



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES  
EN ECOSISTEMAS

INDICADORES INTERNOS Y EXTERNOS  
DEL CICLO REPRODUCTIVO DEL MACHO  
DEL MURCIÉLAGO HOCICUDO  
*LEPTONYCTERIS YERBABUENAE*

# TESIS

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

P R E S E N T A

FELIPE DE JESÚS RINCÓN VARGAS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. KATHRYN E. STONER

COMITÉ TUTOR: DRA. ROSA MARÍA VIGUERAS VILLASEÑOR  
DRA. ROBYN E. HUDSON

MORELIA, MICHOACÁN

JUNIO, 2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Dr. Isidro Ávila Martínez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 30 de mayo del 2012, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental) del alumno Rincón Vargas Felipe de Jesús con número de cuenta 98336779 con la tesis titulada: "Indicadores internos y externos del ciclo reproductivo del macho del murciélago hociquido *Leptonycteris yerbabuena*" bajo la dirección de la Dra. Kathryn E. Stoner Smith.

Presidente:	Dr. Jorge Ernesto Schondube Friedewold
Vocal:	Dr. Luis Gerardo Herrera Montalvo
Secretario:	Dra. Rosa María Vigueiras Villaseñor
Suplente:	Dr. Héctor Takeshi Arita Watanabe
Suplente:	Dra. Robyn Elizabeth Hudson

Sin otro particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a, 18 de mayo del 2012.

*M. del Coro Arizmendi*

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA  
COORDINADORA DEL PROGRAMA

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco en primer lugar al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM.

A CONACYT por otorgarme la beca de maestría (CVU/Becario): 262137/220337.

Al comité tutorial por el apoyo brindado para concluir este trabajo.

## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL**

Agradezco a la Dra. Kathryn E. Stoner por permitirme realizar este trabajo y otorgarme todas las facilidades para llevarlo a cabo.

A la Dra. Rosa María Viguera Villaseñor por el apoyo que me brindo durante estos años y por permitir que me integrara al Laboratorio de Biología de la Reproducción del INP para realizar la parte histológica de este trabajo.

A la Dra. Robyn E. Hudson por sus comentarios que ayudaron a mejorar este escrito.

Al Dr. Óscar Chaves por su aportación en el procesamiento y análisis de datos.

A los Doctores: Jorge E. Schondube Friedewold, Luis Gerardo Herrera Montalvo y Héctor T. Arita Watanabe por enriquecer este trabajo a través de sus comentarios.

Este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo que recibí en campo de Manuel Lobato. De la misma manera, quiero agradecer a todas las personas que contribuyeron en el trabajo de campo.

En el laboratorio fue imprescindible el apoyo de Pedro Medina. Igualmente agradezco a los compañeros del Laboratorio de Biología de la Reproducción: Oscar, Edgar, Marcos, Julio y Margarita por su apoyo, consejos y enseñanzas en el área histológica.

Gracias a mis padres y a mis hermanas por su incondicional apoyo y motivación a perseguir mis metas y sueños. Los amo.

A mis tíos, primos y sobrinos, con quienes siempre gusto de convivir.

Agradezco a todos mis amigos, que afortunadamente son muchos y muy buenos, por todos esos momentos que le dan sabor a la vida. Especialmente quiero agradecer a aquellos que han perdurado a través del tiempo y la distancia: Alejandro, Elena, Rebeca, Jimena, Eduardo, y Tania. Igualmente agradezco a mis más recientes amigos, pero que marcaron mi estancia en Puebla: Jorge, Hilda, Adán, Paola, Tania, Vere y Juan.

¡Muchas gracias a todos!

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS .....	8
RESUMEN .....	9
ABSTRACT .....	11
CAPÍTULO I .....	13
INTRODUCCIÓN.....	13
Fisiología de la Reproducción en Murciélagos .....	15
Indicadores internos de la reproducción .....	17
La espermatogénesis .....	20
Epidídimo .....	22
Indicadores externos de la reproducción.....	23
ANTECEDENTES .....	25
OBJETIVOS .....	27
HIPÓTESIS.....	27
ESPECIE DE ESTUDIO.....	29
SITIO DE ESTUDIO .....	30
LITERATURA CITADA .....	32
CAPITULO II.....	40
INTRODUCTION.....	42
MATERIALS AND METHODS .....	45
RESULTS .....	49
DISCUSSION .....	51

ACKNOWLEDGEMENTS .....	55
LITERATURE CITED .....	55
TABLES .....	63
FIGURES.....	67
CAPÍTULO III .....	70
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES .....	70
LITERATURA CITADA .....	73



## LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Relación de patrones reproductivos con la temporada de lluvias. ....	14
Figura 2. Diagrama de las relaciones hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-testículo que regulan el ciclo reproductor.....	17
Figura 3. Esquema del testículo y el epidídimo mostrando como los túbulos seminíferos conforman al testículo. ....	18
Figura 4. Micrografía de un túbulo seminífero y esquema de las células de la serie espermatogénica.....	20
Figura 5. Esquema del ciclo del epitelio seminífero del murciélago de herradura ( <i>Rhinolophus cornutus</i> ).....	22
Figura 6. Ubicación de la isla Don Panchito dentro del Santuario Islas de la Bahía de Chamela.....	31
Table 1.—Description of the stages and steps in the spermatogenesis cycle in the Long-nosed bat <i>L. yerbabuena</i> e in Don Panchito Island, Chamela Bay, Mexico	63
Table 2.—Non-standardized estimates ( $\square$ Weight) and Beta Weights from multiple regression analyses.....	66
Figure 1— Light micrographs (100 X) of HE-stained sections illustrating the 11 stages of the seminiferous epithelium of long-nosed bats, <i>Leptonycteris.yerbabuena</i> e.	67
Figure 2—External testes size (mean $\pm$ <i>SD</i> ) and tubule diameter of caput and cauda epididymis (mean $\pm$ <i>SD</i> ) during months and reproductive periods of 2008-2009. ....	67

## RESUMEN

El conocimiento reproductivo de los animales es una herramienta importante para la implementación de planes de conservación. El murciélago hocicudo *Leptonycteris yerbabuena* está catalogado como amenazado por la NOM-ECOL-059-2010 (sinónimo: *Leptonycteris curasoae*), sin embargo, varios aspectos reproductivos, especialmente de los machos no han sido aún estudiados. Recientemente se describió la formación de un parche sebáceo dorsal en los machos de *L. yerbabuena* que se presenta durante la época de apareamientos y que probablemente este asociado a la conducta reproductiva. En este trabajo se determinó la dinámica reproductiva anual del macho de *L. yerbabuena* a partir de características internas de los testículos (tamaño y morfología de los túbulos seminíferos) y se relacionaron con características externas (el tamaño de los testículos y el tamaño del parche sebáceo). Adicionalmente se determinó la relación entre el estado reproductivo y la proporción hembras/machos en la población. Finalmente se evaluó la función del epidídimo como almacén a largo plazo de espermatozoides. Este trabajo se realizó en una cueva de la costa de Jalisco, México, donde mensualmente se capturaron especímenes adultos y se midieron los indicadores externos. Tres individuos por mes fueron sacrificados para evaluar los indicadores internos. A partir de un análisis histológico, se determinó que la espermatogénesis completa se presenta entre los meses de septiembre-enero y se compone de 11 etapas, mientras que la espermiogénesis consta de 14 fases. Se hallaron que los indicadores externos reflejan las características internas de la espermatogénesis. Se calculó el inicio de producción espermática con el tamaño externo de

los testículo, el cual fue de 48.2 mm<sup>2</sup> en promedio. Además, se encontró que el epidídimo no almacena espermatozoides durante periodos largos. Este trabajo describe, por primera vez, la temporalidad del ciclo reproductivo de los macho de *L. yerbabuena* a partir de características histológicas. Asimismo muestra la relación del parche sebáceo dorsal con las funciones reproductivas del macho.

Palabras clave: *Leptonycteris yerbabuena*, almacén de espermatozoides, ciclo espermatogénico, parche sebáceo, proporción sexual, reproducción estacional.

## ABSTRACT

Information on animal reproduction is important for the application of conservation plans. The long-nosed bat *Leptonycteris yerbabuena* is classified as threatened in México. However, many aspects of its reproductive biology, especially in males, are still unstudied. Previously, the formation of a dorsal sebaceous patch in *L. yerbabuena* males, during the mating period and probably involved in reproductive behavior, was described. We determined the dynamics of the *L. yerbabuena* male reproductive cycle over time based on the size and morphology of seminiferous tubules. We then related these internal indicators with external testes size and sebaceous patch size (external indicators) and the female/male ratio in the population. Finally, we evaluated whether the epididymis functions in long-term sperm storage. Bats were captured monthly above the main cave exit and external indicators were registered. Three adult males were euthanized each month for the evaluation of internal indicators. Based on histological characteristics we determined that spermatogenesis was completed between September and January in 11 stages and 14 steps. Internal indicators were correlated with external indicators. We established a testes size (approximately 48.2 mm<sup>2</sup>) corresponded with the beginning of sperm production. Furthermore, we found that the epididymis is not involved in long-term sperm storage. This study provides the first description in *L. yerbabuena* of the timing of the male reproductive cycle based on histological characteristics, and also reports a relation between the size of the sebaceous patch and male reproductive functions.

Key words: dorsal sebaceous patch, *Leptonycteris yerbabuena*, reproductive seasonality, sex ratio, spermatogenesis cycle, sperm storage.

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

Los murciélagos se diferencian mucho de otros mamíferos de igual tamaño en su historia de vida. Ellos tienen una gran longevidad (de hasta más de 30 años; Wilkinson y South 2002), y presentan múltiples eventos reproductivos en los que regularmente desarrollan una sola cría. Además, presentan baja tasa de crecimiento fetal, un largo período de gestación seguido de una relativamente corta etapa de lactancia y cuidado postnatal (Racey 1973).

La mayoría de los murciélagos se reproducen estacionalmente. Aunque las especies sincronizan diferentes etapas reproductivas con la mayor disponibilidad de recursos. (Bradbury 1979; Racey y Entwistle 2000). La reproducción en animales tropicales se ve afectada en menor o mayor grado por la estacionalidad de las lluvias, debido a que la disponibilidad de alimentos aumenta con el inicio de éstas (Racey y Entwistle 2000; Fig. 1). Sin embargo, los tiempos de la reproducción pueden variar entre las especies, debido a la especialización de sus dietas (Bradbury 1979).

Muchas especies de murciélagos sólo tienen un período de reproducción al año y una sola cría por periodo. Se denomina monoestras a las especies que sólo presentan un período reproductivo anual y poliestras a las que desarrollan más de uno (Fig. 1). De la misma forma, los que tienen una sola cría se les conoce como monotocas, y politocas a los que tienen más de una (Neuweiler 2000; Romero-Almaraz et al. 2006).

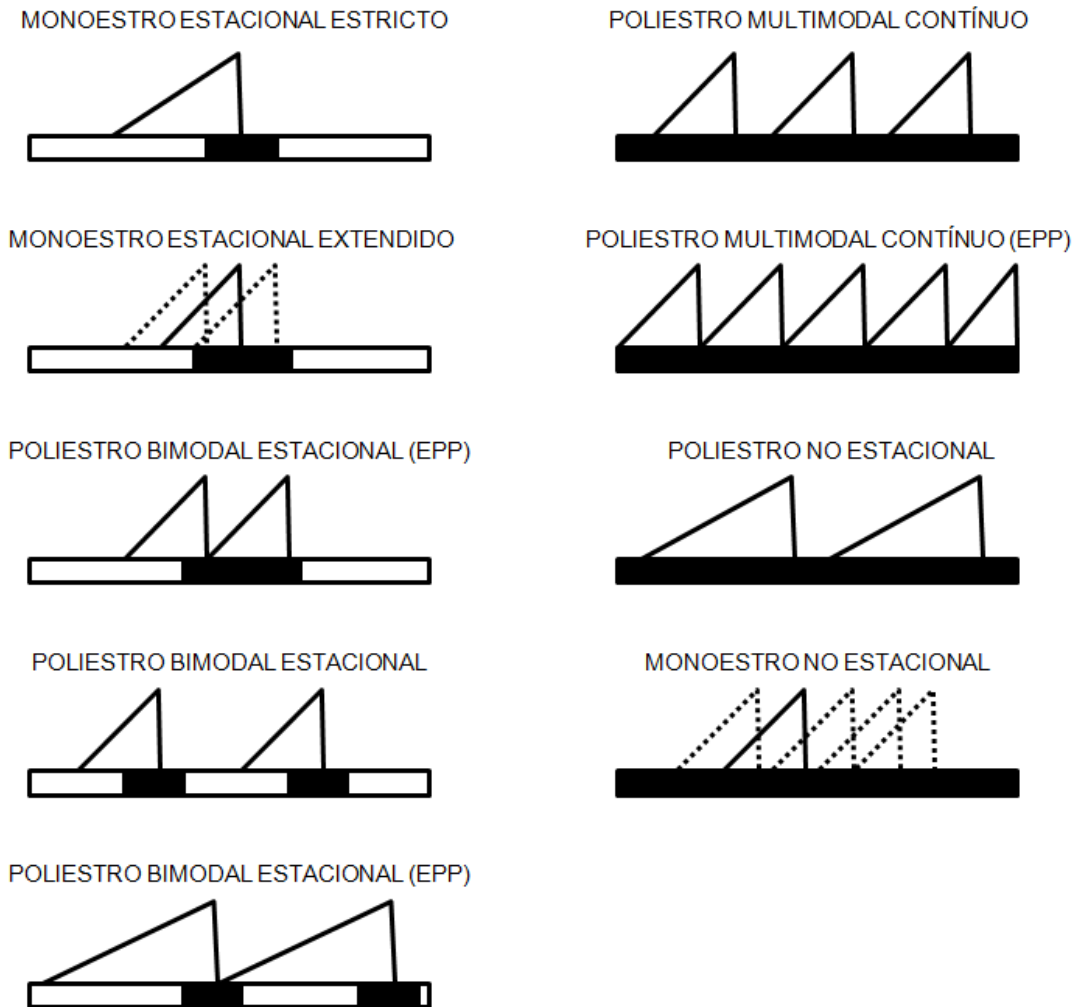


Figura 1. Relación de patrones reproductivos con la temporada de lluvias. EPP = estro post-parto; la barra oscura representa el período de lluvias. Modificado de Racey y Entwistle 2000.

Las especies de climas templados se caracterizan por tener un patrón reproductivo monoéstrico, ya que están sujetas a un verano con alta disponibilidad de insectos y a un invierno con un largo periodo de hibernación. Estos murciélagos utilizan estrategias fisiológicas, como la diapausa, la fecundación retardada o el almacenamiento de espermatozoides, para una

reproducción exitosa. En el caso de los murciélagos tropicales se presentan patrones tanto monoéstricos como poliéstricos (Racey y Entwistle 2000).

La temporalidad de los ciclos reproductivos del macho no sólo es determinada por los ciclos de la hembra, sino que, también son afectados por cambios climáticos y disponibilidad de alimento (McWilliam 1987). En murciélagos machos de climas templados la variación estacional en la espermatogénesis provoca una regresión de los túbulos seminíferos en otoño seguida de una recrudescencia en la primavera. Es así que la espermatogénesis se presenta cuando hay mayor disponibilidad de alimento, lo cual comúnmente coincide con la mitad del verano (Racey y Entwistle 2000). Un patrón similar se observa en machos de climas tropicales, donde la espermatogénesis corresponde a la temporada de lluvias, un periodo de abundancia de recursos tanto para murciélagos frugívoros como insectívoros. Además, incluso en climas tropicales, la espermatogénesis puede ser interrumpida en los meses más fríos o secos (Jolly y Blackshaw 1987).

Cuando las hembras son monoéstricas los machos también pueden presentar un sólo período de espermatogénesis, aunque se ha reportado que *Taphozous hildegardeae* (Emballonuridae), especie monoéstrica, el macho presenta una segunda espermatogénesis no funcional, lo cual puede reflejar un patrón poliéstrico ancestral que fue mantenido por el cuidado de un harem durante todo el año (McWilliam 1988). En el caso de un patrón poliéstrico bimodal, los machos desarrollan dos espermatogénesis. Para las especies poliéstricas multimodales o no estacionales los machos presentan un largo período de espermatogénesis o son fértiles durante todo el año (e. g. *Desmodus rotundus*; Alencar et al. 1994).

### **Fisiología de la Reproducción en Murciélagos**

La temporalidad en los ciclos reproductivos de los murciélagos se regula vía neuroendocrina. La percepción de los estímulos ambientales, tanto físicos (alimento, fotoperiodo y temperatura)



como sociales (atrayentes), se realiza a través del sistema nervioso (Anthony 2000). Por ejemplo, el fotoperiodo acelera los eventos reproductivos de *Antrozous pallidus* (Beasley y Zucker 1984), mientras que el aumento en la temperatura estimula la espermatogénesis en *Pipistrellus pipistrellus* al final de la hibernación (Mendonca y Hopkins 1997). Muchos murciélagos utilizan atrayentes en la selección sexual a través de glándulas especializadas o estructuras para guardar olores (e. g. *Saccopteryx bilineata*; Voigt et al. 2001).

La información ambiental llega desde los receptores sensoriales al cerebro. Al llegar al hipotálamo se generan mensajeros químicos (factores liberadores, GNRH) que estimulan la secreción de las hormonas— genéricamente denominadas gonadotropinas (FSH y LH), por parte de la Hipófisis. Las gonadotropinas favorecen la producción de esteroides sexuales en la gónada, y en el caso de los machos los testículos producen andrógenos, principalmente testosterona y androsterona. Los andrógenos son los responsables de la maduración de los gametos, de la manifestación de los caracteres sexuales secundarios, y de la conducta sexual. A este sistema endocrino se le conoce como el eje hipotálamo-hipófisis-testículo (Fig. 2; Pak y Chung 2011).

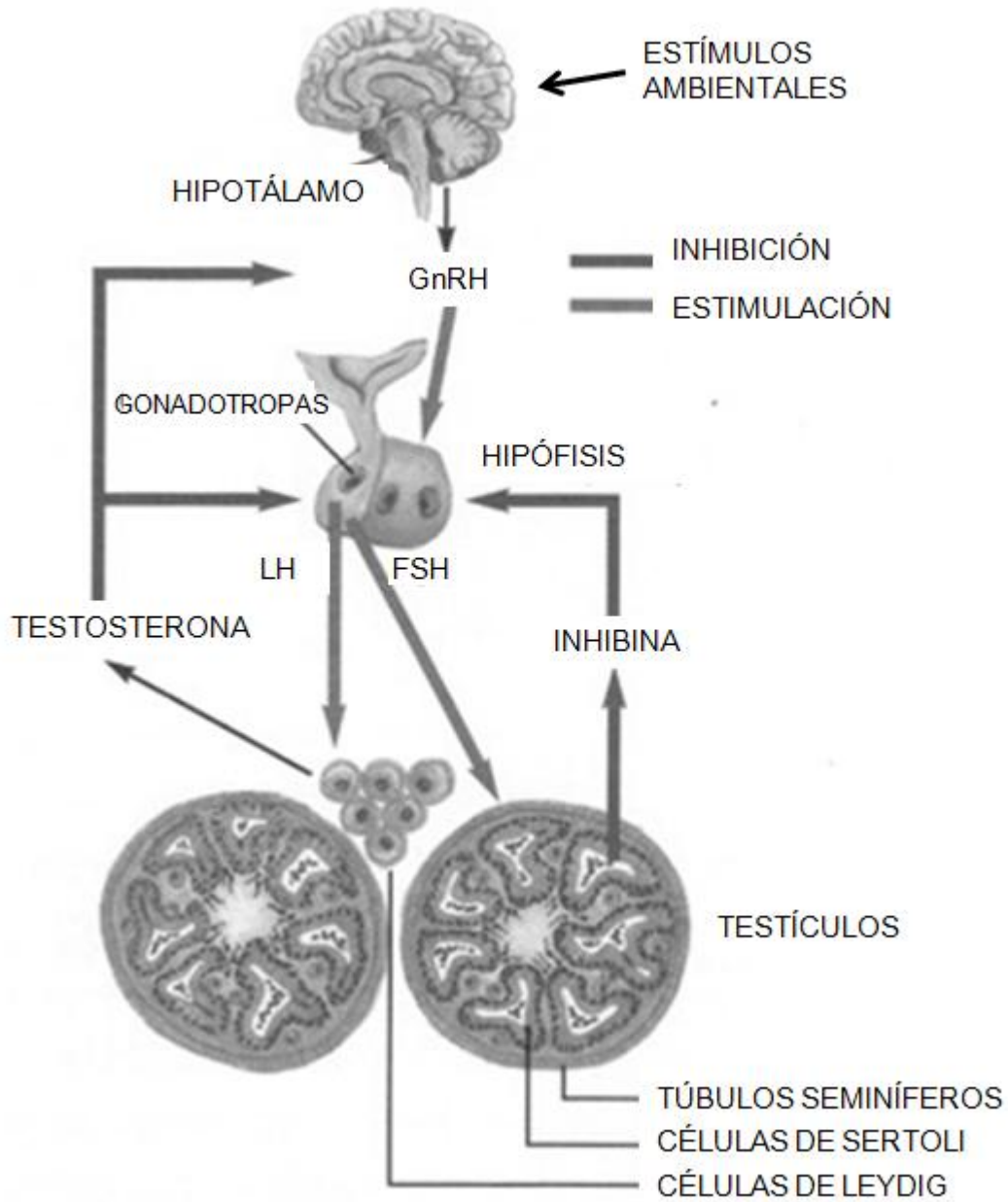


Figura 2. Diagrama que ilustra las relaciones hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-testículo que regulan el ciclo reproductor. Tomado de Lipshultz et al. 2009.

### Indicadores internos de la reproducción

Las señales endocrinas estimulan dentro del testículo la espermatogénesis, un proceso en el que

se desarrollan los gametos masculinos. Es así, que los testículos se encargan de la producción de espermatozoides, así como de la síntesis, almacenamiento y liberación de las hormonas sexuales masculinas, como son la testosterona y los estrógenos (Gartner y Hiatt 2001).

Los testículos están cubiertos por una cápsula, dentro de la cual se forman lóbulos que contienen a los túbulos seminíferos (Fig. 3) y entre los túbulos se distinguen diversos tipos celulares que componen el espacio intersticial. La cápsula se compone de tres tunicas contiguas: 1) la vaginal es la más externa; 2) la albugínea es la parte media; y 3) la vascular es la más cercana al parénquima (Kosco 2000). La túnica vaginal es de origen peritoneal y consta de mesotelio y una capa de tejido conjuntivo que se fusiona con la siguiente túnica. La túnica albugínea es una cápsula sólida de tejido conjuntivo denso e irregular que invade al testículo y lo divide en un número variable de lóbulos testiculares. Justo por debajo de esta última cubierta, se encuentra un tejido conjuntivo laxo muy vascularizado, que integra la túnica vascular (Kosco 2000; Gartner y Hiatt 2001).

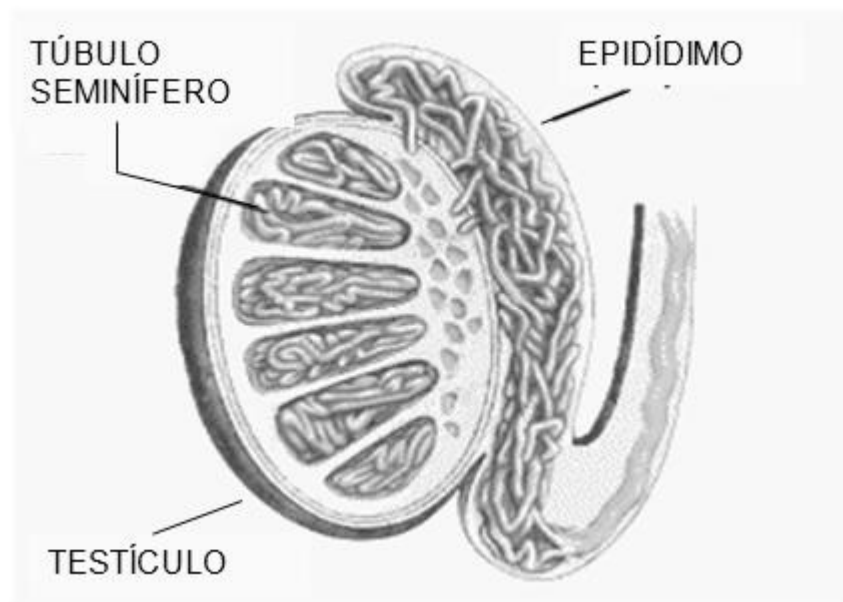


Figura 3. Esquema del testículo y el epidídimo mostrando como los túbulos seminíferos conforman al testículo. Tomado de Haeberle 2009.

**Los túbulos seminíferos**—se hallan rodeados por una membrana basal que recubre a las células de Sertoli y las células de la serie espermatogénica; las primeras proporcionan nutrientes y dan soporte a las últimas (Fig. 4; Gartner y Hiatt 2001). Las células de Sertoli sintetizan y comunican factores de sobrevivencia e inductores de la apoptosis a las células germinales. Dentro de los factores de sobrevivencia se hallan: la proteína transportadora de andrógenos (ABP), las transferrinas, la ceruloplasmina, la inhibina, la hormona antimulleriana (AMH), las caderinas, los péptidos vasoactivos, la aromatasa, la taquiquina, el factor de células troncales (SCF), y el factor neurotrófico derivado de la línea de células gliales (GDNF), entre otros (Kubota et al. 2004; Sofikitis et al. 2008). Los factores que inducen la apoptosis pueden ser: el ácido acético 2-metoxi, el SCF, el factor inhibidor de la leucemia (LIF), *deserthedgehog* (Dhh), algunas proteínas de la familia de las Bcl-2, el factor modificante Bcl-2, y el factor de crecimiento de la insulina (IGF), entre otros (Sofikitis et al. 2008). Además, las células de Sertoli transfieren a las células germinales las señales hormonales que regulan su desarrollo: estradiol, testosterona, somatostatina, activina A, y folistatina. La deficiencia de alguna de estas hormonas como la testosterona o la FSH conducen a las células germinales a la apoptosis (McLachlan et al. 2002; Zirkin et al. 2011).

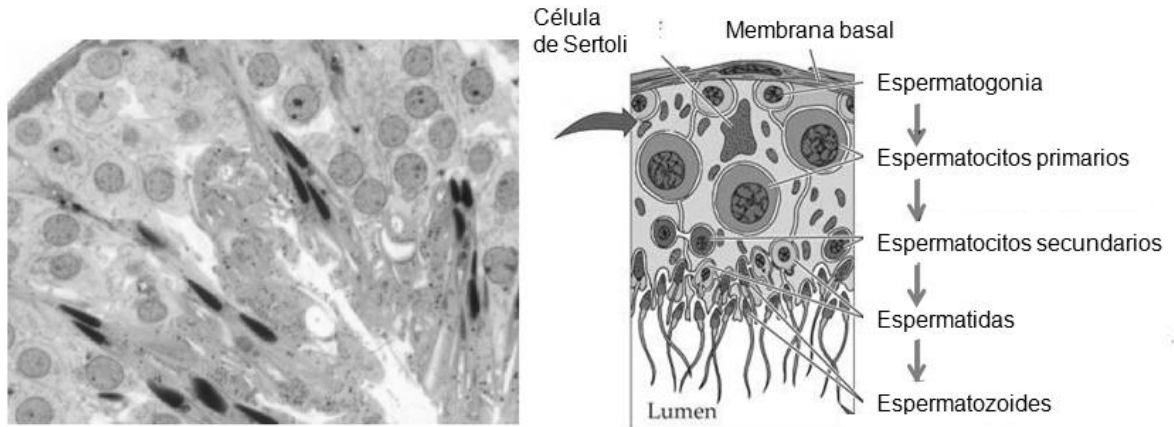


Figura 4. Micrografía de un túbulo seminífero y esquema de las células de la serie espermatogénica. Modificado de Sadava et al. 2009.

**Los compartimentos intersticiales**—son los espacios que se forman entre los túbulos seminíferos y es donde se encuentran los vasos sanguíneos y las células intersticiales endócrinas, llamadas células de Leydig (Gartner y Hiatt 2001). Las células de Leydig son grandes y poliédricas, y se encargan de la producción de los andrógenos. El arreglo de los componentes intersticiales varía entre las especies (Kosco 2000).

Los andrógenos estimulan las últimas etapas de la espermatogénesis y prolongan la vida de los espermatozoides en el epidídimo. Además, promueven el crecimiento, desarrollo y actividad secretora de los órganos sexuales accesorios del macho, instaurando y manteniendo los caracteres sexuales secundarios y del comportamiento sexual (Garde y Vergara 1995).

### **La espermatogénesis**

Es el proceso encargado de la producción de los gametos masculinos, llamados espermatozoides; se regula por factores endocrinos y ambientales. Las gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH) estimulan la espermatogénesis. La FSH actúa en las primeras fases de la espermatogénesis y

además induce la síntesis por las células de Sertoli de una proteína específica transportadora de andrógenos (ABP). La LH actúa a través de la secreción de testosterona, la cual mantiene la espermatogénesis completa. Por otro lado, las células de Sertoli secretan inhibina, proteína que regula a la FSH (Garde y Vergara 1995).

La espermatogénesis se lleva a cabo dentro de los túbulos seminíferos (Fig. 4). El inicio en la producción espermática empieza con las espermatogonias que se encuentran junto a la membrana basal, las cuales son las precursoras de todas las células de la serie espermatogénica. Las espermatogonias dan origen a los espermatocitos primarios. Cada espermatocito se divide por meiosis generando dos espermatocitos secundarios. Una segunda división meiotica origina nuevamente dos espermatidas de cada espermatocito secundario. Al proceso final de la espermatogénesis, donde las espermatidas se diferencian en espermatozoides, se le denomina espermiogénesis y puede dividirse en varias fases (Gartner y Hiatt 2001; Fig. 5).

Para determinar las etapas y fases del ciclo espermatogénico se emplean principalmente dos métodos: morfología tubular y acrosómico. El primer método se basa en los cambios de forma en los núcleos de las espermatidas, la presencia de divisiones meióticas y el arreglo de las espermatidas en el epitelio seminífero. Beguelini et al. (2009), utilizando esta metodología, describe el ciclo espermatogénico para varias especies de murciélagos filostómidos en ocho etapas (*Artibeus lituratus*, *A. planirostris*, *Carollia perspicillata*, *Platyrrhinus lineatus* y *Sturnira lillium*). El segundo método se basa en los cambios del sistema acrosómico y en la morfología de las espermatidas, este sistema describe con mayor detalle el ciclo del epitelio seminífero (Berndtson 1977). Morigaki et al. (2001) determinó, a partir del método acrosómico, el ciclo espermatogénico del murciélago de la fruta de Java *Pteropus vampyrus* y del murciélago de herradura *Rhinolophus cornutus*, en 11 y 10 etapas respectivamente (Fig 5).

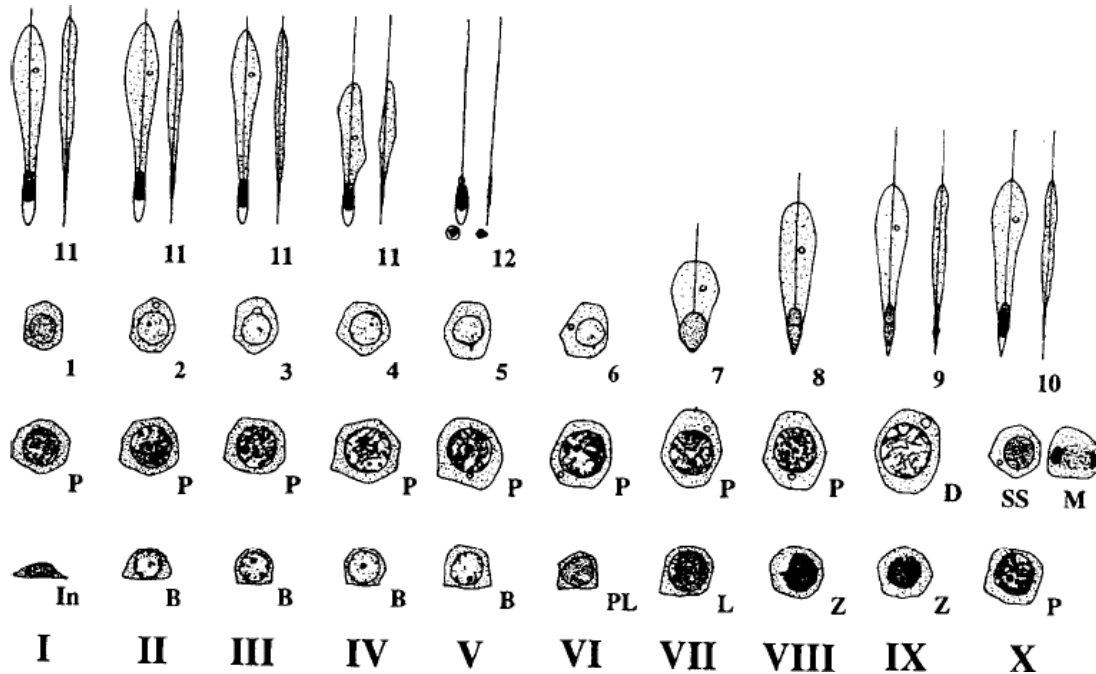


Figura 5. Esquema del ciclo del epitelio seminífero del murciélago de herradura (*Rhinolophus cornutus*; Morigaki et al. 2001), conformado por 10 etapas y 12 fases (espermiogénesis). In: espermatogonia intermedia, B: espermatogonia, PL: espermatocito en preleptoteno, L: espermatocito en leptoteno, Z: espermatocito en zigoteno, P: espermatocito en paquiteno, D: espermatocito en diploteno, SS: espermatocito secundario, M: meiosis. Tomado de Morigaki et al. 2001.

### **Epidídimo**

El epidídimo forma parte de los conductos genitales, y se conecta con los túbulos seminíferos por medio de la red testicular y los conductos eferentes. Es sumamente tortuoso y se localiza lateralmente al testículo, desde su parte superior a la inferior, y se continúa con el conducto deferente (Fig. 3). Macroscópicamente el epidídimo se puede dividir en cabeza, cuerpo y cola. Es un órgano sexual accesorio que interviene en el proceso de maduración de los espermatozoides (Kosco 2000; Gartner y Hiatt 2001).

El epidídimo se halla rodeado por una túnica vaginal, una túnica albugínea, una capa de músculo liso y tejido conjuntivo laxo. El epitelio del epidídimo está recubierto por un epitelio pseudoestratificado compuesto por células principales cilíndricas con microvellosidades y células basales poligonales pequeñas. Las células principales cilíndricas son más altas en la cabeza del epidídimo que en el resto del mismo (Kosco 2000). La cola del epidídimo puede almacenar espermatozoides por semanas e incluso por meses, cuando los murciélagos hibernan. Aunque también en especies tropicales almacena espermatozoides por periodos largos (Jolly y Blackshaw 1987; Krutzsch 2000).

Los espermatozoides que entran en la cabeza del epidídimo son inmóviles y pueden avanzar por las microvellosidades y por la actividad contráctil de la musculatura que rodea a dicho canal. Posteriormente los espermatozoides sufren cambios morfológicos y finalmente adquieren su capacidad fertilizante, ya que se vuelven potencialmente aptos para desplazarse y adquieren la capacidad de fijarse a la zona pelúcida de la célula sexual femenina (Garde y Vergara 1995).

### **Indicadores externos de la reproducción**

En murciélagos, dependiendo de la especie, pero sobre todo del estado de madurez del individuo, los testículos pueden encontrarse en posición abdominal, inguinal o escrotal. En los individuos juveniles, los testículos se hallan en posición abdominal, ya en los adultos se pueden presentar inguinales, aunque generalmente están escrotados (Krutzsch 2000). El tamaño de los testículos puede variar a lo largo del año, dependiendo de la etapa reproductiva.

El ciclo espermatogénico se ve reflejado en el tamaño de los testículos, ya que cuando los testículos están activos incrementan su tamaño y cuando entran en regresión lo disminuyen. Krutzsch et al. (2002) corroboraron histológicamente que el incremento en el tamaño de los



testículos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae) está ligado al ciclo espermatogénico. Los testículos inician su crecimiento cuando los espermatoцитos empiezan a dividirse previo a la época de apareamientos. Tres meses después aparecen los primeros espermatozoides en la luz de los túbulos seminíferos. Cuando inicia la época de apareamientos, los túbulos se encuentran saturados de espermatozoides, y el tamaño de los testículos es el mayor del año. Durante el último mes de apareamientos, los testículos empiezan a disminuir su tamaño y los túbulos seminíferos se hallan casi vacíos; sin embargo, el epidídimo aún conserva algunos espermatozoides. Finalmente los testículos entran en regresión y continúan disminuyendo su tamaño hasta que inicia el próximo ciclo espermatogénico (Krutzsch et al. 2002).

Para los murciélagos la comunicación olfativa es muy importante y se ha asociado a varias conductas, como el reconocimiento de pareja y crías, el marcaje de territorio, y la selección sexual (Altringham y Fenton 2001). Por lo tanto, muchas especies han desarrollado glándulas olfatorias y estructuras especializadas que producen y almacenan olores en diferentes partes del cuerpo, incluyendo la cara (Rhinolophidae: Scully 2000), las orejas (Vespertilionidae: Scully 2000), el cuello (Emballonuridae, Molossidae, Phyllostomidae: Goodwin y Greenhall 1961; Scully 2000), el pecho (Emballonuridae, Molossidae: Werner y Lay 1963; Scully 2000), los hombros (Phyllostomidae: Goodwin y Greenhall 1961; Scully 2000) y la región subaxilar (Emballonuridae, Noctilionidae: Brooke y Decker 1996; Voigt y von Helversen 1999). En el caso de las glándulas olfatorias existe dimorfismo sexual, los machos regularmente tienen más desarrolladas las glándulas y producen un olor más fuerte que las hembras (Scully et al. 2000). Estas diferencias sexuales sugieren que el olor y las estructuras que lo producen están involucradas en la conducta sexual de los murciélagos. Voigt y von Helversen (1999) encontraron que en *Saccopteryx bilineata* (Emballonuridae) el olor participa en la selección sexual.

## ANTECEDENTES

El patrón reproductivo del murciélago *Leptonycteris yerbabuena* aún no está claro. Se ha reportado que es monotoca, con dos patrones principales de reproducción: al norte de su distribución los nacimientos ocurren en la primavera, y al sur los nacimientos ocurren en invierno (Stoner et al. 2003). Por otro lado, en el estado de Morelos, México, se ha reportado un patrón reproductor poliestro bimodal (Sánchez-Hernández y Romero-Almaraz 1995). En el estado de Puebla se reportó un solo ciclo reproductivo al año con nacimientos a finales del otoño y principios del invierno (Galindo et al. 2004). En la isla Don Panchito, en la costa de Jalisco, la población de *L. yerbabuena* presenta dos picos reproductivos al año, aunque no se ha observado que un individuo se reproduzca dos veces al año. Se encuentra la mayor parte de las hembras reproductivamente activas de diciembre a marzo y unas pocas de junio a septiembre. Además en esta población, algunas hembras no migran a las colonias de maternidad a los Estados Unidos (Stoner et al. 2003). No se ha confirmado, a partir de observaciones histológicas, que el patrón de reproducción de los machos de esta población coincida con el de la hembra.

Recientemente se documentó la presencia de un parche sebáceo en la parte dorsal, producido exclusivamente en los machos adultos de *L. yerbabuena* en México y *L. curasoae* en Venezuela, este fenómeno se presenta de manera cíclica durante los eventos de espermatogénesis y cópulas en *L. curasoae* (Nassar et al. 2008). Este mismo estudio también documentó cambios histológicos correlacionados con la presencia del parche sebáceo en *L. curasoae* además de la identificación tentativa de 14 sustancias químicas presentes en él. El parche se forma cuando los machos rascan su área genital para empapar la pata con olor y transfieren este olor a su parche dorsal rascándose con las garras de su pata. Este comportamiento, en conjunto con las glándulas

sebáceas, que son más activas durante el periodo de reproducción, resulta en la apariencia de un parche dorsal que parece grasoso y desnudo de cabello. Se plantea la hipótesis que el olor del parche dorsal es un importante atrayente para las hembras (Nassar et al. 2008), sin embargo esta idea no ha sido comprobada. Muñoz-Romo y Kunz (2009) encontraron que los machos de *L. curasoae* que presentan parche dorsal conspicuo poseen los testículos de mayor tamaño y menos ectoparásitos que los machos que no lo presentan y sugieren que estas características indican a las hembras su disponibilidad para los apareamientos.

Los machos de *Leptonycteris yerbabuena*, de una población de la región de Chamela, Jalisco, presentan los testículos alargados de septiembre a enero y de mayo a junio (Stoner et al. 2003). En un estudio anterior con esta misma población se reportaron los testículos alargados solo de octubre a diciembre y proponen que la producción de espermatozoides presenta un solo pico de actividad reproductiva durante el final de la época de lluvias (junio a octubre; Ceballos et al. 1997).

Considerando la información anterior, se propone que la espermatogénesis se presenta cuando los testículos incrementan su tamaño, como ocurre en *L. curasoae* (Muñoz-Romo y Kunz 2009) y otros filostómidos (*Artibeus jamaicensis*, *Uroderma bilobatum*, *Carollia perspicillata* y *Glossophaga soricina*; Fleming et al. 1972), sin embargo, en *L. yerbabuena* no se ha confirmado con pruebas histológicas. Por lo tanto, este trabajo pretendió identificar los cambios histológicos en los testículos y epidídimo del macho de *L. yerbabuena* a lo largo del año, relacionándolos con los cambios en el parche dorsal.

## **OBJETIVOS**

### ***General***

Analizar los indicadores internos del ciclo reproductor de *Leptonycteris yerbabuenae* y relacionarlos con los indicadores externos.

### ***Particulares***

1. Describir la dinámica espermatogénica en el testículo durante un ciclo anual y relacionarla con el tamaño de los testículos.
2. Determinar el papel del epidídimo como sitio de almacenaje de espermatozoides durante el ciclo reproductor anual.
3. Determinar la relación entre el tamaño de los testículos con el tamaño del parche sebáceo dorsal, el estado de maduración del epitelio seminífero y la proporción hembras/machos en la población.

## **HIPÓTESIS**

Los machos de *Leptonycteris yerbabuenae* en la isla Don Panchito presentarán dos picos reproductivos pero un solo periodo espermatogénico. Los indicadores internos, como la maduración del epitelio seminífero, pueden ser predichos por características externas como el tamaño de los testículos. La etapa reproductiva se relacionará con el incremento del tamaño

testicular, por lo tanto, la espermatogénesis se presentará cuando los testículos incrementen su tamaño, lo cual se relacionará con el tamaño del parche sebáceo dorsal y la proporción hembras/machos en la población. Si el epidídimo almacena espermatozoides, lo hará en los periodos en que las hembras migran al sur de los estados Unidos.

## ESPECIE DE ESTUDIO

*Leptonycteris yerbabuena* es la segunda especie más grande de murciélagos nectarívoros neotropicales con un peso entre 18-30 g y un antebrazo de 46-57 mm. Se distribuye del suroeste de los Estados Unidos hasta Honduras y el Salvador (Simmons 2005). Se encuentra principalmente en ambientes áridos y semiáridos a altitudes menores de 1800 msnm (Cole y Wilson 2006) en cuevas y minas abandonadas (Arita 2005). Algunas poblaciones de esta especie migran en primavera de México al suroeste de los Estados Unidos para formar colonias de maternidad, regresando meses después a territorio mexicano (Arita 1991; Cockrum 1991; Cole y Wilson 2006).

*Leptonycteris yerbabuena* es importante para los ecosistemas ya que se alimenta principalmente de néctar y frutos de varias especies de plantas tropicales y subtropicales, como Bombacáceas, Agavaceas y Cactáceas (Stoner et al. 2003), favoreciendo su polinización y dispersión. Algunas de estas plantas poseen gran importancia económica por ser de consumo humano (Arita 2005). Además, se alimenta ocasionalmente de insectos (Gardner 1977).

Debido a la disminución en las poblaciones de plantas de las que se alimentan, a la pérdida de refugios y a la matanza por control de plagas (Cole y Wilson 2006) esta especie se encuentra protegida en México por la NOM-ECOL-059-2010 que la cataloga como especie amenazada (sinónimo *Leptonycteris curasoae*; DOF 2010), además, la IUCN (2011) la califica como vulnerable en su Lista Roja. Por lo tanto, se han propuesto diversas estrategias de conservación que incluyen la protección de refugios de maternidad y de residencia, así como los corredores de migración y las plantas de alimentación en estos sitios (Arita 1993; Fleming 1994; Stoner et al. 2003).

## SITIO DE ESTUDIO

Esta investigación se realizó durante un año con la población de *L. yerbabuena* que habita en una cueva de la isla Don Panchito, también llamada San Francisco o San Agustín que se localiza frente al Estero Chamela en la Bahía de Chamela, Jalisco (19° 31' 00" N, 105° 06' 00" 3' O ó UTM 2159809 y 490736; Fig. 6) y forma parte del Santuario Islas de la Bahía de Chamela. La isla posee un área de 3.3 hectáreas y una altura máxima de 21 msnm, se ubica a 465 m de la costa, a 50 metros de la isla más próxima y a 3 km de la Reserva de la Biosfera de Chamela-Cuixmala (RBCC; Miranda et al. 2011; Fig 6).

La región de RBCC consiste principalmente de bosque tropical caducifolio y posee un clima cálido subhúmedo (Lott 1993). La precipitación media anual es de 788 mm (1977-2000), y el patrón de precipitación es marcadamente estacional, con la mayoría de lluvia concentrada entre junio y octubre. La temperatura media anual es de 24.6°C, con un promedio máxima anual de 30°C y un promedio mínima anual de 19.5°C. Los valores máximos de temperatura se presentan entre junio y septiembre (Bullock 1988; García-Oliva et al. 2002). La vegetación dominante en la isla está representada por varias especies de cactus (*Cephalocereus purpusii*, *Pachycereus pecten aboriginum*, *Stenocereus chrysocarpus* y *S. standleyii*), *Ceiba grandiflora* y *Amphipterygium adstringens* (Stoner et al. 2003).

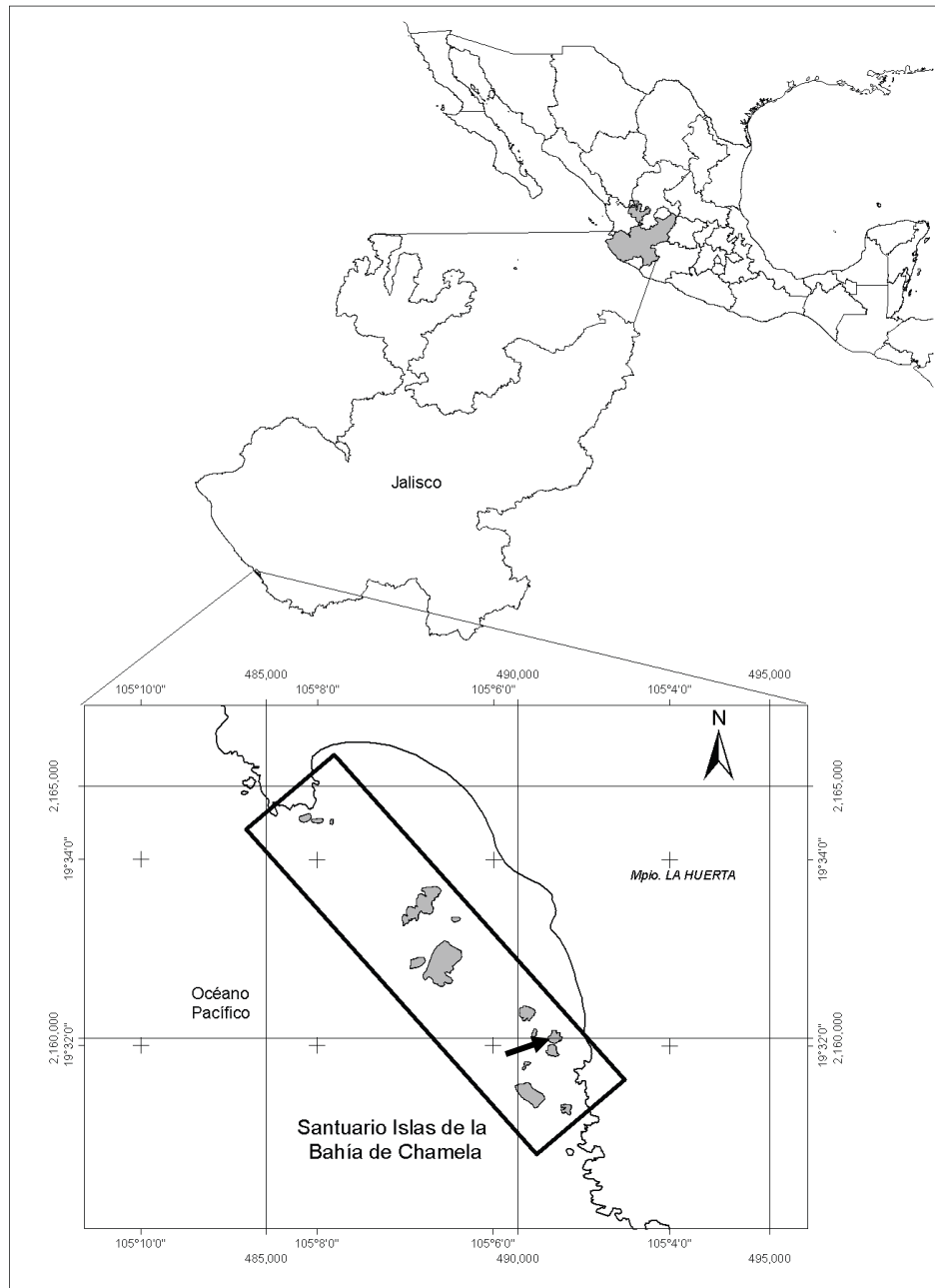


Figura 6. Ubicación de la isla Don Panchito (flecha) dentro del Santuario Islas de la Bahía de Chamela (poliedro). Tomado de Miranda et al. 2011.



## LITERATURA CITADA

- ALENCAR, A.O, G.A.P. SILVA, M.M. DA ARRUDA, A.J. SOARES Y D.Q. GUERRA. 1994. Aspectos biológicos e ecológicos de *Desmodus rotundus* (Chiroptera) no nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 14: 95-103.
- ALTRINGHAM, J.D., Y M.B. FENTON. 2003. Sensory ecology and communication in the Chiroptera. Pp. 90-127 en: *Bat Ecology* (T.H. Kunz y M.B. Fenton, eds.) The University of Chicago Press, Chicago.
- ANTHONY, E. 2000. Endocrinology of reproduction in bats: central control. Pp. 1-26 en: *Reproductive biology of bats* (E.G. Crichton y P.H. Krutzsch, eds.). Academic Press.
- ARITA, H.T. 1991. Spatial segregation in Long-nosed bats, *Leptonycteris curasoae*, in Mexico. *Journal of Mammalogy* 72: 706-714.
- ARITA, H.T. 1993. Conservation biology of cave bats in Mexico. *Journal of Mammalogy* 74: 693-702.
- ARITA, H.T. 2005. *Leptonycteris curasoae* Miller 1900. Pp. 221-222 en: *Los mamíferos silvestres de México* (Ceballos, G. y G. Oliva, eds.). CONABIO, Fondo de Cultura Económica.
- BEASLEY, L.J. Y I. ZUCKER. 1984. Photoperiod influences the annual reproductive cycle of the male pallid bat (*Antrozous pallidus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 70: 567-573.

- BEGUELINI, M. R., P. R. MOREIRA, K. C. FARIA, S. R. MARCHESIN, Y E. MORIELLE-VERSUTE. 2009. Morphological characterization of the testicular cells and seminiferous epithelium cycle in six species of Neotropical bats. *Journal of Morphology* 270:943–953.
- BERNDTSON, W.E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. *Journal of Animal Science* 44: 818-833.
- BRADBURY, J.W. 1979. Behavioural aspects of reproduction in Chiroptera. *Journal of Reproduction and Fertility* 56: 431-438.
- BROOKE, A.P. Y D.M. DECKER. 1996. Lipid compounds in secretions of the fishing bat, *Noctilio leporinus* (Chiroptera: Noctilionidae). *Journal of Chemical Ecology* 22: 1411-1428.
- BULLOCK, S.H. 1988. Rasgos del ambiente físico y biológico de Chamela, Jalisco, México. *Folia Entomológica Mexicana* 77: 5-17.
- CEBALLOS, G., T. H. FLEMING, C. CHÁVEZ, Y J. M. NASSAR. 1997. Population dynamics of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Jalisco, México. *Journal of Mammalogy* 78:1220–1230.
- COCKRUM, E.L. 1991. Seasonal distribution of northwestern populations of the long-nosed bats, *Leptonycteris sanborni* Family Phyllostomidae. *Anales del Instituto de Biología de la UNAM, Serie Zoologica* 62: 181-202.
- COLE, F.R. Y D.E. WILSON. 2006. *Leptonycteris yerbabuena*. *Mammalian Species* 797: 1-7.
- DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN (DOF). 2010. Norma oficial mexicana NOM-059-SEMARNAT; Diario oficial 2010. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D. F. 78 p.

- FLEMING, T.H. 1994. Lesser long-nosed bat recovery plan. U.S. Fish and Wildlife Service. Phoenix. 49 p.
- FLEMING, T.H., E.T. HOOPER Y D.E. WILSON. 1972. Three Central American bat communities: structure, reproductive cycles and movement patterns. *Ecology* 53: 555-569.
- GALINDO C., A. SÁNCHEZ, R.H. QUIJANO Y L.G. HERRERA. 2004. Population dynamics of a resident colony of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in central México. *Biotropica* 36: 382-391.
- GARCÍA-OLIVA, F., A. CAMOU Y J.M. MASS. 2002. El clima de la región central de la costa del Pacífico mexicano. Pp. 3 – 10 en: Historia natural de Chamela (Noguera, F. A., J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete y M. Quesada A, eds.). Instituto de Biología, UNAM.
- GARDE, J.J. Y H. VERGARA. 1995. Fisiología del aparato genital masculino. Pp. 227-238 en: Zootecnia, bases de la producción animal. Tomo I, estructura, etnología, anatomía y fisiología (Buxade, C., ed.). Mundi-Prensa.
- GARDNER, A.L. 1977. Feeding habits. Pp. 293-350 en: Biology of bats of the new world family Phyllostomidae. Part II (Baker, R.J., J.K. Jones y D.C. Carter, eds). Special Publications, The Museum, Texas Tech University.
- GARTNER, L.P. Y J.L. HIATT. 2001. Texto atlas de histología. McGraw Hill. México. 539 p.
- GOODWIN, G.G. Y A.M. GREENHALL. 1961. A review of the bats of Trinidad and Tobago: descriptions, rabies infection, and ecology. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 122: 187-302.
- HAEBERLE, E.J. 2009. Atlas de la sexualidad. Akal. Madrid. 217 p.

- INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES (IUCN).  
2011. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2.  
<<http://www.iucnredlist.org>>. Revisado el 20 de Marzo del 2012.
- JOLLY, S.E. Y A.W. BLACKSHAW. 1987. Prolonged epididymal sperm storage, and the temporal dissociation of testicular and accessory gland activity in the common sheath-tail bat. *Journal of Reproduction and Fertility* 81: 205-211.
- KOSCO M. 2000. Mammalian reproduction. Allegheny Press, Pennsylvania. 123 p.
- KRUTZSCH, P. H. 2000. Anatomy, physiology and cyclicity of the male reproductive tract. Pp. 157-219 en: *Reproductive biology of bats* (E.G. Crichton y P.H. Krutzsch, eds.). Academic Press, Cambridge. 510 p.
- KRUTZSCH, P.H., T.H. FLEMING Y E.G. CRICHTON 2002. Reproductive biology of male Mexican free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis mexicana*). *Journal of Mammalogy* 83: 489-500.
- KUBATA, H., M.R. AVARBOCK Y R.L. BRINSTER. 2004. Growth factors essential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101: 16489-16494.
- LIPSHULTZ, L.I., S.S. HOWARDS Y C.S. NIEDERBERGER. 2009. *Infertility In the male*. Cambridge University Press, Londres. 677 p.
- LOTT, E.J. 1993. Annotated checklist of the vascular flora of the Chamela Bay Region, Jalisco, México. *Occasional Papers of the California Academy of Sciences* 146.

- MCLACHLAN, R.J., L.O. DONNELL, S.J. MEACHEM, P.G. STANTON, D.M. DE KRETZER, K. PRATIS Y D.M. ROBERTSON. 2002. Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man. *Endocrine Reviews* 57: 149-179.
- MCWILLIAM, A.N. 1987. The reproductive and social biology of *Coleura afra* in a seasonal environment. Pp. 324-350 en *Recent advances in the study of bats* (M. B. Fenton, P. A. Racey y J. M. V. Rayner, eds.). Cambridge University Press, Cambridge.
- MCWILLIAM, A.N. 1988. Social organization of the bat *Tadarida (Chaerephon) pumila* (Chiroptera: Molossidae) in Ghana, West Africa. *Ethology* 77: 11-124.
- MENDONCA M.T. Y W.A. HOPKINS. 1997. Effects of arousal from hibernation and plasma androgen levels of mating behavior in the male brown bat, *Eptesicus fuscus*. *Physiological Zoology* 70: 556-562.
- MIRANDA, A., G. AMBRIZ, D. VALENCIA, M. SÁNCHEZ Y A. SZEKELY. 2011. Programa de manejo del santuario de las islas de la Bahía Chamela: Islas La Pajarera, Cocinas, Mamut, Colorada, San Pedro, San Agustín, San Andrés y Negrita, e islotes Los Anegados, Novillas, Mosca y Submarino, Jalisco, México. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. México D.F. 149 p.
- MORIGAKI, T., M. KUROHMARU, Y. KANAI, M. MUKOHYAMA, E. HONDO, J. YAMADA, S. AGUNGPRİYONO, Y Y. HAYASHI. 2001. Cycle of the seminiferous epithelium in the Java fruit bat (*Pteropus vampyrus*) and the Japanese lesser horseshoe bat (*Rhinolophus cornutus*). *Journal of Veterinarian Medical Science* 63: 773–779.

- MUÑOZ-ROMO, M., Y T. H. KUNZ. 2009. Dorsal patch and chemical signaling in males of the Long-nosed bat, *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy* 90: 1139–1147.
- NASSAR, J.M., M.V. SALAZAR, A. QUINTERO, K.E. STONER, M. GÓMEZ, A. CABRERA Y K. JAFFÉ. 2008. Seasonal sebaceous patch in the nectar-feeding bats *Leptonycteris curasoae* y *L. yerbabuena* (Phyllostomidae: Glossophaginae) phenological, histological, and preliminary chemical characterization. *Zoology* 111: 363-376.
- NEUWEILER, G. 2000. *The biology of bats*. Oxford University Press, New York. 310p.
- PAK, T.R. Y C.J. CHUNG. 2011. Neuroendocrine control of gonadotropins in mammals. Pp. 25-43 en: *Hormones and reproduction of vertebrates Vol. 5 Mammals* (D.O. Norris y K.H. Lopez eds.). Academic Press, Amsterdam.
- RACEY, P.A. 1973. Environmental factors affecting the length of gestation in heterothermic bats. *Journal of Reproduction y Fertility Supplement* 19: 175-189.
- RACEY, P. A., Y A. C. ENWISTLE. 2000. Life–history and reproductive strategies of bats. Pp. 363–414 en: *Reproductive biology of bats* (E. G. Crichton y P. H. Krutzsch, eds.). Academic Press, Cambridge.
- ROMERO-ALMARAZ M.L., A. AGUILAR-SETIÉN Y C. SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ. 2006. *Murciélagos benéficos y vampiros: características, importancia, rabia, control y conservación*. AGT Editor, México. 159 p.
- SADAVA, D., H.C. HELLER, D.M. HILLIS Y M. BERENBAUM. 2009. *Life, the science of biology*. Séptima edición. W.H. Freeman, San Francisco. 1267 p.

- SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, C. Y M. L. ROMERO-ALMARAZ. 1995. Mastofauna silvestre del área de reserva Sierra de Huautla, con énfasis en la región noreste. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 151 p.
- SCULLY, W.M.R., M.B. FENTON Y A.S.M. SALEUDDIN. 2000. A histological examination of the holding sacs and glandular scent organs of some bats species (Emballonuridae, Hipposideridae, Phyllostomidae, Vespertilionidae, and Molossidae). *Canadian Journal of Zoology* 78: 613-623.
- SIMMONS, N.B. 2005. Chiroptera. Pp. 312–529 en: *Mammal species of the world*. Vol I, 3<sup>rd</sup> edition ( D.E. Wilson y D.M. Reeder, eds.). The Johns Hopkins University Press.
- SOFIKITIS, N., N. GIOTITSAS, P. TSOUNAPI, D. BALTOGIANNIS, D. GIANNAKIS Y N. PARDALIDIS. 2008. Hormonal Regulation of Spermatogenesis and Spermiogenesis. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 109: 323-330.
- STONER, K.E., K.A.O. SALAZAR, R.C.R. FERNÁNDEZ Y M. QUESADA. 2003. Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, México; implications for conservation. *Biodiversity and Conservation* 12: 357-373.
- VILLE, C.A., W.F. WALKER Y R.D. BARNES. 1987. *Zoología*. Nueva Editorial Interamericana, México. 971 p.
- Voigt, C.C., O. von Helversen, R. Michener y T.H. Kunz. 2001. The economics of harem maintenance in the sac-winged bat, *Saccopteryx bilineata* (Emballonuridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 50: 31-36.
- VOIGT, C.C. Y O. VON HELVERSEN. 1999. Storage and display of odour by male *Saccopteryx*

- bilineata* (Chiroptera, Emballonuridae). Behavioral Ecology and Sociobiology 47: 29-40.
- WERNER, H.J. Y D.M. LAY. 1963. Morphologic aspects of the chest gland of the bat, *Molossus ater*. Journal of Mammalogy 44: 552-555.
- WILKINSON, G.S. Y J.M. SOUTH. 2002. Life history, ecology and longevity in bats. Aging Cell 1: 124-131.
- ZIRKIN, B.Z., T.R. BROWN, J.P. JAROW Y W.W. WRIGHT. 2011. Endocrine and paracrine regulation of mammalian spermatogenesis. Pp. 45-57 en: Hormones and reproduction of vertebrates Vol. 5 Mammals (D.O. Norris y K.H. Lopez eds.). Academic Press, Amsterdam.



1 **CAPITULO II**

2 feliriva@gmail.com

3 RHH: REPRODUCTIVE INDICATORS IN *LEPTONYCTERIS YERBABUENAE*

4  
5 **Internal and external indicators of the male reproductive cycle in the long-nosed bat**

6 *Leptonycteris yerbabuenae*

7  
8 **FELIPE RINCÓN-VARGAS\*, KATHRYN E. STONER, ROSA MARÍA VIGUERAS-VILLASEÑOR,**  
9 **JAFET M. NASSAR, ÓSCAR M. CHAVES, AND ROBYN HUDSON**

10  
11 *Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México,*

12 *Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Ex Hacienda de San José de la Huerta, 58190*

13 *Morelia, Michoacán (FRV, KES, OMC)*

14 *Laboratorio de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Pediatría, SSA. C.P.*

15 *04530. D.F. México (RMVV)*

16 *Centro de Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Aptdo. 20632,*

17 *Caracas 1020A, Venezuela (JMN)*

18 *Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas,*

19 *Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, D.F., México (RH)*

20

21

22

23 Information on animal reproduction is important for the application of conservation plans.  
24 The long-nosed bat *Leptonycteris yerbabuena*e is classified as threatened in México.  
25 However, many aspects of its reproductive biology, especially in males, are still unstudied.  
26 Previously, the formation of a dorsal sebaceous patch in *L. yerbabuena*e males, during the  
27 mating period and probably involved in reproductive behavior, was described. We  
28 determined the dynamics of the *L. yerbabuena*e male reproductive cycle over time based  
29 on the size and morphology of seminiferous tubules. We then related these internal  
30 indicators with external testes size and sebaceous patch size (external indicators) and the  
31 female/male ratio in the population. Finally, we evaluated whether the epididymis functions  
32 in long-term sperm storage. Bats were captured monthly above the main cave exit and  
33 external indicators were registered. Three adult males were euthanized each month for the  
34 evaluation of internal indicators. Based on histological characteristics we determined that  
35 spermatogenesis was completed between September and January in 11 stages and 14 steps.  
36 Internal indicators were correlated with external indicators. We established a testes size  
37 (approximately 48.2 mm<sup>2</sup>) corresponded with the beginning of sperm production.  
38 Furthermore, we found that the epididymis is not involved in long-term sperm storage. This  
39 study provides the first description in *L. yerbabuena*e of the timing of the male  
40 reproductive cycle based on histological characteristics, and also reports a relation between  
41 the size of the sebaceous patch and male reproductive functions.

42 Key words: dorsal sebaceous patch, *Leptonycteris yerbabuena*e, reproductive seasonality,  
43 sex ratio, spermatogenesis cycle, sperm storage.

44 \*Correspondent: [feliriva@gmail.com](mailto:feliriva@gmail.com)

45

46

47 Understanding the physiology and seasonality of the reproductive cycle in natural  
48 populations of animals is crucial to improve our knowledge about the reproductive behavior  
49 of animals in the wild, information often required for designing appropriate conservation  
50 plans (Hayes 2003). Such information is particularly important in mega-diverse vertebrate  
51 groups such as the Chiroptera order (ca. 1000 bat species, representing 25% of world  
52 mammalian fauna; Simmons 2005). However, to date, the reproductive cycle has been  
53 studied in only 7% of bat species world-wide and in only 8% of Neotropical bats (Findley  
54 1995). Furthermore, most of these studies are strongly female biased especially in the  
55 Neotropics (Kruttsch 2000).

56 Evidence indicates that reproduction in tropical bats is generally associated with the  
57 rainy season and the associated increase in food availability during this time of the year  
58 (Racey and Enwistle 2000; Sperr et al. 2011). When food is abundant year round, species  
59 present an aseasonal reproductive pattern (e.g., vampire bat [*Desmodus rotundus*]—Alencar  
60 et al. 1994), whereas in seasonal habitats, where food supply varies over time, bat  
61 reproduction overlaps with maximum food availability (e.g., sheath-tailed bat [*Coleura*  
62 *afra*]—McWilliam 1987).

63 In bats inhabiting seasonal tropical forests, spermatogenesis (i.e., the process in  
64 which a spermatogoniums develops into a sperm) typically occurs during the rainy season  
65 (Jolly and Blackshaw 1987). In monoestrous species, males present only 1 spermatogenesis  
66 cycle per year, although some species have a second non-functional spermatogenesis (e.g.,  
67 Hildegard's tomb bat [*Taphozous hildegardeae*]—McWilliam 1988). In contrast,  
68 polyestrous bats are fertile year round or have a prolonged spermatogenesis period (e.g.,

69 fischer's pygmy fruit bat [*Haplonycteris fischeri*] —Heideman 1989). According to Sobti  
70 (2008), spermatogenesis takes place inside the testes, precisely in the epithelium of the  
71 seminiferous tubules. During this process the seminiferous tubules increase in size,  
72 resulting in a consequent enlargement of the testes. When spermatogenic activity ceases, the  
73 tubules become involuted and testes size decreases. Spermatozoa maturation is completed  
74 in the epididymis, a duct that collects spermatozoa from the testes (Tulsiani and Abou-  
75 Haila 2011). Three anatomical sections form the epididymis: caput, corpus and cauda. In  
76 bats, the cauda epididymis may store spermatozoa for long-term periods of weeks to  
77 months, primarily in temperate dwelling, hibernating species, although some tropical  
78 species (e.g., common sheath-tail bat [*Taphozous georgianus*], little brown bat [*Myotis*  
79 *lucifugus*], cave bat [*Myotis velifer*]—Jolly and Blackshaw 1987; Krutzsch et al. 1982;  
80 Krutzsch 2000) do so as well.

81         The long-nosed bat *Leptonycteris yerbabuena* is a nectar-feeding specialist with  
82 populations making annual migrations in the spring following the flowering of Cactaceae  
83 and Agavaceae plants (Fleming et al. 1993; Valiente-Banuet et al. 1996) from Mexico to  
84 the southwestern United States. Here the bats form large maternity colonies and a few  
85 months later these populations migrate back to Mexico (Stoner et al. 2003). Although in the  
86 Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve in central western Mexico, most long-nosed bats  
87 migrate each year, some individuals—mainly males, are annual residents (Stoner et al.  
88 2003). However, there are no systematic studies of the spermatogenesis cycle of *L.*  
89 *yerbabuena* and what information there is on its reproductive biology is sparse and  
90 controversial. Some authors indicate that long-nosed bats present a bimodal polyestrous  
91 pattern (Rojas-Martínez et al. 1999; Sánchez-Hernández and Romero-Almaraz 1995).

92 Galindo et al. (2004) suggest a monoestrous pattern and Stoner et al. (2003) recognize 2  
93 peaks per year in reproduction in females, although they emphasize that while this species  
94 may be polyestrous at the population level, it is likely that most individuals reproduce only  
95 once a year. Based on external testes size Ceballos et al. (1997) suggested that male  
96 reproduction of *L. yerbabuena*e in Chamela is restricted to October-December, whereas  
97 Stoner et al. (2003) recognized 2 possible periods of reproduction or 1 extended period.

98         The reproductive cycle of *L. yerbabuena*e and its sister specie long-nosed bat *L.*  
99 *curasoa*e is also characterized by the seasonal formation of a dorsal sebaceous patch in  
100 adult males during the mating season (Muñoz-Romo and Kunz 2009; Nassar et al. 2008).  
101 This patch does not contain any specialized glands, but contains odiferous compounds  
102 derived from saliva, urogenital fluids, feces, and sebaceous secretions, and is probably  
103 involved in female mate selection (Muñoz-Romo and Kunz 2009; Nassar et al. 2008).  
104 Overall, males with dorsal patches have larger testes, smaller body mass, lower body  
105 condition indices, and fewer ectoparasites than males without patches (Muñoz-Romo and  
106 Kunz 2009). Although the presence of the dorsal patch may be a useful indicator of male  
107 reproductive status. This was corroborated in the case of *L. curasoa*e through a structural  
108 characterization of both testis and epididymides (Nassar et al. 2008). In this species,  
109 spermiogenesis (last part in spermatogenesis, when spermatids develops in sperms)  
110 occurred between October and November, while formation of the dorsal patch occurred in  
111 November. In the case of *L. yerbabuena*e, the relationship between the dorsal patch and the  
112 spermatogenesis period still remains unexplored.

113         In this study, we analyze the internal indicators of the male reproductive cycle and  
114 determine their relationship with external indicators in *L. yerbabuena*e in a cave in

115 Chamela, Mexico, previously documented as an important breeding site for this species  
116 (Stoner et al. 2003). We determined: (1) dynamics of the spermatogenesis cycle over time  
117 (evaluating internal characteristics) and the correlation with changes in external testes size  
118 across the year, (2) whether the epididymis functions in long-term sperm storage, and (3)  
119 the relationship of sebaceous patch size with the female/male ratio in the population and  
120 external testes size (and hence, the spermatogenesis period). We hypothesize that  
121 *Leptonycteris yerbabuena* males have two reproductive peaks but only one  
122 spermatogenesis period per year. Furthermore, we expected that internal indicators can be  
123 predicted with external indicators. Spermatogenesis would occur before the development of  
124 the dorsal patch, continuing while the patch is present. If the epididymis functions in long-  
125 term sperm storage, as has been reported in other bat species (Crichton 2000), we expected  
126 that epididymis diameter would not be correlated directly with testes size, particularly  
127 during the migration periods when testes size decreases (Jolly y Blackshaw 1987). Finally,  
128 based on the studies of Muñoz-Romo and Kunz (2009) and Nassar et al. (2008), we also  
129 expected that the presence of the dorsal patch would be positively correlated to external  
130 testes size and to female/male ratio: to larger patches, bigger testes and female/male ratios  
131 will be presents.

132

## 133 MATERIALS AND METHODS

134

135 *Study site.*—We conducted this study for a year on a population of *L. yerbabuena*  
136 in a cave on Don Panchito Island belonging to the Chamela Bay's Islands Sanctuary,  
137 located in Chamela Bay, off the coast of Jalisco, Mexico (19° 31' 00" N, 105° 06' 00" W).

138 The island is 3.3 ha in size and is located 465 m from the mainland and about 3 km from  
139 the 13,000 ha Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (Miranda et al. 2011). The island is  
140 characterized by several species of cactus (*Cephalocereus purpusii*, *Pachycereus pecten-*  
141 *aboriginum*, *Stenocereus chrysocarpus* y *S. standleyi*), and some small trees such as *Ceiba*  
142 *grandiflora* and *Amphipterygium adstringens* (Stoner et al. 2003). The predominant  
143 vegetation type of the region is tropical dry forest (Lott 1993). The climate is seasonal, with  
144 rains from June to October, and a long dry season from November to May. Average annual  
145 rainfall is 767.4 mm and average temperature is 25.1°C (1977–2009 Chamela  
146 meteorological records <http://www.ibiologia.unam.mx/ebchamela/www/clima.html>).

147 *Bat sampling.*—Capture, handling, care and euthanasia of bats followed the  
148 guidelines approved by the American Society of Mammalogists (Gannon et al. 2007) and  
149 the Mexican government authorization (SGPA/DGVS/03942/10). We collected two days  
150 every month from November 2008 until December 2009 (except for June, 2009 due to the  
151 presence of Hurricane Andres, and August, 2009 when no bats were captured). Bats were  
152 captured with a 12 m mist net placed on the highest part of the island, above the main cave  
153 exit. The net was opened 1 hour after sunset and remained open for 3 consecutive hours.  
154 Adult bats were captured and held temporarily in soft cotton bags. We distinguished bats' <sup>´</sup>  
155 age by the epiphyseal-diaphyseal fusion of the fourth metacarpal-phalangeal joint (Anthony  
156 1988). In males we measured the length and width of external testes, as well as presence  
157 and dimensions of the dorsal patch (length x width) when it was completely formed with a  
158 sebaceous appearance. Measures were obtained using a dial caliper (accuracy 0.1 mm).

159 In accordance with previous studies (Ceballos et al. 1997; Stoner et al. 2003), we  
160 divided the annual reproductive events of *L. yerbabuena* in 3 main periods: (1)

161 migration—when bats, mainly females, migrate to the southwestern USA to form maternity  
162 colonies (February and March), (2) residency—when males and some females remain in  
163 the cave (April to August), and (3) mating—when most females return and copulate with  
164 males (September to January).

165 *Histological procedures.*—Each month, we euthanized 3 adult males (total n= 36)  
166 using xylazine hydrochloride (10 mg/kg Pfizer) and sodium pentobarbital (120 mg/kg,  
167 Pfizer). They were randomly chosen, but each sampling period included at least 1 bat with  
168 the dorsal sebaceous patch when these were present in the population. We extracted testes  
169 and epididymis. We fixed testes in Karnovsky solution and later embedded them in EPON  
170 for preparation of semi-thin sections, at approximately 2 $\mu$ m, using an ultramicrotome, and  
171 staining with Toluidine blue. Epididymis was immersed in a 4% solution of  
172 paraformaldehyde and embedded them in paraffin for light microscopic examination after  
173 staining with Hematoxyline – Eosine (H-E). Sections were assessed using an optical  
174 microscope and an image analyzing system (Image-Pro Plus 5.1, USA).

175 For morphological characterization of the spermatogenesis cycle at the seminiferous  
176 epithelium, we analyzed 5 specimens obtained during the reproductive months of  
177 November and December, when matings were reported by Stoner et al. (2003) and  
178 complete spermatogenic cycle is expected. We examined 3 sections per specimen giving a  
179 total of 15 slides. The spermatogenesis cycle was divided into stages according to the  
180 acrosomic system; based on spermiogenesis, the last part of the spermatogenesis, when  
181 spermatids mature until spermiation, spermatozoa expulsion (see Clermont et al. 1993).  
182 We obtained the diameter of seminiferous tubules in testes, and the tubules of the cauda and  
183 caput in epididymis from the mean of 10 circular tubular cross sections for each individual.



184 We used these same cross sections to determine the developmental stage of  
185 spermatogenesis in testes over the maturation index of Johnsen (1970). This index assesses  
186 the degree of maturation of the seminiferous tubules according to morphological  
187 characteristics, where 1 corresponds to the absence of cells in the seminiferous tubules, and  
188 10 corresponds to complete spermatogenesis (Johnsen 1970).

189 *Statistical analysis.*— To test seasonal differences in external testicular size (length  
190 x width) among the migration, residency and mating periods we used Generalized Linear  
191 Models (Lehman et al. 2005), selecting a normal distribution with an identity link-function  
192 to the response variable (Lehman et al. 2005). To identify which stages were statistically  
193 different among each other we used post-hoc analyses with contrasts (Lehman et al. 2005).  
194 To assess the relationship between the maturation index, testes size and tubule diameter, we  
195 used a Spearman correlations. To calculate the external testes size at which the sperm  
196 production started, we carried out a simple linear regression with the maturation index as a  
197 response variable and internal testes size as a predictor variable. We then used the  
198 regression equation to determine the value of testes size corresponding to a maturation  
199 index equal to 8.1 (Johnsen 1970). To determine whether the epididymis diameter (cauda  
200 and caput) was correlated with external testes size over time, we used a Spearman  
201 correlation analysis. Finally, to evaluate whether dorsal patch size, when is present, was  
202 related to external testes size or female/male ratio in the population, we applied a multiple  
203 regression analysis using external testes size and female/male ratio as predictor variables.  
204 All statistical analyses were performed using JMP software (version 8.0, SAS Institute,  
205 Cary, N.C.). Descriptive statistics are expressed as means and standard deviations.

206

207 **RESULTS**

208

209 *Spermatogenesis cycle, tubule diameter and their relationship with external testes*  
210 *size.*— Using the acrosomic system, based on chromatin distribution, nuclear morphology  
211 and position of spermatids within the seminiferous epithelium (Clermont et al. 1993), we  
212 identified 11 well-differentiated stages (Table 1; Fig. 1) in spermatogenesis of *L.*  
213 *yerbabuena*. Spermiogenesis was divided into 14 steps grouped into 4 phases: (1) Golgi—  
214 steps 1-2 characterized by the proacrosomal vesicle situated near the nucleus; (2) Cap—  
215 steps 3-5 recognized by the vesicle developing into an acrosome; (3) Acrosome—steps 6-8  
216 characterized by the elongation and condensation of the spermatids' nucleus; and (4)  
217 Maturation— steps 9-14 when morphological changes are complete and spermiation occurs  
218 (Table 1; Fig. 1).

219 Annual development of testes started in July when some individuals began the  
220 spermatogenic sequence with spermatids elongating and seminiferous tubules starting to  
221 enlarge. The spermatogenic sequence was completed between September and January,  
222 during which time the seminiferous tubules continued their enlargement until achieving  
223 their greatest diameter in October. However, in September not all individuals showed  
224 complete development of seminiferous tubules; some individuals had tubules with an  
225 irregular form due to folding of the basal lamina. In January, large quantities of epithelial  
226 cells underwent detachment from seminiferous tubules, followed by involution of the  
227 seminiferous cords, and a decrease in tubule diameter. The involution baseline in tubule  
228 diameter occurred in March.

229 External testes size was also minimal in March ( $16.66 \pm 1.92 \text{ mm}^2$ ), showed a slight  
230 increase in May and April, clearly began to enlarge in July ( $27.36 \pm 14.30 \text{ mm}^2$ ), continued  
231 to enlarge in September, and reached a maximum in October ( $50.69 \pm 12.48 \text{ mm}^2$ ) and  
232 November (Fig. 2). A gradual decrease occurred in testes size from December to February,  
233 reaching the minimal baseline size in March and a slight increase in May and April (Fig. 2).  
234 External testes size differed significantly among reproductive periods ( $\chi^2 = 22.9$ ,  $d.f. = 2$ ,  $P$   
235  $< 0.01$ , Fig. 3), being greater in the mating period than in the migration and residency  
236 periods (contrast tests,  $P < 0.05$  in both cases, Fig. 2), but similar between the 2 latter  
237 periods (contrast test,  $P > 0.05$ , Fig. 2).

238 Finally, we found that the maturation index was strongly associated with both  
239 external testes size ( $r_s = 0.80$ ,  $n = 36$ ,  $P < 0.01$ ) and tubule diameter ( $r_s = 0.87$ ,  $n = 36$ ,  $P <$   
240  $0.01$ ). The linear relationship between the maturation index and testes size was described  
241 by the equation: maturation index =  $1.83 + 0.13$  testis size ( $r_s = 0.53$ ,  $n = 36$ ,  $P < 0.01$ ),  
242 indicating that testes size in which sperm production started was  $48.2 \text{ mm}^2$ .

243 *Sperm storage ability of the epididymis.*—The tubular diameter of the epididymis  
244 (cauda and caput) and external testes size were strongly correlated over time ( $r_s = 0.75$ ,  $n =$   
245  $36$ ,  $P < 0.01$ , Fig. 2). Larger testes during the mating period corresponded to maximum  
246 diameter of the epididymis (Fig. 2), whereas smaller testes size during the migration period  
247 corresponded to minimal epididymis diameter (Fig. 2). During the residency period both  
248 testes size and epididymis diameter increased (Fig. 2).

249 *Sebaceous patch size, testes size, and female/male ratio.*—A sebaceous patch was  
250 found in 26 individuals, 10.74% of adult bats captured ( $n = 242$  individuals)—all of them

251 during October-January— and its size ranged from 32.25 to 741.27 mm<sup>2</sup> (391.61 ± 221.13  
252 mm<sup>2</sup>). Multiple regression analysis indicated that the linear combination of external testes  
253 size and female/male ratio accounted for 55% of observed variance in sebaceous patch size  
254 ( $F_{3,22} = 8.88$ ,  $n = 26$ ,  $P < 0.01$ ,  $r^2 = 0.55$ ). Both predictor variables were directly related to  
255 patch size (Table 2), but standardized multiple regression coefficients indicated that most of  
256 the variation in patch size was due to the increase in the female/male ratio (Table 2).

257

## 258 **DISCUSSION**

259

260 In general, our results are consistent with published studies describing the  
261 reproductive biology of *Leptonycteris yerbabuena* in Mexico (e.g., Ceballos et al. 1997;  
262 Stoner et al. 2003) and *L. curasoae* in Venezuela (Muñoz-Romo and Kunz 2009; Nassar et  
263 al. 2008). We determined that: (1) the spermatogenic sequence (11 stages, 14 steps) was  
264 completed between September and January and that maximum external testes enlargement  
265 occurred between October and November, internal characteristics (maturation index and  
266 tubule diameter) were correlated with external testes size then sperm production started  
267 when testes size reached a maximum of about 48.2 mm<sup>2</sup>. (2) The epididymis did not  
268 function in long-term sperm storage but rather in short-term seasonal storage. And (3) the  
269 presence of the dorsal patch was directly related to female/male ratio within the population,  
270 but not to individual male testes' size.

271 *Spermatogenesis cycle, tubule diameter and their relationship with testes size.*—The  
272 number of steps during spermiogenesis varies among bat species from 6 to 16 (Beguelini et  
273 al. 2009; Morigaki et al. 2001). Much of this great variation between studies is almost

274 certainly due to the different methods used in defining and determining the stages of  
275 classification; the acrosomic system we used allows finer definition and identifies more  
276 stages (Berndtson 1977). The number of stages we found in *L. yerbabuenae* (11) is the  
277 same or similar to that those reported for several bat species within the Palearctic suborder  
278 Yinpterochiroptera. Both rat-tailed bats (*Rhinopoma kinneari*) and java fruit bats (*Pteropus*  
279 *vampyrus*) have 11 stages and wild fulvous fruit bats (*Rousettus leschenaultia*) and  
280 japanese lesser horseshoe bats (*Rhinolophus cornutus*) present 10 stages (Morigaki et al.  
281 2001; Saidapur and Patil 1992; Singwi and Lall 1983). Nevertheless, the number of stages  
282 we identified differs greatly from several related species of phyllostomids with 8 stages:  
283 Fruit-eating bats (*Artibeus lituratus* and *A. planirostris*), short-tailed fruit bats (*Carollia*  
284 *perspicillata*), white-lined broad-nosed bats (*Platyrrhinus lineatus*) and little yellow-  
285 shouldered bats (*Sturnira lilium*, Beguelini et al. 2009). This difference is likely due to  
286 these studies using a tubular morphology method (Berndtson 1977).

287         A previous study on *L. yerbabuenae* at this same location reported that males are  
288 reproductive during October-December (Ceballos et al. 1997), whereas another study  
289 identified two reproductive peaks: May-June and September-December (Stoner et al. 2003).  
290 Both studies considered males to be reproductively active when external testes size was  
291 greater than 32 mm<sup>2</sup> (length x width). In the present study we found only one  
292 reproductively active time of the year (October-January) for males, as previously suggested  
293 by Galindo et al (2004) and document a testes size of 48.23 mm<sup>2</sup> corresponding to the  
294 complete spermatogenic cycle. Nevertheless, while the spermatogenesis cycle of the  
295 majority of individuals examined in our study occurred from October to January, great  
296 variation was present with some individuals showing maturation as early as July, while

297 others did not show complete maturation until October. This variation, combined with the  
298 fact that spermatogenesis in our study corresponded to a testes size of 48.23 mm<sup>2</sup> might  
299 explain why the previous study suggested two possible male reproductive periods (i.e. they  
300 using smaller size testes to estimate when individuals were reproductively active).

301         Some other tropical phyllostomids present a similar pattern of testes enlargement  
302 during the spermaogenic cycle. The monoestrous species *Anoura geoffroyi* triples weight of  
303 testes during April–July, with spermatogenesis occurring from May–August (Heideman et  
304 al. 1992). Also bimodal polyoestrous species including common fruit bats (*Artibeus*  
305 *jamaicensis*), tent-making bats (*Uroderma bilobatum*) and nectar-feeding bats  
306 (*Glossophaga soricina*) increase testes size before females begin estrous twice during the  
307 year (Fleming et al. 1972).

308         *Sperm storage ability of the epididymis.*—It has been suggested that gestation in *L.*  
309 *yerbabuena* is approximately five months (Ceballos et al. 1997), the same time period  
310 reported in the case of *L. curasoae* in Venezuela (Martino et al. 1998). This is based on the  
311 information that a breeding peak occurs in Mexico around December, and after migrating  
312 north, large maternity colonies in the southwestern US congregate and give birth in  
313 approximately mid-May (Hayward and Cockrum 1971, Rojas-Martínez et al. 1999).  
314 Although this appears to be the general pattern for the majority of the population, Stoner et  
315 al. (2003) observed some pregnant females in Chamela during February, March and July,  
316 suggesting that at least part of the population does not undergo the same reproductive and  
317 migration pattern. The five months estimated gestation period is approximately one month  
318 longer than that reported for several other tropical phyllostomids (*C. perspicillata*, *A.*  
319 *jamaicensis* and *G. soricina*; Fleming 1971).

320 Sperm storage permits asynchrony of male and female cycles and allows each to be  
321 optimally timed in relation to environmental conditions. For example in the common  
322 sheath-tailed bat (*Taphozous georgianus*), the spermatogenesis peak occurs during  
323 February and March, and the epididymis stores sperm throughout the year until the mating  
324 period in August-October, when spermatogenesis ceases (Jolly and Blackshaw 1987).  
325 Nevertheless, based on the synchronous development of testis and epididymis we reject the  
326 possibility of long-term sperm storage in *L. yerbabuena*. Further studies of female *L.*  
327 *yerbabuena* are necessary to determine if delayed implantation or arrested gestation are  
328 mechanisms employed by this species.

329 *Sebaceous patch size, testes size, and female/male ratio.*—We found a positive  
330 relationship between dorsal patch size and the female/male ratio in the population. Males  
331 with larger dorsal patches were observed when the largest number of females was present.  
332 Similarly, we found a positive relationship between patch size and testes size. Our results  
333 support the hypothesis of Nassar et al. (2008) and Muñoz-Romo and Kunz (2009) that the  
334 dorsal sebaceous patch in *L. yerbabuena* and *L. curasoae* is important in attracting females  
335 during the mating period. The rainy season is closely associated with pregnancy and  
336 lactation in tropical bats, although peaks in testosterone are generally associated with the  
337 breeding period (Gustafson and Damassa 1985; Zortea 2003). Spermatogenesis in *L.*  
338 *yerbabuena* is probably related to the female migration and food peak availability of  
339 females in this region that was greatest from October to January (Stoner et al. 2003).

340 We established the male reproductive cycle of *L. yerbabuena* based on histological  
341 and external characteristics. This is the first study to show an unequivocal relationship  
342 between the dorsal sebaceous patch and male reproductive function, although further

343 research is necessary to better document the specific role of the dorsal sebaceous patch in  
344 female sexual attraction in *L. yerbabuena*. Furthermore, more detailed studies focusing on  
345 the relationship between female reproduction and migration in this species will be  
346 important for understanding population dynamics and its effect on reproduction.

347

#### 348 **ACKNOWLEDGEMENTS**

349

350 This research was supported by grants from the Consejo Nacional de Ciencia y  
351 Tecnología, México. F. Rincón obtained a scholarship from CONACyT. This study would  
352 not have been possible without the field and laboratory assistance of J.M. Lobato and P.  
353 Medina Granados, respectively.

354

#### 355 **LITERATURE CITED**

356

357 ALENCAR, A.O, G.A.P. SILVA, M.M. DA ARRUDA, A.J. SOARES AND D.Q. GUERRA. 1994.

358 Aspectos biológicos e ecológicos de *Desmodus rotundus* (Chiroptera) no nordeste

359 do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro 14: 95-103.

360 ANTHONY, L. P. E. 1988. Age determination in bats. Pp. 47–58 in Ecological and behavioral

361 methods for the study of bats (T. H. Kunz, eds.). Smithsonian Institution Press,

362 London, United Kingdom.

363 BEGUELINI, M. R., P. R. MOREIRA, K. C. FARIA, S. R. MARCHESIN, AND E. MORIELLE-

364 VERSUTE. 2009. Morphological characterization of the testicular cells and



365 seminiferous epithelium cycle in six species of Neotropical bats. *Journal of*  
366 *Morphology* 270:943–953.

367 BERNDTSON, W. E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. *J*  
368 *Animal Science* 44:818–833.

369 CEBALLOS, G., T. H. FLEMING, C. CHÁVEZ, AND J. M. NASSAR. 1997. Population dynamics  
370 of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Jalisco, México. *Journal*  
371 *of Mammalogy* 78:1220–1230.

372 CLERMONT, Y., R. OKO AND L. HERMO. 1993. Cell biology in mammalian spermiogenesis.  
373 Pp. 332–376 in *Cell and molecular biology of testis* (C. Desjardins and L. L. Ewing,  
374 eds.). Oxford University Press, New York.

375 CRICHTON, E.G. 2000. Sperm storage and fertilization. Pp. 295–362 in *Reproductive*  
376 *biology of bats* (E. G. Crichton, and P. H. Krutzsch, eds.). Academic Press,  
377 Cambridge.

378 FINDLEY, J. S. 1995. *Bats, a community perspective*. Cambridge University Press.  
379 Cambridge, United Kingdom.

380 FLEMING, T. H. 1971. *Artibeus jamaicensis*: delayed embryonic development in a  
381 neotropical bat. *Science* 171:402–404.

382 FLEMING, T. H., E. T. HOOPER, AND D. E. WILSON. 1972. Three central american bat  
383 communities: structure, reproductive cycles, and movement patterns. *Ecology*  
384 53:555–569.

385 FLEMING, T. H., R. A. NUÑEZ, AND L. S. L. DA SILVEIRA. 1993. Seasonal changes in the  
386 diets of migrant and non-migrant nectarivorous bats as revealed by carbon stable  
387 isotope analysis. *Oecologia* 94:72–75.

388 GALINDO, C., A. SÁNCHEZ, R.H. QUIJANO AND L.G. HERRERA . 2004. Population dynamics  
389 of a resident colony of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in  
390 central México. *Biotropica* 36:382–391.

391 GANNON, W. L., R. S. SIKES, AND THE ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE OF THE  
392 AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS 2007. Guidelines of the American Society  
393 of Mammalogists for the Use of Wild Mammals in Research. *Journal of*  
394 *Mammalogy* 88:809–823.

395 GUSTAFSON, A. W. AND D. A. DAMASSA. 1985. Annual variations in plasma sex steroid–  
396 binding protein and testosterone concentrations in the adult male little brown bat:  
397 relation to the asynchronous recrudescence of the testis and accessory reproductive  
398 organs. *Biology of Reproduction* 33: 1126–1137.

399 HAYES, J. P. 2003. Habitat ecology and conservation of bats in western coniferous forests.  
400 Pp. 81–119 in *Mammal community dynamics, management and conservation in the*  
401 *coniferous forests of western North America* (C. J. Zabel and R. G. Anthony, eds.).  
402 Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

403 HAYWARD, B.J. AND E.L. COCKRUM. 1971. The natural history of the westernlong-nosed  
404 bat, *Leptonycteris sanborni*. *Western New Mexico University Research in Science*  
405 1:75-123.

406 HEIDEMAN, P.B. 1989. Delayed development in Fischer's pygmy fruit bat, *Haplonycteris*  
407 *fischeri*, in the Philippines. *Journal of Reproduction and Fertility* 85:363-382.

408 HEIDEMAN, P.D., P. DEORAJ AND F.H. BRONSON. 1992. Seasonal reproduction of a tropical  
409 bat, *Anoura geoffroyi*, in relation with photoperiod. *Journal of Reproduction and*  
410 *Fertility* 96: 765-773.

411 JOHNSEN, S. G. 1970. Testicular score count – a method for registration of spermatogenesis  
412 in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*  
413 1:2–25.

414 JOLLY, S. E. AND A. W. BLACKSHAW. 1987. Prolonged epididymal sperm storage, and the  
415 temporal dissociation of testicular and accessory gland activity in the common  
416 sheath-tail bat, *Taphozous georgianus*, of tropical Australia. *Journal of*  
417 *Reproduction and Fertility* 81:205–211.

418 KRUTZSCH, P. H. 2000. Anatomy, physiology and cyclicity of the male reproductive tract.  
419 Pp. 91–156 in *Reproductive biology of bats* (E. G. Crichton, and P. H. Krutzsch,  
420 eds.). Academic Press, Cambridge.

421 KRUTZSCH, P. H., E. G. CRICHTON AND R. B. NAGLE. 1982. Studies on prolonged  
422 spermatozoa survival in Chiroptera: a morphological examination of storage and  
423 clearance of intrauterine and cauda apididymal spermatozoa in the bats *Myotis*  
424 *lucifugus* and *M. velifer*. *The American Journal of Anatomy* 165:421-434.

425 LEHMAN, A., N. O'ROURKE, L. HATCHER, AND E. J. STEPANSKI. 2005. JMP for basic  
426 univariate and multivariate statistics: a step-by-step guide. SAS Institute, North  
427 Carolina, USA.

428 LOTT, E. J. 1993. Annotated checklist of the vascular flora of the Chamela bay region,  
429 Jalisco, México. Occasional Papers of the California Academy of Sciences: 146, 60  
430 pp.

431 MARTINO, A., A. ARENDS, AND J. ARANGUREN. 1998. Reproductive pattern of *Leptonycteris*  
432 *curasoae* Miller (Chiroptera: Phyllostomidae) in northern Venezuela. Mammalia  
433 62:69–76.

434 MCWILLIAM, A. N. 1987. The reproductive and social biology of *Coleura afra* in a seasonal  
435 environment. Pp. 324-350 in Recent advances in the study of bats (M. B. Fenton, P.  
436 A. Racey, and J. M. V. Rayner, eds.). Cambridge University Press, Cambridge.

437 MCWILLIAM, A. N. 1988. The reproductive cycle of male tomb bat *Taphozous*  
438 *hildegardeae* (Chiroptera: Emballonuridae), in a seasonal environment of the  
439 african tropics. Journal of Zoology 215:433-442.

440 MIRANDA, A., G. AMBRIZ, D. VALENCIA, M. SÁNCHEZ AND A. SZEKELY. 2011. Programa de  
441 manejo del santuario de las islas de la Bahía Chamela: Islas La Pajarera, Cocinas,  
442 Mamut, Colorada, San Pedro, San Agustín, San Andrés y Negrita, e islotes Los  
443 Anegados, Novillas, Mosca y Submarino, Jalisco, México. Comisión Nacional de  
444 Áreas Naturales Protegidas. México D.F. 149 p.

445 MORIGAKI, T., M. KUROHMARU, Y. KANAI, M. MUKOHYAMA, E. HONDO, J. YAMADA, S.  
446 AGUNGPRIYONO, AND Y. HAYASHI. 2001. Cycle of the seminiferous epithelium in  
447 the Java fruit bat (*Pteropus vampyrus*) and the Japanese lesser horseshoe bat  
448 (*Rhinolophus cornutus*). *Journal of Veterinarian Medical Science* 63:773–779.

449 MUÑOZ-ROMO, M., AND T. H. KUNZ. 2009. Dorsal patch and chemical signaling in males of  
450 the Long-nosed bat, *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal*  
451 *of Mammalogy* 90:1139–1147.

452 NASSAR, J. M., M. V. SALAZAR, A. QUINTERO, K. E. STONER, M. GOMEZ, A. CABRERA,  
453 AND K. JAFFE. 2008. Seasonal sebaceous patch in the nectar–feeding bats *Leptonycteris*  
454 *curasoae* and *L. yerbabuena* (Phyllostomidae: Glossophaginae): phenological,  
455 histological, and preliminary chemical characterization. *Zoology* 111:363–376.

456 RACEY, P. A., AND A. C. ENWISTLE. 2000. Life–history and reproductive strategies of bats.  
457 Pp. 363–414 in *Reproductive biology of bats* (E. G. Crichton, and P. H. Krutzsch,  
458 eds.). Academic Press, Cambridge.

459 ROJAS-MARTÍNEZ, A., A. VALIENTE-BANUET, M. ARIZMENDI, A. ALCANTARA-EGUREN AND  
460 H. T. ARITA. 1999. Seasonal distribution of the long-nosed bat (*Leptonycteris*  
461 *curasoae*) in North America: does generalized migration pattern really exist?  
462 *Journal of Biogeography* 26:1065–1077.

463 SAIDAPUR, S. K., AND S. B. PATIL. 1992. Kinetics of spermatogenesis in megachiropteran  
464 bat, *Rousettus leschenaulti* (Desmarset): seminiferous epithelial cycle, frequency of  
465 stages, spermatogonial renewal and germ cell degeneration. *Indian Journal of*  
466 *Experimental Biology* 30:1037–1044.

- 467 SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, C. Y M. L. ROMERO-ALMARAZ. 1995. Mastofauna silvestre del área  
468 de Reserva Sierra de Huautla, con énfasis en la región noreste. Universidad  
469 Autónoma del Estado de Morelos. México, D.F. 151 p.
- 470 SAS INSTITUTE. 2008. JMP 8: statistics and graphics guide. SAS Institute Inc, North  
471 Carolina.
- 472 SIMMONS, N.B. 2005. Order Chiroptera. Pp. 312–529 in Mammal species of the world: a  
473 taxonomic and geographic reference, Third Edition, Volume 1 (D.E. Wilson and  
474 D.M. Reeder, eds.). Johns Hopkins University Press.
- 475 SINGWI, M. S., AND S. B. LALL. 1983. Spermatogenesis in the non–scrotal bat–*Rhinopoma*  
476 *kinneari* Wroughton (Microchiroptera: Mammalia). Acta Anatomica 116:136–145.
- 477 SOBTI, R. C. 2008, Animal physiology. Oxford, United Kingdom.
- 478 SPERR, E. B., L. A. CABALLERO-MARTÍNEZ, R. A. MEDELLÍN, AND M. TSCHAPKA. 2011.  
479 Seasonal changes in species composition, resource use and reproductive patterns  
480 within a guild of nectar-feeding bats in a west mexican dry forest. Journal of  
481 Tropical Ecology 27:133-145.
- 482 STONER, K. E., K. A. O. SALAZAR, R. C. R. FERNÁNDEZ, AND M. QUESADA. 2003.  
483 Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long–nosed bat  
484 (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, Mexico: implications for conservation.  
485 Biodiversity and Conservation 12:357–373.
- 486 TULSIANI, D. R. AND A. ABOU-HAILA. 2011. Molecular events that regulate mammalian  
487 fertilization. Minerva Ginecologica 63:103-118.

488 VALIENTE-BANUET, A., M. ARIZMENDI, A. ROJAS-MARTÍNEZ, AND A. DOMÍNGUEZ-  
489 CANSECO. 1996. Ecological relationships between Columnar Cacti and Nectar-  
490 Feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 12:103–119.

491 ZORTEA, M. 2003. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats  
492 (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian Cerrado. *Brazilian Journal of*  
493 *Biology* 63:159–168

494

495 **Tables**

496

497 **Table 1.**—Description of the stages and steps in the spermatogenesis cycle in the Long-  
 498 nosed bat *L. yerbabuena* in Don Panchito Island, Chamela Bay, Mexico. Data were  
 499 collected by taking 100 X light micrographs of semi-thin sections of testes (Fig. 1).

Stage	Steps	Spermatids	Cell association
I	1	Round, four-layered spermatids	Spermatogonia type B
	12	Elongated spermatids closer to the lumen of the tubules	Pachytene spermatocytes
II	2	Spermatids with first appearance of proacrosomal vesicles	Spermatogonia type B Pachytene spermatocytes
	13	Elongated spermatids began approaching the lumen epithelium	
III	3	Spermatid nuclear surface with acrosome appearance	Spermatogonia type B Pachytene spermatocytes
	14	Elongated spermatids arranged on the luminal surface just prior to spermiation	Residual bodies, near to the nucleus of spermatids
IV	4	Spermatids with flattened acrosome observed on the round-oval nucleus surface of the spermatid	Spermatogonia type B Pachytene spermatocytes



---

V	5	Spermatids with acrosomal formation almost completed, the acrosome covered more than half of the nuclear surface  Spermiation occurred	Spermatogonia type B  Pachytene spermatocytes
VI	6	Elongated spermatid with oval nucleus and oriented towards the base, began the acrosomal phase	Spermatogonia type B  Preleptotene spermatocytes, derived from spermatogonia  Pachytene spermatocytes
VII	7	Spermatids begin the formation of flagellum	Spermatogonia type B  Leptotene spermatocytes  Pachytene spermatocytes, nucleus continues enlargement
VIII	8	Spermatids elongation continues	Spermatogonia type B  Zygotene spermatocytes, condensed nucleus  Pachytene spermatocytes

---

---

IX	9	Spermatids elongation continues	Spermatogonia type B Zygotene spermatocytes Diplotene spermatocytes
X	10	Elongated spermatids are located close to the basal membrane	Spermatogonia type B Zygotene spermatocytes Spermatocytes in metaphase
XI	11	Elongated spermatids continues elongation and condensation of acrosomes	Spermatogonia type B Zygotene-pachytene spermatocytes Secondary spermatocytes

---

500

501

502

503 **Table 2.**—Non-standardized estimates ( $\beta$  Weight) and Beta Weights from multiple  
 504 regression analyses.

Predictor variable	Mean ( $\pm$ <i>SD</i> )	$\beta$ Weight	SE $\beta$ Weight	Std Beta	<i>T</i>
Female/male ratio	69.6 (41.1)	0.35	0.11	0.63*	3.03
External testes size (mm <sup>2</sup> )	224.8 (85.2)	0.66	0.36	0.29	1.81

505 Note: \* $p < 0.01$ ,  $R^2 = 0.55$ ,  $F(3, 22) = 8.88$ ,  $p < 0.001$  for predictor variables.

506

507

508 **Figures**

509

510 **Figure 1**— Light micrographs (100 X) of HE-stained sections illustrating the 11 stages of  
511 the seminiferous epithelium of long-nosed bats, *Leptonycteris.yerbabuena*. The stages  
512 were established on the basis of chromatin distribution, nuclear morphology and position  
513 within the seminiferous epithelium. Sigles: S, spermatogonium type B; PL, preleptotene  
514 spermatocyte; L, leptotene spermatocyte; Z, zygotene spermatocyte; P, pachytene  
515 spermatocyte; D, diplotene spermatocyte; M, spermatocyte in metaphase; Ss, secondary  
516 spermatocyte. Spermatids steps: Golgi 1–2; cap 3–5; acrosome 6–8; and maturation 9–14.

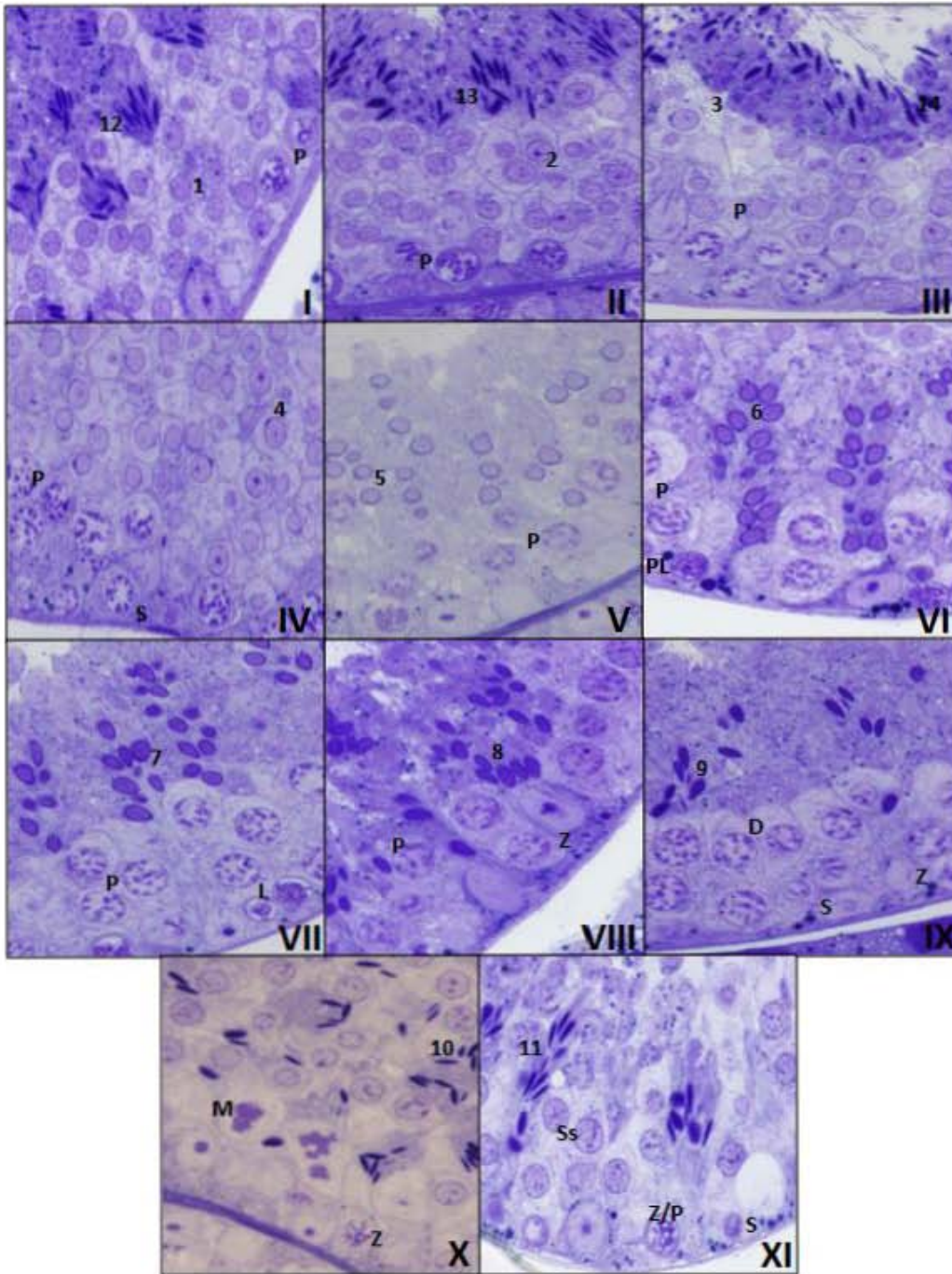
517

518

519 **Figure 2**—External testes size (mean  $\pm$  *SD*) and tubule diameter of caput and cauda  
520 epididymis (mean  $\pm$  *SD*) during months and reproductive periods of 2008-2009.

521

522 **Fig 1.**

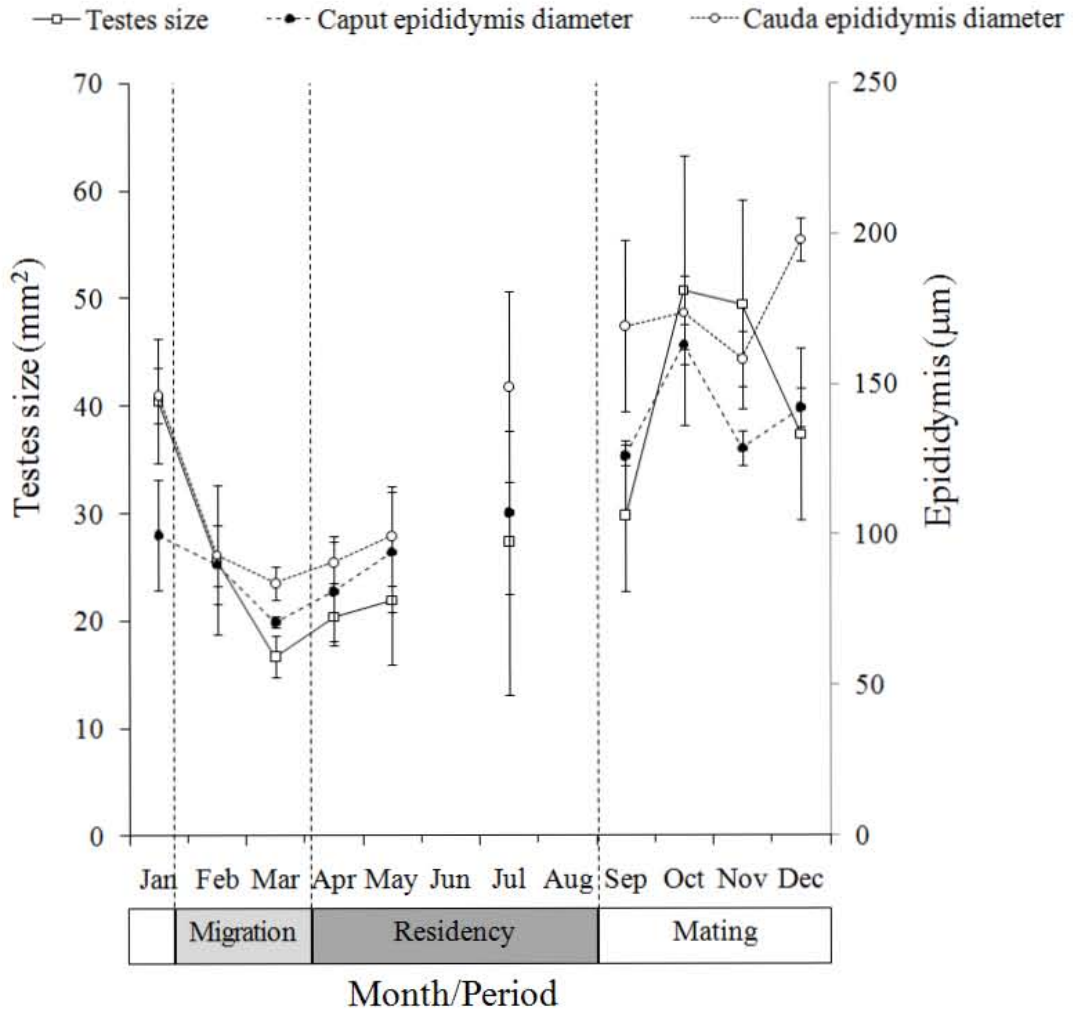


523

524

525 **Fig 2.**

526



527

## CAPÍTULO III

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES

*Ciclo espermatogénico y su relación con el tamaño externo de los testículos.*— El primer objetivo consistió en describir la dinámica espermatogénica en el testículo de *Leptonycteris yerbabuena* durante un ciclo anual y relacionarla con el tamaño de los testículos. En los resultados se muestra como se presenta el epitelio seminífero durante la espermatogénesis completa, la cual presenta 11 etapas y 14 fases (Tabla 1; Fig 1). El número de etapas varía con respecto a otras especies de murciélagos filostómidos (Beguelini et al. 2009) y concuerda con otros murciélagos menos emparentados (Morigaki et al. 2001) esto se debe a que se empleó el método acrosómico (Berndtson 1977) para determinar el ciclo espermatogénico a diferencia del usado por Beguelini et al. (2009).

Se observó que la espermatogénesis completa se presenta durante los meses de septiembre-enero, al final de la temporada de lluvias (García-Oliva et al. 2002) y cuando se presenta la mayor abundancia de flores (Stoner et al. 2003). El ciclo reproductivo de *L. yerbabuena*, en la región de Chamela está sincronizado con la mayor disponibilidad de recursos y probablemente con la gestación en la hembra (Racey y Entwistle 2000).

El tamaño externo de los testículos se encontró en su mínimo en el mes de marzo, en los meses posteriores se incrementó hasta alcanzar su máximo en octubre y noviembre, posteriormente se observó un gradual decrecimiento hasta el mes de febrero (Fig 2). Otros filostómidos también presentan el incremento del tamaño testicular durante el ciclo

espermatogénico (Heideman et al. 1992; Fleming et al. 1972). Además, se encontró que el índice de maduración está altamente relacionado con el tamaño externo de los testículos, y se obtuvo que al observar testículos de más 48.2 mm<sup>2</sup> la espermatogénesis es completa.

*Epidídimo como sitio de almacenaje de espermatozoides.*—El segundo objetivo buscó determinar el papel del epidídimo como sitio de almacenaje de espermatozoides durante el ciclo reproductor anual. Se halló que el diámetro de los túbulos del epidídimo están relacionados con el tamaño externo de los testículos durante todo el año (Fig 2) a diferencia de lo que ocurre en otros murciélagos que almacenan espermatozoides en periodos, de hasta varios meses, donde los testículos se encuentran en regresión (Jolly y Blackshaw 1987). Basándonos en desarrollo sincrónico de los testículos y del epidídimo, desechamos la posibilidad de que el epidídimo de *L. yerbabuena* almacene espermatozoides por periodos largos.

*Relación del tamaño de los testículos, el parche dorsal y la proporción hembras/machos.*—El tercer objetivo consistió en determinar la relación entre el tamaño de los testículos con el tamaño del parche sebáceo dorsal, y la proporción hembras/machos en la población. A través de un análisis de regresión múltiple se encontró que 55% de la varianza en el tamaño del parche dorsal se representa por el tamaño de los testículos y la proporción hembras/machos (Tabla 2). Sin embargo, la regresión múltiple estandarizada indica que la mayor parte de la variación en el parche dorsal se debe al incremento de la proporción hembras/machos. Lo anterior respalda la hipótesis de Nassar et al. (2008) sobre la importancia del parche sebáceo en la atracción sexual durante el periodo de apareamientos.



En general, los resultados son consistentes con los estudios previos sobre la biología reproductiva de *Leptonycteris yerbabuena* (e.g. Ceballos et al. 1997; Muñoz-Romo y Kunz 2009; Stoner et al. 2003). Se determinó la secuencia espermática (11 etapas y 14 fases) que se completa en los meses de septiembre-enero y el mayor tamaño de los testículos se observó en los meses de octubre-noviembre. Los indicadores internos (diámetro de los túbulos seminíferos e índice de maduración) corresponden con el tamaño de los testículos. Cuando los testículos alcanzan los 48.2 mm<sup>2</sup>, la producción espermática ya ha iniciado. El epidídimo no funciona como almacén de espermatozoides por periodos largos. El parche dorsal está mayormente relacionado con la proporción hembras/machos, que con el tamaño de los testículos.

Se estableció el ciclo reproductivo anual del macho de *Leptonycteris yerbabuena* a partir de características histológicas. Es el primer estudio que muestra la relación entre el parche sebáceo y función reproductiva del macho. No obstante, son necesarias más investigaciones sobre la función específica que el parche sebáceo tiene en la atracción sexual en *L. yerbabuena*. Además, se deben realizar estudios enfocados en la reproducción de la hembra y la migración, para entender la dinámica poblacional y sus efectos en la reproducción.

## LITERATURA CITADA

- BEGUELINI, M. R., P. R. MOREIRA, K. C. FARIA, S. R. MARCHESIN, Y E. MORIELLE-VERSUTE. 2009. Morphological characterization of the testicular cells and seminiferous epithelium cycle in six species of Neotropical bats. *Journal of Morphology* 270:943–953.
- BERNDTSON, W. E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. *J Animal Science* 44:818–833.
- CEBALLOS, G., T. H. FLEMING, C. CHÁVEZ, Y J. M. NASSAR. 1997. Population dynamics of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Jalisco, México. *Journal of Mammalogy* 78:1220–1230.
- FLEMING, T. H., E. T. HOOPER, Y D. E. WILSON. 1972. Three central american bat communities: structure, reproductive cycles, and movement patterns. *Ecology* 53:555–569.
- GARCÍA-OLIVA, F., A. CAMOU Y J.M. MASS. 2002. El clima de la región central de la costa del Pacífico mexicano. Pp. 3 – 10 en: Noguera, F. A., J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete y M. Quesada A. (eds.). *Historia natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. 568 p.
- HEIDEMAN, P.D., P. DEORAJ Y F.H. BRONSON. 1992. Seasonal reproduction of a tropical bat, *Anoura geoffroyi*, in relation with photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility* 96: 765-773.
- JOLLY, S. E. Y A. W. BLACKSHAW. 1987. Prolonged epididymal sperm storage, and the temporal dissociation of testicular and accessory gland activity in the common sheath–tail bat,

- Taphozous georgianus*, of tropical Australia. *Journal of Reproduction and Fertility* 81:205–211.
- MORIGAKI, T., M. KUROHMARU, Y. KANAI, M. MUKOHYAMA, E. HONDO, J. YAMADA, S. AGUNGPRIYONO, Y Y. HAYASHI. 2001. Cycle of the seminiferous epithelium in the Java fruit bat (*Pteropus vampyrus*) and the Japanese lesser horseshoe bat (*Rhinolophus cornutus*). *Journal of Veterinarian Medical Science* 63:773–779.
- MUÑOZ-ROMO, M., Y T. H. KUNZ. 2009. Dorsal patch and chemical signaling in males of the Long-nosed bat, *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy* 90:1139–1147.
- NASSAR, J. M., M. V. SALAZAR, A. QUINTERO, K. E. STONER, M. GOMEZ, A. CABRERA, Y K. JAFFE. 2008. Seasonal sebaceous patch in the nectar–feeding bats *Leptonycteris curasoae* and *L. yerbabuena* (Phyllostomidae: Glossophaginae): phenological, histological, and preliminary chemical characterization. *Zoology* 111:363–376.
- RACEY, P. A., Y A. C. ENWISTLE. 2000. Life–history and reproductive strategies of bats. Pp. 363–414 en: *Reproductive biology of bats* (E. G. Crichton, and P. H. Krutzsch, eds.). Academic Press, Cambridge.
- STONER, K.E., K.A.O. SALAZAR, R.C.R. FERNÁNDEZ Y M. QUESADA. 2003. Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, México; implications for conservation. *Biodiversity and Conservation* 12: 357-373.