



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**REQUERIMIENTOS DE NITRÓGENO DEL
MURCIÉLAGO LENGÜETÓN DE PALLAS
(*Glossophaga soricina*)**

T E S I S

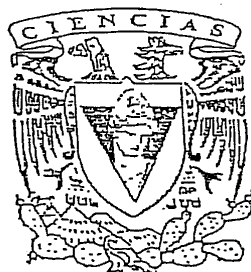
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A :

LAURA TICÓ VALADÉZ

Tutor: LUIS GERARDO HERRERA MONTALVO



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM



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.

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

División de Estudios Profesionales

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

“Requerimientos de nitrógeno del murciélago lengüetón de Pallas (Glossophaga soricina)”

realizado por Laura Ticó Valadéz

con número de cuenta 09320489-1 , quien cubrió los créditos de la licenciatura en
Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Tutor (a) Propietario Dr. Luis Gerardo Herrera Montalvo

Propietario M. en C. José Juan Flores Martínez

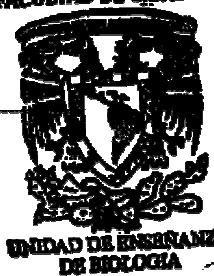
Propietario Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez

Suplente Dr. Eduardo Morales Guillaumin

Suplente M. en C. Guillermo Alfonso Pérez Saldaña

Atentamente
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, D.F., a 30 de octubre del 2006
CONSEJO DEPARTAMENTAL DE BIOLOGÍA FACULTAD DE CIENCIAS

Dr. Zenón Cano Santana



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mi tutor Luis Gerardo Herrera Montalvo por su apoyo en la elaboración de mi tesis.

A mis tutores por sus comentarios y revisión de mi trabajo.

A mis padres, Laura y Eduardo, les agradezco por darme la vida, el cuidado, el aprendizaje, su amor y todo el apoyo necesario para ser quién soy en este momento. Por todo el camino que hemos trazado tanto en los buenos y malos momentos, gracias por ser mis padres.

A mis hermanos Andrea, Claudia y Luis Miguel por estar conmigo en las buenas y en las malas, por su apoyo incondicional y comprensión en muchas situaciones.

Agradezco a Nicté y José Juan por el gran apoyo que me brindaron, comentarios y sugerencias sobre mi tesis, así como también los favores que me hicieron cuando muchas veces no podía.

A mis amigos Cynthia, Carlos M, Juan Manuel, Silvia, Vero, Jean Paul, Alejandro O, Zelic por su amistad brindada por todos estos años y por todas las aventuras que hemos pasado. Y también a todos los que se me olvidaron.

A mis amigos del Ajusco Medio, Nancy, Saúl (Scooby), Jorge A., Miriam, Silvia por todo lo que pasamos juntos y por su amistad. A Edith y Aída por la oportunidad que me brindaron y apoyo durante el tiempo que estuve en el Ajusco.

Y principalmente a Edgar por haberse topado en mi camino y demostrarme que la vida tiene sentido. Por su amor y apoyo incondicional en todo este tiempo y por alentarme a seguir adelante en este maravilloso campo de la Biología.

Gracias nuevamente.

ÍNDICE

Resumen	4
Introducción	5
Descripción de la Especie	10
Antecedentes	12
Objetivo General	14
Objetivos Particulares	14
Hipótesis	14
Área de Estudio	15
Metodología	16
Análisis de Resultados	20
Métodos Estadísticos	21
Resultados	22
Discusión	25
Conclusiones	29
Literatura Citada	30
Anexo 1	36

RESUMEN

Las proteínas son esenciales para las diversas funciones vitales que realizan los animales. En el caso de los animales que son frugívoros y nectívoros, en los cuales su fuente de alimento son bajas en nitrógeno, la forma de obtener las cantidades de necesarias para sus funciones vitales son variadas, desde consumir grandes cantidades hasta complementar su dieta. Dentro de estos los murciélagos nectívoros han sido poco estudiados tal es el caso de *G. soricina*, por lo que para su conservación es necesario poder conocer sus requerimientos mínimos de nitrógeno (MNR). En este trabajo se mantuvieron en cautiverio 16 individuos, primero con una dieta de mantenimiento y luego con 4 dietas experimentales (2, 1.9, 0.8 y 0.7 mg N) para calcular su MNR. El volumen de alimento consumido y el peso de los individuos no presento diferencias significativas entre las dietas. El MNR de *G. soricina* fue de $.12 \text{ mg N kg}^{-0.75} \text{ d}^{-1}$, el cual es muy bajo comparado con mamíferos y es similar a los mamíferos y aves nectarívoros, principalmente la de los colibríes como se planteó en la hipótesis. El valor de nitrógeno endógeno urinario ($22.47 \text{ mg N kg}^{-0.75} \text{ d}^{-1}$) es similar al de las especies con mayor adaptación a alimento bajos en nitrógeno o que tienen la facultad de adaptarse a la falta temporal del mismo.

REQUERIMIENTOS DE NITRÓGENO DEL MURCIÉLAGO LENGÜETÓN DE PALLAS (*Glossophaga soricina*)

INTRODUCCIÓN

El alimento es la fuente de energía para los animales (Maynard et al. 1979). Los carbohidratos, grasas y proteínas que provee el alimento al organismo pueden ser usados como energía para regular la temperatura corporal y mantener las funciones vitales del crecimiento, actividad, producción y reproducción (Bondii 1988). Dependiendo de la edad y especie en cuestión, entre el 70 y 85% del total de la materia seca ingerida se usa para generar la energía necesaria para las funciones vitales. Minerales, vitaminas y enzimas también son de suma importancia en la digestión y metabolismo, liberando y haciendo disponible la energía del alimento (Maynard et al. 1979).

Los animales varían mucho en sus necesidades nutricionales específicas dependiendo de la especie. Dentro de una especie, esa necesidad cambia de acuerdo a diferencias en la estructura genética, tamaño corporal y composición, actividad, edad, sexo y etapa reproductiva. Un animal pequeño requiere más alimento para generar energía por gramo de peso corporal que un animal grande, porque su tasa metabólica por unidad de peso es mayor (Maynard et al. 1979).

Para que un animal esté en un estado de balance nutricional, es decir, que el alimento contenga los nutrientes suficientes y necesarios para el mantenimiento

del mismo y le proporcione la energía suficiente para crecer y sobrevivir, es necesario que obtenga:

- a. energía suficiente para poder realizar todo proceso corporal
- b. suficiente proteína y aminoácidos para mantener un balance positivo de N positivo
- c. suficiente agua y minerales para compensar por pérdida o incorporación, y
- d. vitaminas esenciales no sintetizadas por el cuerpo.

Las proteínas son las moléculas más abundantes en las células constituyendo el 50% o más de su peso seco. Se encuentran en todas las partes de cada célula jugando un papel muy importante en todo proceso biológico determinando el patrón de transformación química (Stryer 1988). Las proteínas, aunque pueden servir como fuentes de energía, actúan principalmente como fuentes de aminoácidos, a partir de los cuales el organismo puede sintetizar sus propias proteínas estructurales y funcionales (Lloyd et al. 1978). Están constituidas por una o varias cadenas polipeptídicas de α -aminoácidos unidas entre sí covalentemente por enlaces peptídicos y por un conjunto de 20 aminoácidos ordenados en diversas secuencias específicas, siendo su unidad estructural básica. Contienen carbono, hidrógeno y oxígeno, además de un porcentaje considerable de nitrógeno.

Las proteínas desempeñan una gran diversidad de funciones en todos los aspectos de la estructura y función celular, especializadas en una función biológica diferente y actuando en la catálisis enzimática. Son esenciales para el crecimiento,

mantenimiento, reproducción y reparación de tejidos. (Stryer 1988). Son importantes en el transporte y depósito de los nutrientes. Además, las proteínas intervienen en la protección inmune, y en la generación y transmisión de impulsos nerviosos por medio de proteínas receptoras. Por lo tanto, las proteínas son una clase única de macromoléculas en ser capaces de reconocer específicamente e interactuar con moléculas altamente diversas, pudiendo transducir energía e información (Stryer 1988).

Sin embargo, el exceso de proteínas en la dieta, o la deficiencia de grasas y/o carbohidratos, es causa de que parte de las proteínas se empleen como fuente de energía. Cuando la proteína sirve como fuente de energía, su esqueleto carbonado sigue las mismas vías energéticas de los carbohidratos y grasas, pero queda un residuo nitrogenado que es excretado por el organismo. En los mamíferos el principal residuo es la urea y en las aves el ácido úrico (Lloyd et al. 1978; Delorme y Thomas 1996; McWhorter et al. 2003; Singer 2002; Tsahar et al. 2005a).

La deficiencia de proteínas provoca disminución del consumo de alimento, el crecimiento y la reproducción y la lactancia son inferiores al nivel óptimo, ya que éstas son una parte esencial del animal. Con una dieta libre de nitrógeno se presentan enfermedades y la muerte, por lo que se requiere de una provisión abundante y continúa en el alimento durante toda la vida para el crecimiento y reposición de proteínas. La limitación de nitrógeno puede explicar el porqué (Law 1992):

- pocas especies de vertebrados se alimentan exclusivamente de frutas
- los vertebrados frugívoros tienen bajas tasas de desarrollo y crecimiento, y
- seleccionan frutas que son ricas en proteínas.

El nitrógeno puede ser un nutriente limitante en aquellos animales que tienen hábitos alimentarios con alimentos bajos en este elemento, tales como las aves y mamíferos frugívoros y nectarívoros. Sin embargo, los requerimientos de mantenimiento de nitrógeno han sido determinados en unas pocas especies. Por ejemplo, en cuanto a las aves se encuentra el trabajo de McWhorter et al. (2003) con tres especies de colibríes *Archilochus alexandri* (colibrí barba negra), *Eugenes fulgens* (colibrí magnífico) y *Lampornis clemenciae* (colibrí garganta azul). En este estudio se encontró que estas especies tienen bajos requerimientos de proteínas. Similarmente, en otro estudio con las aves frugívoras *Pygnonotus xanthopygos* (bulbul de vientre amarillo) y *Onychognathus tristrami* (estornino de Tristram), Tsahar et al. (2005b) encontraron que estas especies tienen bajos requerimientos de proteína. Por su parte, van Tets y Hulbert (1999) encontraron bajos requerimientos de nitrógeno en el tlacuache pigmeo del este (*Cercatetus nanus*) cuando se alimenta de polen.

Los murciélagos pueden abarcar una gran diversidad de dietas de donde obtienen los nutrientes necesarios para llevar a cabo sus funciones fisiológicas (Kunz 1988; Courts 1998). Sin embargo, los murciélagos nectarívoros y frugívoros se caracterizan por alimentarse de frutas o néctar con bajo contenido de nitrógeno (Morrison 1980, Thomas 1984, Courts 1998). En el caso de los murciélagos

nectarívoros, se ha propuesto que en el nuevo mundo complementan sus dietas con insectos. Estudios más recientes demuestran que los murciélagos frugívoros ingieren grandes cantidades de fruta para satisfacer sus requerimientos de nitrógeno (Thomas 1984), mientras que otros estudios muestran que los frutos contienen la cantidad adecuada de nitrógeno para cubrir sus requerimientos debido a que los murciélagos reducen la pérdida de nitrógeno endógeno en las heces (Delorme y Thomas 1996, 1999).

En el caso de los murciélagos nectarívoros neotropicales, la principal fuente de nitrógeno la constituyen los insectos y el polen. Estos ítemes alimentarios han sido reportados en la dieta de una gran cantidad de especies nectarívoras (Heithaus et al. 1975, Gardner 1977, Helversen y Winter 199X, Álvarez et al. 1991). Sin embargo, no se han medido los requerimientos de mantenimiento en ninguna especie de murciélago neotropical, aunque se sabe que pueden mantener balances positivos de este nutriente con una dieta de polen (Howell 1974). Estudios con murciélagos nectarívoros del Viejo Mundo demuestran que estas especies tienen requerimientos bajos de nitrógeno (Law 1992), al igual que ocurre con varias especies de colibríes (McWhorter et al. 2003; López-Calleja et al. 2003).

En este estudio, se determinaron los requerimientos mínimos de nitrógeno en una especie de murciélago nectarívoro neotropical, *Glossophaga soricina*, para probar la hipótesis de que este grupo de mamíferos tienen bajos requerimientos de nitrógeno. Se compararon estos requerimientos con otras especies de vertebrados con los mismos hábitos de alimentación.

DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Glossophaga soricina pertenece a la subfamilia Glossophaginae (Álvarez et al. 1991). Es un murciélago pequeño llamado comúnmente "nariz de hoja", "lengua larga" o "lengüetón de Pallas" (Lemke, 1984). Algunas de las características distintivas de este murciélago es que presenta dos fases de coloración en el pelaje, usualmente café pálido por encima del cuerpo y más claro por debajo del mismo.

Presenta pelo divergente en la cabeza y hombros, el cual es áspero y es escamoso (Howell, 1974) Sus alas son pequeñas en comparación con otros filostómidos. El largo del antebrazo medio es cerca del 60% de la cabeza y cuerpo.

Esta especie se encuentra ampliamente distribuida, desde el norte de México hasta Sudamérica, desde bosques áridos-subtropicales hasta bosques húmedos tropicales y sabanas hasta una altitud de 2,600m sobre el nivel del mar. Los miembros de ésta especie son altamente especializados para consumir dietas de pulpa de frutas, néctar y polen, en donde éste último, le proporciona una dieta rica en carbohidratos, lípidos y un alto contenido de proteínas (Lemke, 1984). Además de néctar y polen, *G. soricina* puede también consumir insectos (Gardner, 1977; Lemke, 1984). Las principales adaptaciones que presentan para alimentarse son la presencia de un rostro alargado, y una larga y extensible lengua con un cepillo parecido a un parche de papilas que facilitan la recolección y transferencia de polen y néctar hacia la boca. El labio posterior es frecuentemente acanalado y

los incisivos bajos son reducidos o ausentes para permitir el fácil movimiento de la lengua en y afuera de la boca (Álvarez et al. 1991).

En cuanto a su conducta, La Val (1970) reportó que el patrón de actividad nocturna de *G. soricina* es bimodal, con actividad extrema justo después de anochecer y justo antes de amanecer. En un estudio posterior Ramírez-Pulido y Armella (1987) reportaron que ésta especie tiene una actividad de patrón unimodal, con actividades intensa después de la puesta de sol.

Glossophaga soricina es una especie estacionalmente poliéstrica en México (Cockrum, 1955) y Colombia (Tamsitt, 1966). La ovulación es espontánea y usualmente sólo un óvulo es reemplazado por ciclo; el acontecimiento de la menstruación y la implantación intersticial sugieren que *G. soricina* puede poseer un considerable potencial para desarrollarse como un modelo animal en investigaciones reproductivas humanas (Rasweiler, 1974). La copulación puede no proceder a la ovulación, pero probablemente ocurre simultáneamente con esta (Hamlett, 1935). El periodo de lactancia es de aproximadamente 2 meses (Kleiman y Davis, 1979).

ANTECEDENTES

La información concerniente a aspectos fisiológicos y en particular acerca de los requerimientos de nitrógeno de *G. soricina* es escasa en la literatura o es referente a otras especies de murciélagos, otros mamíferos y aves. Con respecto a estudios de requerimientos de nitrógeno y balance de energía en vertebrados éstos se han realizado principalmente en aves, por ejemplo Martin (1968) encontró que el gorrión americano arbóreo (*Spizella arborea arborea*) se alimentan de dietas con niveles altos de proteínas mantener constantes sus pesos. Roxburgh y Pinshow (2000) encontraron en *Nectarina osea* (pájaro sol de penacho naranja) tasas bajas de pérdida de nitrógeno debido al tipo de alimento lo que permite una mayor absorción del mismo. López-Calleja et al. (2003) reportaron que el colibrí espalda verde corona roja (*Sephanoides sephanoides*) se alimenta de insectos, como una fuente de nitrógeno, ya que no son un recurso adecuado de energía, comprobando que como la mayoría de los nectarívoros muestra un bajo requerimiento de nitrógeno. Tsahar et al. (2005a) encontraron bajos requerimientos de nitrógeno en *Sturnus vulgaris* (estornino pinto)

En cuanto a los mamíferos, Barboza, et al. (1993) reportan que los bajos requerimientos de nitrógeno y energía permiten que los uombat, *Vombatus ursinus* y *Lasiornhinus latifrons* consuman pasturas de pobre o baja calidad. Foley et al. (2000), encontraron que el tlacuache lanoso (*Caluromys philander*) absorbe más rápido el nitrógeno que otros animales y que de la urea recicla entre el 60 y 80%

del nitrógeno. En lo que respecta a murciélagos, Delorme y Thomas (1996) midieron la eficiencia digestiva y requerimientos de nitrógeno y energía para *Carollia perspicillata*, (murciélago cola corta de Seba) la cual ajusta su tasa metabólica para mantener constante su masa y tiene que consumir grandes cantidades de fruta para satisfacer sus requerimientos de nitrógeno. Korine et al. (1996) realizaron un trabajo similar con el zorro volador egipcio *Rousettus aegyptiacus* encontrando que la energía antes que el nitrógeno es el componente nutricional limitante en la dieta de murciélagos frugívoros. También concluyeron que puede mantener un balance de nitrógeno positivo en una variedad de dietas naturales de frutas. Delorme y Thomas (1999) hicieron un análisis comparativo de la eficiencia digestiva y los requerimientos de nitrógeno y energía en *Artibeus jamaicensis* (murciélago zapotero) y *R. aegyptiacus*, encontrando que ambas especies muestran un grado similar de especialización en su habilidad para retener nitrógeno cuando se alimentan de dietas bajas del mismo. No existen estudios sobre estos aspectos en *G. soricina* ni en ninguna otra especie de murciélago nectarívoro. Únicamente existe un estudio que demuestra que el murciélago nectarívoro *Leptonycteris currosoae* es capaz de mantenerse en balance positivo de nitrógeno con una dieta de polen (Howell 1974).

OBJETIVO GENERAL

- Determinar los requerimientos de mantenimiento mínimos de nitrógeno de *Glossophaga soricina* en condiciones de laboratorio.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Medir el consumo de alimento en las cuatro dietas experimentales de caseína y las variaciones de peso durante el experimento.
- Obtener la concentración de nitrógeno eliminado en orina y excreta para calcular el nitrógeno asimilado.
- A partir de los valores de asimilación en las diferentes dietas experimentales establecer el requerimiento mínimo aparente y verdadero de N.
- Medir la producción de nitrógeno endógeno urinario y de nitrógeno fecal metabólico.

HIPÓTESIS

Los requerimientos de mantenimiento de nitrógeno en *Glossophaga soricina* con una dieta de caseína serán similares a los encontrados en estudios previos en colibríes. Este valor estará alrededor de 1.15 a 12.50 mg N kg^{-0.75} día⁻¹.

ÁREA DE ESTUDIO.

Se colectaron 16 murciélagos el 29 de septiembre de 2001 en la cueva de Las Vegas (Tenampulco, Puebla), la cual es un túnel de forma irregular, sin ramificaciones y con un par de entradas con una longitud aproximada de 260 m y varias cámaras de tamaño variable las cuales son usadas por especies particulares (Ávila, 2000). La cueva se encuentra en la región de Tenampulco, Puebla (20°08'54" N, 97°24'39" O, 183m) en uno de los bordes de la Planicie Costera del Golfo. El área que rodea a la cueva, presenta vegetación predominante de extensas zonas de pastizal así como en menor proporción cultivos de árboles frutales. En cuanto a la vegetación natural, corresponde a un bosque tropical perennifolio siendo considerada, por el tamaño de los árboles, una selva mediana perennifolia. (Medellín y López-Forment, 1986).

METODOLOGÍA

El experimento se realizó de octubre de 2002 a julio de 2003 en el Bioterio del Instituto de Biología de la UNAM. Los murciélagos fueron colocados y separados por sexos en jaulas con armazón de madera y recubiertas con malla de dimensiones aproximadas de 80 cm de largo por 80 cm de ancho y 80 cm de alto (Fig. 1). Los murciélagos se mantuvieron a una temperatura de entre 25 a 27° C y una humedad relativa del 30% mantenida con cubetas con agua, proporcionándoles en cada jaula, una dieta de mantenimiento compuesta de una mezcla de cereales, leche en polvo, azúcar refinada y plátano Tabasco congelado (Tabla 1).

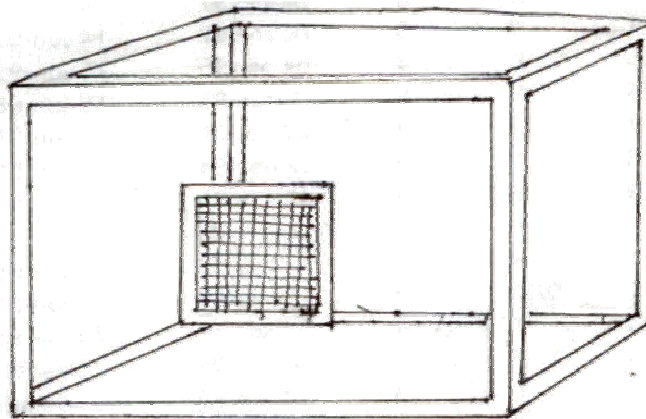


Figura 1. Diagrama de las jaulas diseñadas para *Glossophaga soricina*

Tabla 1. Composición de la dieta de mantenimiento
100 g plátano
100 g cerelac
100 g gerber
150 g leche en polvo
100 g azúcar
agua para cubrir 600 ml

Todos los componentes de la dieta de mantenimiento fueron pesados en una balanza de la marca Ohaus y vertidos en la licuadora, llevando esta mezcla a un volumen de 600 ml con agua. Se licuaron los componentes y posteriormente la mezcla fue colocada en cada uno de los recipientes de plástico dependiendo del número de individuos presentes en cada jaula siendo calculada para cuatro o cinco individuos, así como también se les proporcionó un recipiente con agua por jaula.

Para el experimento sobre requerimiento de nitrógeno, se utilizaron botes de plástico invertidos a los cuales se les adaptó una malla de plástico en la parte interior en un costado permitiendo con esto que los murciélagos se pudieran colgar y trepar, pero no volar. Los botes de plástico fueron utilizados para obtener las muestras de orina y excretas y evitar que el alimento se mezclara con éstas, así como para coleccionar de una manera más fácil las muestras.

La dieta experimental se colocó en comederos de plástico para aves, cerca de la parte superior del bote para evitar contaminación fecal que pudiera alterar los datos obtenidos posteriormente. En la parte inferior del bote se dispuso un embudo de plástico, conectado a un vaso de precipitado para la colecta de las excretas y para el drenado de la orina. Se colocó 1 ml de aceite mineral en el vaso para evitar la pérdida de orina por evaporación. El vaso se cubrió con parafilm y fue etiquetado. Los botes fueron colocados en la pared del bioterio con un velcro y los comederos se sujetaron con cinta canela (Fig. 2).



Figura 2. Botes experimentales utilizados para *Glossophaga soricina*

Se ofrecieron cuatro dietas experimentales con distintos niveles de proteína (Tabla 2) y se asignaron cuatro individuos seleccionados al azar para cada dieta. Cada dieta se ofreció por tres días, el primero en la jaula de mantenimiento de manera colectiva y los dos últimos en el bote experimental de manera individual. Los murciélagos se pesaron antes y después de cada experimento con una balanza Ohaus con precisión de 0.001g y posteriormente fueron transferidos a jaulas de mantenimiento.

Tabla 2. Composición de las cuatro dietas experimentales proporcionadas a <i>Glossophaga soricina</i> .				
	Dieta 2.2	Dieta 1.9	Dieta 0.8	Dieta 0.7
N	0.392 mgN/g alimento húmedo	0.339 mgN/g alimento húmedo	0.138 mgN/g alimento húmedo	0.124 mgN/g alimento húmedo
Sacarosa	20 g	20 g	20 g	20 g
Caseína	0.3705 g	0.32 g	0.1347 g	0.1178 g
Na Cl	0.053 g	0.053 g	0.053 g	0.053 g
Vitamina	0.053 ml	0.053 ml	0.053 ml	0.053 g
CaHPO ₄	0.053 g	0.053 g	0.053 g	0.053 ml
Ácido ascórbico	0.015 g	0.015 g	0.015 g	0.015 g

Se midió diariamente el volumen de consumo alimenticio antes y después del periodo de colecta, así como también el volumen de orina y el peso de las excretas cada mañana a la misma hora. Las muestras de orina y heces se colocaron en viales de plástico y se congelaron para su análisis posterior. Las muestras de excreta se descongelaron y se tomaron dos pequeños fragmentos de las mismas para así tener una réplica de cada una. Se obtuvo el peso de cada fragmento en una balanza analítica. Posteriormente fueron colocadas en cápsulas de papel aluminio con pinzas para evitar la contaminación de las muestras. Se envolvió totalmente la muestra y se volvió a pesar para obtener el peso exacto de cada una, colocándola en un analizador de proteínas de la marca CE Instruments Flash 1112 Series EA Thermo Quest (Fig. 3).



Figura 3. Analizador de proteínas.

Las muestras de orina se descongelaron y se tomaron 2 ml de cada una, los cuales se colocaron en un vial que se centrifugó a 100 rpm para separar el aceite mineral y medir el volumen de orina producido. Los tubos fueron enviados al laboratorio del Departamento de Patología Clínica de la Facultad de Veterinaria de la UNAM. Mediante un análisis colorimétrico (Diagnostic Chemical Limited) se determinó la concentración de urea, ácido úrico, amonio y creatinina en las muestras de orina. Los métodos consisten en medir la capacidad de los distintos pigmentos que absorben las diferentes longitudes de onda por medio de un espectrofotómetro automatizado Roche Cobasmira-S (Anexo 1).

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Las variables que se estimaron fueron requerimientos mínimos aparentes de N (MNR) y requerimientos de N realmente digerible (TDN), además de N metabólico fecal (MFN) y N endógeno urinario (EUN).

Para calcular el requerimiento mínimo aparente de N (MNR), se usó el intercepto de X a cero de una regresión lineal del balance de nitrógeno aparente (N consumido menos el N fecal y urinario) contra el N consumido (Smith y Green 1987). El requerimiento de N realmente digerible (TDN), se calculó por medio del intercepto X a cero de una regresión lineal del balance de N contra el consumo de la digestibilidad verdadera de N ($TDN = N \text{ consumido} - N \text{ fecal} + N \text{ metabólico fecal [MFN]}$) (Robbins 1993).

El N metabólico fecal (MFN) fue determinado usando el intercepto Y de una regresión lineal del N fecal por unidad de materia seca consumida contra el contenido de N de la materia seca en la dieta (Bosshardt and Barnes 1946).

El N endógeno urinario fue calculado con la regresión lineal de N urinario contra el requerimiento de N realmente digerible (TDN) extrapolando el valor de X a cero.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para evaluar si existen diferencias estadísticamente significativas en los diferentes valores los datos se analizaron por medio de un ajuste lineal en el programa JMP 2003.

RESULTADOS.

Al realizar el análisis no se encontraron diferencias significativas en los pesos de cada individuo por dieta ($F_{(3,15)}= 1.5090$, $P=0.2624$).

Con lo que respecta al consumo de alimento no se encontraron diferencias significativas entre los individuos de cada dieta ($F_{(3,15)}= 0.2061$, $P= 0.2061$) y en un promedio general consumieron 17.85 ml d^{-1} .

El promedio de nitrógeno ingerido decreció al disminuir el nitrógeno contenido en la dieta, como se esperaba con los animales que consumieron un volumen fijo de alimento (Tabla 3).

En cuanto al nitrógeno en excretas y orina se encontraron diferencias entre las dietas, pero se pueden dividir en dos grupos: dieta de alto y de bajo nivel de nitrógeno, ya que no se observa una tendencia a tener una mayor cantidad de nitrógeno excretado en las dietas mayores que en las dietas con menor cantidad de nitrógeno (excretas $F_{(3,15)}=8.7806$ $P=0.0024$ y orina $F_{(3,15)}=8.6267$ $P=0.0025$).

El balance de nitrógeno declinó progresivamente cuando disminuyó el contenido de nitrógeno de las dietas, aunque se presentaron individuos que se salieron del patrón ($F_{(3,15)}= 4.0621$ $P= 0.0031$).

La digestibilidad verdadera de nitrógeno de las cuatro dietas no presentó diferencias significativas ($F_{(3,14)}= 0.7592$ $P= 0.5400$).

Tabla 3. Resultado (promedio \pm DE) de las cuatro dietas de <i>Glossophaga soricina</i> (n= 16)				
	Dieta 2.2 n= 4	Dieta 1.9 n= 4	Dieta 0.8 n= 4	Dieta 0.7 n= 4
Peso Inicial (g)	9.85 \pm 0.5	10.15 \pm 0.3	10.32 \pm 0.6	9.77 \pm 0.5
Peso Final (g)	9.6 \pm 0.3	10.15 \pm 0.3	10.35 \pm 0.5	9.9 \pm 0.7
Consumo de alimento (ml d ⁻¹)	21.27 \pm 6.7	15.4 \pm 1.1	17.5 \pm 1.9	17.25 \pm 2.1
Nitrógeno ingerido (mg d ⁻¹)	10.09 \pm 3.2	6.31 \pm 0.4	3.02 \pm 0.3	2.6 \pm 0.3
N ingerido en digestión verdadera (%)	90.5 \pm 2.4	88.7 \pm 1.5	83.6 \pm 2.5	87.9 \pm 7.2
N Fecal (mg)	0.97 \pm 0.38	0.81 \pm 0.19	0.59 \pm 0.14	0.50 \pm 0.32
N Urinario (mg)	3.67 \pm 0.87	1.75 \pm 0.24	1.13 \pm 0.23	1.53 \pm 1.20
Balance de nitrógeno (mg N d ⁻¹)	5.4 \pm 2.0	3.7 \pm 0.2	1.2 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2

El balance de nitrógeno fue medido como la diferencia entre el nitrógeno consumido y el nitrógeno excretado de orina y heces. El requerimiento mínimo de nitrógeno fue calculado como 1.422 mg N d⁻¹ ($y = 0.7109x - 1.0115$; $r^2 = 0.84$; $P < 0.0001$ Fig. 4).

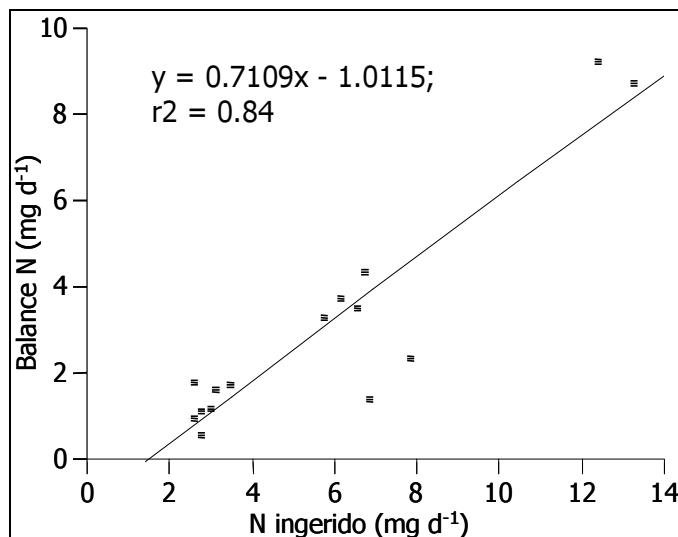


Fig. 4 Relación entre el nitrógeno consumido en la dieta y el balance de nitrógeno en *Glossophaga soricina*.

El nitrógeno metabólico fecal fue de $0.111 \text{ mg N d}^{-1}$ ($y=0.0889x + 0.111$; $r^2= 0.31$; $P= 0.0287$). El requerimiento mínimo verdadero de nitrógeno fue de $1.081 \text{ mg N d}^{-1}$ ($y= 0.759 x - 0.8219$, $r^2= 0.88$ $P= <0.0001$ Fig. 5).

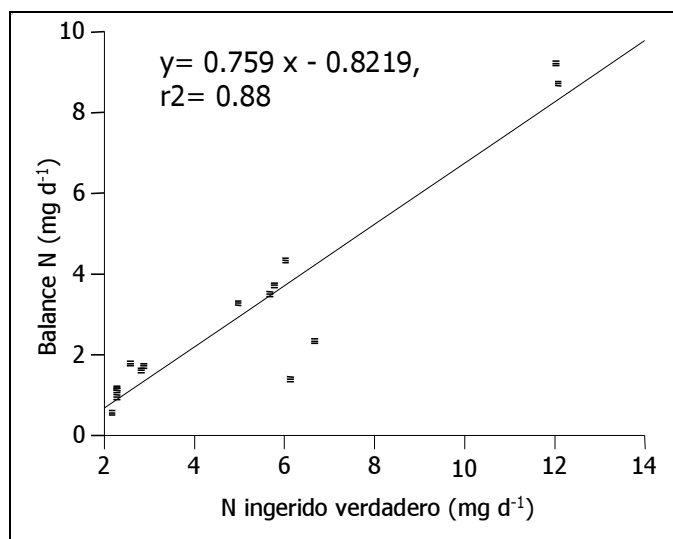


Fig. 5 Relación entre el nitrógeno ingerido verdadero y el balance de nitrógeno de la digestión verdadera.

El nitrógeno endógeno urinario fue de $0.7106 \text{ mg N d}^{-1}$ ($y= 0.7106x + 0.240$ $r^2= 0.42$ $P= 0.0084$).

CONCLUSIONES

En cuanto a lo consumido en cada dieta, en promedio se encontró que el consumo fue de 17.85 ml d⁻¹, independiente del contenido de nitrógeno en la dieta.

El peso de los murciélagos no presentó variaciones significativas entre los individuos de cada dieta y entre dietas.

El valor de requerimiento mínimo fue de 34.12 mg N kg^{-0.75}d⁻¹, el cual es muy bajo comparado con mamíferos y es similar a los mamíferos y aves nectarívoros, principalmente la de los colibríes como se planteó en la hipótesis.

El valor de nitrógeno endógeno urinario (22.47 mg N kg^{-0.75} d⁻¹) es similar al de las especies con mayor adaptación a alimento bajos en nitrógeno o que tienen la facultad de adaptarse a la falta temporal del mismo.

LITERATURA CITADA

- Álvarez, J. et al. 1991. *Glossophaga soricina*. Mammalian Species 379:1-7.
- Ávila, F. R. 2000. Patrones de uso de cuevas en murciélagos del centro de México. Tesis de Licenciatura. UNAM. pp. 121.
- Barboza, P. S., I. D. Hume. y John V. N. 1993 Nitrogen metabolism and requirements of nitrogen and energy in the Wombats (Marsupialia: Vombatidae). *Physiological Zoology* 66 (5):807-828.
- Bosshardt, D. K. and R. H. Barnes. 1946. The determination of metabolic fecal nitrogen and protein digestibility. *Journal of Nutrition* 31:13-21
- Bondii, A. A. 1988. *Nutrición Animal*. Editorial Acribia. España. pp. 546.
- Bradshaw, F. J. y S. D. Bradshaw. 2000. Maintenance nitrogen requirements of a obligate nectarivore, the honey possum, *Tarsipes rostratum*. *Journal of Comparative Physiology B* 171:59-67.
- Brice, A. T. y Grau, C. R. 1991. Protein requirements of Costa's hummingbirds, *Calypte costae*. *Physiological Zoology* 64, 611-626.
- Cockrum E. L. 1955. Reproduction in North American bats. *Transactions of the Kansas Academy of Science* 58:487-511.
- Courts, S. E. 1998. Dietary strategies of old world fruit bats (Megachiroptera, Pteropodidae): How do they obtain sufficient protein? *Mammal Reviews* 28 (4): 185-194.

- Delorme, M. y D. W. Thomas. 1996. Nitrogen and energy requirements of the short-tailed fruit bat (*Carollia perspicillata*) fruit bats are not nitrogen constrained. *Journal of Comparative Physiology B* 166: 427-434.
- Delorme, M. y D. W. Thomas. 1999. Comparative analysis of the digestive efficiency and nitrogen and energy requirements of the phyllostomid fruit-bat (*Artibeus jamaicensis*) and the pteropodid fruit-bat (*Rousettus aegyptiacus*). *Journal of Comparative Physiology B* 169: 123-132.
- Foley, W. J., P. Charles-Dominique y D. Julien-Laferriere. 2000. Nitrogen requirements of the didelphid marsupial *Caluromys philander*. *Journal of Comparative Physiology B* 170:345-350.
- Gardner, E. R. 1977. Feeding habits. In *biology of bats of the new world Family Phyllostomidae. Part II* (B. J. Baker, J. K. Jones y D. C. Carter eds.) Special Publications. The Museum Texas Tech University 13: 293-350.
- Hamlett, G. W. D. 1935. Breeding habits of the Phyllostomatid bats. *Journal of Mammalogy* 16:146-147.
- Heithaus, E. R., T. H. Fleming y P. A. Opler. 1975. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* 56: 841-854.
- Howell, D. J. 1974. Bats and pollen: physiological aspects of the syndrome of chiropterophily. *Comparative Biochemistry Physiology* 48A, 263-276.
- Kleiman, D. G. y T. M. Davis. 1979. Ontogeny and maternal care. pp 387-402, in *Biology of bats of the new world family phyllostomatidae. Part. III*

(R.J. Baker, J. K. Jones, Jr. y D. C. Carter, Eds). Special publications, The Museum, Texas Tech. University 16: 1-441.

- Korine, C., Z. Arad y A. Arieli. 1996. Nitrogen and energy balance of the fruit bat *Rousettus aegyptiacus* on natural fruit diets. *Physiological Zoology* 64: 618-634.
- Kunz, T. H. 1988. Ecological and behavioral methods for the study of bats. Smithsonian Institution Press, Washington, D. C. 533 pp.
- La Val, R. K. 1970. Banding returns and activity periods of some Costa Rican Bats. *The Southwestern Naturalist* 15: 1-10.
- Law, B. S. 1992. The maintenance nitrogen requirements of the queensland Blossom bat (*Syconycteris australis*) on a sugar, pollen diet: is nitrogen a limiting resource? *Physiological Zoology* 65 (3): 634-648.
- Lemke, T. O. 1984. Foraging ecology of the long-nosed bat, *Glossophaga soricina*, with respect to resource availability. *Ecology* 65 (2): 538-548.
- Lloyd, L. E., B. E. McDonald y E. W. Crampton. 1978. Fundamentos de Nutrición. Editorial Acribia. Zaragoza. pp. 464.
- López-Calleja, M. V., M. J. Fernández y F. Bozinovic. 2003. The integration of energy and nitrogen balance in the hummingbird *Sepphanoides sepphanoides*. *The Journal of Experimental Biology* 206, 3349-3359.
- Martin, E. 1968. The effects of dietary protein on the energy and nitrogen balance of the tree sparrow (*Spizella arborea*). *Physiological Zoology* 41: 313-331.

- Maynard, L. A., J. K. Loosli., H. F. Hintz y R. G. Warner. 1979. Nutrición Animal. Editorial McGraw-Hill. México. pp. 640.
- McWhorter, T. J. 1997. Energy assimilation, protein balance, and water absorption in broad tailed hummingbirds, *Selasphorus platycercus*. MS thesis, University of Wyoming, Laramie, USA.
- McWhorter, T. J., D. R. Powers y C. Martínez del Rio. 2003. Are Hummingbirds facultatively ammonotelic? Nitrogen excretion and requeriments as a function of body size. *Physiological and Biochemical Zoology* 76 (5): 731-743.
- Medellín R. A., y W. López-Forment. 1986. Las cuevas: un recurso compartido. *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, Series Zoología* 56: 1027-1034.
- Morrison, D. W. 1980. Efficiency of food utilization by fruit bats. *Oecologia* 45: 270-273.
- Ramírez-Pulido, J. y M. A. Armelia. 1987. Activity patterns of neotropical bats (Chiroptera: Phyllostomatidae) in Guerrero, Mexico. *The Southwestern Naturalist* 32: 363-370.
- Rasweiler, J. J. 1974. Reproduction in the Long-Tongued Bat, *Glossophaga soricina*. II. Implantation and early embryonic development. *The American Journal of Anatomy* 139:1-36.
- Robbins, C. T. 1993. *Wildlife feeding and nutrition*. 2ed. Academic Press, New York.

- Roxburgh, L. y B. Pinshow. 2000. Nitrogen requirements of an old world nectarivore, the orange-tufted sunbird *Nectarinia osea*. *Physiological and Biochemical Zoology* 73 (5): 638-645.
- Singer, M. A. 2002. Vampire bat, shrew and bear: comparative physiology and chronic renal failure. *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative Comparative Physiology* 282: R1583- R1592.
- Smith, A. P. y S. W. Green. 1987. Nitrogen requirements of the sugar glider (*Petaurus breviceps*), an omnivorous marsupial, on a honey-pollen diet. *Physiological Zoology*. 60:82-92.
- Steller, D. C. 1986. The dietary energy and nitrogen requirements of the grey-headed flying fox, *Pteropus poliocephalus* (Temminck) (Megachiroptera). *Australian Journal Zoology* 34: 339-349.
- Stryer, L. 1988. *Biochemistry*. New York: W. H. Freeman. pp. 1089.
- Tamsitt, J. R. 1966. Altitudinal distribution, ecology and general life history of bats in the Andes of Colombia. *American Philosophical Society Yearbook* pp. 372-373.
- Thomas, D. W. 1984. Fruit intake and energy budgets of frugivorous bats. *Physiological Zoology* 57: 457-467.
- Tsahar, E., C. Martínez del Río, I. Izhaki y Z. Arad. 2005a. Can birds be ammonotelic? Nitrogen balance and excretion in two frugivores. *Journal Experimental Biology*. 208: 1025-1034.

- Tsahar, E., C. Martínez del Río, Z. Arad, J. P. Joy y I. Izhaki. 2005b. Are the low protein requirements of nectarivorous birds the consequence of their sugary and watery diet? A test with an omnivore. *Physiological and Biochemical Zoology*. 78 (2): 239-245.
- van Tets, I. G. y A. J. Hulbert. 1999. A comparison of the nitrogen requirements of the eastern pygmy possum, *Cercartetus nanus*, on a pollen and on a mealworm diet. *Physiological and Biochemical Zoology*. 72: 127-137.
- van Tets, I. G. y S. W. Nicolson. 2000. Pollen and the nitrogen requirements of the lesser double-collared sunbird. *Auk* 117: 826-830.
- Wallis, I. R. y I. D. Hume. 1992. The maintenance nitrogen requirements of potoroine marsupials. *Physiological Zoology* 65(6): 1246-1270.
- Witmer, M. 1998. Ecological and evolutionary implications of energy and protein requirements of avian frugivores eating sugary diets. *Physiological Zoology* 71: 599-610.

ANEXO 1

✓ **AMONIO-AMONIACO (Diagnostic Chemicals Limited, método enzimático)**

Procedimiento

Estándar: colocar 100µL del estándar (sol. de amonio) y 1 ml de la solución de amonio.

Muestra: colocar 100µL de la muestra de orina y 1 ml de la solución de amonio.

Blanco: colocar 100µL de agua des-ionizada (sol. de creatinina) y 1 ml de la solución de amonio.

Mezclar por inversión, se deja equilibrar por tres minutos (25-37°C) y después del tiempo de equilibrio se mide densidad óptica (E1) contra el blanco; después se le adiciona 10µL de la solución de glutamato deshidrogenasa, se vuelve a mezclar por inversión y se espera aproximadamente 5 minutos para completar la reacción y se lee el registro final (E2) de absorbancia a 340 nm.

Cálculos

$\mu\text{g/dL amonio} = [(E1 \text{ muestra} - E2 \text{ muestra}) - (E1 \text{ blanco} - E2 \text{ blanco})] * 30.3 \text{ mg/dL} \times 58.8 = \mu\text{mol/L}$

Linealidad

Hasta valores de 15 µg/dL, para valores superiores diluir 1:2 con agua de-ionizada y multiplicar el resultado por 2.

Valores normales

Orina: 0.20-80 µg/kg/24h

✓ **UREA (Diagnostic Chemicals Limited, método enzimático)**

Procedimiento

Se ajusta la lectura de la absorbancia a 340 nm en el espectrofotómetro a 0.000 utilizando agua desionizada como el blanco de la muestra. En una cubeta, se calienta 1.0 ml del reactivo hasta que llegue a una temperatura de 30°C. Se agrega 10µl del estándar o de la muestra. Se mezcla bien y se lee la absorbancia a intervalos de 15 segundos, se observa la reacción por dos minutos y medio.

Cálculos

Mmol/L (mg/dL) amonio= $[(\Delta A/\text{min.}) / (\Delta A/\text{min.S})] * \text{concentración del estándar}$

$\Delta A/\text{min}$ = cambio por minuto en la absorbancia de la muestra desconocida.

$\Delta A/\text{min.S}$ = cambio por minuto en la absorbancia del estándar.

Linealidad

Hasta valores de 30 mmol/dL (84 mg/dL).

Valores normales

2.9-9.3 mmol/dL (8-26 mg/dl)

✓ **CREATININA (Diagnostic Chemicals Limited, método enzimático)**

Procedimiento

Prepare el volumen requerido de reactivo de creatinina. En tubos de ensayos separados pipetee 100 µL de agua desionizada, del estándar de creatinina, o de la muestra. Agregue 2.0 ml del reactivo activo de creatinina e incúbelo por 20 segundos. Registre la absorbancia del estándar a 510 nm a 20 segundos (A_{s1}) y a 80 o a 140 (A_{s2}). También registre la absorbancia de cada muestra a 510 nm a 20 segundos (A_1) y a 80 o a 140 (A_2).

Cálculos

$\mu\text{mol/L(mg/dL) creatinina} = [(A_2 - A_1) / (A_{s2} - A_{s1})] * \text{concentración del estándar}$

Linealidad

Hasta valores de 1945 µmol/dL (22mg/dL) usando un factor de dilución de 1/20.

Valores normales

44-106 µmol/dL (0.5-1.2 mg/dL).

✓ **ÁCIDO ÚRICO (Diagnostic Chemicals Limited, método enzimático de punto final)**

Procedimiento

Pipetee 75 µL de agua destilada, estándar, controles y muestra desconocida en diferentes tubos. Añada 3.0 ml de reactivo de ácido úrico y mezcle. Incube por 5 minutos a cualquier temperatura (18-26°C, 30°C o 37°C). Determine la

absorbancia del estándar, muestras desconocidas a 520 nm usando la muestra de agua destilada como el blanco del reactivo.

Cálculos

$\mu\text{mol/L (mg/dL) \text{ ácido \acute{u}rico} = (\text{absorbancia de la muestra desconocida/absorbancia del estándar}) * \text{concentración del estándar.}$

Linealidad

Hasta valores de 1784 $\mu\text{mol/dL}$ (30mg/dL) si la proporción muestra/reactivo es 1:40.

Valores normales

155-428 $\mu\text{mol/dL}$ (2.6-7.2 mg/dL).