1991) Effects of sampling blood on survival of small mammals. *Journal of Mammalogy* 78: 908-913.
- Teeri JA y DA Schoeller (1979) $\delta^{13}\text{C}$ values of an herbivore and the ratio of C3 to C4 plant carbon in its diet. *Oecologia* 39: 197-200.
- Tieszen, LL y TW Boutton (1988) Stable carbon isotopes in terrestrial ecosystem research. In *Stable isotopes in ecological research*. En *Stable Isotopes in*

ecological research. Edited by PW Rundel, JR Ehleringer y KA Nagy. Springer-Verlag, Berlin, 99 167-195.

- Tieszen S, TW Boutton, KG Tesdhal y NA Slade (1983) Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: Implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* 57: 32 - 37
- Van der Merwe NJ (1982) Carbon isotopes, photosynthesis, and archaeology. *American Scientist* 70: 596-606.
- Villa, RB (1966) Los murciélagos de México: su importancia en la economía y la salubridad, su clasificación y sistemática. Instituto de Biología. UNAM.
- Voigt CC y F Matt (2004) Nitrogen stress causes unpredictable enrichment of ^{15}N in two nectar-feeding bat species. *The Journal of Experimental Biology* 207: 1741 – 1748.
- Voigt CC, F Matt, R Michener y TH Kunz (2003) Low turnover rates of carbon isotopes in tissues of two nectar-feeding bat species. *The Journal of Experimental Biology* 206: 1419-1427.
- Webb SC, RM Hedges y SJ Simpson (1998) Diet quality influences the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of locust and their biochemical components. *The Journal of Experimental Biology* 201:2903-2911.
- White TCR (1993) *The inadequate environment: nitrogen and the abundance of animals*. Springer Verlag. Germany, 425 pp.
- Willing, MR (1985) Reproductive patterns of bats from Coatingas y Cerrado Biomes in Northeast Brazil. *Journal of Mammalogy* 66: 668-681
- Willing, MR, GR Camilo y SJ Noble (1993) Dietary overlap in frugivorous and insectivorous bats from Edaphic Cerrado habits of Brazil. *Journal of Mammalogy* 74: 117-128.
- Wilson ED, KH Fisher y ME Faqua (1978) *Fisiología de la alimentación*. Nueva Editorial Interamericana SA de CV. México, 440 pp.
- Wilson, D (1979) Reproductive patterns in Bats. In *biology of Bats of the New World. Family Phyllostomidae, Part II* (B. J. Backer, J. K. Jones y D. C. Carter Eds.). Special Publications. The museum Texas Teach University 13: 293-350

Yung VR y NS Schrimshaw (1978) Fisiología de la inanición. En Marine A (ed).
Los alimentos: cuestiones de bromatología, aspectos químicos, biológicos,
agropecuarios y sociales. H. Blume Ediciones. España. 55-63.

Apéndice I. Análisis estadístico de las variaciones de peso de *G. soricina* en ambos periodos experimentales.

Período (quincenas)	Promedio	Promedio	Cambio Peso (g)	t-pareada	g.l.	p
Leche						
1 vs. 2	10.138 ± 1.286	10.736 ± 1.049	0.598	-3.38	7.00	0.0118 *
2 vs. 3	10.763 ± 1.049	10.575 ± 1.031	- 0.188	2.31	7.00	0.0541
3 vs.4	10.575 ± 1.031	10.250 ± 1.098	- 0.325	4.33	7.00	0.0034 *
4 vs.5	10.250 ± 1.098	10.300 ± 1.035	0. 20	-0.661	7.00	0.5295
5 vs. 6	10.300 ± 1.035	10.188 ± 1.023	- 0.112	0.720	7.00	0.4951
6 vs. 7	10.188 ± 1.023	10.250 ± 1.042	0.062	-1.49	7.00	0.1803
Soya						
1 vs. 2	10.425 ± 1.171	10.512 ± 0.958	0.087	-0.757	7.00	0.4739
2 vs. 3	10.512 ± 0.958	10.088 ± 1.041	- 0.424	6.30	7.00	0.0004 *
3 vs. 4	10.088 ± 1.041	10.400 ± 1.076	0.312	-4.35	7.00	0.0033 *
4 vs. 5	10.400 ± 1.076	10.487 ± 0.991	0.087	-1.43	7.00	0.1949
5 vs. 6	10.487 ± 0.991	10.613 ± 1.097	0.126	-1.16	7.00	0.2857
6 vs. 7	10.613 ± 1.097	10.300 ± 1.003	- 0.013	2.74	7.00	0.0289 *