



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DEL MURCIÉLAGO
ZAPOTERO *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae)
EN LOS ESTADOS DE JALISCO Y COLIMA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(B I O L O G Í A A M B I E N T A L)

P R E S E N T A

GILBERTO FEDERICO GARCÍA RUIZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. CORNELIO SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

DISTRITO FEDERAL

MAYO, 2006



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.

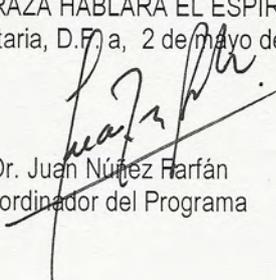
Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

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 13 de marzo del 2006, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental) del alumno **García Ruiz Gilberto Federico** con número de cuenta **91133797** con la tesis titulada: **"Comportamiento reproductivo del murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae) en los estados de Jalisco y Colima"** bajo la dirección del **Dr. Cornelio Sánchez Hernández**.

Presidente:	Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz
Vocal:	Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
Secretario:	Dr. Cornelio Sánchez Hernández
Suplente:	Dr. Fausto R. Méndez de la Cruz
Suplente:	Dr. Aurelio Ramírez Bautista

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a, 2 de mayo del 2006



Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la beca de maestría No. 167343 que me otorgo para mi manutención durante dos años.

Con profundo agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Cornelio Sánchez Hernández, por compartir conmigo sus conocimientos y sobretodo por su enorme paciencia.

A mi comité tutorial, Dr. Cornelio Sánchez Hernández, Dr. Aurelio Ramírez Bautista y Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz porque sus observaciones contribuyeron a mejorar este trabajo.

A los miembros del jurado, Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz, Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez, Dr. Cornelio Sánchez Hernández, Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz y Dr. Aurelio Ramírez Bautista, por las observaciones realizadas a la tesis.

Al Dr. Ricardo Barajas Ayala, director de la Estación de Biología, Chamela, Jalisco y las autoridades del Instituto de Biología, por haberme otorgado una beca de residencia en la estación de Biología, Chamela.

Al Dr. Gary D. Schnell, por su apoyo económico en colectas realizadas en Colima.
A la Dra. María de Lourdes Romero Almaraz, por su orientación y observaciones.

DEDICATORIAS

A mis padres con quienes estoy infinitamente agradecido. Por su cariño, y porque me han sabido comprender e impulsar a pesar de mis tropiezos.

A mis hermanos, Luis Manuel, Graciela, Armando, Mario, Gabriela y Ricardo, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas.

A mis sobrinitos, Luis Fernando, Brenda Denisse y Mariana Valeria, porque han traído alegría a la casa.

A mis amigos de Chamela: Rodrigo, por tus aventuras sobre jaguares; Fer, por las caminatas por los senderos por la estación; Talía, por soportar mis bromas pesadas y además de tu valioso apoyo. Al M. en C. Enrique Martínez y a las Sras. Elena y Lucy de la estación de biología, por todos los chistes colorados. A Nachita y Norma, por todas sus atenciones y sobretodo por soportar mis travesuras. A todos ustedes por su maravillosa amistad.

CONTENIDO

Estructura de la tesis.....	1
Introducción general.....	2

Capítulo 1. El murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis*

1.1 Descripción de la especie	4
1.2 Conocimiento actual de su biología reproductora.....	4
1. 3 Literatura citada.....	8

Capítulo 2. Delimitación y endocrinología del ciclo estral de *Artibeus jamaicensis*

Introducción.	12
2.1 Antecedentes del ciclo estral en murciélagos.....	13
2.2 Área de estudio.....	15
2.3 Materiales y métodos.....	17
2.4 Resultados.	19
2.5. Discusión.....	27
2.6 Conclusiones.....	32
2.7 Literatura citada.	34

Capítulo 3. Observaciones sobre cortejos, cópulas, tasa de crecimiento fetal y duración de la gestación de *Artibeus jamaicensis*

Introducción.	39
3.1 Antecedentes del cortejo y el desarrollo prenatal	40
3.2 Área de estudio.....	43
3.3 Materiales y métodos	43
3.4 Resultados	47
3.5 Discusión.	51
3.6 Conclusiones.....	56
3.7 Literatura citada.	58

Capítulo 4. Variación de estados de desarrollo embrionario de *Artibeus jamaicensis*

Introducción.	64
4.1 Antecedentes al desarrollo embrionario en murciélagos.....	65
4.2 Área de estudio.....	66
4.3 Materiales y métodos	68
4.4 Resultados.	71
4.5 Discusión.	84
4.6 Conclusiones.....	88
4.7 Literatura citada.	89

RESUMEN

En este trabajo se aporta nueva información sobre algunos aspectos reproductivos del murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis* y se confirma la actividad reproductiva constante y asincrónica de esta especie en cinco localidades muestreadas en el estado de Colima y una de la región de Chamela, Jalisco. Se realizaron frotis vaginales diarios por un periodo de tres meses en 14 especímenes mantenidas en cautiverio permitió establecer un ciclo estral de 22 (± 3) días de duración con periodos breves de inactividad de seis días entre un ciclo y otro. Asimismo, se realizaron pruebas para determinar los niveles hormonales de hormona folículo estimulante (FSH), progesterona (P4) y prolactina (PRL) para cada fase del ciclo estral. Por otra parte, se realizaron observaciones sobre los cortejos y cópulas de los individuos de esta especie. Se calculó la tasa de crecimiento fetal de cinco embriones obtenidos de murciélagos mantenidos en cautiverio durante seis meses, esto se hizo a partir de la fórmula matemática: $W^{1/3} = a(t_g - t_0)$, obteniéndose en valor de $a = 0.06$, el cual es similar a lo registrado para otros murciélagos frugívoros. Se analizaron 68 embriones recolectados en el estado de Colima a los cuales se les registraron las medidas somáticas convencionales para poder establecer siete estadios de desarrollo a partir del análisis de estructuras morfológicas externas e internas. Se consideraron los parámetros de longitud total (LT), antebrazo (AB) y longitud de la cabeza (LC), así como su peso para la obtención de curvas mediante el método de regresión lineal con la finalidad de obtener la ecuación de la recta que describiera adecuadamente el patrón de crecimiento de los embriones. La longitud del antebrazo fue el parámetro que describió mejor el patrón de crecimiento mediante la siguiente ecuación de la recta: $Y = 1.014 + (0.410)X$; $r = 0.920$. Los embriones presentaron un desarrollo temprano en la región cefálica similar al descrito para *Myotis lucifugus*; desarrollo secuencial de las extremidades superiores entre clavículas, escápulas y antebrazos; y osificación avanzada en las extremidades inferiores.

ABSTRAC

This study provides new information on some reproductive aspects of frugivorous bat *Artibeus jamaicensis*; and the constant and asynchronous reproductive activity of this species is confirmed in five locations in the Colima State and one area located in the region of Chamela, Jalisco, where samples were taken. Daily vaginal smears were carried out during a three-month period in 14 specimens in captivity, which allowed stating an estrous cycle of 22(\pm 3) days period with short six-day-periods of inactivity between cycles. Likewise, tests were carried out to determine the hormonal levels of follicle-stimulating hormone (FSH), progesterone hormone (P4) and prolactin hormone (PRL) for each stage of the estrus cycle. On the other hand, observations were made on woo and copulation activities of the individuals of this species. Fetal growth rate of five embryos obtained from bats in captivity during six months was calculated with the formula: $W^{1/3} = a(t_g - t_0)$, being obtained a value of $a = 0.06$, which is similar to the value registered for other frugivorous bats. Sixty-eight embryos collected in the Colima State were analyzed, whose conventional somatic measurements were registered in order to establish seven development stadiums from the external and internal morphological structure analysis. The total length parameters (LT), forearm (AB) and head-length were considered, as well as their weights to obtain the curves through the lineal regression method, so as to obtain the equation of the straight line properly describing the embryos growing pattern. The length of the forearm was the parameter used to better describe the growing pattern, by means of the following straight line equation: $Y = 1.014 + (0.410)X$; $r = 0.920$. The embryos presented an early development in the cephalic region, similar to the one stated for *Myotis lucifugus*; sequential development of the upper extremities between clavicles, scapulae and forearms; as well as advanced ossification in lower extremities.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El éxito del orden Chiroptera en el planeta no sólo radica en la explotación de un nuevo nicho (el aéreo) hasta entonces ajeno para otros mamíferos, sino también en las notables adaptaciones que estos organismos han podido desarrollar en su sistema reproductor (Simmons y Conway, 2003). De acuerdo con lo anterior, no son pocas las investigaciones que reconocen las sorprendentes modificaciones anatómicas y funcionales del aparato reproductor de las diferentes especies de murciélagos (Crichton y Kustzsch, 2000).

La complejidad de estas adaptaciones hace evidente la necesidad de conocer la biología reproductora de las especies de murciélagos presentes en nuestro país, pues es a partir de este conocimiento que se pueden plantear estrategias apropiadas para el manejo y conservación de las especies. Por lo tanto, es necesario incentivar la investigación científica en áreas de la biología de la reproducción de especies silvestres aún poco exploradas. El propósito de este trabajo de investigación es contribuir al conocimiento de algunos eventos de la biología reproductora del murciélago zapotero *A. jamaicensis*, como son: 1) Delimitación y endocrinología del ciclo estral, 2) Observaciones sobre cortejos, cópulas, tasa de crecimiento fetal y duración de la gestación, y 3) Variación de estados de desarrollo embrionario

Capítulo 1

El murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis*

Capítulo 1. El murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis*

1.1 Descripción de la especie

El murciélago zapotero *A. jamaicensis* pertenece a la familia Phyllostomidae. Los especímenes son de tamaño mediano con un antebrazo de 54-61mm; dorso de color moreno grisáceo y vientre pálido; el rostro es comúnmente corto y achatado, con dos pares de líneas faciales blancas y tenues; sus incisivos superiores son bilobulados; el uropatagio no tiene pelo sobre el dorso o el borde; el cráneo es corto, ancho y globoso (Sánchez y Romero, 1995). Su distribución en nuestro país es amplia, tanto en la vertiente del Pacífico como en la del Golfo de México; por lo que se puede encontrar bosques y selvas tropicales, además de comunidades vegetales propias de zonas áridas, de donde se alimenta de diversos frutos y en ocasiones de insectos (Ortega y Castro-Arellano, 2001).

1.2 Conocimiento actual de su biología reproductora

El comportamiento reproductor de este murciélago es variable; de tal forma que existen en la literatura numerosos registros sobre sus condiciones reproductivas en diferentes tipos de vegetación y latitudes. Heithaus *et al.*, (1975) registraron para esta especie un patrón poliestro bimodal. Por otra parte, Sánchez *et al.*, (1990) señalan un patrón poliestro continuo para individuos de la costa del Pacífico mexicano.

Su estrategia reproductiva es del tipo poligínico, la cual puede variar de acuerdo al ambiente de percha en el que se encuentre. Así, dentro de troncos huecos y follaje presenta un sistema poliginia por defensa del recurso en donde el macho dominante defiende el sitio de percha (Kunz *et. al.*, 1983). Mientras que cuando se refugian en cuevas presentan un sistema de apareamiento del tipo poliginia por defensa de las hembras, en donde el macho busca otorgarles el mejor sitio de percha, además de limitar el acceso de otros machos hacia las hembras de su harén (Ortega y Arita, 1999).

La madurez sexual es al primer año de edad en los machos y a los ocho meses en las hembras (Keast y Handley, 1991). En los machos adultos los testículos alcanzan dimensiones de 3.5-10 mm; y la morfología de los espermatozoides es semejante a la observada en *Glossophaga soricina* (Forman y Genoways, 1979).

Las hembras adultas presentan un útero con lumen simple y trompas uterinas que desembocan directamente al mesometrio. De esta manera, la implantación del blastocisto se da en la porción final del útero y es favorecida por la fusión uterina con el lumen interno (Hood y Smith, 1983). Posteriormente se desarrolla una placenta de tipo discoidal corioalantoidea, variedad hemocorial (Wislocki y Fawcett, 1941). Las crías nacen sacando primero la cabeza y sin la asistencia de la madre; al momento de nacer cuentan ya con pelaje en el cuerpo, tienen los ojos abiertos, las orejas erectas y dientes deciduos (Bhatnagar 1978; Jones, 1945).

El periodo de gestación se estima de 3.5-4 meses. Sin embargo, en individuos de Panamá se han registrado periodos de gestación de hasta siete meses, en los

cuales hay un periodo de diapausa embrionaria o periodo de retraso en el desarrollo embrionario, que consiste en el lento desarrollo del blastocisto después de ocurrida la implantación (Bernard, 1989).

De acuerdo con Fleming (1971) el patrón reproductor de *A. jamaicensis* en Panamá, presenta dos picos reproductores a lo largo del año (poliéstrico bimodal); el primero durante los meses de marzo a abril y el segundo de julio a agosto. Los embriones resultantes del primer periodo se desarrollan hasta blastocisto antes de que ocurra la implantación y las crías nacen después de cuatro meses de gestación en julio o agosto. Posteriormente, las hembras pasan al estado de *estro* nuevamente y son receptivas nuevamente en agosto; los embriones concebidos en este apareamiento se implantan en el útero en forma de blastocisto y detienen su crecimiento de mediados de septiembre hasta mediados de noviembre, para después continuarlo hasta ser paridos después de siete meses, entre marzo y abril del año siguiente, en donde el ciclo se vuelve a repetir. De esta manera, los embriones del primer periodo postparto tienen un desarrollo precoz hasta blastocisto antes de entrar al útero y los embriones del segundo periodo muestran un desarrollo embrionario retardado.

Los estudios de Wilson *et al.*, (1991) y Keast y Handley (1991) coincidieron con lo señalado anteriormente. De acuerdo con Sánchez *et al.*, (1990), los registros sobre la actividad reproductiva de *A. jamaicensis* en México, sugieren un comportamiento reproductor continuo dentro de nuestro país. Por lo tanto, se puede señalar que a pesar de que el comportamiento reproductor de este

murciélago ha sido estudiado en varias ocasiones, aún prevalece el desconocimiento de cuestiones más elementales de su reproducción como lo son los ciclos estrales, endocrinología, cortejos, cópulas, desarrollo y crecimiento prenatal de las crías y longitud exacta de los periodos de gestación.

1.3 LITERATURA CITADA

- Bernard, R. T. F. 1989. The adaptive significance of reproductive delay phenomena in some South African Microchiroptera. *Mammalian Review*, 19(1):27-34.
- Bhatnagar, K. P. 1978. Head presentation in *Artibeus jamaicensis* with some notes on parturition. *Mammalia*, 42(3):359-363.
- Crichton, E. G., y P. H. Krutzsch, P. H. 2000. Preface. Pp. IX. *In: Reproductive biology of bats.* (Crichton, E. G. y P. H. Krutzsch, eds.). Academic Press. USA.
- Fleming, T. H. 1971. *Artibeus jamaicensis*: Delayed embryonic development in a neotropical bat. *Science*, 171:402-404.
- Forman, G. L., y H. H. Genoways. 1979. Sperm morphology. Pp. 177–204 *In: Biology of the bats of the New World family Phyllostomatidae. Part III* (Baker, R. J., J. K. Jones, Jr., y D. C. Carter, eds.). Special Publications, The Museum, Texas Tech University Press 16:1–441.
- Heithaus, E. R., T. H. Fleming y P. A. Opler. 1975. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* 56:841–854.
- Hood, C. S., y J. D. Smith. 1983. Histomorphology of the female reproductive tract in phyllostomoid bats. *Occasional Papers of the Museum Texas Tech University*, 86:1-38.
- Jones, T. S. 1945. Parturition in a west Indian fruit bat (Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy*, 27:327-330.

- Keast, L., y C. O. Handley. 1991. Reproduction on a captive colony. Pp. 19-42. *In*: Demography & Natural History of the Common Fruit Bat, *Artibeus jamaicensis* in Barro Colorado island, Panama. Smithsonian Institution Press. Washington D. C.
- Kunz, T. H., P. V. August y C. D. Burnet. 1983. Harem social organization in cave roosting *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Biotropica*, 15:133-138.
- Ortega, J., y H. T. Arita. 1999. Structure and social dynamics of harem groups in *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy*, 80:1173-1185.
- Ortega, J. e I. Castro-Arellano. 2001. *Artibeus jamaicensis*. *Mammalian Species*, 662:1-9.
- Sánchez, H. C., y M. L. Romero. 1995. Mastofauna silvestre del área de Reserva Sierra de Huautla (con énfasis en la región noreste). Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 146p.
- Sánchez-Hernández, C., C. B. Chávez-Tapia y A. Rojas-Martínez. 1990. Patrón reproductivo de *Artibeus jamaicensis triomylus* (Chiroptera: Phyllostomidae) en la costa sur occidental de México. *Revistas de Zoología, ENEPI UNAM, México*, 2:14-24.
- Simmons, N. B., y T. M. Conway. 2003. Evolution of ecology diversity in bats. Pp. 493-535. *In*: Bat ecology. (Kunz, T. H., y M. B. Fenton eds.). The University of Chicago Press, U. S. A.

- Wilson, D. E., C. O. Handley, Jr., y A. L. Gardner. 1991. Reproduction on Barro Colorado Island. Pp. 43-52. *In*: Demography & Natural History of the Common Fruit Bat, *Artibeus jamaicensis* in Barro Colorado island, Panama. Smithsonian Institution Press. Washington D. C.
- Wislocki, G. B., y D. W. Fawcett. 1941. The placentation of the Jamaican bat (*Artibeus jamaicensis parvipes*). *Anatomical Record*, 81:307-317.

Capítulo 2

Delimitación y endocrinología del ciclo estral de *Artibeus jamaicensis*

Capítulo 2. Delimitación y endocrinología del ciclo estral de *Artibeus jamaicensis*

INTRODUCCIÓN

Como se pudo observar en el capítulo anterior, el conocimiento que se tiene sobre la biología reproductora de los murciélagos tropicales es muy limitado, debido a que la mayoría de los trabajos de investigación son realizados sobre especies de climas templados pertenecientes a la familia Vespertilionidae. Para el caso de los murciélagos de la familia Phyllostomidae, este conocimiento es aún más escaso a pesar de que se han registrado patrones y estrategias reproductores diferentes a las señaladas en los vespertiliónidos (Wilson, 1979).

El murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis*, es un ejemplo de lo señalado debido a que sus poblaciones pueden adoptar diferentes patrones de reproducción de acuerdo con las condiciones ambientales que prevalezcan en su hábitat. De esta manera, en la región del canal de Panamá presenta un patrón reproductor poliéstrico bimodal (Fleming, 1971), mientras que en la costa del occidente mexicano tiene un patrón reproductor del tipo poliéstrico continuo (Sánchez *et al.*, 1990). Por lo anterior, es importante investigar y conocer el ciclo reproductor en esta especie de murciélago.

2.1 ANTECEDENTES DEL CICLO ESTRAL EN MURCIÉLAGOS

Los ciclos sexuales de los mamíferos han sido clasificados en estrales y menstruales, siendo el primero el más común dentro de la clase (Bronson, 1989). El entendimiento de los ciclos reproductores de algunas especies de mamíferos como los bovinos, porcinos, caprinos y cánidos ha despertado especial interés en el humano debido a los beneficios que éstas le retribuyen, ya sea por medio de bienes económicos o simplemente como materia de esparcimiento. Por esta razón, los médicos veterinarios han podido desarrollar diferentes técnicas para determinar con precisión los ciclos reproductores de estos organismos; para el caso de los mamíferos silvestres éste conocimiento apenas está iniciando (Gobello *et al.*, 1998).

Una de las herramientas más eficaces en la tarea de determinación de los ciclos reproductores ha sido la citología vaginal, que ha permitido diferenciar y determinar los diferentes estados del ciclo estral de numerosas especies de roedores en cautiverio (Champlin *et al.*, 1973). Asimismo, actualmente se pueden utilizar novedosas técnicas de inmunoensayo que ayudan a determinar los cambios en los niveles hormonales a lo largo del ciclo, por medio un anticuerpo que es capaz de identificar a las proteínas que las componen. Ambas técnicas han comprobado su eficacia en la caracterización y delimitación de los ciclos reproductores en diferentes especies de roedores y carnívoros silvestres; por lo tanto son más fidedignos que los métodos indirectos, como la pigmentación de la vagina y la conducta (Hudson, 1974; Valdespino, 2002).

En el orden Chiroptera, los estudios enfocados al análisis y entendimiento de los ciclos estrales son escasos; de tal manera que sólo se pueden mencionar por sus contribuciones los trabajos realizados con *Antrozous pallidus* (Orr, 1954), *Nyctalus noctula* (Kleiman y Racey, 1969) y *Glossophaga soricina* (Rasweiler, 1972), en los cuales se considera la citología del epitelio vaginal para determinar la duración de los ciclos estrales.

Para el caso de *A. jamaicensis*, Steers (1998), caracterizó cuatro tipos celulares en cuatro fases del ciclo estral: proestro, estro, metaestro y diestro. Sin embargo, su estudio careció de un seguimiento adecuado de las hembras examinadas, debido fueron capturadas en campo. Para atender esta debilidad metodológica, se planteo un diseño experimental para delimitar el ciclo estral del murciélago zapotero de la región de Chamela, Jalisco, en condiciones de cautiverio, teniendo en cuenta lo siguiente hipótesis:

Ho: Si la actividad reproductora de *A. jamaicensis* es continua en la región de Chamela, Jalisco, entonces las hembras presentan ciclos estrales continuos con periodos de *estro* breves cuando no han logrado el estado de preñez.

Para conocer la amplitud y periodicidad de los ciclos estrales y la endocrinología que los controla se plantearon los siguientes objetivos:

- 1) Determinar la periodicidad y duración del ciclo estral de las hembras de *A. jamaicensis* de la región de Chamela, Jalisco.
- 2) Delimitar en tiempo las diferentes fases del ciclo estral.

3) Medir las concentraciones en sangre de las hormonas: folículo estimulante (FSH), prolactina (PRL) y progesterona (P4), durante el ciclo estral.

2.2 ÁREA DE ESTUDIO

Los especímenes estudiados se capturaron en los alrededores de las instalaciones de la Estación de Biología, Chamela, Jalisco, UNAM, localizada a 19° 30' N y 105° 03' W; km. 59 de la carretera federal 200 que va de Barra de Navidad a Puerto Vallarta (Figura 1).



Figura 1. Estación de Biología Chamela, IB, UNAM. Mapa modificado de página web: <http://www.ibiologia.unam.mx/ebchamela/www/reservacc.html>

De acuerdo con García *et al.*, (2002), en la región de Chamela se presentan dos tipos de clima. El $Aw_1(w)(i)$, denominado cálido subhúmedo con lluvias en verano, que se caracteriza por tener un coeficiente de precipitación (P/T) de 43.2-55.3 mm; oscilación térmica menor de 5 °C entre el mes más cálido y el más frío; y una temperatura media anual de 26 °C. El clima $Aw_0(w)(i)$, que se distingue por ser el más seco de los cálidos subhúmedos con lluvias en verano y un coeficiente de precipitación (P/T) menor a los 43.2 mm. La temperatura media anual es de 30 °C y la oscilación térmica media anual de 4.3°C. La precipitación media anual en la región de Chamela es de 788 mm con niveles más bajos en el mes de abril (2 mm) y el más alto en septiembre (300 mm).

Los tipos de vegetación predominantes del área son el bosque tropical caducifolio y el bosque tropical subcaducifolio (Rzedowski, 1978). El bosque tropical caducifolio, se caracteriza por la baja altura de sus componentes arbóreos (5-15 m); y su marcada estacionalidad, debido a la ocurrencia de un periodo de lluvias y otro de secas; en éste último, más del 75% de los árboles pierden sus hojas por un periodo de 5 a 8 meses. Por otra parte, el bosque tropical subcaducifolio se presenta principalmente en zonas de terreno accidentado como cañadas y pendientes pronunciadas; el tamaño de sus componentes arbóreos es de 15 a 25 m de alto; y al menos la mitad de los árboles pierden sus hojas durante la temporada de sequía (Lott *et al.*, 1987).

2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el mes de septiembre del 2002 se recolectaron 14 hembras adultas no grávidas del murciélago zapotero *A. jamaicensis* dentro de los terrenos de la Estación de Biología de Chamela, Jalisco, con ayuda de redes niebla que se colocaron entre la vegetación o las brechas. Para poder determinar la duración del ciclo estral de *A. jamaicensis*, las hembras capturadas fueron mantenidas en estado de cautiverio por un periodo de seis meses considerando los primeros 15 días como periodo de cuarentena. Los especímenes fueron distribuidos equitativamente en dos jaulas de 1.1 x 0.6 x 0.5 m elaboradas con tela de mosquitero y armazones de acero. Las jaulas se colocaron en el interior de un área de 8 x 8 x 3.5 m delimitado por tela de mosquiteros; cuyo techo contaba además con dos capas de material plástico color negro para impedir el paso directo de la luz solar y evitar la insolación de los organismos.

La temperatura del sitio de resguardo de los murciélagos se mantuvo dentro de un intervalo de 25-31°C, lo mismo que la humedad relativa alrededor de 60% con ayuda de dos ventiladores eléctricos y de riegos constantes de agua. Estos parámetros fueron medidos con un termómetro ambiental y un higrómetro digital OHAUS respectivamente. Las condiciones de fotoperiodo fueron las mismas que prevalecieron en el periodo otoño-invierno para la región de Chamela, Jalisco, que corresponden a periodos promedio de 13:11 y 12:12 horas luz-oscuridad (Agosto-Enero).

Los murciélagos se alimentaron *ad limitum* con porciones de 500 g de frutos por jaula al día, a razón de 35.7 g por individuo. Las raciones de alimento constaron de melón, papaya, plátano y sandía. Asimismo, para evitar el déficit de nutrimentos en la dieta de los murciélagos, al alimento se le adicionaron 10 g de un complemento alimenticio alto en vitaminas y minerales (NAN2) y 10 g de otro con elevado índice de proteínas (Gevral).

Ciclo estral

Para determinar la duración y las fases de sus ciclos estrales, se realizaron exudados vaginales con hisopos de algodón humedecidos con solución salina. Posteriormente las muestras fueron fijadas con alcohol al 96° y teñidas con hematoxilina de Harris, Orange (OG-6) y Eosina (EA-50) usando el método de Papanicolaou modificado (Drury y Wallington, 1980), (Apéndice I). Las laminillas se analizaron con la ayuda de un microscopio óptico (40x) a diez campos; a partir del conteo general de células (100%), se registraron los porcentajes de cada tipo celular presentes en las muestras. La identificación de las fases del ciclo estral se hicieron con base en las reportadas por Steers (1998), quien distingue cuatro tipos celulares en el epitelio vaginal de *A. jamaicensis*: células epiteliales nucleadas, células epiteliales de tipo intermedio (con núcleo y con membrana cornificada), células cornificadas y leucocitos polimorfonucleados. La toma de muestras fue suspendida después de haber registrado tres ciclos estrales completos en cada hembra.

Endocrinología del ciclo estral

Para conocer la dinámica endócrina (FSH, PRL y P4) del ciclo estral, a cada una de las hembras se le tomó a intervalos de 15 días, una muestra de ± 0.4 ml de sangre de la vena marginal del ala izquierda, de acuerdo con el método citado por Gustafson y Damassa (1985). Una vez obtenidas las muestras, estas fueron centrifugadas a 2500 rpm durante cinco minutos para obtener el suero, mismo que se conservó en refrigeración hasta el momento de implementar la técnica de quimioluminiscencia que consiste en lectura de una emisión de radiación electromagnética producida por la reacción química entre un sustrato, un oxidante y un cofactor (García-Campaña *et al.*, 2001). Las muestras fueron analizadas en los laboratorios "Experto", en Coyoacán, Ciudad de México.

2.4 RESULTADOS

Ciclo estral

Se obtuvieron 350 exudados vaginales en un periodo de 75 días continuos, uno diario para cada hembra. Los frotis presentaron una similitud de fases entre el día 22 (± 3) y el correspondiente al primer día de la toma de muestra, entendiéndose esto como el término e inicio de un ciclo. De esta manera se registraron tres ciclos estrales completos por cada una de las hembras tratadas (Figura 2). Asimismo, se obtuvieron 70 muestras de plasma, cinco por cada hembra en un periodo de cuatro meses (Septiembre-Diciembre).

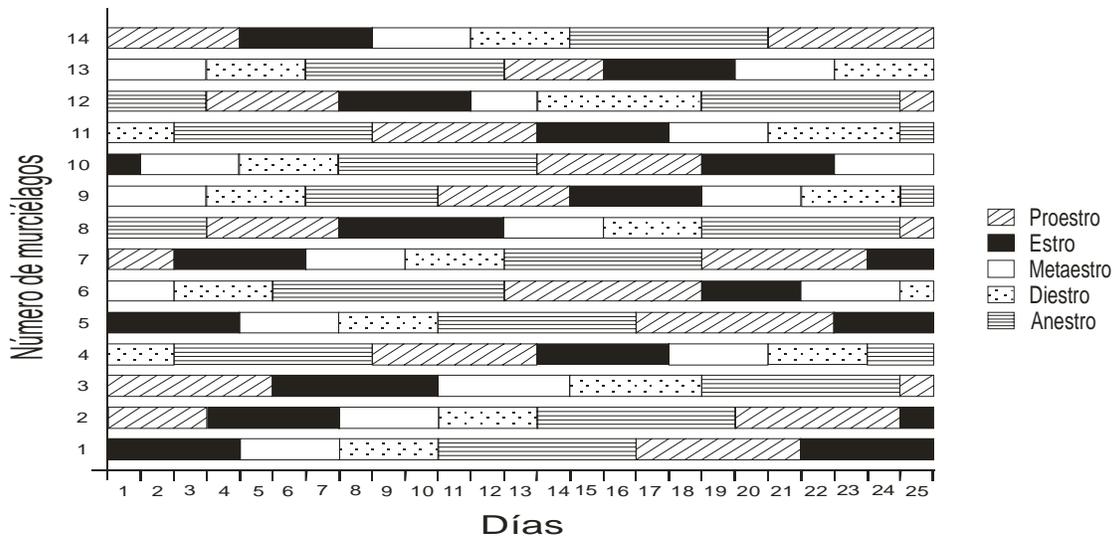


Figura 2. Comportamiento de los ciclos estrales presentados por los individuos de la colonia cautiva a través de 25 días continuos. Nota: la figura sintetiza tres ciclos estrales completos por cada una de las hembras tratadas.

Se contabilizaron 40 ciclos estrales en hembras de *A. jamaicensis*, donde se pudieron identificar cuatro tipos celulares en cinco fases: células epiteliales nucleadas, células epiteliales de tipo intermedio (con núcleo y con membrana cornificada), células cornificadas y leucocitos polimorfonucleados (Cuadro 1). Los 14 murciélagos sujetos a la técnica de citología vaginal presentaron diferentes estadios del ciclo estral al momento de hacer los frotis y no mostraron tendencia alguna por sincronizar sus ciclos estrales durante el periodo de cautiverio.

a) Proestro

El 80% de las células del frotis vaginal fueron células basales epiteliales nucleadas, 15% células epiteliales de tipo intermedio y el 5% restante fue representado por leucocitos polimorfonucleados (Figura 3). La duración del *proestro* se mantuvo durante $5 (\pm 2)$ días.

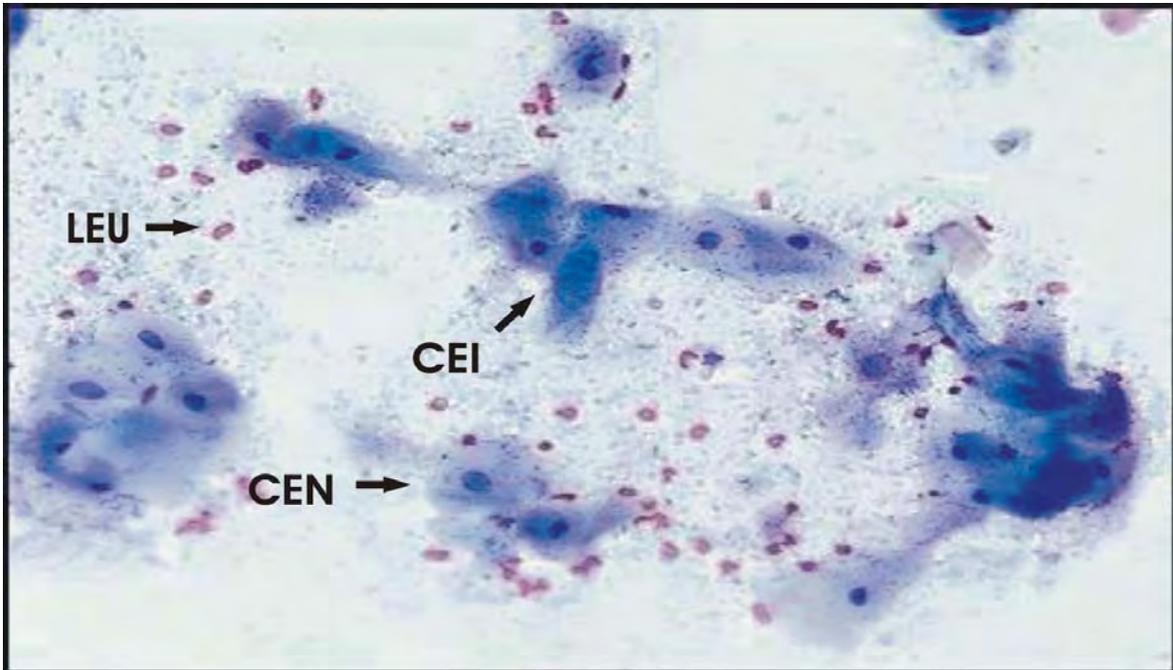


Figura 3. *Proestro*, con predominio de células epiteliales nucleadas (CEN) en un 80%; células epiteliales intermedias (CEI) en un 15% y leucocitos polimorfonucleados (LEU) 5% (10X).

b) *Estro*

Durante esta fase el 80% de las células de la pared vaginal están constituidas por células cornificadas, 15% células epiteliales nucleadas y 5% de leucocitos polimorfonucleados (Figura 4). El *estro* tuvo una duración promedio de 4 (± 1) días.

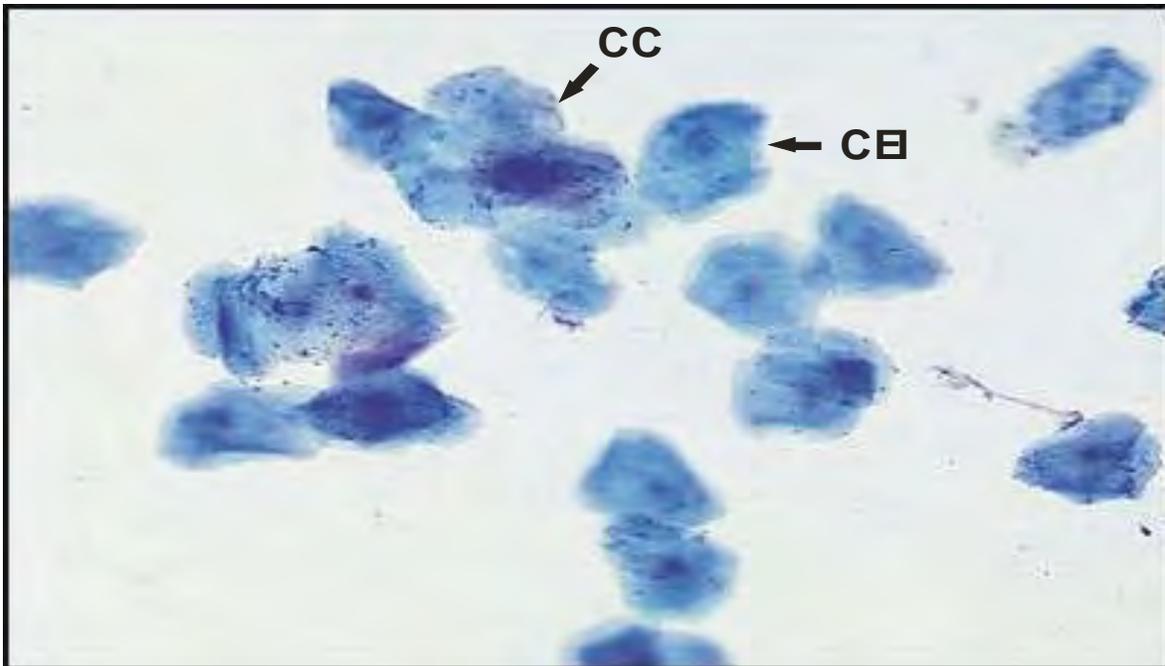


Figura 4. *Estro*, las células epiteliales de tipo intermedio (CEI) se van queratinizando formando así células cornificadas (CC) que caracterizan el estado de *estro* (10X).

c) *Metaestro*

Esta fase se distinguió por un marcado cambio con relación al número de células cornificadas observadas en la fase anterior. De esta manera, la predominancia de leucocitos polimorfonucleados fue del 45% de los frotis examinados, las células cornificadas presentaron un 40%, y las células epiteliales nucleadas 15% (Figura 5). El *metaestro* tuvo una duración de 3 (± 2) días.

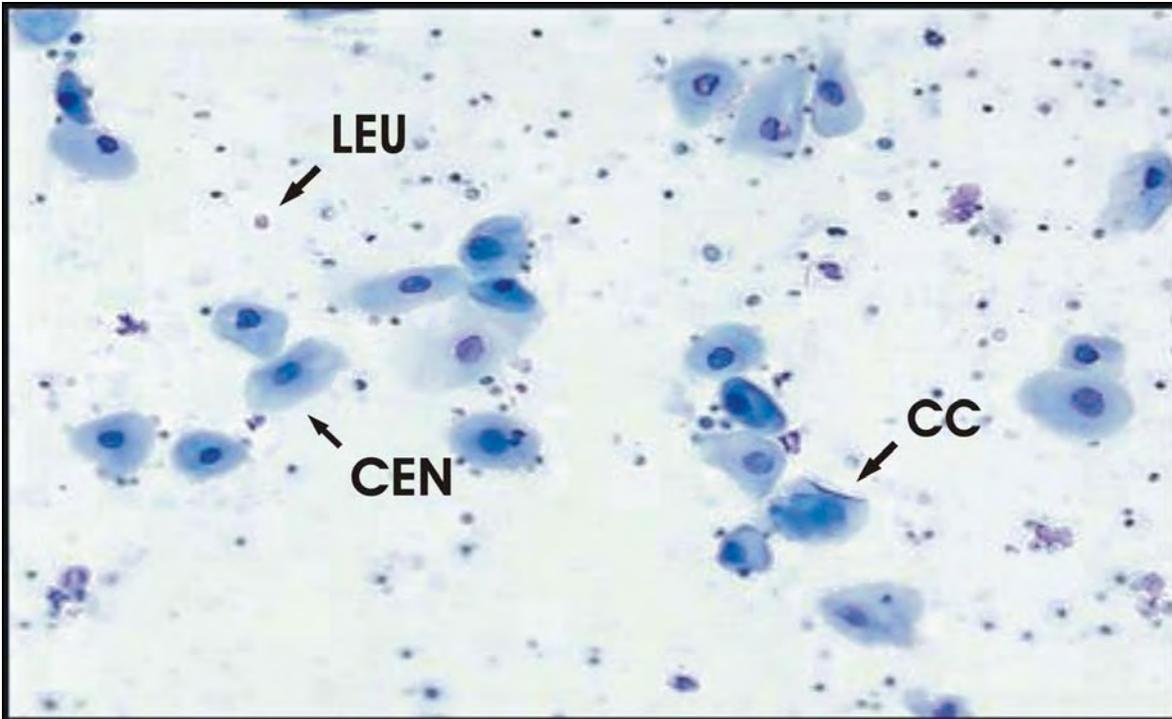


Figura 5. *Metaestro*, marcado cambio en el número de células cornificadas (CC), que descienden a un 40%, los leucocitos (LEU) predominan con 45% y el 15% restante lo forman las células epiteliales nucleadas (CEN) (10X).

d) *Diestro*

El predominio celular durante esta fase fue de leucocitos polimorfonucleados con 96%; la presencia de células epiteliales nucleadas fue de sólo 4% de los frotis examinados (Figura 6). Duración de 3 (\pm 2) días.

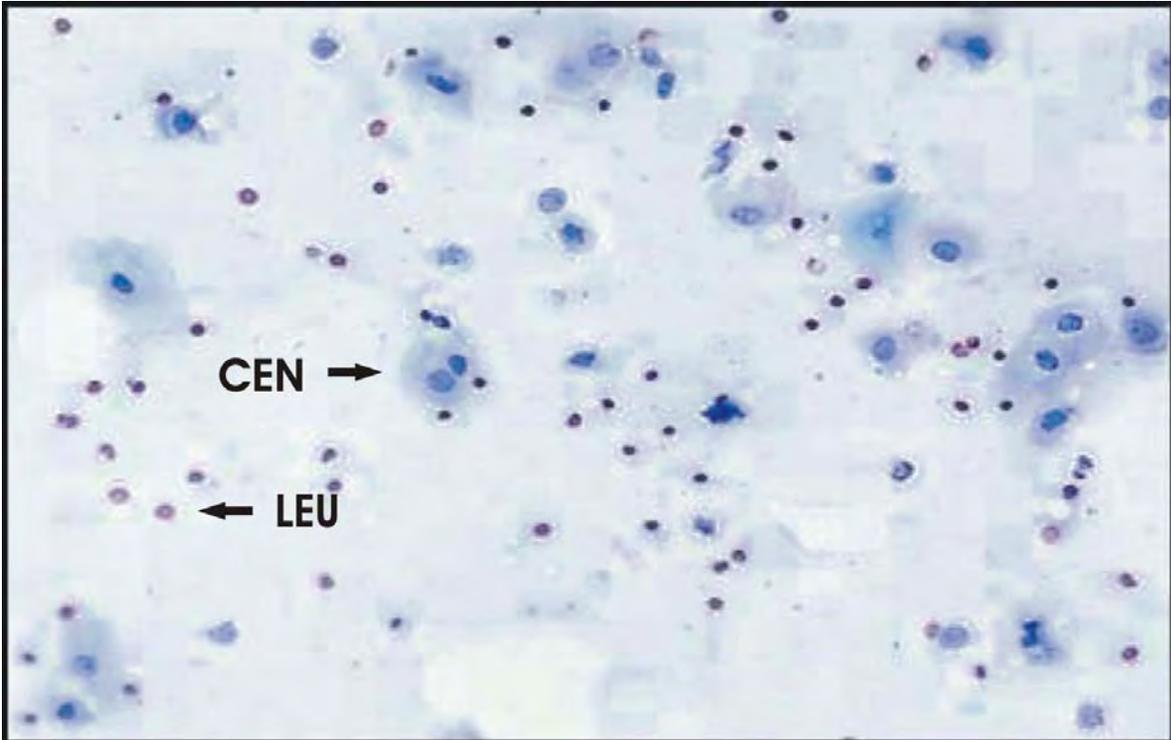


Figura 6. *Diestro*, aumento de células epiteliales nucleadas (CEN)(10X).

e) *Anestro*

Presencia equitativa de células epiteliales nucleadas (50%) y leucocitos polimorfonucleados (50%) (Figura 7). Su duración se estimó de 6 (± 2) días, por lo que fue la fase de mayor duración dentro del ciclo.

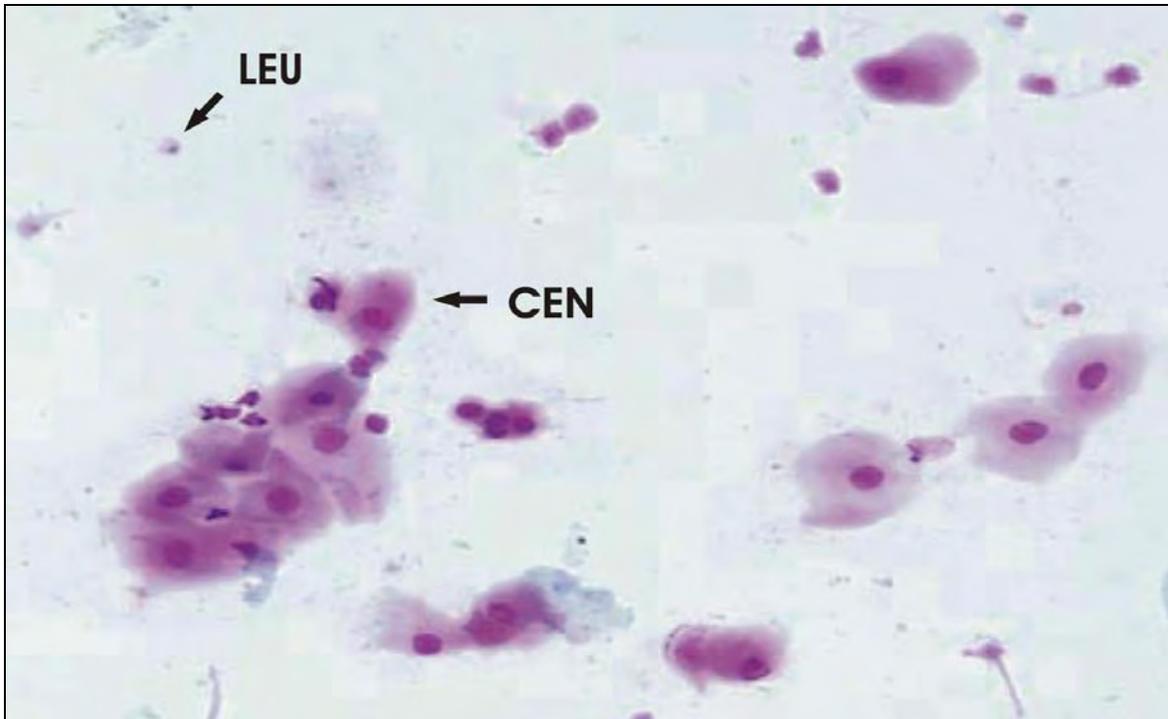


Figura 7. *Anestro*, las células epiteliales nucleadas (CEN) y leucocitos polimorfonucleados (LEU) conforman el frotis vaginal (10X).

Endocrinología del ciclo estral

Los niveles hormonales registrados de 70 muestras de suero provenientes de las 14 hembras, revelaron cambios abruptos en las concentraciones de las hormonas valoradas (foliculo estimulante, prolactina y progesterona) (Cuadro 1). De la primera fase del ciclo estral, *proestro*, se analizaron 20 muestras de plasma cuyos niveles hormonales promedio fueron de 13.2 mIU/ml de FSH; 14.7 ng/ml en P4; y 6 ng/ml de PRL.

Fase del ciclo estral	Céls. epit. nuc. %	Céls. epit. Int. %	Céls. cor. %	Leu. poli. %	FSH mIU/ml	P4 ng/ml	PRL ng/ml
<i>Proestro</i> n = 20	80	15	-	5	13.2 (±0.3)	14.7 (±0.7)	6 (±2)
<i>Estro</i> n = 13	15	-	80	5	6 (±0.2)	16.7 (±1.2)	14.7 (±0.6)
<i>Metaestro</i> n = 16	15	40	-	45	4.7 (±0.7)	19.9 (±0.2)	29 (±1.4)
<i>Diestro</i> n = 10	4	-	-	96	2.4 (±0.3)	10 (±0.4)	22.9 (±2.4)
<i>Anestro</i> n = 11	50	-	-	50	2 (±0.3)	3 (±0.2)	10 (±0.5)

Cuadro 1. Proporción del tipo celular y dinámica endócrina en el ciclo estral del murciélago zapotero *A. jamaicensis*. Abreviaturas: Céls. epit. nuc= células epiteliales nucleadas; Céls. epit. int= células epiteliales intermedias; Céls. cor= células cornificadas; Leu. poli= leucocitos polimorfonucleados; FSH= Hormona folículo estimulante; P4= Progesterona; PRL= Prolactina. Nota: Las concentraciones de FSH, P4 y PRL están dadas en su promedio y las desviaciones estándar dentro de los paréntesis.

Asimismo, se analizaron 13 muestras de plasma de hembras en estado de *estro*, las cuales presentaron niveles promedio de 6 mIU/ml de FSH; 16.7 ng/ml de P4; y 14.7 ng/ml de PRL. De igual manera, se analizaron 16 muestras de hembras en estado de *metaestro*, con concentraciones de 4.7 mIU/ml FSH; 19.9 ng/ml de P4; y 29 ng/ml de PRL. Diez muestras de hembras en estado de *diestro*, presentaron niveles de 2.4 mIU/ml de FSH; 10 ng/ml de P4; y 22.9 ng/ml en PRL. Finalmente, de la fase de *anestro* se analizaron 11 muestras con concentraciones de 2 mIU/ml de FSH; 3 ng/ml de P4; y 10 ng/ml de PRL. Las concentraciones encontradas a lo largo del ciclo estral se encuentran resumidas en la figura 8.

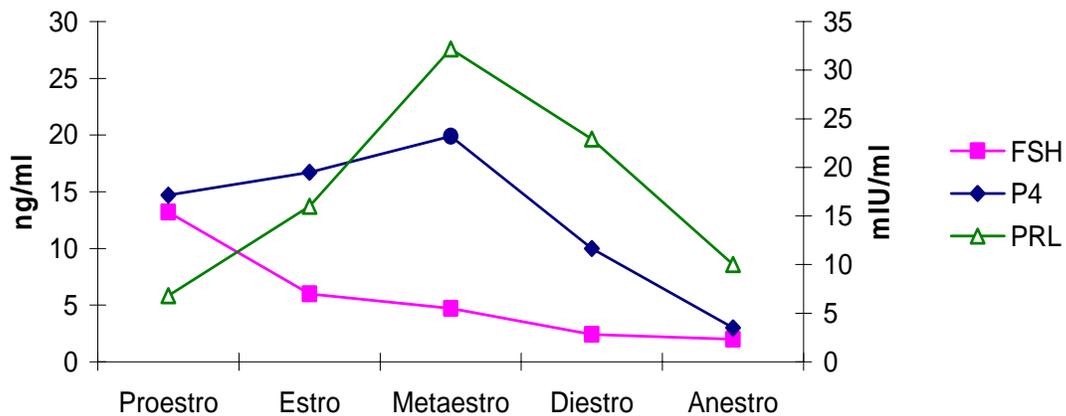


Figura 8. Dinámica endócrina del ciclo estral de *A. jamaicensis*.

2.5 DISCUSIÓN

Debido a que la periodicidad con que las cinco fases del ciclo estral se expresan sobre el epitelio vaginal de *A. jamaicensis* se limita a 22 (± 3) días, se puede señalar que la duración del ciclo estral del murciélago zapotero es similar al registrado por Rasweiler (1972), para otro murciélago filostómido como *Glossophaga soricina*.

Es probable que dicha semejanza en el comportamiento reproductor de ambas especies responda a la adaptación de ambas especies a un ambiente tropical, en donde tienen mayor disponibilidad de recursos alimentarios. De acuerdo con Bronson (1989), esto es cierto para la mayoría de mamíferos tropicales, los cuales sufren menos restricciones de alimento a lo largo del año y suelen tener ciclos sexuales continuos y más cortos que los organismos de climas templados. Esto coincide con lo señalado por Ramírez-Pulido *et al.*, (1993), quienes mencionan que el patrón reproductor de *A. jamaicensis* esta ligado

estrechamente con la fenología de los árboles del bosque tropical caducifolio., donde la presencia de los frutos de higueras (*Ficus sp*) a lo largo de todo el año constituyen el recurso más importante en la dieta de *A. jamaicensis*, sustentando así los requerimientos energéticos que exige la actividad reproductora constante de este murciélago.

Por otra parte, la duración y frecuencia de los ciclos estrales que las hembras estudiadas mostraron en un periodo de 75 días de muestreo, además del breve periodo de inactividad reproductora observado en la fase de *anestro* confirman la hipótesis de que las hembras de *A. jamaicensis* son capaces de presentar ciclos estrales continuos con periodos de *estro* breves cuando no logran el estado de preñez. De igual manera, fue evidente el comportamiento asincrónico de los ciclos estrales entre uno y otro espécimen, a través de la sobreposición de las diferentes fases del ciclo estral (Figura 2). De acuerdo con lo anterior, es entendible porqué las hembras pueden quedar preñadas más de una vez a lo largo del año, como lo señalan Hall y Dalquest (1963), Jones *et al.*, (1972; 1973) y Sánchez *et al.*, (1990). En este sentido, los estados de preñez del murciélago zapotero también se ven favorecidos por el tipo organización social y por el tipo de refugio que los organismos encuentran en este hábitat.

En la región de Chamela, Jalisco, el murciélago zapotero encuentra refugio principalmente en las oquedades de los árboles, en donde se organizan por medio de harenes, en donde conviven en promedio ocho hembras y un macho (Morrison, 1979); esto favorece el acceso oportuno del macho dominante hacia las hembras de su harén que pudieran estar receptivas (*estro*) en ese momento. Debido a que las hembras son capaces de presentar periodos de *estro* postparto, los machos dominantes acceden libremente a estas hembras, por periodos que van de una a siete horas dentro del refugio (Morrison, 1978). De igual manera, los periodos de *estro* presentados por las hembras de la colonia en cautiverio coincidieron con el periodo de preñez y postparto citado por Sánchez *et al.*, (1990), para individuos de la misma región, lo cual confirma la presencia de un patrón reproductor poliéstrico continuo en los individuos de *A. jamaicensis* de la región de Chamela, Jalisco.

Como se ha señalado anteriormente, en el ciclo estral del murciélago zapotero se identificaron cinco fases, en donde los frotis identificados en fase de *proestro* mantuvieron una predominancia de células epiteliales nucleadas, similar al reportado en el vespertiliónido *Nyctalus noctula* (Kleiman y Racey, 1969). La fase delimitada como *proestro* presentó las máximas concentraciones de la hormona folículo estimulante (FSH) dentro de todo el ciclo estral (13.2 mIU/ml). Esto coincidió con el modelo general propuesto para mamíferos por Bronson (1989), en donde la FSH presenta su máxima actividad sobre el desarrollo y crecimiento del folículo ovárico (Cuadro 1).

En el *estro*, el descenso en las concentraciones de FSH de hasta el 45% (6 mIU/ml) con respecto a los niveles registrado en el *proestro*, indica una disminución de la acción de esta hormona sobre el folículo ovárico. De acuerdo con Norris (1997), esta disminución es reemplazada por la hormona luteinizante (LH) que estimula la liberación del folículo. Asimismo, es sabido que la acción conjunta de la FSH y la LH sobre el folículo ovárico hacia finales del *proestro*, no solo favorecen el crecimiento y su posterior liberación; sino que también inician la síntesis de estrógenos, como el estradiol, el cual entre otras funciones actúa sobre el epitelio vaginal provocando la queratinización de las células epiteliales nucleadas (Norris, 1997). De esta manera, el descenso en los niveles de FSH parece tener influencia directa sobre la citología vaginal de las hembras adultas, ya que favorece la presencia de las células cornificadas, las cuales son típicas de los frotis de hembras en estado de *estro*.

Por otra parte, el incremento paulatino de los niveles de progesterona (P4), durante el *estro* probablemente se deba a una liberación constante de LH desde la hipófisis, como lo señalan Buchanan y Younglai (1986) para *Myotis lucifugus*. Este mismo patrón se ha observado en hamsters (Leavitt y Blaha, 1970) y cobayos (Challis *et al.*, 1971), lo cual demuestra que *A. jamaicensis* mantiene un patrón endócrino similar al reportado por Bronson (1989) para mamíferos.

El *metaestro* se distinguió por un notable descenso en la proporción de las células cornificadas. Es probable que al igual que como sucede en algunos roedores del género *Dipodomys* (Wilson *et al.*, 1985), y en el murciélago *Myotis lucifugus* (Currie *et al.*, 1988), la disminución en la proporción de las células cornificadas presentes en el epitelio vaginal del murciélago zapotero se deba a un decremento en las concentraciones de estrógenos así como a la acción endócrina del cuerpo lúteo, el cual, al madurar secreta mayores cantidades de P4 (19.9 ± 0.2 ng/ml).

Las fases de *diestro* y *anestro* estuvieron caracterizadas por los bajos niveles de FSH y P4. En ambas fases, la predominancia de leucocitos polimorfonucleados reveló la baja influencia de las hormonas sobre el tejido epitelial de la vagina. Esta condición fue interrumpida hacia finales del *anestro*, por la proliferación de células epiteliales nucleadas, reflejando así el inicio de un nuevo ciclo. Los niveles de PRL descendieron de manera paulatina durante la transición del *diestro* al *anestro* y alcanzando sus niveles basales aún después de haberse iniciado el *proestro*, al igual que como sucede en *Ovis aries* (Wright *et al.*, 1981).

Asimismo, mientras que los niveles de P4, decrecieron rápidamente durante el *diestro*, favorecieron el incremento de los niveles de FSH necesarios para iniciar la estimulación del crecimiento de un nuevo folículo ovárico. Por lo tanto se asume que los niveles de P4 descendieron al no darse el estado de preñez.

2.6 CONCLUSIONES

El ciclo estral del murciélago zapotero *A. jamaicensis* consta de 22 (± 3) días, con periodos de seis días de inactividad reproductiva entre un ciclo y otro. La duración de sus ciclos reproductores fueron similares en duración al reportado para otro murciélago filostómido como *Glossophaga soricina*, con la cual comparte los mismos rangos de distribución.

La dinámica endócrina del ciclo estral de *A. jamaicensis* es similar al modelo general señalado para mamíferos. Sin embargo, la escasa información sobre esta temática entre las diferentes especies de murciélagos, dificulta en gran medida la comparación de los resultados obtenidos.

Por lo anterior, es necesario realizar nuevas investigaciones en esta área para contribuir al conocimiento de los ciclos sexuales de las diferentes especies de murciélagos tropicales, para tal fin se pueden considerar técnicas de comprobada eficacia como la citología vaginal y las diferentes pruebas de inmunoensayo. Estas metodologías incrementan notablemente el grado de certeza en las delimitaciones de los ciclos estrales, así como la eficacia en los pronósticos de estados de celo o calor para una especie determinada. De igual manera, constituyen una herramienta eficaz en el manejo, uso y conservación de las especies de mamíferos silvestres.

En este capítulo se comprobó la eficacia de ambas técnicas en la delimitación y descripción del ciclo estral del murciélago zapotero *A. jamaicensis*. Sin embargo, la valoración de las concentraciones hormonales de FSH, P4 y PRL aquí señalados se limitó a una población de murciélagos cautivos, cuya actividad reproductiva pudo haberse modificado por la manipulación. Por lo tanto se recomienda realizar este tipo de trabajos obteniendo paralelamente los sueros de organismos capturados en el campo.

2.7 LITERATURA CITADA

- Bronson, F. H. 1989. Mammalian reproductive biology. The University of Chicago. U. S. A.
- Buchanan, G. D., y E. V. Younglai. 1986. Plasma progesterone levels during pregnancy in the little brown bat *Myotis lucifugus* (Vespertilionidae). *Biology of Reproduction*, 34:878-884.
- Challis, J. R. G., R. B. Heap y D. W. Illingworth. 1971. Concentrations of oestrogen and progesterone in the plasma of non-pregnant, pregnant, and lactating Guinea pigs. *Journal of Endocrinology*, 51:333-345.
- Champlin, A. K., D. L. Dorr y A. H. Gates. 1973. Determining the stage of the estrous cycle in the mouse by the appearance of the vagina. *Biology of Reproduction*, 8(4):491-494.
- Currie, W. B., M. Blake y W. A. Wimsatt. 1988. Fetal development, and placental and maternal plasma concentrations of progesterone in the little brown bat (*Myotis lucifugus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 82:401-407.
- Drury, R. A. B., y E. A. Wallington. 1980. Carleton's histological techniques. 5th Ed. Oxford University Press, Oxford.
- Fleming, T. H. 1971. *Artibeus jamaicensis*: Delayed embryonic development in a neotropical bat. *Science*, 171:402-404.
- García-Oliva F., A. Camou y J. M. Maass. 2002. El clima de la región central de la costa del Pacífico Mexicano. Pp: 3-10. *In*: Historia Natural de Chamela. (Noguera, F. A., J. Vega, A. García-Aldrete y M. Quesada, eds.) Instituto de Biología, UNAM.

- García-Campaña, A. M., W. R. G. Baeyens, X. Zhang, F. Alés, L. Gámiz. 2001. Quimioluminiscencia: una interesante alternativa para la detección analítica en sistemas de flujo. *Ars Pharmaceutica*, 42 (1):81-107.
- Gobello, M, C., O. A. Brown y J. R. Rondero. 1998. Determinaciones hormonales. *Analecta Veterinaria*, 18: 71-81.
- Gustafson, A. W., y D. A. Damassa. 1985. Repetitive blood sampling from small peripheral veins in bats. *Journal of Mammalogy*, 66:173-177.
- Hall, R. E., y W. Dalquest. 1963. The mammals of Veracruz. University of Kansas Publications, Museum of Natural History, 14:165-362.
- Hudson, W. J. 1974. The oestrous cycle, reproduction, growth, and development and temperature regulation in the pygmy mouse, *Baiomys taylori*. *Journal of Mammalogy*. 55:572-588.
- Jones, J. K. Jr., J. R. Choate y A. Cadena. 1972. Mammals from the Mexican state of Sinaloa. II. Chiroptera. Occasional Papers, Museum of Natural History, University of Kansas, 6: 1-29.
- Jones, J. K. Jr., J. D. Smith y H. H. Genoways. 1973. Annotated check list of mammals of the Yucatan peninsula, Mexico. I. Chiroptera. Occasional Papers, The Museum of Texas Tech University, 13:1-31
- Kleiman, D. G., y R. A. Racey. 1969. Observations on noctule bats (*Nyctalus noctula*) breeding in captivity. *Lynx*, 10:65-77.
- Leavitt, W. W., y G. D. Blaha. 1970. Circulating progesterone levels in the golden hamster during the estrous cycle, pregnancy, and lactation. *Biology of Reproduction*, 3:353-361.

- Lott, E. J., S. H. Bullock y A. Solís-Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forest of Coastal Jalisco. *Biotropica*, 19:228-235.
- Morrison, D. W. 1978. Lunar phobia in a neotropical fruit bat *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Animal Behavior*, 26:852-855.
- Morrison, D. W. 1979. Apparent male defence of tree hollows in the fruit bat, *Artibeus jamaicensis*. *Journal of Mammalogy*, 60:11-15.
- Norris, D. O. 1997. *Vertebrate Endocrinology*. 3th ed. Academic Press. San Diego, California, U.S.A.
- Orr, R. T. 1954. Natural history of the pallid bat, *Antrozous pallidus* (Le conte). *Proceedings of the California Academy of Science*. 4th Series, 28:165-246.
- Ramírez-Pulido, J., M. A. Armella y A. Castro-Campillo. 1993. Reproductive patterns of three neotropical bats (Chiroptera: Phyllostomidae) in Guerrero, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 38:24-29.
- Rasweiler, J. J., IV. 1972. Reproduction in the long-tongued bat, *Glossophaga soricina*. I. Preimplantation developmental and histology of the oviduct. *Journal of Reproduction and Fertility*, 31:249-262.
- Rzedowski, J. 1978. *La vegetación de México*. Ed. Limusa.
- Sánchez, H. C., C. B. Chávez-Tapia y A. Rojas-Martínez. 1990. Patrón reproductivo de *Artibeus jamaicensis triomylus* (Chiroptera: Phyllostomidae) en la costa sur occidental de México. *Revistas de Zoología, ENEPI UNAM, México*, 2:14-24.
- Steers, B. G. 1998. Descripción morfológica e histológica del aparato reproductor femenino y citología vaginal exfoliativa del murciélago *Artibeus*

jamaicensis yucatanicus y la relación con su ciclo reproductivo en Yucatán, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Valdespino, C., C. S. Asa y J. E. Bauman. 2002. Estrous cycles, copulation, and pregnancy in the fennec fox (*Vulpes zerda*). *Journal of Mammalogy*, 83:99-109.

Wilson, D. E. 1979. Reproductive patterns. Pp. 317-378. *In: Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae. Part III.* (Baker, R. J., J. K. Jones, Jr. y D. C. Carter eds.). Special Publications The Museum, Texas Tech University, 16:1-441.

Wilson, M., M. Daly y P. Behrends. 1985. The oestrous cycle of two species of kangaroo rats (*Dipodomys microps* and *D. merriami*). *Journal of Mammalogy*, 66:726-732.

Wright, P. J., G. Jenkin y R. B. Heap. 1981. Prolactin an LH release in response to LH-RH and TRH in ewes during dioestrus, pregnancy and *post partum*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 62:447-453.

Capítulo 3

Observaciones sobre cortejos, cópulas, tasa de crecimiento fetal y duración de la gestación de *Artibeus jamaicensis*

Capítulo 3. Observaciones sobre cortejos, cópulas, tasa de crecimiento fetal y duración de la gestación de *Artibeus jamaicensis*

INTRODUCCIÓN

Los murciélagos, en contraste con otros mamíferos de tamaño pequeño, tienen un comportamiento reproductor y periodos de vida intrauterina variables, los cuales pueden ser modificados por la influencia de factores bióticos (enfermedades y depredación) y abióticos (temperatura y fotoperiodo); (Frazer y Huggett, 1974). De igual manera, la poca disponibilidad de los recursos alimentarios y la exposición de las hembras preñadas a agentes generadores de estrés también pueden modificar la tasa de crecimiento embrionario y en el peor de los casos, la interrupción del periodo de gestación (Racey, 1973).

Actualmente el conocimiento que se tiene acerca de la manera en que los factores ambientales modifican el comportamiento reproductor de los murciélagos y el desarrollo embrionario de sus crías es limitado, al igual que la mayoría de los mecanismos involucrados en su biología reproductora. De acuerdo con esta reflexión, es necesario incrementar la investigación en estos tópicos, sobretodo en los murciélagos tropicales, los cuales han sido reconocidos como excelentes modelos experimentales en las áreas del conocimiento biológico, biomédico y de conservación (Rasweiler, 1993).

3.1 ANTECEDENTES DEL CORTEJO Y EL DESARROLLO PRENATAL

Cortejos

Al igual que como sucede en el resto de los mamíferos, los apareamientos se logran después de que el macho ha cortejado a la hembra. El cortejo es de vital importancia en la tarea de conseguir una pareja y por lo general consiste de labores de exhibicionismo (teropódidos), vocalizaciones (teropódidos, embalonúridos y vespertiliónidos), actividad de las glándulas de almizcle (embalonúridos y molósidos) y danzas (filostómidos); en general, todas estas actividades están relacionadas con el sistema de apareamiento característico de cada especie (Orr, 1970).

Apareamientos

Una vez que la hembra ha aceptado al macho, se dan los apareamientos, los cuales son esencialmente similares a las del resto de mamíferos, debido a que el macho monta y penetra a la hembra por detrás. Las cópulas de algunas especies de murciélagos vespertiliónidos han sido registradas por Wimsatt (1945). No obstante, los reportes sobre las montas de murciélagos y la duración de éstas han recibido poca atención en los reportes científicos.

Tasa de crecimiento fetal

Los estudios enfocados a estimar la tasa de crecimiento fetal en las diferentes especies de murciélagos son igualmente limitados. La importancia de este tipo de estudios radica en que sus resultados ayudan a comprender la adaptación de una especie en particular hacia su ambiente, pues se ha comprobado que el

ritmo de crecimiento de las crías está en función de las condiciones ambientales y disponibilidad de recursos (Frazer y Hugett, 1974). Las tasas de crecimiento fetal, resultan útiles en la estimación de edades embrionarias como lo demostró Van der Merwe (1979, 1981) para *Miniopterus schreibersi*, así como también en la determinación de la duración de los periodos de gestación de una especie en particular (Krishna y Dominic, 1982).

Gestación

Autores como Orr (1970), Heideman (1989) y Badwaik y Raswailer (2000) han señalado la diversidad en las longitudes de los periodos de gestación de algunas especies de murciélagos. Algunos vespertiliónidos del género *Myotis* y *Pipistrellus* pueden presentar gestaciones de 50 días, mientras que el teropódido *Haplonycteris fischeri* tiene periodos de gestación de hasta once meses.

Para algunas especies, es posible citar tiempos de desarrollo, como en el caso del vespertiliónido *Miniopterus schreibersi*. De acuerdo con Van der Merwe, (1981), esta especie posee un periodo de gestación es de ocho meses, en donde el 64% de ésta es ocupada por un retraso en la implantación, 14% por la organogénesis y 22% para el crecimiento embrionario.

De acuerdo con lo anterior, el conocimiento acerca de los cortejos, montas y tasas de crecimiento fetal y la duración de los periodos de gestación para la mayoría de las especies de murciélagos tropicales son poco conocidas.

Sobre el murciélago zapotero *A. jamaicensis* se han descrito algunos aspectos de su biología reproductora, como su tipo placentario (Wislocki y Fawcett, 1941), nacimiento de las crías (Jones 1945; Novick, 1960; Bhatnagar, 1978) y su sistema de apareamiento (Kunz *et al.*, 1983; Ortega y Arita, 1999). Asimismo, Fleming (1971), Keast y Handley (1991) y Wilson *et al.*, (1991) coincidieron en señalar que *A. jamaicensis* presenta dos periodos de preñez al año en la región del canal de Panamá y en la Isla de Barro Colorado; el primero con amplitud de 3.5-4 meses y el segundo de siete meses, debido a la presencia de un periodo de diapausa embrionaria.

Considerando la escasa información existente sobre algunos aspectos del comportamiento reproductor del murciélago zapotero en el trópico mexicano, el propósito de este capítulo es contribuir al conocimiento de los cortejos, cópulas, desarrollo y crecimiento prenatal y periodos de gestación que presenta *A. jamaicensis* en nuestro país, en donde el fenómeno de diapausa embrionaria no se ha citado; por lo tanto se plantea la siguiente hipótesis:

Ho: Si en la región de Chamela, Jalisco no se presenta un periodo de diapausa durante el periodo de gestación de *A. jamaicensis*, entonces el desarrollo y la tasa de crecimiento fetal tendrá un comportamiento lineal y podrán presentarse cigotos, embriones y fetos a diferentes estados de desarrollo dentro del mismo periodo de reproducción.

Para comprobar lo señalado en la hipótesis se plantearon los siguientes objetivos:

- 1) Describir la conducta de cortejo y cópulas del murciélago zapotero
- 2) Estimar la tasa de crecimiento fetal a diferentes edades prenatales.
- 3) Estimar el periodo de gestación

3.2 ÁREA DE ESTUDIO

La captura de los murciélagos utilizados en este capítulo fueron capturados en la región de Chamela, Jalisco, descrita en el capítulo dos.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Para delimitar el periodo de gestación de *A. jamaicensis* en la región de Chamela, Jalisco, durante el mes de agosto del 2002 se recolectaron 30 especímenes adultos del murciélago zapoteros *A. jamaicensis*, de los cuales 24 eran hembras no grávidas y seis machos. Los murciélagos se mantuvieron en cautiverio durante los meses de septiembre del 2002 al marzo del 2003 en la estación de Biología Chamela, Jalisco. Fueron puestos en cuarentena durante 15 días y posteriormente se dividieron en dos grupos de 12 hembras y tres

machos, los cuales fueron colocados en dos jaulas de 1x1x1 m (# 1 y 2). A las hembras se les realizaron frotis vaginales, para detectar el periodo de receptividad del macho (*estro*). De esta manera, cinco hembras en estado receptivo fueron removidas de su jaula y cada una fue colocada junto con un macho en jaulas independientes de 0.6x0.6x0.6 m (#3-6), para favorecer los apareamientos.

Para registrar los cortejos y apareamientos se utilizó una cámara de video SONY, Digital 8 Handycam Modelo DCR-TRV340 en periodos de cuatro horas diarias, dos horas en la mañana (10:00 a 12:00 hrs.) y dos por la noche (21:00 a 23:00 hrs.) durante un periodo de dos meses.

Las cinco hembras preñadas fueron removidas a otra jaula (# 7) de 1.1x0.6x0.5 m para registrar el periodo de gestación y cualquier eventualidad que pudiera presentarse durante ésta. En las jaulas que iban desocupándose (#3-6) se colocaron nuevas parejas de murciélagos para obtener otras hembras en estado de preñez (Figura 1).

Debido a que las hembras preñadas interrumpieron inesperadamente su estado de preñez abortando a sus crías, los especímenes abortados (muertos) fueron utilizados para estimar la tasa de crecimiento fetal (a) por medio de la fórmula matemática propuesta por Huggett y Widdas (1951)

$$W^{1/3} = a (t_g - t_0); \quad a = \frac{W^{1/3}}{(t_g - t_0)}$$

Donde: $W^{1/3}$ = raíz cúbica del peso del feto; a = tasa de crecimiento; t_g = tiempo de gestación; t_0 = un tiempo cualquiera (edad del feto abortado)

Para el valor del tiempo de gestación (t_g) se consideró un periodo de 122 días señalado por Keast y Handley (1991) para organismos de la misma especie mantenidos en cautiverio en Washington, D. C., E. U. A.

Finalmente, el valor promedio de la tasa de crecimiento fetal estimada en *A. jamaicensis* fue comparado con las tasas de crecimiento fetal reportadas para otras especies de murciélagos de tres gremios tróficos diferentes: frugívora, hematófaga e insectívora.

3.4 RESULTADOS

Comportamiento de cortejo y cópulas

Se registraron dos eventos de cortejo y cópula por medio de video, los cuales se dieron en horas diurnas, los días 1 y 5 de diciembre del 2002; el primer evento tuvo una duración de 13 minutos y el segundo de 16 minutos; este último es el que se describe a continuación. Primeramente, el macho realizó movimientos de acercamiento constantes y vocalizaciones esporádicas hacia la hembra, ésta lo rechazaba por medio de aleteos, mientras que se desplazaba en sentido contrario a él hasta quedar a 50 cm de distancia. El macho continuó con sus movimientos y vocalizaciones durante ocho minutos, hasta que se acercó decididamente de frente a la hembra a la cual sujetó hacia sí con ambas alas, procediendo a acicalarle la región del cuello, rostro y orejas; fue hasta entonces que la hembra pareció aceptarlo. El acicalamiento continuó por cerca de tres minutos hasta que el macho se desplazó y montó por la espalda a la hembra. Después de una breve pausa de 5 segundos, se dio la penetración por la espalda de la hembra y tuvo una duración de aproximadamente un minuto. El macho se mantuvo detrás de la hembra y continuó acicalándola por espacio de dos minutos. Posteriormente, hubo una segunda penetración la cual tuvo una duración de dos minutos y se dio mientras la hembra se sujetaba con una sola pata, probablemente para plegar el uropatagio y facilitar así la penetración. A pesar de que todo el proceso descrito tuvo una duración de 16 minutos, es probable que el evento haya sido de mayor duración pues al parecer el macho ya había realizado varios movimientos de acercamiento hacia la hembra antes de que hubiera notado esta conducta.

Las posteriores observaciones se enfocaron a determinar la duración del periodo de gestación de *A. jamaicensis*. Sin embargo, no hubo éxito en esta tarea debido a que las cinco hembras preñadas abortaron a sus crías. De esta manera, los fetos obtenidos de los abortos fueron utilizados para estimar la tasa de crecimiento fetal.

Tasas de crecimiento fetal

La tasa de crecimiento fetal de los individuos abortados a edades de 64 y 78 días de gestación fueron menores que las estimadas para los fetos de 104 y 108 días de gestación (Cuadro 1). Mientras que la tasa de crecimiento fetal promedio fue de $a = 0.06$.

Cuadro 1. Tasas de crecimiento fetal de los especímenes obtenidos de hembras de *A. jamaicensis* mantenidas en condiciones de cautiverio. El valor de t_g fue obtenido del periodo de gestación señalado por Keast y Handley (1991).

Feto	Peso (g)	$W^{1/3}$	a	t_0	t_g
1	3	1.443	0.02	64	122
2	3.5	1.519	0.03	78	122
3	4	1.588	0.05	94	122
4	6	1.817	0.10	104	122
5	6	1.817	0.13	108	122
<i>Promedio=0.06</i>					

Abreviaturas: $W^{1/3}$, raíz cúbica del peso; a , tasa de crecimiento fetal; t_0 , edad del feto; t_g , tiempo de gestación.

Observaciones sobre la gestación

No se logró obtener el nacimiento de las crías de las cinco hembras preñadas, debido a que las hembras mantenían un estado de estrés pronunciado al momento en que abortaron a sus crías. Dicha condición se debió a la presencia de ruido constante, generado por las ramas de los árboles alrededor del refugio y por el material plástico que cubría el techo del mismo. Por lo anterior, se obtuvieron observaciones de cinco especímenes abortados a diferentes edades de gestación (Cuadro 1). En todos los casos el aborto sucedió durante horas diurnas, con las hembras perchadas boca a bajo. Los fetos presentaron primero la cabeza al momento de salir del canal de parto y la madre no les procuró ayuda alguna.

Morfología de los fetos abortados

A continuación se describe el grado de desarrollo de los fetos abortados a diferentes edades.

Feto 1

LT, 18; LC, 7.5; AB, 4.3. Edad: 64 días de gestación.

En la cabeza, la diferenciación de estructuras del rostro es clara y los párpados cubren a los ojos; la pina de las orejas es flácida y corta, no cubre al primordio del trago. El cráneo tiene placas craneales frontales, coronales y las sagitales están bien diferenciados. Las extremidades superiores son en forma de abanico y los húmeros, carpos, metacarpos y falanges, ya se encuentran diferenciados; asimismo, las membranas alares presentan un propatagio y dactilopatagio bien

definidos; el plagiopatagio se une a la base de las patas. En las extremidades inferiores, el fémur, tibia, fíbula, así como los tarsos y metatarsos de los dedos de las patas son cartilaginosos; las uñas empiezan a apreciarse en los dedos.

Feto 2

LT, 22; LC, 12; AB, 8.8; PT, 6.7; O, 5. Edad: 78 días de gestación.

En la región de la cabeza, el rostro presenta rasgos faciales semejantes a los de especímenes adultos; los ojos están cubiertos por los párpados; las pinas de las orejas son flácidas y cubren el trago. Las extremidades superiores están diferenciadas y los pulgares de las manos tienen uñas; el propatagio nace desde el hombro y se une al borde de los antebrazos; y el plagiopatagio está bien desarrollado, por lo cual puede apreciarse con claridad desde el quinto dedo hasta el maléolo. Las extremidades inferiores se encuentran plegadas hacia resto del cuerpo y las patas poseen garras claramente formadas.

Feto 3

LT, 27; LC, 10; AB, 10.3; PT, 7; O, 5. Edad: 94 días de gestación.

En la cabeza, las orejas están bien desarrolladas. En el cráneo, se observan placas craneales parcialmente osificadas; el arco zigomático es ovalado y de consistencia sólida. La región torácica es de coloración blanquecina y carece de pelo. En las extremidades superiores las falanges del tercer dedo crecen rápidamente mientras que la uña del pulgar se ha queratinizado. En las extremidades inferiores, el calcáneo continúa su desarrollo y aunque se mantiene con una estructura a base de cartílago hialino.

Feto 4

LT, 33.1; LC, 17.1; AB, --; PT, 11; O, 5. Edad: 104 días de gestación.

La condición del feto es incompleta debido a que la madre le devoró las extremidades superiores, por lo que no fue posible registrar el tamaño de sus antebrazos.

Feto 5

LT, (33.8); LC, 17.5; AB, 13.7; PT, --; O, 5. Edad: 108 días de gestación.

La región cefálica presenta placas craneales de consistencia cartilaginosa; la dentición decidua sobresale de las encías y se puede apreciar pelo escaso en la región del rostro. A este espécimen su madre le devoró la extremidad superior izquierda y las dos extremidades inferiores, a pocos minutos de haberlo abortado.

3.5 DISCUSIÓN

El comportamiento de cortejo fue similar a la registrada para los murciélagos vespertilionidos *Plecotus rafinesquii* y *Antrozous pallidus* (Pearson *et al.*, 1952; Orr, 1954), ya que en todos los casos se registran acercamientos hacia las hembras acompañados por vocalizaciones. Por otra parte, la forma en que se dieron los abortos fue al igual que como lo menciona Bhatnagar (1978), para los nacimientos, presentando primero la cabeza.

Debido a que los abortos de las cinco hembras preñadas coincidieron con el inicio de los ventarrones típicos de la región durante los meses de febrero y marzo (13 de febrero del 2003), es probable éstos hayan sido los principales factores generadores de ruido; y por lo tanto, la principal fuente de estrés a las cual estuvieron expuestas las hembras. Dicha perturbación fue originada en gran medida por el ruido que producía la capa plástica del techo del sitio de resguardo de la colonia, así como por el movimiento brusco de las ramas de los árboles de alrededor. Con base en la experiencia obtenida se puede señalar que para lograr el nacimiento de las crías del murciélago zapotero *A. jamaicensis* en cautiverio se requiere de condiciones de aislamiento perfectamente controladas.

De acuerdo con Sánchez *et al.*, (1990) en la costa sur occidental de México los especímenes de *A. jamaicensis* presentan tres o cuatro periodos reproductores a lo largo del año, con periodos de gestación de 120 a 90 días. Sin embargo, se desconoce hasta que grado el cautiverio y el manejo de las hembras hayan influido en la tasa de crecimiento embrionario y por tanto en la gestación de las crías.

Las observaciones sobre los abortos coinciden con la forma de nacimiento de las crías citada por Jones (1945), en donde el momento del parto ocurre durante horas diurnas, sin ayuda de la madre y con la cabeza por delante. Asimismo, el comportamiento de canibalismo presentado por dos de las cinco hembras que abortaron a sus crías, también podría estar ligado a las condiciones de estrés mencionadas anteriormente, al igual que como sucede en algunas especies de roedores mantenidos en cautiverio como *Mus musculus* (Perrigo, 1987) y *Peromyscus maniculatus* (Sterling, 1953), las cuales reaccionaron de manera similar ante un ambiente de ruido y de manejo constante.

Por otra parte, la tasa de crecimiento fetal de los individuos abortados iba incrementando del estado más temprano al más tardío ($a = 0.02 - 0.13$), lo que reveló un crecimiento embrionario constante durante los meses de diciembre a marzo, por lo que se pudieron obtener fetos a diferentes grados de desarrollo embrionario a diferencia de lo que señalan Fleming (1971) y Keast y Handley (1991) para el mismo periodo del año, en los cuales, el desarrollo se detiene en el estadio de blastocisto. Por lo tanto, la confirma que la hipótesis planteada en este capítulo es cierta para la región de Chamela, Jalisco, en donde el murciélago zapotero no presenta un periodo de diapausa embrionaria en su segundo periodo de gestación anual. Asimismo, cabe señalar que de acuerdo con observaciones de campo propias realizadas en la misma región, se ha podido constatar que efectivamente no hay evidencias de diapausa embrionaria durante otros periodos del año.

Inicialmente, la baja tasa de crecimiento registrada en los primeros dos individuos abortados podría explicarse por el estado prematuro del desarrollo de los fetos, en donde el aumento de talla es mínimo. Al igual que como señalan Leitch *et al.* (1959), para embriones del ratón *Mus musculus*, durante el desarrollo temprano de los embriones de *A. jamaicensis*, la fuente de energía se canaliza principalmente en la formación de los órganos vitales, más que al aumento en talla como se ve en las edades más adultas; por lo que es claro que en el murciélago zapotero como en otros mamíferos, primero se dan la formación de órganos vitales y subsecuentemente el desarrollo embrionario que deriva en aumento de talla y en la tasa de crecimiento fetal.

Debido a que en los fetos más avanzados en su desarrollo (104-108 de gestación), tenían escaso pelo en la región cefálica, no se descarta la existencia de más de un estadio entre los 108 a 122 días de gestación en donde los organismos se cubren en mayor medida de pelo alrededor del cuerpo.

De la revisión bibliográfica realizada acerca de las tasa de crecimiento fetal descritas para murciélagos de tres gremios tróficos diferentes se observó que las tasas de crecimiento fetales registradas para los murciélagos frugívoros *Cynopterus sphinx* ($a = 0.05$) y *Eidolon helvum* ($a = 0.06$) fueron similares a la obtenidas para *A. jamaicensis* en este estudio ($a = 0.06$), lo que sugiere que en condiciones ambientales similares, los murciélagos responden a mecanismos de adaptación evolutivas similares (Cuadro 2). De igual manera, la tasa promedio de crecimiento fetal en el murciélago zapotero, fue mayor que a la señalada

para otro filostómido, como el murciélago vampiro *Desmodus rotundus* ($a = 0.02$) (Racey, 1973; Greenhall *et al.*, 1983), debido probablemente a la plasticidad genética de cada especie. Con base a lo anterior, el periodo de gestación de *A. jamaicensis* aparentemente es similar al registrado para otro murciélago filostómido como *Carollia perspicillata*, el cual tiene un periodo aproximado de 115 días de gestación (Kleiman y Davis, 1979).

Cuadro 2. Periodos de gestación (t_g) y tasas de crecimiento fetal (a) de algunos murciélagos.

Especie	Dist.	GT	t_g	a	Referencia
Pteropodidae					
<i>Cynopterus sphinx</i>	Tr	F	115-125	0.05	Moghe, 1956
<i>Eidolon helvum</i>	Tr	F	120	0.06-0.07	Eisentraut, 1936
<i>Pteropus giganteus</i>	Tr	F	140-150	0.03	Racey, 1973
<i>Rousettus leschenaulti</i>	Tr	F	125	0.04	Patil, 1968 (Citado por Frazer y Huggett, 1974)
Megadermatidae					
<i>Megaderma lyra</i>	Tr	I	150-160	0.03	Ramaswamy y Kumar, 1961
Rhinolophidae					
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Tr	I	70-84	0.035	Barret-Hamilton y Hinton, 1921
<i>Hipposideros fulvus</i>	Tr	I	155-160	0.024	Patil, 1968 (Citado por Frazer y Huggett, 1974)
Phyllostomidae					
<i>Desmodus rotundus</i>	Tr	H	150-210	0.02	Wimsatt y Trapido, 1952; Racey, 1973; Greenhall <i>et al.</i> , 1983
Vespertilionidae					
<i>Antrozous pallidus</i>	T	I	63	0.04	Orr, 1954
<i>Myotis lucifugus</i>	T	I	60	0.03	Wimsatt, 1945
<i>M. nigricans</i>	T	I	50-60	0.03	Wimsatt, 1945
<i>M. Myotis</i>	T	I	50	0.09-0.1	Currier, 1922

Cuadro 2. Continuación

<i>Miniopterus australis</i>	T	I	180	0.013	Baker y Baker, 1936
<i>M. schreibersi</i>	T	I	240	0.014	Van der Merwe, 1979
<i>Nyctalus noctula</i>	T	I	70	0.04	Leitch <i>et al.</i> , 1959
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	T	I	44	0.03-0.04	Racey, 1973
<i>Plecotus rafinesquii</i>	T	I	56-100	0.03	Kleiman, 1969
<i>Tylonycteris robustula</i>	T	I	90	0.025	Medway, 1972
<i>T. pachypus</i>	T	I	90	0.03	Medway, 1972
Molossidae					
<i>Tadarida brasiliensis</i>	T	I		0.02	Davis <i>et al.</i> , 1962

Abreviaturas: Dist., distribución; GF, gremio trófico; t_g , tiempo de gestación; a , tasa de crecimiento fetal; Tr, tropical; T, templado; F, frugívoro; H, hematófago; I, insectívoro.

3.6 CONCLUSIONES

Debido a que la colonia de *A. jamaicensis* mantenida en cautiverio estuvo involuntariamente sometida a condiciones de estrés producido principalmente por el ruido constante que prevaleció alrededor del sitio de resguardo de los murciélagos, las hembras preñadas no lograron un periodo de preñez completo y abortaron a sus crías a edades tempranas y en avanzado estado de desarrollo. Por lo anterior, se puede señalar que para obtener mejores resultados en el nacimiento de las crías del murciélago zapotero, es necesario reducir al máximo las fuentes potenciales de estrés, además de considerar periodos de cautiverio más largos (\pm 18 meses) y moderar el manejo de las hembras preñadas.

A pesar de que no se pudieron registrar periodos de gestación completos, se confirmó que el desarrollo prenatal de las crías del murciélago zapotero en la región de Chamela, Jalisco es constante durante el segundo periodo de gestación anual ($a = 0.06$), y por lo tanto no presenta un periodo de diapausa embrionaria durante los meses de septiembre a abril como lo señalan Fleming (1971) y Keast y Handley (1991), para especímenes del Panamá. De acuerdo a lo anterior se estima que las poblaciones de *A. jamaicensis* podría tener un periodo de gestación de ± 120 días dentro de la región de Chamela, Jalisco.

Finalmente, la tasa promedio de crecimiento fetal fue mayor que la estimada para otros murciélagos filostómidos como el murciélago vampiro *Desmodus rotundus*, y similar a la reportada para dos teropódidos frugívoros de climas tropicales. No obstante, es necesario iniciar nuevos estudios en la estimación de los periodos de gestación para entender mejor el ritmo del desarrollo y crecimiento prenatal en estos organismos.

3.7 LITERATURA CITADA

- Badwaik, N. K., y J. J. Rasweiler, IV. 2000. Pregnancy. Pp. 221-293. *In*: Reproductive biology of bats. (Crichton, E. G. y P. H. Krutzsch, ed.). Academic Press. USA.
- Baker, J. R., y Z. Baker. 1936. The seasons in a tropical rainforest (New Hebrides) Part III, Fruit bats (Pteropodidae). *Journal of the Linnean Society*, London, 40:123-141.
- Barret-Hamilton. G. E. H., y M. A. C. Hinton. 1921. A history of British mammals. London: Gurney and Jackson.
- Bhatnagar, K. P. 1978. Head presentation in *Artibeus jamaicensis* with some notes on parturition. *Mammalia*, 42(3):359-363.
- Bradbury, J. W. 1977. Lek mating behavior in hammer-headed bat. *Zeitschrift fur Tierpsychologie*, 45:225-255.
- Currier, 1922. Le cycle genital femelle chez certains mamifères hibernants. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie*, Paris, 87:1365-1367.
- Davis, R. B., C. F. Herreid y H. L. Short. 1962. Mexican free-tailed bats in Texas. *Ecological Monographs*, 32:311-346.
- Eisentraut, 1936. Zur fortpflanzungsbiologie der fledermäuse. *Zeitschr Morph Okol*, 31:27-63.
- Fleming, T. H. 1971. *Artibeus jamaicensis*: Delayed embryonic development in a neotropical bat. *Science*, 171:402-404.

- Frazer, J. F. D., y A. St. G. Huggett. 1974. Species variations in the foetal growth rates of eutherian mammals. *Journal of Zoology*, London, 174:481-509.
- Greenhall, A. M., J. Joermann y U. Schmidt. 1983. *Desmodus rotundus*. *Mammalian Species*, 202:1-6.
- Heideman, P. D. 1989. Delay development in Fischer's pygmy fruit bats, *Haplonycteris fischeri*, in the Phillipines. *Journal of Reproduction and Fertility*, 85:363-382.
- Huggett, A. St. G., y W. F. Widdas. 1951. The relationship between mammalian foetal weight and conception age. *Journal of Physiology*, 114:306-317.
- Jones, T. S. 1945. Parturition in wets Indian fruit bat (Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy*, 27:327-330.
- Keast, L., y C. O. Handley. 1991. Reproduction on a captive colony. Pp. 19-42. *In: Demography & Natural History of the Common Fruit Bat, Artibeus jamaicensis* in Barro Colorado island, Panama. Smithsonian Institution Press. Washington D. C.173p.
- Kleiman, D. G. 1969. Maternal care, growth rate, and development in the noctule (*Nyctalus noctula*), pipistrelle (*Pipistrellus pipistrellus*) and serotonine (*Eptesicus serotinus*) bats. *Journal of Zoology*, London, 157:187-211.
- Kleiman, D. G., y T. M. Davis. 1979. Ontogeny and maternal care. Pp. 387-402. *In: Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae. Part III.* (R. J. Baker, J. K. Jones, Jr. y D. C. Carter eds). Special Publications, The Museum Texas Tech University, 16:1-441.
- Krishna, A., y C. J. Dominic. 1982. Differential rates of fetal growth in two successive pregnancies in the emballonurid bat, *Thaphozous longimanus* Hardwicke. *Biology of Reproduction*, 27:351-353.

- Kunz, T. H., P. V. August y C. D. Burnet. 1983. Harem social organization in cave roosting *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Biotropica*, 15:133-138.
- Leitch, I., F. E. Hytten y W. Z. Billewicz. 1959. The maternal and neonate weights of some mammalian. *Proceedings of Zoological Society*. London, 133:11-28.
- Medway, L. 1972. Reproductive cycle of the flat-headed bats *Tylonycteris pachypus* and *T. robustula* (Chiroptera: Vespertilionidae) in a humid equatorial environment. *Journal of the Linnean Society*, 51:33-60.
- Moghe, M. E. 1956. On the development and placentation of a megaquiropteran bat *Cynopterus sphinx gangeticus* (Andersen). *Proceedings of the National Academy of Sciences, India*, 22B:48-55.
- Novick, A. 1960. Successful breeding in captive *Artibeus*. *Journal of Mammalogy*, 41:508-509.
- Orr, R. T. 1954. Natural history of the pallid bat *Antrozous pallidus* (Le Conte). *Proceedings of California of Academic Sciences*, 4(28):165-246.
- Orr, R. T. 1970. Development: Prenatal and postnatal. Pp. 217-231. *In: Biology of bats*, Vol. I. (Wimsatt, W. A., ed.). Academic Press, New York, USA.
- Ortega, J., y H. T. Arita. 1999. Structure and social dynamics of harem groups in *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy*, 80:1173-1185.
- Pearson, O. P., M. R. Koford y A. K. Pearson. 1952. Reproduction of the lump-nosed bat (*Corynorhinus rafinesquei*) in California. *Journal of Mammalogy*, 33(3):273-320.

- Perrigo, G. 1987. Breeding and feeding strategies in deer mice and house mice when females are challenged to work for their food. *Animal Behaviour*, 35:1298-1316.
- Racey, P. A. 1973. Environmental factors affecting the length of gestation in heterothermic bats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 19:175-189.
- Ramaswamy, L. S., y T. C. Kumar, 1961. Some aspects of reproduction of the female Slender Loris (*Loris tardigradus lydekkerianus* Cabr.). *Acta Zool.*, Stockh, 46:257-273.
- Rasweiler, J. J., IV. 1993. Pregnancy in Chiroptera. *The Journal of Experimental Zoology*, 266:495-513.
- Sánchez, H. C., Chávez-Tapia, C. B. y Rojas-Martínez, A. 1990. Patrón reproductivo de *Artibeus jamaicensis triomylus* (Chiroptera: Phyllostomidae) en la costa sur occidental de México. *Revistas de Zoología, ENEPI UNAM, México*, 2:14-24.
- Sterling, K. B. 1953. Cannibalism in *Peromyscus*. *Journal of Mammalogy*, 34:262.
- Van der Marwe, M. 1979. Foetal growth curves and seasonal breeding in the natal clinging bat *Miniopterus schreibersi natalensis*. *Suid Afrikaanse Tydskrif vir Dierkunde*, 14:17-21.
- Van der Merve, M. 1981. Fetal development of the bat *Miniopterus schreibersi natalensis*. *Suid Afrikaanse Tydskrif vir Dierkunde*, 16:172-182.
- Wilson, D. E., C. O. Handley, Jr., y A. L. Gardner. 1991. Reproduction on Barro Colorado Island. Pp. 43-52. *In: Demography & Natural History of the*

Common Fruit Bat, *Artibeus jamaicensis* in Barro Colorado island, Panama.
Smithsonian Institution Press. Washington D. C.

Wimsatt, W. A. 1945. Notes on breeding behaviour, pregnancy and parturition in some vespertilionid bats of the Eastern United States. *Journal of Mammalogy*, 26:23-33.

Wimsatt, W. A., y H. Trapido. 1952. Reproduction and the female reproductive cycle in the tropical Vampire bat, *Desmodus rotundus murinus*. *American Journal of Anatomy*, 91:415-455.

Wislocki, G. B., y D. W. Fawcett. 1941. The placentation of the Jamaican bat (*Artibeus jamaicensis parvipes*). *Anatomical Record*, 81:307-317.

Capítulo 4

Variación de estados de desarrollo embrionario de *Artibeus jamaicensis*

Capítulo 4. Variación de estados de desarrollo embrionario de *Artibeus jamaicensis*

INTRODUCCIÓN

Hasta nuestros días han sido pocas las especies de murciélagos que han sido estudiados desde algún aspecto de su reproducción (embriología, crecimiento prenatal, crecimiento postnatal y madurez sexual). Esto es más evidente, si se considera sólo la información para murciélagos tropicales y en especial de la familia Phyllostomidae (Keast y Handley, 1991).

De acuerdo con Van der Merve (1981), el periodo de desarrollo prenatal se puede dividir en tres etapas: huevo, embrionaria y fetal. Sin embargo, a la fecha no existe un criterio estricto que delimite el término de la etapa embrionaria y el inicio de la fetal, por lo que esta tarea resulta ser arbitraria. En el orden Chiroptera, esta situación es aún más compleja debido a las numerosas variantes que los murciélagos pueden presentar en las diferentes etapas del desarrollo y crecimiento prenatal. Por lo anterior, es necesario incrementar los estudios con la finalidad dar a conocer el crecimiento prenatal de las diferentes especies de murciélagos.

4.1 ANTECEDENTES AL DESARROLLO EMBRIONARIO EN MURCIÉLAGOS

Los primeros datos sobre la embriología de un murciélago filostómido fueron obtenidos por Rolleston (1866), quien describió las membranas embrionarias de *Phyllostoma sp.* Allen (1895) describe el tamaño y la morfología de algunos embriones de los géneros *Artibeus*, *Brachiohylla*, *Desmodus*, *Glossophaga* y *Lonchoglossa (Anura)*. Hamlett (1935) describe las partes y la forma de la placenta del embrión de *Glossophaga soricina*. Orr (1970) por su parte, describe y señala el conocimiento que hasta entonces se tenía sobre la fertilización, el desarrollo prenatal y postnatal de los murciélagos. Posteriormente, Bleier (1979) señala los periodos de ovulación, fertilización y las primeras etapas del desarrollo embrionario de algunas especies de murciélagos filostómidos, como *Macrotus californicus*, *Glossophaga soricina*, *Carollia perspicillata*, *Carollia brevicauda*, *Artibeus jamaicensis* y *Desmodus rotundus*.

Para el murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis* se cuentan con trabajos sobre la descripción del tipo placentario (Wislocki y Fawcett, 1941), la descripción del nacimiento de sus crías bajo condiciones de cautiverio, las cuales nacen sin la ayuda de su madre, la cual está perchada y boca abajo (Jones, 1945; Novick, 1960; Bhatnagar, 1978), y los que aportan información sobre el desarrollo y estructura de las alas y su osificación (McManus y Nelly, 1972; Keast y Handley, 1991).

Lo anterior indica que la información sobre el desarrollo embrionario de *Artibeus jamaicensis* es escaso. La finalidad de este capítulo es contribuir al conocimiento del desarrollo embrionario y ontogenético del murciélago zapotero, por lo que se planteo la siguiente hipótesis:

Ho: El patrón reproductor del murciélago zapotero *A. jamaicensis* en la región de la costa sur occidental de México es descrito como poliestro continuo; por lo tanto, se pueden encontrar hembras preñadas con embriones a diferentes estados de desarrollo en un mismo periodo reproductor.

Se consideraron los siguientes objetivos:

- 1) Describir el desarrollo fetal mediante la identificación de estructuras morfológicas externas e internas (tejido muscular y óseo).
- 2) Definir diferentes estados de desarrollo con base en la morfología externa e interna de los embriones y fetos.
- 3) Determinar la relación entre tres variables somáticas del embrión o feto y su peso corporal.

4.2 ÁREA DE ESTUDIO

El trabajo de campo comprendió cinco localidades del estado Colima, incluidas dentro de las coordenadas: 19° 21' 30"N, 104° 09' 13" O; 19° 21' 30"N, 103° 32' 57"O; 19° 09' 30"N, 104° 09'13"O; 19° 09' 30"N, 103° 32' 57"O (Figura 1; Cuadro 1).

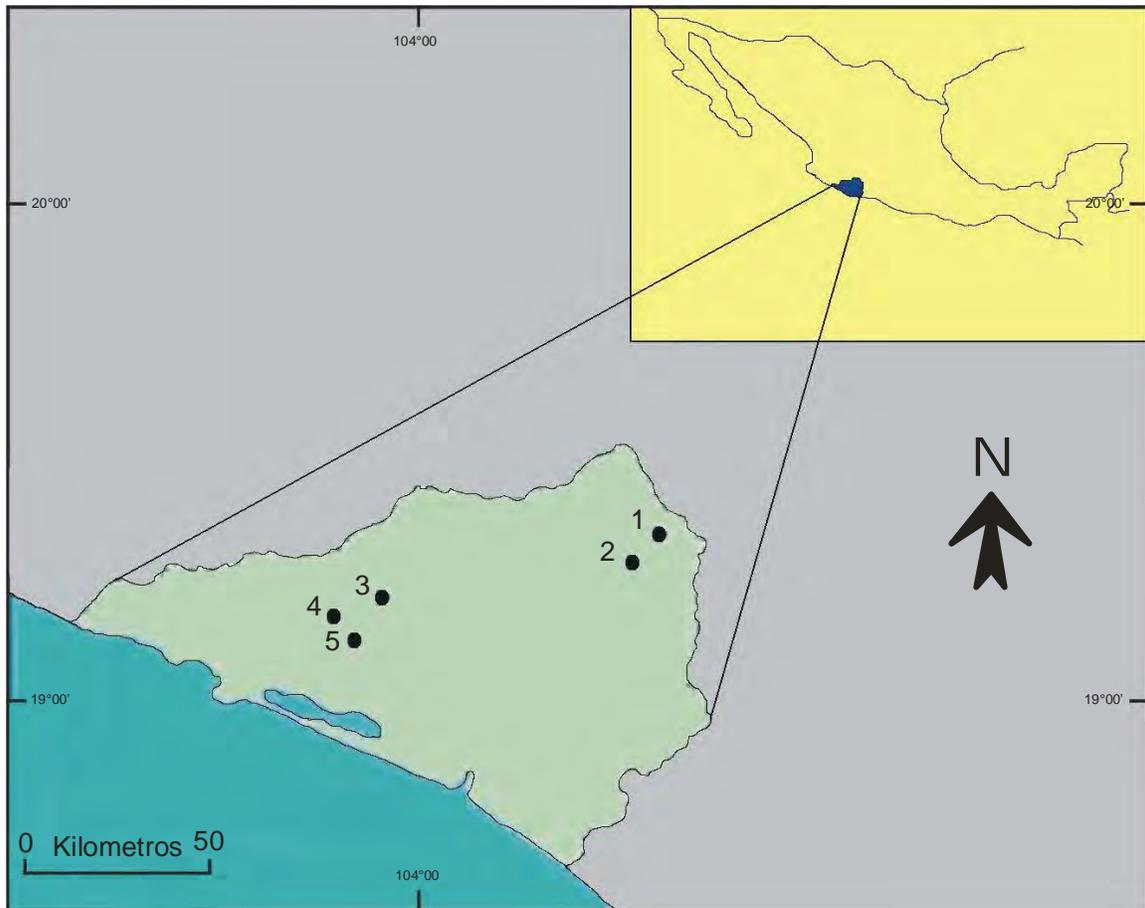


Figura 1. Localidades de colecta del murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis* en el estado de Colima. 1, Palmillas. 2, Cerro Colorado. 3, La Rosa. 4, San José de Lumbert. 5, Trapichillos.

De acuerdo con García (1987) en las localidades de Colima como en la región de Chamela se encuentra el tipo climático $Aw_1 (w)(i)$, denominado como cálido subhúmedo con lluvias en verano, que se caracteriza por tener un coeficiente de precipitación (P/T) de 43.2-55.3 mm. La oscilación térmica es menor de 5°C entre el mes más cálido y el más frío; la temperatura media anual de 26°C . Precipitación total anual de 1,050 mm alcanzando el nivel más bajo en el mes de febrero con 2 mm y el más alto en septiembre con 350 mm.

La cobertura vegetal de los sitios de muestreo en el estado de Colima fue de bosque tropical caducifolio y la presencia del bosque tropical subcaducifolio en zonas de terreno accidentado.

Cuadro 1. Localidades de captura en el estado de Colima.

Localidades	Coordenadas	Altitud (msnm)	Número de especímenes
1) Palmillas	19°21'30"N; 103°32'57"O	950	28
2) Cerro Colorado	19°19'16"N; 103°32'43"O	920	1
3) La Rosa	19°11'30"N; 104°06'13"W	650	22
4) San José de Lumbert	19°10'44"N; 104°08'39"O	500	15
5) Trapichillos	19°09'30"N; 104°07'11"O	360	2

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo consistió en el análisis detallado de embriones y fetos provenientes de hembras preñadas capturadas durante el invierno del 2001 (1-12 de enero), en el estado de Colima (Cuadro 1 y 2). Los murciélagos fueron capturados con ayuda de redes de niebla de 6, 8 y 12 m colocadas entre la vegetación, cuerpos de agua y brechas.

Para conocer la condición reproductiva de los murciélagos recolectados se les examinó la región del vientre por palpación, además del tamaño del pezón (estado de lactancia). Una vez identificadas las hembras en estado de preñez, éstas fueron sacrificadas y posteriormente medidas, pesadas y preparadas en piel y cráneo. Todas las medidas fueron tomadas en el campo con una regla de

precisión mínima de ± 0.5 milímetros; el peso fue registrado por medio de una balanza calibrada a ± 0.01 de gramo.

Los embriones y fetos obtenidos fueron conservados en alcohol al 70% y transportados al laboratorio para su análisis morfológico. Posteriormente en laboratorio a los especímenes se les registraron las siguientes medidas somáticas: Longitud total (LT), Longitud de la cabeza (LC), antebrazo (AB), y el peso, las cuales son citadas en milímetros (mm) y el peso en gramos (g). Para más de tres observaciones se anotó el promedio y el valor mínimo y máximo entre paréntesis.

Considerando que no existe un criterio claro para diferenciar a los embriones de los fetos, la determinación de ambos estados de desarrollo se realizó con base en las características morfológicas externas e internas, así como de la presencia o ausencia de estructuras óseas.

De esta manera, se definieron como embriones a aquellos organismos cuya morfología interna y externa aún no estaba bien definida; mientras que los fetos fueron aquéllos cuya morfología corporal y esquelética ya estaban bien definidas.

Las características morfológicas externas se obtuvieron al observar a los especímenes al microscopio estereoscópico; mientras que para poder precisar las diferencias internas, como el grado de osificación del esqueleto el material fue transparentado por la técnica de Canatella (2000), que consiste en la digestión del tejido muscular y conectivo por tripsina y la tinción diferencial de cartílago

(azul de alciano 8GX) y el hueso (rojo de Alizarina). Cabe señalar que se hicieron modificaciones en el tiempo de exposición a la tripsina, debido a la variación del tamaño de los embriones y fetos (Apéndice II).

Análisis estadístico

Para calcular la ecuación de la recta que describiera mejor el patrón de desarrollo embrionario se realizaron análisis de regresión lineal simple utilizando el programa estadístico SigmaStat, versión 3. Las medidas de los parámetros somáticos consideradas en estas pruebas fueron normalizadas por su logaritmo en base 10 antes de ser analizadas. Se tomaron en cuenta las siguientes funciones:

- 1) Log de longitud total del espécimen v_s Log de la longitud de la cabeza
- 2) Log del peso del espécimen v_s Log de la longitud de la cabeza
- 3) Log de la longitud total del espécimen v_s Log de la longitud del antebrazo
- 4) Log del peso del espécimen v_s Log de la longitud del antebrazo

Se consideró como la recta que mejor describió el patrón de desarrollo embrionario a aquella cuyo factor de correlación fue más cercano a 1. De esta manera, la recta fue definida por la ecuación: $Y = b_0 + (b_1) X$; r = coeficiente de correlación.

Donde:

Y = cualquier valor de la variable dependiente

b_0 = punto de intercepción entre las variables

b_1 = pendiente de la línea de regresión de la muestra

X = Cualquier valor de la variable independiente

4.4 RESULTADOS

Se obtuvieron 68 especímenes sin sexo determinado, cuatro embriones y 64 fetos (Cuadro 2). Fue posible capturar numerosas hembras con embriones de diferentes estados de desarrollo en las localidades de recolecta; por lo tanto, se observó una amplia variabilidad en el tamaño de los especímenes (Figura 2).

Cuadro 2. Número de murciélagos recolectados por día de colecta y localidades en el estado de Colima.

Localidad	Total de especímenes	Días de recolecta									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Palmillas	28	6	11	1	10	--	--	--	--	--	--
Cerro Colorado	1	--	1	--	--	--	--	--	--	--	--
La Rosa	22	--	--	--	--	--	6	1	9	6	--
San José de Lumbert	15	--	--	--	--	--	--	--	10	--	5
Trapichillas	2	--	--	--	--	2	--	--	--	--	--
Total	68										

De esta manera, el día 2 de enero del 2001, a 2 Km E del poblado de Palmillas, se pudo recolectar una hembra preñada con un embrión de 2.8 mm de longitud total; en contraste, el día 12 de enero del mismo año, durante el segundo periodo de recolecta, a 2.5 Km W San José de Lumbert, se recolectó una hembra con un feto de 40 mm (Figura 2).

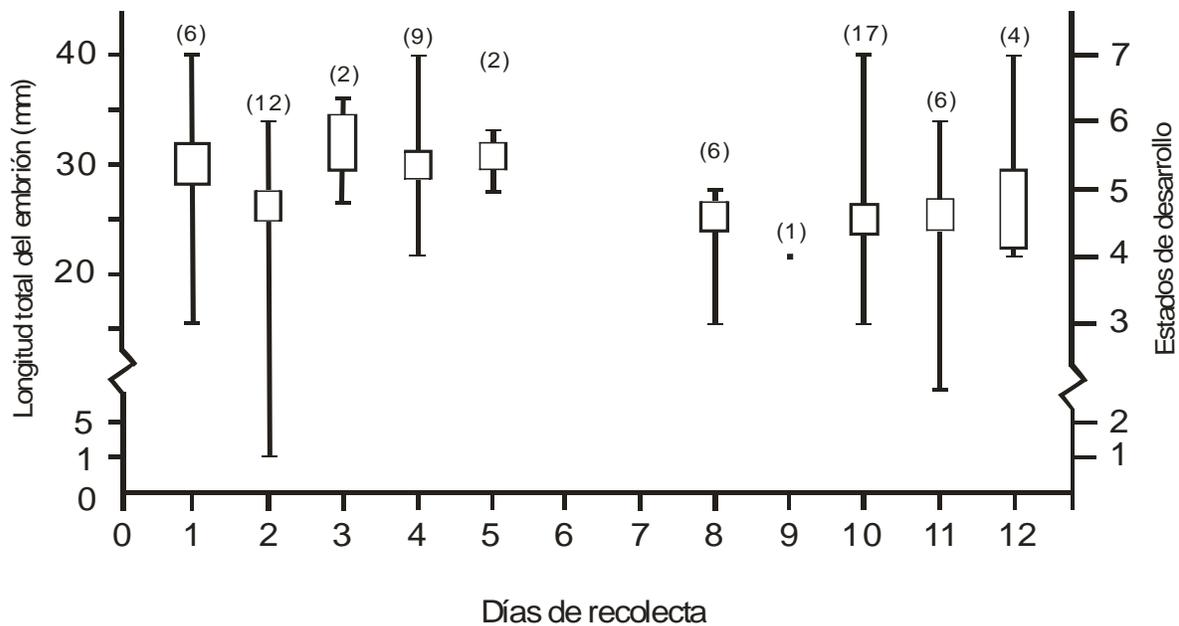


Figura 2. Asincronía del desarrollo de embriones y fetos entre los periodos de recolecta. Los números entre paréntesis representan a los especímenes capturados por día.

Estados de desarrollo

Con base en el análisis de las estructuras morfológicas externa e internas de los especímenes recolectados en campo se pudieron determinar siete estadios del desarrollo embrionario (Cuadro 3).

Cuadro 3. Medidas somáticas promedio de embriones y fetos analizados.

Estadio	Número de especímenes	LT ± S.D	Extremos	AB ± S. D	Extremos	LC ± S.D	Extremos	Peso ± S.D	Extremos
1	1	2.8	---	--	--	--	--	0.3	---
2	3	5	4-6	--	--	1.7	1.5-1.9	0.8	---
3	8	19.7 ± 1.16	18-21	6 ± 2	3.8-10.5	7.8 ± 1.3	6.8-8.7	2.9 ± 0.52	2-3.3
4	23	23.8 ± 1.14	22-26	8.4 ± 1.6	5-10.8	8.8 ± 2	7.8-9.8	3.5 ± 0.46	2.3-3.9
5	20	29 ± 1.14	27-31	10.7 ± 2	7.5-13.9	10.5 ± 2.6	8.5-12.5	4.2 ± 0.33	3.8-4.7
6	9	33.1 ± 1.26	32-35	14.8 ± 2.5	11.4-17.7	14 ± 2.4	12-16	5.2 ± 0.46	4.7-5.8
7	4	39 ± 1.41	37-40	17.1 ± 3	14.9-20.6	17.1 ± 3	16.9-17.3	5.9 ± 1.06	4.4-6.7

n = 68

Abreviaciones: LT, longitud total; AB, antebrazo; LC, longitud de la cabeza; S.D, Desviación estándar. Todas las medidas están expresadas en milímetros y peso en gramos.

Estadio 1

Se examinó un embrión (SBGP 74), con: LT, 2.8; LC (-); AB (-); peso, 0.3.

La región cefálica carece de rasgos faciales a excepción de los rudimentos de los ojos, vesícula auditiva y la membrana orofaríngea. En la región torácica los órganos internos no se habían definido; por este motivo el espécimen no fue tratado bajo la técnica de transparentación. Los arcos branquiales son prominentes y a lo largo del dorso se puede apreciar una hilera de somitas a ambos lados del tubo neural. Por otra parte, se ha iniciado la formación del aparato circulatorio, pudiéndose observar una prominencia cardíaca; asimismo, el desarrollo del hígado ocasiona un leve abultamiento en la parte media ventral del cuerpo (Figura 3).

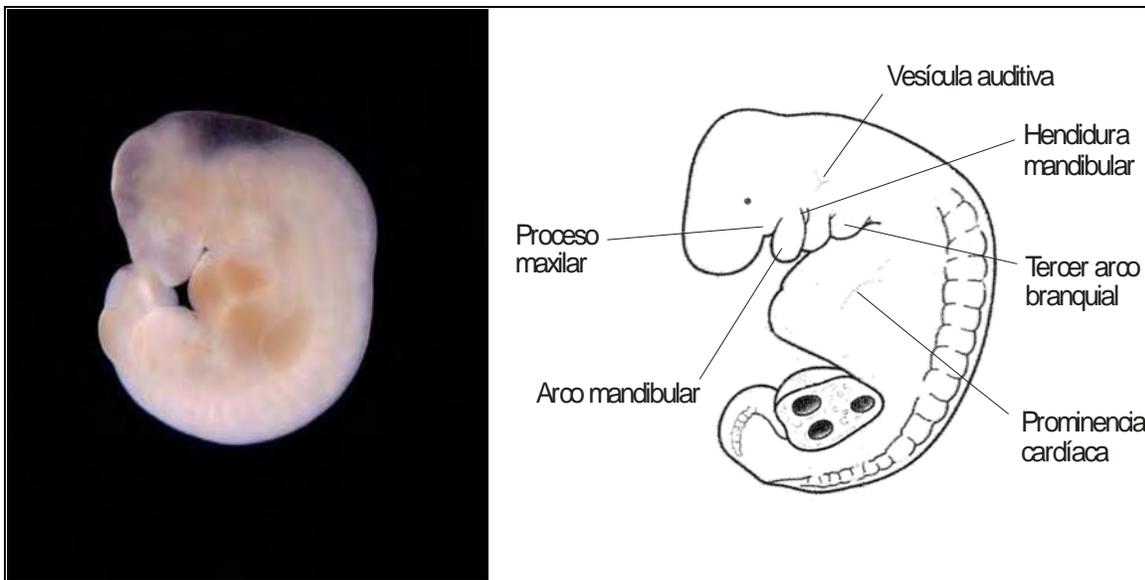


Figura 3. Estadio uno. Embrión en estado temprano de desarrollo con primordios de los ojos. SBGP 74. México: Colima, 2Km E Palmillas.

Estadio 2

Se examinaron tres embriones: LT, 5 (4-6); LC 1.7 (1.5-1.9); AB (--); peso, 0.8 (0.7-0.9).

En la región cefálica, el rostro presenta orificios nasales en forma de hendiduras. Se puede apreciar las salientes que originan los procesos maxilares, las cuales son pequeñas y se ubicaron a cada lado del rostro, sobre la base anterior del arco mandibular. En vista lateral, el arco mandibular y la hendidura hiomandibular están bien formados. El tercer y cuarto arcos branquiales ya se han diferenciado en la región media superior del cuerpo.

En la región torácica los primordios superiores e inferiores son cilíndricos y pequeños, y van a dar origen a las alas y patas respectivamente. Desde la parte superior de la cabeza hasta la cola, el cordón neural es de constitución oscura y el mielencéfalo que es de tonalidad transparente (Figura 4).

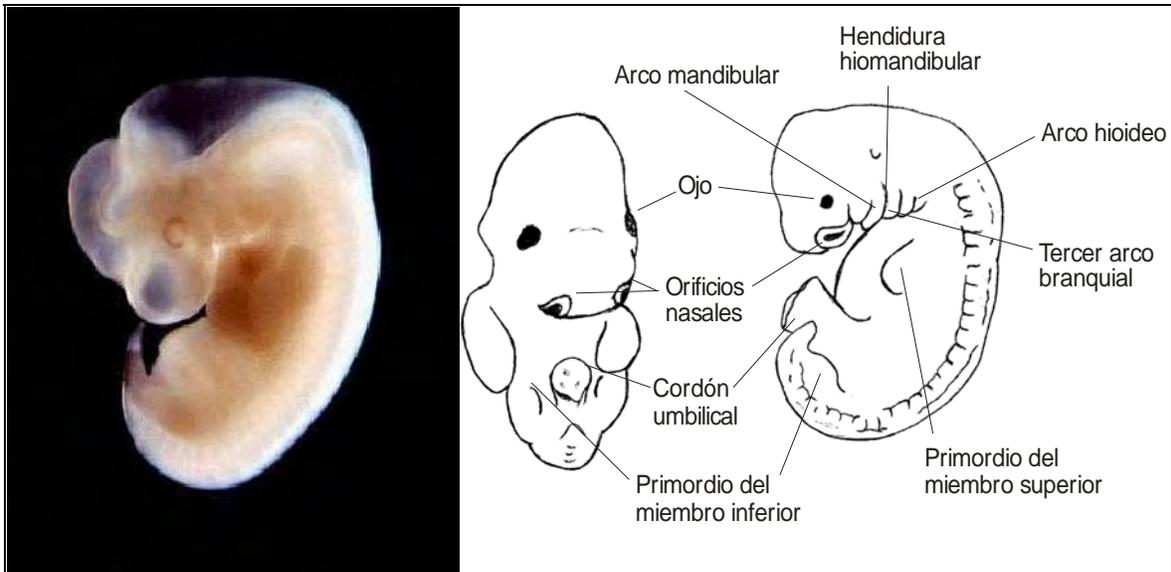


Figura 4. Estadio dos. Embrión con primordios de apéndices superiores e inferiores. LMG 51. Colima 2 Km E Palmillas.

Estadio 3

Se analizaron ocho fetos: LT, 19.7 (18-21); LC, 7.8 (6.8 -8.7); AB, 6 (3.8-10.5); peso, 2.9 (2 – 3.3).

El desarrollo de la región cefálica es evidente debido a que las suturas craneales frontales, coronales y sagitales que son de consistencia cartilaginosa. En la base del cráneo, el axis y el atlas presentan centros de osificación que parten de la región central hacia los lados. En el rostro la diferenciación de estructuras es clara y los ojos están cubiertos por párpados; la pila de las orejas es de condición flácida, corta y no cubre el primordio del trago; la base del cuello se encuentra diferenciada y las vértebras cervicales empezaban a osificarse. Los fetos ya presentan indicios de dentición decidua y presentan la siguiente fórmula dental: C1/1, P 2/2 X 2.

En la extremidad escapular se observan dos centros de osificación para las clavículas, escápulas. Asimismo, las alas presentan un propatagio que sobresale de los hombros y brazos y se inserta en la parte anterior de los antebrazos; el dactilopatagio está bien desarrollado entre las falanges de las manos dándoles forma de abanico, en donde los carpos, metacarpos y falanges ya se han diferenciado. El plagiopatagio se une a la base de las patas. Las extremidades inferiores, el fémur, tibia y los dedos están bien definidos con centros de osificación en la parte media; ya se aprecian las uñas en la punta de los dedos (Figura 5).

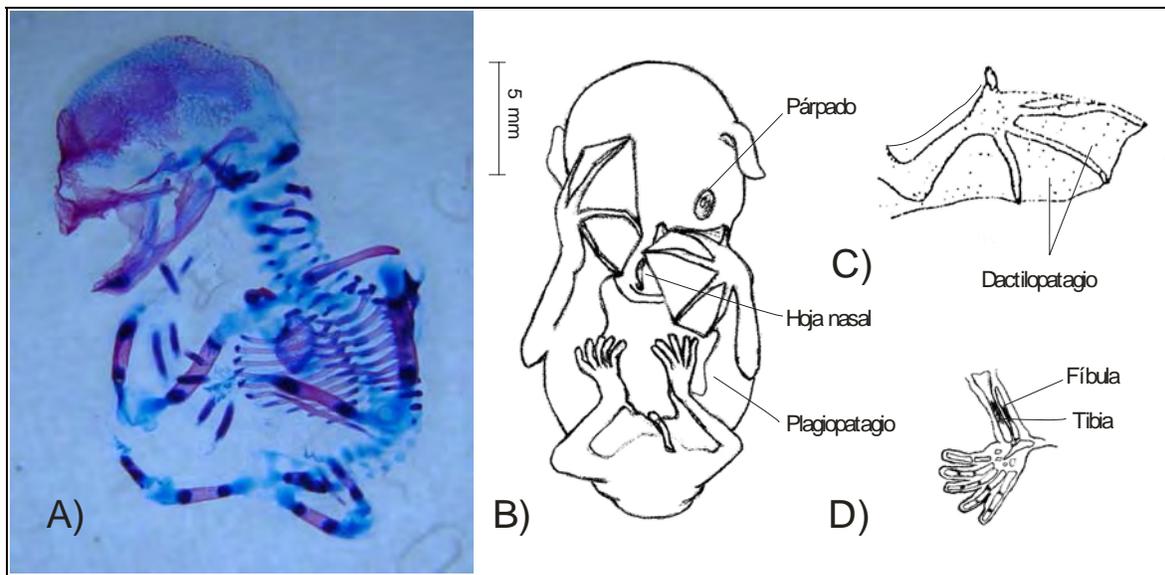


Figura 5. Estadio tres. A) Murciélago en posición fetal transparentado. B) Morfología externa, se observa la hoja nasal y los párpados de los ojos. C) Dactilopatagio desarrollado. D) Tibia y fíbula con centros de osificación en la parte media. CSH 4506. México: Colima, 4Km NE La Rosa.

Estadio 4

Se analizaron 23 fetos: LT, 23.8 (22 - 26); LC, 8.8 (7.8-9.8); AB, 8.4 (5 – 10.8); peso, 3.5 (2.3 – 3.9).

En la región cefálica, el rostro presenta rasgos faciales bien desarrollados a semejanza de los especímenes adultos; las suturas craneales sagital y occipital son osificadas en la parte central. Los párpados cubren a los ojos. Las pinas de las orejas son flácidas y cubren el trago. Se pudo apreciar la existencia de la dentición decidua cuya fórmula dentaria es $I2/2, C1/1, PM 2/1 X 2$. Las extremidades superiores se han diferenciado y el pulgar ya presentan uñas. El propatagio y el dactilopatagio están bien desarrollados, mientras que el plagiopatagio se aprecia con claridad desde el quinto dedo hasta el maléolo. Por otra parte, las extremidades inferiores poseen estructuras bien definidas; el calcáneo ya es evidente y los dedos de las patas tienen uñas claramente formadas (Figura 6).

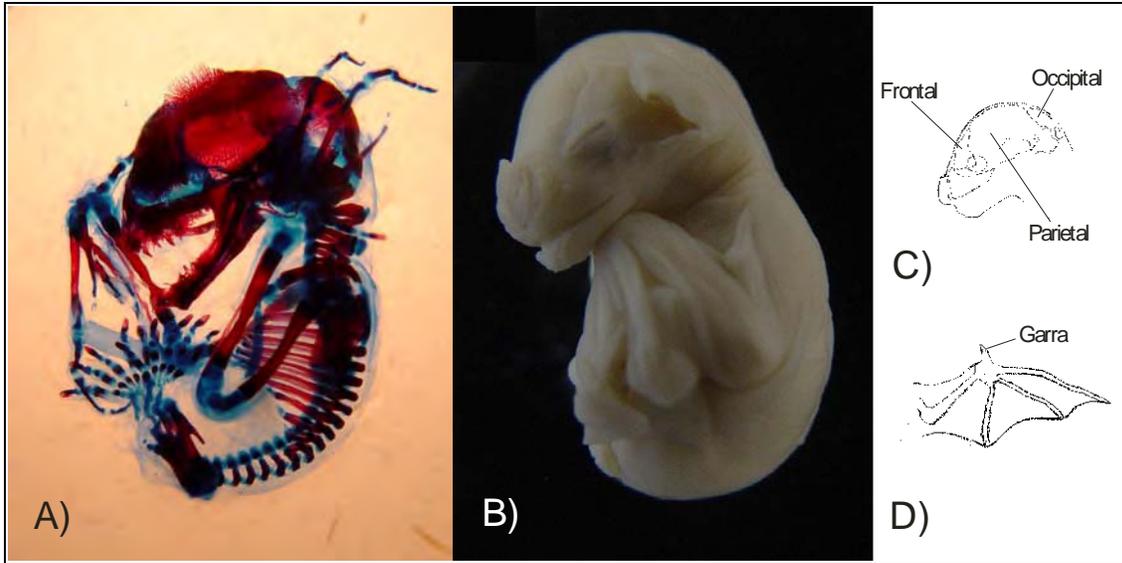


Figura 6. Estadio cuatro. A) Murciélago transparentado en posición fetal. B) Morfología externa, C) Cráneo transparentado en donde se observa la diferenciación de las placas craneales. D) Membrana alar mostrando el crecimiento de falanges, principalmente del tercer dedo. RDO 1192. México: Colima, 5.5Km SE Palmillas.

Estadio 5

Se analizaron 20 fetos: LT, 29 (27 - 31); LC, 10.5 (8.5-12.5); AB, 10.7 (7.5 – 13.9); peso, 4.2 (3.8 – 4.7).

En la región cefálica se puede apreciar por transparentación que el cráneo cuenta con una placa frontal, dos parietales, dos temporales y un occipital bien diferenciados cuyas suturas craneales son de consistencia cartilaginosa. El rostro cuenta con rasgos faciales bien definidos, las orejas son grandes y flácidas; en el hocico ya se puede apreciar la dentición decidua que consta de I 2/2, C1/1, PM 2/1 X2.

La región torácica carece de pelo. Internamente se aprecia el esternón de consistencia cartilaginosa. Dorsalmente, en la columna vertebral está claramente diferenciada en vértebras cervicales, torácicas, lumbares y sacras. Las extremidades superiores tienen un par de escápulas sólidas, y los pulgares ya presenta uña; mientras que las falanges del tercer dedo crecen rápidamente pero aún sin ser sólidas, la segunda falange es cerca de 2 a 2 1/2 veces más larga que la primera. En las extremidades inferiores, el calcáneo continúa su desarrollo y mantiene una estructura con base en cartílago. Las tibias, fíbulas, tarsos y metatarsos presentan un centro de osificación en la parte media (diáfisis) (Figura 7).

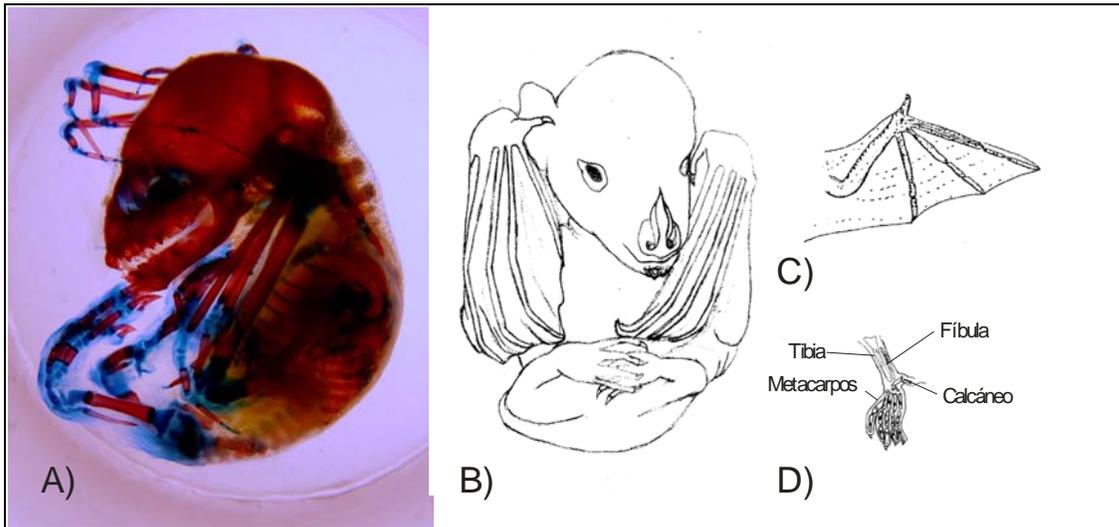


Figura 7. Estadio cinco. A) Murciélago transparentado en posición fetal. B) Morfología externa. C) Desarrollo de la garra del pulgar completo. D) Calcáneo en desarrollo. RDO 1206. México: Colima, 5.5Km SE, 1Km SE Palmillas.

Estadio 6

Se analizaron nueve fetos: LT, 33.1 (32 - 35); LC, 14 (12-16); AB, 14.8 (11.4 – 17.7); peso, 5.2 (4.7 – 5.8).

En la región cefálica, los ojos están abiertos y presentan pigmentación en la pupila; en el hocico, la hoja nasal mide alrededor de 10 mm desde su base y las encías tienen un aspecto abultado debido a la dentición decidua que permanece oculta. En las extremidades superiores el desarrollo de los dedos es evidente debido a que las falanges presentan puntos de osificación hacia los extremos (epífisis). Las extremidades inferiores pueden medir cerca de 11 mm y el crecimiento de los metatarsos es notable (Figura 8).

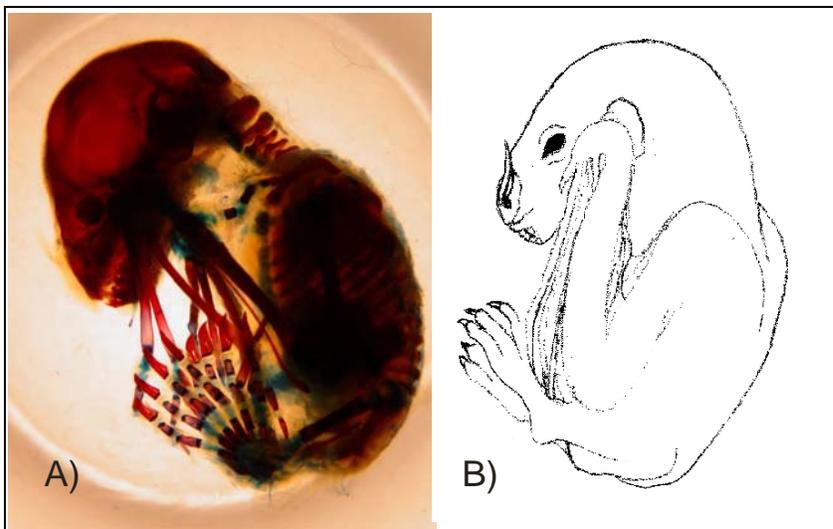


Figura 8. Estadio seis. A) Murciélago transparentado en posición fetal. B) Morfología externa. MLRA 3640. México: Colima, 1Km NE Palmillas.

Estadio 7

Se analizaron cuatro fetos: LT, 39 (37 - 40); LC, 17.1 (16.9 -17.3); AB, 17.1 (14.9 – 20.6); peso, 5.9 (4.4 – 6.7).

En la región cefálica las suturas craneales tienen solidificación parcial; el hocico presentó en la mayoría de los casos dentición decidua que sobresale de las encías. Se pudieron observar algunos especímenes con rasgos faciales bien definidos, pero con escaso desarrollo en otras regiones del cuerpo. Asimismo, se pudo apreciar pelo escaso en la región del rostro de algunos individuos.

Las extremidades superiores tienen falanges cartilaginosas y presentan centros de osificación accesorios en la parte media y hacia las zonas distales. Las falanges son largas, anchas y flexibles. Las extremidades inferiores, las tibias y las fibulas presentan dos centros de osificación, uno en la parte media y el segundo hacia las zonas distales; el calcáneo es conspicuo; las patas son grandes y firmes y tiene tarsos y metatarsos bien definidos (Figura 9).

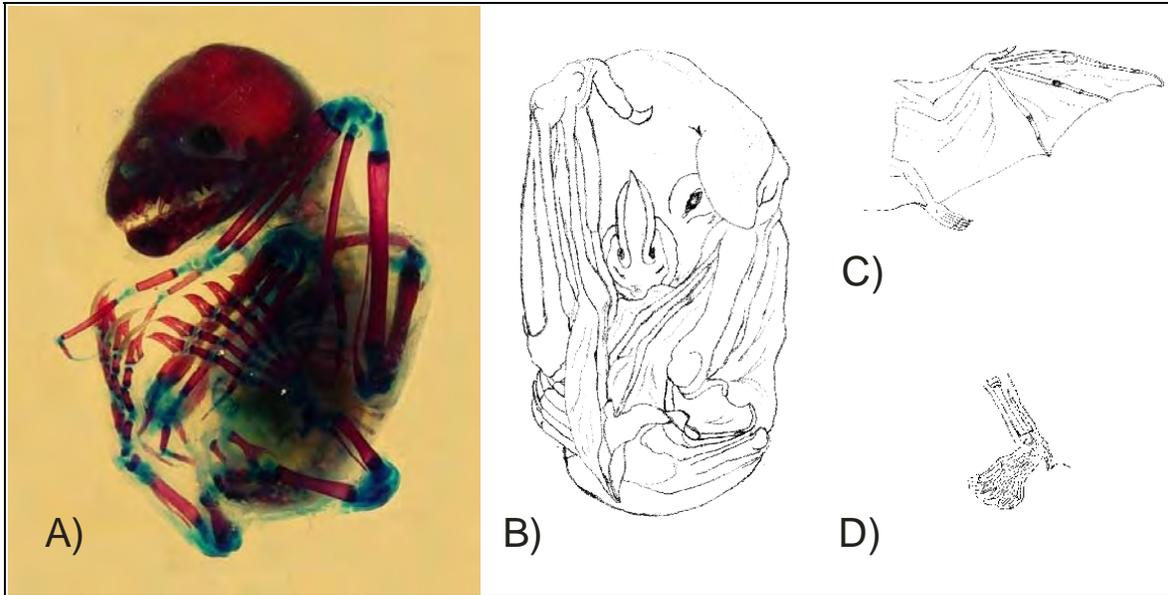


Figura 9. Estadio siete. A) Feto transparentado. B) Morfología externa, se puede observar la hoja nasal y los párpados de los ojos bien formados. En esta etapa, el feto cuenta con dientes deciduos que sobresalen del margen de la encía. C) Membrana alar con crecimiento avanzado de la tercera falange. D) Pata con diferenciación de tibia, fíbula, metacarpos completa. GDS 2959. México: Colima, 2.5Km W San José de Lumbert.

Regresiones lineales

Después de los análisis de regresión lineal se pudo apreciar que la recta que describió mejor el patrón del desarrollo embrionario fue la resultante de la función: Log. de la longitud total del espécimen – Log. de la longitud del antebrazo, la cual está descrita por la formula de la recta: $Y = 1.014 + (0.410)X$, $r = 0.920$; $F = 336.036$; $P < 0.001$ (Figura 10 C).

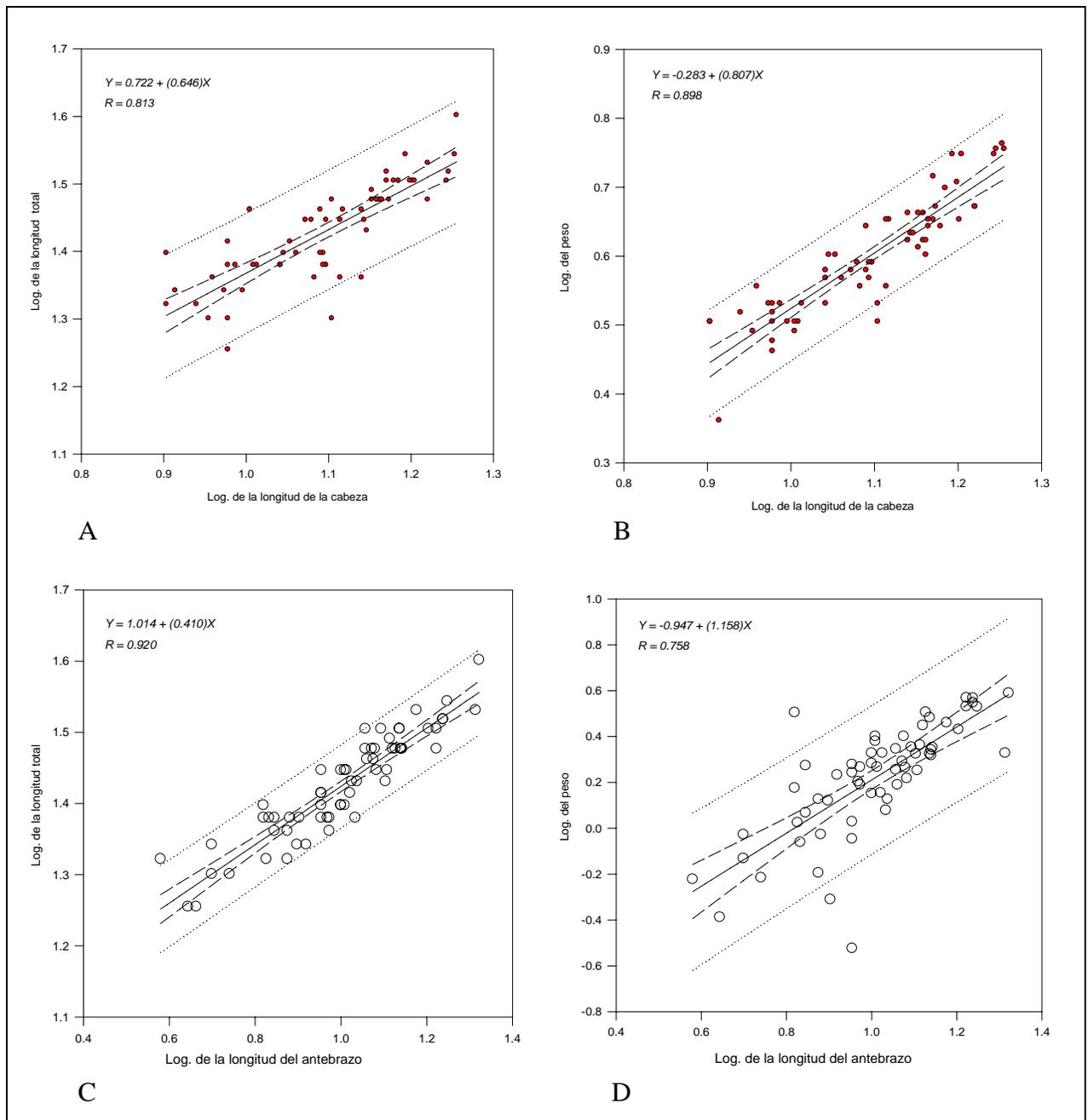


Figura 10. Pruebas de regresión lineal considerando medidas somáticas y el peso de los embriones y fetos del estado de Colima.

4.5 DISCUSIÓN

Los embriones y fetos recolectados en el invierno del 2001, presentaron una marcada variabilidad en cuanto a tamaño, pudiéndose registrar en un periodo de sólo diez días (2-12 de enero del 2001), un embrión de 2.8 mm de longitud (SBGP 74) hasta un feto de 40 mm (RDO 1207), habiendo una diferencia de 37.2 mm entre ambos organismos (Figura 3). Lo anterior concuerda con los resultados de Sánchez *et al.*, (1990), quienes señalan que es posible encontrar hembras preñadas con embriones a diferentes estados de desarrollo embrionario en los primeros meses del año (en mismo periodo reproductor) en los bosques tropicales caducifolios de la costa del sur occidente de nuestro país. Esto explica la presencia de hembras con embriones y fetos de diferentes edades y grados de desarrollo, confirmando así el carácter asincrónico del patrón reproductor de *A. jamaicensis* en el estado de Colima, lo cual confirma la hipótesis plateada en este capítulo y difiere con lo registrado por Fleming (1971) para las poblaciones de Panamá, en donde el desarrollo embrionario del murciélago zapotero es suspendido durante los meses de noviembre a marzo en la fase de blastocisto.

Los caracteres morfológicos externos fueron los primeros criterios para establecer el estado de desarrollo de los especímenes; sin embargo, se observó que en *A. jamaicensis* puede existir un desarrollo desigual en las estructuras del cuerpo; por lo que dos especímenes de la misma edad pueden compartir los mismos rasgos faciales, pero presentar diferente grado de desarrollo en otras regiones del cuerpo. Esta asincronía en el desarrollo corporal también se ha

señalado para *Miniopterus schreibersi* (Van der Merwe, 1981) y *Myotis lucifugus* (Adams, 1992).

De acuerdo con lo observado en los diferentes estados de desarrollo prenatal, la osificación del esqueleto de *A. jamaicensis* salvo algunas excepciones, es típica del resto de mamíferos, en donde los huesos largos y los que tienen proyecciones importantes para la fijación de músculos como las escápulas, presentaron centros de osificación accesorios (epífisis), los cuales proporcionan fortaleza a la región articular del hueso mucho antes de que haya terminado el desarrollo de la diáfisis (Romer, 1981). Asimismo, en el desarrollo de los huesos, en particular entre las epífisis y las diáfisis persistió una banda o disco cartilaginoso, que se distinguió como la zona de crecimiento, siendo sustituido por material óseo procedente de la epífisis.

El grado de desarrollo y diferenciación de la región cefálica fue similar al señalado por Adams (1992) para *Myotis lucifugus*; de esta manera, la formación y diferenciación de las placas craneales frontales, coronales y sagitales inician a edades tempranas por depositación de material óseo de la zona central hacia la periferia.

La presencia temprana de los dientes deciduos (estadio tres) derivó a una dentición completamente desarrollada hacia el último estadio (siete), donde las piezas dentales ya sobresalían del margen de las encías y se presentaban en forma de gancho al igual que como sucede en *Miniopterus schreibersi* (Van der Merwe, 1981).

Debido a que en las extremidades superiores se pudo observar un desarrollo asincrónico entre las clavículas, escápulas y antebrazos, así como el avanzado grado de mineralización del material óseo en estas estructuras, se puede señalar que el patrón de osificación observado en *A. jamaicensis* difiere del patrón de desarrollo óseo reportados para algunos mamíferos terrestres como roedores (Fritz y Hess, 1970), lagomorfos (Fritz, 1975) y carnívoros (Evans, 1974) en donde el proceso de osificación de las estructuras mencionadas se da al mismo tiempo. Por lo anterior, es probable que los patrones de osificación en las extremidades superiores de este murciélago estén asociados a la mecánica de vuelo. Asimismo, las falanges de las alas fueron de consistencia cartilaginosa aún en el estadio de desarrollo más avanzado, lo cual sugiere que la osificación sólo es alcanzada durante el periodo postnatal al igual que como sucede en *Myotis lucifigus* (Adams, 1992).

En las extremidades inferiores el grado de depositación del material óseo fue avanzado y los metacarpos y metatarsos presentaron un patrón asincrónico a diferencia del patrón observado en ratones (Fritz y Hess, 1970), lagomorfos (Fritz, 1975) y carnívoros (Evans, 1974), en donde este proceso se da en forma

sincronizada. Asimismo, el avanzado desarrollo de las patas podría responder a la imperante necesidad de los neonatos por contar con extremidades lo suficientemente firmes al momento de nacer para poder perchar por sí solos a las pocas horas de haber nacido, tal como lo refiere Bhatnagar (1978).

Debido a que el conocimiento sobre los patrones de crecimiento embrionario en Chiroptera es aún escaso, existen limitaciones en la definición de curvas de crecimientos adecuadas para describir el desarrollo prenatal. De acuerdo con Van der Merwe (1981), la obtención de curvas de crecimiento a partir de diferentes parámetros pueden resultar útiles en el estudio del desarrollo y crecimiento embrionario y fetal; por lo que las rectas estimadas a partir de las pruebas de regresión lineal realizadas sobre tres parámetros somáticos y el peso de los fetos de *A. jamaicensis* revelaron que la relación entre las variables: Logaritmo de la longitud del antebrazo - Logaritmo de la longitud total, fue la función con mayor confiabilidad en la estimación del desarrollo prenatal, debido a que sus valores fueron muy cercanos a los de la recta de ajuste (Figura 10C).

4.6 CONCLUSIONES

Las crías del murciélago zapotero tienen un desarrollo asincrónico, por lo que se pueden encontrar organismos poco desarrollados y organismos en avanzado estado de desarrollo en un mismo periodo reproductor.

El patrón de osificación del esqueleto de *A. jamaicensis* es secuencial, iniciando de la región cefálica hacia las extremidades inferiores. En algunas estructuras como las escápulas, clavículas y antebrazos, el patrón de osificación difiere del señalado para roedores, lagomorfos y carnívoros.

Por otra parte, no se descarta la existencia de al menos tres estados de desarrollo más entre los estadios dos y tres citados en este estudio, debido a los evidentes cambios morfológicos encontrados entre ambos estadios. De igual manera, es probable que existan dos o más estados de desarrollo posteriores al último estadio propuesto, en donde el feto es provisto de pelo alrededor del cuerpo.

Finalmente, es necesario abundar en la elaboración de este tipo de estudios sobre diferentes especies de murciélagos con la finalidad dar a conocer el tipo de patrones de desarrollo prenatal en especies de murciélagos tropicales.

4.7 LITERATURA CITADA

- Adams, R. A. 1992. Stages development and sequence of bone formation in the little brown bat, *Myotis lucifugus*. *Journal of Mammalogy*, 73:160-167.
- Allen, H. M. D. 1895. On the embryos of bats. *Contributions from the Zoological laboratory of the University of Pennsylvania*, 1:1-49.
- Bhatnagar, K. P. 1978. Head presentation in *Artibeus jamaicensis* with some notes on parturition. *Mammalia*, 42:359-363.
- Bleier, W. J. 1979. Embryology. Pp. 379-386. *In: Biology of bats of the new world family Phyllostomidae, Part III.* (Baker, R. J., J. K. Jones, Jr. y D. C. Carter, eds.). *Special Publications of the Museum, Texas Tech University*, 16:1-441p.
- Cannatella, D. 2000. Clearing and staining protocol. *Journal of Stain Techniques*, 1-4p.
- Evans, H. E. 1974. Prenatal development in the dog. Pp. 18-28. *In: Papers presented at the twenty-fourth Gaines veterinary symposium.* Published by Gaines Dog Research Center, White Plains, New York, 130p.
- Fleming, T. H. 1971. *Artibeus jamaicensis*: Delayed embryonic development in a neotropical bat. *Science*, 171:402-404.
- Fritz, H. 1975. Prenatal ossification in rabbits as indicative of fetal maturity. *Teratology*, 11:313-320.
- Fritz, H., y R. Hess. 1970. Ossification on the rat and mouse skeleton in the perinatal period. *Teratology*, 3:331-338.

- García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 4ª edición. Offset Larios. México, D. F. 217 p.
- Hamlett, G. W. D. 1935. Notes on the embryology of a phyllostomid bat. *American Journal of Anatomy*, 56: 327-353.
- Jones, T. S. 1945. Parturition in a west Indian fruit bat (Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy*, 27:327-330
- Keast, L., y C. O. Handley. 1991. Reproduction on a captive colony. Pp. 19-42. *In: Demography & Natural History of the Common Fruit Bat, *Artibeus jamaicensis* in Barro Colorado island, Panama.* Smithsonian Institution Press. Washington, D. C. 173p.
- McManus, J. J., y D. W. Nellis. 1972. Ontogeny of wing loading in the Jamaican fruit-eating bat, *Artibeus jamaicensis*. *Journal of Mammalogy*, 53:866-868.
- Novick, A. 1960. Successful breeding in captive *Artibeus*. *Journal of Mammalogy*, 41:508-509.
- Orr, R. T. 1970. Development: Prenatal and postnatal. Pp. 217-231. *In: Biology of bats.* Vol. 1. (Wimsatt, W. A., ed.). Academic Press, New York.
- Rolleston, G. 1866. On the placental structures of the Tenrec (*Centetes ecaudatus*), and those of certain other Mammalia, etc. *Transactions of the Royal Society*, 5:285-316.
- Romer, A. S. 1982. Anatomía comparada. 3ª edición. Ed. Nueva Editorial Interamericana. México, D. F. 428 p.
- Sánchez, H. C., C. B. Chávez-Tapia y A. Rojas-Martínez. 1990. Patrón reproductivo de *Artibeus jamaicensis triomylus* (Chiroptera: Phyllostomidae)

en la costa sur occidental de México. *Revistas de Zoología, ENEPI UNAM, México*, 2:14-24.

Van der Marwe, M. 1981. Foetal growth curves and seasonal breeding in the natal clinging bat *Miniopterus schreibersi natalensis*. *Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Dierkunde*, 14:17-21.

Wislocki, G. B., y D. W. Fawcett. 1941. The placentation of the Jamaican bat (*Artibeus jamaicensis parvipes*). *Anatomical Record*, 81:307-317.

Apéndice I. Papanicolaou modificado (Drury y Wallington, 1980)

- 1) Lavados vaginales con suero fisiológico
- 2) Fijar la muestra en el frotis con alcohol al 96°
- 3) Lavar en agua de la llave corriente por 2 min.
- 4) Dejar en hematoxilina nueva de 5 a 7 min.
- 5) Lavar 2 minutos con agua de la llave
- 6) Realizar dos baños rápidos en baños amoniacal
- 7) Realizar cinco baños en alcohol 96°
- 8) Dejar en OG-6 de 7 a 10 min.
- 9) Realizar cinco baños en alcohol del 96°
- 10) Dejar en EA-50 de 7 a 10 min.
- 11) Realizar cinco baños rápidos en alcohol del 96° por tres veces
- 12) Realizar cinco baños rápidos en alcohol absoluto por tres veces
- 13) Realizar cinco baños rápidos en OA/Xilol
- 14) Dejar 5 minutos en Xilol por dos veces
- 15) Montar con resina

Apéndice II. Tinción diferencial de material óseo y transparentación de tejidos de embriones.

La técnica descrita a continuación constituye una modificación de la metodología citada por Canatella, 2000, para lograr una adecuada transparentación de material biológico delicado. Es importante considerar que esta técnica sólo es útil para embriones cuyo desarrollo óseo ha comenzado; la omisión a esta recomendación podría ocasionar la pérdida irreparable del material biológico. Por último, a diferencia del procedimiento citado para especímenes adultos, en el caso de los embriones no es necesario desviscerar a los organismos.

- 1) El espécimen a tratar debe de estar fijado en formol al 10% o en alcohol al 70%.
- 2) Introducir al espécimen en un mezcla de 10mg de azul de alciano 8GN, 80ml de alcohol etílico y 20ml de ácido acético glacial por un periodo de 24hrs; es importante considerar que para embriones pequeños el tiempo de exposición a esta solución puede verse reducida hasta en 12hrs.
- 3) Transferir a través de una serie de baños en etanol a concentraciones de 95%, 70%, 40% y 15% por un mínimo de tres horas de exposición.
- 4) Transferir a agua destilada por tres horas.
- 5) Incluir el espécimen en una solución enzimática constituida de 30ml de borato de sodio, 70ml de agua destilada y 1g de tripsina. Ésta deberá prepararse al momento de su utilización para evitar la desnaturalización de la enzima. Es importante mantener una estricta vigilancia del material expuesto, debido a que su sobrexposición puede ocasionar una pérdida irreparable; por esto, se recomienda realizar este paso en una sola sesión. La exposición para lograr una adecuada transparentación dependerá del tamaño del embrión, el cual deberá ser retirado una vez que los huesos y cartílagos del esqueleto sean claramente visibles.
- 6) Una vez removido el material de la solución enzimática, deberá ser lavado con agua destilada y transferirlo a una solución de 0.5% de KHO, a la cual

se le habrá de agregar la cantidad suficiente de rojo de Alizarina para que la solución tome una tonalidad púrpura. Debido a que el KHO representa un agente agresivo para los tejidos, el material expuesto es susceptible a su sufrir algunos daños si no se tiene una vigilancia adecuada.

- 7) Posteriormente, transferir el material a una solución de 0.5% KOH y glicerina. Esto deberá ser a través de una serie de baños de dicha solución a diferentes concentraciones: $\frac{3}{4}$ KOH - $\frac{1}{4}$ glicerina; $\frac{1}{2}$ KOH - $\frac{1}{2}$ glicerina; $\frac{1}{4}$ KOH - $\frac{3}{4}$ glicerina y finalmente a glicerina pura. Si algún espécimen presenta pigmentación excesiva se puede aclarar adicionando 3 ó 4 gotas de H_2O_2 en los primeros dos baños. El material deberá exponerse a cada solución a intervalos de seis horas.
- 8) Finalmente, el material se deberá conservarse en glicerina pura y almacenarse dentro de viales de vidrio o plástico. Se recomienda agregar un poco de cristales de timol para inhibir el crecimiento de hongos o bacterias.