

Evaluación estacional de fitoestrógenos en heces de machos del murciélago frutero jamaicano (*Artibeus jamaicensis* Leich, 1821).

Salame-Méndez, Arturo^{1*}, Alondra Castro-Campillo², Karina Olvera-Olvera², Héctor Serrano³, Fernando Huerta-García⁴, Juan José Esquivel-Florencio², Jorge Haro-Castellanos¹, Miguel Ángel Briones-Salas⁵, José Ramírez-Pulido², José Luís Gómez-Olivares³, María Dolores García-Suárez².

Abstract

Artibeus jamaicensis Leich, 1821, obtains its basic energetic requirements to survive and to reproduce from fruits and leaves, even though some of them may contain harmful phytochemicals that could act as estrogens (phytoestrogens, PTE); thus provoking endocrine disruption in its reproductive physiology. PTE derive from isoflavones, lignans, and coumestans, phenolic fluorescent compounds that can be detected through thin layer chromatography. Here we evaluate the presence of these three groups in the feces of adult males of *A. jamaicensis*, by means of representative analites (genistein, GEN; zearalenone, ZEA; coumestrol, COU, respectively) in order to verify: a) which analites were present, and b) whether they had a temporal pattern or they remained constant along the year. We further examined if we could qualitatively link temporal patterns of phytochemicals with the reproductive activity of males, using the position of their testes. Although we detected neither presence of GEN, ZEA or COU, we did observed stains from unknown phytochemical fluorescent compounds (UPFC), according to annual seasons and to pluvial regimen, as well as to the position of the testes. The finding of these UPFC, together with its temporal coincidence with the reproductive activity of males, elicits more questions about the possible influence that these substances could have on the reproductive activity of *A. jamaicensis*.

Keywords: *Artibeus*, endocrine disruption, feces, frugivory, phytoestrogens, reproduction, testes.

^{1*} Departamento de Biología de la Reproducción E-mail: asam@xanum.uam.mx (ASM), hcja@xanum.unam.mx (JHC).

² Departamento de Biología E-mail: acc@xanum.uam.mx (ACC), tu_especimen@hotmail.com (KOO), cbs201330971@titlani.uam.mx (JJE), jrp@xanum.uam.mx (JRP), luli@xanum.uam.mx (MDGS).

³ Departamento de Ciencias de la Salud E-mail: hser@xanum.uam.mx (HS), gool@xanum.uam.mx (JLGO).

División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco # 186. A. P. 55-535. México, Distrito Federal 09340

⁴ Escuela de Ciencias. Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca. Av. Universidad s/n, Ex Hacienda de "Cinco Señores", Oaxaca, Oaxaca 68120, E-mail: biohuertagf@yahoo.com.mx.

⁵ Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-Oaxaca), Instituto Politécnico Nacional. Calle Hornos # 1003, Oaxaca. Oaxaca 71230, E-mail: mbriones@ipn.mx.

* Corresponding author

Artibeus jamaicensis Leich, 1821, obtiene los requerimientos energéticos básicos para subsistir y reproducirse a partir de frutos y hojas, aún cuando algunos de ellos podrían contener fitoquímicos nocivos que al actuar como estrógenos (fitoestrógenos, FTE); provocan disrupción endócrina en su fisiología reproductiva. Los FTE derivan de isoflavonas, lignanos y coumestanos, compuestos fenólicos fluorescentes que pueden ser detectados en sus heces, mediante cromatografía en capa fina. Aquí evaluamos la presencia de esos tres grupos en las heces de machos adultos de *A. jamaicensis*, mediante analitos representativos (genisteína, GEN; zearalenona, ZEA; coumestrol, COU, respectivamente) para verificar: a) cuáles analitos estaban presentes y b) si tenían un patrón temporal o se mantenían constantes a lo largo del año. También relacionamos cualitativamente la presencia de fitoquímicos con la actividad reproductiva de los machos, mediante la posición de sus testículos. Aunque no constatamos la presencia de GEN, ZEA o COU, sí observamos manchas de compuestos fitoquímicos fluorescentes desconocidos (CFFD) que se relacionan con la estación del año y el régimen pluvial, así como con la posición de los testículos. El hallazgo de estos CFFD y su coincidencia temporal con la actividad reproductiva de los machos, libera más preguntas acerca de la posible influencia que estas sustancias podrían ejercer sobre la actividad reproductiva de *A. jamaicensis*.

Palabras clave: *Artibeus*, disrupción endocrina, frugivoría, fitoestrógenos, heces, reproducción, testículos.

Introducción

La ingesta de plantas es la base para la subsistencia espacio-temporal de diversas especies y por ello el estudio de la relación trófica entre planta-animal, o herbivoría, es uno de los paradigmas en las ciencias biológicas, tanto por sus implicaciones evolutivas como fisiológicas (Granados-Sánchez *et al.* 2008). Al respecto, las plantas producen fitoquímicos que participan en sus procesos fisiológicos y que además pueden actuar sobre sus consumidores; *v. gr.*, algunos metabolitos secundarios actúan dándoles protección a las plantas contra sus depredadores o como atrayentes para sus polinizadores (Krasov y Martínez del Río 2007). Uno de los grupos más extensos entre esos metabolitos secundarios es el de los compuestos fenólicos, los cuales al oxidarse primero ellos, inhiben la oxidación de otras sustancias en la planta, protegiéndola contra tal proceso, pero además forman quinonas que confieren las tonalidades azul, azul-rojo o violeta, características de algunos frutos (Chasquibol *et al.* 2003). En conjunto, los compuestos fenólicos también pueden actuar como defensas en las plantas contra algunos organismos patógenos, plagas y herbívoros (Ramos *et al.* 1998; Granados-Sánchez *et al.* 2008). En los mamíferos herbívoros, algunos compuestos fitoquímicos fenólicos actúan a modo de cofactores metabólicos, mientras que otros alteran su proceso reproductivo. Sobre lo último, esos fitoquímicos fenólicos pueden unirse a los receptores α y/o β estrogénicos de las hormonas esteroideas sexuales (Morito *et al.* 2002) y como al hacerlo trastornan procesos endocrinos de la reproducción en esos mamíferos, han sido llamados fitoestrógenos (Palacios 2002).

La alteración reproductiva producida por fitoestrógenos también se presenta tanto en

mamíferos omnívoros como carnívoros, aún cuando estos últimos sean relativamente estrictos como son los cánidos (Pérez-Rivero *et al.* 2009), además de que también ha sido verificada de manera experimental en murciélagos hematófagos (Serrano *et al.* 2007a). La capacidad que tienen los fitoestrógenos para alterar procesos bioquímicos y fisiológicos de la reproducción en estas especies, junto con otras evidencias experimentales, ha hecho que se les considere como disruptores endocrinos (Pérez-Rivero *et al.* 2007).

Por sus características químicas, los fitoestrógenos se agrupan en isoflavonas, lignanos y cumestanos, cuyos principales representantes son genisteína, enterolactona y coumestrol, respectivamente (Pérez-Rivero *et al.* 2007). A éstos se añade en el grupo de los lignanos, la zearalenona, micotoxina y metabolito estrogénico producido por hongos del género *Fusarium* (Minervini y Dell'Aquila 2008). Las isoflavonas, lignanos y cumestanos son sustancias comunes en las plantas que tienen la característica fisicoquímica de emitir luz (fluorescencia) cuando son expuestas a radiación ultravioleta (Serrano *et al.* 2007b). Las isoflavonas y flavonas forman parte de los flavonoides que son compuestos antioxidantes (Chasquibol *et al.* 2003; Serrano *et al.* 2006). Los lignanos se encuentran en frutas, verduras y semillas; forman parte de la lignina de la pared celular, además de que participan en el crecimiento de las plantas y son antioxidantes (Coley y Barone 1996; Chasquibol *et al.* 2003). Los coumestanos derivan de la coumarina, compuesto volátil de fragancia agradable, muy abundante en algunos frutos como la vainilla. La coumarina puede ser biotransformada por hongos en el anticoagulante dicumerol o quimiotransformada en el anticoagulante warfarina, la cual fue muy utilizada para combatir plagas del vampiro *Desmodus rotundus* (Flores-Crespo 1978; Flores-Crespo *et al.* 1979), pero actualmente está prohibida (Romero-Almaraz *et al.* 2006). En general, estos tres grupos de fitoestrógenos pueden ser eliminados en la orina y/o las heces intactos o como metabolitos sulfatados.

Aunque los fitoestrógenos presentes en las plantas podrían actuar como disruptores endócrinos en los mamíferos herbívoros silvestres que los consumen, también es cierto que la reproducción de éstos últimos está ajustada espacio-temporalmente con la accesibilidad, abundancia y calidad de los recursos alimenticios (Sadleir 1969; van Tienhoven 1983; Bronson y Heideman 1994). Por eso, para examinar el posible efecto disruptor de los fitoestrógenos sobre la reproducción de herbívoros silvestres, primero debemos responder si los consumen, por ejemplo, evaluando si se presentan compuestos del tipo de las isoflavonas, lignanos y coumestanos en sus heces fecales. Asimismo, también debemos determinar si su presencia muestra un patrón temporal (*i. e.*, por estaciones del año o por régimen pluvial) que pudiera estar asociado con algún aspecto de la reproducción de la especie en cuestión.

Es por eso que elegimos al murciélago frutero jamaicano (*Artibeus jamaicensis* Leich, 1821), especie relevante en el mantenimiento y regeneración de la vegetación en su hábitat tropical, ya que dispersa y poliniza de plantas pioneras en el neotrópico (Gómez-Pompa y Vázquez-Yanes 1985; Galindo-González 1998, 2004; Flores-Martínez *et al.* 1999-2000; Mancina y Sánchez 2001; Acosta y Aguanta 2006). La especie es muy adaptable y resistente a las transformaciones del ambiente a lo largo de su distribución geográfica, ya que habita en zonas preservadas, fragmentadas o transformadas de vegetación tropical, así como en vegetación riparia, secundaria y en arbustos aislados de los pastizales (Galindo-González 2004). Como en estos ambientes,

A. jamaicensis consume varios tipos de frutos silvestres y cultivados, se le considera una especie frugívora generalista (Morrison 1978a y b, 1980; Bonaccorso 1979; Flores-Martínez *et al.* 1999-2000; Rodríguez-Durán y Vázquez 2001; Ortega y Steers 2005; Acosta y Aguanta 2006). La especie consume principalmente higos del género *Ficus* (*F. insípida*, *F. mexicana*, *F. obtusifolia*, *F. padifolia*, *F. trigonata*, *F. yoponenis*), pero también frutos de chancarro (*Cecropia obtusifolia*), naranjilla (*Solanum hirtum*), plátano (*Musa paradisiaca*), guayaba (*Psidium guajava*), ramón (*Brosimum alicastrum*), mururé (*B. lactescens*), ciruelo (*Spondias purpurea*), zapote (*Manilkara zapota*), mango (*Mangifera* spp.), guanandí (*Calophyllum brasiliense*), mara (*C. longifolium*), almendro de montaña (*Dipteryx panamensis*), almendro indio (*Terminalia catappa*) y de aguacate (*Persea americana*), así como diversas moras de la familia Moraceae. A esos frutos se añaden hojas (Kunz y Diaz 1995) de búcare ceibo (*Erythrina poeppigiana*), jagüey blanco (*Ficus citrifolia*), higuera sagrada (*F. religiosa*), amate (*F. máxima*), santa maría o mamey falso (*Calophyllum calaba*) y de berenjenita cimarrona o prendejera (*Solanum torvum*).

La reproducción de este filostómido frugívoro parece estar relacionada con la disponibilidad de alimento, el cual a su vez depende de la temporalidad de las lluvias a lo largo de su distribución. En selvas tropicales perennes o caducifolias, la especie se comporta como poliéstrica estacional con un primer pico de nacimientos al final de la transición entre las temporadas de secas y de lluvias (abril-mayo) y un segundo pico a la mitad de la temporada lluviosa (julio-septiembre), cuando la precipitación se mantiene abundante constante y la vegetación ofrece sus frutos (Bonaccorso 1979; Ortega y Castro-Arellano 2001; Ortega y Arita 2005; Ortega y Steers 2005). Cabe señalar que durante los meses anteriores al pico de nacimientos, los machos presentan testículos escrotales (Ortega y Arita 1999). La especie aparenta estar reproductivamente quiescente, al final de la temporada de lluvias (octubre a diciembre), ya que no muestra signos externos de actividad reproductiva (*v. gr.*, testículos inguinales en los machos); sin embargo, las hembras están preñadas y pueden experimentar retraso en el desarrollo embrionario (Fleming 1971).

Como a lo anterior se suma que algunas especies y géneros de plantas en la dieta *A. jamaicensis* contienen fitoestrógenos (Arthan *et al.* 2002; Thompson *et al.* 2006; Khoo y Ismail 2008; Kuhnle *et al.* 2009; Watcho *et al.* 2009), decidimos realizar un análisis preliminar, a través de cromatografía en capa fina, para verificar si las heces de machos adultos contenían genisteína, zearalenona y / o coumestrol, usando éstos fitoestrógenos como analitos representativos de isoflavonas, lignanos y cumestanos, respectivamente. Luego verificamos si su presencia mostraba un patrón temporal. Finalmente, determinamos la proporción de machos capturados con testículos escrotales (reproductivamente activos) o inguinales (reproductivamente inactivos) para agruparlos por estaciones del año y régimen pluvial, de manera que pudiésemos asociar cualitativamente su actividad reproductiva con la presencia temporal de fitoquímicos fluorescentes.

Materiales y Métodos

Área de estudio

Las colectas de *A. jamaicensis* se hicieron en el interior del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca del Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR-Oaxaca), ubicado en el Municipio de Santa Cruz

Xoxocotlán y a una altitud de 1,563 msnm, entre los 17.0139' N — 96.4311 W. El clima de Oaxaca, Oaxaca, (Manzanero y Flores 2000, CONABIO s/a, PMD 2011-2013 s/a) es el menos seco de los secos áridos (cociente P/T > 22.9): régimen pluvial, de verano-otoño con el 5% al 10.2% anual e intervalo de 600 – 700 mm, siendo los meses de junio a septiembre los más lluviosos; semicálido: temperatura media anual > 22 °C e isotermal con marcha de temperatura tipo Ganges, pues el mes más cálido se presenta en el solsticio de verano, siendo la temperatura del mes más frío > 18 °C. En la figura 1a se muestra el comportamiento promedio de la temperatura (T°) y de la humedad relativa (Hr), conforme a las fechas en que se desarrolló el estudio y de acuerdo a datos obtenidos de la estación Xoxocotlán International (<http://www.tutiempo.net>).

La conformación territorial que exhibe el área de estudio corresponde a una zona conurbana con disturbio ecológico por actividades antropogénicas; el uso de suelo que predomina es el agrícola de riego, ocupando el 48.4% de la superficie municipal con plantíos de maíz, frijol y alfalfa (INEGI, 2010), pero en donde se pueden encontrar frutales como níspero (*Eriobotrya japonica*), guayaba (*Psidium guajava*), ciruela (*Spondias mombin*), higo (*Ficus carica*) y dátiles (*Phoenix dactylifera*). En general, debido a la urbanización y a los consecuentes cambios climatológicos regionales hacia un régimen más cálido y seco, la vegetación natural del Municipio de Santa Cruz Xoxocotlán (CONABIO 2010), que correspondía a bosques templados de coníferas y encinos en las partes altas de las serranías y a selva baja caducifolia en las partes bajas, tiende a desaparecer. Esta vegetación original es sustituida por vegetación xerófila de tipo chaparral en los lomeríos, mientras que en las partes más bajas predominan pequeñas hierbas, pastos y arbustos como el huizache (*Acacia fornesiana*), el guamúchil (*Pithecelobium dulce*) y el tehuixtle (*A. milibekii*), algunas leguminosas y magueyes de los tipos “tovasiche” (*Agave karwinskii*) y “manso” (*A. atrovirens*), respectivamente (INEGI 2010).

Captura y selección de individuos

Para la captura mensual de los quirópteros, se colocaron dos redes de niebla de 12 x 2.6 m y con una luz de malla de 2 x 2 cm, donde los murciélagos solían alimentarse o hidratarse (Kunz et al. 1996), incluyendo los meses de marzo a mayo en el año 2008 y de enero a septiembre en el 2009. Las redes fueron revisadas cada 30 minutos, desde el ocaso hasta la madrugada (19:30 – 2:30 hrs), permaneciendo abiertas durante este periodo de siete horas que corresponde al máximo de actividad de los murciélagos de la familia Phyllostomidae (Heithaus y Fleming 1978). El esfuerzo de captura fue calculado considerando los metros totales sumados de red, multiplicados por el número total de horas en que las redes permanecieron abiertas por período de muestreo en los siete meses con captura efectiva (Medellín 1993). Los *A. jamaicensis* se identificaron *in situ*, mediante claves dicotómicas (Medellín et al. 1997), se liberó a las hembras y sólo se retuvo a los machos adultos (*i. e.*, con las epíffisis metacarpales fusionadas por osificación). Finalmente, se registró la posición de los testículos (escrotales / inguinales) en estos machos adultos, para luego graficar su frecuencia por estación y por régimen pluvial (Fig. 1b y c).

Colecta de muestras fecales

Los murciélagos fueron introducidos en bolsas de tela y anestesiados con éter dietílico hasta morir, ya que fueron usados para este y otros estudios. De cada uno de ellos también se recogieron las muestras fecales que fueron dejadas en la bolsa o que se extrajeron por disección del último cuarto del intestino grueso. Las heces de cada animal fueron depositadas en tubos Eppendorf a los que se les agregaron 500-600 μ L de etanol al 70%.

Evaluación de fitoestrógenos

La evaluación en las heces de la presencia de los fitoestrógenos (FTE) se hizo mediante cromatografía en capa fina (TLC por convención del inglés), utilizando como muestras de referencia (Sigma-Aldrich, San Louis, MO) coumestrol (COU), zearalenona (ZEA) y genisteína (GEN). Cada tubo conteniendo las heces se agitó en vortex (Thermolyne®) y posteriormente se centrifugaron a 1,500 rpm por 1 min a temperatura ambiente. Del sobrenadante se tomó una alícuota de 100 μ L que se transfirió a otro tubo Eppendorf al que se le agregó una mezcla de éter:cloroformo (2:1 v/v). Los tubos se agitaron en vortex y la disolución se transfirió a otro tubo para evaporar hasta sequedad. Este procedimiento se realizó dos veces. Una vez evaporada la disolución de extracción, a los tubos se les agregaron 50 μ L de acetato de etilo:cloroformo (7:3, v/v), luego se agitaron en vortex y de esta disolución se tomó una alícuota de 1.5 μ L que se aplicó a cromatoplasmas de vidrio (20 x 10 cm) cubiertas con gel de sílice e indicador para absorción de radiación ultravioleta de 254 nm (Merck®). Las cromatoplasmas con los estándares de los tres FTE (GEN, ZEA y COU) y las muestras a analizar se introdujeron a una cámara cromatográfica, previamente saturada con acetato de etilo:cloroformo (7:3 v/v) como fase móvil. La resolución de los compuestos se realizó a 25 °C con humedad relativa del 35% por un lapso de 30 min. Concluida la cromatografía, las placas se sacaron de la cámara, dejándolas a temperatura ambiental hasta evaporar los disolventes orgánicos. La presencia de manchas fluorescentes en las cromatoplasmas secas fue observada con una lámpara de UV (UVGL-25. UVP, Inc. San Gabriel, Cal.) en un cuarto oscuro. Enseguida se calculó el R_f (*Retention factor* o factor de retención) de cada mancha fluorescente, dividiendo el recorrido de los analitos desde el punto de aplicación, entre la distancia que se deja desplazar la fase móvil (frente de solventes) en la cromatoplasma. El resultado adimensional (sin unidades) de este cociente, o R_f , quedó entre 0 (alta polaridad, punto de aplicación) y 1 (baja polaridad, frente de solventes) en todos los casos.

Obtención del patrón temporal de compuestos fluorescentes

La presencia o ausencia de fitoquímicos fluorescentes, se documentó para cada macho adulto en las cromatoplasmas (patrón individual). Luego se compararon los patrones individuales de los que fueron capturados en el mismo mes y si las manchas individuales tenían el mismo R_f , se representaron como una sola mancha en un mes en particular (patrón mensual). Los patrones mensuales de manchas fluorescentes con el mismo R_f también fueron acumulados para obtener el patrón estacional, conforme a las tres estaciones del año incluidas en el trabajo como sigue: primavera: marzo-mayo; verano: julio y agosto; otoño: septiembre. La acumulación de manchas fluorescentes con el

mismo Rf en los patrones mensuales también se siguió para obtener el patrón del régimen pluvial, considerando que la temporadas de secas incluye los meses de marzo-mayo y que la temporada de lluvias abarca los meses de julio-septiembre (Fig. 1a). Los patrones de los compuestos fluorescentes agrupados por patrón estacional y patrón del régimen pluvial se representan en la figura 2.

Resultados

El esfuerzo de captura fue de 5,040 horas/red para recolectar 30 machos adultos de *A. jamaicensis* (tres animales por mes en el 2008, mientras que en el 2009, se atraparon tres en abril, seis en julio, siete en agosto y cinco en septiembre). De estos individuos, 12 correspondieron a la primavera (marzo-mayo), 13 al verano (julio-agosto) y cinco al otoño (septiembre). Por cuanto al régimen pluvial, se capturaron 18 machos durante la temporada de lluvias y 12 en la de secas (Fig. 1). Con la excepción de uno, todos los machos de marzo presentaron testículos inguinales, mientras que la totalidad de los individuos capturados en los dos siguientes meses de la primavera (abril y mayo) tuvieron testículos inguinales, por lo que el 94.12% de los machos adultos mostraron testículos inguinales durante la temporada de secas (Fig. 1 b y c). En cambio, la mayoría (84%) de los atrapados en la época de lluvias, la cual incluye los meses del verano-otoño (julio-septiembre), tenían los testículos en el escroto, con la excepción de dos individuos atrapados en julio (Fig. 1 b y c).

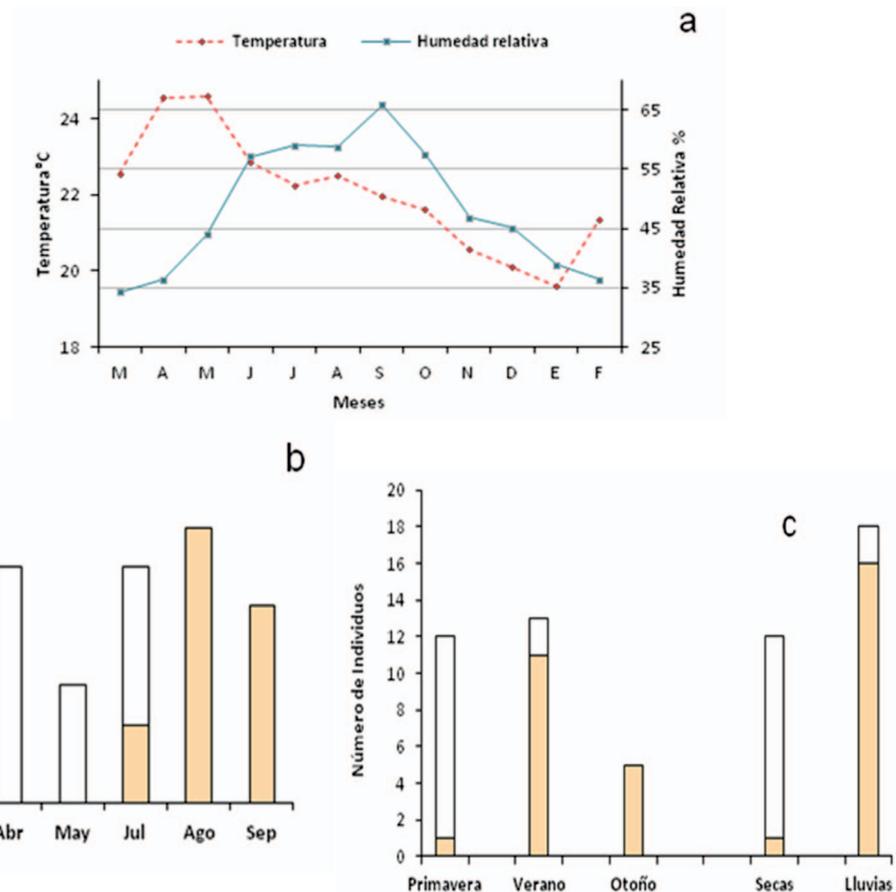


Figura 1. Comportamiento promedio del clima en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca y posición de los testículos en machos adultos de *Artibeus jamaicensis* examinados. (a) Patrón promedio de la temperatura y de la humedad relativa en los años 2008 y 2009 (<http://www.tutiempo.net>). Cuento de individuos con sus testículos en posición inguinal (barras blancas) o dentro del escroto (barras grises), conforme a los meses en que fueron capturados (b), así como a las estaciones del año o al régimen pluvial (c). Ver texto.

Los fitoestrógenos de referencia (FTER: GEN, ZEA y COU), utilizados en las cromatoplasmas como estándares de comparación, presentaron Rf característicos y constantes entre 0.65 y 0.8. Sin embargo, no se recuperaron manchas fluorescentes en ese intervalo en ninguna de las heces de los 30 machos examinados (Fig. 2). En cambio, sí se obtuvieron manchas correspondientes a compuestos fitoquímicos fluorescentes desconocidos (CFFD) a partir de las heces de los machos, cuyos Rf se ubicaron por abajo y arriba del intervalo de los FTER (Fig. 2). Tanto la presencia de los CFFD como sus Rf fueron consistentes en los dos patrones temporales examinados (Fig. 2), permitiendo obtener un escenario acumulado de las manchas correspondientes tanto al patrón de las tres estaciones del año (primavera = 3 manchas; verano = 1; otoño = 2) analizadas como al del régimen pluvial (temporada de secas = 3; temporada de lluvias = 2).

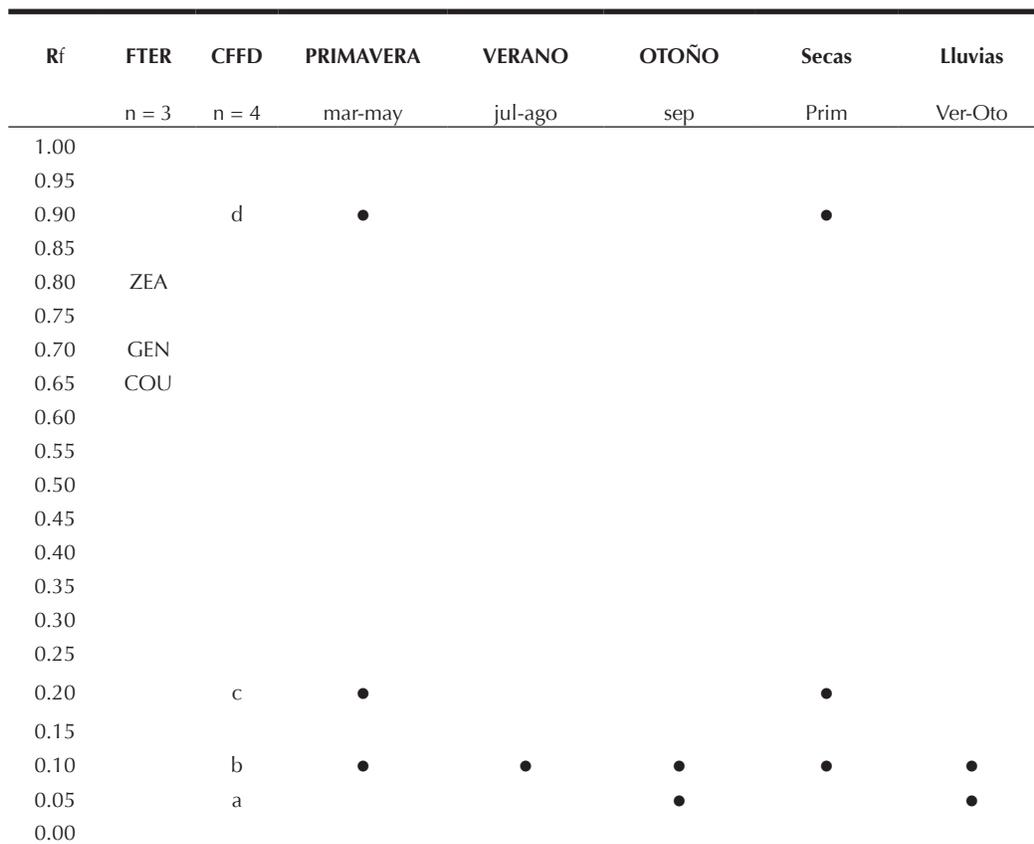


Figura 2. Patrón temporal, conforme a la estación del año y al régimen pluvial, de fitoquímicos fluorescentes, obtenidos en las heces de 30 machos adultos de *Artibeus jamaicensis*. Se representa una cromatoplasma típica, sintetizando la información de 60 cromatografías en capa fina. Los valores de Rf (distancia recorrida por el fitoquímico, respecto del frente de la fase móvil) indican las posiciones relativas de los fitoestrógenos de referencia (FTER) valorados (ZEA = Zealalenona, GEN = Genisteína, COU = Coumestrol), así como de los compuestos fitoquímicos fluorescentes desconocidos (CFFD), en donde las letras a-d asocian las manchas (•) con el mismo Rf. Se señalan las abreviaturas de los meses y estaciones incluidos en los patrones temporales correspondientes. Ver texto.

En el caso de las estaciones (Fig. 2), se encontraron cuatro CFFD con Rf diferentes (a-d en Fig. 2). El CFFD con la mayor polaridad sólo se encontró en el otoño (a, Rf = 0.05), mientras que el segundo CFFD con mayor polaridad, que fue el único en ser recuperado durante el verano (b, Rf = 0.1), se obtuvo también en las otras dos estaciones. En cambio, los dos CFFD obtenidos en la primavera exhibieron polaridades muy diferentes. Uno de ellos se mantuvo más cercano a la mayoría de los otros CFFD, aunque ligeramente por

encima de ellos (c, $R_f = 0.2$). El segundo CFFD de primavera (d, $R_f = 0.9$) fue el compuesto menos polar, superando notoriamente el recorrido alcanzado por la mayoría de los otros CFFD y, aunque se ubicó más cercanamente a los FTER, tuvo menor polaridad. Cuando los resultados fueron agrupados con base al régimen pluvial se encontraron tres CFFD en la temporada de secas (b-d en Fig. 2) que incluye los meses de la primavera (marzo-mayo), así como dos más (a-b en Fig. 2) durante la temporada de lluvias que incluye los meses del verano – otoño (julio – septiembre).

Discusión

Este es un estudio preliminar en el que nos propusimos verificar si podíamos detectar, mediante un método cualitativo y preparativo como la TLC, la presencia de FTE en las heces fecales de *A. jamaicensis*, asumiendo que si algunas de las frutas (cultivadas y silvestres) que consumen estos murciélagos los contienen en altas cantidades, podrían ser detectados en sus heces fecales. Nuestros análisis no apoyaron la presencia concreta de GEN, ZEA y COU en las heces de *A. jamaicensis* y la probable ausencia de estos tres FTER puede deberse, entre otras razones a: i) que los FTER efectivamente se encuentran presentes en el alimento del murciélago, pero sus concentraciones no fueron detectables en sus excretas (partes por millón), mediante el método analítico utilizado (TLC); ii) que quizá *A. jamaicensis* sí los consume, pero los metaboliza para inactivarlos como algunos roedores (Bosinovic y Novoa 1997) o se vale de microorganismos para hacerlo (Miyazawa et al. 2006; Karasov y Martínez del Río 2007), evitando así un efecto disruptor, o iii) que definitivamente no había este tipo particular de FTER en el alimento consumido por los individuos analizados, lo cual no implica que no hubiese otros FTE de los grupos de isoflavonas, lignanos y coumestanos, ya que se ha descrito una gran variedad en más de 16 órdenes de plantas que incluyen unas 63 familias (Ososki y Kennelly 2003; Mackova et al. 2006).

Por cuanto al método, la TLC ha sido usada en otros estudios con el mismo propósito (Pelissero et al. 1991; Lapěík et al. 1998; Pearce et al. 2003; Matseliukh et al. 2005; Miyazawa et al. 2006) en donde también se ha buscado la presencia de COU, ZEA y GEN, FTE que provocan disrupción endocrina en la biología reproductiva de otras especies (v.gr., Adams 1995; Romero et al. 1997; Muñoz-Mendoza et al. 2002). Sin embargo, aunque la TLC permite detectar compuestos con diferente polaridad (Pelissero et al. 1991; Lapěík et al. 1998; Pearce et al. 2003; Matseliukh et al. 2005; Miyazawa 2006), también es un método preparativo para realizar otros análisis cuantitativos *a posteriori* de los analitos separados (Mazur et al. 1996; Griffith y Collison 2001; Wu et al. 2003). En esa siguiente fase se usan técnicas con mayor sensibilidad, tales como la cromatografía líquida de alta resolución en combinación con luz ultravioleta (HPLC-UV por convención del inglés); cromatografía líquida junto con espectrometría de masas (LC-MS); la dilución de isótopos por cromatografía de gases y espectrometría de masas (ID-GC-MS).

Para discernir entre las otras dos posibilidades (ii, iii), es necesario abordar estudios más específicos sobre: a) la dieta del murciélago frutero jamaicano en el área de estudio y en la vegetación natural aledaña; b) el contenido de estos FTER en las plantas que efectivamente consume y c) el metabolismo de estos FTER en la especie, así como su posible efecto en la biología reproductiva de la misma. Con base en nuestros resultados,

tampoco podemos descartar del todo que *A. jamaicensis* no consuma los FTER porque se menciona su presencia, especialmente de GEN y de COU en higos (Lansky y Paavilainen 2011) y sus usos medicinales corresponden al comportamiento de estos compuestos (Watcho *et al.* 2009). No olvidemos que los higos son un componente sumamente importante en la dieta de *A. jamaicensis* a lo largo de su distribución (Morrison 1978a y b, Ortega y Arita 1999; Ortega y Castro-Arellano 2001; Rodríguez-Duran y Vázquez 2001). Además, estos compuestos han sido encontrados en todas las especies de frutales cultivados en el CIIDIR-Oaxaca: níspero (Kim *et al.* 2009), guayaba (Thomson *et al.* 2006), ciruela (Igwe *et al.* 2011), higo (Lansky and Paavilainen, 2011; Kuhnle *et al.* 2009) y dátiles (Ososki y Kennelly 2003; Kuhnle 2009), así como en plátanos (Thompson *et al.* 2006; Kuhnle *et al.* 2009), aguacate (Kuhnle *et al.* 2009) y mango (Khoo e Ismail 2008; Kuhnle *et al.* 2009), frutales presentes en los huertos de la zona aledaña al CIIDIR-Oaxaca. Sin embargo, no se ha realizado hasta ahora ningún estudio que confirme si la cantidad de FTE en estas frutas es suficientemente deleznable para no producir efectos disruptivos en la fisiología reproductiva del murciélago frutero jamaicano; de hecho, tampoco se sabe qué cantidad de FTE sería necesaria para producir una disrupción en la especie, o bien, si alguno de estos FTER (COU, ZEA y GEN) realmente le provocan disrupción endócrina. Pero es importante recordar que en otro filostómido sí producen alteraciones en su fisiología reproductiva (Serrano *et al.* 2007a).

Por otro lado, la presencia diferencial de manchas fluorescentes (a-d) en las heces, tanto por estaciones del año como por temporadas de lluvias y de secas (Fig. 2), tampoco permite descartar la presencia de isoflavonas, lignanos y/o cumestanos en las heces *A. jamaicensis*, compuestos de los cuales derivan los fitoestrógenos (Ososki y Kennelly 2003). El Rf y la fluorescencia de las diferentes manchas detectadas nos permiten suponer que pudiera tratarse de: a) precursores de FTE; b) otros FTE diferentes a los analitos de referencia y/o, c) formas modificadas (glucosiladas, sulfatadas o metiladas) de esos fitoquímicos que son más fácilmente eliminadas por la orina y las heces. Sobre esto, se menciona (http://cot.food.gov.uk/cotwg/wg_phyto) que las isoflavonas, lignanos y coumestanos son compuestos hidrofóbicos que requieren de cambios en su estructura antes de poder ser solubles en agua: i) las isoflavonas, al conjugarse con grupos de glucosa, glucuronatos o sulfatos, aumentan su solubilidad en agua, mientras que la acetilación o malonilación de los conjugados de glucosa y la metilación de la mitad de la isoflavona pueden alterar su solubilidad: bajo condiciones ácidas, las gluconas pueden desconjugarse para transformarse en agluconas, mientras que bajo condiciones ácidas o básicas, los grupos acetilo y malonilo pueden ser removidos; además, los grupos malonilo se pueden descarboxilar, dando lugar a grupos acetilo; en el cuerpo, las enzimas del intestino y del hígado pueden llevar a cabo estas reacciones durante el metabolismo; ii) la presencia de grupos prenilo hace que los coumestanos sean menos solubles que las isoflavonas; iii) los lignanos se presentan como polímeros de largas cadenas, por lo que sólo después de tratamiento químico pueden ser vistos como agluconas o glucósidos (Liggins *et al.* 2000); los lignanos son convertidos en los FTE enterolactona y enterodiol por la microflora (Axelson *et al.* 1982; Setchell y Adlercreutz 1988). Se han propuesto diferentes modelos por los que los organismos pueden estar metabolizando los FTE (Forbey *et al.* 2009) y, aunado a eso, la solubilidad de los FTER es importante, ya que nuestra especie modelo engulle la pulpa de la fruta o forma una masa

foliar en su boca, extrae los líquidos y expelle la mayor parte al vuelo, lo cual le permite obtener las proteínas suficientes de su alimento y le evita cargar prácticamente su peso al desplazarse (Morrison 1978b, 1980; Herrera et al. 2001).

En cualquier caso, las manchas de los CFFD obtenidas de las heces de *A. jamaicensis* en las cromatoplasmas, también sugieren que los insumos nutrimentales que conforman la dieta de este quiróptero filostómido, efectivamente contienen diferentes tipos de sustancias fluorescentes con un perfil particular, los cuales podrían corresponder a fitoquímicos del tipo FTE (Serrano et al. 2007b). En este orden de ideas, el hecho de que el CFFD b tenga un patrón independiente de la estación o del régimen pluvial (Fig. 2), libera la pregunta de si se trata de algún fitoquímico presente en frutos y hojas de plantas residentes en el ámbito hogareño del murciélago y que, por ende, suelen ser consumidas con mayor frecuencia por él. Tal es el caso de higos del género *Ficus* sp. en Panamá, Costa Rica y México (Morrison 1978a y b, 1980; Bonaccorso 1979; Flores-Martínez et al. 1999-2000; Rodríguez-Durán y Vázquez 2001; Ortega y Steers 2005; Acosta y Aguanta 2006), o de las hojas del búcare ceibo, *Erythrina poeppigiana* (Kunz y Diaz 1995), en Puerto Rico. Por su parte, la estacionalidad de los CFFD a y d para la temporada seca y del CFFD c para la temporada lluviosa, sugiere la presencia de fitoquímicos que sólo se encuentran en la primavera y el verano-otoño, respectivamente. Considerando el ámbito hogareño que se ha mencionado para el murciélago frutero jamaicano en su búsqueda de alimentos (Morrison 1978a y b, 1980), es posible que las plantas silvestres que pudieran contener estos compuestos se localicen en un radio de 3 km a 10 km, o más, y que muestren cambios fenológicos entre las temporadas de secas y de lluvias. De hecho, el bajo éxito de captura en este trabajo indica que sólo algunos individuos se aventuran alimentarse de los frutales en los huertos del CIIDIR-Oaxaca, mientras que la mayoría aparentemente permanece buscando sus alimentos en las zonas aledañas de vegetación conservada o alterada, en donde están presentes plantas como las mencionadas.

Lo que también resulta evidente de nuestro estudio, es que el patrón temporal de la presencia de CFFD en las heces de *A. jamaicensis* bien puede estar asociado a sus eventos reproductivos en la zona de estudio. Las variaciones en el perfil de los CFFD, detectados en las heces de los machos adultos del murciélago frutero jamaicano coinciden claramente con el cambio en la posición de sus testículos. Así, mientras que los tres CFFD de la temporada de secas (a, b y d), que corresponde a la primavera, están asociados con la posición inguinal de los testículos en la mayoría de los machos adultos, los dos CFFD (b y c) de la temporada de lluvias, que integra los meses de verano y otoño incluidos, lo hacen con la posición escrotal de los testículos en casi todos los machos adultos. Si se considera la posición de los testículos como indicativa de su estado reproductivo (Montiel et al. 2011), se podría derivar que en la zona del estudio, los machos se encuentran sexualmente activos durante las lluvias e inactivos en la época seca, respectivamente. En otra población de *A. jamaicensis* en una selva caducifolia, alterada por cultivos, en Yucatán (Ortega y Arita 1999; 2005), también los machos reproductores presentan los testículos en el escroto, tanto durante la transición de la época seca a la de lluvias como en el momento en que las lluvias son más copiosas. Es en estas condiciones cuando precisamente también ocurren el apareamiento y los nacimientos, ya que coinciden con el reverdecimiento de las hojas y la presencia de frutos

(Ortega y Arita 1999; 2005). En Panamá, la especie que corresponde al dosel arbóreo de selva tropical, también tiene un comportamiento poliéstrico estacional con su actividad reproductiva sincronizada con la fluctuación del régimen pluvial (Bonaccorso 1979). En cambio, la presencia de *A. intermedius*, en un humedal costero marcadamente estacional al NW de Yucatán, parece condicionar que el patrón poliéstrico del murciélago frutero jamaiquino sea independiente del régimen pluvial (Montiel *et al.* 2011). Nuestros datos sobre la posición de los testículos, sugieren que en la zona de este estudio, *A. jamaicensis* tendría un patrón monoéstrico estacional, pero además de contar con información más precisa de los machos tales como la producción y/o contenidos de hormonas sexuales, así como la presencia de espermatozoides en epidídimo y testículos (Salame-Méndez *et al.* 2004, 2008), es necesario obtener la información respectiva de las hembras para poder concluir definitivamente sobre esto.

Finalmente, aún cuando nuestros resultados son preliminares y, por lo mismo, no permiten establecer una respuesta concreta a las interrogantes planteadas en un inicio con base en los FTER, en cambio sí dan pauta a que se continúen otros estudios que aborden preguntas como estas: ¿habrá FTE en el alimento de *A. jamaicensis*? Y de ser el caso ¿qué procesos bioquímicos son los “encargados” de inactivarlos? (Forbey *et al.* 2009). Al igual que en otras especies de herbívoros, ¿será determinante la participación de los microorganismos de su flora intestinal para catabolizar a los FTE (Rowland 1988; Karazov y Martínez del Río 2007)? O bien, ¿será posible que la forma de comer de la especie (Morrison 1978a) evite que, aún de haber FTE en las plantas que consume, no entre en contacto con ellos, ya que si éstos no son solubles, se quedan en los restos de alimento que expele el animal? Además, de ser el caso, ¿cuáles podrían ser los efectos de los FTE sobre *A. jamaicensis*? Ya que los FTE pueden afectar desde la conducta hasta la morfo-fisiología como es el impactante caso de la lactancia en machos del megamurciélago frutero *Dyacopterus spadiceus* (Fackelmann 1994; Francis *et al.* 1994; Kunz y Hosken 2009). La solución a este tipo de preguntas con un enfoque bioquímico y/o microbiológico permitirá conocer otros aspectos relevantes de la ecofisiología de los quirópteros frugívoros, para entender cómo se establece el balance adaptativo obligatorio para que se cumplan sus necesidades alimentarias, por un lado, y para que se lleve a cabo su perpetuación, por el otro. Vistos como adaptación, ambos procesos (metabolismo de fitoquímicos y reproducción) son centrales al tema particular de la herbivoría y al tema más general de la relación planta-animal, ya que la variación de la accesibilidad, del tipo, la calidad y la cantidad de nutrientes vegetales disponibles para los herbívoros está relacionada con los cambios fenológicos de la vegetación a lo largo del tiempo en sus zonas de forrajeo; por ende, esta variación de los recursos alimenticios repercute en los procesos fisiológicos de los herbívoros, involucrados ya sea con su capacidad para soportar las épocas de secas, o que coadyuvan a desarrollar sus eventos reproductivos (McNab 2002). Como a su vez, la cantidad y calidad de los insumos de nutrientes y minerales cambian tanto estacionalmente como a lo largo del día (Weller y Cooper 2001; Moya Rodríguez *et al.* 2002; Ceconil *et al.* 2008), debido a variaciones metabólicas en las plantas, los herbívoros deben ser muy eficientes para obtener los nutrientes necesarios, pero también para inactivar las sustancias nocivas que pueden ingerir (Karazov y Martínez del Río 2007); es decir, que los herbívoros requieren de plasticidad espacio-temporal adaptativa para mantener su homeostasis,

de tal manera que puedan evitar disrupciones fisiológicas, asociadas a diversos tipos de estrés (McNab 2002), lo cual puede estar relacionado con su metabolismo y/o con su conducta (Fackelmann 1994; Francis et al. 1994; Kunz y Hosken 2009).

Agradecimientos

Queremos reconocer la asistencia de G. M. Valdez Gómez en la captura de los animales, así como el apoyo recibido en el laboratorio por L. Zamora Torres y en la elaboración de la figura 1 por A. R. Jiménez Gutiérrez. Este trabajo involucró la formación de recursos humanos (KOO y JJEF), a través de dos servicios sociales de la Licenciatura en Biología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud (DCBS), UAM, Unidad Iztapalapa (UAM-I); asimismo, los ejemplares fueron capturados para otros estudios desarrollados en un proyecto de tesis de posgrado (FHG) en la Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales. Especialidad en Biodiversidad del Neotrópico, CIIDIR-Oaxaca, IPN. Este trabajo fue parcialmente financiado por la DCBS, UAM-I, a través del proyecto 1440318 (ASM), así como por la Secretaría de Investigación y Posgrado del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Unidad Oaxaca, IPN, a través del proyecto 20080575 (MABS). MABS agradece al SNI y a la COFAA y EDI del IPN por el apoyo brindado.

Referencias

- ACOSTA, L., Y F. AGUANTA. 2006. Un nuevo aporte al conocimiento de la dieta de los murciélagos frugívoros *Artibeus lituratus* y *A. jamaicensis*. *Kemppfiana* 2:127–133.
- ADAMS, N. R. 1995. Detection of the effect of phytoestrogens on sheep and cattle. *Journal of Animal Science* 73:1509–1515.
- ARTHAN, D., J. SVASTI, P. KITTA KOOP, D. PITTAYAKHACHONWUT, M. TANTICHAROEN, Y Y. THEBTARANONTH. 2002. Antiviral isoflavonoid sulfate and steroidal glycosides from the fruits of *Solanum torvum*. *Phytochemistry* 59:459–463.
- AXELSON, M., J. SJOVALL, B. E. GUSTAFSSON, Y K. D. SETCHELL. 1982. Origin of lignans in mammals and identification of a precursor from plants. *Nature* 298:659–660.
- BONACCORSO, F. J. 1979. Foraging and reproductive ecology in a Panamanian bat community. *Bulletin of the Florida State Museum, Biological Sciences Series* 24:359–408.
- BOSINOVIC, F., AND F. F. NOVOA. 1997. Metabolic costs of rodents feeding on plant chemical defenses: a comparison between an herbivore and an omnivore. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular and Integrative Physiology* 117A:511–514.
- BRONSON, F. H., Y P. D. HEIDEMAN. 1994. Seasonal regulation of reproduction in mammals. Pp. 541–583 in *The Physiology of Reproduction* (Knobil, E., y J. D. Neil, eds.). Segunda edición Raven Press, New York, EE.UU.
- CECONIL, I., J. C. ELIZALDE, Y M. G. AGNUSDEI. 2008. Variación diurna de los componentes de la materia seca de raigrás anual (*Lolium multiflorum* L.) en tres ciclos de crecimiento. *Agromercado* 143:37–38.
- CHASQUIBOL, S. N., L. LENGUA-C., I. DELMÁS, D. RIVERA-C., D. BAZÁN, R. AGUIRRE-M., Y M. BRAVO-A. 2003. Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química* 5:9–20.

- COLEY, P. D., y J. A. BARONE.** 1996. Herbivore and plant defenses in tropical forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:305–335.
- CONABIO. S/A.** RTP 130 en Regiones Terrestres Prioritarias. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rtp_130.pdf).
- CONABIO.** 2010. Vegetación del estado de Oaxaca, México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (<http://www.conabio.gob.mx/>).
- FACKELMANN, K. A.** 1994. Real males that lactate: A batty story. *Science News* 10:145–148.
- FLEMING, T. H.** 1971. *Artibeus jamaicensis*: delayed embryonic development in a Neotropical bat. *Science* 171:402–404.
- FLORES-CRESPO, R.** 1978. La rabia, los murciélagos y el control de los hematófagos. *Ciencia Veterinaria* 2:38–70.
- FLORES-CRESPO R., S. SAID-FERNÁNDEZ, D. DE ANDA-LÓPEZ, F. IBARRA-VELARDE, y R. M. ANAYA-DÁVILA GARIBI.** 1979. Nueva técnica para el combate de los vampiros: Warfarina por vía intramuscular al ganado bovino. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* 87:283–297.
- FLORES-MARTÍNEZ, J. J., J. ORTEGA, y G. IBARRA-MANRÍQUEZ.** 1999-2000. El hábito alimentario del murciélago zapotero (*Artibeus jamaicensis*) en Yucatán. *Revista Mexicana de Mastozoología* 4:22–39.
- FORBEY, J. S., A. L. HARVEY, M. A. HUFFMAN, F. D. PROVENZA, R. SULLIVAN, y D. TASDEMIR.** 2009. Exploitation of secondary metabolites by animals: A response to homeostatic challenges. *Integrative and Comparative Biology* 49:314–328.
- FRANCIS, C. M., E. L. P. ANTHONY, J. A. BRUNTON, y T. H. KUNZ.** 1994. Lactation in male fruit bats. *Nature* 367:691–692.
- GALINDO-GONZÁLEZ, J.** 1998. Dispersión de semillas por murciélagos: su importancia en la conservación y regeneración del bosque tropical. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.) 73:57–74.
- GALINDO-GONZÁLEZ, J.** 2004. Clasificación de los murciélagos de la región de los Tuxtlas, Veracruz, respecto a su respuesta a la fragmentación del hábitat. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.) 20:239–243.
- GÓMEZ-POMPA, A., y C. VÁZQUEZ-YANES.** 1985. Estudios sobre la regeneración de selvas en regiones cálido-húmedas de México. Pp. 191–239 in: *Investigaciones sobre la Regeneración de Selvas Altas en Veracruz* (Gómez-Pompa, A., y S. del Amo, eds.). Alhambra Mexicana, Ciudad de México, México.
- GRANADOS-SÁNCHEZ, D., P. RUIZ-PUGA, y H. BARRERA-ESCORCIA.** 2008. Ecología de la herbivoría. *Revista Chapingo* 14:51–63.
- GRIFFITH, A. P., y M. W. COLLISON.** 2001. Improved methods for the extraction and analysis of isoflavones from soy-containing foods and nutritional supplements by reverse phase high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 913:397–413.
- HEITHAUS, E. R., y T. H. FLEMING.** 1978. Foraging movements of a frugivorous bat *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). *Ecological Monographs* 48:127–143.

- HERRERA M., G., L., K. A. HOBSON, L. MIRÓN M., N. RAMÍREZ P., G. MÉNDEZ C., Y V. SÁNCHEZ-CORDERO.** 2001. Sources of protein in two species of phytophagous bats in a seasonal dry forest: Evidence from stable-isotope analysis. *Journal of Mammalogy* 82:352–361.
- HTTP://WWW.TUTIEMPO.NET.** AirForceDatsav3stationnumber(USAF):767755;International Civil Aviation Organization (ICAO) call sign: MMOX, +17.000, -96.717, 1521 msnm (http://www.tutiempo.net/clima/Oaxaca_Xoxocotlan/2008/767755.htm). Página consultada, enero 2012.
- HTTP://COT.FOOD.GOV.UK/COTWG/WG_PHYTO/.** Grupo de Trabajo para Fitoestrógenos del Comité sobre Toxicidad de Químicos (COT del inglés) en los productos consumidos por el consumidor y el ambiente del Reino Unido.
- INEGI.** 2010. La vegetación en el Municipio de Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca (<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/oax/default.aspx?tema=me&e=20>).
- IGWE, C. U., V. A. ONWULIRI, G. O. C. ONYEZE, Y C. G. OSUAGWU.** 2011. Spasmogenic activity of ethanolic leaf extract of *Spondias Mombin* Linn on isolated uterine muscle strips of rat: possible hormonal mechanism of action. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 7:228–233.
- KARASOV, W. H., Y C. MARTÍNEZ DEL RÍO.** 2007. *Physiological Ecology. How Animals Process Energy, Nutrients, and Toxins.* Princeton University Press. New Jersey, EE.UU.
- KHOO, H. E., Y A. ISMAIL.** 2008. Determination of daidzein and genistein contents in *Mangifera* fruit. *Malaysian Journal of Nutrition* 14:189–198.
- KIM, M. S., M. K. YOU, D. Y. RHUY, Y. J. KIM, H. Y. BAEK, Y H. A. KIM.** 2009. Loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts suppress the adhesion, migration and invasion of human breast cancer cell line. *Nutrition Research and Practice* 4:259–264.
- KUHNLE, G. G. C., C. DELL'AQUILA, S. M. ASPINALL, S. A. RUNSWICK, A. M.C.P. JOOSEN, A. A. MULLIGAN, Y S. A. BINGHAM.** 2009. Phytoestrogen content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC–MS and ¹³C-labelled standards. *Food Chemistry* 116:542–554.
- KUNZ, T. H., Y C. A. DIAZ.** 1995. Folivory in Fruit-Eating Bats, with new evidence from *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Biotropica* 27:106–120.
- KUNZ, T. H., Y D. J. HOSKEN.** 2009. Male lactation: why, why not and is it care? *Trends in Ecology and Evolution* 24:80–85.
- KUNZ, T. H., C. WEMMER, Y V. HAYSEN.** 1996. Sex, age, and reproduction. Pp. 279–290 in *Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Mammals* (Wilson, D. E., F. R. Cole, J. D. Nichols, R. Pudran y M. S. Foster, eds.). Smithsonian Institution Press, Washington, EE.UU.
- LANSKY, E. P., Y H. M. PAAVILAINEN.** 2011. *Figs. The Genus Ficus. Traditional Herbal Medicines for Modern Times.* CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Ratón, EE.UU.
- LAPĚÍK, O., M. HILL, R. HAMPL, K. WÄHÄLÄ, Y H. ADLERCREUTZ.** 1998. Identification of isoflavonoids in beer. *Steroids* 63:14–20.

- LIGGINS, J., L. J. C. BLUCK, S. RUNSWICK, C. ATKINSON, W. A. COWARD, Y S. A. BINGHAM. 2000. Daidzein and genistein content of fruits and nuts. *Journal of Nutritional Biochemistry* 11:326–331.
- MACKOVA, Z., R. KOBLOVSKA, Y O. LAPĚIK. 2006. Distribution of isoflavonoids in non-leguminous taxa. An update. *Phytochemistry* 67:849–865.
- MANCINA, C., Y J. SÁNCHEZ. 2001. Efecto de la actividad trófica de *Artibeus jamaicensis* (Mammalia: Chiroptera) sobre la dispersión de *Andira inermis* (Leguminosae). *Revista Biología* 15:81–86.
- MANZANERO, M. G. I., Y A. M. FLORES. 2000. La colección del Jardín Botánico Regional “Casiano Conzatti” del CIIDIR-IPN-Oaxaca. *Avances en Ciencia y Tecnología* 5:32–41.
- MATSELIUKH, B. P., L. V. POLISHCHUK, V. V. LUTCHENKO, O. I. BAMBURA, Y O. P. KOPIYKO. 2005. Synthesis of daidzein and genistein by streptomycetes and their effect on production of antibiotics. *Mikrobiolohichnī Zhurnal* 67:12–21.
- MAZUR, W. M., T. FOTSIS, K. WÄHÄLÄ, S. OJALA, A. SALAKKA, Y H. ADLERCREUTZ. 1996. Isotope-dilution gas-chromatographic mass-spectrometric method for the determination of isoflavonoids, coumestrol and lignans in food samples. *Journal of Analytical Biochemistry* 233:169–180.
- MCNAB, B. K. 2002. *The Physiological Ecology of Vertebrates*. Comstock Publishing Associates. Cornell University Press, Ithaca, EE.UU.
- MEDELLÍN, R. A. 1993. Estructura y diversidad de una comunidad de murciélagos en el trópico húmedo mexicano. Pp. 333–354 in *Avances en el Estudio de los Mamíferos de México* (Medellín, R. A., y G. Ceballos, eds.). Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C. Ciudad de México, México.
- MEDELLÍN, R. A., H. T. ARITA, Y O. SÁNCHEZ. 1997. Identificación de los Murciélagos de México. Clave de Campo. Publicaciones Especiales Núm. 2. Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C. Ciudad de México, México.
- MINERVINI, F., Y M. E. DELL’AQUILA. 2008. Zearalenone and reproductive function in farm animals. *International Journal of Molecular Sciences* 9:2570–2584.
- MIYAZAWA, M., K. TAKAHASHI, Y H. ARAKI. 2006. Biotransformation of daidzein ditiglate by microorganisms. *Natural Product Research* 20:311–315.
- MONTIEL, S., A. ESTRADA, Y P. LEON. 2011. Reproductive seasonality of Fruit-Eating Bats in northwestern Yucatan, Mexico. *Acta Chiropterologica* 13:139–145.
- MORITO, K., T. AOMORI, T. HIROSE, J. KINJO, J. HASEGAWA, S. OGAWA, S. INOUE, M. MURAMATSU E, Y Y. MASAMUNE. 2002. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alfa and beta (II). *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 25:48–52.
- MORRISON, D. W. 1978a. Foraging ecology and energetics of the frugivorous bat *Artibeus jamaicensis*. *Ecology* 59:716–723.
- MORRISON, D. W. 1978b. Influence of habitat on the foraging distances of the Fruit Bat, *Artibeus jamaicensis*. *Journal of Mammalogy* 59:622–624.
- MORRISON, D. W. 1980. Efficiency of food utilization by fruit bats. *Oecologia* 45:270–273.
- MOYA RODRÍGUEZ, J. G., R. G. RAMÍREZ LOZANO, R. FOROUGHBAKHCH P., L. HÁUAD MARROQUÍN, Y H. GONZÁLEZ RODRÍGUEZ. 2002. Variación estacional de minerales en las hojas de ocho especies arbustivas. *Ciencia Universidad Autónoma de Nuevo León* 5:59–65.

- MUÑOZ-MENDOZA, R., A. L. MURILLO-MEDINA, J. F. PÉREZ-GUTIÉRREZ, Y A. CÓRDOVA-IZQUIERDO. 2002. Parámetros reproductivos en vacas Holstein alimentadas con alfalfa alta en cumestrol. *Archivos de Zootecnia* 51:373–376.
- ORTEGA, J., Y H. ARITA. 1999. Structure and social dynamics of harem groups in *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy* 80:1173–1185.
- ORTEGA, J., Y H. ARITA. 2005. Estructura social y movimientos de los murciélagos zapoteros (*Artibeus jamaicensis*) en un ambiente poligínico. Pp. 373–384 in *Contribuciones Mastozoológicas en Homenaje a Bernardo Villa* (Sánchez-Cordero, V., y R. A. Medellín, eds.). Instituto de Biología e Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Ciudad de México, México.
- ORTEGA, J., Y I. CASTRO-ARELLANO. 2001. *Artibeus jamaicensis*. *Mammalian Species* 662:1–9.
- ORTEGA, R. J., Y G. STEERS. 2005. *Artibeus jamaicensis* (Leich, 1821). Pp. 228–230 in *Los Mamíferos de México* (Ceballos, G., y G. Oliva, coords.). Fondo de Cultura Económica, Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Ciudad de México, México.
- OSOSKI, A. L., Y E. J. KENNELLY. 2003. Phytoestrogens: a review of the present state of research. *Phytotherapy Research* 17:845–869.
- PALACIOS, S. 2002. Fitoestrógenos. Ed. Harcourt Elsevier Science. Madrid, España.
- PEARCE, V., Z. NAWAZ, W. XIAO, D. WIEDENFELD, N. BOYLE, Y D. SMITH. 2003. 4-ethoxymethylphenol: a novel phytoestrogen that acts as an agonist for human estrogen receptors. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 84:431–439.
- PELISSERO, C., B. BENNETAU, P. BABIN, F. LE MENN, Y J. DUNOGUES. 1991. The estrogenic activity of certain phytoestrogens in the Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 38:293–299.
- PÉREZ-RIVERO, J. J., A. AGUILAR-SETIÉN, J. J. MARTÍNEZ-MAYA, M. PÉREZ-MARTÍNEZ, Y H. SERRANO. 2007. Los fitoestrógenos y el efecto de su consumo en diferentes órganos y sistemas de animales domésticos. *Agricultura Técnica* 67:325–331.
- PÉREZ-RIVERO, J. J., J. J. MARTÍNEZ-MAYA, M. PÉREZ-MARTÍNEZ, A. AGUILAR-SETIÉN M. D. GARCÍA-SUÁREZ, Y H. SERRANO. 2009. Phytoestrogen treatment induces testis alterations in dogs. Potential use in population control. *Veterinary Research Communications* 33:87–95.
- PMD 2011-2013. Plan Municipal de Desarrollo de Santa Cruz Xoxocotlán 2011-2013 (<http://es.scribd.com/doc/75010047/XOXOCOTLAN-PMD-2011-2013>).
- RAMOS, G., P. FRUTOS, F. J. GIRADÉZ, Y A. R. MANTECÓN. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Archivos de Zootecnia* 47:597–620.
- RODRÍGUEZ-DURÁN, A., Y R. VÁZQUEZ. 2001. Ecology of an Antillean population of Jamaican fruit-eating bats: Seasonal variations in diet, patterns of activity, and response to disturbance caused by hurricanes. *Acta Chiropterologica* 3:53–61.
- ROMERO, C., R. TARRAGÓ, R. MUÑOZ, R. ARISTA, Y A. ROSADO. 1997. Síndrome estrogénico en vacas lecheras por consumo de alfalfas con grandes cantidades de coumestrol. *Veterinaria México* 28:25–30.

- ROMERO-ALMARAZ, M. L., A. AGUILAR-SETIÉN, Y C. SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ.** 2006. Murciélagos benéficos y vampiros: características, importancia, rabia, control y conservación. AGT Editor, S. A., Ciudad de México, México.
- ROWLAND, I. R (ED.).** 1988. Role of the Gut Flora in Toxicity and Cancer. Academic Press Ltd., San Diego, EE.UU.
- SADLEIR, R. M. F. S.** 1969. The Ecology of Reproduction in Wild and Domestic Mammals. Methuen and Co. Ltd. London. Reino Unido.
- SALAME-MÉNDEZ, A., R. M. VIGUERAS-VILLASEÑOR, L. ALTAMIRANO-LEÓN, J. HERRERA-MUÑOZ, Y A. CASTRO-CAMPILLO.** 2004. Análisis histológico del epitelio seminífero y del contenido de testosterona en testículos del *Peromyscus diffcilis* (Rodentia: Muridae) de diferentes edades. Pp. 149–160 in: Homenaje a la Trayectoria Mastozoológica de José Ramírez Pulido (Castro-Campillo, A., y J. Ortega, eds.). Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Ciudad de México, México.
- SALAME-MÉNDEZ, A., R. M. VIGUERAS-VILLASEÑOR, L. ALTAMIRANO-LEÓN, J. HERRERA-MUÑOZ, Y A. CASTRO-CAMPILLO.** 2008. Production of testosterone in the testes of two species of *Peromyscus* (Rodentia: Muridae) during lowered sexual activity. Pp. 311–321 in Avances en el Estudio de los Mamíferos de México (Lorenzo, C., E. Espinoza, y J. Ortega, eds.). Publicaciones Especiales, Vol. II, Asociación Mexicana de Mastozoológica, A. C., Ciudad de México, México.
- SERRANO, D., M. E., M. LÓPEZ LÓPEZ, Y T. S. SAINZ ESPUÑES.** 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas 37:58–68.
- SERRANO, H., J. J. PÉREZ-RIVERO, A. AGUILAR-SETIÉN, O. DE PAZ, Y A. VILLA-GODOY.** 2007a. Vampire bat reproductive control by a naturally occurring phytoestrogen. Reproduction Fertility and Development 19:470–472.
- SERRANO, H., J. J. PÉREZ-RIVERO, J. J. MARTÍNEZ MAYA, A. AGUILAR SETIÉN, M. PÉREZ MARTÍNEZ, Y M. D. GARCÍA-SUÁREZ.** 2007b. Fluorescence and immunohistological detection of estrogen receptors in dog testis and epididymis after oral coumestrol administration. Neuroendocrinology Letters 29:977–980.
- SETCHELL, K. D. R., Y H. ADLERCREUTZ.** 1988. Mammalian lignans and phyto-estrogens recent studies on their formation, metabolism and biological role in health and disease. Pp. 315–345 in: Role of the Gut Flora in Toxicity and Cancer (Rowland, I. R ed.). Academic Press Ltd., San Diego, EE.UU.
- THOMPSON, L. U., B. A. BOUCHER, Z. LIU, M. COTTERCHIO, Y N. KREIGER.** 2006. Phytoestrogen content of foods consumed in Canada, including isoflavones, lignans, and coumestan. Nutrition and Cancer 54:184–201.
- VAN TIENHOVEN, A.** 1983. Reproductive Physiology of Vertebrates. Cornell University Press. Ithaca, EE.UU.
- WATCHO, P., E. NGADJUI, N. E. P ALANGO, N. T. BENOÎT, Y A. KAMANYI.** 2009. Reproductive effects of *Ficus asperifolia* (Moraceae) in female rats. African Health Sciences 9:49–53.
- WELLER, R. F., Y A. COOPER.** 2001. Seasonal changes in the crude protein concentration of mixed swards of white clover/perennial ryegrass grown without fertilizer N in an organic farming system in the United Kingdom. Grass and Forage Science 56:92–95.

WU, Q, M. WANG, Y J. E. SIMON. 2003. Determination of isoflavones in red clover and related species by high performance liquid chromatography combined with ultraviolet and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1016:195–209.

Sometido: 31 de octubre de 2011

Revisado: 4 de enero de 2012

Aceptado: 16 de febrero de 2012

Editor asociado: Juan Pablo Gallo

Diseño gráfico editorial: Gerardo Hernández