

1987

REG. No. 080404557

*Universidad de Guadalajara*

FACULTAD DE CIENCIAS



**DISACARIDASAS INTESTINALES EN MURCIELAGOS  
FILOSTOMOIDEOS ( CHIROPTERA : MAMMALIA ).**

---

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

**AGUSTIN HERNANDEZ HERRERA**

GUADALAJARA, JAL., MAYO 1989

---

Disacaridasas intestinales en murciélagos  
filostomoideos  
(Chiroptera: Mammalia)

Alumno: AGUSTIN HERNANDEZ HERRERA

Asesor de Tesis: M. en C. CARLOS MARTINEZ DEL RIO

Director de Tesis: BIOL. BENITO ARBAYO ANGULO

FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

## I N D I C E

1.	INTRODUCCION	
	a) Antecedentes	1
	b) Justificación	5
	c) Zona de estudio	6
2.	OBJETIVOS	7
3.	MATERIAL Y METODOS	
	a) Colecta de material biológico	9
	b) Disección de los organismos	9
	c) Medición de disacaridasas	10
	d) Ensayos	12
	e) Análisis estadístico	15
4.	RESULTADOS	17
5.	DISCUSION	28
6.	CONCLUSIONES	42
7.	AGRADECIMIENTOS	
8.	LITERATURA CONSULTADA	45
9.	APENDICES	
	a) 1	51
	b) 2	52
	c) 3	53

## INTRODUCCION.

Antecedentes.- Uno de los grupos más importantes y variados de vertebrados de los cuales no se ha hecho un estudio detallado en cuanto a las correlaciones fisiológicas y los hábitos alimenticios, es el de los murciélagos (clase -- Chiroptera; McNab, 1982). En este trabajo se analizó cuál es la variación funcional de las disacaridasas (enzimas intestinales responsables de la hidrólisis de disacáridos) entre algunas especies de murciélagos, pertenecientes a la superfamilia Phyllostomoidea, con diferentes hábitos alimenticios: -- nectarívoros Glossophaga soricina handleyi Webster y Jones -- Leptonycteris sanborni Hoffmeister, un insectívoro Pteronotus personatus psilotis Dobson y los frugívoros Sturnira Lilium parvidens Goldman y Artibeus jamaicensis triomylus -- Handley.

Las disacaridasas son las enzimas intestinales encargadas de hidrolizar los disacáridos en azúcares simples (monosacáridos) para su posterior transporte (Alpers, 1987). Se encuentran localizadas en la mucosa intestinal, en la membrana de los enterocitos (Gray, 1975; Crane, 1975). Weidenhogen (en Vonk y Western, 1984), reconoce 5 grupos principales: alfa y beta- glucosidasas, alfa y beta-galactosidasas y beta-fructosidasas; es común que los animales presenten más de un grupo de enzimas y éstas a su vez hidrolizan más de un sus--

trato. A nivel funcional, las disacaridasas se agrupan de -- acuerdo al sustrato que hidrolizan en: Maltasa, Sacarasa, -- Lactasa, Trehalasa e Isomaltasa (alfa-dextrinasa) (Stryer, - 1981; Castro, 1985; Gray, 1975; Vonk y Western, 1984).

Los disacáridos son una fuente común e importante de - energía para los vertebrados (Stryer, 1981). Se pueden ingerir directamente en la dieta (sacarosa, lactosa, trehalosa)- o pueden ser producto de la hidrólisis de polisacáridos como el almidón y el glicógeno (maltosa e isomaltosa; Alpers, - - 1987). Su distribución comprende tanto plantas como animales (Vonk y Western, 1984). Los polisacáridos, almidón y glicógeno, son material importante de reserva en plantas y animales, la trehalosa aparece en algas y es una reserva energética en levaduras y hongos, aunque sólo se conoce en Selaginella sp., entre las plantas vasculares (Hawker, 1985); su principal -- fuente dentro de los animales son los insectos, constituyendo un azúcar importante de la hemolinfa (Wyatt, 1967). La sa carosa desarrolla un papel importante como carbohidrato de - transporte en el floema de las plantas y está presente en -- frutos, néctar y algunas raíces (Lee, y Col., 1970). Un disá cárido poco común es la lactosa. Su única fuente natural es la leche de algunos mamíferos (Räihä, 1981).

La gran variedad de hábitos alimenticios es probable-- mente la causa de que entre los vertebrados la actividad de-

las disacaridasas sea muy heterogénea. Es posible argumentar que existe una correlación entre la actividad de cierta enzima y los hábitos alimenticios de una especie (Kretchmer, - - 1981; Martínez del Río y Stevens, 1988). Así, la trehalasa - se encuentra distribuida entre la mayoría de los mamíferos, - aunque su actividad varía con la dieta. Entre los marsupia-- les todos la presentan a excepción del koala (Phascolarctos-- cinereus; Kerry, 1969) que es fundamentalmente herbívoro; -- dentro de los Euterios esta enzima tiene actividad en: prima-- tes, roedores, lagomorfos, carnívoros, perisodáctilos, artio-- dáctilos y proboscídeos. Dos especies de felidos (Felis ca-- tus, Pantera leo), carecen de trehalasa (Hore y Messer, 1968). En el orden Pinnipedia, que son principalmente carnívoros es-- ta enzima carece de actividad en las especies examinadas has-- ta ahora (Vonk y Western, 1984; Kerry y Messer, 1968). La -- trehalasa está presente en la tortuga (Testudo hermannii) y - en el largarto (Alligator mississippiensis; Zoppi y Shmerling 1969; Martínez del Río y Stevens, 1988). Todas las aves exa-- minadas hasta la fecha carecen de trehalasa o muestran acti-- vidad trasa, probablemente sin importancia funcional (Zoppi-- y Shmerling, 1969; Martínez del Río y Stevens, 1989; Martí-- nez del Río y Hernández, datos no publicados).

Entre los primates estudiados la actividad de sacarasa fue mayor que para cualquier otra enzima a excepción de la - maltasa (Welsh y Walker, 1972, 1973). Las aves también pre--

sentan un patrón muy parecido a los mamíferos frugívoros donde la actividad de sacarasa es más reducida que la actividad de maltasa (Martínez del Río y Hernández, datos no publicados). En el lagarto se encontraron solamente trasas de sacarasa atribuibles tal vez a la fermentación intraluminal por bacterias intestinales. Vesículas de membranas del enterocito no presentan actividad (Martínez del Río y Stevens, 1988).

En vista de que la lactosa es un azúcar que se produce en la leche de los mamíferos, es muy raro encontrar actividad de lactasa en cualquier otro grupo de vertebrados - - (Räihä, 1981). Dentro de los mamíferos, es muy común encontrar que la actividad de lactasa varía de acuerdo al desarrollo del individuo; siendo mayor en el período de amamantamiento y decreciendo después del destete (Rubino, et al., - - 1964). Existen otros mamíferos que carecen de actividad de la enzima quizá por carecer del azúcar dentro de su leche, - entre ellos se cuenta el orden de los Pinnípedos: focas - - (Arctocephalus tasmanicus, A. forsteri y Mirounga leonina) y leones marinos (Zalopus californianus) (Zoppi y Shmerling, - 1969; Vonk y Western, 1984).

Generalmente, una elevada actividad de las disacaridasas puede sugerir una especialización en los hábitos alimenticios de algunos vertebrados (Karasov, y col., 1985). Sin embargo, la ausencia de cualquiera de las disacaridasas en -

el tracto digestivo impone una restricción a la dieta de los animales (M. del Río y Stevens, 1989). El consumo de disacáridos produce severa diarrea osmótica si el individuo carece de las enzimas necesarias para hidrolizarlos (Gray, 1981). - Esto es debido a que los oligosacáridos sin hidrolizar ejercen una fuerte presión osmótica en el lumen intestinal, ---- atraen agua y pasan a la región distal del intestino donde - son metabolizados por bacterias en fragmentos de 2 ó 3 carbones. Estos fragmentos no se digieren en esa parte del intestino e incrementan la pérdida osmótica de agua. Otros factores como el bajo pH dentro del lumen intestinal ocasionado - por las bacterias y la distensión de las paredes intestina-- les contribuyen a la diarrea y como consecuencia a la mal ab sorción de otros nutrientes (Gray, 1975).

Justificación.- Como se mencionó anteriormente, poco o nada es lo que se sabe acerca de la actividad de disacaridasas en Quirópteros. Es de esperarse que tenga una gran variabilidad, debido a la diversidad de los hábitos alimenticios de estos organismos. Existen murciélagos insectívoros, frugívoros, nectarívoros, ictiófagos, carnívoros (que se alimen-- tan de pequeños vertebrados) y hematófagos (McNab, 1980). Es ta gran diversidad de hábitos alimenticios puede encontrarse en grupos taxonómicamente cercanos (e.g. entre géneros de la Superfamilia Phyllostomoidea), lo que facilita la compara--- ción (Hill y Smith, 1984; Honeycutt y Sarich, 1987). Este --



trabajo pretende ser una aproximación preliminar a la fisiología digestiva de los murciélagos.

Zona de Estudio.- El trabajo fue realizado en las cercanías de la Estación de Biología Chamela. En esta región la superfamilia de los Phyllostomoideos está bien representada, comprendiendo 3 familias, 14 géneros y 20 especies, algunas de las cuales juegan un papel importante como polinizadoras de plantas, dispersoras de semillas o reguladoras de poblaciones de diferentes insectos (Hill y Smith, 1984; Ceballos y Miranda, 1986). La zona de estudio, comprendida dentro y en las cercanías de la Estación de Biología Chamela, está localizada aproximadamente en los 19°30' N y los 105°03' W, a menos de 2 kilómetros de la costa del Pacífico dentro del municipio de La Huerta, Jalisco, México. La altura promedio es de 150 m.s.n.m. y la temperatura promedio anual es de 24.9°C con máximas promedios que van de los 29.1-32.0°C y mínimas promedio que van de los 14.8-22.9°C (Bullock, 1986).

**OBJETIVOS:****Objetivo General.-**

Comparar la actividad de disacaridasas intestinales - en cinco especies de murciélagos con hábitos alimenticios -- contrastantes y con afinidades filogenéticas estrechas (Su perfamilia Phyllostomoidea; Chiroptera).

**Objetivos Particulares:**

- 1.1 Calcular y comparar el pH óptimo de actividad para Sacarasa, Maltasa y Trehalasa entre los diferentes organismos.
- 1.2 Comparar el cociente de actividad Maltasa/Sacarasa total entre especies y hábitos alimenticios.
- 1.3 Determinar la actividad de Maltasa, Sacarasa y Trehalasa a lo largo del intestino.
- 1.4 Calcular el  $Q_{10}$ , factor de incremento de una función biológica al incrementarse la temperatura  $10^{\circ}\text{C}$ , para cada especie.
- 1.5 Calcular los parámetros cinéticos para la Sacarasa en cada especie:  $V_{\text{max}}$ , máxima velocidad de hidrólisis -- cuando el sustrato es saturante y  $k_m$ , constante de Michaelis-Menten, recíprocamente relacionada con la afinidad de la enzima por el sustrato.

- 1.6 Hacer una comparación general de actividad de disacari  
dasas entre los Quirópteros y otros vertebrados.

## MATERIAL Y METODOS

Material Biológico: La colecta de los murciélagos se hizo con redes japonesas de neblina de 2 por 6 m (luz de la malla 36 mm). Glossophaga soricina handleyi Webster y Jones (n=4) se colectó entre las 1700 y 1800 hrs. en una alcantarilla situada a los 600 mts. del camino de ingreso a la Estación de Biología, localizado en el Km. 57 de la Carretera Barra de Navidad-Puerto Vallarta; Pteronotus personatus psilotis Dobson (n=4), se colectó entre las 1800 y las 2100 hrs. en el arroyo Chamela aproximadamente a 200 mts. al oeste de la carretera antes mencionada; las tres especies restantes se colectaron en un platanar propiedad del Ing. Carlos Olivo situado a 3 km. al este del km. 62 de la Carretera Barra de Navidad-Puerto Vallarta. Para Leptonycteris sanborni Hoffmeister (n=3) se abrieron las redes entre las 1800 y las 2100 hrs. mientras que para coleccionar Sturnira lilium parvidens Goldman (n=4) y Artibeus jamaicensis triomylus Handley (n=2) se abrieron entre las 2200 y las 0200 hrs.

Disecciones.- Una vez colectados los organismos se procedió a llevarlos al Laboratorio, donde se sacrificaron por compresión torácica, diseccionándose inmediatamente después el intestino desde el píloro hasta la proximidad con el ano y manteniéndose el intestino todo el tiempo en solución salina (0.9% NaCl) fría. Una vez disectado el intestino se procedió a medirlo y a dividirlo en tres regiones que llama-

mos Proximal (P), Medial (Me) y Distal (D), de tamaño aproximadamente igual, las cuales se abrieron a lo largo para poder calcular el área nominal, finalmente cada una de ellas se pesó y se almacenó en Nitrógeno líquido hasta su posterior análisis. Todo esto se realizó evitando transcurrir más de una hora después de haber sacrificado al animal, para evitar perder actividad enzimática por desnaturalización (ver tabla 1 para características generales de cada especie).

#### Medición de disacaridasas

La medición de disacaridasas se hizo utilizando una modificación de los métodos de Dahlqvist (1984) y Trinder (1969). Una descripción detallada de la metodología puede encontrarse en Martínez del Rfo y Col., (1988). A continuación se presenta una versión resumida.

Sustratos.- Los distintos disacáridos (grado de reactivo) se disolvieron en sol. amortiguadora 0.1 M. Malato/NaOH, pH6. La concentración de disacáridos utilizada fue 0.056 M, excepto para el cálculo de los parámetros cinéticos de la sacarasa para los cuales se usaron concentraciones variables (rango = 5-200 mM).

Tabla 1.- Características generales.

Espece	N	masa corporal (gr ± DE)	largo intestino (cm ± DE)	área intestino (cm <sup>2</sup> ± DE)	masa intestino (mg ± DE)
<u>Pteronotus personatus</u>	4	6.9 ± 0.7	10.2 ± 0.8	4.9 ± 1.1	257.1 ± 29.5
<u>Artibeus jamaicensis</u>	2	36.1 ± 0.6	51.2 ± 2.5	34.4 ± 4.9	1407.5 ± 0.9
<u>Sturnira lilium</u>	4	17.2 ± 1.1	27.7 ± 1.3	18.9 ± 1.5	742.4 ± 44.7
<u>Glossophaga soricina</u>	4	9.6 ± 0.6	15.5 ± 2.4	6.9 ± 1.5	228.0 ± 54.8
<u>Leptonycteris senborni</u>	3	21.6 ± 0.4	25.4 ± 2.1	13.9 ± 1.7	500.3 ± 64.7

Reactivo para detener/revelar.- Se disuelve un frasco de "Trinder-500" (reactivo para determinar glucosa cuantitativamente, Sigma Chemical St. Louis Mo.) en 250 ml. sol. --- amortiguadora 0.5 M de Fosfatos (pH 7) y 250 ml de 1 M Tris/HCl, pH7.

### Ensayos:

El tejido se descongeló y se homogeneizó (Homogeneizador: Ultra Turrax, Mod. SDT 1810, 20000 1/min, Janke and Kunkel Co.) en solución salina 0.9% (3ml para P. personatus y G. soricina, 5 ml. para L. Sanborni y S. lilium y 8 ml. para A. jamaicensis). El homogeneizado se diluyó en agua destilada a concentraciones que permitieran una lectura adecuada y se mantuvo en hielo mientras se realizaron los ensayos. La actividad se midió usando un método colorimétrico (Dahlqvist, -- 1984; Trinder, 1969; Martínez del Río y Stevens, 1988). El ensayo se inició añadiendo 100  $\mu$ l de tejido homogeneizado -- más 100  $\mu$ l de sustrato, el cual finalmente quedó a una concentración de 0.028 M en sol. amortiguadora 0.05 M de Malato/-NaOH. Esto se incubó por 10 min. a 37°C, después de ese tiempo se añadieron 3 ml. de solución para detener y revelar la reacción, 18 minutos después se procedió a hacer la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 505 nm. (Spectrophotometer, mod 390, Sequoia Turner). Esta lectura de absorbancia se utilizó para calcular los  $\mu$ moles de activi

dad/min, los cuales se estandarizaron a  $\mu\text{moles}/[\text{min}\cdot\text{cm}^2 \text{ \u00e1rea nominal}]$  o a  $\mu\text{moles}/[\text{min}\cdot\text{mg}]$  (Karasov y Diamond 1988; ver -- ap\u00e9ndice 1 para estandarizaci\u00f3n).

Actividad total.- Con los tejidos homogeizados se prepar\u00f3 en un tubo de ensaye  $P+Me+D=T(\text{Total})$ . Este se utiliz\u00f3 - con los diferentes sustratos (Maltosa, Sacarosa, Isomaltosa, Trehalosa y Lactosa) preparados a concentraci\u00f3n de 0.056 M en soluci\u00f3n amortiguadora 0.1 M Malato/NaOH pH 6.0.

pH \u00f3ptimo.- Este se midi\u00f3 en T para sustratos 0.056 M de Maltosa, Sacarosa y Trehalosa disueltos en soluci\u00f3n amortiguadora 0.1 M Malato/NaOH a pH con rango de 5-7.5 con intervalos de 0.5.

Zonaci\u00f3n.- Se tom\u00f3 homogeneizado de P,Me,D por separado y se hizo el ensayo de cada regi\u00f3n con sustrato (Maltosa, Sacarosa, Trehalosa y Lactosa) a 0.056 M en soluci\u00f3n amortiguadora 0.1 M Malato/NaOH a el pH \u00f3ptimo determinado para cada especie.

Cin\u00e9tica.- Se utiliz\u00f3 T en Sacarosa con diferentes concentraciones (rango de 5-200 mM) en soluci\u00f3n amortiguadora - 0.1 M Malato/NaOH a el pH \u00f3ptimo de cada especie. Para obtener los par\u00e1metros cin\u00e9ticos los datos se ajustaron a ecuaciones de Michaelis-Menten.



$$V = (V_{\max} S) / (K_m + S);$$

en donde  $V$  es la velocidad de reacción,  $S$  la concentración de sustrato,  $V_{\max}$  la velocidad máxima de reacción cuando la concentración de sustrato es saturante y  $k_m$  es la constante de Michaelis relacionada de un modo recíproco con la afinidad de la enzima por el sustrato (Segel, 1976).

$Q_{10}$ .- El  $Q_{10}$  de una función biológica es el factor por el que se incrementa esta función al incrementarse la temperatura en  $10^\circ\text{C}$  (Hill, 1976). Esta variable se determinó para la sacarasa en cada una de las especies usando homogenizado  $T$ , en sustrato  $0.056\text{ M}$  en sol. amortiguadora  $0.1\text{ M}$  Malato/ $\text{NaOH}$  a  $\text{pH}$  óptimo, la variación de temperatura estuvo entre un rango de  $24$  y  $46^\circ\text{C}$  con intervalos de  $5^\circ\text{C}$  aproximadamente. Para estimar  $Q_{10}$  se usó la pendiente ( $m$ ) de la curva  $\ln(\text{actividad})$ -temperatura en la zona en que ésta es lineal. La relación utilizada fue la siguiente:

$$Q_{10} = e^{(10 m)}$$

Cabe hacer notar que para cada ensayo se hizo un Patrón ("blank") y dos repeticiones (Dahlqvist, 1984; Trinder, 1969; Martínez del Rfo y Stevens, 1988). Ensayos preliminares con aves demuestran que la replicabilidad de la técnica es suficientemente buena como para que dos ensayos sean suficientes

(Martínez del Rfo y Hernández, datos no publicados).

Estandarización.- La actividad de enzimas intestinales se estandariza comúnmente por mg. de protefna de mucosa intestinal (Kerry, 1969), trabajo preliminar (Martínez del Rfo, datos no publicados) mostró que remover la mucosa del tejido conectivo subyacente, provoca la pérdida de actividad. En este trabajo se homogeneizó tejidos completos y se estandarizó la actividad por área nominal del intestino o por peso húmedo de intestino. Estas dos variables están lineal y estrechamente correlacionadas ( $r= 0.98$ ,  $n= 17$ ). La variación en la actividad enzimática se puede deber a variación en el número de copias de enzimas por unidad de área de microvellosidades, o a incrementos en el área de microvellosidades por unidad de área nominal. Una fuerte correlación entre la actividad esperada por unidad de masa de intestino y área nominal. Sugeriría que la variación en área de microvellosidades por unidad de área nominal es pequeña.

### Análisis Estadístico

Las variables estudiadas fueron las siguientes:

- a) Actividad total de cada disacaridasa en el intestino.
- b) Actividad total estandarizada por el área nominal total del intestino (o masa total del intestino en mg.)

c) Actividad por sección de intestino (P, Me o D) estandarizada por área nominal (o masa de tejido en mg.)

1.- Para estimar  $V_{\max}$  Y  $k_m$  se utilizó regresión lineal en datos transformados (Transformada de Woolf-Augustinsson - Hofstee; Segel, 1976). Las regresiones utilizadas en este -- trabajo se obtuvieron por el método de mínimos cuadrados - - (Zar, 1984).

2.- Para detectar diferencias entre especies se utilizó ANOVA (análisis de Varianza de una vía).

3.- Para determinar diferencias con otros vertebrados se utilizó ANCOVA (Análisis de Covarianza) para eliminar el efecto de covariables (Zar, 1984).

4.- Los datos en este trabajo se expresan como medias  $\pm$  error estándar (ES), a menos que se indique de otro modo.

## RESULTADOS:

Todas las especies mostraron actividad intestinal de - maltasa, sacarasa e isomaltasa (figura 1). Sin embargo, la - actividad total de las disacaridasas entre las diferentes es pecies de murciélagos fue variada como se muestra en la ta-- bla 2a y 2b. En ésta se puede observar que todas las espe--- cies carecen de actividad de lactasa y solamente P. persona- tus presenta actividad de trehalasa.

En la figura 2 se muestra que existe una relación li-- neal entre dos modos distintos de estandarizar la actividad- de las enzimas (por  $\text{cm}^2$  de área nominal de intestino o por - mg de tejido). Esta relación es lineal a nivel intra (fig. - 2a) e interespecífico (fig. 2b). Esto, permite usar cualquie- ra de los dos índices de un modo indiscriminado. Para fines- comparativos y por ser más relevante en términos fisiológi-- cos (Karasov y cols., 1985), expresaremos la actividad de las- enzimas por unidad de área nominal.

La actividad de sacarasa, maltasa y trehalasa mostró - variación con respecto al pH. Las curvas actividad-pH fueron semejantes entre especies con hábitos alimenticios similares, así los nectarívoros G. soricina y L. sanborni, presentaron un pH óptimo de 6.5 para sacarasa y 6.0 para maltasa; los -- frugívoros S. liliun y A. jamaicensis presentaron un pH ópti

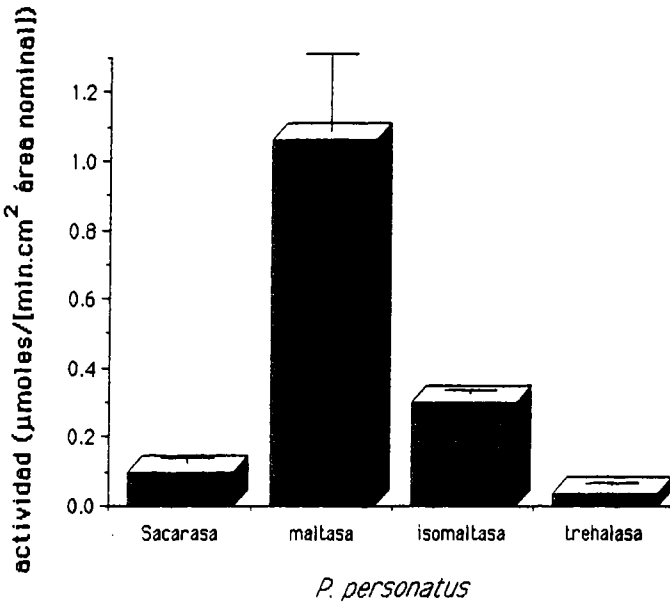
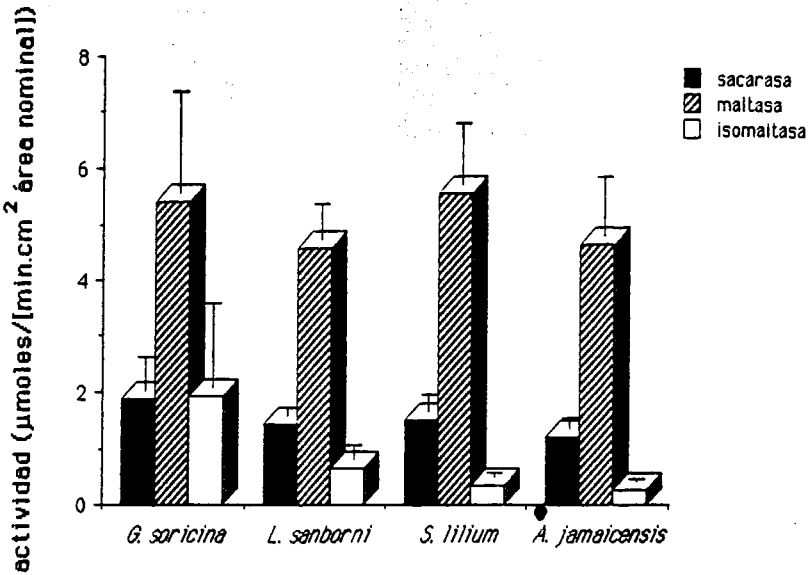


Figura 1.- Actividad promedio de disacaridasas intestinales estandarizada por  $\text{cm}^2$  de área nominal de intestino en 5 especies de murciélagos. Los tamaños de muestra se presentan en la tabla 1. Notese la reducida actividad de todas las disacaridasas en *P. personatus*. Esta especie, además, fue la única que mostró actividad de trehalasa. Las barras sobre las medias son desviaciones estándar.

Tabla 2a.-Actividad enzimática intestinal total ( $\mu$ moles/min).

Especie	sacarasa	isomaltasa	maltasa	trehalasa	lactasa
<u>Pteronotus personatus</u>	0.48 $\pm$ 0.13*	1.29 $\pm$ 0.45	5.17 $\pm$ 1.21	0.16 $\pm$ 0.05	---
<u>Artibeus jamaicensis</u>	40.7 $\pm$ 1.3	8.8 $\pm$ 0.7	156.7 $\pm$ 14.6	---	---
<u>Sturnira lilium</u>	28.4 $\pm$ 5.8	6.1 $\pm$ 0.7	104.7 $\pm$ 21.6	---	---
<u>Glossophaga soricina</u>	13.0 $\pm$ 4.0	13.5 $\pm$ 8.5	36.8 $\pm$ 12.1	---	---
<u>Leptonycteris sanborni</u>	20.0 $\pm$ 0.3	8.4 $\pm$ 2.8	62.7 $\pm$ 1.9	---	---

\* Los valores son medias  $\pm$  desviación estándar.

Tabla 2b.-Actividad enzimática estandarizada por área nominal ( $\mu\text{moles}/\text{min}\cdot\text{cm}^2$ ).

Especie	sacarasa	isomaltasa	maltasa	trehalasa	lactasa
<u>Pteronotus personatus</u>	0.10 $\pm$ 0.02*	0.30 $\pm$ 0.01	1.06 $\pm$ 0.23	0.03 $\pm$ 0.01	---
<u>Artibeus jamaicensis</u>	1.2 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.1	4.6 $\pm$ 1.1	---	---
<u>Sturnira lilium</u>	1.6 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 1.1	---	---
<u>Glossophaga soricina</u>	1.9 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 1.5	5.4 $\pm$ 1.8	---	---
<u>Leptonycteris sanborni</u>	1.5 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.3	4.6 $\pm$ 0.6	---	---

\* Los valores son medias  $\pm$  desviación estándar.

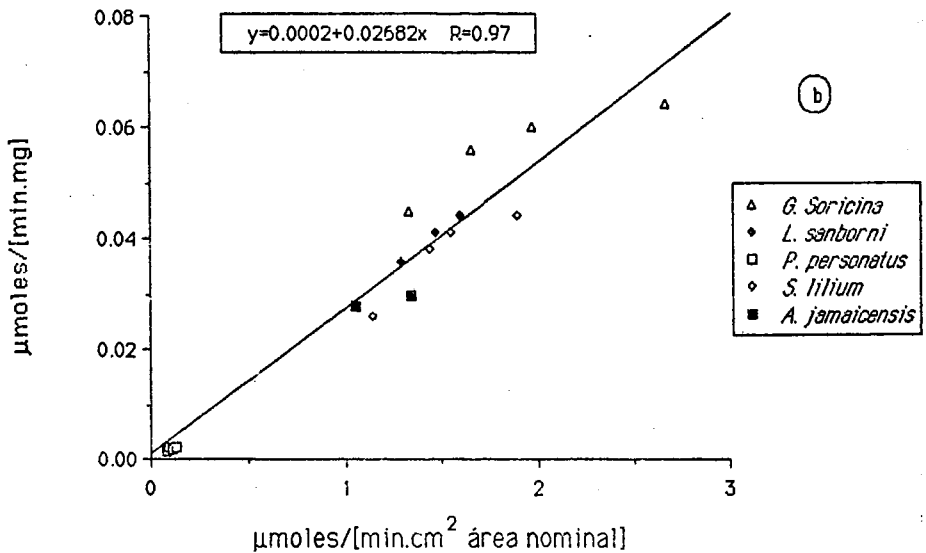
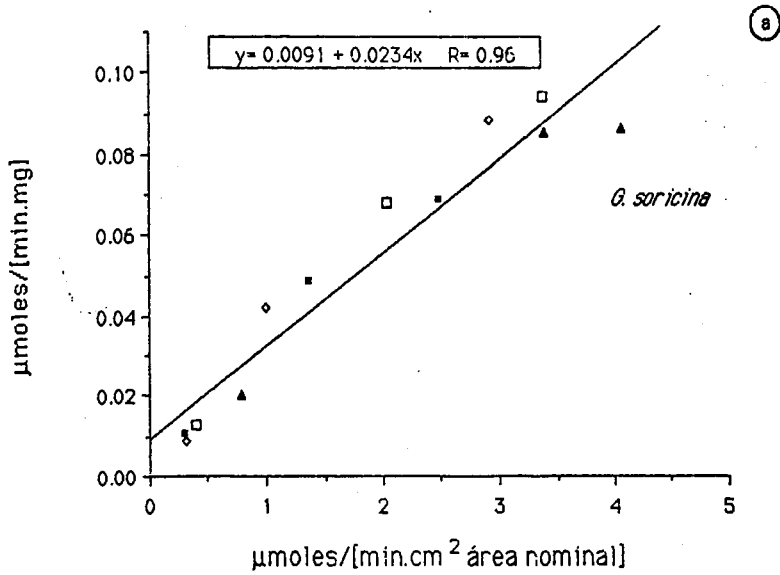


Figura 2.- (a) Relaci\u00f3n entre la actividad de sacarasa estandarizada por  $\text{cm}^2$  \u00e1rea nominal de intestino o por mg de tejido intestinal para *G. soricina*. Cada simbolo representa medidas distintas para un solo individuo. (b) Relaci\u00f3n entre la actividad de sacarasa estandarizada por  $\text{cm}^2$  de \u00e1rea nominal de intestino o por mg de tejido intestinal para 5 especies de gusanos de tierra. Cada punto representa la actividad intestinal promedio de un individuo. La estrecha relaci\u00f3n lineal entre ambas variables sugiere que son equivalentes.



mo de 5.5 para sacarasa y  $<5.0$  para maltasa; en el insectivo P. personatus, el pH óptimo fue de 6.0 para sacarasa y -- maltasa y  $<5.0$  para trehalasa (ver figura 3; y para una re-- presentación gráfica del comportamiento de las enzimas en ca da especie ver Apéndice II).

Es notable para todos los individuos que la actividad- enzimática dentro del intestino fue mayor en las zonas próxi mas al píloro y decreció conforme se alejaban de éste (Fig.- 4 y apéndice III).

Se encontraron diferencias significativas en la activi dad máxima de sacarasa entre las distintas especies (ANOVA,  $F_{4.12}=17.855$ ,  $P < 0.05$ ). Estas diferencias se debieron a la - baja actividad de P. personatus (Tukey,  $q_{12.5}= 10.487$ ,  $P < 0.05$ ). Entre las otras especies no hubo diferencias signifi- cativas (Tukey,  $p > 0.05$ ). Existieron también diferencias in- terespecíficas significativas en la actividad de maltasa --- (ANOVA,  $F_{4.12} = 10.086$ ,  $P < 0.05$ ), probablemente debidas a -- que la actividad de sacarasa y maltasa están estrechamente - correlacionadas (ver abajo).

La constante aparente de Michaelis ( $K_m^*$ ) para la saca- rosa mostró variación significativa interespecífica (ANOVA,  $F_{4.12} = 107.63$ ,  $P < 0.05$ ; tabla 3). Es decir que la afinidad - aparente de la sacarosa es distinta entre especies (ver dis-

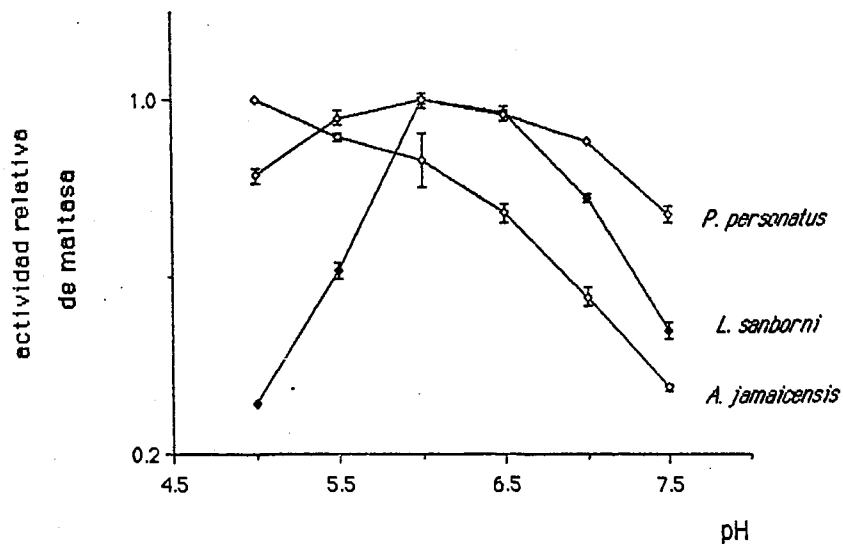
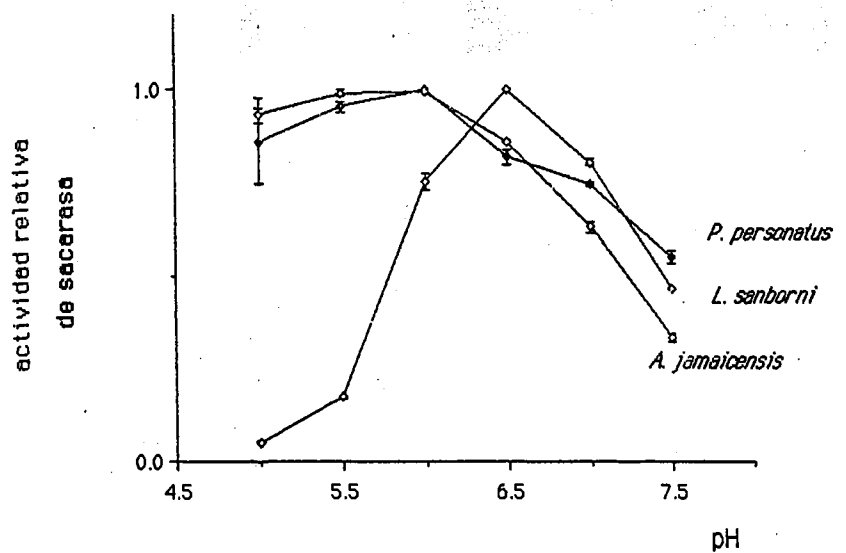


Figura 3.- Relación entre actividad de sacarasa y maltasa intestinales y pH. Los puntos representan medias  $\pm$  desviación estándar

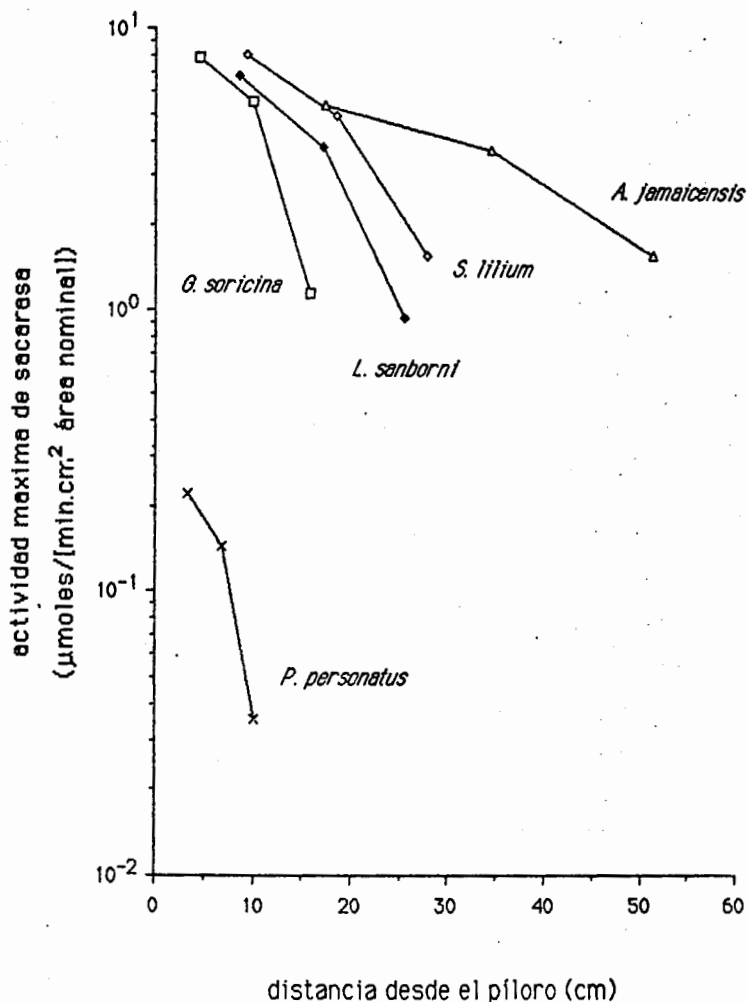


Figura 4.- Zonación en la actividad intestinal de sacarasa en 5 especies de murciélagos. En todas las especies la actividad de sacarasa decrece de la región proximal a la región distal del intestino. La actividad de maltasa se encuentra distribuida de un modo muy similar. Los puntos son medias por especie. Los tamaños de muestra se presentan en la tabla 1.

Tabla 3.- características de la actividad de sacarasa.

Especie	Sacarasa		
	$k_m^*$ (mM)	$Q_{10}$	M/S
<u>Pteronotus personatus</u>	12.1 ± 2.3**	1.58	10.6 ± 0.9
<u>Artibeus jamaicensis</u>	59.0 ± 5.8	2.02	3.9 ± 0.2
<u>Sturnira lilium</u>	56.8 ± 4.7	1.94	3.7 ± 0.1
<u>Glossophaga soricina</u>	44.7 ± 2.3	1.89	2.8 ± 0.1
<u>Leptonycteris sanborni</u>	55.3 ± 2.5	1.65	3.1 ± 0.1

$k_m^*$  =  $k_m$  aparente

\*\* Los valores son medias ± desviación estándar.

cusión para una interpretación biofísica de esta variación).

Se encontraron diferencias significativas en el cociente Maltasa/Sacarasa (ANOVA,  $F_{4.12} = 360.99$ ,  $P < 0.05$ ; tabla 3). Estas diferencias se deben a que existe una relación lineal significativa entre la actividad intestinal de sacarasa y la de maltasa, tanto para actividad total como para la actividad promedio por  $\text{cm}^2$  (ver figura 5a y 5b). El alto cociente maltasa/sacarasa encontrado en P. personatus es debido simplemente a la relativamente baja actividad de sacarasa combinada con la actividad "basal" de maltasa (ver discusión).

El cociente isomaltasa/sacarasa fue mayor en los insectívoros estrictos o insectívoros ocasionales P. personatus y G. soricina al encontrado en las otras especies de hábitos nectarívoros o frugívoros (McNab, 1982).

También se determinó el  $Q_{10}$  para la sacarasa en cada una de las especies, los valores se muestran en la tabla 3. Los valores de  $Q_{10}$  para la sacarasa de murciélagos están en el rango normal de las enzimas de vertebrados endotérmicos - (rango = 1.6-2.1, Hill, 1976).

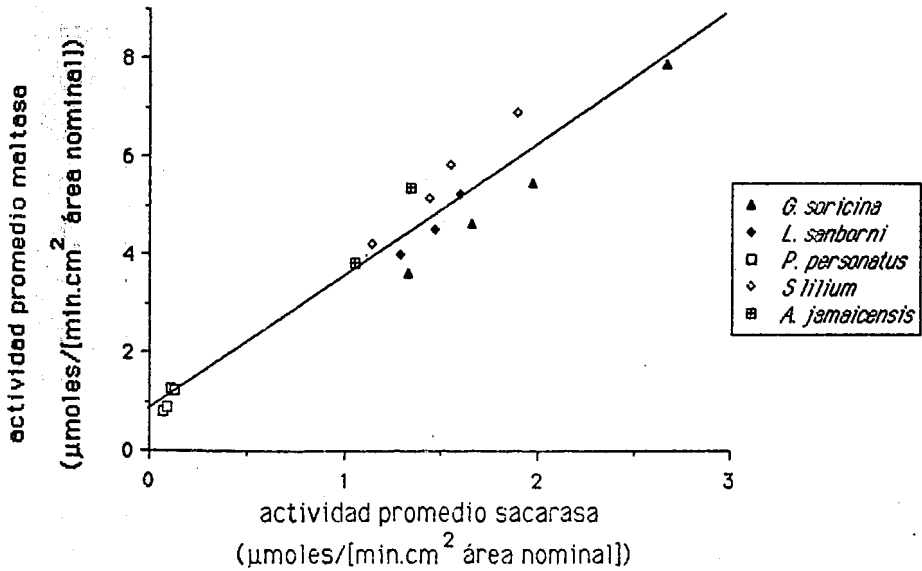
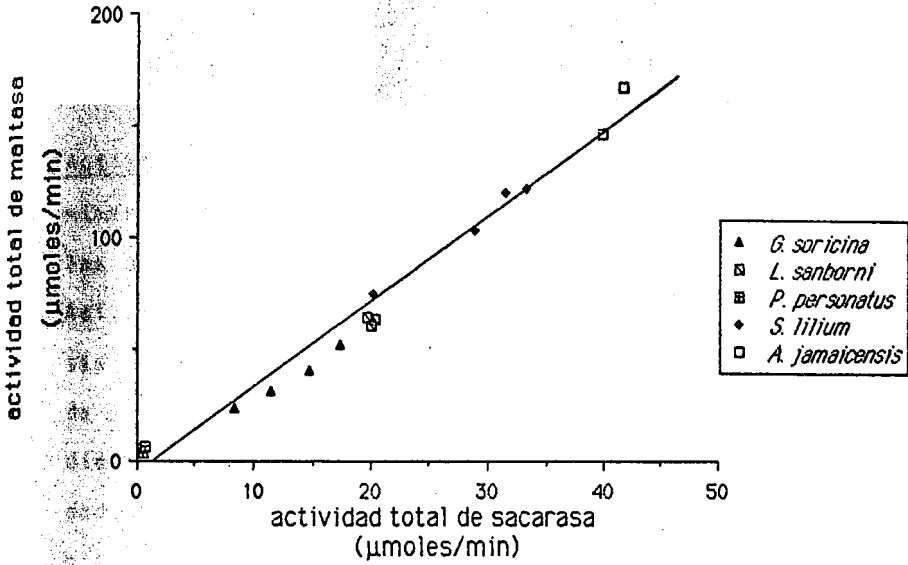


Figura 5.- (a) Relación entre la actividad intestinal total de maltasa y la actividad total de sacarasa. (b) Relación entre las actividades de sacarasa y maltasa intestinales estandarizadas por  $\text{cm}^2$  de área nominal de intestino. Note se la estrecha relación lineal entre estas dos variables.

## DISCUSION

Actividad total.- La actividad de disacaridasas puede determinar o estar determinada por los hábitos alimenticios de -- las diferentes especies (Martínez del Rfo, y col., 1988). -- Así, al encontrar una reducida actividad de las disacarida-- sas en P. personatus, es posible argumentar que ésta es debi-- da a las bajas cantidades de carbohidratos que ingiere en su dieta. P. personatus es la única especie que mostró activi-- dad de trehalasa, relacionado esto probablemente con sus há-- bitos insectívoros (Graham, 1983). La trehalosa es la princi-- pal azúcar de almacenamiento en insectos (Wyatt, 1967). La -- concentración de trehalosa en los insectos es de aproximada-- mente el 1% (Wyatt, 1967). Los valores de la actividad de -- Isomaltasa relativos a los valores de sacarasa parecen ser -- mayores en las especies que incluyen insectos en su dieta -- (P. personatus y G. soricina, Graham, 1983). Los azúcares -- resultado de la hidrólisis de los polisacáridos de origen -- animal (glicógeno) tienen una proporción mayor de isomaltosa y alfa-dextrinas (sustratos de la isomaltosa; Castro, 1985).

Dado que se estudiaron individuos adultos, no es posi-- ble afirmar que las especies examinadas carecen de actividad de lactasa. La mayor parte de las especies de mamíferos que-- poseen lactasa muestran actividad reducida pero detectable -- como adultos (Gray, 1981; Hore y Messer, 1968). No sabemos --

si la ausencia de lactasa en murciélagos es debida a la ausencia de lactosa en la leche o a la pérdida secundaria de actividad de lactasa en adultos. Rähkä (1981), revisó la composición química de la leche de algunos mamíferos; su revisión no incluye datos para murciélagos. Datos de análisis químicos de leche en quirópteros serían útiles para aclarar esta pregunta.

Ya que se han encontrado restos de insectos en contenidos estomacales de algunos nectarívoros (L. sanborni; Howell, 1974), ¿Por qué éstos no presentan actividad de trehalasa? Howell (1974), ha sugerido que los insectos encontrados en el tracto digestivo fueron ingeridos en una forma accidental, ya que no representan más del 5% del contenido estomacal e intestinal y no fueron encontrados en todos los individuos. Es posible que aunque algunos frugívoros o nectarívoros consuman insectos (Gardner, 1977), la trehalosa consumida es muy poca para poder ser la causa de diarrea osmótica. El gasto metabólico que implica mantener una enzima que realiza sus funciones esporádicamente y no a su máxima capacidad (Karsov y Diamond, 1988), puede ser la explicación de la ausencia de trehalasa en frugívoros y nectarívoros.

Del mismo modo, podemos preguntar ¿Por qué existe actividad de sacarasa en P. personatus? Sabemos que P. personatus es insectívoro (Graham, 1983), lo que pudiera llevarnos



a pensar que como en el caso de los Pinnipedos (carnívoros-también, Kerry y Messer, 1968) debiera carecer de sacarosa. Una explicación posible es la siguiente: al alimentarse de insectos que se alimentan de néctar de las flores (ricos en sacarosa, Baker y Baker, 1983), los murciélagos ingieren indirectamente sacarosa. En cuatro especies de abejas sociales (Apoidea: Insecta), el néctar contenido en el buche representa entre el 21 y el 25% del peso húmedo total de los animales (Roubik y Buchmann, 1984). Los néctares varían entre el 30 y 60% en su contenido de sacarosa (Roubik y Buchmann, - - 1984). En consecuencia, entre el 6 y 15% del peso de una abeja cargada de néctar está constituido por sacarosa. No tenemos datos para polillas, sin embargo, consideramos que los valores deben ser menores que en abejas, debido a que las polillas no aprovisionan nidos. La sacarasa intestinal, entonces, puede ayudar a los murciélagos insectívoros a digerir la sacarosa ingerida al alimentarse de insectos. Howell - - (1980) ha sugerido que la evolución de la frugivoria y nectarivoria estuvo precedida por una etapa en la que los murciélagos se alimentaron de insectos que visitaban flores y/o -- fruta. La presencia de sacarasa en P. personatus complementa a esta hipótesis.

¿Qué importancia tienen las disacaridasas para los murciélagos nectarívoros y frugívoros? Los néctares secretados por plantas polinizadas por murciélagos están constituidos -

por mezclas de hexosas y sacarosa en distintas proporciones (Baker y Baker, 1983). En 11 especies de cactáceas polinizadas por murciélagos Scogin (1985), mostró que 6 tenían néctares con proporciones iguales de sacarosa y hexosas, 3 tenían néctares dominados por sacarosa ( $S/G+F > 0.5$ ) y 2 tenían néctares dominados por hexosas ( $S/G+F < 0.5$ ). Los murciélagos --nectarívoros, entonces, incluyen sacarosa en sus dietas con frecuencia. Una muestra pequeña de frutas dispersadas por --murciélagos (principalmente plantas de la familia Moracea; - Baker y Baker, datos no publicados), indica que estos tienen proporciones  $S/G+F$  bajas. Es difícil generalizar acerca del consumo de sacarosa en murciélagos frugívoros en la ausencia de más datos.

Los disacáridos complejos que al ser hidrolizados por la amilasa producen maltosa, son raros en la dieta de los --murciélagos nectarívoros. Los pólenes de plantas polinizadas por murciélagos tienen en general contenidos bajos de almidón (Baker y Baker, 1979). La actividad de maltasa en murciélagos nectarívoros tiene probablemente poca importancia fisiológica y es resultado, simplemente, de la actividad no específica de la sacarasa.

Q<sub>10</sub>.-- El Q<sub>10</sub> nos ayuda a determinar cuál es la variación de actividad en las enzimas con respecto a la temperatura (Hill, 1976). En otros mamíferos que son "mejores" termo-

reguladores la termodependencia en la actividad enzimática - no tiene mucha importancia. McNab (1982), sin embargo, mostró que muchos murciélagos tropicales muestran torpor y durante este estado fisiológico, la temperatura corporal es sólo --- unos cuantos grados mayor que la temperatura ambiental. El - rango de temperatura en Chamela (ver descripción de la zona- de estudio) abarca las temperaturas usadas por McNab en sus- experimentos. Determinar el  $Q_{10}$  para los murciélagos nos ayu- da a estimar cuál es la variación en la actividad enzimática, la cual puede estar relacionado con otras funciones digesti- vas como son tiempo de retención o tiempo de transporte de - monosacáridos hacia el torrente sanguíneo. Los valores de --  $Q_{10}$  obtenidos sugieren que la tasa de digestión se reduce -- considerablemente al bajar la temperatura durante las horas- de torpor.

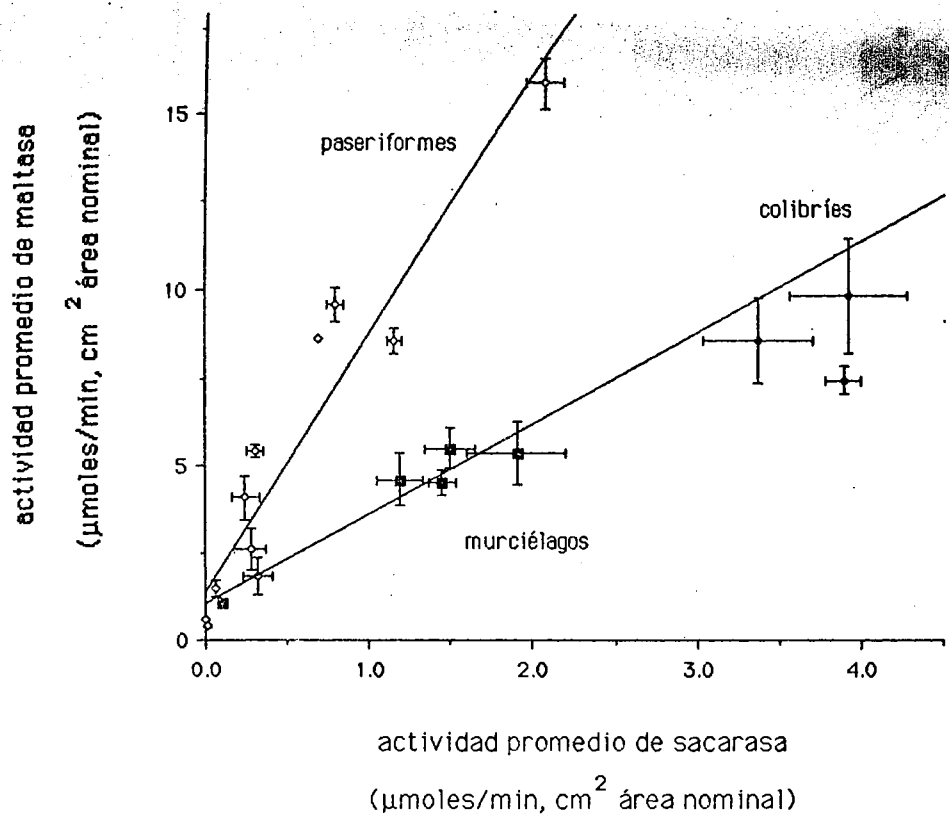
Actividad maltasa/sacarasa.- La relación encontrada en- tre maltasa y sacarasa, como habíamos mencionado resultó ser lineal. Sorprendentemente, esta relación no sólo se observó- en murciélagos, también en primates y aves del orden paseri- formes (reanálisis de datos tomados de Welsh y Walker, 1972, 1973; Martínez del Río y Hernández, datos no publicados). En la relación encontramos que la actividad de maltasa está de- terminada por la actividad no específica de sacarasa. Por ca- da unidad de sacarasa que aumenta, la actividad de maltasa - se incrementa por un factor que varía entre grupos (figuras-

6 y 7). Esta relación lineal explica la variación en el cociente de actividades maltasa/sacarasa. Si existe una actividad basal de maltasa y existe una relación lineal entre la actividad de maltasa y la de sacarasa; entonces el cociente maltasa/sacarasa es alto cuando la actividad de sacarasa es baja (P. personatus) y tiende a un valor límite al incrementarse la actividad de sacarasa. Esto se explica mejor en forma matemática. Así, cuando graficamos la actividad de maltasa por actividad de sacarasa, obtenemos una línea recta, en la cual la pendiente (a) determina el factor de incremento y la ordenada al origen (b) determina la actividad basal de maltasa ( $y = ax + b$ ; ver figuras 6 y 7). El cociente maltasa/sacarasa está dado por la expresión:

$$y/x = a + b/x.$$

Esta expresión adquiere valores muy altos para  $x$  pequeños y tiende asintóticamente a  $a$  cuando  $x$  se incrementa.

Al graficar la actividad de maltasa con la actividad de sacarasa y ajustar una recta a los puntos resultantes en aves y murciélagos (figura 6), observamos que la pendiente de la recta ajustada a los passeriformes (pendiente  $\pm$  ES =  $7.4 \pm 0.8$ ), es mayor que la pendiente a la recta ajustada a los murciélagos (pendiente  $\pm$  ES =  $2.7 \pm 0.19$ ). Los valores encontrados para colibríes, curiosamente, están muy cercanos



.Figura 6.- Comparación entre la actividad de sacarasa y maltasa intestinales de aves y murciélagos. Cada punto es la media para cada especie, las barras son errores estándar.

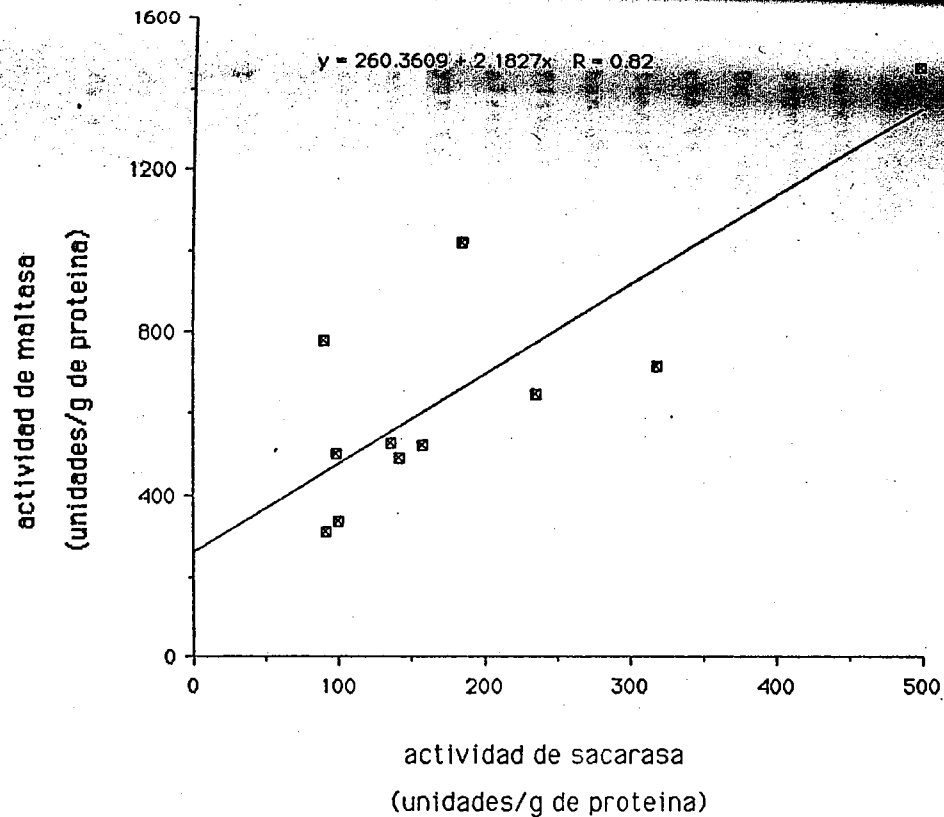


Figura 7.- Relación entre la actividad de maltasa y sacarasa intestinal en 11 especies de primates. Los datos fueron tomados de Welsh & Walker (1972, 1973).

a la recta ajustada a los murciélagos. Los colibríes presentan un cociente M/S más semejante al de los murciélagos que al de aves passeriformes (Martínez del Río y Hernández, datos no publicados).

Cinética de la sacarasa.- En las cinco especies de murciélagos, como se había mencionado, se encontró variación significativa en la  $k_m^*$  de la sacarasa (figura 8 y tabla 3). De un modo similar, Karasov y col., (1985) han mostrado mucha variación interespecífica en la afinidad aparente de los transportadores de glucosa de los vertebrados. Estos autores han argumentado, que esta variación es debida a efectos biofísicos causados por control difusional del sustrato en los alrededores de las membranas del enterocito. Especies con mayor  $V_{max}$  de transporte de glucosa muestran menor afinidad aparente (mayor  $K_m^*$ ). Esto es debido a la disminución de la concentración de glucosa en los alrededores de la membrana (Karasov, y col., 1985). En este trabajo, sugeriremos una explicación similar para la variación en la  $k_m^*$  de la sacarasa. Argumentaremos que las diferencias interespecíficas en la  $k_m^*$  de la sacarasa son atribuibles a que esta enzima está anclada a la membrana intestinal.

Laidler y Bunting (1980) han sugerido que el comportamiento cinético de enzimas pegadas a membranas es distinto al de enzimas libres en solución. Primero, la inmovilización

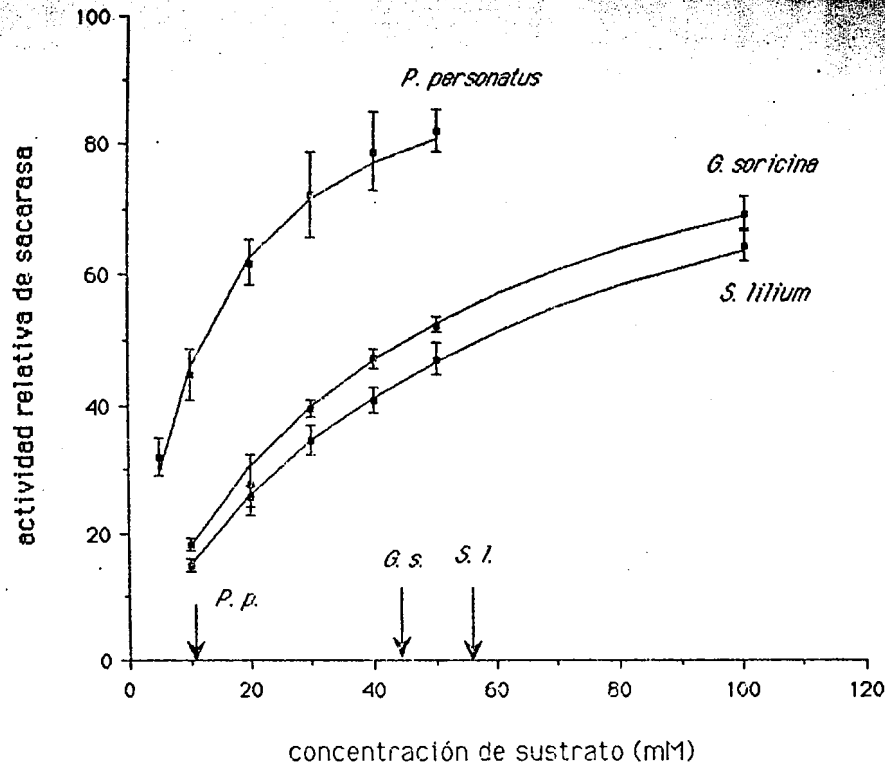


Figura 8.- Cinética de la actividad de sacarasa en tres especies murciélagos. Las flechas indican el valor medio de  $k_m^*$  para cada especie. Los puntos son medias para 4 individuos y las barras son desviaciones estándar.



puede causar cambios de conformación en la enzima; segundo, - la enzima inmovilizada se encuentra en un medio totalmente -- distinto al de una enzima libre; tercero, existe una división del sustrato entre la solución y el soporte, con el resultado de que la concentración del sustrato en los alrededores de la enzima tiende a ser considerablemente distinto al volumen de la solución; cuarto, los efectos de difusión juegan un papel más importante en las enzimas inmovilizadas, donde existe un alto grado de control de difusión.

La constante de Michaelis-Menten ( $k_m$ ) calculada para enzimas pegadas a membranas ( $k_m^* = k_m$  aparente) sobreestima a - la  $k_m$  de las mismas enzimas en solución (Laidler y Bunting, - 1980). La relación entre la  $k_m$  "real" de enzimas en solución - y  $k_m^*$  para enzimas pegadas a discos o esferas ha sido aproxima - da por Sundaram y col. (en Laidler y Bunting, 1980) y es - la siguiente:

$$k_m^* = [k_m / (2 + (D k_m)^{1/2})] [v_{max}]^{1/2}$$

que puede simplificarse a

$$k_m^* = A (k_m)^{1/2} (v_{max})^{1/2}$$

donde  $A = (D)^{-1/2} / 2$ ,  $D$  es un coeficiente de difusión del sustra - to. La forma logarítmica de la aproximación de Sundaram - -

y col., es particularmente útil:

$$\log k_m^* = \log A + 1/2 \log k_m + 1/2 \log V_{\max}$$

Si  $k_m$  es constante, cuando graficamos  $\log k_m^*$  contra  $\log V_{\max}$  encontramos una recta cuya pendiente vale 1/2 aproximadamente.

La variación en  $k_m^*$  encontrada en las cinco especies de murciélagos, entonces, puede ser atribuida simplemente a variación en  $V_{\max}$ . Al comparar los datos de murciélagos con datos de aves (Martínez del Río y Hernández. Datos no publicados, figura 9) se encontró que, a pesar de que los dos grupos tienen efectos de enzimas pegadas a membranas (i.e. en ambos casos la pendiente de la relación  $k_m^* - V_{\max}$  no es significativamente distinta de 1/2), la ordenada al origen era significativamente mayor para murciélagos que para pájaros - ( $t_{0.05}(2), 14 = 7.377, p < 0.05$ ; prueba de t para comparar - dos ordenadas; Zar, 1984). Observando que la ordenada al origen es mayor en murciélagos que en aves, pudiéramos hipotetizar que la afinidad de la sacarasa de murciélagos por la sacarosa es menor que la de la sacarasa de las aves.

Nuestros datos sugieren que el comportamiento cinético de la sacarasa es similar a los resultados predichos por la teoría para enzimas pegadas a discos y/o esferas (Laidler y-

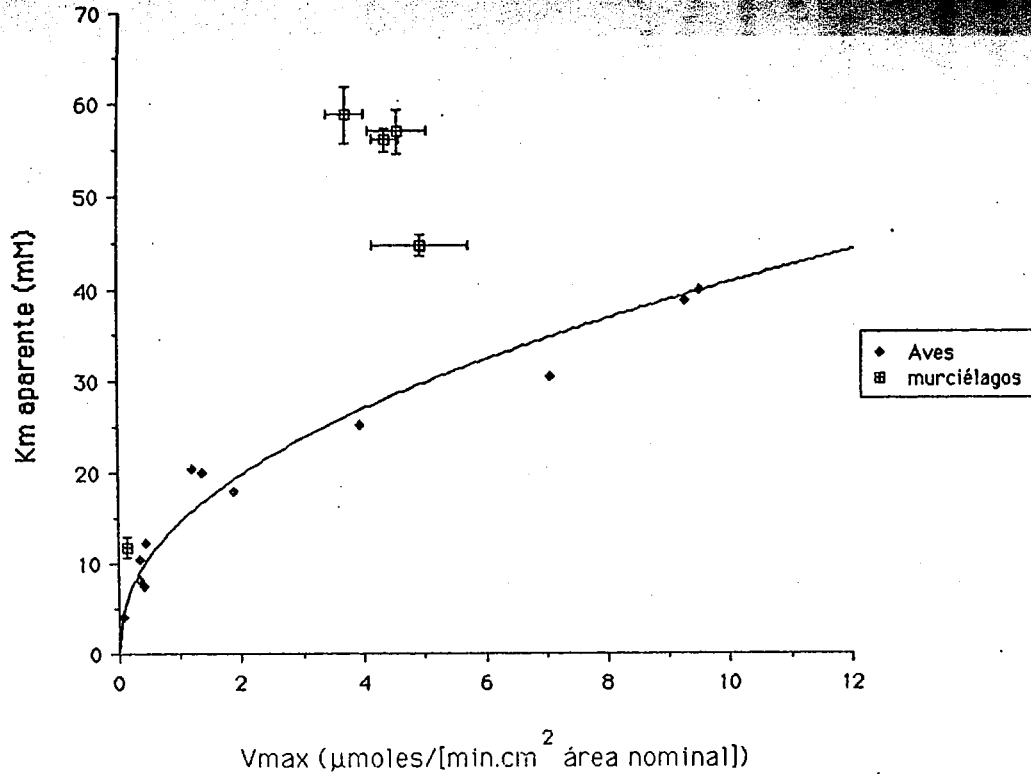


Figura 9.- Relación entre  $k_m^*$  y  $V_{max}$  para aves y 5 especies de murciélagos. Los puntos son medias y las barras en los murciélagos son errores estándar. La curva ajustada a los datos de las aves es la relación  $k_m^* = 14.6V_{max}^{0.45}$ .

Bunting, 1980). Esto es debido a que las membranas de los enterocitos tienden naturalmente a formar vesículas cuando el tejido intestinal es homogeneizado (Stevens y cols., 1984). Sin embargo, el comportamiento in vivo puede resultar diferente. In vivo las disacaridasas están pegadas al interior de un tubo (el intestino). Bajo estas condiciones la velocidad del flujo de solución de sustrato influye también en la afinidad aparente de la enzima por el sustrato (Laidler y Bunting, 1980). Los resultados obtenidos in vitro son sólo una aproximación a los resultados que se observarían in vivo.

## CONCLUSIONES.

Actividad enzimática y hábitos alimenticios.- La actividad de disacaridasas en murciélagos, parece estar correlacionada con los hábitos alimenticios de cada especie. Así P. personatus (insectívoro) presentó menor actividad enzimática que las otras especies que se alimentan de mayor cantidad de azúcares (nectarívoros y frugívoros).

P. personatus fue el único que presentó actividad de trehalasa aparte de las de sacarasa, maltasa e isomaltasa -- que estaban presentes en todas las especies.

$Q_{10}$ .- La variación diaria en la temperatura interna de los murciélagos probablemente reduce la actividad de las disacaridasas intestinales y muy posiblemente la actividad de otras funciones digestivas.

pH.- El comportamiento en la actividad de las enzimas a la variación de pH fue parecido entre especies con hábitos alimenticios similares. Sin embargo, por desconocerse específicamente cuál es el rango de pH dentro del intestino no se sabe si existe importancia fisiológica significativa.

Cociente Maltasa/sacarasa.- La actividad de maltasa en murciélagos está linealmente relacionada con la cantidad de

actividad de sacarasa. Esto, no sólo se observó en murciélagos, sino que también en aves y primates. Aparentemente la actividad de maltasa del complejo isomaltasa-sacarasa varía entre grupos, pero se mantiene constante dentro de cada grupo.

Cinética de sacarasa.- La variación interespecífica en la afinidad de la sacarasa en murciélagos fue significativa. Esta variación puede deberse, a que como consecuencia de efectos biofísicos de enzimas pegadas a membranas, existe una relación potencial entre la  $k_m^*$  y  $V_{max}$ . En aves también se encontró variación interespecífica en  $k_m^*$  resultante de variación en  $V_{max}$ . La afinidad de la sacarasa en murciélagos parece ser menor que la de aves.

Consideraciones finales.- Este trabajo, no considera algunos aspectos que pueden ser importantes para la digestión de disacáridos en murciélagos. Algunas preguntas no respondidas por este trabajo son las siguientes:

1.- ¿Existen cambios en la actividad de las disacaridas intestinales de murciélagos conforme el individuo va cambiando de dieta en su desarrollo?

2.- Si las especies que presentan una variación estacional en su dieta (G. soricina), presentan del mismo modo-

una variación estacional en la actividad de las disacaridasas intestinales, ¿Qué tan inducible es la actividad de disacaridasas por la presencia de sustratos en la dieta?

1.3.- Si esta variación de la actividad en disacaridasas existe, ¿Se puede explicar como condicionada por la dieta o es la actividad de las disacaridasas la que condiciona la dieta?

Este trabajo da las bases para comenzar a plantear y posteriormente contestar estas cuestiones. También provee la posibilidad de integrar los resultados de hidrólisis de disacáridos con trabajos referentes a transporte de glucosa, preferencia por distintos azúcares y la influencia de los azúcares sobre el metabolismo de los murciélagos.

## AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Estación de Biología Chamela, por hacer de mi estancia una agradable temporada. Al M. en C.L. Alfredo-Pérez J. Jefe de la Estación, por las facilidades brindadas para la realización de este trabajo.

A Irene Baker, por facilitar sus datos no publicados sobre la composición química de los frutos, que ayudaron a complementar el contenido de este trabajo. Al Biol. Benito Arbayo A. por su apoyo incondicional para realizar el presente trabajo.

Al Dr. S.H. Bullock, por la crítica previa a este trabajo que ayudó a contemplar una perspectiva más amplia del mismo.

A Carlos Martínez del Río por seguir muy de cerca este trabajo, corrigiendo y aportando comentarios que sirvieron para aumentar el contenido del mismo, y por ser un excelente amigo.



## LITERATURA CONSULTADA:

- Alpers, D.H. 1987. Digestion and absorption of carbohydrates and proteins. Pp. 1469-1487. En: Physiology of the gastrointestinal tract (L.R. Johnson, ed.). Raven Press, New York.
- Baker H.G. y I. Baker. 1979. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. Amer. J. Bot. 66: 591-60.
- , 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. Pp. 117-141. En: Handbook of experimental pollination biology (C.E. Jones y R.J. Little, eds.). Scientific and academic editions. New York.
- Bullock, S.H. 1986. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the South Coastal Region of Mexico. Arch. Met. Geoph. Biocl., Ser. B. 36:297-316.
- Castro, G.A. 1985. Digestion and Absorption. En: Gastrointestinal Physiology. Pp. 105-128. (L.R. Johnson, ed.). C.V. Mosby Company, St. Louis, Missouri.
- Ceballos, G. y A. Miranda. 1986. Los mamíferos de Chamela, Jalisco. Instituto de Biología, UNAM, México. 436 pp.
- Crane, R.K. 1975. The physiology of intestinal absorption of sugars. Pp 2-19. En: Physiological effect of food carbohydrates. (A. Jeanes y J. Hodge, eds.). American Chemical Society. Washington, D.C.

- Dahlqvist, A. 1984. Assay of intestinal disaccharidases. *Scan. J. clin. Lab. Invest.* 44:169-172.
- Gardner, A.L. 1977. Feeding habits. Pp. 293-350. En: *Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part II* (R.J. Baker, J.K. Jones Jr., y D.C. Carter, eds.). *Spec. publ. Mus., Texas Tech. Univ.*, 13: 1-364.
- Graham, G.L. 1983. Changes in bats species diversity along an elevational gradient up the Peruvian Andes. *J. Mammal* 64 (4): 559-571.
- Gray, G.M. 1975. Oligosaccharidases of the small intestinal Brush Border. Pp. 181-189. En: *Physiological effects of food Carbohydrates* (A. Jeanes y J. Hodge, eds.). American Chemical Society. Washington, D.C.
- , 1981. Carbohydrate Absorption and Malabsorption. Pp. 1063-1072. En: *Physiology of the Gastrointestinal Tract.* (L.R. Johnson ed.). Raven Press. New York.
- Hawker, J.S. 1985. Sucrose. Pp 1-51. En: *Handbook of experimental pollination biology* (C.E. Jones y R.J. Little, eds.). Scientific and Academic editions. New York.
- Hill, J.E. y J.D. Smith. 1984. *Bats. A natural History.* University of Texas Press. Austin, Texas. 243 pp.
- Hill, R.W. 1976. *Comparative physiology of animals: an environmental approach.* Harper and Row Publishers. New York. 656 pp.

- Honeycutt, R.L. y V.M. Sarich, 1987. Albumin evolution and -  
subfamilial relationships among new world leaf-nosed  
bats (family phyllostomidae). J. Mammal. 68 (1) 508-517.
- Hore, P. y M. Messer. 1968. Studies of disaccharidase  
activities of the small intestine of the domestic cat  
and other carnivorous mammals. Comp. Biochem. Physiol.  
24: 717-725.
- Howell, D.J. 1974. Bats and pollen: Physiological aspects of  
the syndrome of Chiropterophily. Comp. Biochem. Physiol.  
48: 263-276.
- 1980. Adaptive variation in diets of desert bats  
has implications for evolutions of feeding strategies.  
J. Mammal. 61: 730-733.
- Karasov, W.H. y J.M. Diamond, 1988. Interplay between Physiology  
and Ecology in Digestion. BioScience 38 (9): 602-  
611.
- Karasov, W.H., R.K. Buddington y J.M. Diamond, 1985. Adaptation  
of intestinal sugar and amino acid transport in  
vertebrate evolution, Pp 227-239. En: Transport Processes,  
Iono- and Osmoregulation (R. Gilles y M. Gilles-Baillien,  
eds.) Springer - Verlag. Berlín, Heidelberg.
- Kerry K.R. 1969. Intestinal disaccharidase activity in a  
monotreme and eight species of marsupials (with an added  
noted on the disaccharidases of five species of sea  
bird). Com. Biochem. Physiol. 29: 1015-1022.

- Kerry K.R. y M. Messer. 1968. Intestinal glucosidases of three species of seals. *Comp. Biochem. Physiol.* 25: 437-446.
- Kretchmer, N. 1981. Food: A selective agent in Evolution. Pp. 37-48. En: *Food, Nutrition and Evolution*. (D.N. Wälcher y N. Kretchmer, eds.). Masson Publishing Incorporation. New York.
- Laidler, K.J. y P.S. Bunting. 1980. The kinetics of immobilized enzyme systems. Pp 227-248. En: *Enzyme kinetics and mechanism* (P.L. Purich, ed.). vol 64. *Methods in enzymology* (S.P. Colowick y N.O. Kaplan, eds in chief.). Academic Press. New York.
- Lee, C.Y., R.S. Shallenberger y M.T. Vittum. 1970. Free sugars in fruits and vegetables. *New Yorks food and life sciences bulletin*. 1: 1-12.
- Martínez del Río, C. Y B.R. Stevens. 1988. Intestinal brush border membrane-bound disaccharidases of the American alligator: Alligator mississippiensis. *Comp. Biochem. Physiol.* 91 (4): 751-754.
- , 1989. Physiological constraint on feeding behavior: intestinal membrane disaccharidases of the starling. *Science* 243: 794-796.
- Martínez del Río, C., B.R. Stevens, D.E. Daneke y P. Andreadis. 1988. Physiological correlates of preference and aversion for sugars in three species of birds. *Phys. Zool.* 61: 222-229.

- McNab, B.K. 1980. Food habits, energetics, and the population biology of mammals. *Am. Nat.* 116: 106-124.
- , 1982. Evolutionary alternative in the Physiological Ecology of Bats. Pp 151-200. En: *Ecology of Bats.* (T.H. Kunz, ed.) Plenum Publishing corporation.
- Räihä, N.C.R. 1981. Comparative composition of animal milks in relationship to environment and pattern of infant metabolism and growth. Pp 217-223. En: *Food, Nutrition and Evolution.* (D.N. Walcher y N. Kretchmer, eds.). Masson Publishing incorporation. New York.
- Roubik D.W. y S.L. Buchmann. 1984. Nectar selection by Melipona AND Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) and the ecology of the nectar intake by bee colonies in a tropical forest. *Oecologia* (Berlin) 61: 1-10.
- Rubino, A., F. Zimbalatti y S. Auricchio. 1964. Intestinal disaccharidase activities in adults and suckling rats. *Biochim. Biophys. Acta.* 92: 305-311.
- Scogin R. 1985. Nectar constituents of the Cactacea. *Southwest. Nat.* 30: 77-82.
- Segel, I.H. 1976. *Biochemical calculations.* 2nd Ed. John Wiles and Sons Inc. New York. 441 pp.
- Stevens, B.R., J.D. Kaunitz' y E.M. Wright. 1984. Intestinal transport of amino acids and sugars: advances using membrane vesicles. *Ann. Rev. Physiol.* 46: 417-433.

- Stryer, 1981. Biochemistry. 2nd ed. W.H. Freeman and company.  
Sn Francisco, Cal.
- Trinder, P. 1969. Determination of Glucose in blood using  
glucose oxidase with an alternative oxigen receptor.  
Ann. Clin. Biochem. 6:24-29.
- Vonk, H.J. y J.R.H. Western. 1984. Comparative Biochemistry  
and Physiology of enzymatic digestion. Academic Press.  
New York.
- Welsh, J.D. y A.W. Walker. 1972. Intestinal disaccharidase  
activity of nonhuman primates-I. Tupaiidae, Cebidae and  
Cercopithecidae. Comp. Biochem. Physiol. 41 A: 719-726.  
----- . 1973. Intestinal disaccharidase  
activity of nonhuman primates-II. Lorisidae, Hapalidae  
and Cebidae. Comp. Biochem. Physiol. 46 A: 549-557.
- Wyatt, G.R. 1967. The biochemistry of sugars and polysaccharides  
in Insects. Pp 287-359. En: Advances in Insect Physiology  
(J. W.L. Beament, J.E. Treherne y V.B. Wigglesworth,  
eds.). Academic Press. London.
- Zar, J.H. 1984. Biostatistical Analysis. 2nd. ed. Prentice-Hall,  
Inc. Englewood Clifts, N.J. 718 pp.
- Zoppi, G. y D.H. Shmerling. 1969. Intestinal disaccharidase  
activities in some birds, reptiles, and mammals. Comp.  
Biochem. Physiol. 29: 289-294.

Apéndice 1.- Fórmula de estandarización a partir de las lecturas de absorbancia.

Actividad total.

$$\mu\text{moles}/\text{min.} = (V + W)(K)(d)^{-1}(\text{abs})/(t) \text{ (gl)}$$

V = Volumen de solución salina a 0.9% (ml) \*

W = Peso del intestino (mg).

K = Constante de stock de Glucosa\*\*.

d = Dilución del homogeneizado

abs = lectura de absorbancia

t = tiempo de incubación.

gl = Moléculas de glucosa formadas a partir de cada molécula de azúcar.

\* El volumen y el peso de intestino se pueden tomar como total ó por secciones.

\*\* Esta constante se calculo con la pendiente de una recta ajustada a la grafica (figura A1) obtenida de lecturas de absorbancia por concentraciones conocidas de glucosa.

Para estandarizar por área nominal de intestino (cm<sup>2</sup>) ó por peso del intestino (mg), se divide la actividad total entre área nominal ó peso segun sea el caso.

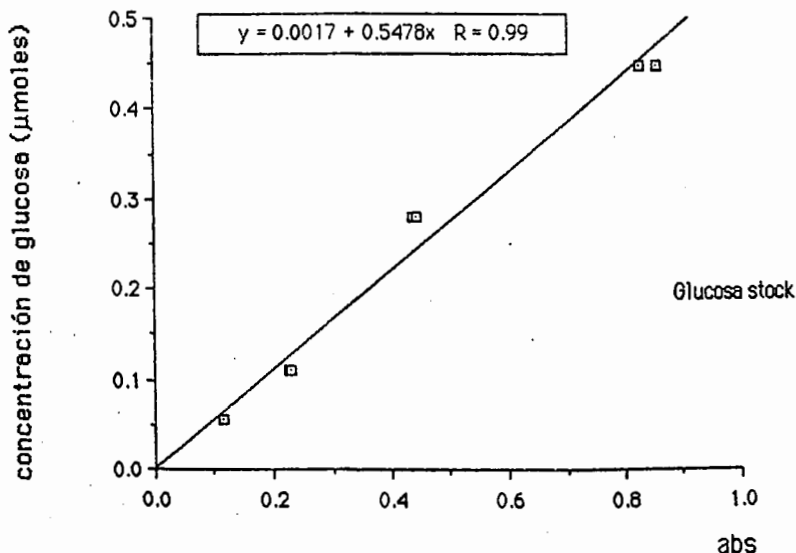
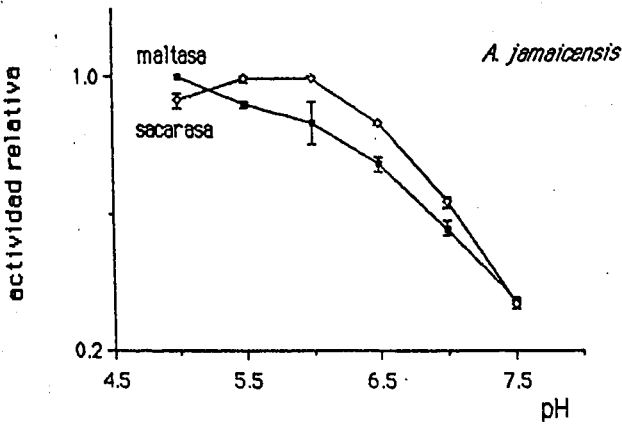
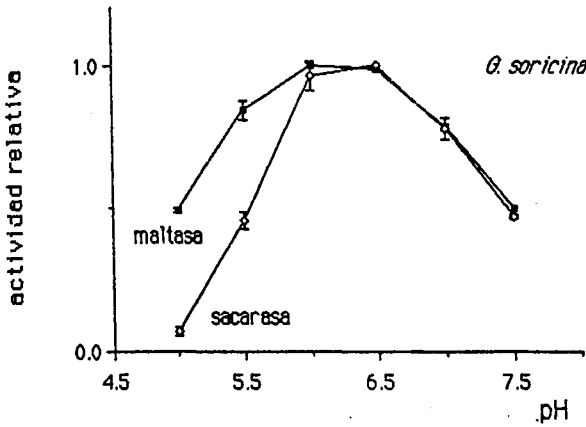
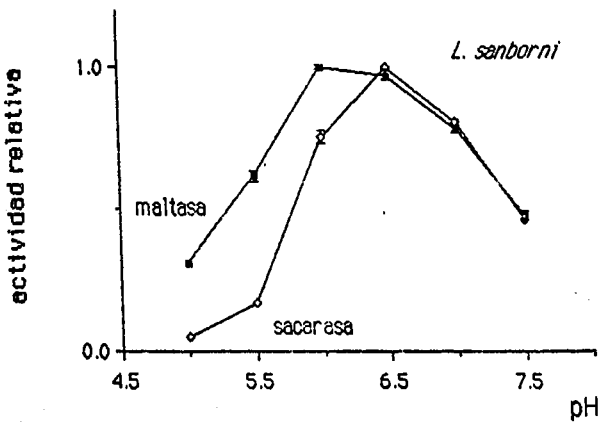
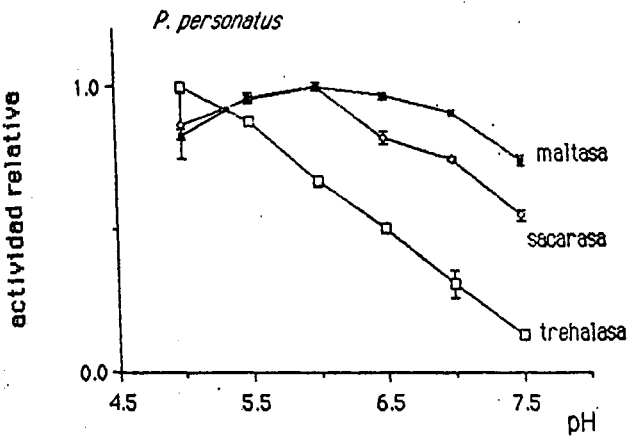
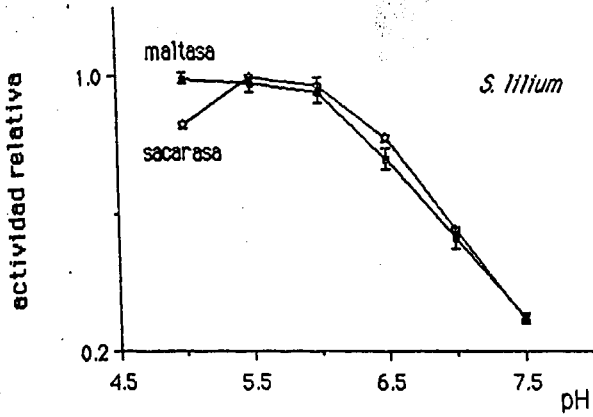


Figura A1.

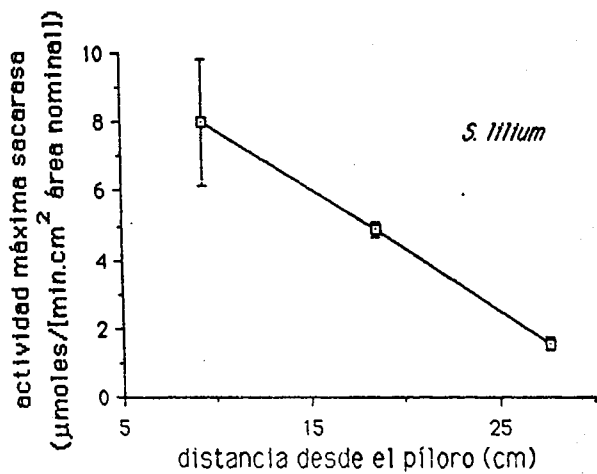
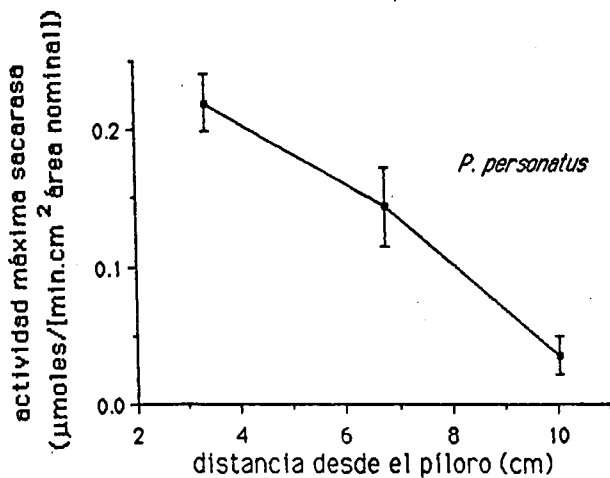
Apéndice 2.- Las gráficas muestran la relación de la actividad sacarasa, maltasa y trehalasa y la variación de pH para cada especie. Los puntos representan medias y las barras desviaciones estándar, los tamaños de muestra se presentan en la tabla 1.

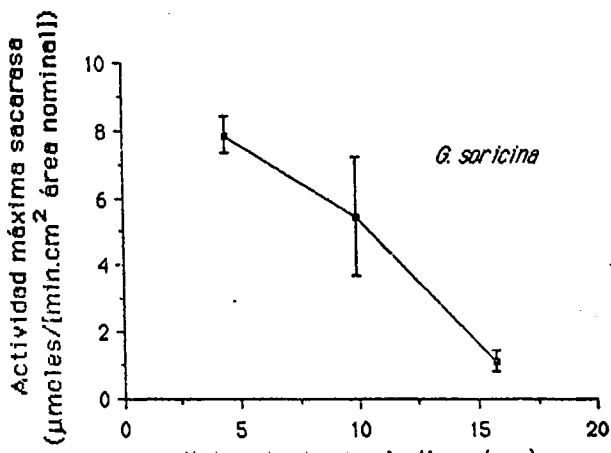
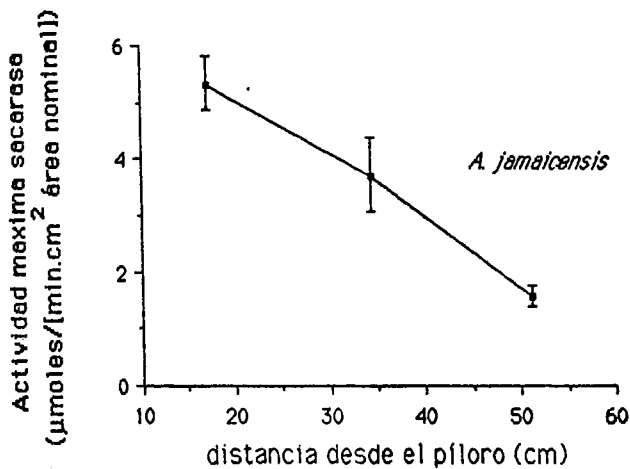
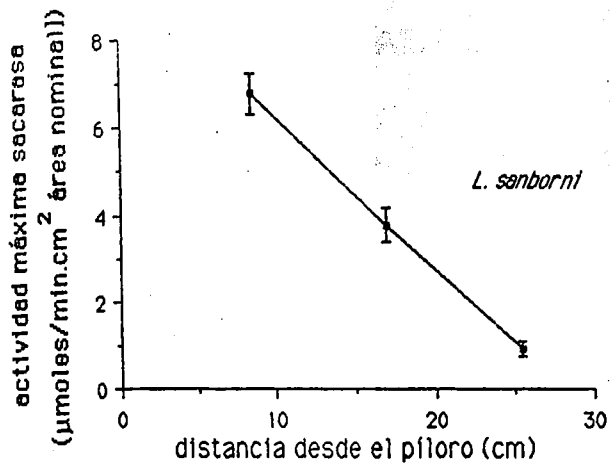






Apéndice 3.- Zonación de la actividad intestinal para cada especie. Los puntos representan medias y las barras errores estándar, los tamaños de muestra se presentan en la tabla 1.





**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente .....

Número ..... 357/89

SR. AGUSTIN HERNANDEZ HERRERA  
P R E S E N T E . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido -  
aprobado el tema de Tesis "Disacaridasas Intestinales en --  
murciélagos filostomoideos (Chiroptera: Mammalia)" para ob\_  
tener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido ---  
aceptado como Director de dicha Tesis al Biol. Benito Arba  
yo Angulo.



FACULTAD DE CIENCIAS

A T E N T A M E N T E  
"PIENSA Y TRABAJA"  
Guadalajara, Jal., Abril 18 de 1989

EL DIRECTOR

DR. CARLOS ASTENGO OSUNA

EL SECRETARIO

ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS CARDENAS.

c.c.p. El Biol. Benito Arbayo Angulo, Director de Tesis.-Pte.  
c.c.p. El expediente del alumno.

'mjsd

Ing. Adolfo Espinoza de los Monteros Cárdenas.  
Director.  
Facultad de Ciencias.  
Universidad de Guadalajara.

Sr. Director:

Por medio de la presente me dirijo a Usted para informarle que el tema de Tesis "Disacaridasas Intestinales en murciélagos filostomcideos (Chiroptera: Mammalia)", desarrollado por el pasante Agustín Hernández Herrera, ha sido concluido. Por lo anterior, pido se le permita continuar con los tramites correspondientes para la obtención de su Título.

Agradeciendo de antemano la atención prestada a la presente se despide de Usted su Afmo. y S. S.

ATENTAMENTE:

Guadalajara, Jalisco., a 19 de Mayo de 1989.

  
~~Biol. Benito Arbayo Angulo.~~

## AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Estación de Biología Chamela, por hacer de mi estancia una agradable temporada. Al M. en C.L. Alfredo-Pérez J. Jefe de la Estación, por las facilidades brindadas para la realización de este trabajo.

A Irene Baker, por facilitar sus datos no publicados sobre la composición química de los frutos, que ayudaron a complementar el contenido de este trabajo. Al Biol. Benito Arbayo A. por su apoyo incondicional para realizar el presente trabajo.

Al Dr. S.H. Bullock, por la crítica previa a este trabajo que ayudó a contemplar una perspectiva más amplia del mismo.

A Carlos Martínez del Río por seguir muy de cerca este -- trabajo, corrigiendo y aportando comentarios que sirvieron para aumentar el contenido del mismo, y por ser un excelente amigo.