

**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Artibeus lituratus* y *Artibeus jamaicensis*  
(PHYLLOSTOMIDAE: STENODERMATINAE) EN UN ÁREA URBANA DE  
SANTANDER, COLOMBIA.**

**YEIMY CASTILLO-NAVARRO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA  
BUCARAMANGA**

**2016**

**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Artibeus lituratus* y *Artibeus jamaicensis*  
(PHYLLOSTOMIDAE: STENODERMATINAE) EN UN ÁREA URBANA DE  
SANTANDER, COLOMBIA.**

**YEIMY CASTILLO-NAVARRO**

**Proyecto de grado para optar al título de Biólogo**

**Director:**

**MARTHA PATRICIA RAMÍREZ PINILLA**

**Doctora en Ciencias Biológicas con Orientación en Zoología**

**Codirector**

**VÍCTOR HUGO SERRANO-CARDOZO**

**Doctor en Ciencias de la Biología**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**BUCARAMANGA**

**2016**

## **AGRADECIMIENTOS**

A las personas que apoyaron la fase de campo: Oscar Fajardo, Andrés Quiñones, Yenny A. Castillo. A Vladimir Rojas-Díaz, Ambrosio Torres, Nicolás A. Reyes por las observaciones a versiones previas del manuscrito y por el apoyo. A Idea Wild por la beca otorgada al presente estudio. Al Grupo de Estudios en Biodiversidad en particular y en general a la Universidad Industrial de Santander por financiar parte de la investigación. Un especial agradecimiento al grupo Teblami de la Universidad del Valle y a Ana María Soria por el asesoramiento en la identificación de las muestras citológicas, además del apoyo prestado. A la Fundación Wii por toda la ayuda. Esta investigación fue realizada como requerimiento parcial para la obtención de grado del primer autor.

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCIÓN	10
1. MATERIALES Y MÉTODOS	12
1.1 LOCALIDAD DE ESTUDIO	12
1.2 COLECCIÓN DE DATOS MORFOLÓGICOS	12
1.3 ANÁLISIS DE DATOS	15
2. RESULTADOS	17
2.1 ANÁLISIS MORFOLÓGICO	17
3. DISCUSIÓN	22
4. CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFIA	30
ANEXOS	42

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
ANEXO A. TABLAS	42
ANEXO B. FIGURAS	43

## RESUMEN

**TITULO:** BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Artibeus lituratus* y *Artibeus jamaicensis* (PHYLLOSTOMIDAE: STENODERMATINAE) EN UN ÁREA URBANA DE SANTANDER, COLOMBIA.\*

**AUTORES:** YEIMY CASTILLO-NAVARRO\*\*

**PALABRAS CLAVE.** Citologías vaginales. Estro. Murciélagos. Poliestría. Reproducción.

Se investiga la actividad reproductiva anual de las hembras de los murciélagos *Artibeus lituratus* y *A. jamaicensis* que habitan un área urbana, y si esta actividad está relacionada con la estacionalidad climática y con la disponibilidad de recursos dietarios. De enero a diciembre de 2012 se capturaron mensualmente un total de 366 individuos, se evaluó la actividad reproductiva de cada hembra por medio de observación y registro de caracteres morfológicos externos y por la caracterización de las fases del ciclo estral mediante análisis de frotis vaginales. Se reporta por primera vez el patrón de poliestría bimodal para *A. jamaicensis*, y se confirma la fenología bimodal para *A. lituratus* sobre la Cordillera Oriental de los Andes colombianos. El uso de las citologías derivadas de los frotis vaginales optimizó la evaluación de la condición reproductiva, reconociendo receptividad sexual (estro, proestro ó cópula) en hembras catalogadas como inactivas dadas sus características morfológicas externas. No se observó sincronía intraespecífica en la actividad reproductiva; en un mismo muestreo se pueden encontrar hembras en diferente condición reproductiva. Se observó que *A. lituratus* y *A. jamaicensis* coinciden en los periodos de gestación y parto en la segunda temporada seca e inicio de la primera temporada húmeda del año, al final de la cual ocurrió el pico de fructificación e inicia el segundo evento reproductivo del año. Aunque la variación en la precipitación en el área de estudio afecta la estacionalidad en la disponibilidad de recursos alimenticios, las especies estudiadas parecen tener ajustados sus tiempos de gestación y lactancia con los meses energéticamente más favorables del año.

---

\* Proyecto De Grado

\*\* Facultad de Ciencias, Escuela de Biología. Director Martha Patricia Ramírez Pinilla Codirector Víctor Hugo Serrano-Cardozo

## ABSTRACT

**TITLE:** REPRODUCTIVE BIOLOGY GREAT FRUIT-EATING BAT AND JAMAICAN FRUIT BAT (*Phyllostomidae: Stenodermatinae*) IN AN URBAN AREA OF SANTANDER, COLOMBIA.\*

**AUTHORS:** YEIMY CASTILLO-NAVARRO  
MARTHA P. RAMÍREZ-PINILLA  
VÍCTOR H. SERRANO-CARDOZO\*\*

**KEY WORDS** Bats. Estrus. Poliestrous. Reproduction. Vaginal smears.

The annual reproductive activity of female bats *Artibeus lituratus* and *A. jamaicensis* inhabiting an urban area is investigated, and if this activity is related to the seasonality of the climate and the availability of dietary resources. From January to December 2012 366 individuals were captured. The reproductive activity of each female was evaluated through observation and register of external morphological characters and the characterization of the phases of the estrous cycle by analysis of vaginal smears. Here, we report for the first time the polyestrous bimodal pattern of *A. jamaicensis*, and confirm the bimodal phenology for *A. lituratus* on the Cordillera Oriental of the Colombian Andes. By using the cytologies derived from vaginal smears we optimized the evaluation of the reproductive condition, recognizing sexual receptivity (oestrus, proestrus or copula) in females considered as reproductively inactive from their external morphology. Intraspecific asynchrony in reproductive activity was found; females in different reproductive condition in the same sample can be found. *A. lituratus* and *A. jamaicensis* coincide in gestation and birth periods in the second dry season and the start of the first wet season of the year, at the end of which occurs the peak fruiting and starts the second reproductive event of the year. Although the variation in precipitation in the study area affects the seasonal availability of food resources, the species studied seem to have adjusted their times of gestation and lactation with the energetically most favorable months of the year.

---

\* Project of grade

\*\* Faculty Sciences. School Biology Director: Martha Patricia Ramírez Pinilla Codirector Víctor Hugo Serrano-Cardozo

## INTRODUCCIÓN

Los murciélagos frugívoros exhiben considerable diversidad en sus características reproductivas (Crichton y Krutzsch, 2000) que junto con su fácil recolección hacen posible conducir investigaciones comparativas. El desarrollo de investigaciones en biología reproductiva es fundamental para comprender los eventos reproductivos propios de la especie, así como las estrategias usadas por estos animales para sobrevivir en entornos con perturbaciones naturales y antropogénicas (Filho et al., 2007). El conocimiento actual de la biología reproductiva en murciélagos es fragmentario, limitándose a algunas especies de zonas templadas (p. ej. Kleiman y Racey, 1969; Racey, 1974; Kitchener, 1976; Krishna y Dominic, 1982; Van der Merwe et al., 1986; Racey et al., 1987; Jolly, 1988; Cotterill y Fergusson, 1993; Mendonca y Hopkins, 1997; Heideman y Utzurrum, 2003; Bumrungsri y Bumrungsri, 2006; Grange et al., 2011) y pocas especies tropicales (Osma y Turriago, 1988a,b; Heideman et al., 1992; Galindo et al., 2000; Estrada y Coates-Estrada 2001; Esbérard, 2002; Tschapka, 2005; Filho et al., 2007; Pakrasi y Tiwari, 2007).

El murciélago frutero grande (*Artibeus lituratus*) y el murciélago jamaicano (*Artibeus jamaicensis*) son dos de las especies frugívoras más abundantes en el Neotrópico (Sosa y Ramoni-Perazzi, 1995) y para Colombia, dominando en mayor proporción el ensamble urbano (Muñoz, 2001). La biología reproductiva de éstas especies se ha estudiado en diferentes países (e.g., Costa Rica: Dinerstein, 1986; Stoner, 2001; Brasil: Willig, 1985; Filho et al., 2007; Duarte y Talamoni, 2010; Venezuela: August y Baker, 1982; Sosa y Ramoni-Perazzi, 1995; Perú: Mena y Williams, 2002), en Colombia se conocen tres estudios publicados por Tamsitt y Valvidieso (1963, 1965a y 1965b). De acuerdo con estos trabajos, en Centroamérica las dos especies presentan estacionalidad en la reproducción

(Fleming et al., 1972; August y Baker, 1982). Las crías son destetadas durante la estación húmeda, aprovechando el incremento estacional en la abundancia de los recursos de alimentos (Fleming et al., 1972).

Las especies evaluadas son grandes, de cuerpo robusto y hombros anchos (*A. lituratus* es un poco más grande que *A. jamaicensis*) (Muñoz, 2001). Igual que otras especies frugívoras, juegan un papel crucial en la dinámica de los bosques, dispersando semillas y promoviendo la regeneración, lo que contribuye al mantenimiento de la diversidad florística y faunística (Emmons y Feer, 1990). Son especies generalistas en la consecución de recursos y algunos autores las consideran sinantrópicas (Bredt y Uieda, 1996).

Esta investigación pretende establecer la actividad reproductiva anual de las hembras de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* que son especies cohabitantes en el área urbana de Bucaramanga, y determinar si existe sincronía interespecífica en relación con la estacionalidad climática del área de estudio y la disponibilidad de frutos de su dieta.

## 1. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1.1 LOCALIDAD DE ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en el campus central de la Universidad Industrial de Santander (UIS) (N 7°08'29.15", O 73°07'06.60"), ubicado en el nororiente de la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia; comprende zonas arborizadas y edificaciones que cubren un área de 337 000 m<sup>2</sup>. La localidad de estudio presenta una precipitación promedio anual de 1279 mm, con dos periodos marcados de lluvias, uno de marzo a mayo y otro de octubre a noviembre; la temperatura promedio anual es 24 °C (IDEAM, 2015). El campus se encuentra conectado al centro de la ciudad a través de una extensiva red de calles y parques urbanos arborizados. La vegetación del campus cuenta con árboles que ofrecen recurso alimenticio a los murciélagos como *Mangifera indica* y *Terminalia catappa*, entre otros (García et al., 2015).

### 1.2 COLECCIÓN DE DATOS MORFOLÓGICOS

Se siguieron las directrices para el uso de especies silvestres de la Sociedad Americana de Mastozoología (Sikes et al., 2011). La reproducción de murciélagos se estudió mensualmente durante un año, de enero a diciembre de 2012; se instaló un promedio de 5 redes de niebla (12 x 2.6 m) en diferentes espacios del campus, aprovechando los sitios de percha. Las redes se abrieron durante 5 h aproximadamente y se revisaron cada 30 min, así se alcanzó un esfuerzo de muestreo total de 51 480 m<sup>2</sup>. h (sensu Straube y Bianconi 2002).

De cada una de las hembras capturadas se registró el estado de desarrollo, condición reproductiva y medidas morfológicas (longitud del antebrazo, longitud total) tomadas con un calibrador ( $\pm 0.001$  mm). Con el fin de reconocer recapturas dentro del mismo mes se realizó una perforación con un número consecutivo sobre el plagiopatagio del lado derecho. El estado de desarrollo se estableció por la osificación en las epífisis de las falanges (individuo juvenil: epífisis cartilaginosas, individuo adulto: osificación de las falanges completa) (Stoner, 2001). Para la determinación de las especies de murciélagos se siguió a Gardner (2007). Algunos individuos fueron colectados y depositados en la colección de referencia de mastozoología de la Universidad Industrial de Santander (el permiso de colecta de los ejemplares fue emitido por Corporación Autónoma Regional Para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga CDMB, en la resolución 000839 del 2015).

La evaluación del estado reproductivo se limitó a los individuos adultos; tampoco se tuvo en cuenta los machos ya que aunque la posición de los testículos escrotal o abdominal ha sido utilizada como indicativa de actividad reproductiva (Menezes da Silva, 2007), ésta se altera con la manipulación del animal, conduciendo a una toma de datos errónea. Las hembras se asignaron a una de cuatro categorías. 1) hembras preñadas: se identificaron por palpación en la región ventral, teniendo en cuenta que ésta técnica permite detectar un feto aproximadamente seis semanas antes del parto (Handley et al., 1991). 2) hembras lactantes y 3) post-lactantes, condición del pezón; lactancia: evidencia de leche y pérdida de pelo circundante, post-lactancia: ausencia de leche y pelo más oscuro rodeando el pezón. Las hembras que exhibieron alguna de las tres categorías anteriores se consideraron reproductivamente activas, mientras que hembras que carecían de estos rasgos reproductivos (hembras sin embriones evidentes o sin secreción de leche) fueron asignadas a la última categoría 4) hembras no reproductivas o inactivas (Zortea, 2003).

Algunas de las hembras adultas consideradas no reproductivas podrían ser hembras receptivas o en estro, por lo que en términos estrictos, serían también hembras en actividad reproductiva. Para complementar la información macroscópica del estado de actividad reproductiva se realizaron análisis citológicos de frotis vaginales para determinar el estado del ciclo estral en las hembras capturadas. La toma de muestras citológicas se llevó a cabo en el menor tiempo posible, tras la captura. Las hembras con gestaciones muy avanzadas (abdomen notablemente distendido según Handley et al., 1991) se descartaron de este protocolo. Cada individuo se tomó tendido sobre el dorso con los dedos alrededor del cuerpo, limitando el movimiento de la cabeza y las alas (Kunz y Parsons 2009); una vez se ubicó la apertura vaginal, se introdujeron 2  $\mu$ l de suero fisiológico con una micropipeta (Figura 1), pasados unos segundos se aspiró el lavado vaginal y se colocó en una lámina porta-objetos. Para garantizar una buena muestra, se procuró duplicar el lavado. Al secarse la muestra en el porta-objeto a temperatura ambiente, se fijó por inmersión en etanol (96%). La tinción del contenido celular se realizó usando dos métodos: tinción de Papanicolaou (Díaz y Parra, 2009) y baños en Eosina - azul de metileno (Apéndice 1). Con el fin de preservar el contenido celular de las muestras, se colocó resina sintética Entellan® y un cubreobjetos. Para la determinación celular de cada citología, se tomaron 7 micrografías del campo ocular, siguiendo un patrón aleatorio usando un objetivo de 10x, por medio de una cámara montada sobre un microscopio Nikon® ECLIPSE 55i. Las muestras citológicas procesadas se depositaron como colección de referencia en el Laboratorio de Biología Reproductiva de Vertebrados de la Universidad Industrial de Santander.

Adicionalmente se ubicaron y determinaron las plantas con frutas que utilizaban los murciélagos como alimento en el área. Se realizaron registros mensuales del periodo de fructificación para cada especie de árbol. La información sobre la fructificación mensual fue confirmada mediante observaciones directas de los murciélagos estudiados forrajeando alrededor de los árboles frutales; los registros

se hicieron paralelos al trabajo con redes de niebla. Para la determinación de los árboles frutales se usó el catálogo ilustrado Flora UIS (García et al., 2015) y la confirmación de las especies se realizó en Herbario de la Universidad Industrial de Santander.

### **1.3 ANÁLISIS DE DATOS**

La condición reproductiva se graficó usando columnas apiladas en el paquete estadístico R (R Development Core Team 2015). La normalidad de los datos se evaluó con la prueba de Kolmogorov - Smirnov y Lilliefors, encontrándose que no seguían distribución normal; así la relación entre los estados de actividad reproductiva (preñez y lactancia) y la estacionalidad climática (precipitación) se evaluó con una correlación no paramétrica de Spearman, éstos análisis se realizaron con el programa STATISTICA 7 (StatSoft, 2004). Las fenologías reproductivas se graficaron usando ggplot2 en el paquete estadístico R (Wickham, 2009). Se realizaron pruebas Chi cuadrado ( $X^2$ ) en el programa Past Version 3.10 (Hammer et al., 2001), para determinar la existencia de diferencias significativas entre meses por cada categoría (juveniles y hembras reproductivas, preñadas – lactantes).

Para determinar el estado del ciclo estral se realizó conteo celular de cada micrografía tomada con el programa Image J 1.47 (Rasband, 2012) considerando la composición citológica de los frotis vaginales (células parabasales, intermedias, superficiales nucleadas y superficiales anucleadas); se halló el porcentaje celular y se determinó la fase presente a partir de la proporción de células dominantes.

Con los resultados obtenidos para la oferta de frutos, se calculó el porcentaje de especies fructificando, expresada como Índice de fructificación (IF = número de

especies fructificando / número total de especies que fructifican x 100) siguiendo a Autino y Barquez (1993).

## 2. RESULTADOS

### 2.1 ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Se analizaron 366 individuos (hembras adultas y juveniles), 206 de *A. jamaicensis* y 160 de *A. lituratus*. El número de individuos recapturados fue de 13, con 6 recapturas para *A. jamaicensis* (4 adultos y 2 juveniles) y 7 para *A. lituratus* (6 adultos y un juvenil) todos fueron recapturados una sola vez. La proporción de hembras activas registradas por caracteres morfológicos externos (preñadas, lactantes y post-lactantes) en *A. jamaicensis* fue de 59 % y de 72.8 % para *A. lituratus*. Se encontraron hembras activas y aparentemente inactivas a lo largo de del año en las dos especies (Figura 2).

En el caso de *Artibeus jamaicensis*, se registraron hembras preñadas en ambas temporadas climáticas, estación de lluvia y seca; los picos en la gestación (cuando un número significativamente mayor de hembras preñadas fue registrado) se encontraron en abril y diciembre ( $X^2_{0.05, 11}=66$   $p < 0.0001$ ) (abril Obs: 4 Esp: 1.5; diciembre Obs: 10 Esp: 1.5) (Figura 3). Las hembras lactantes se registraron desde enero hasta noviembre, exceptuando abril y octubre; los picos en la lactancia ocurrieron dos meses después de cada pico en la preñez, coincidiendo con la temporada húmeda en marzo y el inicio de la temporada seca en junio ( $X^2_{0.05, 11}= 31.11$   $p= 0.001$ ) (febrero Obs: 6 Esp: 3.3; marzo Obs: 8 Esp: 3.3; junio Obs: 9 Esp 3.3). No se encontró correlación entre el número de hembras gestantes ni hembras lactantes por mes y la precipitación ( $r_s= 0.008$ ,  $n= 12$ ,  $p=0.979$ ;  $r_s= -0.322$ ,  $n= 12$ ,  $p=0.306$ , respectivamente). El encuentro de los juveniles varió significativamente en los meses de muestreo ( $X^2_{0.05, 11}= 76.12$   $p < 0.0001$ ) comenzando a aparecer en febrero y alcanzando la mayor proporción en marzo, junio y julio (Figura 5), coincidiendo con los picos de lactancia. En noviembre y

diciembre no se observaron juveniles, ya que el periodo de lactancia se registró hasta noviembre.

*Artibeus lituratus* por su parte registró los periodos de preñez entre abril a julio y de diciembre a febrero (figura 2), la mayor cantidad de hembras gestantes se registró en diciembre y enero ( $X^2_{0.05, 11} = 21.93$   $p=0.02$ ) (diciembre Obs: 5 Esp: 1.41; enero: Obs: 4 Esp: 1.41) coincidiendo con la temporada seca (Figura 3). La lactancia se observó a lo largo del año, salvo en noviembre y diciembre. Los picos en la lactancia registrados en marzo, abril y junio ( $X^2_{0.05, 11} = 22$   $p= 0.02$ ) (marzo: Obs: 8 Esp: 4 ; abril: Obs: 8 Esp:4 ; junio: Obs: 7 Esp: 4 ) coinciden con la temporada húmeda e inicio de la temporada seca. Se observó una correlación negativa, ( $r_s = - 0.642$ ,  $n = 12$ ,  $p=0.024$ ) entre el número de hembras preñadas y los valores de precipitación mensual. Por el contrario, el número de hembras lactantes no se correlacionó con la precipitación mensual ( $r_s = 0.134$ ,  $n = 12$ ,  $p=0.677$ ). Dos hembras lactantes que llevaban sus crías recién nacidas (Figura 4) se capturaron en febrero; los juveniles de *A. lituratus* empezaron a aparecer entre marzo y octubre, con la mayor cantidad de juveniles en marzo, septiembre y octubre ( $X^2_{0.05, 11} = 40.97$   $p < 0.0001$ ) (Figura 5).

La actividad reproductiva observada a partir de caracteres macroscópicos fue similar en las dos especies, coincidiendo cercanamente en los periodos de gestación y parto; se aprecia una ligera ventaja en el tiempo por parte de *A. jamaicensis*. No obstante, a nivel intraespecífico no se observa sincronía reproductiva en ninguna de las dos especies ya que las hembras de un mismo mes pueden estar en diferentes estados reproductivos (Figura 2).

Se procesaron 218 muestras citológicas (107 individuos de *A. lituratus* y 111 de *A. jamaicensis*). A partir de las muestras analizadas se lograron identificar 4 fases del ciclo estral (Figura 7). En algunos frotis (50 micro preparados) no se logró establecer la fase experimentada por la hembra ya que la cantidad de células fue

insuficiente (< 100). El análisis citológico permitió determinar tres tipos celulares del epitelio vaginal: células superficiales, células intermedias y células parabasales. Las células superficiales fueron las células más grandes de los frotis analizados, con un diámetro promedio de 20  $\mu\text{m}$ . Generalmente se observaron como células planas de bordes irregulares y algunas veces con los bordes plegados producto de la fuerte carga de queratina. El citoplasma es translúcido y el núcleo es pequeño en relación al citoplasma, sus núcleos varían de vesicular a picnótico. Cuando no presentaron núcleo se observaron como escamas y el citoplasma totalmente queratinizado (Figura 8). Las células intermedias fueron de tamaño variable, con un diámetro promedio de 7- 9  $\mu\text{m}$ , se observaron como células ovoides o redondeadas con bordes enteros, bien definidos; el núcleo es más grande que en las superficiales, en relación a su citoplasma, y fija muy bien el colorante por lo que se le observa bien teñido (Figura 8). Las células parabasales fueron las más pequeñas del epitelio, con un diámetro promedio de 6  $\mu\text{m}$ . Se observaron con una forma redondeada u ovalada y un núcleo voluminoso redondeado central, el citoplasma de estas células es muy reducido; en los frotis se encontraron mayormente formando grupos (Figura 8). Además de las células epiteliales en los lavados vaginales se hallaron células espermáticas y leucocitos polimorfonucleares. Los espermatozoides mostraron la estructura característica de cabeza, pieza media y cola, con una longitud total promedio de 23  $\mu\text{m}$ , se encontraron en cantidades variables (Figura 9). Los leucocitos polimorfonucleares alcanzaron un diámetro promedio de 3  $\mu\text{m}$ , siendo las células de menor tamaño observadas en los frotis, con el núcleo ocupando la mayor parte de la célula y un citoplasma muy reducido (Figura 9).

La fase de estro o periodo de receptividad sexual se comprobó por la presencia de células epiteliales superficiales nucleadas y anucleadas en mayor proporción, además de la presencia de leucocitos (Figura 2 y Figura 8). Esta fue la fase más común, encontrándose en más de la mitad de las muestras examinadas y en hembras capturadas durante todos los meses del año (Figura 7). La fase de

metaestro se caracterizó por la presencia de los tres tipos celulares en proporciones similares, incluyendo la presencia de leucocitos (Figura 8), careciendo de predominancia por alguna de las células. En el diestro se observó un incremento considerable en la proporción de células parabasales (Figura 8), sin embargo se contó con la presencia de células intermedias y superficiales en menor proporción; esta fase se encontró muy poco en los frotis vaginales de *A. jamaicensis* y en hembras de *A. lituratus* no se observó (Figura 7). En la fase de proestro las células intermedias predominaron (Figura 8).

Se hallaron espermatozoides en 24 frotis vaginales en hembras de todos los meses estudiados, excepto abril; sin embargo la presencia de espermatozoides no siempre correspondió a la fase del estro ya que la aparición de espermatozoides en las muestras varió de 2 a más de 300 células espermáticas por muestra. Así se consideró como evento de cópula a las citologías con considerable número de células espermáticas ( $\geq 60$  células) (Figura 2). Se hallaron espermatozoides en hembras que aparentemente eran inactivas sexualmente según la morfología externa (5 de *A. lituratus*, 7 de *A. jamaicensis*) y en hembras que se encontraban en época de lactancia (5 de *A. lituratus*, 7 de *A. jamaicensis*), confirmando el estro post-parto en hembras de las dos especies. Las hembras que a partir de la evaluación de caracteres morfológicos externos fueron consideradas como inactivas y que se encontraron en etapa de receptividad (estro - proestro) fueron asignadas a una nueva categoría llamada hembras receptivas (Figura 2). En *A. jamaicensis* se encontraron hembras receptivas a lo largo del año y en *A. lituratus* en la mayoría de los meses de muestreo, exceptuando abril, julio y agosto, indicando una actividad reproductiva continua para ambas especies.

En catorce frotis vaginales se observó la presencia de un moco blancuzco o amarillento de consistencia gelatinosa; al momento de la aspiración, el moco obstruyó ligeramente la toma de la muestra con la micropipeta. La aparición de este moco vaginal estuvo asociada continuamente con la presencia de leucocitos,

y se presentó en hembras de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* que se encontraban en estro.

A través de observaciones directas en el área de estudio, se registró el consumo de nueve especies vegetales, tanto nativas (*Cecropia. peltata*, *Anacardium excelsum*) como exóticas (*Mangifera indica* y *Terminalia catappa*) (Tabla 1). Los frutos de las especies registradas estaban siendo consumidos por *A. lituratus* y *A. jamaicensis* de manera simultánea. Se reportó el consumo de frutos de *Licania tomentosa* (oití); dado que éste fruto es de semilla grande (peso semilla fresca 12,7g), los murciélagos comen sólo parte de la pulpa madura. Esta observación constituye el primer reporte de consumo de esta especie y añade un nuevo elemento a la dieta de estas dos especies de murciélagos en zonas urbanas de Colombia.

La disponibilidad de frutos se registró de febrero a septiembre (Figura 6), observándose la mayor oferta de alimento en la primera temporada húmeda. La mayoría de árboles presentó un periodo de fructificación de dos a tres meses. El pico en la producción de frutos (mayo) antecede al pico de lactancia (junio) de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* en la segunda temporada seca. A finales de diciembre y en enero, cuando la temporada seca es más fuerte, se capturaron individuos llevando abundante polen en el cuerpo; por medio de observaciones directas, se confirmó el aprovechamiento del néctar en las flores de *Ceiba pentandra* por parte de las dos especies de murciélagos.

### 3. DISCUSIÓN

Este estudio mostró el primer reporte de poliestría bimodal para *A. jamaicensis*, y confirmó el patrón de poliestría bimodal para *A. lituratus* para poblaciones de un área urbana sobre la Cordillera Oriental de los Andes colombianos. Dicha fenología bimodal es consistente con la documentada para estas especies en otras zonas, pese a la variación climática y ambiental entre estas áreas geográficas [Venezuela (Sosa y Ramoni- Perazzi, 1995), Panamá, Costa Rica (Fleming et al., 1972; Handley et al., 1991) y Brasil (Ortega y Castro-Arellano, 2001)].

El patrón reproductivo de *A. lituratus* había sido anteriormente estudiado en Colombia por Tamsitt y Valdivieso (1963, 1965a, 1965b) en áreas al sur de nuestro sitio de muestreo (Departamentos de Cundinamarca, Tolima y Meta) que tienen un patrón anual de lluvias similar, con dos estaciones húmedas (febrero a mayo y septiembre a diciembre). Estos autores documentan una reproducción continua con las crías naciendo en cualquier época del año. En el presente estudio hay también una actividad reproductiva continua durante el año, sin embargo los picos en la aparición de hembras gestantes, juveniles y hembras en lactancia ocurren especialmente en algunos meses siguiendo un patrón bimodal no claramente relacionado con el patrón climático. Sólo para *A. lituratus* las hembras preñadas se observan en las dos estaciones de menos lluvias y la correlación con la precipitación es significativamente negativa. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Sosa y Ramoni- Perazzi, (1995), quienes observaron dos partos anuales en una zona árida de los andes Venezolanos con un régimen de precipitación tetraestacional.

La diversidad de los patrones estacionales de lluvia a lo largo de sus rangos de distribución puede causar que sub-poblaciones de la misma especie de murciélagos expresen diferencias en su ciclo reproductivo, de acuerdo con la región geográfica en la que viven (Crichton y Krutzsch, 2000). Por ejemplo, se pueden observar variaciones en los ciclos reproductivos en zonas subtropicales y tropicales. En Brasil Filho y colaboradores (2007) concluyeron que las hembras de *A. lituratus* son poliéstricas con picos reproductivos en la única estación húmeda del año (subtrópico), así mismo en el Estado de Minas Gerais las hembras de *A. lituratus* exhibieron un solo parto al año coincidiendo con el invierno seco (Duarte y Talamoni, 2010).

En el presente estudio las hembras de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* son poliestrales y producen sus crías hacia la mitad de la estación húmeda e inicio de la temporada seca, con dos periodos reproductivos anuales. Sin embargo, no hay una completa sincronía intraespecífica para las dos especies; las hembras se encontraron experimentando diferentes estados reproductivos en un mismo mes y a través del año. Dado que no se cuenta con investigaciones sobre la reproducción de estas especies en zonas intervenidas, el presente trabajo constituye el primer registro de la condición reproductiva para estas especies en áreas urbanas. Este patrón de poliestría bimodal es similar con el documentado en áreas silvestres de Panamá, Costa Rica y Venezuela (Fleming et al., 1972; Handley et al., 1991; Sosa y Ramoni- Perazzi 1995). Sin embargo, las especies estudiadas no presentan un estricto ajuste de su fenología reproductiva al patrón climático del área de estudio. De igual manera, la sincronización en la fenología reproductiva interespecífica de éstas dos y otras 13 especies más fue observada por Durant y colaboradores (2013) en un ensamble de quince especies frugívoras en el noreste de Costa Rica, exhibiendo una fenología bimodal con el primer pico de preñez ocurriendo al final de la estación seca y el segundo en la mitad de la estación húmeda. Por lo tanto, para los murciélagos neotropicales, este patrón

parece ser muy conservativo independientemente del régimen climático propio de cada área estudiada.

El análisis citológico optimizó la evaluación de la condición reproductiva, encontrándose más del 70 % de las hembras que supuestamente eran inactivas por morfología externa en periodos de actividad reproductiva y receptividad sexual (estro, proestro ó cópula), además permitió la identificación de las fases del ciclo estral en las hembras de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* (Figura 7). Los tipos celulares hallados en los frotis vaginales son los comúnmente encontrados en los micro preparados de roedores, cánidos y primates (Post, 1985; Botero et al., 2004; Hubscher et al., 2005; McLean et al., 2012). Aparte de las células propias del epitelio vaginal, se encontraron espermatozoides y leucocitos. La presencia de abundante esperma permitió identificar eventos de cópula observados en 7 meses de muestreo (Figura 2).

La participación celular que definió cada una de las fases estrales de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* difiere a las observadas en *Carollia perspicillata* por Bonilla y Turriago (1988) y en *Diphylla ecaudata* por Elizalde y colaboradores (2008), ya que tanto la distribución de los tipos celulares como la participación de los leucocitos varía. Por ejemplo en la caracterización celular realizada para *C. perspicillata*, el metaestro se definió por la presencia de células naviculares, con bordes plegados y núcleo redondeado, y leucocitos. En *D. ecaudata* el periodo de estro se caracterizó por pocas células superficiales nucleadas y anucleadas. Teniendo en cuenta que las variaciones experimentadas en el epitelio vaginal son producto de la influencia de los niveles hormonales (estrógenos, progesterona) (Krishna y Bhatnagar, 2011), interviniendo así en procesos de queratinización celular (Torres y Vieira, 1998), es de esperar que éstos niveles hormonales varíen entre organismos. Estas variaciones en la contribución celular, que influyen en la determinación de la fase y en la duración del ciclo estral, se han observado en los ciclos estrales de rata (Marcondes et al., 2002; Hubscher et al., 2005), los cuales

han sido ampliamente estudiados (Torres y Vieira, 1998; Marcondes et al., 2002; Hubscher et al., 2005; Goldman et al., 2007; Byers et al., 2012). Así las citologías vaginales pueden resultar útiles en el estudio de otras especies de murciélagos, no obstante deben ser realizadas en cada una de las especies de interés para esclarecer el patrón celular propio de la especie (Jolly, 1988).

Las fases observadas en el presente estudio se aprovecharon para reconocer los periodos de receptividad sexual, cópula e inactividad sexual de las hembras de *A. lituratus* y *A. jamaicensis*. Escasos estudios han intentado implementar la citología como método para evaluar la condición reproductiva de hembras en murciélagos (Jolly, 1988; Racey, 1988; Laska, 1990; Bonilla y Turriago, 1988; Elizalde et al., 2008). *A. lituratus* y *A. jamaicensis* exhibieron diferentes fases a lo largo del año y dentro de cada mes (Figura 2 y Figura 7), de manera similar Bonilla y Turriago (1988) identificaron claramente 4 fases del ciclo estral en hembras de *C. perspicillata* mantenidas en cautiverio. Por otra parte Jolly (1988) logró identificar periodos de estro en una población cavernícola de *Taphozous georgianus* en Australia mediante la diferenciación de células cornificadas y no cornificadas, sin llegar a diferenciar otra fase del ciclo en ésta especie. En la presente investigación se demuestra que las hembras de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* pueden ser receptivas de manera continua a lo largo del año. Elizalde y colaboradores (2008) hallaron sólo 3 hembras de *D. ecaudata* receptivas durante 9 meses de muestreo en una cueva al sur del estado de Tamaulipas en México, sin embargo se debe tener en cuenta que la muestra del estudio es más pequeña y que los meses de muestreo no fueron continuos, lo que podría influenciar en dicho resultado. Las hembras receptivas de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* aparecieron de forma simultánea con hembras lactantes, preñadas y post-lactantes confirmando la asincronía reproductiva intrasexual observada a partir de los caracteres morfológicos externos.

Por otra parte, la elevada cantidad de hembras en estado de estro (40) observada en todos los meses de muestreo (Figura 7), podría indicar que una vez las hembras alcanzan su madurez sexual, la cual es estimada alrededor de los 8 meses de edad (Handley et al., 1991), se encuentran en actividad reproductiva la mayor parte del tiempo. Esta continuidad en la reproducción ha sido también observada en las especies de estudio por medio del análisis en la actividad espermatogénica de los machos (Tamsitt y Valdivieso, 1965a; Tamsitt y Valdivieso, 1965b; Duarte y Talamoni, 2010). Durante el diestro los ovarios se encuentran en inactividad y las hormonas esteroides sexuales se encuentran inactivas (Nelson, 2000); la mínima cantidad de hembras en diestro encontradas en nuestro estudio (Figura 7) confirma la poliestría y la continuidad reproductiva en ambas especies.

Algunos trabajos como los de Laska (1990) lograron determinar la duración del ciclo estral en una colonia cautiva de *C. perspicillata* por medio de frotis vaginales diarios. La duración del ciclo para las dos especies objeto de estudio no se pudo determinar porque no se hizo seguimiento a una misma hembra. No obstante, los datos confirman hallazgos interesantes, por ejemplo, se confirmó el estro posparto en estas dos especies de murciélagos, lo que indicaría que las hembras entran en un nuevo evento reproductivo mientras son lactantes. De forma similar Bonilla y Turriago (1988) hallaron estro post-parto por medio de lavados vaginales, en hembras de *C. perspicillata*. Sin embargo la mayoría de estudios identifican el estro post-parto por medio de caracteres morfológicos, capturando hembras que se encuentran simultáneamente preñadas y lactando, dichas capturas no suelen ser comunes (Tamsitt y Valdivieso, 1963; Duarte y Talamoni, 2010; Godoy et al., 2014). Otros pocos estudios registran el estro post-parto por medio de histología (Krutzschnig y Crichton, 1985; Rasweiler y Bonilla 1992; Rasweiler et al., 2010; Grange et al., 2011).

La aparición del moco vaginal en algunas de las citologías podría estar vinculada a los periodos de ovulación, ya que coincide con estados de estro al momento del lavado vaginal. Estas secreciones se han observado en algunos mamíferos: en *Myoprocta pratti* se ha asociado al periodo de estro (Kleiman, 1970), en *Canis latrans* se ha observado en el proestro y diestro (Carlson y Gese, 2008), e incluso en el murciélago *Rhinolophus ferrumequinum*, se sugiere que dichas secreciones mucosas componen una estructura llamada tapón vaginal que es expulsado justo antes o después de la ovulación de estos individuos (Oh et al., 1983).

La citología vaginal es un método bien conocido usado para el monitoreo del ciclo estral en muchos mamíferos (Cranz et al., 1986; Felipe et al., 2001; Hernández et al., 2002; Marcondes et al., 2002; Márquez, 2002; Valdespino et al., 2002; Ahmadi et al., 2005; Hubscher et al., 2005; Goldman et al., 2007; Carlson y Gese, 2008; Leigh et al., 2010; Byers et al., 2012). Siendo una técnica simple, mínimamente invasiva, y empleada en animales silvestres con un breve periodo de restricción, resulta sorprendente que no ha sido ampliamente usada en el estudio del grupo Chiroptera (Jolly, 1988), limitándose a cuatro especies de murciélagos en el Neotrópico: *Molossus rufus*, *Glossophaga soricina*, *C. perspicillata* y *D. ecaudata* en pocos estudios publicados (Rasweiler, 1972; Rasweiler, 1987; Bonilla y Turriago, 1988; Laska, 1990; Rasweiler y Bonilla 1992; Rasweiler y Badwaik 1997; Elizalde et al., 2008). Así la caracterización del epitelio celular de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* sirve de base para el estudio en otras especies de murciélagos, teniendo precaución de no extrapolar dicha caracterización.

El campus de la Universidad industrial de Santander dispone de una continua oferta de alimento para las especies de murciélagos presentes, contando con especies vegetales exóticas y nativas. La mayoría de especies observadas hacen parte de la dieta común de éstos murciélagos (Ortega y Castro-Arellano 2001; Novaes y Nobre 2009; Muñoz-Romo y Herrera 2010), sin embargo el fruto del árbol de oití, representa un nuevo elemento desconocido previamente en su dieta.

Este árbol predomina en la ciudad de Bucaramanga (Vargas y Prieto 2007; Rojas, 2011) constituyéndose una fuente amplia de alimento para éstas dos especies de murciélagos.

Las hembras de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* parecen estar aprovechando el pico en la producción de frutos para garantizar los nutrientes necesarios para la lactancia de sus juveniles en la segunda época seca del año. Las temporadas de fructificación de los árboles en el área de estudio no se solapan completamente, proporcionando disponibilidad de alimento casi todo el año. Para estas especies como para otros frugívoros, es más importante la diversidad de recursos alimenticios disponibles en lugar de la abundancia (August y Baker, 1982).

En diciembre y enero, *A. lituratus* y *A. jamaicensis* utilizaron el néctar de la *Ceiba pentandra* como fuente de alimento durante la estación seca, coincidiendo con la época de gestación. Una correlación positiva se ha observado entre la utilización de néctar y los periodos de preñez en *A. jamaicensis* en una zona de Bosque seco tropical en Costa Rica (Heithaus et al., 1975). Dichas observaciones, corroboran que estos murciélagos no son netamente frugívoros, y pueden aprovechar la abundancia de otro tipo de recursos para dar continuidad a sus eventos reproductivos, como es el caso, la aparición de hembras lactantes interestacionales en el presente estudio (agosto-diciembre); no obstante se desconoce las fuentes de alimento que están utilizando estas especies en octubre y noviembre.

#### 4. CONCLUSIONES

Las especies estudiadas exhiben continuidad en su reproducción, hecho que se ve reflejado en la presencia de hembras reproductivamente activas (receptivas, preñadas, lactantes) a lo largo del año; sin embargo, es evidente la existencia de dos eventos de reproducción anuales. Este resultado indica un patrón de poliestría bimodal para las dos especies, reportado por primera vez para *A. jamaicensis*, mientras que se confirma para *A. lituratus*. Aunque el área de estudio cuenta con una disponibilidad de alimento durante todo el año, frutas y néctar, la variación en la precipitación puede afectar la abundancia en la disponibilidad del alimento. Así, la bimodalidad reproductiva no representa un estricto ajuste estacional; sin embargo, los picos de preñez y lactancia se ajustan con los meses energéticamente más favorables del año, fenómeno que no es desconocido en estas especies frugívoras.

## BIBLIOGRAFIA

ALTRINGHAM JD. Bats From Evolution to Conservation. Oxford University Press, Oxford. London. 2011

AHMADI MR, NAZIFI S, GHASARI HR y RADMEHR M. Evaluation of reproductive cycle with cervical and uterine cytology in Iranian dromedary camels. *Comparative Clinical Pathology* 14:48-51. 2005

AUGUST PV y BAKER RJ. Observations on the reproductive ecology of some Neotropical bats. *Mammalia* 46 (2):177-181. 1982

AUTINO AG y BARQUEZ RM. Patrones reproductivos y alimenticios de dos especies simpátricas del genero *Sturnira* (Chiroptera, Phyllostomidae). *Mastozoología Neotropical* 1 (1):73-80. 1993

BONILLA HO y TURRIAGO GR. Ciclo reproductivo del murciélago *Carollia perspicillata* en el campo. *Acta Biológica Colombiana* 1 (4):49-61. 1988

BOTERO SE, MÚNERA AG, RESTREPO ML Y GIRALDO MV. Atlas de citología cervicovaginal. Universidad de Antioquia, Medellín. 2004

BUMRUNGSRI S, W BUMRUNGSRI y PA RACEY. Reproduction in the short-nosed fruit bat in relation to environmental factors. *Journal of Zoology* 272, 73-81. 2007

BYERS SL, WILES MV, DUNN SL y TAFT RA. Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS ONE* 7 (4):1-5. 2012

BREDT A y UIEDA W. Bats from urban and rural environments of the Distrito Federal, Midwestern Brazil. *Chiroptera Neotropical* 2 (2):54-57. 1996

CARLSON D y GESE E. Reproductive biology of the coyote (*Canis latrans*): integration of mating behavior, reproductive hormones, and vaginal cytology. *Journal of Mammalogy* 89 (3):654-664. 2008

COTTERILL FPD y RA FERGUSSON. Seasonally Polyestrous Reproduction in a Free-Tailed Bat *Tadarida fulminans* (Microchiroptera: Molossidae) in Zimbabwe. *Biotropica* 25 (4):487-49. 1993

CRANZ C, B ISHAK, B BRUN y Y RUMPLER. Study of Morphological and Cytological Parameters Indicating Oestrus in *Lemur fulvus mayottensis*. *Zoo Biology* 5:379-386. 1986

CRICHTON G y KRUTZSCH P. Anatomy and Physiology of the Female Reproductive Tract. Pp. 157- 208, en: *Reproductive Biology of Bats* (JJ Rasweiler y NK Badwaik, eds.). Academic Press, London. 2000

DÍAZ MCC y EAS PARRA. Guía Control de calidad para la toma procesamiento e interpretación en muestras de citología de cuello uterino. Instituto Nacional de Salud, Ministerio de la Protección Social. Imprenta Nacional de Colombia, Bogotá. 2009

DINERSTEIN E. Reproductive ecology of fruit bats and the seasonality of fruit production in a Costa Rican Cloud Forest. *Biotropica* 18 (4):307-318. 1986

DUARTE APG y TALAMONI SA. Reproduction of the large fruit-eating bat *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Brazilian Atlantica forest area. *Mammalian Biology* 75 (4):320-325. 2010

DURANT KA, RW HALL, LM CISNEROS, RM HYLAND y MR WILLIG. Reproductive phenologies of phyllostomid bats in Costa Rica. *Journal of Mammalogy* 94 (6):1438-1448. 2013

ELIZALDE AC, JC LÓPEZ, GE URÍA, R MONTELLANO, JC ARROYO y R MEDELLÍN.. Citología vaginal y ciclo estral de *Diphylla ecaudata*. Pp. 253-268, en: *Avances en el estudio de los mamíferos de México II* (Lorenzo C, E Espinoza y J Ortega, eds.) Asociación Mexicana de Mastozoología, México. 2008

EMMONS L y FEER LT. Neotropical rain forest mammals: a field guide. The University of Chicago Press. Chicago. 1997

ESBÉRARD C. Composição de colônia e reprodução de *Molossus rufus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Molossidae) em um refúgio no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 19 (4):153-160. 2002

ESTRADA A y COATES-ESTRADA R. Species Composition and Reproductive Phenology of Bats in a Tropical Landscape at Los Tuxtlas, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 17 (5):627-646. 2001

FELIPE AE, CABODEVILA J y CALLEJAS S. Characterization of the estrous cycle of the *myocastor coypus* (coypu) by means of exfoliative colpocytology. *Mastozoología Neotropical* 8 (2):129-137. 2001

FILHO OH, NR REIS, D PINTO y DC VIEIRA. Aspectos reprodutivos de *Artibeus lituratus* (Phyllostomidae) em fragmentos florestais na região de Porto Rico, Paraná, Brasil. *Chiroptera Neotropical* 13 (2):313-318. 2007

FLEMING TH, HOOPER ET y DE WILSON. Three Central American bat communities: structure, reproductive cycles and movement patterns. *Ecology* 53 (4):555-569. 1972

GALINDO CG, CASTRO AC, SALAME AM y JP RAMÍREZ.. Reproductive events and social organization in a colony of *Anoura geoffroyi* (chiroptera: phyllostomidae) from a temperate mexican cave. *Acta Zoológica Mexicana* (80):51-68. 2000

GARCÍA H, E DUARTE y C GARCÍA. Flora UIS Catálogo ilustrado. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. 2015

GARDNER AL. Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats. The University of Chicago Press. Chicago, EE.UU. 2007

GRANGE A, M VAN DER MERWE y M BESTER. Reproductive strategy of the Egyptian free-tailed bat, *Tadarida aegyptiaca*, from a subtropical latitude (25°S) in South Africa. *African Zoology* 46 (1): 169-175. 2011

GODOY MSM, WD CARVALHO y CEL ESBÉRARD. Reproductive biology of the bat *Sturnira lilium* (Chiroptera, Phyllostomidae) in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 74 (4):913-922. 2014

GOLDMAN JM, AS MURR, Y LR COOPER. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research* 2 (80):84-97. 2007

HAMMER, HARPER DAT y PD RYAN. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1):9pp. 2001

HANDLEY COJR, DE WILSON y AL GARDNER. Demography and natural history of the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis*, on Barro Colorado Island, Panamá. Smithsonian Contributions to Zoology 511:10-173. 1991

HEIDEMAN PD, P DEORAJ y FH BRONSON. Seasonal reproduction of a tropical bat, *Anoura geoffroyi*, in relation to photoperiod. Journal of Reproduction y Fertility 96,765-773. 1992

HEIDEMAN PD y CB UTZURRUM. Seasonality and synchrony of reproduction in three species of nectarivorous Philippines bats. Ecology 3, 1-14. 2003

HEITHAUS ER, TH FLEMING y PA OPLER. Foraging Patterns and Resource Utilization in Seven Species of Bats in a Seasonal Tropical Forest. Ecology 56 (4):841-854. 1975

HERNÁNDEZ PJE, RF FERNÁNDEZ, RY GUTIÉRREZ, y NNE GÓMEZ. Determinación del momento óptimo para la obtención de embriones de hamster en estadios de dos blastómeros hasta blastocistos. Revista de Salud Animal 24 (3):198-203. 2002

HIJMANS RJ, SE CAMERON, JL PARRA, PG JONES y A JARVIS. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. International Journal of Climatology 25:1965-1978. 2005

HUBSCHER CH, DL BROOKS y JR JOHNSON. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. Biotechnic y Histochemistry 80 (2):79-87. 2005

IDEAM. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. 2015 [en línea] disponible <<http://ideam.gov.co>>.

JOLLY S.. Vaginal smears and the reproductive cycle of the common sheath-tail bat, *Taphozous georgianus* (Chiroptera: Emballonuridae). Australian Mammal Society 11: 75-76. 1988

KALKO EK.. Organization and diversity of tropical bat communities through space and time. Zoology (101):281-197. 1998

KITCHENER DJ. Further observations on reproduction in the common sheath-tailed bat, *taphozous georgianus* thomas, 1915 in western australia, with notes on the gular pouch. Records of the Western Australian Museum 4 (4):335-347. 1976

KLEIMAN DG. Reproduction in the female green acouchi, *Myoprocta pratti* Pocock Journal of Reproduction and Fertility 23:55-65. 1970

DG KLEIMAN y PA RACEY. Observations on noctule bats (*Nyctalus noctula*) breeding in captivity. Lynx 10, 65-77. 1969

KRISHNA A y DOMINIC CJ. Reproduction in the Indian Sheath-tailed Bat. Acta theriologica 27 (7):97-106. 1982

KRISHNA A y KP BHATNAGAR. Hormones and Reproductive Cycles in Bats Pp. 241-289. en: Hormones and Reproduction of Vertebrates: Mammals. (DO Norris y KH Lopez, eds.). Academic Press, USA. 2011

KRUTZSCH PH y EG CRICHTON. Observations on the reproductive cycle of female *Molossus fortis* (Chiroptera: Molossidae) in Puerto Rico. The Zoological Society of London (A) 207:137-150. 1985

KUNZ TH y S PARSONS. Methods of Capturing and Handling Bats, Maryland: The Johns Hopkins University Press. Pp. 3-35, en: Ecological and behavioral methods for the study of bats. (TH Kunz, R Hodgkison, CD Weise, eds.). 2009

LASKA M. Gestation period and between-birth intervals in *Carollia perspicillata* (Phyllostomatidae, Chiroptera). Journal of Zoology London 222,697-702. 1990

LEIGH O, A RAHEEM y O OLUWADAMILARE. Improving the reproductive efficiency of the goat: Vaginal cytology and vulvar biometry as predictors of synchronized estrus/breeding time in West African dwarf goat. International Journal of Morphology 28 (3):923-928. 2010

MARCONDES F, F BIANCHI, y A TANNO. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. Brazilian Journal of Biology (4):609-614. 2002

MÁRQUEZ MO. Características reproductivas de la rata magueyera (*Neotoma albigula*) en cautiverio. Acta Zoológica Mexicana (86):139-144. 2002

MCLEAN AC, N VALENZUELA, S FAI, y SAL BENNETT.. Performing Vaginal Lavage, Crystal Violet Staining, and Vaginal Cytological Evaluation for Mouse Estrous Cycle Staging Identification. Journal of Visualized Experiments (67):1-6. 2012

MENA J, y M WILLIAMS.. Diversidad y patrones reproductivos de quirópteros en un área urbana de Lima, Perú. Ecología Aplicada 1 (1):1-8. 2002

MT MENDONCA y WA HOPKINS.. Effects of arousal from hibernation and plasma androgen levels on mating behaviour in the male big brown bat *Eptesicus fuscus*. *Physiological Zoology* 70, 556-562. 1997

MENEZES DA SILVA LA.. Comunidades de morcegos na Caatinga e brejo de altitude, no agreste de Pernambuco. Tese Pós- Graduação, Instituto de ciências biológicas, Universidade de Brasília. 2007

MUÑOZ J.. Los murciélagos de Colombia, sistemática, distribución, descripción, historia natural y ecología. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín. 2001

MUÑOZ-ROMO M y EA HERRERA.. Observaciones sobre la alimentación del murciélago frugívoro mayor *Artibeus lituratus* (chiroptera: phyllostomidae) en venezuela. *Revista Mexicana de Mastozoología* 14:51-58. 2010

NELSON RJ.. Female Reproductive Behavior. Pp. 275-334, en: An introduction to behavioral endocrinology. (Nelson, RJ, ed.) Sunderland, Massachusetts. 2000

NOVAES RLM, y CC NOBRE.. Dieta de *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) em área urbana na cidade do Rio de Janeiro: frugivoria e novo registro de folivoria. *Chiroptera Neotropical* 15 (2):487-493. 2009

OH YK, T MORI y TA UCHIDA.. Studies on the vaginal plug of the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon*. *Journal of Reproduction and Fertility* 68 (2):365-369. 1983

OPREA M, D BRITO, TB VIEIRA, P MENDES, SR LOPES, RM FONSECA, RZ COUTINHO y AD DITCHFIELD.. A note on the diet and foraging behavior of *Artibeus lituratus* (Chiroptera, Phyllostomidae) in an urban park in southeastern Brazil. *Biota Neotropica* 7 (2):297-300. 2007

ORTEGA J y I CASTRO-ARELLANO. *Artibeus jamaicensis*. The American Society of Mammalogists. Mammalian species (662):1-9. 2001

OSMA HB y GR TURRIAGO.. Presencia de estro post-parto en el murciélago frugívoro *Carollia perspicillata*. Acta Biológica Colombiana 1 (4):63-74. 1988<sup>a</sup>

OSMA HB y GR TURRIAGO.. Ciclo reproductivo del murciélago *Carollia perspicillata* en el campo. Acta Biológica Colombiana 1 (4):49-61. 1988b

PAKRASI PL y A TIWARI.. Preimplantation embryonic development in a tropical vespertilionid bat. Journal of Zoology 272, 415-422. 2007

POST K.. Canine Vaginal Cytology During the Estrous Cycle. Canadian Veterinary Journal 26:101-104. 1985

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Version 3.2.3 2015 [en línea] disponible en: <http://www.r-project.org/>

RACEY PA. The reproductive cycle in male noctule bats, *Nyctalus noctula*. Journal of Reproduction y Fertility (41):169-182. 1974

RACEY PA, JR SPEAKMAN y SM SWIFT. Reproductive adaptations of heterothermic bats at the northern borders of their distribution. South African Journal of Science 83,635-638. 1987

RACEY PA. Reproductive assessment in bats. Pp. 31-45, en: Ecological and behavioral methods for the study of bats (TH Kunz, ed.). Smithsonian Institution Press. 1988

RASBAND WS.. ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, [imagej.nih.gov/ij/](http://imagej.nih.gov/ij/).2012

RASWEILER J IV. Reproduction in the long tongued bat, *Glossophaga soricina*. Preimplantation development and histology of the oviduct. Journal of reproduction and fertility 31, 249-262. 1972

RASWEILER J IV. Prolonged receptivity to the male and the fate of spermatozoa in the female black mastiff bat, *Molossus ater*. Journal of reproduction and fertility 79, 643-654. 1987

RASWEILER J IV y K BADWAIK.. Delayed development in the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*. Journal of reproduction and fertility 109, 7-20. 1997

RASWEILER J y H BONILLA.. Menstruation in short-tailed fruit bats (*Carollia* spp.). Journal of reproduction and fertility. 95, 231-248. 1992

RASWEILER J, C CRETEKOS y R BEHRINGER.. The short-tailed fruit bat *Carollia perspicillata*: a model for studies in reproduction and development. Cold Spring Harbor Protocols (1)1:8. 2009

RASWEILER J, N BADWAIK y MECHINENI K.. Selectivity in the transport of spermatozoa to oviductal reservoirs in the menstruating fruit bat, *Carollia perspicillata*. Reproduction 140, 743-757. 2010

ROJAS A. Flora Urbana del área metropolitana de Bucaramanga. Corporación Autónoma Regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga CDMB. Bucaramanga. 2011

SIKES RS, WL GANNON y THE ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE.. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy* 92:235-253. 2011

SOSA M y P RAMONI-PERAZZI.. Patrón reproductivo de *Artibeus jamaicensis* Leach, 1821 y *A. lituratus* (Olfers, 1818) (Chiroptera: Phyllostomidae) en una zona árida de los Andes Venezolanos. *Revista Brasileira de Biologia* 55 (4):705-713. 1995

STATSOFT I.. STATISTICA (data analysis software system), version 7.0 2004 [en línea] disponible en: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

STONER KE. Differential habitat use and reproductive patterns of frugivorous bats in tropical dry forest of northwestern Costa Rica. *Canadian Journal of Zoology* 79 (9):1626-1633. 2001

STRAUBE FC y GV BIANCONI.. Sobre a grandeza e a unidade utilizada para estimar esforço de captura com utilização de redes-de-neblina. *Chiroptera Neotropical* 8:150-152. 2002

TAMSITT JR y D VALDIVIESO. Reproductive cycle of the big fruit-eating bat, *Artibeus lituratus* Olfers. *Nature* 198, 104. 1963

TAMSITT JR y D VALDIVIESO. Reproduction of the female big fruit-eating bat, *Artibeus lituratus palmarum*, in Colombia. *Caribbean Journal of Science* 5:157-166. 1965a

TAMSITT JR y D VALDIVIESO.. The Male Reproductive Cycle of the Bat *Artibeus lituratus*. *American Midland Naturalist* 73 (1):150-160. 1965b

TORRES JFR y EAF VIEIRA.. Morphological changes in the vaginal epithelium during the oestrous cycle of *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae). *Revista Brasileira de Biologia* 58 (3):527-539. 1998

TSCHAPKA M.. Reproduction of the bat *Glossophaga commissarisi* (Phyllostomidae: Glossophaginae) in the Costa Rican rain forest during frugivorous and nectarivorous periods. *Biotropica* 37 (3):409-415. 2005

VALDESPINO C, CS ASA y JE BAUMAN.. Estrous cycles, copulation, and pregnancy in the fennec fox (*VULPES ZERDA*). *Journal of Mammalogy* 83 (1):99-109. 2002

VAN DER MERWE M, IL RAUTENBACH y VAN DER COLF WJ.. Reproduction in females of the little free-tailed bat, *Tadarida (Chaerephon) pumila*, in the eastern Transvaal, South Africa. *Journal of Reproduction y Fertility* 7, 355-364. 1986

VARGAS B y LFM PRIETO.. Árboles para Bucaramanga, Especies que fortalecen la Estructura Ecológica Principal. *Revista nodo* 2 (1):25-40. 2007

WICKHAM H.. *Ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer, New York p 213. 2009

WILLIG M. Reproductive Patterns of Bats from Caatingas and Cerrado Biomes in Northeast Brazil. *Journal of Mammalogy* 66 (4):668-681. 1985

ZORTEA M.. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian Cerrado. *Brazilian Journal of Biology* 63 (1):159-168. 2003

## ANEXOS

### ANEXO A. TABLAS

Tabla 1. Plantas frutales usadas por los murciélagos en el área de estudio, con registros mensuales del periodo de fructificación; el número total de especies consumidas por mes se señala al final de la tabla.

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<i>Cecropia peltata</i>					■	■	■					
<i>Psidium guajava</i>				■	■	■	■	■	■			
<i>Anacardium excelsum</i>		■	■									
<i>Syzygium malaccense</i>			■	■	■							
<i>Mangifera indica</i>			■	■	■							
<i>Terminalia catappa</i>					■	■						
<i>Piper aduncum</i>				■	■	■						
<i>Licania tomentosa</i>					■	■	■					
<i>Pithecellobium dulce</i>		■	■	■	■							
<b>Total</b>	0	2	4	5	8	5	3	1	1	0	0	0

## ANEXO B. FIGURAS



Figura 1. Manipulación de una hembra de *A. lituratus*, para la toma de frotis vaginales.

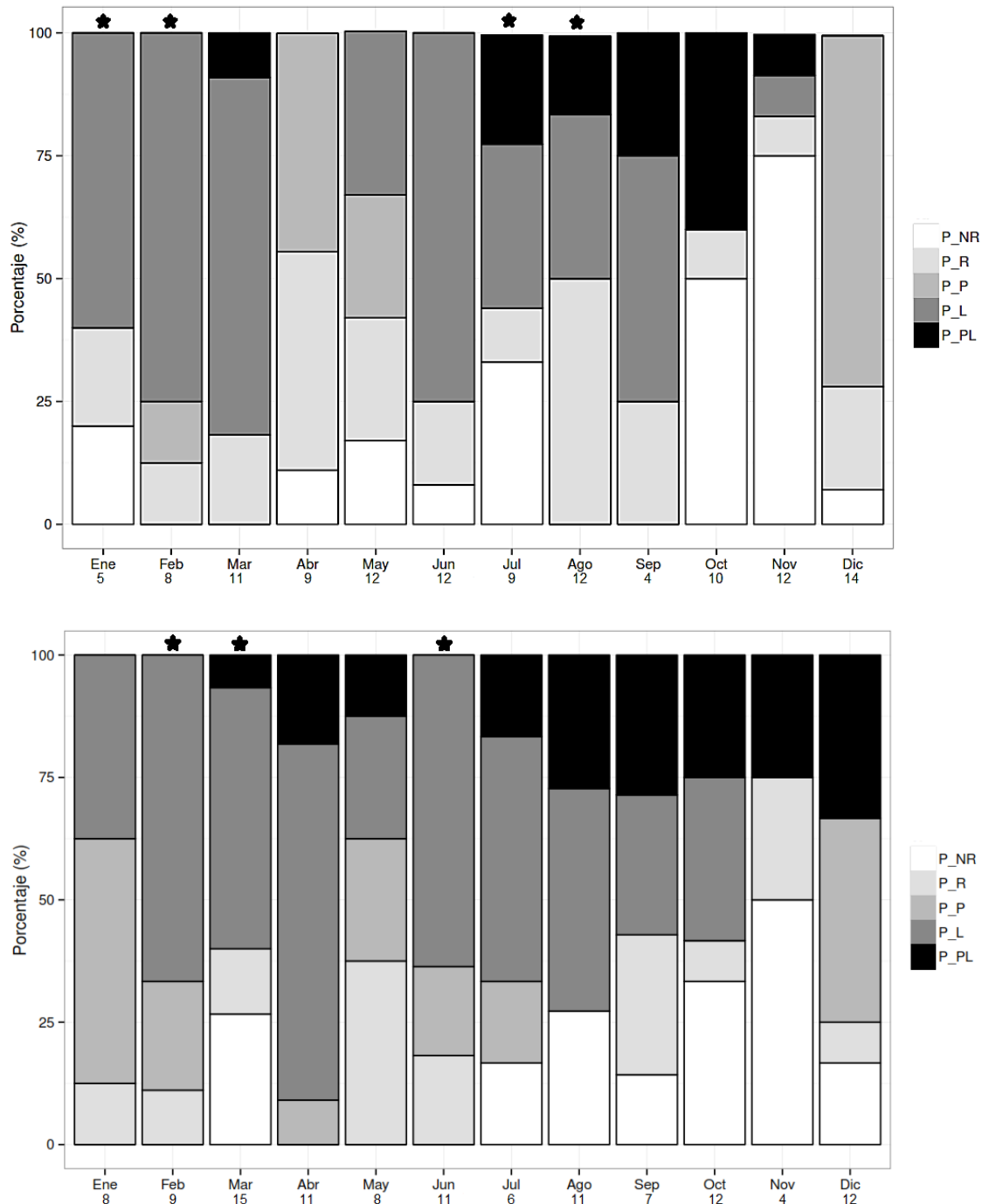


Figura 2. Condición reproductiva de las hembras de *A. jamaicensis* y *A. lituratus* de una zona urbana de Bucaramanga, basada en las características reproductivas externas y en la caracterización citológica. Arriba. *A. jamaicensis* Abajo. *A. lituratus*. (P\_NR. Proporción de hembras inactivas; P\_R. Proporción de hembras receptivas; P\_P. Proporción de hembras preñadas; P\_L. Proporción de hembras lactantes; P\_PL. Proporción de hembras post-lactantes). El número de hembras capturadas por mes se indica con un número debajo de cada mes. Los meses en los que se observó eventos de cópula son señalados con una estrella en la parte superior.

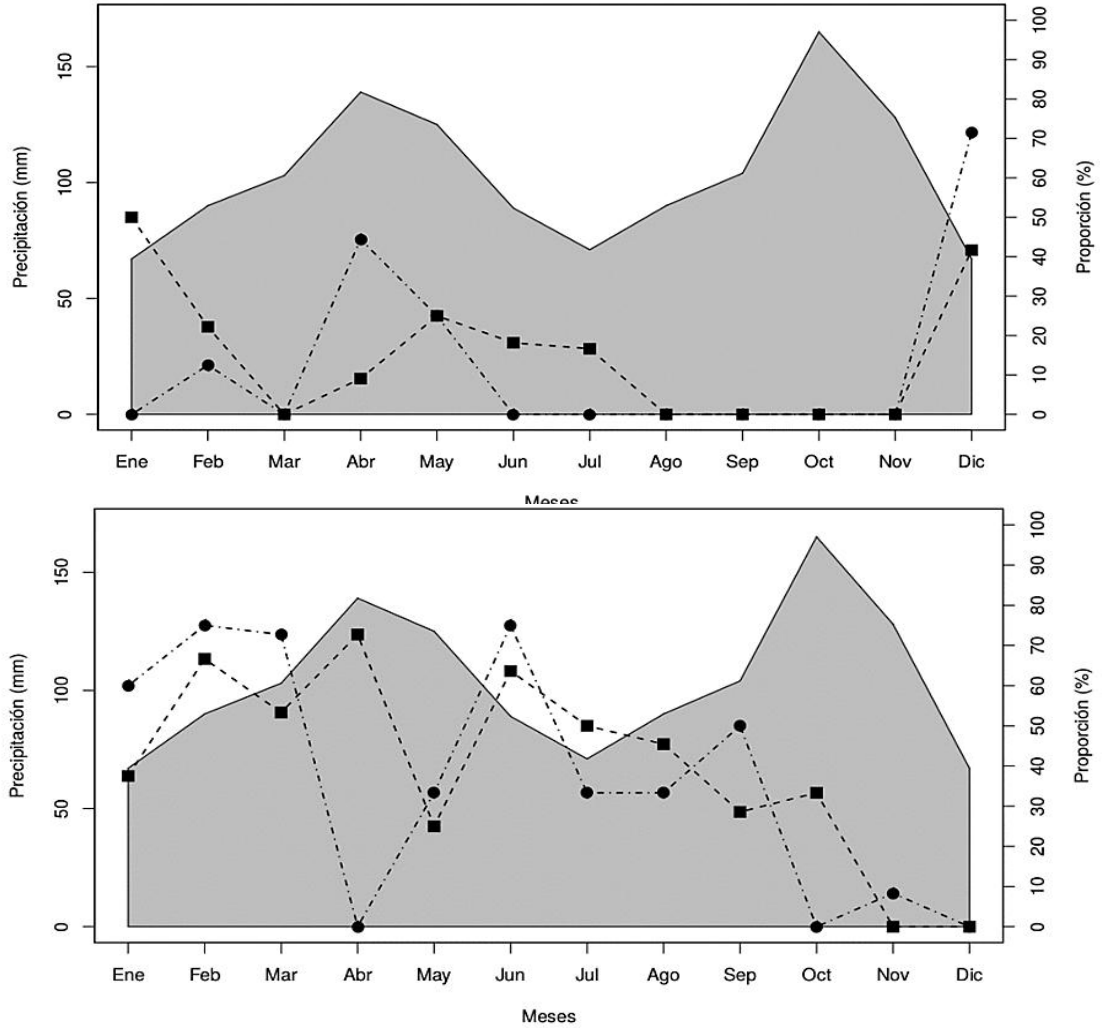


Figura 3. Fenologías reproductivas en hembras de *A. lituratus* y *A. jamaicensis*, en relación a la precipitación mensual de una zona urbana en Bucaramanga, Colombia. Arriba: Relación de la precipitación mensual con la proporción de hembras preñadas, expresadas como porcentajes. Abajo: Relación de precipitación mensual con la proporción de hembras lactantes, expresadas como porcentajes (Círculos. *A. jamaicensis*; Cuadrados. *A. lituratus*) Los datos de precipitación fueron tomados de WorldClim-Global climate Data (Hijmans et al., 2005).



Figura 4. De izquierda a derecha: Hembra de *Artibeus lituratus* llevando cría recién nacida con cordón umbilical. Neonato hembra de *Artibeus lituratus* con un peso aproximado de 16 g.

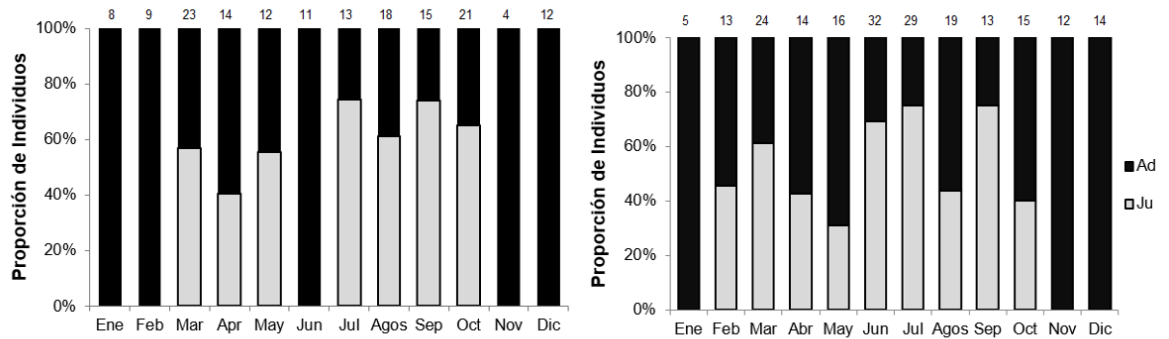


Figura 5. De izquierda a derecha. Proporción de juveniles (Ju) y adultos (Ad) de *A. lituratus* y *A. jamaicensis*, de una zona urbana en Bucaramanga, Colombia. Los individuos adultos corresponden a hembras, mientras que los juveniles a machos y hembras. El número de individuos por mes se indica con un número encima de cada barra.

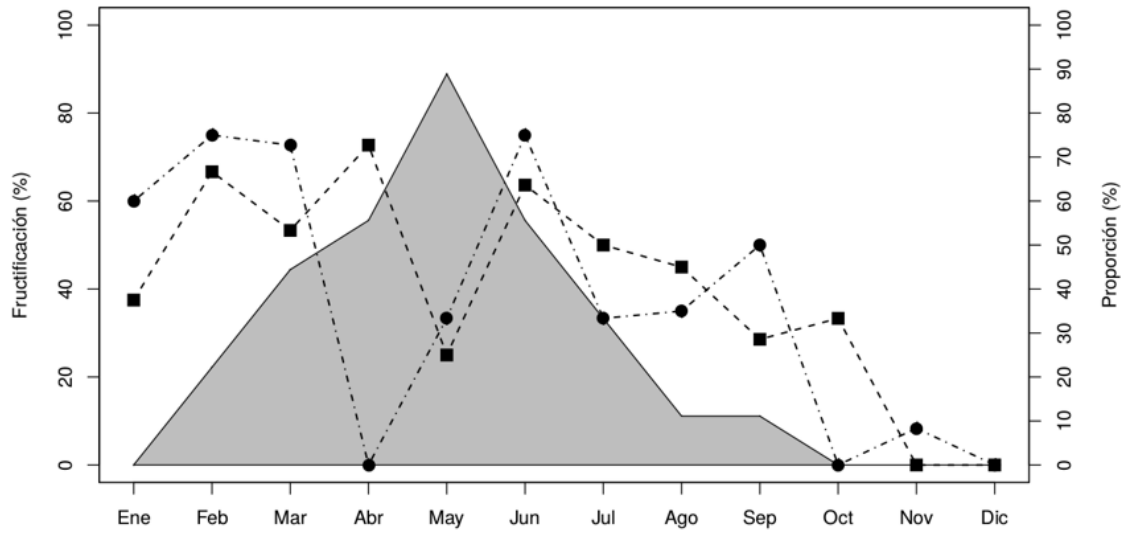


Figura 6. Porcentaje de especies vegetales de la dieta de *A. lituratus* y *A. jamaicensis* en fructificación, expresada como índice de fructificación (IF), versus periodos de lactancia, en una zona urbana en Bucaramanga, Colombia. (Círculos. *A. jamaicensis*; Cuadrados. *A. lituratus*)

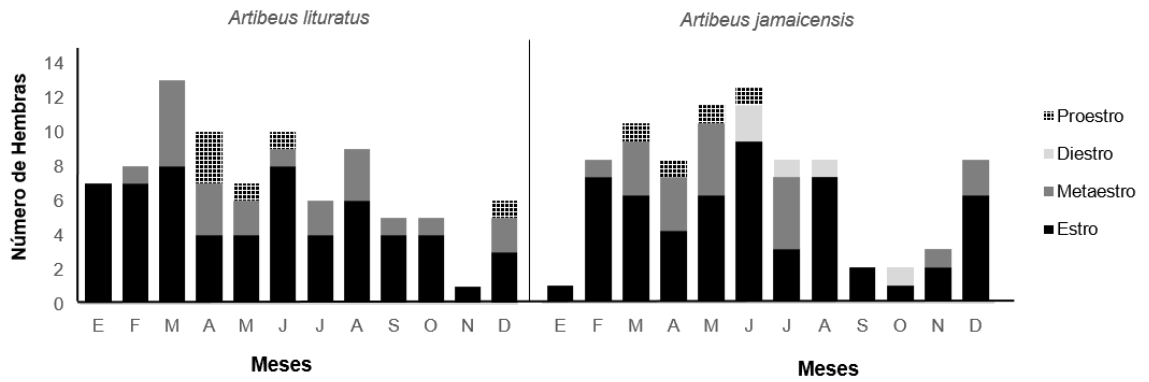


Figura 7. Condición reproductiva de las hembras de *A. jamaicensis* y *A. lituratus*, basada en la caracterización celular del epitelio vaginal.

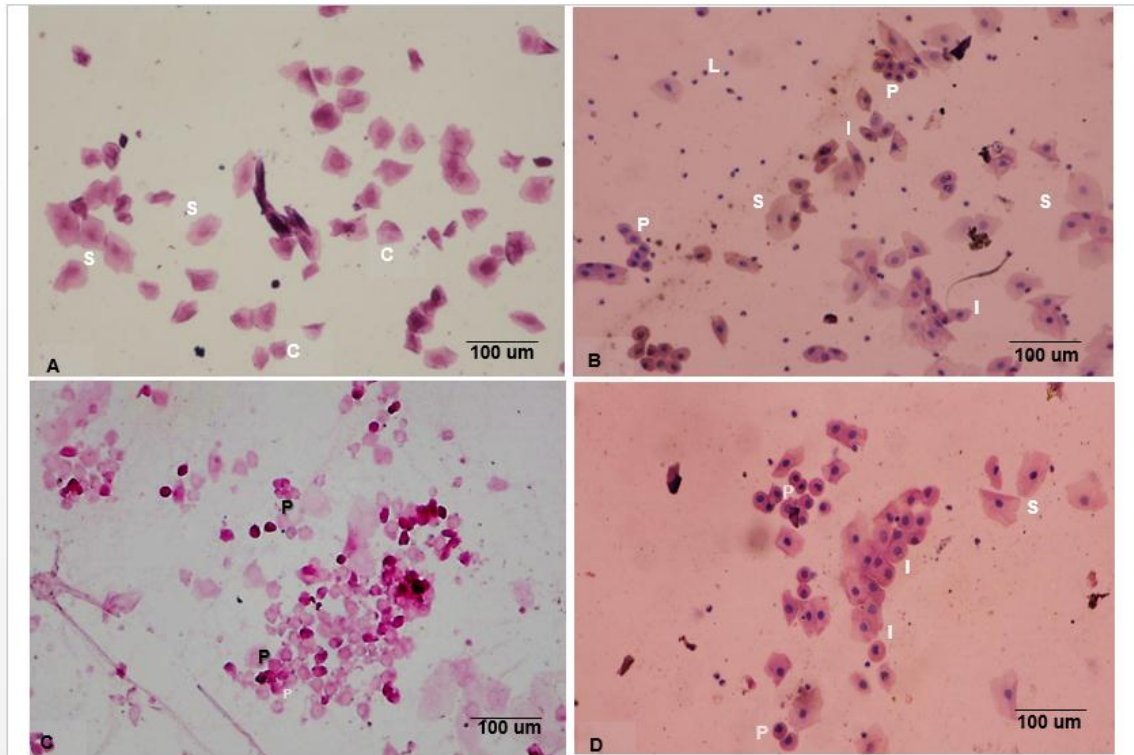


Figura 8. Micrografías de frotis vaginales. A. Estado estral en una hembra de *A. jamaicensis*, se observan células superficiales nucleadas (S) y anucleadas o cornificadas (C). B. Estado de metaestro en una hembra de *A. lituratus*, se observan células superficiales, células intermedias (I), células parabasales (P) y leucocitos (L). C. Estado de diestro en una hembra de *A. jamaicensis* que se encontraba lactando al momento de su captura; se observan células parabasales (P) predominando la muestra. D. Proestro, predominan células intermedias (I), y se observan algunas células parabasales (P) y superficiales nucleadas (S).

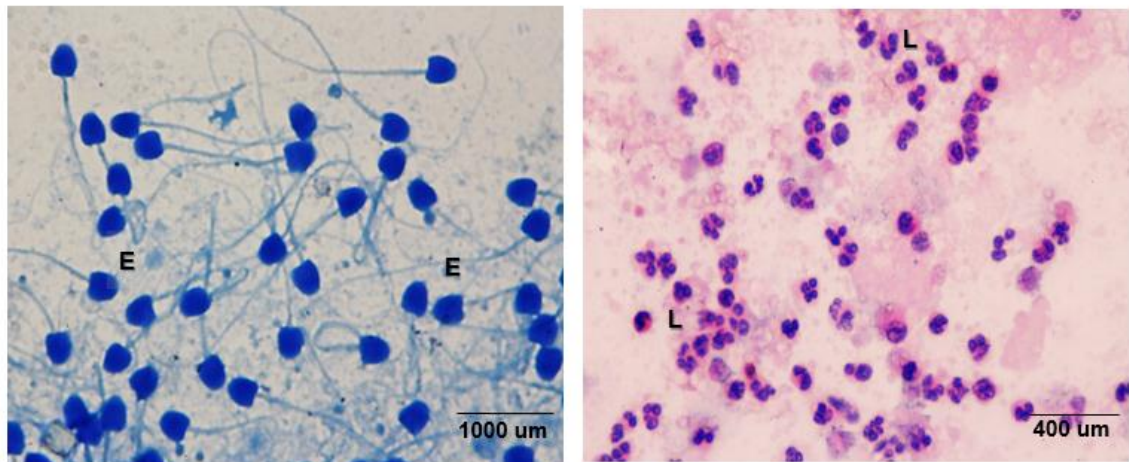


Figura 9. Micrografías de frotis vaginales. Izquierda: Espermatozoides (E) en una hembra de *A. jamaicensis* que se encontraba lactando al momento de su captura. Derecha: Leucocitos polimorfonucleares (L) presentes en una hembra de *A. lituratus* que se encontraba en época de lactancia.

Apéndice I. Adaptación de la tinción eosina- azul de metileno para citologías vaginales en murciélagos de porte grande.

Paso	Solución	Tiempo
1	Eosina (4 %)	4 min
2	Agua destilada	1 min
3	Etanol 80%	25 s
4	Azul de metileno (4 %)	2 min
5	Agua destilada	1 min