



**¿TE GUSTA PICANTE? EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE PIMIENTA
NEGRA SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE FORRAJEO DE *Carollia perspicillata*
(PHYLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA)**

ORLANDO FABIÁN HERNÁNDEZ LEAL

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA Y QUÍMICA
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
VILLAVICENCIO, COLOMBIA
Año 2018**

**¿TE GUSTA PICANTE? EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE PIMIENTA
NEGRA SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE FORRAJEO DE *Carollia perspicillata*
(PHYLLOSTOMIDAE: CHIROPTEA)**

ORLANDO FABIÁN HERNÁNDEZ LEAL

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Biólogo

Director: Francisco Alejandro Sánchez Barrera

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS E INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA Y QUÍMICA
PROGRAMA DE BIOLOGIA
VILLAVICENCIO, COLOMBIA
Año 2018**

Agradecimientos

A la Universidad de los Llanos, por brindar apoyo económico en la realización de esta investigación, bajo el proyecto titulado: ¿Afectan los aceites esenciales de *Piper aduncum* el forrajeo del murciélago frugívoro *Carollia perspicillata*? – “Proyecto VIAC 6823112015 – Fomento a la Investigación de la Universidad de los Llanos”

A los docentes de la Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería de la Universidad de los Llanos que han hecho parte de mi formación.

A mi director Francisco Sánchez por su amistad, apoyo y paciencia en el desarrollo de esta investigación. Por su aporte considerable en mi formación profesional. Además, por compartir conmigo y con los integrantes del Grupo de Estudio de Mamíferos Silvestres de la Unillanos su investigación y entrega por los murciélagos.

A los integrantes del Grupo de Estudio de Mamíferos Silvestres de la Universidad de los Llanos, especialmente a Angélica Yantén y Gabriela Moreno por su apoyo incondicional y por brindarme su amistad.

Agradezco a mi familia, por su apoyo constante en mi educación y en el fomento por aprender cada día un poco más. Sin su apoyo muchos de mis logros no serían posibles. Mil gracias.

Por último y no menos importante, agradezco a los individuos de *Carollia perspicillata* que hicieron parte de los experimentos de forrajeo.

Tabla de Contenido

CAPÍTULO 1: Informe final	5
Resumen	7
Abstract	8
Lista de figuras	9
Lista de tablas	9
Lista de símbolos y abreviaturas	9
Planteamiento del problema	10
Hipótesis	11
Objetivo	11
Justificación	12
Marco teórico	13
Materiales y métodos	14
Resultados	17
Discusión	20
Conclusión	22
Referencias	23
Capítulo 2. Manuscrito	29

CAPÍTULO 1: Informe final



**¿TE GUSTA PICANTE? EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE PIMIENTA
NEGRA SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE FORRAJEO DE *Carollia perspicillata*
(PHYLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA)**

ORLANDO FABIÁN HERNÁNDEZ LEAL

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS E INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA Y QUÍMICA
PROGRAMA DE BIOLOGIA
VILLAVICENCIO, COLOMBIA
Año 2018**

**¿TE GUSTA PICANTE? EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE PIMIENTA
NEGRA SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE FORRAJEO DE *Carollia perspicillata*
(PHYLLOSTOMIDAE: CHIROPTERA)**

ORLANDO FABIÁN HERNÁNDEZ LEAL

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Biólogo (a)

Director: Francisco Alejandro Sánchez Barrera

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS E INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA Y QUÍMICA
PROGRAMA DE BIOLOGIA
VILLAVICENCIO, COLOMBIA
Año 2018**

Resumen

La pimienta negra, *Piper nigrum*, es originaria de los bosques de Asia, y es una de las especias de mayor valor en el mercado mundial. En países como Colombia, los productores no satisfacen la demanda nacional. Dados los requerimientos del cultivo, el piedemonte llanero puede ser un potencial productor de pimienta negra. Por otra parte, se ha encontrado una estrecha relación entre los murciélagos frugívoros del género *Carollia* (familia Phyllostomidae) y las plantas neotropicales del género *Piper*. Así, surge la pregunta: ¿pueden ser los cultivos de pimienta negra atractivos para estos murciélagos, y por lo tanto puedan causar efectos negativos a los cultivos? Los murciélagos del género *Carollia* son atraídos por los aceites esenciales de especies neotropicales de *Piper*. Por ello, usé la teoría de uso óptimo de parches para evaluar las preferencias de *Carollia perspicillata* por alimentos con aceites esenciales de pimienta. Realicé los experimentos en el campus de la Universidad de los Llanos en Villavicencio. Por 21 noches ofrecí a los murciélagos como alimento agua azucarada con y sin aceite esencial de pimienta negra en comederos artificiales. Medí la densidad de abandono (DDA), *i.e.*, la cantidad de alimento dejada luego de que el murciélago finaliza su forrajeo. La adición de los aceites esenciales de pimienta negra en el alimento incrementó las DDA's de los murciélagos, indicando que los murciélagos no percibieron beneficios en el alimento con la presencia de los aceites esenciales de pimienta negra. Es posible que los murciélagos asocien la presencia de los aceites esenciales de *P. nigrum* en el alimento con la ingesta de toxinas. Además, el efecto de los aceites esenciales sobre el forrajeo de los murciélagos dependió de la noche experimental, el periodo de muestreo y la estación de forrajeo. Nuestros resultados no sugieren que *C. perspicillata* pueda ser un potencial riesgo para cultivos de pimienta negra en el piedemonte llanero.

Palabras clave: Ecología química, interacciones planta-animal, murciélagos frugívoros, piedemonte llanero, uso óptimo de parches.

Abstract

Black pepper, *Piper nigrum*, is originally from Asian forest and is an highly priced spice in the world market. In countries such as Colombia, the producers do not satisfy the domestic demand. Given the requirements of black pepper crops, the Andean foothills of Colombia could be used to produce this spice. Also, a close relationship between species of frugivorous bats the genus *Carollia* (family: Phyllostomidae) and Neotropical plants of the genus *Piper* (family: Piperaceae) has been detected. This rises the question: can pepper crops be attractive for these bats, and therefore, can they have negative effects on the crops? *Carrollia* bats are attracted by the essential oils of Neotropical *Piper*. Therefore, I used optimal path use theory to evaluate the preferences of *Carollia perspicillata* for food with and without essential oils of black pepper. I did experiments on the campus of the Universidad de los Llanos in Villavicencio. During 21 nights, i offered the bats sucrose-water mixtures with and without of the essential oils in artificial feeders, and measured the giving up densities (GUD), i.e., the amount of food left after the bats finished foraging. The addition of the essentials oils to the food increased the bats' GUDs, indicating that they did no perceive benefits from the presence of the essentials oils of black pepper in the food. In fact, it is possible that the bats associated the presence of the essentials oils with a toxin. Also, the effect of the essential oils on the bats' foraging depended on the experimental night, sampling period, and foraging station. Our results suggest that *C. perspicillata* does not threaten potential black pepper crops in the Andean foothills.

Keywords. Andean foothills, chemical ecology, frugivorous bats, plant-animal interactions, optimal patch use.

Lista de figuras

Figura 1. Jaula de vuelo y comedero usados durante los experimentos para determinar el efecto de los aceites esenciales de pimienta negra en el forrajeo del murciélago *Carollia perspicillata*. En el comedero los murciélagos experimentan ganancias decrecientes en su tasa de cosecha.

Figura 2. Relación entre la densidad de abandono (DDA) del forrajeo de *Carollia perspicillata* y la preferencia por alimentos con o sin aceites esenciales de *Piper nigrum*.

Lista de tablas

Tabla 1. Factores de Bayes para los predictores incluidos en el mejor modelo del análisis Bayesiano de varianza usado para evaluar el efecto de los aceites esenciales de *Piper nigrum* sobre la densidad de abandono de *Carollia perspicillata*.

Tabla 2. Modelo lineal general para evaluar el efecto de los aceites esenciales de *Piper nigrum* sobre las densidades de abandono de *Carollia perspicillata*. MS = promedio de cuadrados, gl = grados de libertad, η^2_p = Eta parcial cuadrado.

Lista de símbolos y abreviaturas

DDA: Densidad de abandono

GLM: Modelo lineal general

Planteamiento del problema

En el neotrópico los murciélagos herbívoros pertenecen a la familia Phyllostomidae (Muscarella y Fleming, 2007; Rojas *et al.*, 2011; Fenton *et al.*, 2014). Estos murciélagos participan en la dinámica de los ecosistemas neotropicales a través de la polinización y dispersión de semillas de al menos 360 y 549 especies de plantas, respectivamente (Muscarella y Fleming, 2007; Fleming *et al.*, 2009; Lobo *et al.*, 2009; Kunz *et al.*, 2011). Por ello, aquellas especies polinizadas o dispersadas por murciélagos tienen con frecuencia flores o frutos que producen señales químicas volátiles para atraer animales que buscan alimento en la noche (Thies *et al.*, 1998; Hodgkinson *et al.*, 2013; Gonzalez-Terrazas *et al.*, 2016). Por ejemplo, géneros de la familia Phyllostomidae como *Artibeus*, *Carollia* y *Sturnira*, que son principalmente frugívoros (Bianconi *et al.*, 2007), usan señales olfativas para localizar los frutos de su preferencia (Fleming, 1987; Laska, 1990; Thies *et al.*, 1998). En particular, algunos compuestos aromáticos en los aceites esenciales de los frutos de *Piper* neotropicales funcionan como atrayentes para especies del género *Carollia* y estos murciélagos parecen ser hábiles en la detección de parches alimentarios de plantas de este género (Fleming, 1987; Mikich *et al.*, 2003).

Por otra parte, una de las especies de *Piper* con mayor valor comercial es la pimienta negra, *P. nigrum* (Thangaselvabal *et al.*, 2008). Destacada como “la reina de las especias”, la pimienta es nativa de los bosques de la India, pero se cultiva en varios continentes y su producción neta deja ganancias superiores a US\$ 500.000 alrededor del mundo (Ravindran, 2005). En la actualidad, en Colombia hay pocas áreas donde se cultiva *P. nigrum*, incluyendo zonas del piedemonte amazónico (Agencia de Noticias UN, 2016). En el piedemonte del Departamento del Meta las condiciones térmicas cálidas y pluviométricas son similares a las requeridas para el cultivo de pimienta (Jaramillo, 2016). Sin embargo, dichos cultivos podrían encontrar dificultades por la presencia de potenciales especies consumidoras de los frutos de *Piper*.

Se ha reconocido que los murciélagos del género *Carollia* son ávidos consumidores de *Piper* neotropicales, y al forrajear, no consumen la infrutescencia directamente en la planta, si no que la retiran para consumirla en una percha (Fleming, 1988). Adicionalmente, se ha reportado que *C. brevicauda* en Venezuela incluye en su dieta frutos de *P. nigrum* (Oria y Machado, 2007). Con base en lo anterior, y dado que la pimienta pertenece al género *Piper* y es originaria de otro continente surge la pregunta: ¿pueden los murciélagos frugívoros

como *Carollia perspicillata* ser potenciales consumidores de *Piper nigrum* y así afectar negativamente los cultivos?

Para resolver esa pregunta usé los principios de la teoría de uso óptimo de parches (Brown, 1988). De acuerdo con la teoría, un forrajeador debe dejar de explotar un parche cuando los costos y beneficios asociados a la explotación del parche sean iguales. Los costos por parte del forrajeador se relacionan con la percepción del riesgo de depredación, los gastos energéticos y los costos asociados a oportunidades perdidas por estar explotando el parche alimentario (Brown 1988, 1992). La densidad de abandono (DDA), i.e., la cantidad de alimento dejada por un forrajeador luego de alimentarse, se relaciona con la tasa de cosecha de abandono y se puede usar para estimar el valor marginal de un parche alimentario, y así evaluar las preferencias alimentarias de un forrajeador cuando éste experimenta ganancias decrecientes en su tasa de cosecha (Brown, 1988).

Hipótesis

Se ha demostrado que los aceites esenciales de frutos de *P. hispidum* y *P. gaudichaudianum*, atraen principalmente a los murciélagos frugívoros del género *Carollia* (Mikich *et al.*, 2003; Bianconi *et al.*, 2007, 2012; Parolin *et al.*, 2015). También, se ha reportado que *C. brevicauda* en Venezuela incluye en su dieta una considerable proporción de frutos de *Piper nigrum* (Oria y Machado, 2007). Por lo tanto, propongo como hipótesis que los aceites esenciales de *P. nigrum*, afectan el valor marginal del alimento consumido por murciélagos frugívoros como *Carollia perspicillata*. Propongo evaluar esta hipótesis con *C. perspicillata*, porque en el piedemonte llanero alrededor de Villavicencio, donde se realizarán los experimentos, esta especie parece ser más abundante que *C. brevicauda* (F. Sánchez, datos sin publicar). Además, estas dos especies están cercanamente emparentadas, son muy similares morfológicamente y en su ecología (Baker *et al.*, 1976, 2002; Gardner, 1977; Zurc y Velasco, 2010; Ruelas, 2017), por lo que se esperarían respuestas comportamentales similares.

Objetivo

- Evaluar, con base en la teoría de uso óptimo de parches, si el murciélago *Carollia perspicillata* puede causar efectos negativos en futuros cultivos de pimienta del Departamento del Meta.

Justificación

La composición química de frutos carnosos generalmente se relaciona con la atracción de dispersores de semillas, ya que dependiendo de cuáles componentes y en qué proporción están presentes, los vertebrados frugívoros pueden encontrar los alimentos y elegir cuales consumir (Hodgkison *et al.*, 2013; Whitehead *et al.*, 2015). El género *Piper* se ha usado como modelo para realizar estudios ecológicos, evolutivos y fitoquímicos (Dyer y Palmer, 2004). *Piper* es un género diverso taxonómicamente con más de 1000 especies lo que se relaciona con una alta variabilidad de compuestos químicos en sus órganos (Dyer *et al.*, 2004). En particular, los aceites esenciales del género *Piper* se han usado en ensayos de actividad biológica como fungicidas (Navickiene *et al.*, 2000), insecticidas (Bernard *et al.*, 1995; Autran *et al.*, 2009) y acaricidas (Araújo *et al.*, 2012). También, se ha planteado el uso de los aceites esenciales de *P. gaudichaudianum* para la regeneración de bosques intervenidos, ya que aumentan la actividad de murciélagos frugívoros y la probabilidad que las semillas sean dispersadas en las coberturas vegetales intervenidas (Bianconi *et al.*, 2007, 2012). Sin embargo, hasta donde mi revisión de la literatura lo indica, no se ha evaluado la posibilidad de que los murciélagos neotropicales afecten a los cultivos de pimienta negra, y tampoco se ha evaluado si los aceites esenciales de *Piper* spp. afectan el valor marginal del alimento para murciélagos del género *Carollia*.

La pimienta negra en América Latina es producida principalmente por Brasil, México y Ecuador con 44610, 3453 y 2234 t/año, respectivamente (Ravindran, 2005). Estados Unidos es el mayor importador de pimienta en el mundo (FAO, 2011). Colombia también importa este producto, ya que en pocas áreas del territorio se cultiva la pimienta (Rodríguez-Hoyos, 2013). En el Neotrópico, las plantaciones de pimienta negra están asociadas a áreas cálidas y húmedas (Jaramillo, 2016). Así, zonas del piedemonte llanero del Departamento del Meta podrían ser usadas para la plantación de cultivos de pimienta. En el marco de la era del postconflicto se inició un programa de sustitución de cultivos ilícitos por cultivos de pimienta en el Departamento del Putumayo (ODC, 2015). Por lo tanto, puede ser una especie potencial para el fortalecimiento de la agricultura en Colombia.

Por otra parte, en el país en general y en el piedemonte llanero colombiano en particular, es común encontrar el murciélago frugívoro *C. perspicillata*. Esta especie al forrajear usa la ecolocalización, su memoria y señales olfativas para ubicar los parches de frutos y discriminar frutos (Thies *et al.*, 1998). Por lo tanto, para *C. perspicillata* los olores en el ambiente son clave para evaluar la calidad de los frutos. Este murciélago consume con

frecuencia frutos de plantas pioneras como *Piper* spp., que son clave en la regeneración de los bosques (Fleming, 1988; Thies y Kalko, 2004). Estudios previos han determinado que más del 50% de la dieta del murciélago puede consistir en frutos de *Piper* spp., y el tiempo de fructificación de los frutos de *Piper* influyen sobre la reproducción de *C. perspicillata* (Mello *et al.*, 2004; Thies y Kalko, 2004). Asimismo, se ha reportado que hembras en estado de lactancia consumen en mayor proporción frutos de *P. aduncum* que frutos de la familia Moraceae (Bohlender *et al.*, 2018). Por lo anterior, se ha sugerido una estrecha interacción mutualista entre especies de *Piper* y especies de *Carollia* (Fleming 1988, 2004). Incluso se ha sugerido que la alta diversidad de especies del género *Piper* en el nuevo mundo es un producto coevolutivo de la aparición de murciélagos del género *Carollia* (Fleming y Kress, 2011).

Con base en todo lo anterior, y dada la estrecha relación entre frutos del género *Piper* y murciélagos del género *Carollia*, es relevante identificar si futuros cultivos de pimienta negra en el piedemonte del Departamento del Meta pueden convertirse en alimento para el murciélago *C. perspicillata*. Esto para determinar amenazas para los posibles futuros cultivos en el piedemonte llanero colombiano.

Marco teórico

La teoría de uso óptimo de parches propuesta por Brown (1988) relaciona los costos y beneficios asociados a la explotación de un recurso en parches alimentarios. Un recurso es definido como una sustancia o factor que es consumido por un organismo y que incrementa su eficacia biológica a medida que aumenta su disponibilidad en el ambiente (Tilman, 1982). Brown (1988) propone la técnica de densidad de abandono, que es la cantidad de alimento dejada por un forrajeador luego de alimentarse, para analizar la selección de hábitat, de alimento y uso del tiempo de los animales (Brown *et al.*, 1994; Brown, 2000). La técnica original utiliza parches artificiales con alimento mezclado en una matriz no comestible, donde el forrajeador decide cuánto tiempo debe permanecer explotándolo. Brown asume que los recursos están distribuidos en parches discretos y los forrajeadores acaban el alimento en proporción a la cantidad de recurso aprovechado. También asume que la distribución de recursos en el parche no es constante, ya que en el ambiente los recursos disminuyen; por lo tanto, cuando un individuo incrementa la tasa de energía ganada, se maximiza su eficacia biológica ("fitness"). La teoría de Brown deriva del teorema de valor marginal propuesto por Charnov (1976), que predice que un individuo explotará un parche hasta que la disminución de la tasa de cosecha sea igual a la tasa de cosecha promedio

del ambiente, y se basa sólo en consideraciones energéticas. Brown (1988) relajó los supuestos del teorema del valor marginal para permitir la inclusión de otros costos asociados al forrajeo, como el costo de explotación del parche, el riesgo percibido de depredación y el tiempo invertido, para hacer comparaciones de la importancia de éstos para el forrajeador. Para el estudio de preferencias alimentarias la densidad de abandono es una técnica más sensible que el consumo de alimento, ya que implica el incremento de los costos de forrajeo en el parche alimentario. Así, la teoría de uso óptimo de parches se puede utilizar para evaluar si los aceites esenciales de pimienta pueden elevar o disminuir los costos asociados a la explotación de un parche alimentario para el murciélago *C. perspicillata*.

Materiales y métodos

Área de estudio. Realicé el experimento en el campus de la Universidad de los Llanos, Municipio de Villavicencio, Departamento del Meta; 4° 4' 23.2" N, 73° 35' 04" W; ~400 m s.n.m. El campus de la Universidad está ubicado sobre el piedemonte llanero de la cordillera oriental colombiana. El campus tiene un promedio de precipitación anual de 3643.4 mm y temperatura promedio del aire de 25,6°C; la temporada de lluvias está entre marzo y noviembre, y la temporada seca inicia entre diciembre y febrero (Minorta-Cely y Rangel-Ch 2014; WWO 2018).

Animales de estudio y captura. *Carollia perspicillata* pertenece a la familia Phyllostomidae, subfamilia Carrollinae. Tiene una masa corporal de ~18.5 g y está ampliamente distribuida en América (Cloutier y Thomas, 1992). Este murciélago es conocido por consumir principalmente frutos de plantas pioneras como *Piper* spp., las cuales son claves para la regeneración del bosque (Heithaus *et al.*, 1975; Fleming, 1988; Muscarella y Fleming, 2007). También se sabe que puede incluir en su dieta insectos y recursos florales (Gardner, 1977; Fleming, 1988; Bohlender *et al.*, 2018). Además, su función dispersora de semillas, ayuda a mantener la diversidad de plantas en bosques neotropicales (Janzen, 1970).

Usé dos redes de niebla (12 × 2.5 m) para capturar 9 machos adultos de *C. perspicillata* para cada experimento para reducir posibles variaciones debidas al sexo y estado reproductivo de los individuos. Tatué y pesé todos los murciélagos capturados con el fin de identificar cambios en la masa corporal de cada individuo al iniciar y finalizar cada

experimento. Liberé todos los murciélagos capturados al terminar cada experimento en los lugares donde fueron capturados.

Experimentos de forrajeo. Realicé los experimentos con base en los métodos aplicados en *C. perspicillata* presentados por Bernal y Sánchez (2018). Usé una jaula de vuelo de forma cuboide (160 × 124 × 185 cm) hecha de polisombra comercial. Ubiqué la jaula de vuelo en el interior de un cuarto sin ventanas, para protegerlo de iluminación artificial y de la lluvia. Dentro de la jaula, ubiqué cuatro estaciones de forrajeo con comederos artificiales. Cada comedero tenía una forma cilíndrica (alto = 67 mm; diámetro = 35 mm), con la parte superior abierta para que el murciélago beba el alimento líquido (Figura 1). Cada comedero contenía 30 mL de agua con azúcar (30% p/p). Los comederos tenían 250 esferas de cristal (diámetro $3,867 \pm 0,0305$ mm) para interferir con el comportamiento de forrajeo del murciélago y generar ganancias decrecientes en su tasa de cosecha, y cumplir con los requerimientos del modelo de uso óptimo de parches (Brown, 1988; Sánchez *et al.*, 2006). Habitué los murciélagos a la jaula de vuelo y a los comederos artificiales por dos o tres días; durante este tiempo ofrecí piezas pequeñas de banano para atraer a los murciélagos a los comederos. Luego del período de habituación, el único alimento fue una mezcla de agua con sacarosa. Durante el experimento cada estación tenía dos comederos, cada uno con 30 mL de agua con sacarosa pero sólo uno de los comederos tenía 0,33 mL de extracto de aceite esencial de *P. nigrum*, mientras el otro no. Preparé alimento nuevo para cada día de experimento. Definí al azár la ubicación de los comederos con extracto de aceite esencial en cada estación. Obtuve el aceite esencial de manera comercial en la tienda de aceites esenciales y aromas Al-kimia y calculé el volúmen del extracto con base en los valores máximos de aceite esencial por gramo en frutos de *P. nigrum* (Jirovetz *et al.*, 2002). Ofrecí los comederos a los murciélagos en tres réplicas de siete días, para un total de 21 días, desde las 17:00 h hasta las 07:00 h del día siguiente. Pesé los comederos con y sin alimento antes y después de iniciar cada noche de experimento, para obtener la cantidad de alimento no consumido en los comederos artificiales, i.e., la DDA. Lavé los comederos al finalizar cada experimento para evitar contaminación por microorganismos (Harrison *et al.* 2007; Pujol *et al.* 2008). Realicé este estudio bajo el permiso 0375, 06 Abril 2016 del ANLA.

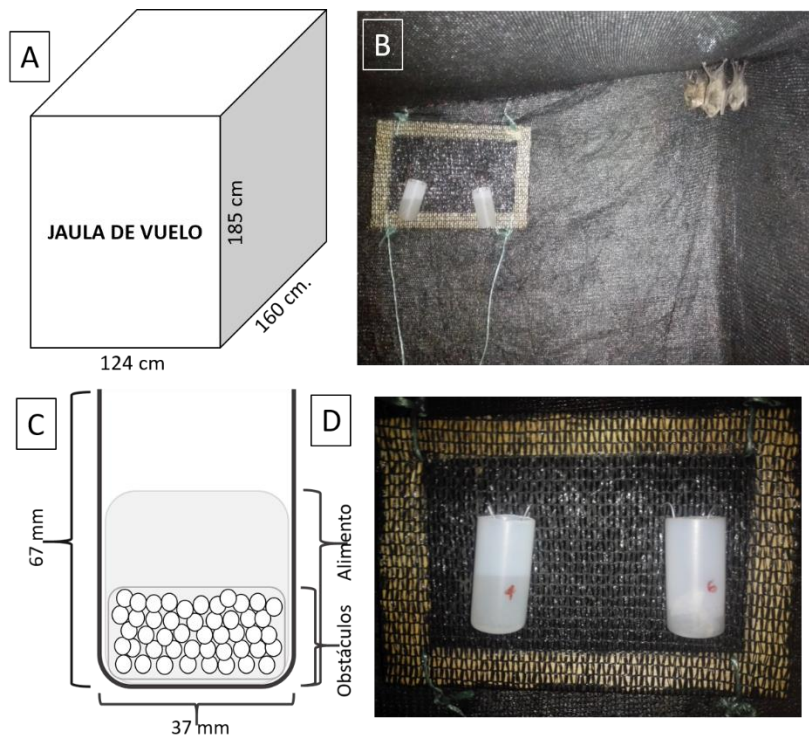


Figura 1. Jaula de vuelo y comedero usado durante los experimentos. La jaula de vuelo tuvo una forma cuboide (A). El material de la jaula de vuelo era polisombra comercial (B). El comedero artificial es cilíndrico (C) con la tapa superior libre para que el murciélago pueda entrar a consumir el alimento. El comedero tenía esferas de cristal que dificultaron el consumo de alimento. Las estaciones (D) se hicieron con marcos de madera forrados con polisombra para colgar los comederos artificiales.

Análisis estadísticos. Usé las DDA's como variable dependiente, mientras el tratamiento con aceites esenciales, la estación de forrajeo, la noche de experimento y el periodo de muestreo fueron agregadas al modelo como variables independientes. Apliqué un análisis bayesiano de varianza para seleccionar el modelo con mayor efecto sobre las DDAs y calculé los factores de Bayes (Marsman y Wagenmakers, 2017; Rouder *et al.*, 2017) usando JASP software v. 0.9.01 (JASP Team 2018, disponible en: <https://jasp-stats.org>). Adicionalmente, usé un modelo lineal general (MLG) con base en el modelo seleccionado (Zar, 2010) usando IBM SPSS 22. Analicé los residuales para evaluar los supuestos del modelo lineal, (Kuehl, 2000) y usé $\alpha = 0,05$ como nivel de significancia. También usé el eta parcial cuadrado (η^2_p) como medición del tamaño de efecto, ya que permite una medición de la proporción del total de la varianza en una variable dependiente que se

relaciona con una variable independiente, mientras remueve el efecto de otros factores (Richardson, 2011).

Resultados

De acuerdo al análisis Bayesiano, el mejor modelo ($P(M) = 0.006$; $P(M|data) = 0.388$; $BF_{10} = 2.142e^{+85}$) incluye los siguientes factores: tratamiento con aceite esencial, período de muestreo, noche experimental, estación de forrajeo, período de muestreo x estación de forrajeo, período de muestreo x tratamiento con aceite esencial, noche experimental x tratamiento con aceite esencial, y período de muestreo x estación de forrajeo x tratamiento con aceites esenciales. Además, en el modelo los factores con mayor impacto sobre la probabilidades de que el modelo fuera apoyado fueron el tratamiento con aceite esencial, el periodo de muestreo, la interacción entre estos factores y la noche experimental (Table 1). Todos los factores del mejor modelo tuvieron un efecto significativo en el GLM (Table 2). Además, el tratamiento con aceite esencial, el periodo de muestreo, la noche experimental y la interacción periodo de muestreo x tratamiento con aceite esencial tuvieron tamaños de efecto altos, mientras que los demás factores tuvieron tamaños de efectos moderados (Table 2).

Tabla 1. Factores de Bayes para los predictores incluidos en el mejor modelo del análisis Bayesiano de varianza usado para evaluar el efecto de los aceites esenciales de *Piper nigrum* sobre la densidad de abandono de *Carollia perspicillata*.

Efectos	P(incl)	P(incl data)	BF Inclusión
Período de muestreo	0.886	1.000	3.854e ⁺¹⁴
Noche experimental	0.886	1.000	3.716e ⁺⁸
Estación de forrajeo	0.886	1.000	1.347.777
Aceite esencial	0.886	1.000	1.156e ⁺¹⁵
Periodo de muestreo × Estación de forrajeo	0.503	0.999	876.186
Periodo de muestreo × Aceite esencial	0.503	1.000	3.856e ⁺⁹
Noche experimental × Aceite esencial	0.503	1.000	4.019.703
Periodo de muestreo × Estación de forrajeo x Aceite esencial	0.120	0.979	350.489

Tabla 2. Modelo lineal general para evaluar el efecto de los aceites esenciales de *Piper nigrum* sobre las densidades de abandono de *Carollia perspicillata*. MS = promedio de cuadrados, gl = grados de libertad, η^2_p = Eta parcial cuadrado.

Factores	PC	gl	F	P	η^2_p
Período de muestreo	208.70	2	41.80	< 0.001	0.436
Noche experimental	68.14	6	13.65	< 0.001	0.431
Estación de forrajeo estacion	35.39	3	7.09	< 0.001	0.165
Aceite esencial	14980.15	1	3000.17	< 0.001	0.965
Período de muestreo x Aceite esencial	185.34	2	37.12	< 0.001	0.407
Noche experimental x Aceite esencial	36.19	6	7.25	< 0.001	0.287
Período de muestreo x Estación de forrajeo	24.98	6	5.00	< 0.001	0.217
Período de muestreo x Estación de forrajeo x Aceite esencial	21.69	9	4.34	< 0.001	0.266
Error	4.69	108			

La adición de los aceites esenciales en el alimento tuvieron un alto tamaño de efecto sobre las DDAs (Tabla 1), y los murciélagos dejaron más alimento cuando éste contenía los aceites esenciales de pimienta negra (Figura 1). Sin embargo, el efecto de los aceites esenciales de pimienta negra fueron modulados por el periodo de muestreo, y por ejemplo la diferencia entre DDAs del alimento con y sin aceite esencial tendió a ser menor en el primer periodo de muestreo que en el segundo y tercer periodo (Figura 1). También, el valor del alimento para los murciélagos tendió a decrecer a través de las noches de experimento, particularmente por el alimento sin aceite esencial (Figure 1).

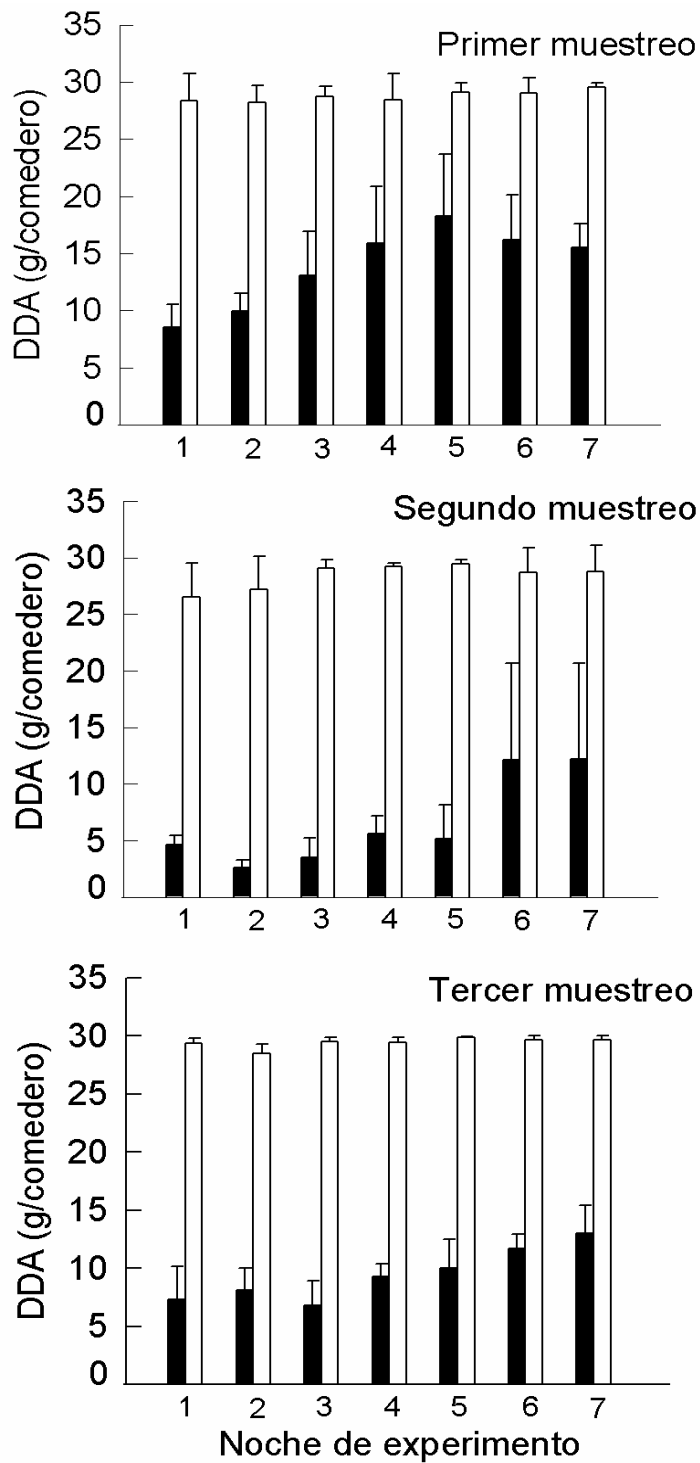


Figura 2. Relación entre la densidad de abandono (DDA) del forrajeo de *Carollia perspicillata* sobre alimento con (barras negras) o sin (barras blancas) aceites esenciales de *Piper nigrum* durante siete noches de experimento en tres periodos de muestreo. Los murciélagos significativamente prefirieron el alimento sin los aceites esenciales, pero el

efecto fue modulado por efectos temporales. Barras representan el promedio ajustado de cuadrados mínimos, y las barras de errores es la desviación estándar.

Discusión

Dado que algunos aceites esenciales de frutos de *Piper* neotropicales atraen a murciélagos del género *Carollia* (Mikich *et al.*, 2003; Parolin *et al.*, 2015), esperaba que los comederos con aceites esenciales de *P. nigrum* tendrían un mayor valor para *C. perspicillata* que comederos con sin ellos. Sin embargo, los aceites esenciales de pimienta negra tuvieron un efecto opuesto sobre el forrajeo de los murciélagos, y las DDAs fueron más altas en comederos con aceites esenciales. Estos resultados indican que los murciélagos no percibieron beneficios en el alimento con la presencia de aceites esenciales de pimienta negra. En experimentos de preferencia como este, altas DDAs indican una reducción en el valor marginal del alimento que se debe a que el forrajeador percibe el alimento con alguna toxina (Schmidt, 2010). Ratcliffe *et al.*, (2003) sugieren que los murciélagos frugívoros regularmente encuentran toxinas en su alimento, y generan fácilmente un gusto adverso por éstos. De acuerdo a los resultados, *C. perspicillata* tuvo un muy bajo consumo del alimento con aceites esenciales y por lo tanto los resultados indican que el murciélago *C. perspicillata* percibió el alimento con aceites esenciales como tóxicos.

Se ha reportado que *P. nigrum* es uno de los principales frutos consumidos por *C. brevicauda* en los Andes de Venezuela (Oria y Machado 2007). Este reporte claramente contradice nuestros resultados. Es posible que el comportamiento de forrajeo de *C. brevicauda* en ese sitio de estudio es un caso aislado. Otra posible explicación es que las semillas de *Piper* en la dieta de *C. brevicauda* hayan sido mal identificadas, y en realidad no pertenecían a *P. nigrum*. Probablemente esta última explicación tenga más peso, ya que en la descripción del sitio de estudio hecha por Oría y Machado (2007), la presencia de cultivos de *P. nigrum* no fue mencionada y en los resultados no hay mención de semillas de *Piper* nativos en las heces de ninguna de las siete especies de murciélagos frugívoros capturados. La ausencia de frutos nativos de *Piper* en la dieta de todos los murciélagos frugívoros de un ensamblaje neotropical no es una respuesta típica de esta región biogeográfica (Heithaus *et al.*, 1975; Mello *et al.*, 2004; Thies y Kalko, 2004; Barboza-Marquez y Aguirre, 2010; Suárez-Castro y Montenegro, 2015). Futuros estudios deberían re-examinar el aparente alto consumo de *P. nigrum* por *C. brevicauda* en Venezuela.

Este estudio también confirma que el tipo de comedero utilizado aquí puede ser usado para detectar el efecto de varios factores involucrados en el forrajeo de murciélagos neotropicales (Bernal-Páez y Sánchez, 2018). Detecté efectos espaciales y temporales que modularon por la preferencia de los alimentos ofrecidos a los murciélagos. Los efectos espaciales están relacionados a la estación de forrajeo, e indican que la jaula de vuelo no fue homogénea para los murciélagos. Concordante con este resultado, observé que durante los experimentos todos los murciélagos se ubicaron en una esquina de la jaula. Además, escogí sólo machos adultos para reducir efectos del estado reproductivo sobre la dieta de los murciélagos (Bohlender *et al.*, 2018). También se ha identificado una variación temporal durante el año en la dieta de estos murciélagos (Fleming y Heithaus, 1986; Mello *et al.*, 2004), por lo tanto esta relación temporal podría afectar nuestros resultados ya que los experimentos los realizamos en los diferentes periodos de muestreo.

Presiones evolutivas han modelado las características químicas de los frutos (Eriksson y Ehrl, 2014), por ejemplo, las plantas producen compuestos químicos en frutos carnosos con el objetivo de atraer dispersores de semillas y/o repeler depredadores de semillas (Cipollini y Levey, 1997; Mack, 2000). Así, se esperaría una variación en los compuestos químicos presentes en los frutos de las especies del mismo género con diferentes dispersores de semillas, y por extensión, de diferentes partes del mundo (Hodgkison *et al.* 2013). Así, especies de *Piper* del viejo mundo, como *P. nigrum* no atraerían animales frugívoros que sí son atraídos y dispersan especies de *Piper* del nuevo mundo, debido a diferencias en el perfil de compuestos químicos presentes en los frutos (Dyer *et al.*, 2004).

Murciélagos frugívoros tienen algunos mecanismos para encontrar y evaluar la calidad del alimento (Korine y Kalko, 2005; Sánchez *et al.*, 2008; Kalko y Condon, 2009). Por ejemplo, murciélagos del género *Carollia* usan la ecolocalización para ubicar los parches de alimento, reconocen texturas y usan señales olfativas para seleccionar los frutos de preferencia (Thies *et al.*, 1998). Así, murciélagos del género *Carollia* tienen un amplio grupo de herramientas sensoriales, para evaluar la calidad del alimento, y por lo tanto la presencia de los aceites esenciales de pimienta negra probablemente fueron detectados por varios sensores de los murciélagos. Fleming (1988) indica que murciélagos del género *Carollia* han desarrollado una particular predilección por frutos que permanecen constantemente disponibles en el área de forrajeo durante el año. Así, que esta puede ser otra razón por la

cual *C. perspicillata* no fue atraída por el aroma exótico de los aceites esenciales de pimienta negra, el cual sería un recurso raro en ambientes naturales del neotrópico.

Conclusión

A pesar de la estrecha relación entre los *Piper* Neotropicales y *C. perspicillata*, los resultados indican que los frutos de *P. nigrum* probablemente no atraen a estos murciélagos. Por lo tanto, es poco probable que estos murciélagos causen daños negativos en cultivos de pimienta, ya que el valor marginal del alimento con los aceites esenciales es menor respecto al alimento sin aceite esencial. Es necesario evaluar si otros mamíferos frugívoros, incluyendo otras especies del género *Carollia* presentes en el piedemonte de la cordillera oriental tienen la misma respuesta de *C. perspicillata* con los aceites esenciales de pimienta negra.

Referencias

Agencia de noticias UN. 2016. Promueven cultivo de pimienta por su potencial comercial. <<https://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/promueven-cultivo-de-pimienta-por-su-potencial-comercial.html>>.

Araújo MJC, Câmara CAG, Born FS, Moraes MM, Badji CA. 2012. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. *Experimental and Applied Acarology*, 57:139–155.

Autran ES, Neves IA, da Silva CSB, Santos GKN, Câmara CAG, Navarro DMAF. 2009. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Bioresource Technology*, 100, 2284–2288.

Baker RJ, Carter DC, Jones JK. 1976. *Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae*. Texas Tech Press, Lubbock

Baker R, Solari JS, Hoffmann FG. 2002. A new Central American species from the *Carollia brevicauda* complex. *Occasional Papers* 217:1–12.

Barboza-Marquez K, Aguirre LF. 2010. Patrones reproductivos del murciélago frugívoro de cola corta (*Carollia perspicillata*) relacionados con la fenología de *Piper* en un bosque montano de Bolivia. *Revista Boliviana De Ecología Y Conservacion Ambiental* 27:43–52.

Bernal-Páez C, Sánchez F. 2018. Harvest rates and foraging strategy of *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in an artificial food patch. *Behavioural Processes*:0–1.

Bernard CB, Krishanmurty HG, Chauret D, Durst T, Philogène BJR, Sánchez-Vindas P, Hasbun C, Poveda L, San Román L, Arnason JT. 1995. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. *Journal of Chemical Ecology*, 21, 801–814.

Bianconi GV, Mikich SB, Teixeira SD, Maia LNS. 2007. Attraction of Fruit-Eating Bats with Essential Oils of Fruits : A Potential Tool for Forest Restoration. *Biotropica*, 39, 136–140.

Bianconi GV, Suckow UMS, Cruz-Neto AP, Mikich SB. 2012. Use of Fruit Essential Oils to Assist Forest Regeneration by Bats. *Restoration Ecology*, 20, 211–217.

Bohlender EE, Pérez-Torres J, Borray-Escalante NA, Stevens RD. 2018. Dietary variation during reproduction in Seba's short-tailed fruit bat. *Journal of Mammalogy*, 1–10.

Brown JS. 1988. Patch use as an indicator of habitat preference, predation risk, and competition. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 37–47.

Brown J. 1992. Patch use under predation risk: I. Models and predictions. *Annales Zoologici*

Fennici, 301–309.

Brown JS. 2000. Foraging ecology of animal to response to heterogeneous environments. En: M. Hutchings, E. John, & A. Stewart (Editores). The ecological cosequences of environmental heterogeneity, First edit. Blackwell Science Ltda, Portland, OR. p. 435.

Brown JS, Kotler BP, Mitchell WA. 1994. Foraging Theory, Patch Use, and the Structure of a Negev Desert Granivore Community. *Ecology*, 75, 2286.

Charnov EL. 1976. Optimal Foraging , the Marginal Value Theorem. *Theoretical Population Biology*, 9, 129–136.

Cipollini ML, Levey DJ. 1997. Secondary metabolites of fleshy vertebrate-dispersed fruits: adaptive hypotheses and implications for seed dispersal. *The American Naturalist* 150:346–372.

Cloutier D, Thomas DW. 1992. *Carollia perspicillata*. Mammalian species, p. 1–9.

Dyer L, Palmer A. 2004. *Piper*: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology, and Evolution. New York. 214 p.

Dyer L, Richards J, Dodson C. 2004. Isolation, Synthesis, and Evolutionary Ecology of *Piper* Amides. En: Dyer L., Palmer A (Editores). *Piper: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology, and Evolution*. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York. p. 117–134.

Eriksson O, Ehrl J. 2014. Notes and comments secondary metabolites in fleshy fruits : are adaptive explanations needed ? *152:905–907*.

FAO, Food and Agriculture Organization of the Unites nation. 2011. Food and agriculture data.

Fenton AMB, Acharya L, Audet D, Hickey MBC, Merriman C, Obrist MK, Syme M, Adkins B. 2014. Phyllostomid Bats (Chiroptera : Phyllostomidae) as Indicators of Habitat Disruption in the Neotropics. *BIOTROPICA*. 24(3): 440–446.

Fleming TH.1987. Fruit Bats : Prime Movers of Tropical Seeds. *BAT Magazing*. 5: 1–5.

Fleming TH.1988. The Short Tailed Fruit Bat. A study in plant-animal interactions. The University chigaco Press. Chicago. 384 pp.

Fleming TH. 2004. Dispersal ecology of neotropical *Piper* shrubs and treelets. En: Dyer LA y Palmer A (editores). *Piper: a Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology, and Evolution*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. p. 58–77.

Fleming TH, Geiselman C, Kress WJ. 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*, 104: 1017–1043.

Fleming TH, Heithaus ER. 1986. Seasonal foraging behavior of the frugivorous bat *Carollia perspicillata*. *Journal of Mammalogy* 67:660–671.

Fleming TH, Kress JW. 2011. A brief history of fruits and frugivores. *Vegetatio*, 37: 521–530.

Gardner AL. 1977. Feeding habits. En: R. Baker, J. Jones, & D. Carter (Editores) *Biology of bats of the New World family Phyllostomidae*. Texas Tech University, Lubbock, Texas, USA. p. 293–350.

Gonzalez-Terrazas TP, Martel C, Milet-Pinheiro P, Ayasse M, Kalko EKV, Tschapka M 2016. Finding flowers in the dark: nectar-feeding bats integrate olfaction and echolocation while foraging for nectar. *Royal Society open science*, 3: 160-199.

Harrison DM, Daley AJ, Rauntebacher K, Loughnan PM, Manias E, Jonston LJ. 2007. Bacterial contamination of oral sucrose solutions. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* 92:F155.

Heithaus ER, Fleming TH, Opler P. 1975. Foraging Patterns and Resource Utilization in Seven Species of Bats in a Seasonal Tropical Forest. *Ecology*, 56: 841–854.

Hodgkison R, Ayasse M, Häberlein C, Schulz S, Zubaid A, Mustapha WAW, Kunz TH, Kalko EKV. 2013. Fruit bats and bat fruits: The evolution of fruit scent in relation to the foraging behaviour of bats in the New and Old World tropics. *Functional Ecology*. 27: 1075–1084.

Janzen DH. 1970. Herbivores and the Number of Tree Species in Tropical Forests. *The American Naturalist*, 104: 501–528.

Jaramillo OO. 2016. Soil preparation, technical requirements for planting pepper (*Piper nigrum*), in the Colombian Amazon. *SENNOVA*, 2: 84–97.

Jirovetz L, Buchbauer G, Ngassoum MB, Geissler M. 2002. A roma compound analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction – gas chromatography, solid-phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry and olfactometry. *Journal of chromatography*, 976: 265–275.

Kalko EKV, Condon MA. 2009. Echolocation, olfaction and fruit display: how bats find fruit of flagelliferous cucurbits author. *British ecological society* 12:364–372.

Korine C, Kalko EKV. 2005. Fruit detection and discrimination by small fruit-eating bats (Phyllostomidae): Echolocation call design and olfaction. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59:12–23.

Kuehl R. 2000. *Design of experiments: statistical principles of research design and analysis*. Duxbury Press, Pacific Grove, CA, Usa.

Kunz TH, de Torre EB, Bauer D, Lobova T, Fleming TH. 2011. Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1223: 1–38.

- Laska M. 1990. Olfactory discrimination ability in short-tailed fruit bat, *carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomatidae). *Journal of Chemical Ecology*. 16: 3291–3299.
- Lobova TA, Geiselman CK, Mori SA, New York Botanical Garden. 2009. Seed Dispersal by Bats in the Neotropics. New York Botanical Garden. New York.
- Mack AL. 2000. Did fleshy fruit pulp evolve as a defence against seed loss rather than as a dispersal mechanism? *Journal of Biosciences* 25:93–97.
- Marsman M, Wagenmaker EJ. 2017. Bayesian benefits with JASP. *European Journal of Developmental Psychology* 14:545–555.
- Mello MAR, Schittini GM, Selig P, Bergallo HG. 2004. Seasonal variation in the diet of the bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in an Atlantic Forest area in southeastern Brazil. *Mammalia*, 68: 49–55.
- Mikich SB, Bianconi GV, Helena B, Sales LN. 2003. Attraction of the fruit-eating bat *Carollia perspicillata* to *Piper gaudichaudianum* essential oil. *Journal of Chemical Ecology*. 29: 2379–2383.
- Minorta-Cely V, Rangel-Ch O. 2014. The Climate of the Orinoquian region of Colombia. *Colombia Diversidad Biológica XIV: La Región de la Orinoquia de Colombia*, 14: 153–206.
- Muscarella R, Fleming TH. 2007. The Role of Frugivorous Bats in Tropical Forest Succession. *Biological review*, 82: 573–590.
- Navickiene HMD, Alécio AC, Kato MJ, Bolzani V da S, Young MCM, Cavalheiro AJ, Furlan M. 2000. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*. 55: 621–626.
- ODC. Observatorio de drogas de Colombia. 2015. En Putumayo cayó la coca y creció la panela, el cacao y la pimienta. Bogotá, Colombia .
- Oria FV, Machado MC. 2007. Diet Determination of some neotropical bat species (Mammalia: Chiroptera) from the Cordillera Central de Venezuela. *Faraute*, 2, 5–15.
- Parolin LC, Mikich SB, Bianconi GV. 2015. Olfaction in the fruit-eating bats *Artibeus lituratus* and *Carollia perspicillata*: An experimental analysis. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 87: 2047 - 2053.
- Pujo V, Díaz J, Rodríguez E, Arias ML. 2008. Contaminación microbiológica y actividad antimicrobiana del azúcar de caña cristalizado sobre algunos agentes de interés médico en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 56:431–437
- Ravindran P. 2005. Black Pepper. *Piper Nigrum*. Harwood ac (ed). India. P, 563.
- Richardson JTE. 2011. Eta squared and partial eta squared as measures of effect size in educational research. *Educational Research Review* 6:135–147.

Rodríguez-Hoyos JJ. 2013. Diagnóstico de la empresa agroindustrial Condimentos Putumayo. *Imanimundo V: Un río de saber*. Universidad Nacional sede Amazonas, Bogotá p. 234..

Rojas D, Vale Á, Ferrero V, Navarro L. 2011. When did plants become important to leaf-nosed bats? Diversification of feeding habits in the family Phyllostomidae. *Molecular Ecology*. 20:2217–2228.

Rouder JN, Morey RD, Verhagen J, Swagman AR, Wagenmakers EJ. 2017. Bayesian analysis of factorial designs. *Psychological Methods* 22:304–321.

Rueldas D. 2017. Diferenciación morfológica de *Carollia brevicauda* y *C. perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) de Perú y Ecuador. *Revista Peruana de Biología* 24:363.

Sanchez F, Korine C, Steeghs M, Laarhoven L, Cristescu SM, Harren FJM, Dudley R, Pinshow B. 2006. Ethanol and Methanol as Possible Odor Cues for Egyptian Fruit Bats (*Rousettus aegyptiacus*). *Journal of Chemical Ecology*, 32: 1289–1300.

Sánchez F, Korine C, Kotler BP, Pinshow B. 2008. Ethanol concentration in food and body condition affect foraging behavior in Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*). *Naturwissenschaften*.

Sánchez F, Kotler BP, Korine C, Pinshow B. 2008. Sugars are complementary resources to ethanol in foods consumed by Egyptian fruit bats. *Journal of Experimental Biology* 211:1475–1481.

Schmidt KA. 2010. Interactions between food chemistry and predation risk in fox squirrels published by : Ecological Society of America. *Food Chemistry* 81:2077–2085.

Solari S, Muñoz-Saba Y, Rodríguez-Mahecha V, Defler TR, Ramírez-Cháves HE, Trujillo F. 2013. Riqueza, endemismo y conservación de los mamíferos de Colombia. *Mastozoología Neotropical/Journal of Neotropical Mammals* 20:301–365.

Suárez-Castro AF, Montenegro OL. 2015. Consumo de plantas pioneras por murciélagos frugívoros en una localidad de la Orinoquia Colombiana. *Mastozoología Neotropical/Journal of Neotropical Mammals* 22:125–139.

Thangaselvabal T, Justin CGL, Leelamathi M. 2008. Black pepper (*Piper nigrum* L.) 'the king of spices' – A review. *Agricultural Reviews*. 29: 89–98.

Thies W, Kalko EKV. 2004. Phenology of neotropical pepper plants (Piperaceae) and their association with their main dispersers, two short-tailed fruit bats, *Carollia perspicillata* and *C. castanea* (Phyllostomidae). *OIKOS*, 104: 362–376.

Thies W, Kalko EKV, Schnitzler HU. 1998. The roles of echolocation and olfaction in two Neotropical fruit-eating bats, *Carollia perspicillata* and *C. castanea*, feeding on *Piper*.

Behavioral Ecology and Sociobiology. 42: 397-409.

Tilman D. 1982. Resource Competition and Community Structure, 1st ed. Princeton University Press, New Jersey.

Whitehead SR, Quesada MFO, Bowers MD. 2015. Chemical tradeoffs in seed dispersal: defensive metabolites in fruits deter consumption by mutualist bats. *Oikos*. 125: 927–937.

WWO. 2018. World Weather Online. <<https://www.worldweatheronline.com/>>.

Zar J. 2010. Biostatistical Analysis, Fifth edit. Pearson education, Inc, New Jersey.

Zurc D, Velasco P. 2010. Análisis morfológico y morfométrico de *Carollia colombiana* Cuartas et al. 2001 y *C. monohernandezii* Muñoz et al. 2004 (Phyllostomidae: Carollinae) en Colombia. *Chiroptera Neotropical* 16:567–572.

Capítulo 2. Manuscrito sometido a la revista *Mammal Study*

DO YOU LIKE IT SPICY? FORAGING OF A NEOTROPICAL FRUIT BAT ON
FOOD WITH BLACK PEPPER ESSENTIAL OILS

Orlando F. Hernández-Leal^{1*}; Francisco Sánchez²

¹*Unillanos Wild Mammals Study Group, Programa de Biología, Facultad de Ciencias
Básicas e Ingeniería, Universidad de los Llanos.*

²*Grupo ECOTONOS, Museo de Historia Natural-Unillanos, Programa de Biología,
Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad de los Llanos.*

Running head: Fruit bats foraging on food with essential oils

Total number of words: 4335

* Corresponding author:

Orlando F. Hernández-Leal, orlando.hernandez@unillanos.edu.co

Abstract

Black pepper, *Piper nigrum*, is originally from Asia and is an important spice in the world market. In regions such as the Andean foothills of Colombia, growing black pepper has been considered. However, Neotropical fruit bats of the genus *Carollia* regularly consume the fruits of Neotropical *Piper* plants. Consequently, we ask the question: are black pepper crops attractive to these bats, thus negatively affecting the crops? Since *Carollia* bats are attracted to the essential oils of Neotropical *Piper* species, we used optimal patch use theory to study the food preferences of captive *C. perspicillata* for food with or without black pepper essential oils. We offered captive bats sucrose-water mixtures with and without the essential oils of *P. nigrum* and we measured giving-up densities (GUD), i.e., the amount of food left after the bats finished foraging. The addition of the essential oils increased the bats' GUD, indicating that they treated this food as containing a toxin. Also, the effect of the essential oils on the bats' foraging depended on the experimental night, sampling period, and foraging station. Our results suggest that *C. perspicillata* does not threaten potential black pepper crops in the Andean foothills.

Keywords. *Andean foothills, chemical ecology, frugivorous bats, plant-animal interactions, optimal patch use.*

Introduction

Black pepper, *Piper nigrum*, is an economically important spice that belongs to the family Piperaceae (Thangaselvabal et al. 2008). The species is originally from Indian forests, but it is currently grown in several continents, and its production generates more than US\$500 million per year (Ravindran 2005). Brazil, Mexico and Ecuador are the main producers of black pepper in Latin America with 44610, 3453 and 2234 tons per year, respectively. The United States is the largest importer of this spice in the world (FAO 2011). Colombia has to import black pepper too, and a few areas of its Putumayo department are devoted to commercial crops (Rodríguez 2013). However, an increase in the area of crops in the country is expected, since it is one of the economical options planned to replace illegal crops during the post-conflict era, after the dismantling of a Colombian guerrilla (ODC 2015). In the Neotropics, black pepper plantations are associated with hot and wet areas, such as Putumayo (Jaramillo 2016). Therefore, this suggests that areas on the Andean foothills could be used for future additional black pepper crops.

In the Neotropics, several species of *Piper* have a close relationship with bats of the genus *Carollia* (Fleming 1987, 1988). For instance, more than 50% of the diet of *C. perspicillata* may consist of *Piper* fruits (Thies and Kalko 2004), and phenology of *Piper* plants may also influence the reproductive activity of this bat species (Mello et al. 2004). Also, *Carollia* bats appear to forage more in areas abundant in *Piper* than in areas abundant in *Ficus* (Kalko et al. 1996; Bianconi 2007; Parolin and Mikich 2015). *Carollia* bats are amongst the most common bats in rural areas of the Neotropics, including Colombia (Suárez-Castro and Montenegro 2015; Casallas et al. 2017). Also, it has been reported that *C. brevicauda* in Venezuela feeds on *P. nigrum* fruit (Oria and Machado 2007). In the light of the above, it is possible that these bats may threaten the productivity of black pepper plantations. We examined this idea by using optimal patch use theory.

An optimal forager should exploit a feeding patch as long as benefits are greater than the costs (Brown 1988). The foraging costs are associated to the energy used to obtain food, the perceived costs of predation, and the opportunities missed while exploiting the patch, whereas the benefits are linked to the harvest rate (Brown 1988, 1992). According to the

model, in a patch where a forager experiences diminishing returns, the harvest rate at which the forager decides to abandon the patch can be estimated from the amount of food left in the patch after foraging, i.e., the giving-up density (GUD). Thus, the GUD relates to the perception of costs and benefits experienced by the forager in a food patch, and can be used to determine food preferences (Brown 1988; Hochman and Kotler 2006). Since *Carollia* bats use aromatic compounds of essential oils of Neotropical *Piper* plants to find fruit (Mikich et al. 2003; Bianconi et al. 2007; Parolin et al. 2015), we hypothesize that the essential oils of black pepper fruit in food affects the foraging behavior of *C. perspicillata*. Therefore, we expected differences in GUDs of the bats foraging on food with or without essential oils of black pepper.

Materials and methods

Study area. We did the experiments on the campus of the Universidad de los Llanos, km 12 via Puerto López, municipality of Villavicencio, Meta department; 4° 4' 23.2" N, 73° 35' 04" W; ~400 m a.s.l. The University campus is on the Eastern Cordillera foothills, with an average annual precipitation of 3643.4 mm; rainy season is between March and November, and a dry season between December and February (Minorta and Rangel 2014). Annual average air temperature is 295.82 K (WWO 2018).

Study animals and capture. *Carollia perspicillata* belongs to the family Phyllostomidae, subfamily Carollinae. It has a body mass of ~18.5 g and is widely distributed in Neotropical America (Cloutier and Thomas 1992; McLellan and Koopman 2007). This bat is known to consume mainly fruits of pioneer plants, which are key to forest regeneration (Heithaus et al. 1975; Fleming 1988; Muscarella and Fleming 2007), and help maintaining plant diversity in Neotropical forests (Janzen 1970).

We used two mist nests (12 × 2.5 m) to capture adult males of *C. perspicillata* on campus. We captured nine different animals for each one of the sampling periods (see below). We tattooed and took standard measurements of the bats to allow individual identifications (Kunz and Parson 2009), and also weighed all captured bats at the beginning and end of the experiments to monitor their physical condition. After the experiments, all bats were released

back at the site of capture. We did the study under permit 0375, 06.Apr. 2016, of the Colombian Authority for Environmental Licenses. We followed the Guidelines for the Procedure of Obtaining Mammal Specimens as Approved by the Mammal Society of Japan. In addition, animal care and use was approved by a bioethics committee appointed by the Research Office of the Universidad de los Llanos.

Foraging experiments. We did the experiments in a flight cage of rectangular, cuboid shape (160 × 124 × 185 cm). In the cage, there were four foraging stations, each one with two artificial feeders placed beside each other. The distance between adjacent stations was about 80 cm. Each feeder was a cylindrical, plastic container (height = 67 mm; diameter = 35 mm), with the top open allowing the bats to drink liquid food from them. These feeder has already been used to study the foraging behavior of *C. perspicillata* (Bernal-Páez and Sánchez 2018). Each feeder contained 30 mL of sugar water (30% w/w) mixed with 250 glass beads (3,867 ± 0,0305 mm diameter) to interfere with the bats' feeding behavior and generate diminishing returns in their harvest rate (Sánchez 2006). We habituated the bats to the cage and the artificial feeders for two or three days; during that time we used small banana pieces to attract the bats to the feeders. After the habituation period, sucrose-water mixtures were the only food for the bats. During the experiments, the feeders contained 30 mL of the sucrose-water mixture, and at a station only one of them also had 0.33 mL of essential oil extract of *P. nigrum*, whereas the other one did not. The feeder with the extract at each station was chosen randomly. We used commercial essential oil and calculated the amount of extract added based on the maximum amount recorded per gram in the fruit of *P. nigrum* (Jirovetz et al. 2002). We offered the feeders to the bats in three sampling periods, each one of seven days for a total of twenty one nights of experiments. During every experimental night, we offered the feeders from 17:00 h until 07:00 h of the next day. We weighed the feeders with and without food before the beginning, and at the end of each experimental night to obtain the amount of food left in each artificial feeder, i.e., the GUDs. We washed the feeders at the end of every experimental night.

Statistical analyses. For the analyses, we assigned GUDs as the dependent variable, whereas the essential oil treatment, the foraging station, experimental night, and sampling period were

entered as fixed factors. We applied Bayesian analyses of variance to select the model with major effect on the GUDs and calculated Bayes factors (Marsman and Wagenmakers 2017; Rouder et al. 2017) using JASP software v. 0.9.01 (JASP Team 2018, available at <https://jasp-stats.org>). Additionally, we ran a general linear model (GLM) based on the selected model (Zar 2010) using IBM SPSS 22. We analyzed residuals to test the assumptions of the GLM (Kuehl 2000), and used $\alpha= 0.05$ as significance level. We also used the partial eta squared (η^2_p) as measurement of effect size, because it provides a measure of the proportion of the total variance in a dependent variable that is related with an independent variable, while removing the effect of other factors (Richardson 2011).

Results

According to the Bayesian analyses, the major model ($P(M)= 0.006$; $P(M|data)= 0.388$; $BF_{10}= 2.142e^{+85}$) included the following factors: essential oils treatment, sampling period, experimental night, foraging station, sampling period \times foraging station, sampling period \times essential oil treatment, experimental night \times essential oil treatment, and sampling period \times foraging station \times essential oil treatment. Also, the factors with the highest impact on the odds in favor of models that included them were the essential oil treatment, the sampling period, the interaction between these two factors, and the experimental night (Table 1). All the factors of the major model proved to have significant effects in the GLM (Table 2). Furthermore, the essential oil treatment, sampling period, experimental night and the interaction sampling period \times essential oil treatment had the largest effect sizes, whereas the other factors had moderate effect sizes (Table 2). The addition of the essential oils to the food had the largest size effect on the GUD's, and the bats left most of the food when it contained the essential oils (Figure 1). Nevertheless, the effect of the essential oils was modulated by the sampling periods, and for example the difference between GUDs of food with and without essential oils tended to be lower in the the first sampling period than in the second and third periods (Fig 1). Also, the value of food for the bats tended to decreased throughout experimental nights, particularly for the food without essential oils (Figure 1).

Discussion

Since essential oils of several Neotropical *Piper* species attract *Carollia* bats (Mikich et al. 2003; Parolin et al. 2015), it could be expected that feeders with essential oils of *P. nigrum* would be more valuable for *C. perspicillata* than feeders without them. However, the essential oils of black pepper had the opposite effect on the bats, and the GUD's were higher in feeders with essential oils. These results indicate that bats did not perceive benefits from the essential oils presence in the food. In fact, high GUD's in preference experiments such as ours indicate a reduction in the marginal value of food, and that the forager treats the food as containing a toxin (Schmidt 2000). Our results agree with those from Ratcliffe et al. (2003), who have suggested that frugivorous bats, which may regularly find toxins in food, quickly learn taste aversions, and consequently *C. perspicillata* had a very low consumption of the food with essential oils.

It has been reported that *P. nigrum* is one of the main fruits consumed by *C. brevicauda* in Central Andes of Venezuela (Oria and Machado 2007). This report clearly contradicts our results. It is possible that the foraging behavior of *C. brevicauda* in that study site is an isolated case. An alternative explanation is that the seeds of *Piper* in the diet of *C. brevicauda* were misidentified, and they did not actually belong to *P. nigrum*. We are inclined to think that it is the later, since in the description of the study site by Oría and Machado (2007), the presence of *P. nigrum* crops is not mentioned and in the results there is no mention of any native *Piper* seeds in the feces of any of the seven frugivorous bats examined. The absence of native *Piper* fruits in the diet of any of the bats of a Neotropical assemblage is definitely not typical (Heithaus et al. 1975; Mello et al. 2004; Thies and Kalko 2004; Barboza-Marquez and Aguirre 2010; Suárez-Castro and Montenegro 2015). We suggest that future studies should re-examine the apparent high consumption of *P. nigrum* by *C. brevicauda* in Venezuela.

Our results also confirm that the type of feeder used here can be used to detect the effect of various factors involved in the foraging of Neotropical bats (Bernal-Páez & Sánchez 2018). We detected both spatial and temporal effects modulating the preference for the foods offered to the bats. The spatial effects are associated to the feeding stations, and indicate the flight cage was not homogeneous for the bats, and in accordance with that, we observed during the

experiments that the bats placed themselves together in only one of the corners of cage. Also, we chose only adult males to reduce effects in reproductive state, but seasonal changes in the diet of this bat have been recorded (Fleming and Heithaus 1986; Bohlender et al. 2018), and there could have been physiological differences in the individuals which were not obvious during our inspections that could affect our results in different sampling periods. Since we used different individuals during each sampling period, and we only used nine individuals each time, a small sample size effect may also be responsible for the pattern found.

Evolutionary pressures have modeled the chemical characteristics of fruits (Eriksson and Ehrl 2014), and for instance, plants produce chemical compounds in fleshy fruits that are meant to attract seed dispersers and/or repel seed predators (Cipollini and Levey 1997; Mack 2000). Thus, it is expected variation in the chemical compounds present in the fruits plant species of the same genus with different seed dispersers, and by extension, from different parts of the world (Hodgkison et al. 2013). Hence, Old World *Piper* species, such as *P. nigrum* may not attract the frugivorous animals which are attracted and disperse *Piper* species of the New World due to differences in the profile of chemical compounds present in the fruits (Dyer et al. 2004). Frugivorous bats have several mechanisms to find and assess food quality (Korine and Kalko 2005; Sánchez et al. 2008; Kalko and Condon 2009). For instance, *Carollia* bats use echolocation to locate food patches, recognize textures and then use olfactory signals to select the preferred fruit (Thies et al. 1998). This means that *Carollia* bats have a wide set of sensory tools, besides taste, to evaluate food quality, and the presence of the black pepper oils could have been detected by various sensors in the bats. Also, Fleming (1988) indicates that *Carollia* bats have developed a particular predilection for fruits that remain constantly available during the year in foraging areas. Thus, this may be another reason why *C. perspicillata* was not attracted by the exotic aroma and taste of the black pepper essential oils, which is a novel resource in the Neotropics.

In conclusion, despite the close relationship between the Neotropical *Piper* and *C. perspicillata*, our results indicate that *P. nigrum* fruit will probably not attract these bats. Therefore, it appears unlikely that the bats would eat considerable amounts from black pepper crops, if at all, due to the action of essential oils. Several species of frugivorous mammals,

including at least two more *Carollia* species inhabits the Eastern Cordillera foothills (Solari et al. 2013), and future experiments should consider testing whether these species have the same response of *C. perspicillata* to black pepper essential oils.

Acknowledgments

This research was supported by a grant from Universidad de los Llanos, project code C01-F02- 033-2016. Thanks to Carolina Rodríguez for her help during preliminary experiments. The Biology Laboratory of the University provided a place for the preparation of the food mixtures. We thank Burt Kotler, Miguel Navarro and Jorge Astwood for discussions in the early stages of the project and Dinesh Rao for proof-reading the paper. This is the publication number 008 of the Museum of Natural History - Unillanos.

REFERENCES

- Barboza-Marquez, K., and Aguirre, L. F. 2010. Patrones reproductivos del murciélago frugívoro de cola corta (*Carollia perspicillata*) relacionados con la fenología de *Piper* en un bosque montano de Bolivia. *Revista Boliviana de Ecología y Conservación Ambiental* 27: 43–52.
- Bernal-Páez, C., and Sánchez, F. 2018. Harvest rates and foraging strategy of *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in an artificial food patch. *Behavioural Processes* DOI: 10.1016/j.beproc.2018.07.010.
- Bianconi, G. V, Mikich, S. B., Teixeira, S. D. and Maia, B. H. L. N. S. 2007. Attraction of fruit-eating bats with essential oils of fruits : a potential tool for forest restoration. *Biotropica*, 39: 136–140. DOI: 10.1111/j.1744-7429.2006.00236.x.
- Bohlender, E. E., Pérez-Torres, J., Borray-Escalante, N. A., and Stevens, R. D. 2018. Dietary variation during reproduction in Seba’s short-tailed fruit bat. *Journal of Mammalogy* 99: 440–449. DOI: 10.1093/jmammal/gyx189.
- Brown, J. S. 1988. Patch use as an indicator of habitat preference, predation risk, and competition. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 22: 37–47. DOI: doi.org/10.1007/BF00395696.
- Brown, JS. 1992. Patch use under predation risk: I. Models and predictions. *Annales Zoologici Fennici* 29: 301-309. www.jstor.org/stable/23735632. (Accessed 12 Dec 2017).

Casallas, D., Calvo, N. and Rojas, R. 2017. Seed dispersal by bats over successional gradients in the Colombian Orinoquia (San Martín, Meta, Colombia). *Acta biológica colombiana* 22: 348–358. DOI: 10.15446/abc.v22n3.63561.

Cipollini, M. L. and Levey, D. J. 1997. Secondary metabolites of fleshy vertebrate-dispersed fruits: adaptive hypotheses and implications for seed dispersal. *The American Naturalist* 150: 346–372. DOI: 10.1086/286069.

Cloutier, D. and Thomas, D.W. 1992. *Carollia perspicillata*. Mammalian species. *The American society of mammalogists* 417: 1–9. DOI: 10.2307/3504157.

Dyer, L., Richards, J. and Dodson, C. 2004. Isolation, Synthesis, and Evolutionary Ecology of Piper Amides. In (Dyer, L and Aparna, D.N.P. eds). *Piper: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology, and Evolution* pp. 117–134. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York.

Eriksson, O. and Ehrl, J. 2014. Secondary metabolites in fleshy fruits: Are adaptive explanations needed?. *The American Naturalist* 152: 905–907. DOI: 10.1086/286217.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2011. Food and agriculture data. Available at <http://www.fao.org/faostat/en/#search/pepper>. (Accessed 04 Dec 2016).

Fleming, T. H. and Heithaus, E. R. 1986. Seasonal Foraging Behavior of the Frugivorous Bat *Carollia perspicillata*. *Journal of Mammalogy* 67: 660–671.

Fleming, T. H. 1987. Fruit bats: prime movers of tropical seeds. *Bats Magazine*, 5: 3-8. http://www.batcon.org/resources/media-education/bats-magazine/bat_article/289. (Accessed 9 Mar 2018).

Fleming, T. H. 1988. The short-tailed fruit bat. A study in plant-animal interactions. The University of Chicago Press. Chicago. 384 pp.

Heithaus, E. R., Fleming, T. H. and Opler, P. 1975. Foraging Patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* 56: 841–854. DOI: 10.2307/1936295.

Hochman, V. and Kotler, B. P. 2006. Effects of food quality, diet preference and water on patch use by Nubian ibex. *Oikos* 112: 547-554. DOI: doi.org/10.1111/j.0030-1299.2006.14214.x.

Hodgkinson, R., Ayasse, M., Häberlein, C., Schulz, S., Zubaid, A., Mustapha, W. A. W., Kunz, T. H. and Kalko, E. K. V. 2013. Fruit bats and bat fruits: The evolution of fruit scent

in relation to the foraging behaviour of bats in the New and Old World tropics. *Functional Ecology* 27: 1075–1084. DOI: 10.1111/1365-2435.12101.

Janzen, D. H. 1970. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *The American Naturalist* 104: 501–528. <http://www.jstor.org/stable/2459010> (Accessed 9 Mar 2018).

Jaramillo, O. O. 2016. Soil preparation, technical requirements for planting pepper (*Piper nigrum*), in the Colombian Amazon. *SENNOVA* 2: 84–97.

Jirovetz, L., Buchbauer, G., Ngassoum, M. B., and Geissler, M. 2002. Aroma compound analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction – gas chromatography, solid-phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry and olfactometry. *Journal of chromatography* 976: 265–275. DOI: [10.1016/S0021-9673\(02\)00376-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00376-X).

Kalko, E. K. V. and Condon, M. A. 2009. Echolocation, olfaction and fruit display: how bats find fruit of Flagellichorous cucurbits. *British Ecological Society* 12: 364–372. DOI: 10.1046/j.1365-2435.1998.00198.x.

Kalko, E. K., Herre, E. A. and Handley, C. O. 1996. Relation of fig fruit characteristics to fruit-eating bats in the New and Old World tropics. *Journal of Biogeography* 23: 565–576. DOI: 10.1111/j.1365-2699.1996.tb00018.x.

Korine, C. and Kalko, E. K. V. 2005. Fruit detection and discrimination by small fruit-eating bats (Phyllostomidae): Echolocation call design and olfaction. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59: 12–23. DOI: doi.org/10.1007/s00265-005-0003-1.

Kuehl, R. 2000. *Design of experiments: statistical principles of research design and analysis*. Duxbury Press, Pacific Grove, CA, Usa. 666, pp.

Kunz, T. H., Parsons, S. 2009. *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. 2nd ed. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, USA. 920 pp.

Mack, A. L. 2000. Did fleshy fruit pulp evolve as a defence against seed loss rather than as a dispersal mechanism? *Journal of Biosciences* 25: 93–97. DOI: 10.1007/BF02985186.

Marsman, M. and Wagenmakers, E. J. 2017. Bayesian benefits with JASP. *European Journal of Developmental Psychology* 14: 545–555. DOI: 10.1080/17405629.2016.1259614

McLellan, L. J. and Koopman, K. F. 2007. Subfamily Carolliinae. In (Gardner, A. L., ed.) *Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats*, pp 208-

217. The University of Chicago Press, Chicago.

Mello, M. A. R., Schittini, G. M., Selig, P. and Bergallo, H. G. 2004. Seasonal variation in the diet of the bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in an Atlantic Forest area in southeastern Brazil. *Mammalia* 68: 49–55. DOI: 10.1515/mamm.2004.006

Mikich, S. B. Bianconi, G. V., Helena B. and Sales L. N. 2003. Attraction of the fruit-eating bat *Carollia perspicillata* to *Piper gaudichaudianum* essential oil. *Journal Chemical Ecology* 29: 2379–2383. DOI: doi.org/10.1023/A:1026290022642.

Minorta, C. V., and Rangel, Ch. O. 2014. The Climate of the Orinoquian region of Colombia. *Colombia Diversidad Biótica XIV: La Región de La Orinoquia de Colombia*, 14: 153–206.

Muscarella, R. and Fleming, T. H. 2007. The role of frugivorous bats in tropical forest succession. *Biological review* 82: 573–590. DOI: 10.1111/j.1469-185X.2007.00026.x.

ODC. Observatorio de Drogas de Colombia. 2015. En Putumayo cayó la coca y creció la panela, el cacao y la pimienta. <https://www.odc.gov.co/INICIO/Noticias/ArtMID/2976/ArticleID/1132/En-Putumayo-cay243-la-coca-y-creci243-la-panela-el-cacao-y-la-pimienta>. (Accesed 9 Dec 2017).

Oria, F. V, and Machado, M. C. 2007. Diet determination of some neotropical bat species (Mammalia: Chiroptera) from the Cordillera Central de Venezuela. *Faraute* 2(2): 5-15. servicio.bc.uc.edu.ve/facyt/v2n2/2-2-1.pdf. (Accesed 11 Dec 2017).

Parolin, L. C., Mikich, S. B. and Bianconi, G. V. 2015. Olfaction in the fruit-eating bats *Artibeus lituratus* and *Carollia perspicillata*: An experimental analysis. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias* 87(4): 2047–2053. DOI: dx.doi.org/10.1590/0001-3765201520140519

Ratcliffe, J. M., Fenton, M. B. and Galef, B. G. 2003. An exception to the rule: common vampire bats do not learn taste aversions. *Animal behaviour* 65(2):385–389. DOI: 10.1006/ANBE.2003.2059

Ravindran, P. 2005. Black pepper. *Piper nigrum*. Harwood ac. India. 526 pp.

Richardson, J. T. E. 2011. Eta squared and partial eta squared as measures of effect size in educational research. *Educational Research Review* 6:135–147. DOI: 10.1016/J.EDUREV.2010.12.001

Rodríguez-Hoyos, J. J. 2013. Diagnóstico de la empresa agroindustrial Condimentos Putumayo. Imanimundo V: Un Río de Saber. Bogotá DC.

<http://www.bdigital.unal.edu.co/52756/43/9789587615630.cap.8.pdf>. (Accesed 28 Nov 2017).

Rouder, J. N., Morey, R. D., Verhagen, J., Swagman, A. R. and Wagenmakers, E. J. 2017. Bayesian analysis of factorial designs. *Psychological Methods* 22:304–321. DOI: 10.1037/met0000057.

Sánchez, F. 2006. Harvest rates and patch use strategy of Egyptian fruit bats in artificial food patches. *Journal of Mammalogy* 87: 1140-1144. DOI: 10.1644/05-MAMM-A-415R2.1.

Sánchez, F., Korine, C., Kotler, B.P., and Pinshow, B. 2008. Ethanol concentration in food and body condition affect foraging behavior in Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*). *Naturwissenschaften* 95(6): 561-567. DOI: 10.1007/s00114-008-0359-y.

Schmidt, K.A. 2000. Interactions between food chemistry and predation risk in fox squirrels. *Ecology* 81: 2077-2085. DOI: 10.1890/0012-9658(2000)081[2077:IBFCAP]2.0.CO;2.

Solari, S., Muñoz, S. Y., Rodríguez, M. J. V, Defler, T. R., Ramírez, CH. H. E., and Trujillo, F. 2013. Riqueza, endemismo y conservación de los mamíferos de Colombia. *Mastozoología Neotropical* 20: 301-365. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0327-93832013000200008 . (Accesed 28 Nov 2017).

Suárez-Castro, A. F. and Montenegro, O. L. 2015. Consumo de plantas pionera por murciélagos frugívoros en una localidad de la Orinoquia Colombiana. *Mastozoología Neotropical/Journal of Neotropical Mammals* 22: 125–139. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0327-93832015000100013 (Accessed 05 August 2018).

Thangaselvabal, T., Justin, C. G. L. and Leelamathi, M. 2008. Black pepper (*Piper nigrum* L.) the king of spices - A review. *Agricultural Reviews* 29: 89–98. <http://www.arccjournals.com/uploads/articles/ar292002.pdf>. (Accesed 10 Dec 2017).

Thies, W., Kalko, E. K. V. and Schnitzler, H. U. 1998. The roles of echolocation and olfaction in two Neotropical fruit-eating bats, *Carollia perspicillata* and *C. castanea*, feeding on *Piper*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 42: 397–409. DOI: 10.1007/s002650050454

Thies, W. and Kalko, E. K. 2004. Phenology of neotropical pepper plants (Piperaceae) and their association with their main dispersers , two short-tailed fruit bats, *Carollia perspicillata* and *C. castanea* (Phyllostomidae). *Oikos* 104: 362-376. DOI: 10.1111/j.0030-

1299.2004.12747.x.

WVO. 2018. World Weather Online. <<https://www.worldweatheronline.com/>>.

Zar, J. 2010. Biostatistical Analysis. Pearson education, Inc, New Jersey, 944 pp.

Figure legend

Figure 1. Relationship between the giving-up densities (GUD) of *Carollia perspicillata* feeding on foods with (black bars) or without (white bars) essential oils of *Piper nigrum* during seven experimental nights in three sampling periods. Bats significantly preferred the food without the essential oils, but this effect was modulated by temporal effects. Bars represent adjusted least-squared means, and the error bars are SE.

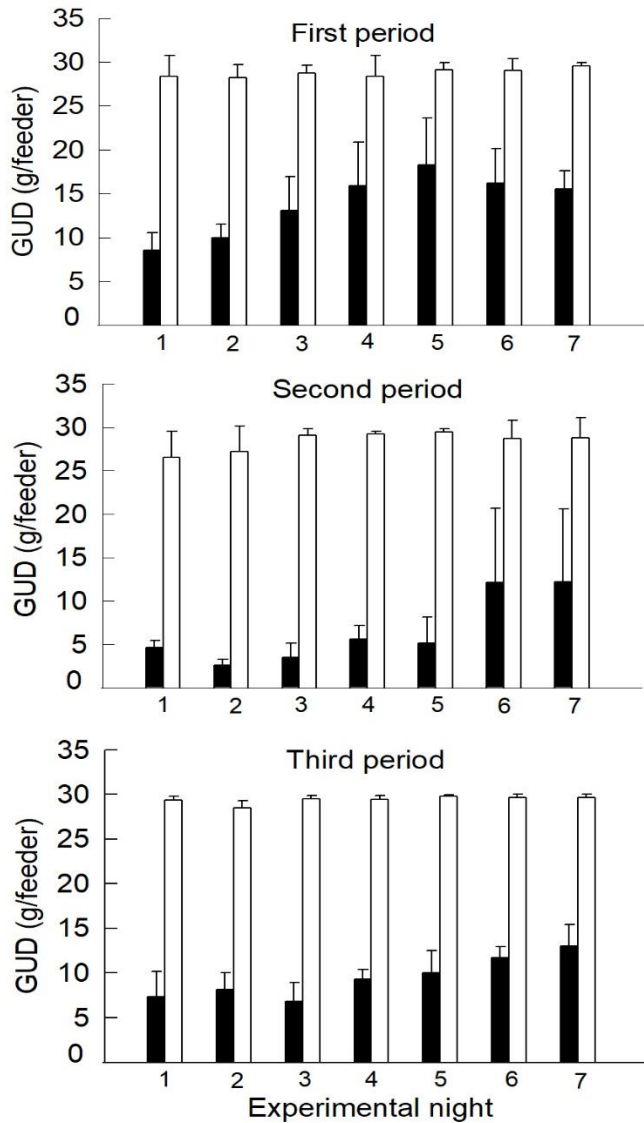


Table 1. Bayes factors for the predictors included in the major model of a Bayesian analysis of variance used to test the effect of the essential oils of *Piper nigrum* on the giving-up densities of *Carollia perspicillata*.

Effects	P(incl)	P(incl data)	BF Inclusion
Sampling period	0.886	1.000	3.854e ⁺¹⁴
Experimental night	0.886	1.000	3.716e ⁺⁸
Foraging station	0.886	1.000	1.347.777
Essential oil	0.886	1.000	1.156e ⁺¹⁵
Sampling period×Foraging station	0.503	0.999	876.186
Sampling period×Essential oil	0.503	1.000	3.856e ⁺⁹
Experimental night×Essential oil	0.503	1.000	4.019.703
Sampling period×Foraging station×Essential oil	0.120	0.979	350.489

Table 2. General linear model to test the effect of the essential oils of *Piper nigrum* on the giving-up densities of *Carollia perspicillata*. MS = mean squares. *df* = degrees of freedom. η^2_p = Partial eta squared.

Factors	MS	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2_p
Sampling period	208.70	2	41.80	< 0.001	0.436
Experimental night	68.14	6	13.65	< 0.001	0.431
Food station	35.39	3	7.09	< 0.001	0.165
Essential oil	14980.15	1	3000.17	< 0.001	0.965
Sampling period×Essential oil	185.34	2	37.12	< 0.001	0.407
Experimental night×Essential oil	36.19	6	7.25	< 0.001	0.287
Sampling period×Food station	24.98	6	5.00	< 0.001	0.217
Sampling period×Foraging station×Essential oil	21.69	9	4.34	< 0.001	0.266
Error	4.69	108			