

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

"EXCRECIÓN DE NITRÓGENO DE UNA ESPECIE DE
MURCIELAGO FITÓFAGO"

T E S I S

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

P R E S E N T A
NICTE RAMÍREZ PRIEGO

DIRECTOR DE TESIS: DR. LUIS GERARDO HERRERA MONTALVO

MEXICO, D.F.



JUNIO 2005

m345051



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.



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL

AUTONOMÍA DE

MÉXICO

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 6 de diciembre del 2004, 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) **Ramírez Priego Nichte** con número de cuenta **89319608** con la tesis titulada: "Excreción de nitrógeno de una especie de murciélago fitófago", bajo la dirección del(a) Dr. Luis Gerardo Herrera Montalvo.

Presidente: Dr. Héctor Takeshi Arita Watanabe
Vocal: Dr. Jorge Ernesto Schondube Friedewold
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 31 de mayo del 2005

Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

c.c.p. Expediente del interesado

NOMBRE: Ramírez Priego Nichte

FECHA: 06/ Jun/ 05

FIRMA: Ramírez Priego Nichte

*Este trabajo esta dedicado a mis padres Lourdes y Rafael
por su ejemplo de lucha ante la vida
y sobre todo por su amor y apoyo incondicional
que me han brindado siempre.*

*A mi hermano Rafa
por compartir conmigo
las cosas buenas y malas de la vida.*

Gracias

Cuando el sol se oculta comienzan su vuelo,
dentro de una cueva en la que va creciendo la oscuridad,
una nube de murciélagos salen desbordantes ante la noche,
acariciando con sus alas el aire frío,
dispersándose se van por caminos separados,
acompañados por la luna creciente.

Un murciélago pequeño dirigió su mirada a través de la colina,
se encaminó a una casa buscando polillas para comérselas.

¿Por qué sus hermanos humanos le temen tanto?
si sólo mató y comió plagas esta noche.

Si es encantador tan sólo observar su vuelo
con sus alas de plata rompieron el aire tan firmemente.

A pesar que algunos deseen verle morir,
él se levantará otra vez cuando el cielo se tiña de oscuridad.

Anónimo

Agradecimientos

Esta tesis fue posible llevarla a cabo por la intervención de muchas personas e Instituciones, gracias a todos ustedes.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas y al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A la DGEP y a CONACYT por las becas otorgadas.

A CONACYT y a DGAPA por el financiamiento del proyecto.

Al Dr. Luis Gerardo Herrera Montalvo director de la tesis, por la confianza y por darme las facilidades para realizar este trabajo.

Al Dr. Héctor Takeshi Arita Watanabe y a la Dra. Kathryn Elizabeth Stoner miembros de mi comité tutorial, a los miembros del jurado Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez y al Dr. Jorge Ernesto Shondube Friedewold, por sus comentarios y sugerencias que enriquecieron el trabajo.

A la Universidad Simón Bolívar, especialmente al Dr. Alberto Rojas Martínez por brindarnos un espacio para el periodo de adaptación del primer grupo de murciélagos.

A la M. en C. Laura Márquez Valdemar por la facilidad para que realizara ciertos análisis de orina en el laboratorio de Posgrado del Instituto de Biología.

Al Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, UNAM, especialmente a la QFB Rosalva Salcedo y a la QBP Delia Arlette Castillo, por los análisis de orina realizados.

Al Dr. Fernando Álvarez por el espacio brindado para mantener en cautiverio a los murciélagos.

Al Dr. Fernando Cervantes, M. en C. Yolanda Hortelano, M. en C. Julieta Vargas y al M. en C. Rafael Ávila por la información sobre la localización de cuevas para la colecta de los murciélagos.

Al M. en C. Jorge Villalpando, M. en C. Nancy Sánchez y al M. en C. José Juan Flores por el apoyo en campo y localización de los murciélagos.

A Laura Ticó por la ayuda en la última fase del trabajo en el bioterio.

A Miguel Ángel Vilchis, Andrés Ramírez, Georgina Ortega y Gerardo Arévalo por las facilidades en la búsqueda y obtención de material bibliográfico.

A la M. en C. Leticia Mirón, muy especialmente por su amistad y apoyo incondicionales, y por caminar junto conmigo en la realización de este trabajo.

Al Dr. Alejandro Ibarra por su amistad y cariño, y por supuesto por sus consejos que me hacen ver la vida más sencilla.

A la Dra. Patricia Iloldi y al Biol. Miguel Linaje por su amistad y porque me permitieron compartir con ustedes todas las experiencias que me ha dejado la realización de este trabajo.

Al Biol. Julio Cesar por su amistad y por que en algunos momentos compartimos la responsabilidad de cuidar a nuestros animales y crecimos juntos con todos nuestros aciertos y errores.

Índice

Resumen	7
Abstract	8
Introducción General.....	9
Capítulo I. Capacidad facultativa de excreción	12
1.1 Introducción	12
1.2 Objetivo e Hipótesis	17
1.3 Método	17
1.4 Resultados	25
1.5 Discusión	32

Capítulo II. Respuesta de consumo	36
2.1 Introducción	36
2.2 Objetivo e Hipótesis	38
2.3 Método	38
2.4 Resultados	39
2.5 Discusión	41
Discusión General	45
Literatura Citada	47
Anexo I	56

Resumen

En condiciones naturales, el néctar de la flores de las cuales se alimentan los murciélagos nectarívoros presentan diferentes concentraciones de azúcar (5 a 29% w/w) por lo que se puede esperar que los murciélagos ajusten su volumen ingerido para mantener una ingestión constante de azúcar. La variación en la concentración de azúcares del néctar del cual se alimentan podría representar para los murciélagos la ingestión de volúmenes variables de agua, y afectar el patrón de excreción de desechos nitrogenados en la orina, como ocurre en otros vertebrados. En este estudio se examinaron los cambios en la proporción de los desechos nitrogenados del murciélago nectarívoro *Glossophaga soricina* como respuesta de diferentes consumos de agua y nitrógeno. Asimismo, se evaluó la respuesta de consumo de esta especie al cambio en el contenido de energía de la dieta para probar la hipótesis de que los animales ajustan su consumo de alimento para tener una ingesta constante de energía. La principal forma de excreción de nitrógeno en la orina de *G. soricina* fue la urea (94–42% del total de N excretado). Sin embargo, la proporción de nitrógeno excretado como urea disminuyó cuando la ingestión de nitrógeno disminuye. Este cambio representó un ahorro de 9.6 % de energía diaria cuando el 42% del nitrógeno total fue excretado como urea. El volumen de consumo disminuyó significativamente con el incremento de la densidad de azúcar, de acuerdo con la función $v = 549.54c^{-0.548}$. El exponente fue significativamente menor a 1 lo que indica que *G. soricina* no muestra una alimentación compensatoria y que es probable que existan limitantes fisiológicas en la asimilación del azúcar, así como en la cantidad de agua que el murciélago puede procesar.

Palabras clave: nitrógeno, agua, excreción, respuesta de consumo, *Glossophaga soricina*.

Abstract

In natural conditions, the nectar of the flowers on which nectarivorous bats feed very broadly in sugar concentrations (5 from 29% w/w). Consequently it is possible that the bats adjust food volumetric intake to maintain a constant input of energy. Similar to other vertebrates, compensation in food volumetric intake might also represent the ingestion of variable volumes of water, which might affect patterns of nitrogen excretion of nitrogen in urine. In this study I determined whether changes in the amount of water and protein ingested by the nectarivorous bat *Glossophaga soricina* influenced the way in which nitrogen is excreted. I also examined if volumetric food intake changed with food concentration to have a constant input of energy. Most nitrogen was excreted in urine as urea (94-42% of total N excreted). However, the proportion of N excreted as urea decreased when N ingestion decreased. This change represented an energy saving of 9.6 % of daily energy when only 42% of total nitrogen was excreted as urea. Volumetric food intake decreased with the increase of the density of sugar according to the function $V = aC^{-b} = 549.54C^{-0.548}$, The exponent was significantly smaller to 1 which indicated that *G. soricina* did not show compensatory feeding, and that probably is under physiological constrain (e.g., limitations on sugar assimilation and/or water processing).

Key words: nitrogen, excretion, water, intake responded, *Glossophaga soricina*.

Introducción General

Los nutrientes son sustancias contenidas en el alimento que el organismo aprovecha como fuentes de energía para hacer funcionar sus aparatos y sistemas, como elementos para elaborar compuestos necesarios en los procesos metabólicos, y como materias primas para el crecimiento y la reparación de tejidos (Solomon, et al. 2001). Con sólo ligeras variaciones, todos los animales requieren de los mismos nutrientes básicos: minerales, vitaminas, carbohidratos, lípidos y proteínas (Morris, 1991; Schmidt-Nielsen, 1983). La composición de la dieta tiene un impacto significativo tanto en la función digestiva como en la renal (Studier et al, 1983). Las características morfológicas y bioquímicas del tracto digestivo controlan la cantidad de agua y nutrientes de la dieta que son asimilados. La interacción del contenido de nutrientes de la dieta, la habilidad digestiva para asimilar esos nutrientes y las demandas metabólicas de los animales, determinan la cantidad de desechos nitrogenados y agua que el riñón debe procesar (Studier, et al 1983; Schondube, et al., 2001).

Durante la evolución de los animales terrestres, comenzó a ser importante la conservación del agua (Wright, 1995), ya que se enfrentaron a un limitado suministro de este recurso. Esto originó un serio inconveniente: el inevitable conflicto entre conservar agua, por un lado, y prevenir la acumulación tóxica de residuos nitrogenados, por el otro (Randall, et al., 1998). El desarrollo de diferentes mecanismos fisiológicos ha dado a las especies soluciones a este problema, las cuales ofrecen una disminución en el gasto de agua al eliminar ciertos compuestos nitrogenados como la urea, el ácido úrico y la creatinina, aunque su formación requieren de un costo energético mayor.

En la naturaleza, sin embargo, también se encuentra el otro extremo del espectro que ha sido poco estudiado: el de los animales nectarívoros que enfrentan un exceso en el consumo de agua (Fleming y Nicolson, 2003), alimentándose de néctares con concentraciones de azúcar que van desde un 5% hasta un 66% (Schondube y Martínez del Río, 2003). El agua ingerida al consumir el néctar necesario para cubrir sus necesidades energéticas, más la producida por procesos metabólicos, excede la que un animal con este tipo de alimentación pierde a través de la respiración y la transpiración (Calder, 1981; Calder y Hiebert, 1983; Arita y Martínez del Río, 1990).

La concentración del néctar tiene importantes consecuencias en la forma en que los desechos nitrogenados son excretados por el organismo. Por ejemplo, Preest y Beuchat (1997), encontraron que en una especie de colibrí (*Calypte anna*) la principal forma de excreción de nitrógeno cambió del ácido úrico al amoníaco al incrementar su consumo de agua. El amoníaco requiere de grandes volúmenes de agua para su eliminación debido a su alta toxicidad (Hill, 1980; Louw, 1993). El consumo de nitrógeno también tiene una liga directa con la forma del nitrógeno excretado, en donde se espera que un animal al ingerir dietas con pequeñas cantidades de nitrógeno preferentemente utilizará la vía amoniotética como eliminación por el bajo costo de producción (Van Tets et al. 2001).

Además de su efecto en la forma de excreción de los desechos nitrogenados, la variación tan amplia del rango de concentraciones del néctar del que los animales nectarívoros se alimentan influye directamente en la cantidad de energía que estos ingieren por volumen de alimento. Estudios previos con aves han demostrado que algunas especies como *Lichmera indistincta* (Mielero castaño) y *Acanthorhynchus superciliosus* (Pico de espinas occidental; Collins 1981). *Nectarinia chalybea* (Nectarino de doble collar; Lotz y

Nicolson, 1999), *Eos bornea* (lori rojo) y *Nectarinia famosa* (Nectarino malaquita; Downs, 2000) son capaces de ajustar la ingesta de alimento para mantener un consumo relativamente constante de energía. En contraste, en otras especies de aves se han encontrado evidencias de limitaciones fisiológicas que ocasionan que cuando la concentración de azúcar en el néctar es muy baja, los animales sean incapaces de mantener los mismos niveles de ingestión de energía que cuando se alimentan de néctar mas concentrado (McWhorther y Lopez-Callejas, 2000; Nicolson y Fleming, 2003).

En el capítulo I de este trabajo se analizó la plasticidad en la forma de excreción de desechos nitrogenados del murciélago nectarívoro *Glossophaga soricina* cuando se enfrenta a diversos niveles de consumo de agua y de nitrógeno. En el capítulo II se determinó si los murciélagos presentan alimentación compensada o si presentan limitaciones fisiológicas que influyen en su respuesta de consumo. El estudio de la relación entre la concentración del alimento y la forma de excreción del nitrógeno y el balance energético del animal, son aspectos que nunca se habían examinado en los murciélagos nectarívoros, a pesar de ser uno de los grupos de polinizadores mas importantes en los trópicos (Heithaus et al. 1974, Gardner 1977, Medellín y Arita, 1997) y de la variación tan amplia en la concentración de azúcar de su alimento (Tschapka y Von Helversen, 1999; Tschapka, et al. 1999).

Capítulo I

Capacidad facultativa de excreción de nitrógeno (amoniotelismo, uricotelismo y ureotelismo)

1.1 Introducción

Las proteínas son compuestos orgánicos complejos de alto peso molecular que se encuentran en todas las células vivas, y están estrechamente relacionadas con las actividades que constituyen la vida de la célula. Cada especie tiene sus propias proteínas específicas, y cada individuo en particular tiene numerosas proteínas diferentes en sus células y tejidos (McDonald, et. al., 1995). Casi tres cuartas partes de los sólidos del cuerpo son proteínas. Entre éstas se incluyen proteínas estructurales, enzimas, proteínas transportadoras de oxígeno, proteínas para contracción muscular y muchas más encargadas de funciones específicas tanto dentro como fuera de la célula a través de todo el cuerpo. Las propiedades químicas básicas que explican las diversas funciones de las proteínas son tan extensas que por sí solas constituyen la mayor parte de toda la bioquímica (Guyton, 1994).

El metabolismo de las proteínas y los ácidos nucleicos difiere de manera significativa del metabolismo de los hidratos de carbono y los lípidos. Mientras que estos últimos pueden almacenarse para su movilización, según las necesidades del organismo en cuanto a generación de energía o biosíntesis, la mayor parte de los organismos no disponen de compuestos nitrogenados cuya función sea el almacenamiento y la liberación según la demanda (Mathews y Van Holc, 1999). Cuando las sustancias nitrogenadas son ofrecidas en exceso, éstas pueden ser utilizadas para la producción de energía. Esta función

energética es absolutamente secundaria y reemplazable, con ventajas por los hidratos de carbono y lípidos. En cambio, la participación en la síntesis de componentes celulares, de hormonas y otras sustancias esenciales, es una función insustituible. En este papel estructural y catalítico, el aporte de compuestos nitrogenados resulta indispensable (Blanco, 1989).

Sólo cuando se han cubierto los requerimientos inmediatos, el nitrógeno que no es usado (Hill, 1980; Brafield y Llewellyn, 1982) es removido como amonio, urea, ácido úrico, oxido de trimetilamina, creatinina, creatina, ácido ornitúrico y pirimidinas en diferentes proporciones. Los tres compuestos nitrogenados de excreción principales (por su porcentaje encontrado en la orina) son la urea, ácido úrico y amonio. Estos difieren en sus propiedades, de forma que en el curso de la evolución en algunos grupos animales se ha seleccionado una u otra de estas formas con finalidades de excreción durante todo o parte de sus ciclos vitales (Hill, 1980; Schmidt-Nielsen, 1983; Baber y Walsh, 1993; Walsh y Milligan, 1995; Wright, 1995; Randall, et al., 1998; Wright y Land, 1998).

La síntesis de urea no es la única ruta, ni siquiera la más común, entre los organismos para excretar el nitrógeno. La base de las diferencias en la forma molecular en que se excretan los grupos amino se encuentra en la anatomía y fisiología de los organismos en relación a su hábitat y dieta (Lehninger, et al. 1993). Los organismos acuáticos pueden excretar amonio directamente ya que es altamente soluble y tiene un alto coeficiente de difusión (Hill, 1980). Sin embargo, a grandes concentraciones, la excreción de amonio es usualmente impráctica para los vertebrados terrestres porque éste requiere de grandes volúmenes de agua para diluirlo, debido a su alta toxicidad. El amonio requiere 10 veces más agua para ser excretado que la urea y 50 veces más agua que el ácido úrico para

su eliminación (Hill, 1980; Louw, 1993). Sin embargo, la estructura del ácido úrico es más compleja y requiere de mayor energía para su formación, aunque una ventaja importante es que es menos tóxico. Los vertebrados acuáticos tienden a ser amoniotélicos, esto es, que la mayor parte del nitrógeno lo excretan en forma de amonio. En contraste, los vertebrados terrestres son usualmente ureotélicos o uricotélicos (Hill, 1980; Baber y Walsh, 1993; Walsh y Milligan, 1995; Wright y Land, 1998), produciendo en mayor proporción urea o ácido úrico respectivamente. La creatinina es un compuesto de desecho importante ya que es altamente soluble y tiene baja toxicidad, además de que en ella se encuentran enlaces fosfato ricos en energía y algunos mamíferos pueden excretar de 1 a más del 10% de su nitrógeno en esta forma (Prosser y Brown, 1961; Hill, 1980).

Los mamíferos son indiscutiblemente ureotélicos; sin embargo, también se enfrentan como todos los animales terrestres a la disponibilidad de agua requerida para llevar a cabo todas las reacciones metabólicas biológicas. El principal órgano excretor de los mamíferos es el riñón, y la unidad funcional es la nefrona (Gordon, 1977). Un típico riñón de mamífero consiste de alrededor de un millón de nefronas, las que trabajan bajo el principio de ultrafiltración, secreción y absorción (Kay, 1998). Las nefronas vacían a los conductos colectores papilares, los cuales vacían finalmente en la pelvis renal. El corpúsculo renal está constituido por la cápsula de Bowman (la cual tiene una forma de copa) y el glómerulo renal (un ovillo de capilares que se encuentra en el interior de la cápsula de Bowman; Despopoulos y Silbernagl, 1994).

El túbulo renal puede ser dividido en dos partes: la primera o túbulo proximal en el cual muchos solutos tales como la sal y la glucosa, así como el agua son reabsorbidas y el túbulo distal que continúa con el proceso de cambio del fluido tubular en orina. En la

nefrona de los mamíferos los segmentos distal y proximal están separados por un segmento característicamente delgado formando una asa, conocido como asa de Henle. El asa es la estructura particular en la nefrona que es la responsable de la formación de una orina que es más concentrada que el plasma sanguíneo (Hildebrand, 1982; Schmidt-Nielsen, 1990; Pough, et al., 1999). Los glomérulos se encuentran en la corteza renal y las asas de Henle profundizan hasta la papila de la médula, por lo que las nefronas se disponen de manera radial dentro del riñón.

El metabolismo del agua en los murciélagos es poco conocido. Por ejemplo, el murciélago hematófago *Desmodus rotundus*, tiene una alta eficiencia renal, demostrando una sobresaliente habilidad para concentrar la orina a pesar de los grandes volúmenes de agua contenidos en su alimento (McFarland y Wimsatt 1969; Busch 1988). Esta habilidad se refleja en la estructura renal, en donde la médula del riñón es mayor que la corteza. Los murciélagos nectarívoros se enfrentan también a una dieta que, además de proveerles azúcares y otros nutrientes, también les provee de un exceso de agua que se ve compensada mediante la simplificación de sus riñones con médulas relativamente delgadas (con una relación médula: corteza muy baja; Arita y Martínez del Río, 1990). Debido a que los riñones de los murciélagos nectarívoros y hematófagos son estructuralmente diferentes, estos últimos tienen una mayor capacidad para concentrar la orina que los nectarívoros (Burns, 1979).

Debido a que la forma de excreción está relacionada con el tipo de dieta del animal y con las condiciones ambientales (presiones de deshidratación), algunos animales tienen formas de excreción del nitrógeno facultativas, es decir alternan sus patrones de excreción de nitrógeno. Por ejemplo son amoniotéticos cuando el agua es abundante y ureotéticos o

uricotélicos cuando el agua es restringida (Hill, 1980). Preest y Beuchat (1997) demostraron que en condiciones de baja temperatura con una dieta baja en nitrógeno, el colibrí *Calypte anna* incrementa su consumo de agua y a menudo puede ser amoniotélico, es decir que esta especie puede reducir los costos del metabolismo de excreción de nitrógeno con la producción de amonio o urea.

En la orina de Bulbul Amarillo (*Pycnonotus xanthopygos*) disminuye la concentración de los compuestos nitrogenados cuando el consumo de proteína disminuye y la proporción de amonio aumenta en la orina, asociado con los altos niveles de demanda energética (Van Tets et al. 2001). Esto concuerda con los resultados de Roxburgh y Pinshow (2000) quienes determinaron que en las muestras de fluido excretado de la Nectarina anaranjada copetuda (*Nectarinia osea*) aumentó significativamente la proporción de amonio excretado cuando se le proporcionó dietas con bajas cantidades de proteína.

La capacidad de excreción facultativa en los murciélagos nectarívoros no ha sido evaluada, por lo que uno de los objetivos de este estudio es investigar los patrones de excreción de *Glossophaga soricina*, bajo diferentes condiciones de consumo de nitrógeno y de agua.

1.2 Objetivo

Determinar la proporción de los desechos nitrogenados (urea, amonio, ácido úrico y creatinina) en la orina de *G. soricina* bajo diferentes condiciones de consumo de agua y nitrógeno.

1.2 Hipótesis

Glossophaga soricina será amoniotélico facultativo cuando su consumo de agua en el alimento sea elevado y su consumo de proteína en el alimento sea bajo.

1.3 Método

Zona de Colecta

Se realizó la colecta de murciélagos en dos sitios diferentes. El primer sitio se encuentra en el Municipio de Teloloapan (99° 52' de longitud Oeste y 18° 22' de latitud Norte) en el Estado de Guerrero. El clima del área es semicálido subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura media anual es de 21.9° C, con una precipitación media anual de 911.1 mm. La zona se encuentra cubierta principalmente por selva baja caducifolia. Las especies dominantes son *Hypomea wolcottiana*, *Cordia elaeagnoides*, *Bursera simaruba*, *Acacia comigera*, y *Lysiloma acapulquensis*. Los pastizales y la agricultura, también

forman una parte importante del paisaje: entre los primeros se encuentra *Hyparrhenia rufa*, *Panicum maximum*, *Basteloa filiformis*, *Aristida adescensionis* y *Digitaria decumbens*. Los principales cultivos son *Zea maiz*, *Faciolos vulgaris* y *Mangifera indica* (INEGI).

El segundo sitio de colecta se encuentra en el municipio de Tenampulco (20°08' latitud Norte y 97°24' longitud Oeste) en el estado de Puebla. La zona presenta muy pocos remanentes de la vegetación original, el paisaje predominante está compuesto de pastizal para la cría de ganado vacuno. La vegetación natural corresponde al bosque tropical perennifolio (Rzedowski, 1978). Entre las especies predominantes se encuentran *Brosimum alicastrum*, *Scheelea libmanni*, *Ficus* sp., *Castilla elastica*, *Bursera simaruba*, *Mastcodendron tempsque* y *Cecropia obtusifolia* (Avila, 2000).

Colecta

La primera colecta se realizó el día 10 de Marzo de 2001 en la cueva ubicada en Teloloapan. Se colocaron redes de niebla en las entradas de la cueva y se utilizaron redes de golpeo dentro de la cueva. Los murciélagos fueron transportados en una jaula de metal de aproximadamente 50 cm x 50 cm x 50 cm. El transporte tuvo una duración aproximada de 6 horas del sitio de colecta al bioterio del Colegio Simón Bolívar en la Ciudad de México.

La segunda colecta se realizó el día 26 de Septiembre de 2001 en una cueva en el municipio de Tenampulco con redes de niebla y de golpeo. Los murciélagos se transportaron en costales de manta. El transporte tuvo una duración de aproximadamente 10

horas del sitio de colecta al bioterio del Instituto de Biología de la UNAM en la Ciudad de México.

Descripción del bioterio

Las medidas del bioterio fueron de aproximadamente 2.5 m de ancho por 3.5 m de largo, dentro del cual se colocaron 3 jaulas de 80 cm x 80 cm x 80 cm con armazón de madera y recubiertas por malla, lo que permitió el vuelo a los murciélagos. Los animales se colocaron en jaulas separadas; en la primera se colocaron los machos que fueron colectados en Teloapan, en una segunda y tercera jaulas se colocaron respectivamente los machos y las hembras colectados de Tenampulco. El bioterio se mantuvo con una temperatura de 25 a 27° C con el uso de un calentador y con una humedad relativa de aproximadamente 30%, mantenida con cubetas de agua.

Periodo de adaptación

Primer grupo

Los murciélagos fueron sometidos a un período de adaptación de aproximadamente 30 días, con una dieta consistente en una mezcla de cereales, azúcar refinada, y leche en polvo (35 g), complementada con plátano Tabasco (100 g). Estos componentes fueron disueltos en 600 ml de agua hasta formar un licuado homogéneo representando un aporte de 0.25 g de proteína y 6.98 g de carbohidratos por cada 100 g de dieta, que representan 125.52 KJ. Después de este período, los murciélagos fueron transportados al bioterio del Instituto de Biología, UNAM. A cada murciélago se le registró el peso semanalmente

inicialmente (durante dos semanas) y después quincenalmente; además, se observaron las condiciones físicas en las que se encontraba cada uno de ellos (color de pelo, actividad, consumo de alimento).

Segundo grupo

Este grupo se trasladó directamente de la zona de colecta al bioterio del Instituto de Biología, UNAM, y se le proporcionó la dieta anteriormente descrita. A cada murciélago se les registró el peso quincenalmente y se observaron las condiciones físicas en las que se encontraba cada uno de ellos (color de pelo, actividad, consumo de alimento).

Procedimiento experimental

Una vez ya adaptados los dos grupos, se iniciaron los experimentos. Los criterios para considerar adaptados a los animales fue un peso constante, un consumo de alimento constante y la ausencia de pérdida o cambios en la coloración del pelo.

Para cada una de las dietas experimentales se emplearon cuatro individuos, es decir se usaron 16 murciélagos por grupo, los cuales fueron seleccionados al azar. El trabajo experimental se hizo en tres partes:

- a) En las primeras 4 dietas se mantuvo constante la cantidad de nitrógeno en la dieta (0.54 mg de N/g de alimento húmedo) variando las

concentraciones de sacarosa al ofrecerles dietas de 146 (1), 292 (2), 584 (3) y 877 (4) mM l⁻¹ de sacarosa.

- b) En las dietas 5- 7 se mantuvo constante la cantidad de sacarosa (584 mM l⁻¹) y se variaron las concentraciones de N 0.12 (5), 0.13 (6), 0.39 (7) mg de N/ g de alimento húmedo.
- c) En las dietas 8-10 se variaron las concentraciones de N y sacarosa 0.12/146 (8), 0.12/877 (9), y 0.21/877 (10), mg de N por g de alimento húmedo/ mM l⁻¹ de sacarosa.

En la primera parte del diseño experimental las dietas no fueron equicalóricas, ya que se requería de cambios en el volumen ingerido de agua (lográndolo con el cambio en la proporción de azúcar en la dieta), dejando la cantidad de nitrógeno constante para que fuera una limitante e influyera en el consumo de agua. En la segunda parte se modificó la cantidad de nitrógeno de la dieta y se mantuvo constante la cantidad de sacarosa en la dieta, para observar la influencia del nitrógeno en la producción de los desechos nitrogenados. En la tercera parte se usaron dietas en las cuales se extremaron las cantidades de nitrógeno y sacarosa, así como una dieta intermedia, para completar los rangos que no cubrieron las dietas anteriores, y conocer la influencia del consumo de agua y nitrógeno en la excreción de los desechos nitrogenados (Tabla 1).

El tiempo que los animales fueron sometidos al tratamiento fue de 3 días para cada dieta, un día en las jaulas de mantenimiento y 2 días en los botes experimentales. Las muestras de orina fueron recogidas cada 12 horas y para el análisis químico se tomaron

únicamente las muestras del segundo día, para asegurarse de que los murciélagos estuvieran habituados a los botes (Fig. 1) y que las muestras de orina correspondieran a la dieta experimental y no se registraran desechos nitrogenados de la dieta de mantenimiento.

DIETA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
COMPONENTE										
Nitrógeno (mg g ⁻¹ peso húmedo)	0.34	0.34	0.34	0.34	0.12	0.13	0.39	0.12	0.12	0.21
Sacarosa (mM l ⁻¹)	146	292	584	877	584	584	584	146	877	877

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales con las que se alimentó a *G. Soricina*. A las dietas se les adicionó caseína como fuente de nitrógeno (N) y sacarosa como fuente de energía (E) hasta ajustar los niveles mostrados en la tabla.

Para cada dieta experimental, los murciélagos fueron pesados a las 20:00 hrs. con una balanza Ohaus con precisión de 0.001g y colocados de forma individual en un bote invertido de plástico con una capacidad de 3 l. Una red en la base y a lo largo de los botes permitió que los murciélagos pudieran colgarse y escalar pero no volar (Delorme y Thomas, 1996, 1999). El alimento fue presentado en un alimentador de aves colocado en la parte superior del bote (para evitar contaminación fecal) con un volumen conocido de alimento. La orina y las heces drenaron a través de un embudo de plástico, las cuales fueron

recibidas en vasos de precipitados con un 1ml de aceite mineral, el cual fue adicionado para eliminar la pérdida de orina por evaporación (Fig. 1). A las 8: 00 hrs. la orina fue recogida del vaso y se pesaron nuevamente los murciélagos. El volumen de orina producida fue medido con una probeta graduada de 30 ó 10 ml con precisión de 0.5 ml y se refrigeró en tubos de polietileno con tapa de rosca para su posterior análisis. A cada una de las muestras de orina se le determinó la concentración de amonio, urea, ácido úrico y creatinina basado en una reacción de color usando un equipo comercial de Diagnostic Chemical Limited (Anexo 1) con un espectrofotómetro automatizado Roche Cobasmira-S en el Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

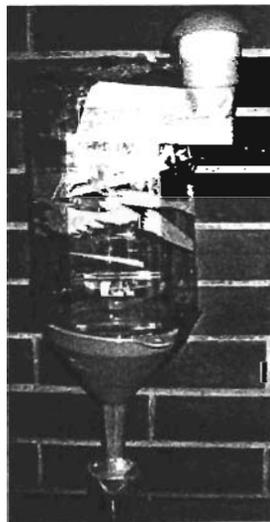


Figura 1. Botes experimentales.

Análisis Estadístico

Para los análisis se usaron un total de 40 murciélagos los cuales fueron seleccionados al azar. Se determinó si hubo diferencias estadísticas entre el peso inicial y final de los experimentos con prueba de t de Bonferroni (pruebas realizadas con Sigma Stat versión 1 y se consideraron diferencias significativas cuando $P < 0.005$). Se uso regresión lineal para examinar la relación entre el volumen de alimento consumido y el volumen excretado de orina. Para conocer la relación entre varias variables independientes y la variable independiente, se empleo una análisis de regresión múltiple, con correlaciones parciales (C.P.) para probar la relación entre las proporciones y concentraciones de cada compuesto nitrogenado excretado y el agua y el nitrógeno ingerido. Las pruebas estadísticas se efectuaron con el programa Statistica versión 6 y se consideraron diferencias significativas cuando $P < 0.05$.

1.4 Resultados

Los murciélagos de la dieta 10 (0.46 ± 0.76 g, media \pm DE) ganaron peso ($t = -12$, $p = 0.0012$) al final del experimento. En cambio, en las dietas restantes no hubo cambios significativos de peso durante el experimento (dieta 1 $t = 0.986$, $p = 0.3622$; dieta 2 $t = -0.7751$, $p = 0.4950$; dieta 3 $t = -0.264$, $p = 0.8088$, dieta 4 $t = -4.14$, $p = 0.0255$; dieta 5 $t = -0.330$, $p = 0.7629$, dieta 6 $t = -0.2892$, $p = 0.7913$; dieta 7 $t = 0.583$, $p = 0.6011$, dieta 8 $t = -4.05$, $p = 0.0270$; dieta 9 $t = -1.06$, $p = 0.4009$).

El volumen ingerido de alimento aumentó significativamente cuando disminuyó la concentración de sacarosa de la dieta ($r^2 = 0.871$, $F_{2,48} = 75.3$, $p < 0.0001$). El volumen ingerido fue de 3.4 ± 0.8 veces la masa corporal del murciélago en la dieta con menor concentración de sacarosa (dieta 8) y de 1.02 ± 0.07 veces la masa corporal con la dieta de alta concentración (dieta 4). El volumen producido de orina aumentó significativamente cuando los animales ingirieron un mayor volumen de agua (Figura 2; volumen excretado = $-6.75 + (0.771 * \text{volumen consumido})$; $r^2 = 0.916$, $F_{1,49} = 256.9$, $p < 0.0001$). El volumen de orina fue de 2.3 ± 0.25 veces la masa corporal en la dieta de menor concentración (dieta 8) y de 0.3 ± 0.04 veces la masa corporal en la dieta de mayor concentración (dieta 4).

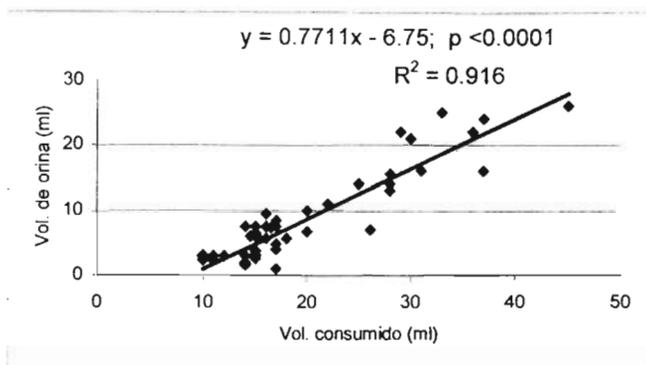


Figura 2. Relación entre el volumen de alimento consumido y la orina excretada de *G.*

soricina

El nitrógeno excretado en la orina se presentó principalmente en forma de urea con un porcentaje que va del 94% para la dieta 1 al 42% en la dieta 10 (Figura 3).

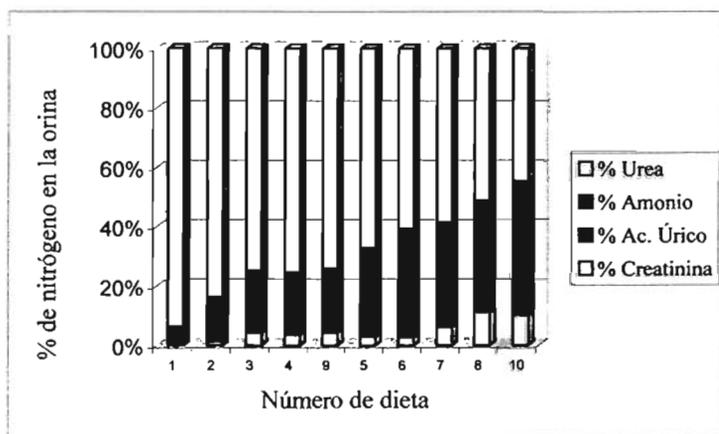


Figura 3. Proporciones de los compuestos nitrogenados en la orina de *G. soricina*, de cada una de las dietas experimentales (Tabla 1)

El consumo de nitrógeno afecto la forma de excreción del nitrógeno más frecuentemente que el consumo de agua. El porcentaje de urea no fue afectado por el consumo de agua (C.P. = -0.2306, $t = -1.82$, $p = 0.741$; Figura 4a) pero estuvo directamente relacionado con el consumo de nitrógeno (C.P. = 0.7878, $t = 6.23$, $p < 0.0001$; Figura 4b). El porcentaje de nitrógeno excretado en forma de amonio disminuyo significativamente cuando disminuyo el volumen de agua (C.P. = -0.4134, $t = -3.15$, $p = 0.0028$; Figura 5a), y aumento significativamente cuando aumento el consumo de nitrógeno (C.P. = 0.2838, $t = 2.05$, $p = 0.0457$; Figura 5b). El porcentaje de nitrógeno excretado como creatinina no fue afectado por el consumo de agua (C.P. = -0.0718, $t = -0.52$, $p = 0.6053$; Figura 6a); pero estuvo negativamente relacionado con el consumo de nitrógeno (C.P. = -0.4643, $t = -3.11$, $p = 0.0031$; Figura 6b). Por último el porcentaje de ácido úrico aumento significativamente cuando aumentó el volumen de agua ingerido (C.P. = 0.3597, $t = 2.67$, $p = 0.0102$; Figura 7a), y aumento significativamente cuando aumento el consumo de nitrógeno (C.P. = -0.7001 , $t = -6.79$, $p < 0.0001$; Figura 7b).

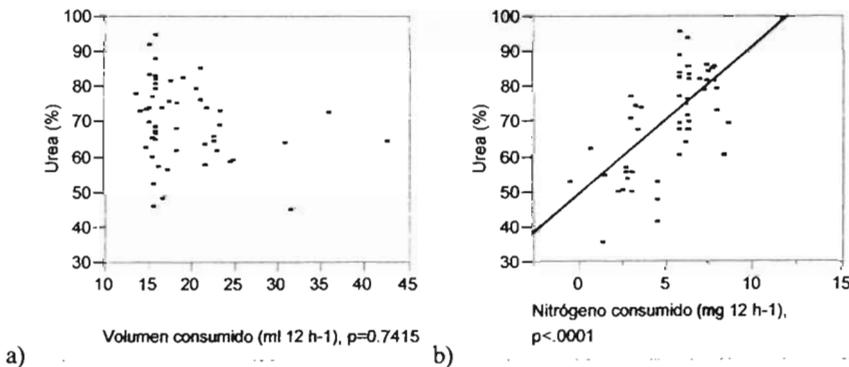


Figura 4. Efecto del consumo de agua (a) y consumo de nitrógeno (b), en la proporción de nitrógeno excretado como urea en la orina de *G. soricina*.

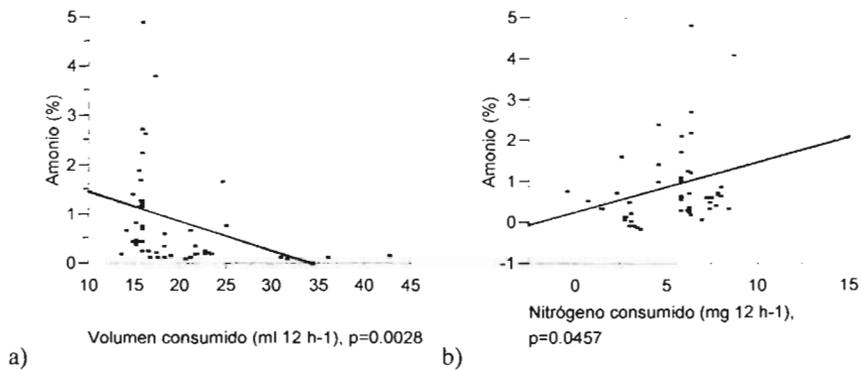


Figura 5. Efecto del consumo de agua (a) y consumo de nitrógeno (b), en la proporción de nitrógeno excretado como amonio en la orina de *G. soricina*.

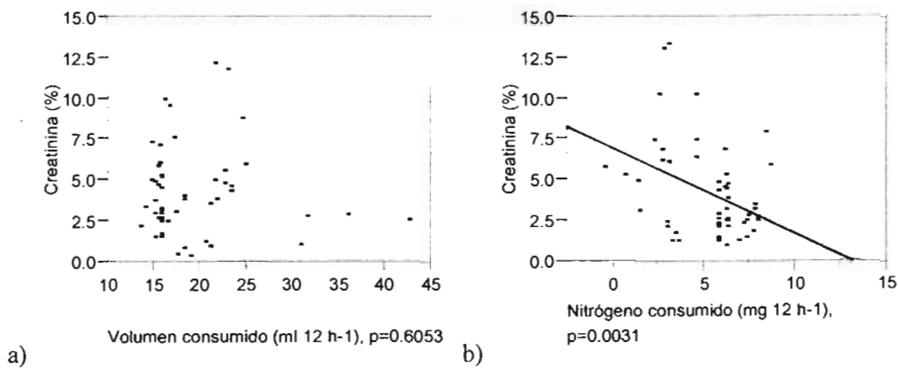


Figura 6. Efecto del consumo de agua (a) y consumo de nitrógeno (b), en la proporción de nitrógeno excretado como creatinina en la orina de *G. soricina*.

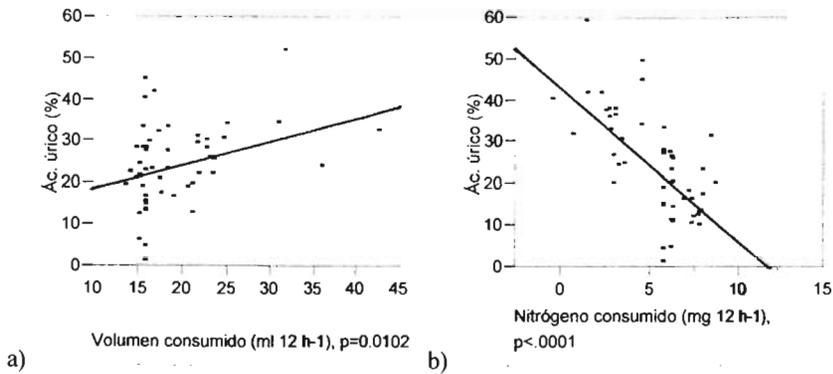


Figura 7. Efecto del consumo de agua (a) y consumo de nitrógeno (b), en la proporción de nitrógeno excretado como ácido úrico en la orina de *G. soricina*.

La producción de urea fue afectada directamente por el consumo de agua (C.P. = 0.3808, $t = 2.85$ $p = 0.0063$, Figura 8a) y de nitrógeno (C.P. = 0.3808, $t = 5.36$, $p = 0.0015$, Figura 8b). La producción de amonio aumentó significativamente cuando aumentó el volumen de agua ingerido (C.P. = 0.6515, $t = 5.95$ $p < 0.0001$; Figura 9a), y no tuvo cambios significativos con el consumo de nitrógeno (C.P. = -0.2441, $t = -1.71$ $p = 0.0874$; Figura 9b). Similar a la producción de amonio, la creatinina fue afectada directamente por el consumo de agua (C.P. = 0.40, $t = 3.03$ $p = 0.039$; Figura 10a), pero no cambió con el consumo de nitrógeno (C.P. = 0.1319, $t = 0.9223$ $p = 0.3609$; Figura 10b). En contraste, la producción de ácido úrico no cambió con el consumo de agua (C.P. = -0.0798, $t = -0.55$ $p = 0.5814$; Figura 11a), pero estuvo relacionada negativamente con el consumo de nitrógeno (C.P. = 0.6429, $t = 5.81$ $p < 0.0001$; Figura 11b).

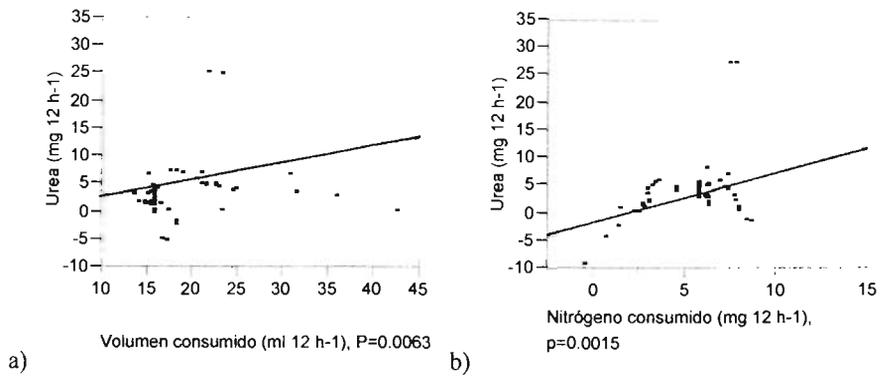


Figura 8. Efecto del consumo de agua (a) y consumo de nitrógeno (b), en la concentración de urea excretada en la orina de *G. soricina*.

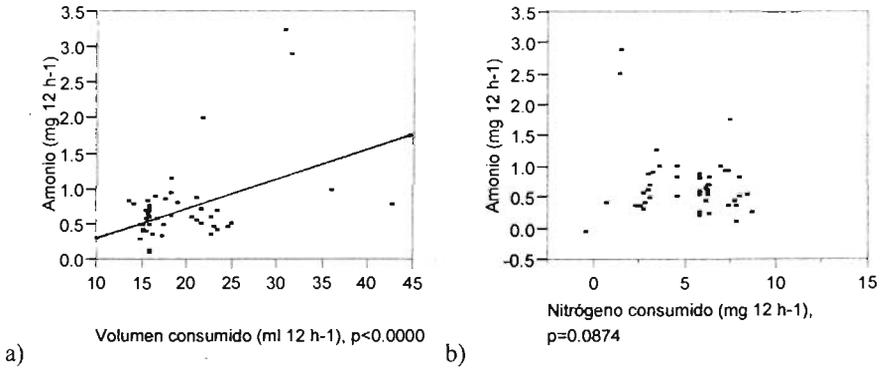


Figura 9. Efecto del consumo de agua (a) y consumo de nitrógeno (b), en la concentración de amonio excretado en la orina de *G. soricina*.

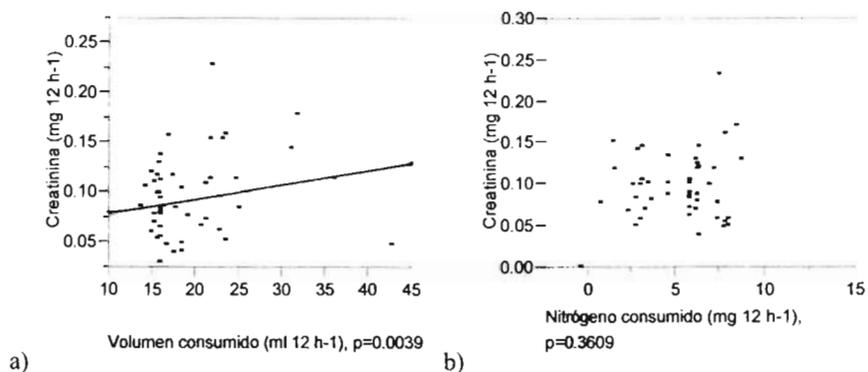


Figura 10. Efecto del consumo de agua (a) y consumo de nitrógeno (b), en la concentración de creatinina excretada en la orina de *G. soricina*.

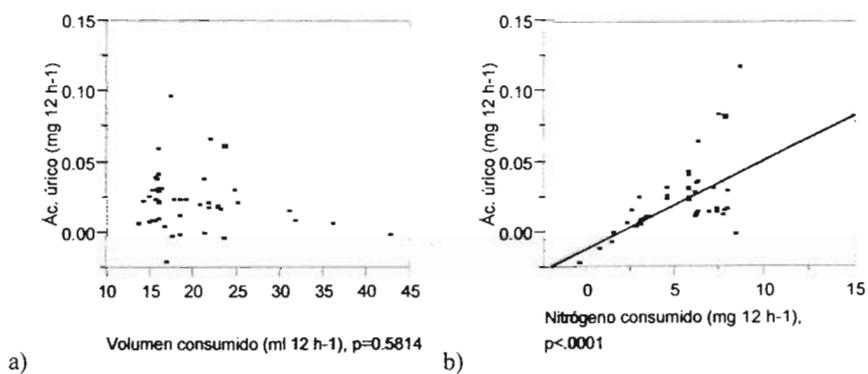


Figura 11. Efecto del consumo de agua (a) y consumo de nitrógeno (b), en la concentración de ácido úrico excretado en la orina de *G. soricina*.

1.5 Discusión

Prosser (1961) hace una recopilación del porcentaje de nitrógeno excretado desde protozoarios hasta mamíferos. en donde muestra que los murciélagos excretan en mayor porcentaje urea (87.1%), y amonio (6%) como segundo compuesto nitrogenado. Estos datos coinciden con el trabajo actual en donde *Glossophaga soricina* fue ureotélico, debido a que el producto de desecho que se presentó en mayor proporción fue la urea (96.7- 42%), y como segundo compuesto excretado por su porcentaje fue el amonio (40%-5.2%).

La producción de urea confirma que existe un ahorro en el volumen de agua requerido para excretar una carga de solutos cuando la urea es el principal compuesto en la orina, debido a que existe una acumulación pasiva de urea en el fluido intersticial medular. Tal economía es particularmente importante en los mamíferos donde la urea es el mayor producto de excreción en la orina (Levinsky. 1959).

Glossophaga soricina tuvo cambios en las proporciones de los compuestos nitrogenados relacionados con la dieta. La proporción de nitrógeno excretado en forma de urea, amonio y ácido úrico tuvo una relación directa con el consumo de nitrógeno. No sólo en este trabajo se ha encontrado que el aumento en el consumo de nitrógeno estuvo acompañado de un aumento en la producción de nitrógeno en forma de urea o ácido úrico, también ha sido encontrado previamente en aves (McNabb et al, 1972 Ward et al 1975a. b, Singer 2003). y mamíferos (Singer 2003; Studier y Wilson 1983).

Estos resultados son distintos a los encontrados por McNabb et al. (1972) los cuales sugirieron que los cambios en el contenido de proteína en la dieta de las palomas no alteran la proporción del nitrógeno total excretado que aparece como amonio. Sabat et al. (2004) encontraron también que el Gorrión de collar rojo (*Zonotrichia capensis*) fue

predominantemente uricotélico, y la proporción de nitrógeno excretado como ácido úrico, urea y amonio no cambiaron en función de la dieta.

McNabb y McNabb (1975) realizaron una revisión para distintas aves mostrando que las alteraciones en el consumo de proteína afectan el nitrógeno urinario incrementándose la proporción de nitrógeno total excretado y aumentando las fracciones de uratos y amonio en la orina. Sin embargo, ellos concluyen que su trabajo no apoya completamente la idea de que la excreción de ácido úrico y de urea son solamente un recurso para la eliminación económica de los desechos de nitrógeno por las aves.

Se ha sugerido que los cambios en las proporciones de los compuestos nitrogenados pueden ser explicados por la reducción en los costos metabólicos en la excreción de uno u otro compuesto. Preest y Beuchat (1997) mencionan que la composición de la orina está relacionada con las demandas energéticas de los colibríes. A bajas temperaturas ambientales, los costos metabólicos de termorregulación son altos por lo que los colibríes (*Calype anna*) requieren consumir altas cantidades de néctar. Bajo estas condiciones los colibríes pueden reducir los costos metabólicos de excreción de nitrógeno produciendo amonio o urea. A altas temperaturas, los costos metabólicos y de consumo de néctar son bajos, pero la pérdida por evaporación es alta, por lo que los colibríes excretan nitrógeno como ácido úrico, lo que reduce la pérdida de agua y el riesgo de una deshidratación.

En este estudio para *G. soricina* la disminución del porcentaje de nitrógeno excretado en forma de urea (94% al 42%) representó un ahorro energético de 0.77 – 9.6%. Resultados similares fueron obtenidos en el murciélago frugívoro egipcio, *Rossetus aegyptiacus* (Pteropodidae: C. Korine, com. pcr.) donde éste ahorra 1.5 – 4% de energía

diaria al disminuir la proporción de urea del 97% al 89% del nitrógeno total mediante un incremento en la excreción de amonio.

En el Bulbul amarillo-expresado (*Pycnonotus xanthopygos*) la proporción de amonio en la orina se incrementó en respuesta a los cambios en la temperatura ambiental (Van Tets et al. 2000; Korine, et al., 2000). Muchos nectarívoros y frugívoros tienen altos índices metabólicos y un alto recambio de agua. Cuando estos animales son expuestos a bajas temperaturas, la proporción de amonio en su orina se incrementa como resultado del aumento en su consumo de alimento y por consecuencia de la ingesta de agua (Roxburg y Pinshow, 2000). Este aumento en el volumen ingerido observado también en *G. soricina*, era lo esperado debido a la alta toxicidad del amonio, el cual requiere de grandes cantidades de agua para su eliminación (Prosser y Brown, 1961; Hill, 1980). Sin embargo, es probable que estos cambios se den también como una respuesta a la disminución de la ingesta de nitrógeno en la dieta (Roxburg y Pinshow, 2000).

Los animales nectarívoros tienen altos intercambios de agua (con una necesidad de conservar electrolitos), y bajos requerimientos de proteína (Roxburgh y Pinshow 2000). Esto puede favorecer la reducción de ácido úrico en la orina de las aves por la reducción de excreción o remoción en el intestino. La capacidad facultativa de excreción se debe a la combinación de las demandas de conservación de nitrógeno y energía reduciendo el grado de uricotelia en estas aves (Van Tets, et al 2000). Por ejemplo, el Bulbul Amarillo-Expresado (*Pycnonotus xanthopygos*) cambia de uricotélico a amoniotélico cuando ingieren grandes volúmenes de agua y una baja cantidad de nitrógeno (Tsahar et al. 2005; Martínez del Río, com. pers).

En conclusión, *G. soricina* no presentó una capacidad facultativa en su forma de excreción de productos nitrogenados y se mantuvo como ureotélico a pesar de los cambios en la dieta. Sin embargo, existió una disminución en la producción de urea cuando el consumo de nitrógeno disminuyó que podría estar relacionada con el reciclamiento de este compuesto en el intestino del animal como una manera de disminuir las pérdidas de nitrógeno. El reciclamiento de urea es un fenómeno que ocurre en mamíferos (Waterlow 1999, Singer 2002) y podría ser particularmente importante en especies que tienen dietas bajas en proteína, como los murciélagos nectarívoros.

Capítulo II

Respuesta de consumo

2.1 Introducción

El néctar es una solución de azúcar que contiene pequeñas cantidades de aminoácidos y electrolitos, la cual varía tanto en concentración como en composición (Nicolson y Fleming, 2003). Por ejemplo, existen néctares con concentraciones de azúcar que van de 5% a 29% (Helversen, 1993), compuestos por diferentes azúcares, tales como la fructosa, la glucosa y la sacarosa (Stiles y Freeman, 1993; Herrera, 1999).

La mayoría de los vertebrados obtienen agua tanto de su alimento como de la que beben directamente (MacDonal, et al., 1995). Los nectarívoros, sin embargo utilizan el néctar como el principal recurso tanto de agua como energía. Por lo tanto el consumo de agua por estos animales está influenciado por sus requerimientos de energía (Collins, 1981).

La composición del azúcar del néctar y su relación ecológica y evolutiva con los polinizadores han recibido una atención considerable en la literatura (Martínez del Río et al., 1992; Stiles y Freeman, 1993; Jackson et al., 1998; Baker, et al. 1998; Herrera, 1999). Recientemente, el estudio de la concentración de energía del néctar ha cobrado importancia en trabajos para algunos vertebrados nectarívoros, por su relación con el consumo de alimento (López-Calleja et al., 1997; Martínez del Río, et al. 2001; Lotz, et al., 2003; Nicolson y Fleming, 2003; Schondube y Martínez del Río, 2003). Esta relación es conocida como respuesta de consumo. La relación entre el volumen consumido de néctar y la concentración del mismo es descrita por la función $V=aC^{-b}$, en donde V es el volumen ingerido. C es la concentración del azúcar y a y b son constantes empíricas. Si el volumen

ingerido (I) disminuye en función de la concentración (C), y si la cantidad de azúcar (A) ingerida esta también en función de la concentración de azúcar entonces $A = aC^{-b}C' = aC'^{1-b}$. Cuando los animales exhiben valores de $b = 1$, muestran una perfecta compensación y consumo de azúcar que es independiente de la concentración, es decir, los animales aumentan su consumo de alimento conforme este se hace mas diluido manteniendo una ingesta constante de energía (Lotz, et al., 2003; Nicolson y Fleming, 2003).

En cambio, los animales con valores en el exponente < 1 muestran una relación positiva entre la cantidad de energía ingerida y la concentración del alimento (McWhorter y Martínez del Río, 1999, 2000; Martínez del Río, et al., 2001), por lo que se sugiere que el consumo de alimento esta limitado por la capacidad de procesar los nutrientes contenidos en el mismo (Levey y Martínez del Río, 1999). Es decir, que cuando la concentración del alimento es menor, los animales son incapaces de consumir la cantidad suficiente del mismo que les permita una ingesta de energía similar a la que obtienen cuando el alimento esta mas concentrado.

Al evaluar la capacidad facultativa de excreción de desechos nitrogenados de *G. soricina*, los individuos fueron sometidos a ingestiones de diferentes volúmenes de agua variando la concentración de azúcar del alimento, por lo que el segundo objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta de consumo de esta especie.

2.2 Objetivo

Determinar si *G. soricina* muestra una alimentación compensada o presenta limitaciones fisiológicas a través de un rango de dietas que influyen en su respuesta de consumo.

2.2 Hipótesis

Glossophaga. soricina presentará alimentación compensada.

2.3 Método

Procedimiento experimental.

Se usaron ocho murciélagos para cada dieta experimental asignados al azar sin reemplazo a cuatro dietas con diferentes concentraciones de sacarosa (peso/volumen): 5% (146 mM l⁻¹; N = 8), 10% (292 mM l⁻¹; N = 8), 20% (584 mM l⁻¹; N = 8) y 30% (877 mM l⁻¹; N = 8). El alimento se proporcionó durante 12 horas continuas durante dos noches. Se midió la cantidad de alimento consumido por murciélago y el volumen de orina producido en este período, y sólo se consideraron las mediciones correspondientes a la segunda noche.

Análisis Estadístico

Se determinó si la concentración del alimento afectó el volumen consumido con una sola prueba de regresión usando los datos transformados a una escala logarítmica. Las pruebas estadísticas se efectuaron con el programa Sigma Stat versión 1.

2.4 Resultados

El volumen de consumo disminuyó significativamente con el incremento de la densidad de azúcar (Fig. 12). Esta relación está descrita por la función $V = aC^{-b} = 549.54C^{-0.548}$ ($r^2 = 0.89$, $F_{1,49} = 207.9$, $P < 0.0001$). El exponente de la función fue significativamente menor a 1 (t de una sola muestra = 6.35, $P < 0.0005$). El consumo de azúcar (A) fue descrito como una función de poder de la concentración del alimento con una disminución significativa cuando el alimento fue más diluido (Fig. 13; $A = 5.45C^{0.452}$, $r^2 = 0.86$, $F_{1,49} = 141.7$, $P < 0.0001$). Asumiendo que la sacarosa contiene 17 kJ g^{-1} , la energía consumida por los murciélagos en las cuatro dietas (146, 292, 584 y 877 mM l^{-1}) fue de 29.5 ± 4.4 , 43.8 ± 4.8 , 58.5 ± 11.6 y $66.64 \pm 10.8 \text{ KJ g}^{-1}$, respectivamente. Con la dieta de concentración más baja, el consumo de energía fue de sólo el 44% de lo ingerido con la dieta de mayor concentración.

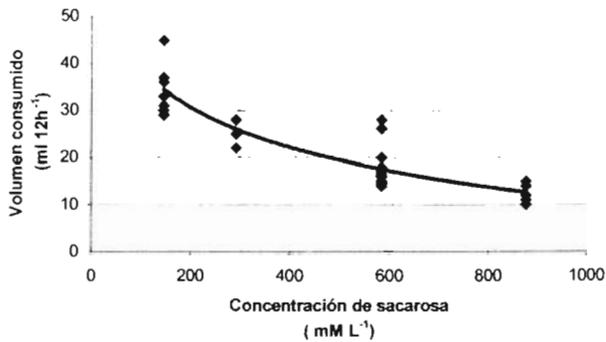


Figura 12. Respuesta de consumo de *G. soricina* dada por la función $V = aC^{-b} = 549.54C^{-0.548}$ la cual describe la relación entre el volumen consumido (V) y la concentración de sacarosa (C).

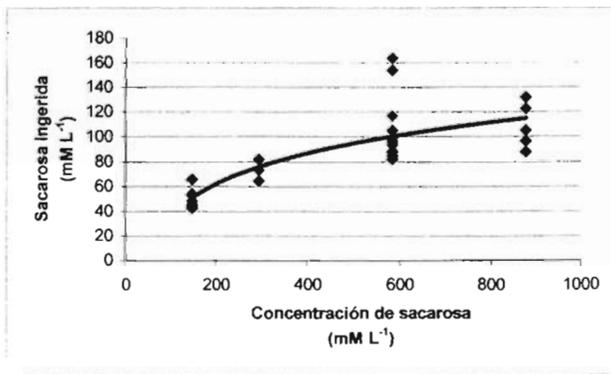


Figura 13. Relación entre la sacarosa ingerida y la concentración de la sacarosa en la dieta.

2.5 Discusión

Los riñones de los murciélagos nectarívoros están diseñados para procesar grandes volúmenes de agua pues poseen una medula renal que no está subdividida en zonas interna y externa y tienen una corteza delgada que permite producir grandes cantidades de orina diluida (Carpenter, 1969, Studier et al. 1983; Studier y Wilson 1983, Herrera et al. 2001; Schondube et al. 2001). El volumen de orina producido por *G. soricina* fue de 2.10 veces la masa corporal en la dieta de menor concentración y de 0.3 veces la masa corporal en la dieta de mayor concentración, reduciendo así la pérdida de agua en la orina. Estas variaciones en la capacidad de producción de orina, asociados con sus hábitos alimenticios naturales puede ser evaluada en los murciélagos nectarívoros por los mecanismos de osmorregulación (Calder III y Hiebert, 1983).

La relación entre el consumo de alimento y su concentración ha sido recientemente estudiado en varias especies de vertebrados nectarívoros. Se han encontrado básicamente dos tipos de respuestas que corresponden a la función $V=aC^{-b}$, en donde V es el volumen ingerido, C es la concentración del azúcar y a y b son constantes empíricas (Martínez del Río et al. 2001). Por ejemplo, en el ave Nectarina de vientre blanco (*Nectarinia talatala*) el volumen consumido es descrito por la función: $V=8.0052C^{-0.9768}$, donde el valor de b no es significativamente diferente de 1 (Nicolson y Fleming, 2003), al igual que en *la Nectarina palestina* y *N. osea* (a 15°C, $V=313.24C^{-1.11}$, a 30°C, $V=224.63C^{-0.93}$; McWhorter et al., 2004) indicando que estas especies de aves muestran una perfecta compensación en la ingestión de energía cuando la concentración del alimento varía. En contraste, el Colibrí de cola ancha *Selasphorus platycercus* y el Colibrí de corona roja *Sepehanoides sepehanoides*

(McWhorter y Martínez del Río 1999; McWhorter y López-Calleja 2000) y el Mielero de vientre canela *Diglossa baritula* (Martínez del Río, et al. 2001) no compensaron su consumo de energía y su ingesta disminuyó significativamente a concentraciones de alimento mas bajas. En este estudio, *G. soricina* no compensó su ingesta de energía y su respuesta de consumo fue descrita por la función $V = 549.54C^{-0.548}$, en la que el exponente fue significativamente menor a 1. La forma de la respuesta de esta especie sugiere que existen limitantes fisiológicas en su alimentación, ya sea en la digestión y absorción de los azúcares, o bien en el procesamiento de grandes volúmenes de agua con dietas muy diluidas.

Cuando los murciélagos se alimentaron de dietas diluidas (146 y 584 mM), algunos individuos perdieron peso mostrando una disminución significativa en la masa comparada con los murciélagos de la dieta mas concentrada (877 mM). Esta pérdida de peso pudo ser evitada si los murciélagos hubieran incrementado el volumen consumido y por lo tanto, su ingesta de energía. En experimentos anteriores realizados con *G. longirostris* se mostró que cuando es forzado a alimentarse de una solución mixta de azúcares (sacarosa/glucosa + fructuosa = 0.33) a una concentración de 17% w/w durante solamente 2 horas al día, puede alimentarse a una tasa máxima que les permite mantener su balance energético (Winter, 1999). Sin embargo, es probable que *G. soricina* no pueda sostener la máxima tasa de consumo por grandes periodos por la enorme ingesta de agua que esto implica. El volumen consumido observado en la dieta menos concentrada (146mM) fue de 34.5 ml, equivalente a 3.4 veces su masa corporal. La cantidad de agua que un murciélago puede procesar puede constituir una limitante en el volumen que puede consumir. Aunque los riñones de los animales nectarívoros están diseñados para manejar dietas diluidas, los riñones de los

murciélagos con una dieta de 146 mM probablemente están funcionando a la máxima capacidad permitida por su tasa de filtración glomerular. Por ejemplo, los colibríes absorben aproximadamente el 80% del agua ingerida independientemente de la concentración de la dieta, pero los Nectarinos de vientre blanco (*Nectarinia talatala*) disminuyen la absorción intestinal de agua cuando el alimento se hace más diluido, evitando el procesamiento de este exceso de líquido por vía de los riñones (Nicolson y Fleming, 2003). Esto sugiere que la carga del agua puede limitar el consumo de soluciones diluidas más en colibríes que en los nectarinos, lo que permite a estos últimos tener un consumo de agua de hasta 5.1 veces su masa corporal (Nicolson y Fleming 2003). Es necesario examinar si los murciélagos nectarívoros pueden modular la absorción de agua en el intestino en función de la dilución de su alimento como una estrategia para evitar el procesamiento renal de grandes volúmenes de agua. Esta estrategia podría contribuir también a disminuir los costos energéticos asociados con los procesos renales (Nicolson y Fleming, 2003).

Las estrategias digestivas de los animales son una consecuencia de la integración morfológica y de sus características fisiológicas que determinan la forma de los compuestos nutritivos que son utilizados como recursos de energía de los alimentos, y las proporciones en las cuales estos nutrientes o productos digestivos son asimilados dentro del cuerpo (Afik y Karasov, 1996). La digestión de los nutrientes puede envolver una competencia entre el tiempo de retención (cuánto tiempo los alimentos son retenidos dentro del intestino) y la absorción, factores que están directamente relacionados con la cantidad de alimento ingerido (Witmer y Vsan Soest, 1998). Cuando el alimento es muy diluido puede operar como una limitante digestiva por las bajas concentraciones de energía consumida; por

ejemplo, *Nectarinia talata* (Nectarina vientre blanco) no fue capaz de absorber suficiente azúcar de los contenidos tan diluidos dentro del intestino (Nicolson y Fleming, 2003). Por tanto, una segunda limitante fisiológica podría ser la absorción pasiva del azúcar a bajas concentraciones lumenales del sustrato, por lo que estos animales son incapaces de procesar alimento diluido en volúmenes suficientes para compensar los altos costos de forrajeo o de energía (Martínez del Río, et al. 2001).

En conclusión *Glossophaga soricina*, no mostró una alimentación compensada por lo que se sugiere que probablemente sea incapaz de procesar altas cantidades de agua cuando la dieta es muy diluida. Además, es probable que la presencia de limitaciones en la hidrólisis de sacarosa y la absorción de los monosacáridos (glucosa y fructosa) producto de esta hidrólisis se vea afectada cuando la concentración de azúcar en el intestino es muy baja. Es necesario desarrollar diseños experimentales que específicamente prueben estas dos posibilidades, así como evaluar la respuesta de consumo de dietas de monosacáridos.

Discusión General

En las regiones tropicales aproximadamente el 29 por ciento de las especies de murciélagos dependen parcial o totalmente de las plantas como fuentes de alimento (Fleming, 1988). Se estima que en los Neotrópicos aproximadamente 1000 especies de plantas son polinizadas únicamente por estos animales. En particular la subfamilia Glossophaginae contiene especies que son altamente especializadas en la explotación del néctar (Gardner, 1977).

El néctar es una solución rica en carbohidratos y baja en proteínas (Howell, 1974; Thomas, 1984; Baker et al., 1991) que tiene como azúcares más comunes la sacarosa, la fructosa y la glucosa (Baker, et al. 1998). La sacarosa es un disacárido compuesto por los monosacáridos fructosa y glucosa, aunque son diferentes químicamente, esos tres azúcares tienen aproximadamente el mismo contenido calórico por unidad de gramo (Martínez del Río, 1990). En este estudio, *G. soricina* no compensó su ingesta de energía ($V=549.54C^{0.548}$), lo que indica que su ingestión puede estar limitada cuando la dieta es muy diluida debido a su efecto en la actividad de la sacarasa o en el transporte de los monosacáridos resultantes (Karasov et al., 1986, Martínez del Río, et al. 2001). Por lo tanto, la concentración del azúcar en el néctar probablemente tiene un fuerte efecto en la conducta de forrajeo en los murciélagos, tales como el tiempo de forrajeo y la tasa de remoción del recurso (Baker, 1975; Baker, et al., 1998; Pret et al., 2001). Estas limitaciones, por tanto, pueden influir en el tipo de plantas seleccionada como alimento. La hidrólisis de sacarosa y el procesamiento de agua probablemente limita la cantidad de alimento que los murciélagos pueden consumir bajo condiciones naturales, por lo que se requiere de estudios adicionales para especificar el juego de estos dos factores antes de dar una conclusión.

Las altas cantidades de agua contenida en el néctar (Calder, 1981; Calder y Hiebert, 1983; Arita y Martínez del Río, 1990) no sólo influyen en la dilución del alimento que el animal puede procesar, sino que la variación en los volúmenes que el animal procese puede estar relacionado con cambios en los patrones de la excreción de desechos nitrogenados (Roxburgh y Pinshow 2000). Se ha mencionado que el nitrógeno es el nutriente más importante para el crecimiento y la reproducción en todos los organismos (Courts, 1998). El nivel de consumo de nitrógeno también puede influir en la forma de excreción de los animales (McNabb et al, 1972 Ward et al 1975a, b, Singer 2003; Studier y Wilson 1983). En este estudio el consumo de nitrógeno afectó la forma de excreción del nitrógeno más frecuentemente que el consumo de agua: los porcentajes de nitrógeno excretado como urea, amonio y ácido úrico estuvieron directamente relacionados con el consumo de nitrógeno. En particular, la disminución en la excreción de urea cuando las dietas tuvieron bajo contenido de nitrógeno podría ser una adaptación fisiológica que reduzca las pérdidas de nitrógeno mediante el reciclamiento de este producto nitrogenado. Un mecanismo similar ha sido propuesto para aves con dietas bajas en proteína a través del reciclamiento de ácido úrico (Tsahar et al. 2005), lo que le permitiría a los murciélagos nectarívoros sobrevivir con dietas bajas en proteína. Los resultados de este estudio pueden ser extrapolados a condiciones en las cuales los animales se enfrentan en campo, por lo que es importante conocer cómo los murciélagos nectarívoros resuelven el consumo de una dieta baja en proteína

Literatura citada

- Afik, D. y W. H. Karasov. 1996. The trade-offs between digestion rate and efficiency in warblers and their ecological implications. *Ecology*, 76: 2247-2257.
- Arita, T. H. y C. Martínez del Río. 1990. Interacciones Flor-Murciélago: un enfoque zoocentrico. Publicaciones Especiales del Instituto de Biología. UNAM. México pp 35.
- Ávila, F. R. 2000. Patrones de uso de cuevas en murciélagos del centro de México. Tesis de Licenciatura. UNAM. pp 121.
- Baber, M. L. y P. J. Walsh. 1993. Interactions of acid-base status and nitrogen excretion and metabolism in the ureogenic teleost *Opsanus beta*. *The Journal of Experimental Biology*, 185:87-105.
- Baker G. H. 1975. Sugar concentrations in nectars from hummingbird flowers. *Biotropica* 7(1): 37-41.
- Baker, J. C. 1998. Nutrition. En Gordon, J. C. *Animal Physiology: Principles and Adaptations*. Macmillan Publishing. USA . pp. 37-51.
- Baker, H. G., I. Baker y S. A. Hodges. 1998. Sugar composition on nectars and fruits consumed by birds and bats in the tropic an subtropics. *Biotropica* 30(4): 559-586.
- Blanco, A. 1989. *Química Biológica*. 4ªEd. Editorial El Ateneo. Argentina, p554.
- Brafield E. A. y M. J. Llewery. 1982. *Animal Energetics*. Ed. Blackie. U.S.A., pp 168.
- Burns, M. J. 1979. General Physiology. In *Biology of Bats of the New World*. Family Phyllostomatidae Part III. pp. 441.

- Busch, C. 1988. Consumption of blood, renal function and utilization of free water by the Vampire Bat, *Desmodus rotundus*. *Comparative Biochemistry of Physiology*, 90A (1): 141-146.
- Calder, W. A. 1981. Diuresis on the desert. Effects of fruit and nectar eating on the house finch and other species. *Condor* 83: 267-268.
- Calder, W. A. y S. A. Hiebert. 1983. Nectar feeding, diuresis and electrolyte replacement of hummingbirds. *Physiological Zoology* 56: 325-334.
- Carpenter, R. E. 1969. Structure and function of the kidney and the water balance of desert bats. *Physiological Zoology*, 42: 288-302.
- Collins, G. B. 1981. Nectar intake and water balance for two species of Australian honeyeater, *Lichmera indistincta* and *Acanthorhynchus superciliosus*. *Physiological Zoology*, 54(1): 1-13.
- Courts, E. S. 1998. Dietary strategies of Old World Fruit Bats (Megachiroptera, Pteropodidae): How do they obtain sufficient protein? . *Mammal Review*, 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.

- Fleming, H. T. 1988. The short-tailed fruit bat. A study in Plant-Animal interactions. Wildlife Behavior and Ecology Series, The University of Chicago Press, Printed in United States of America. p 17-22.
- Fleming, P. A. y S. W. Nicolson. 2003. Osmoregulation in an avian nectarivore, the whitebelly sunbird *Nectarinia talatala*: response to extremes of diet concentration. The Journal of Experimental Biology, 206: 1845-1854.
- 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.
- Guyton, A. C. 1994. Fisiología y Fisiopatología. Ed. Interamericana-McGraw Hill. México. p 722.
- Herrera, M. L. G. 1999. Preferences for different sugars in neotropical nectarivorous and frugivorous bats. Journal of Mammalogy, 80 (2): 683-688.
- Herrera, L. G., C. Martínez del río, E. Braun y K. Hobson. 2001. Renal structure in neotropical bats: using stable isotopes to explore relationships between diet and morphology. Isotopes Environment. Health Studies, 37: 1-11.
- Hill, W. R. 1980. Fisiología Animal Comparada. Ed. Reverte, S.A. España. pp. 313-385.
- Howell, D. J. 1974. Bats and Pollen: physiological aspects of the syndrome of chiropterphily. Comparative Biochemistry and Physiology, 48A: 236-276.
- INEGI www.inegi.gob.mx
- Jackson, S., S. W. Nicolson y C. N. Lotz. 1998. Sugar preferences and "side bias" in cape sugarbirds and lesser double-collared sunbirds. The Auk 115(1): 156-165.

- Karasov, W. H., D. Phan, J. M. Diamond y F. L. Carpenter. 1986. Food passage and intestinal nutrient absorption in hummingbirds. *Auk* 103: 453-464.
- Korine, C., I. G. van Tets, L. Roxburgh, y B. Pinshow. 2000. Can birds alter their nitrogen excretion in response to environmental change? Effect of temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 126: S57.
- Lehninger, L. A., D. L. Nelson, y H. M. Cox. 1993. *Principios de Bioquímica*. 2º Edición. Ediciones Omega, S. A. España. p. 1013.
- Levey, D. J. y C. Martínez del Río. 1999. Tests, rejection and reformulation of a guts as reactors, optimal digestion model in a frugivorous bird. *Physiological Zoology*. 72: 369-383.
- Loas, G. y E. Mercier-Guidez. 2002. Fatal self-induced water intoxication among schizophrenic inpatients. *Europ Psychiatry*, 17: 307-310.
- López-Calleja, M. V., F. Bozinovic y C. Martínez del Río. 1997. Effects of Sugar Concentration on Hummingbird Feeding and Energy Use. *Comparative Biochemistry and Physiology* 118A (4) : 1291-1299.
- Lotz, N. C., C. Martínez del Río y S. W. Nicolson. 2003. Hummingbirds pay a high cost for a warm drink. *Journal of Comparative and Physiology B*, 173: 455-462.
- Louw, N. G. 1993. *Physiological Animal Ecology*. Longman Scientific and Technical. Pp. 94-97.
- Martínez del Río, C. 1990. Sugar preferences in hummingbirds: the influence of subtle chemical differences on food choice. *Condor*, 92: 1022-1030.

- Martínez del Río, C., H. G. Baker y I. Baker. 1992. Ecological and evolutionary implications of digestive processes: bird preferences and the sugar constituents of floral néctar and fruti pulp. *Experientia* 48: 544-551.
- Martínez del Río, C., J. E. Schondube, T. J. McWhorter y L. G. Herrera. 2001. Intake Responses in Nectar Feeding Birds: Digestive and Metabolic Causes, Osmoregulatory Consequences, and Coevolutionary Effects. *American Zoologist*, 41: 902-915.
- Mathews, K. C. Y K. E. Van holde. 1999. Bioquímica. 2º Edición. McGraw-Hill Interamericana. España. pp. 1283.
- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalyh y C. A. Morgan. 1995. Nutrición Animal. Ed. Acribia, S.A. España. pp. 576.
- McFarland, N. W. y W. A. Wimsatt. 1969. Renal function and its relation to the Ecology of the vampire bat, *Desmodus rotundus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 28: 985-1006.
- McNabb, F. M. A., R. A. .McNabb y J. M. Ward Jr.1972. The effects of dietary protein content on water requirements and ammonia excretion in pigeons, *Columba livia*. *Comparative Biochemistry and Physiology. A* 43, 181-185.
- McNabb, A. R. and F. M. McNabb. 1975. Urate excretion by the avian kidney. *Comparative Biochemistry and Physiology. A* 51, 253-258.
- McWhorter, T. J. y C. Martínez del Río. 1999. Food ingestion and water turnover in hummingbirds: how much dietary water is absorbed?. *The Journal of Experimental Biology*, 202: 2851-2858.

- McWhorter, T. J., y C. Martínez del Río. 2000. Does gut function limit hummingbird food intake? *Physiological and Biochemical Zoology* 73:313-324.
- McWhorter, T. J. y V. López Calleja. 2000. The integration of diets, physiology, and ecology of nectar-feeding birds. *Revista Chilena de Historia Natural*, 73 (3): 451-460.
- McWhorter, T. J., C. Martínez del Río, y B. Pinshow 2003. Modulation of ingested water absorption by Palestine sunbirds: evidence for adaptive regulation. *J Experimental Biology* 206:659-666.
- McWhorter, T. J., C. Martínez del Río, B. Pinshow, y L. Roxburgh. 2004. Renal Function in Palestine sunbirds: elimination of excess water does not constrain energy intake. *The Journal of Experimental Biology*, 207: 3391-3398.
- Morris, G. J. 1991. Nutrition. En Prosser C. L. (Ed) *Environmental and Metabolic Animal Physiology. Comparative Animal Physiology*. 4° Ed. Willey Liss. USA. pp. 231-276.
- Nicolson, W. S. y P. A. Fleming. 2003. Energy balance in the Whitebellied Sunbird *Nectarinia talatala*: constraints on compensatory feeding, and consumption of supplementary water. *Functional Ecology*, 17: 3-9.
- Preest, M. R. y C. A. Beuchat, 1997. Ammonia excretion by hummingbirds. *Nature* Vol. 386, pp. 561-562.
- Perret, M., A. Chautems, R. Spichiger, M. Peixoto y V. Savolainen. 2001. Nectar sugar composition in relation to pollination syndromes in *Sinningieae* (Gesneriaceae). *Annals of Botany*, 87: 267-273.
- Prosser L. C. y F. A. Brown Jr. 1961. *Comparative Animal Physiology*. W. B. Saunders Company England, pp 668.

- Randall, D. W., K. F. Burggren y R. Fernald. 1998. *Animal Physiology. Mechanisms and Adaptations*. W. H. Freeman and Company. New York. UAS. p. 728.
- Roxburgh, L. y B. Pinshow. 2000. The influence of protein, water and salt on nitrogen excretion in orange-tufted sunbirds: Are they facultatively ammonotelic?. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 126: S83.
- Rzedowski. 1978. *Vegetación de México*. Ed. Limusa, México, pp189-203.
- Sabat, P., E. Sepúlveda-Kattan y K. Maldonado. 2004. Physiological and biochemical responses to dietary protein in the omnivore passerine *Zonotrichia capensis* (Emberizidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 137: 391-396.
- Schmidt-Nielsen, K. 1990. *Fisiología Animal. Adaptación y Medio Ambiente*. Ed. Omega, S. A. España. pp. 335-347.
- Schondube, E. J., L. G. Herrera-M. y C. Martínez del Río. 2001. Diet and evolution of digestion and renal function in phyllostomid bats. *Zoology*, 104: 59-73.
- Segatore, L. 1975. *Diccionario Médico*. Ed. Teide. España. pp. 1281.
- Singer, M. A. 2002. Vampire bat, shrew, and bear: comparative physiology and chronic renal failure. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 282:R1583-R1592.
- Singer, M. A. 2003. Do mammals, birds, reptiles and fish have similar nitrogen conserving systems? *Comparative Biochemistry and Physiology, B* 134: 543-558.
- Solomon, P. E., L. R. Berg. D. W. Martin. 2001, *Biología*. McGraw-Hill Interamericana. México. p.1237.
- Stiles, G. F. y C. E. Freeman. 1993. Patterns in floral nectar characteristics of some bird-visited plant species from Costa Rica. *Biotropica*, 25(2): 191-205.

- Studier, H. E.; S. J. Wisniewski, A. T. Feldman, R. W. Dapson, B. C. Boyd and D. E. Wilson. 1983. Kidney structure in neotropical bats. *Journal of Mammalogy*, 64(3): 445-452.
- Studier, H. E. y D. E. Wilson. 1983. Natural urine concentration and composition in neotropical bats. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 75A(4): 509-515.
- Thomas, D. W. 1984. Fruit intake and energy budgets of fruit bats. *Physiological Zoology*, 57: 457-467.
- Tsahar, E., C. Martínez del Río, I. Izhaki and Z. Arad. 2005. Can birds be ammonotelic? Nitrogen balance and excretion on two frugivores. *Journal of Experimental Biology* 208:1025-1034.
- Tschapka, M. y O. Von Helverson. 1999. Pollinators of syntropic *Marcgravia* Species in Costa Rican Low land Rain Forest: Bats and Opossums. *Plant Biology* 1: 382-388.
- Tschapka, M., O. Von Helverson y W. Barthlott. 1999. Bat plination of *Weberocereus tunilla*, and epiphytic Rain Forest Cactus with fuctional flagelliflory. *Plant Biology*, 1: 554-559.
- Van Tets, I. G., C. Korine, L. Roxburgh, y B. Pinshow. 2000. Can birds alter their nitrogen excretion in response to environmental change? Effect of nitrogen intake. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 126: S97.
- Ward Jr, J. M., R. A. McNabb, F. M. A. McNabb, 1975a. The effects of changes in dietary protein and water availability on urinary nitrogen compounds in the rooster, *Gallus domesticus*-I. Urine flow and the excretion of uric acid and ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology, A* 51: 165-169.

- Ward Jr, J. M., R. A. McNabb, F. M. A. McNabb, 1975b. The effects of changes in dietary protein and water availability on urinary nitrogen compounds in the rooster, *Gallus domesticus*-II. Diurnal patterns in urine flow rates, and urinary of uric acid and ammonia concentrations. *Comparative Biochemistry and Physiology*, A 51: 171-174.
- Waterlow, J. C. 1999. The mysteries of nitrogen balance. *Nutritional Research Reviews* 12:25-54.
- Winter, Y. 1998. *In Vivo* measurement of near maximal rates of nutrient absorption in a mammal. *Comparative Biochemical Physiology* 119A:853-859.
- Winter, M. C. y P. J. Van Soest. 1998. Contrasting digestive strategies of fruti-eating birds. *Functional Ecology*, 12: 728-741.
- Wright, P. A. 1995. Nitrogen excretion: three end products, many physiological roles. *Journal of Experimental Biology*. 198, 273-281.
- Wright, A. P. y M. D. Land. 1998. Urea production and transport in teolost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 119A (1):47-54.

Anexo 1

AMONIO-AMONIACO (Diagnostic Chemicals Limited, método enzimático)

Procedimiento

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

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

Blanco: : colocar 100 μL 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 10 μL 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 $\mu\text{g/dL}$, para valores superiores diluir 1:2 con agua des-ionizada y multiplicar el resultado por 2.

Valores Normales

Orina: 0.20-.80 $\mu\text{g /kg/24h}$

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

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

$\Delta A/\text{min.}$ = 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 (84mg/dL).

Valores Normales

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

CREATININA (Diagnostic Chemicals Limited, método enzimático)

Procedimiento

Prepare el volumen requerido de reactivo de creatinina. En tubos de ensayo separados pipetee 100 µL de agua desionizada, del estándar de creatinina, o de la muestra. Agregue 2.0ml del reactivo activo de creatinina en 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 $\mu\text{mol/dL}$ (22 mg/dL) usando un factor de dilución de 1/20.

Valores Normales

44-106 $\mu\text{mol/dL}$ (0.5-1.2mg/dL).

ACIDO URICO (Diagnostic Chemicals Limited, método enzimático de punto final)

Procedimiento

Pipetée 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

$\mu\text{mol/L(mg/dL) ácido úrico} = (\text{Absorbancia de la muestra desconocida} / \text{Absorbancia del estándar}) * \text{concentración del estándar}$

Linealidad

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

Valores Normales

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