



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**COMPOSICIÓN DE COMUNIDADES ENTEROBACTERIANAS EN
PHYLLOSTOMIDAE**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

MARIO CARRILLO ARAUJO

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LUISA I FALCÓN ÁLVAREZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
COMITÉ TUTOR: DR. RODRIGO ANTONIO MEDELLÍN LEGORRETA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
DR. JORGE ERNESTO SCHONDUBE FRIDEWOLD
CIECO

MÉXICO, D.F. MARZO, 2014.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**COMPOSICIÓN DE COMUNIDADES ENTEROBACTERIANAS EN
PHYLLOSTOMIDAE**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

MARIO CARRILLO ARAUJO

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LUISA I FALCÓN ÁLVAREZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: DR. RODRIGO ANTONIO MEDELLÍN LEGORRETA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

DR. JORGE ERNESTO SCHONDUBE FRIDEWOLD
CIECO

MÉXICO, D.F. MARZO, 2014.

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

Me permito informar a usted que el Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática, en su sesión ordinaria del día 29 de septiembre de 2014, aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **CARRILLO ARAUJO MARIO** con número de cuenta **98080740** con la tesis titulada "**Composición de comunidades enterobacterianas en Phyllostomidae**", realizada bajo la dirección de la **DRA. LUISA ISABELA FAJON ALVAREZ**:

Presidente:	DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA
Vocal:	DRA. ANA ELENA ESCOBAR HERNÁNDEZ
Secretario:	DR. RODRIGO ANTONIO MEDCLÍN LEGORRETA
Suplente:	DR. RENE DE JESUS CÁRDENAS VÁZQUEZ
Suplente:	DR. JORGE ERNESTO SCHONDUPE FRIEDEMOLD

En otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 03 de diciembre de 2014

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (a) interesado (a)

Agradecimientos Institucionales

Primeramente al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

A continuación al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca proporcionada para la realización de esta Maestría.

A los miembros del Comité Tutorial:

A mi asesora la Dra. Luisa I. Falcón Álvarez por aceptar con gusto este proyecto y dedicarme parte de su valioso tiempo.

Dr. Rodrigo A. Medellín Legorreta por su apoyo en la captura de las especies de murciélagos en este proyecto y por su apoyo en la investigación de las mismas.

Dr. Jorge E Schondube Friedewold por sus aportaciones a este proyecto que ayudaron al desarrollo e integración del mismo.

Agradecimientos personales

Me gustaría poder escribir todo el agradecimiento que en realidad siento a muchos de ustedes y también, antes que nada, una disculpa a quien olvide escribir en esta tesis y sabe que está presente:

A mi familia:

Agradezco a mi madre Reyna Araujo Ramírez porque eres motivo de orgullo, a mi padre a quien pienso constantemente, a Christian Unterspann por apoyarme durante todos estos años, nunca dejare de admirarte. A Gabriela por darme fuerza y apoyo, a mis hermanos Antonio, Pablo, Raimundo, y Alejandro por estar siempre. A mis sobrinos Mauricio, Karen, Laura, Mocha, Luis, Pablo, Tonatiuh, Gael, Valeria, Lorena, Arantza, Raimundo, Michel, Alessandro, Diego, Santiago, Bruno, Alex y a Cuchu por formar parte de mi familia.

A mi laboratorio y a quien ayudo en la elaboración de esta tesis:

Agradezco a mi asesora en primer lugar por aceptarme con este proyecto y también por su ayuda en lo profesional y en lo personal, por su interés en mi proyecto muchas gracias Dra. Luisa Falcón.

A la Dra. Rocio J. Alcantara por todo tu apoyo, eres una gran amiga y una gran compañera.

A mis compañeros Téc. Osiris Gaona por todo tu apoyo en campo y laboratorio, Patricia Valdespino por escucharme por más días de Delirio. Por tu ayuda en los sistemas gracias Daniel Cerqueda se te aprecia, Octavio Moreno por tu ayuda y a los que han hecho de este laboratorio un gran lugar Dra Ma. De la Paz, Yislem Beltrán, Mónica Camacho, Karla Centeno y a todos los nuevos integrantes. Alma Moreno y Cecilia Thalia por tu apoyo en el campo, a la Dra. Leticia Mirón por su apoyo en laboratorio. A Erika Rodriguez Reyes por su apoyo en la tramitología y a todos los que hacen posible el funcionamiento del Instituto de Ecología.

A la Dra Janet K Jansson y a Dra. Neslihan Tas del Lawrence Berkeley National Laboratory por su ayuda con este proyecto.

A mis amigos que tanto aprecio y admiro:

A Dr. Edgar J. Gonzales, Dr Jaime Becerra, Nina Kretschmer, Silke y Manu Biermeier porque esta amistad perdure no importando las distancias ni los idiomas, a Arisbeth Roman, Esther Arce, Christian, Yanelli, Felipe Rincón, Claudia Delgado, Lilia Islas, Andrés Ocampo, Alejandro Hernández, a los hermanos Ventura Othon, Claudia y Liliana. A Alejandra Cavazos, Canek Rivera, Ericka Maldonado, Jose Luis Méndez y Raúl Urban. Leticia Muñoz, Roxana, a Eduardo Carrillo por estar en mi vida.

“El individuo ha luchado siempre para no ser absorbido por la tribu. Si lo intentas, a menudo estarás solo y a veces asustado. Pero ningún precio es demasiado alto por el privilegio de ser uno mismo”

Friedrich Nietzsche.

Introducción	1
La familia Phyllostomidae.	2
Justificación.	3
Antecedentes	4
Modelo de estudio: La familia Phyllostomidae	4
La digestión dentro de Phyllostomidae	4
Murciélagos Insectívoros	5
<i>Macrotus waterhousii</i>	6
Murciélagos Hematófagos.	6
<i>Desmodus rotundus</i>	7
Murciélagos Frugívoros.	8
<i>Artibeus jamaicensis</i>	8
<i>Carollia perspicillata</i>	9
Murciélagos Nectarívoros.	9
<i>Glossophaga soricina</i>	11
<i>Leptonycteris yerbabuenae</i>	11
Objetivos	13
Objetivo general.	13
Objetivos particulares.	13
Materiales y Métodos	14
Captura de los murciélagos en campo.	14
Extracción de ADN.	15
Secuenciación.	16
Análisis de datos y estadístico.	17

Resultados	18
Diversidad y estructura bacteriana en <i>Phyllostomidae</i>	18
Composición del microbioma.	22
Archaea.	22
Bacteria.	23
Agrupación de las comunidades predominantemente bacterianas.	27
Discusión	31
Microbioma en Filostómidos.	31
<i>Macrotus waterhousii</i>	32
<i>Desmodus rotundus</i>	33
<i>Carollia perspicillata</i>	33
<i>Artibeus jamaicensis</i>	34
<i>Glossophaga soricina</i>	34
<i>Leptonycteris yerbabuena</i>	35
Disbiosis por la dieta en Filostómidos.	35
Conclusión	37
Perspectivas.	38
Bibliografía	39

Índice de figuras y tablas

Figura 1 <i>C. perspicillata</i> en lactancia.	8
Figura 2 Sitios de colecta: cueva de Las Vegas donde se encontró <i>A. jamaicensis</i> , <i>D. rotundus</i> , <i>C. perspicillata</i> , <i>G. soricina</i> , <i>L. yerbabuena</i> ; El Huarache la única especie que se colectó fue <i>M. waterhousii</i>	15
Figura 3 Curva de rarefacción de OTUs observados en seis especies de murciélagos. (Figuras para región intestinal, en anexo).	18
Figura 4 Estructura de la diversidad del microbioma medida con índices de diversidad en tres secciones del intestino de murciélagos filostómidos.	20
Figura 5 Composición de las comunidades predominantemente bacterianas en seis especies de murciélagos filostómidos. Esquema del intestino modificado de Kovatcheva-Datchary 2013[37].	21
Figura 6 Correlaciones entre el largo del intestino y a) la longitud del antebrazo y b) el peso de murciélagos filostómidos.	22
Figura 7 Arqueas encontradas en el microbioma de los murciélagos.	23
Figura 8 Composición de los grupos más representativos en el intestino de murciélagos filostómidos.	25
Figura 9 PCoA (Análisis de componentes principales) en distintas regiones del intestino de murciélagos con diferentes estrategias alimenticias.	27
Figura 10 UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) que muestra la relación del microbioma en diferentes secciones del intestino de murciélagos filostómidos.	29
Figura 11 UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) que muestra la relación del microbioma en diferentes secciones del intestino de murciélagos filostómidos.	37
Tabla 1. Se muestran diferentes índices de diversidad y datos generales de las seis especies de murciélagos filostómidos.	19
Tabla 2 Análisis multivariado en murciélagos filostómidos.	28

Anexos

Mapa de datos

Datos y sitios de colecta

Gráfico de composición por sección de intestino.

Curvas de rarefacción de diferentes índices de diversidad para la estrategia alimenticia en murciélagos.

Estimadores de diversidad utilizados.

Resumen

Los miembros de Phyllostomidae, la familia de murciélagos con hoja nasal del nuevo mundo, muestran una gran diversificación de estrategias en la dieta incluida la insectivoría, como la característica ancestral, seguida por la aparición de la carnivoría y las dietas a base de plantas como son la nectarivoría y la frugivoría. Aquí exploramos la composición del microbioma de diferentes especialistas alimentarios, incluyendo el insectívoro *Macrotus waterhousii*, el hematófago *Desmodus rotundus*, los nectarívoros *Leptonycteris yerbabuena* y *Glossophaga soricina* y los frugívoros *Carollia perspicillata* y *Artibeus jamaicensis*. Se amplificó la región V4 del gen 16S rRNA de tres regiones intestinales de tres individuos por especie y analizamos la composición y estructura de la comunidad con diversidad alfa y beta. Los murciélagos con dietas basadas en plantas tienen microbiomas con baja diversidad, mientras que el hematófago *D. rotundus* tiene el microbioma más diverso. No se encontraron diferencias significativas en la composición del microbioma entre las diferentes regiones del intestino dentro de cada individuo. Los herbívoros muestran menos especificidad en la composición de su microbioma, mientras especialistas basados en dietas animales, son los más diversos de todos y mostraron una disposición más agrupada de sus componentes bacterianos intestinales. La principal característica definiendo la composición del microbioma en filostómidos fue la especie y el tipo de alimentación. Este estudio muestra cómo las diferencias en estrategias alimenticias contribuyen al desarrollo de diferentes microbiomas intestinales en Phyllostomidae.

Abstract

The members of the Phyllostomidae, the New-World leaf-nosed family of bats, show a remarkable evolutionary diversification of dietary strategies including insectivory, as the ancestral trait, followed by appearance of carnivory and plant-based diets such as nectarivory and frugivory. Here we explore the microbiome composition of different feeding specialists, including the insectivore *Macrotus waterhousii*, sanguivore *Desmodus rotundus*, nectarivores *Leptonycteris yerbabuena* and *Glossophaga soricina*, and frugivores *Carollia perspicillata* and *Artibeus jamaicensis*. The V4 region of the 16S rRNA gene from three intestinal regions of three individuals per species was amplified and community composition and structure was analyzed with α and β diversity metrics. Bats with plant-based diets had low diversity microbiomes, whereas the sanguivore *D. rotundus* had the most diverse microbiome. There were no significant differences in microbiome composition between different intestine regions within each individual. Plant-based feeders showed less specificity in their microbiome compositions, whereas animal-based specialists, although more diverse overall, showed a more clustered arrangement of their intestinal bacterial components. The main characteristics defining microbiome composition in phyllostomids was feeding type and species. This study shows how differences in feeding strategies contributed to the development of different intestinal microbiomes in Phyllostomidae.

Introducción

El microbioma es el conjunto de genomas microbianos [1] que habitan asociados a hospederos eucariontes. Las comunidades microbianas del intestino de vertebrados responden a diferentes factores, uno de ellos es la dieta del hospedero. La adquisición de una nueva dieta es uno de los factores fundamentales para la composición del microbioma. El microbioma juega un rol muy importante en la digestión del hospedero, sirviendo como pieza clave en la producción de moléculas digeribles para el intestino, además es indispensable en la maduración del sistema inmune que es esencial en la adecuación de los organismos vertebrados [2]. De esta forma, la evolución del microbioma de mamíferos está relacionada con diferentes factores que afectan su composición. Se ha observado una relación entre la filogenia del hospedero con respecto a la composición del microbioma, también con sus estrategias alimentarias [1, 2, 3]. Los factores que se han relacionado directamente en la composición del microbioma y que están ligados directamente al hospedero son: etapas en el ciclo de vida del hospedero, ya que en cada etapa de la vida presentamos una composición bacteriana diferente, cambios a nivel intestinal como son el pH, potencial redox, la secreción de bilis y secreciones enzimáticas. Otros factores que no dependen del organismo hospedero y que también influyen en la composición del microbioma son la estacionalidad y la biogeografía del hospedero [3, 4, 5, 6].

La relación que tienen las bacterias en la nutrición animal se acrecentó con la evolución del sistema digestivo. De esta forma, la interacción que tienen las bacterias con el intestino se intensifica con la formación del celoma, el cual está acompañado de una elongación del intestino, además de una especialización regional, facilitando tanto la ingestión masiva como el almacenamiento para la digestión. Sin embargo, no se conoce aún cómo es que las bacterias influyen en la evolución del intestino. Sabemos que en la radiación de ciertos grupos como son termitas y rumiantes es indebatiblemente por asociaciones con su microbioma. Se ha pensado que muchos órganos en macroorganismos, están regulados por las interacciones con su microbioma y un caso muy particular y documentado es el sistema inmune adaptativo exclusivo de vertebrados. De esta forma, la coevolución entre el hospedero y su microbiota intestinal es considerada un proceso de adaptación mutua que es clave para la diversificación biológica [7].

Los mamíferos aparecen en el Jurásico aproximadamente hace 160 millones de años. Está documentado que las grandes radiaciones ocurren en el Cuaternario [8], debido a cambios climáticos y geoquímicos [9] que alteraron la composición de sus nichos. Las comunidades microbianas jugaron un papel

fundamental en la especiación de los mamíferos [2, 10]. Es entendible entonces que las comunidades bacterianas tengan un rol muy importante en la adaptación y que su composición pueda determinar la extinción o permanencia de las especies, dependiendo de su estrategia alimentaria. Hay ejemplos de animales que dependen estrictamente de su microbioma, como es el caso del panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), que debido a su estrategia alimentaria, derivada de un grupo de carnívoros, ahora depende de su microbiota para poder degradar un compuesto fibroso como el bambú, ya que no cuenta con todas las enzimas para ayudarlo a degradar estos compuestos [4]. Sabemos que todos los organismos con una cavidad gastrointestinal necesitan del microbioma para la degradación de algunos compuestos fundamentales para el desarrollo del hospedero, como pueden ser algunas vitaminas y amino ácidos [15].

La familia Phyllostomidae

La familia Phyllostomidae, Chiroptera, tiene 49 géneros y más de 190 especies endémicas de América [13]. Esta familia constituye un grupo monofilético [12]. Al mismo tiempo, esta familia de murciélagos presenta diversos hábitos alimentarios. La especialización en la dieta incluye murciélagos hematófagos, insectívoros, carnívoros (pequeños vertebrados), omnívoros, nectarívoros, palinívoros y frugívoros. La evolución en la dieta de los filostómidos aparentemente es más compleja de lo que se había pensado, ya que se han podido agrupar en diferentes estrategias evolutivas [13, 14, 15, 16]. Se ha planteado la hipótesis de que estas estrategias alimentarias se han desarrollado a partir de la insectivoría [14], que es la dieta ancestral para los filostómidos [15, 16, 17]. Estudios de la reconstrucción de la familia con aproximaciones Bayesianas apoyan la evolución paralela de la frugívora en cinco linajes y la nectarivoría en tres linajes que tuvo lugar durante el Mioceno [13]. Estas estrategias están acompañadas de cambios anatómicos y bioquímicos para la asimilación de nutrientes como son los disacáridos sacarosa, trehalosa y lactosa, así como un cambio en la concentración de urea en el excremento [15, 17, 18, 19]. Se ha demostrado que la evolución en los hábitos alimentarios, tiene un significativo impacto en el funcionamiento digestivo y renal. Asimismo las características morfológicas y bioquímicas del tracto digestivo así como su microbiota intervienen en el aumento de agua, carbohidratos, proteínas y asimilación de electrolitos de las dietas de los organismos [5, 20]. De esta forma, el desarrollo gradual de una diferencia anatómica en el sistema digestivo, permite el desarrollo de comunidades bacterianas asociadas a la digestión

mediante metabolismos fermentadores, no solo en murciélagos si no en todos los mamíferos [1, 21, 22, 23]. Una sucesión de la comunidad enterobacteriana heterotrófica puede conducir a una comunidad estable si existe un aporte continuo de alimento. Si el animal deja de alimentarse por un periodo prolongado o cambia sus hábitos, el microbioma se desorganiza, y cambia su composición [24, 25].

Se han realizado varios trabajos sobre diversidad de comunidades bacterianas en murciélagos, sin embargo, los enfoques han sido hacia zoonosis de bacterias que utilizan a los murciélagos como hospedero [26, 27, 28]. Son pocos los trabajos que revisan la ecología del microbioma, debido sobre todo, a limitantes metodológicas. Sin embargo ahora con los métodos de nuevas tecnologías de secuenciación masiva se pueden realizar, a mayor profundidad, estudios ecológicos con los que se puede explicar de una mejor manera la estructura y composición de estos sistemas, debido al porcentaje de datos que nos proporcionan. Dentro de las comunidades que constituyen la microbiota de los murciélagos se han reportado céstodos, *Oochoristica immatura* (Anoplocephalidae) y *Vampirolepis elongatus* (Hymenolepididae); nemátodos, *Litomosoides* sp., *L. brasiliensis*, *L. fosteri* y *L. quiterasi*; protozoarios, *Polychromophilus deanei* (Plasmodidae), *Trypanosoma cruzi*, *T. evansi*, *T. rengeli* (megadermae-tipo) y *T. vespertilionis* (Trypanosomatidae). Se han relacionado algunas enfermedades en este tipo de murciélagos como son salmonella, histoplasmosis, onicomycosis (*Scopulariopsis*), micosis (*Trychophyton*, *Microsporium*, *Trychosporium*), tripanosomiasis, fiebre amarilla y rabia [H]. Dentro de las bacterias encontradas en *Pteropus giganteus*, un murciélago folívoro, encontramos *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Serratia liquefaciens* y *Klebsiella oxytoca* (Anand A. A. P. y Sripathi K., 2004) esto con métodos cultivables.

Justificación

Debido a que no podemos interrogar directamente al microbioma de animales extintos, los procesos del pasado evolutivo pueden ser inferidos por análisis comparativos entre las comunidades microbianas del intestino en los individuos actuales [2]. En Phyllostomidae encontramos un amplio gradiente de estrategias alimenticias y tratándose de un grupo monofilético, el caracterizar los microbiomas dentro del grupo, aporta conocimientos de la composición de los microbiomas, asociados a estas diferentes estrategias alimenticias. El conocimiento del microbioma de los murciélagos nos permite entender cómo han cambiado estas comunidades suponiendo que el ancestro es insectívoro y que la

radiación de estos organismos hacia nuevas estrategias alimenticias va de la mano con un cambio en su microbiota. Además nos permite entender cómo pueden estructurarse las comunidades bacterianas en diferentes estrategias alimenticias dentro de un mismo linaje de mamíferos.

Antecedentes

Modelo de estudio: La familia Phyllostomidae

La diversificación de estrategias alimenticias en las 19 familias de quirópteros comúnmente está limitada a uno o dos recursos alimenticios [29]. En lo que respecta a la Familia Phyllostomidae presenta una amplia gama de hábitos alimenticios en los que se encuentra la insectivoría, sanguinivoría, frugivoría, nectarivoría, carnivoría y omnivoría. Las diferencias en dieta están también relacionadas con comportamientos de forrajeo y con estrategias evolutivas que son particulares en cada especie. Se ha relacionado el pico de reproducción y lactancia de los murciélagos con la mayor disponibilidad de su recurso principal [30]. Algunas estructuras en estas estrategias están claramente marcadas como son el tipo de dentición, tipo de lengua, los labios puntiagudos o la forma del paladar [31, 32].

Dentro de estas estrategias alimenticias encontramos murciélagos que se alimentan de insectos que incluyen a los géneros *Macrotus* y *Macrophyllum*; otra estrategia son los murciélagos que se alimentan de sangre, como *Diphylla ecaudata*, *Diaemus yongii* y *Desmodus rotundus*; los que se alimentan de otros vertebrados pequeños como son *Trachop cirrus* que se alimenta de ranas; *Vampirum spectrum* que se alimenta de aves o incluso murciélagos más pequeños; los que se alimentan de fruta como son *Artibeus* sp., *Carollia* sp., *Senturio senex* o especialistas en extraer néctar como son *Leptonycteris* sp., *Glossophaga* sp y *Musonycteris harrisoni* [33, 34].

La digestión dentro de Phyllostomidae

Es conocido que el tracto digestivo dentro de la familia varía dependiendo de la estrategia alimenticia que los murciélagos utilicen [31, 35]. Se ha encontrado que algunas partes del tracto digestivo son altamente variables. Particularmente se ha trabajado con la histología y la histoquímica del estómago, se han hecho trabajos para describir el aparato masticador, así como también a *grosso modo*, del intestino y el esófago [35]. Sin embargo, el conocimiento del tracto digestivo es incompleto en cada uno de los diferentes grupos en la familia. Hasta donde es

conocido, la digestión en todos los quirópteros sigue el estándar del plan de mamíferos. El tracto gastrointestinal de filostómidos es un sistema, que como en otros mamíferos, está formado de diferentes regiones.

El estómago sirve como un sitio de almacenamiento para aumentar la ingesta de comida en un periodo de tiempo corto, así como para llevar a cabo una digestión ácida para digerir y descomponer proteínas por los ácidos presentes en el estómago y enzimas como pepsina y catepepsina [36]. El intestino está dividido en intestino delgado formado por el duodeno, yeyuno e íleon y el intestino grueso que puede presentar un ciego, y se divide en el colon y el recto. Cada una de estas secciones presenta diferentes características tanto anatómicas como fisiológicas como pueden ser diferentes tipos celulares, tasa de tránsito del contenido luminal, pH, potencial redox, y diferentes secreciones como son ácidos hidrológicos, enzimas digestivas, la propia bilis y secreción de mucus. La digestión enzimática se lleva a cabo en el intestino, por enzimas secretadas por el páncreas y el epitelio intestinal, y algunas grasas emulsificadas por la bilis creando un sustrato disponible para enzimas hidrolíticas, en el duodeno. Los nutrientes absorbidos por el intestino entran al sistema circulatorio y son transportados al hígado o al riñón según el caso, siendo estos órganos fundamentales en los procesos metabólicos. El intestino grueso y el colon reabsorben el agua y excretan el remanente de los alimentos ingeridos [37]. Se ha observado también una relación entre la longitud del intestino con respecto a la zona glandular, lo que indica que los intestinos más largos pueden estar relacionados con una alimentación más compleja y requieren más enzimas y más tiempo en el tracto digestivo para su degradación [32].

Estrategia evolutiva alimentaria en murciélagos insectívoros

Dentro del Orden Chiroptera, la insectivoría es la estrategia alimentaria más común. Se ha propuesto que esta estrategia es basal dentro de las diferentes familias, ya que el 70% de los murciélagos son insectívoros. Además, de acuerdo a características en fósiles encontrados en el Eoceno como son: los molares de tipo dilambodonto; el cráneo robusto y la cóclea alargada (lo que indica un sistema por ecolocalización), indican una dieta insectívora. Igualmente existe evidencia de fósiles de murciélagos asociados a fósiles de insectos [38, 39, 40]. Se propone que la insectivoría presidió a las diferentes estrategias que se han desarrollado en los filostómidos con una amplia gama de estrategias de alimentación. Dentro de la familia Phyllostomidae encontramos que muchos de sus miembros aún se

alimentan esporádicamente de insectos. En cuanto a organismos insectívoros estrictos, dentro de la familia, encontramos a los integrantes del género *Macrotus* y a *Macrophyllum macrophyllum* como insectívoro estricto. Las adaptaciones que presentan los murciélagos insectívoros son muy notables en el sistemas de ecolocación, que les permite realizar una búsqueda de su alimento; otras características más anatómicas son el tipo de cráneo, dentición y por supuesto su sistema digestivo, el cual no es tan largo como se presenta en otras estrategias alimentarias. El tiempo de digestión de insectos es aproximadamente de 35 min en animales activos, pero puede prolongarse hasta 170 min en animales en reposo; 15 min después de alimentarse, la comida que estaba almacenada en el estómago, pasa al duodeno y posteriormente por todo el intestino. Se ha sugerido, que debido al paso tan corto que tiene la comida por el intestino hay una tasa alta de actividad enzimática [37]. En promedio los insectos están constituidos por 70 % de agua, 17.8 % de proteína, 4.5 % de grasa y 2.2 % carbohidratos, el esqueleto de quitina forma otro 3.8 %. Se ha sugerido, que la quitina es la última en ser procesada y como evidencia de dieta insectívora, encontramos ésta en las heces de murciélagos insectívoros [32].

Macrotus waterhousii

Dentro de la insectivoría, el murciélago *M. waterhousii* se considera mediano, con un antebrazo de 45-48 mm y una longitud total de 85-108 mm. Se distribuye desde el sur de los Estados Unidos hasta Guatemala y algunas islas Caribeñas, incluyendo Bahamas, Jamaica, Cuba, Isla Caimán, La Española y Beata (Simmons, 2005). Estos murciélagos reconocen los sonidos producidos por los insectos para localizarlos. *M. waterhousii* se han considerado insectívoros que se alimentan en el follaje, principalmente de ortópteros, lepidópteros, coleópteros, hemípteros, neurópteros, tricópteros e himenópteros [41]. *M. waterhousii* presenta todas las características de un murciélago insectívoro como son el tipo de dentición, un sistema de ecolocación bien desarrollado y el oído desarrollado. Sin embargo, se ha observado que también se alimenta de hojas y algunas veces de fruta sobre todo cuando los recursos son escasos.

Estrategia evolutiva alimentaria en murciélagos hematófagos

Los hematófagos obligados se desarrollaron solo una vez en tetrápodos aproximadamente hace 26 millones de años. La Subfamilia *Desmodontidae* está constituida de tres especies de vampiros

obligados. Se pensaba que *Desmodus rotundus* era la única especie que se alimentaba de sangre de mamífero pero trabajos recientes demostraron que *Diaemus yongii* también puede utilizar sangre de mamífero, mientras que a la fecha se piensa que *Diphylla ecaudata* se alimenta solo de sangre de aves [42]. Se creó que estas especies divergieron hace ~22 millones de años. Los murciélagos hematófagos presentan un comportamiento de alimentación muy particular, ya que se desplazan hacia sus presas caminando o saltando y localizan un área vascularizada y humedecen esta área lamiendo con saliva para posteriormente dar un mordisco rápido que provocará una herida en el animal. La saliva del murciélago vampiro presenta anticoagulante (plasminógeno activador) el cual provoca un flujo continuo de sangre por medio de fibrinólisis [43], del cual los murciélagos vampiro toman su alimento. Es conocido que estos murciélagos presentan prácticas altruistas ya que si algún individuo de un grupo familiar se queda sin alimento sus parientes le proveerán del recurso alimenticio.

Desmodus rotundus

Este murciélago presenta un color del pelaje oscuro y gris plateado en la parte ventral. En individuos adultos presenta las siguientes medidas: antebrazo de 52 mm a 63 mm; pulgar de 16 mm a 20 mm, con un peso aproximado de 25 gr a 40 gr. Las hembras presentan tallas más grandes. Presenta una distribución de México hasta Argentina. *D. rotundus* presenta algunas adaptaciones debidas a su estrategia alimenticia. El rostro es reducido y le da soporte a sus incisivos y caninos. Otra adaptación se presenta en el sistema muscular el cual está adaptado para su desplazamiento en el suelo, característica que es única del grupo y también son capaces de levantar el vuelo desde el suelo [44]. En cuanto al sistema de digestión y asimilación de *D. rotundus* se lleva a cabo poco tiempo después de que comienza alimentarse. Inicialmente un murciélago se atraganta con sangre y termina de alimentarse después de consumir aproximadamente del 40 al 60 % de su peso. En este tiempo la diuresis está en su máxima concentración de sangre. Rouk and Glass (1970), en su estudio del estómago de *D. rotundus* [43], sugieren que las glándulas acinares permiten el incremento de la absorción de agua en una dieta a base de sangre por una alta vascularización del estómago y una rápida excreción por los riñones en forma de orina. En una segunda etapa, los murciélagos presentan una alta concentración de compuestos nitrogenados y tienen la capacidad de acumular urea en la orina como lo hacen muchos animales en el desierto [32, 43]. La composición de

la sangre de bovinos en peso seco es de ~21.7 %, del cual el 93.1 % es proteína; el 4.9 % son ceniza; 1.0 % de grasa y el 1.0 % de carbohidratos. Un elemento encontrado con bastante frecuencia dentro de la composición de la hemoglobina es el hierro, del cual un murciélago adquiere ~ 6.1 mg por día. Este hierro es detenido en el intestino a través de un mecanismo desconocido y solo ~4.0 µg son absorbidos por día [32]. Los murciélagos consumen ~13.4 ml de sangre al día, de los cuales 34 % son excretados en orina [43].



Desmodus tienen desarrollados los sentidos (vista, olfato, oído) aun cuando el sistema olfatorio está menos desarrollado que en otros murciélagos a excepción de los insectívoros. **Figura 1** *C. perspicillata* en lactancia. Su área visual en el cerebro es más grande. Presentan una percepción del sonido que va de frecuencias de rango entre 100 Hz a 10 kHz. El alto grado de encefalización, especialmente la neocorticalización indican que la especialización en su estrategia alimenticia, provee una buena capacidad integrativa del cerebro [44].

Estrategia evolutiva alimentaria en murciélagos frugívoros

La frugivoría es una de las estrategias más exitosas dentro del grupo. La transición hacia la frugivoría se conoce en 20 géneros y 68 especies dentro de la familia Phyllostomidae. Rojas et al., 2012 han propuesto con reloj molecular que la frugivoría aparece aproximadamente hace 10 millones de años, con la diversificación en ocho géneros hace aproximadamente cinco millones de años [13].

Artibeus jamaicensis

Es una especie politépica que presenta una amplia variación en sus características morfológicas, debido a esto se le considera un complejo taxonómico. Se caracteriza por presentar un par de rayas blancas en el rostro, hoja nasal erecta y verrugas en forma de “V” en el labio inferior. Carece de cola y el uropatagio se encuentra escotado, no presenta proceso postorbital [45]. Su distribuye de Tamaulipas y Sinaloa en México, hasta el norte de Venezuela y norte de Argentina, incluyendo el ecuador y las Antillas Mayores y Menores [45]. Esta especie presenta glándulas salivares en los bordes laterales inferiores de los labios;

la saliva submandibular presenta un bajo nivel de actividad de amilasas (0.25 %), sin embargo sus glándulas salivares parótidas son excepcionalmente grandes y tienden a presentar células secretoras parecidas al tipo seromucoides. El tamaño de estas células y el incremento de la producción de saliva se han relacionado con la regulación de minerales y el balance de agua, sirviendo para neutralización de alcaloides presentes en higos (*Ficus* sp.) acumulados en la alimentación.

Carollia perspicillata

Es un murciélago robusto de tamaño de pequeño a mediano (masa 18.5 g; una longitud total 66-95 mm; Figura 1) La hoja nasal es lisa y triangular. Los labios inferiores presentan forma de V y presentan una verruga central rodeada por pequeñas verrugas alrededor. El pelo es denso y suave, con una coloración que va desde negro a café. El antebrazo con una longitud de 42 mm. Presenta una distribución desde Veracruz y Oaxaca en México hasta el sur de Bolivia, Paraguay y Brasil. Presentan un sentido del olfato muy desarrollado. El estómago es largo y triangular, cubierto con diferentes pliegues, este no presenta un ciego, pero una pequeña ámpula cae entre la unión del intestino grueso y el intestino delgado. La longitud del intestino es de aproximadamente 20 cm. La masa del cuerpo varía estacionalmente, los machos adultos y jóvenes son más pesados en periodos de humedad (Cloutier y Thomas., 1992). Este murciélago aunque también consume insectos estos solo representan aproximadamente el 13 % del contenido del estómago y se alimenta principalmente de plantas como *Piper*, *Muntingia*, *Cecropia* y *Ficus*, siendo el primero el que le aporta una gran cantidad de aminoácidos (63).

Estrategia evolutiva alimentaria en murciélagos nectarívoros

El origen de esta estrategia no está bien definido, sin embargo algunos autores coinciden que debe surgir durante el Mioceno, a partir de un grupo ancestral de frugívoros. Esta se encuentra distribuida en el neotrópico. La subfamilia *Glossophaginae* se encuentra distribuida en Sudamérica y la parte subtropical de Norteamérica. La dentición simple se ha sugerido como una adaptación a su estrategia como nectarívoro. Su lengua es larga y en algunas especies presentan una gran cantidad de papilas que se ha sugerido son útiles para la extracción del néctar de las flores. El rostro en muchas de las especies es alargado lo cual les permite una mejor adaptación a flores con corolas profundas.

Dentro de las características del sistema digestivo encontramos que estos murciélagos presentan un aparato digestivo corto debido a la rápida absorción de azúcares por el sistema digestivo. Sin embargo, hacen falta estudios más detallados y comparativos en este campo. Los murciélagos nectarívoros, se ha propuesto son poco específicos en lo que a fuentes de alimentación se refiere. Se ha observado que *Leptonycteris yerbabuena* en Hidalgo, México se alimenta de por lo menos 8 géneros de plantas. *Glossophaga soricina* se alimenta de por lo menos 11 familias de plantas en Guerrero, México [65]. Además, el néctar que es un líquido segregado por los nectarios, se distingue según los azúcares que contenga, agrupándolo en tres categorías:

1. Néctares que contienen exclusivamente sacarosa.
2. Néctares que contienen una mezcla equilibrada de sacarosa, glucosa y fructosa.
3. Néctares que presentan dos azúcares como glucosa y fructosa en iguales o diferentes proporciones.

El contenido seco del néctar varía según las especies vegetales en un intervalo que va desde 10% a 70%. En las zonas templadas el peso seco es de 40 %. El azúcar forma la mayor parte en la composición del polen (90-95 %). También presenta otros compuestos que forman el otro 5 % entre ellos, sales minerales, compuestos nitrogenados (aminoácidos y aminos), ácidos orgánicos, vitaminas (tiamina, riboflavina, pirodoxina, ácido pentatónico, ácido fólico, biotina, ácido ascórbico), pigmentos y sustancias aromáticas. La mayoría de los néctares son ácidos (pH=2.7-6.4), aunque algunos son alcalinos (pH= 9.1) debido a la concentración de sales minerales [47]. Uno de los elementos que aportan gran parte de la dieta de los murciélagos nectarívoros es el polen. El contenido nutricional del polen varía según la especie de planta, sin embargo la composición del polen comercial está bien caracterizada. Este está constituido por carbono: azúcares reductores (glucosa y fructosa) = 33%; sacarosa =6 %; almidón = 1 % fibra 14 %. El contenido de proteínas está en torno al 15 %; alto contenido de aminoácidos libres, (Prolina, 29 mg/g) y en menor medida aminoácidos esenciales (Arginina 3.8 mg/g, Fenilalanina 0.7 mg/g, Histidina 0.6 mg/g y Metionina 0.2 mg/g). El contenido de lípidos es de aproximadamente 6 % destacando el ácido palmítico, el ácido oleico y linoleico. Las sales minerales representan el 2 %: entre ellas están el potasio 4 mg/kg; sodio 1,300 mg/kg; el fósforo 580 mg/kg; el calcio 490mg/kg; el magnesio 430 mg/kg; el hierro 40 mg/kg; el zinc 34 mg/kg; el manganeso 11 mg/kg y el cobre 9 mg/kg [47].

Glossophaga soricina

Glossophaga soricina (Pallas, 1766) presenta un tamaño intermedio comparado con otros murciélagos filostómidos. Presenta un pelaje de color café avellana el cual se va oscureciendo hacia los costados. Tiene alas muy cortas comparadas con otros filostómidos. Presenta un dimorfismo sexual ya que las hembras son más grandes que los machos en diferentes características como son longitud del antebrazo, longitud del esqueleto, longitud del rostro, longitud de los dientes maxilares. Esta especie se distribuye desde México (Sonora y Tamaulipas) hasta Paraguay y el norte de Argentina, así como también, está presente en algunas Islas del Caribe. Su hábitat es de regiones áridas a tropicales hasta bosque de lluvias y savanas. Los incisivos están bien desarrollados y los molares presentan características más parecidas a murciélagos insectívoros primitivos además que se ha reportado la presencia de caries en esta especie [48]. La subfamilia en general presenta una lengua muy característica con papilas circumbelosas que están conectadas por una conexión de venas y arterias a lo largo de la lengua a una fístula arterovenosa [49]. Las células que recubren el lumen esofágico son ovaladas y cornificadas. El estómago es grande y sacular muy especializado, el ciego funicular se puede dilatar y es estructurado.

En el aspecto alimenticio *Glossophaga* ha sido objeto de discusión debido a que la especie presenta una amplia gama alimentaria que va desde insectos, fruta, polen, néctar y partes de flores colocando a la especie con una dieta más omnívora que nectarívora [50]. Se ha relacionado el tipo de dieta de la especie con su distribución geográfica y se ha sugerido que el cambio en la alimentación depende de la disposición y estacionalidad de los recursos [51].

Leptonycteris yerbabuena

Leptonycteris yerbabuena Martínez and Villa-R., 1940 puede ser reconocida por su pelaje denso y corto de color café y la ausencia de cola [52]. Es un murciélago de tamaño pequeño de aproximadamente 15-25 gr. Este murciélago se distribuye de las montañas Picacho en el sureste de Arizona, hasta las montañas de Agua Dulce y de Chiricahua en el Suroeste de Honduras. *Leptonycteris* es un murciélago migratorio que viaja de Sonora hacia Arizona. En esta especie la masa del cuerpo fluctúa estacionalmente [53]. Dentro de las características que presenta en común, con otros nectarívoros, es la presencia de estructuras que podrían ser útiles en la ingestión de néctar en estas

especies. El tamaño de las alas permite una eficiencia para volar largas distancias en zonas áridas [54]. Esta especie se alimenta de néctar, polen y fruta que es una dieta rica en agua pero pobre en proteínas y sal [55]. Estos recursos los toma de diferentes plantas como diferentes tipos de Agaves, algunas especies de cactus columnares como son *Carnigea gigantea*, diferentes especies de *Stenocereus* y Bombacaceae (*Pseudobombax elipticum*), Convolvulaceae y otras Leguminosas [56]. El néctar está clasificado de acuerdo al tipo de azúcares que presenta, principalmente sucrosa, fructosa y glucosa. El néctar puede variar en otros azúcares como rafinosa, maltosa y melibiosa entre otros [57].

Objetivos

Objetivo general

Caracterizar la composición y estructura del microbioma de murciélagos filostómidos con diferentes estrategias alimentarias.

Objetivos particulares

1. Analizar la diversidad y estructura de bacterias y arqueas presentes en el intestino de diferentes murciélagos filostómidos.
2. Analizar si hay diferencias significativas en la diversidad del microbioma en diferentes regiones intestinales de murciélagos filostómidos.
3. Describir la composición de los phyla bacterianos más abundantes para todas las especies de filostómidos analizadas.
4. Establecer relaciones de estructura y composición de los microbiomas con las estrategias alimenticias.

Materiales y Métodos

Captura de los murciélagos en campo

Los murciélagos fueron capturados en la Cueva del Huarache en Palo Blanco, Guerrero (17°23'38.37"N 99°28'15.50"O). Esta cueva presenta una alta riqueza de murciélagos entre las que encontramos a *Macrotus waterhousii*; *Glossophaga soricina*; *Glossophaga commissarisi*; *Pteronotus davyi*; *Mormoops megalophylla*; *Leptonycteris yerbabuena*. Para la captura de los organismos se utilizó una red de niebla de 6 metros en la salida de la cueva. También se hicieron capturas en la cueva de Las Vegas a 2.5 Km al sur de Tenampulco, Puebla (20°08'54" N, 97°, 24'39" W). Esta cueva presenta una gran diversidad de filostómidos. La temperatura dentro de la cueva oscila entre $21.6 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ [58]. Los datos obtenidos en campo fueron: especie, sexo, edad, condición reproductiva y peso. Los organismos capturados fueron colectados y llevados el mismo día al laboratorio para la disección y extracción del tracto digestivo. Para este procedimiento se utilizaron varios equipos de disección, así como material de esterilización. Los murciélagos se fijan para extraer el intestino sin dañar los demás órganos, utilizando alfileres o cinta adhesiva para fijar las extremidades y poder manipular el intestino. Se inserta el bisturí cortando el epitelio, cuidando de no cortar otros órganos que nos impidan la visibilidad del intestino. Una vez detectado el intestino se busca su unión con el ano para proceder a la extracción sujetando por el recto, se jala con las pinzas separándolo de la piel con mucho cuidado de no romperlo. Se corta el intestino en el sitio donde se une al estómago. Se toman medidas del largo total del intestino, y se secciona en tres partes donde la última incluye el ano. Toda la disección del intestino se lleva a cabo en una caja de Petri con solución salina estéril a 4 °C. Cada una de las partes del intestino se coloca en un tubo estéril de buffer de fosfato (Na_2HPO_4 0.1M y NaH_2PO_4 0.1M, pH 7.4). Los tubos deben ser marcados con número de muestra, sección del intestino, el sitio y la fecha de colecta.

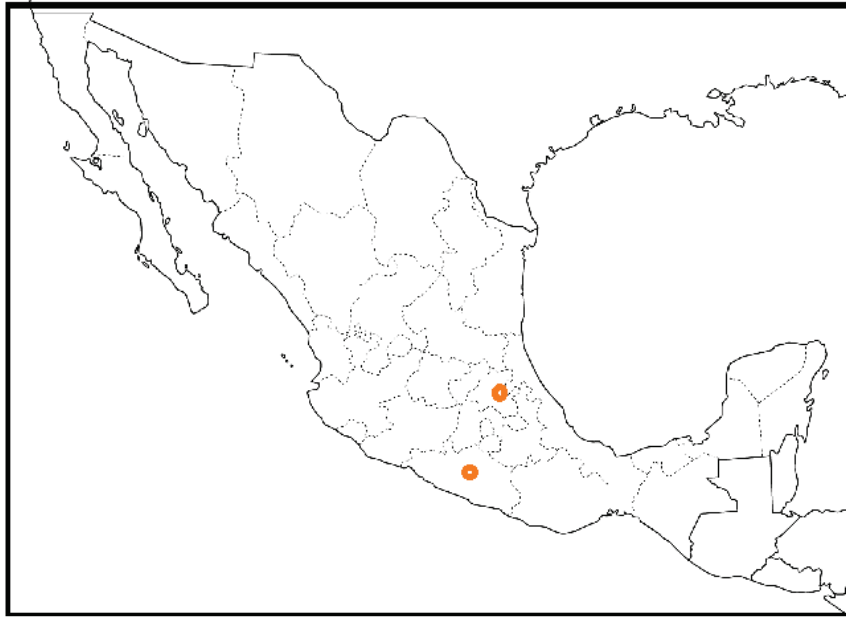


Figura 2. Sitios de colecta: cueva de Las Vegas donde se encontró *A. jamaicensis*, *D. rotundus*, *C. perspicillata*, *G. soricina*, *L. yerbabuena*; El Huarache la única especie que se colectó fue *M. waterhousii*.

Extracción de ADN

La disección del intestino se llevó a cabo siguiendo los métodos propuestos por Nörgard et al., 2005 [59] con algunas modificaciones. Una vez obtenido el intestino, se mide el largo total y posteriormente se corta en tres secciones iguales. Con esta división de tres regiones se intenta observar regiones específicas en el intestino de los murciélagos como son el duodeno, illión y el colon, ya que estas partes presentan características tanto físicas como fisiológicas diferentes. Las muestras son colocadas en tubos eppendorf que contienen 0.5 ml de buffer de extracción (100 mM Tris-HCl, 20 mM NaCl y 100 mM EDTA). Si las fracciones de intestino son muy largas estas se pueden almacenar en diferentes tubos eppendorf. Todos los tubos fueron inmediatamente almacenados en nitrógeno líquido y almacenados a -80°C hasta la extracción de ADN. El día de la extracción las muestras son descongeladas y se les agregan perlitas de zirconium (500 mg), 600µl de solución salina (0.85 % NaCl y 0.1 % Tween), 60 µl SDS (sodio duodecil sulfato) y 60 ul de CTAB (bromuro de cetiltrimetil-amonio). Posteriormente se realiza una disrupción mecánica con un bead-beater (Fast prep FP120). Las muestras se decantan y la fase acuosa se recupera en un nuevo tubo eppendorf. Se agregan 0.5 ml de buffer de lisis (0.2M NaOH,

2 mg/ml de lisosima y 1 % SDS) y se incuban a 37 °C por 90 min. Se realizó un subsecuente paso de lisis con proteinasa K a 50 °C por toda la noche. Después, se utilizó una separación por el método de fenol-cloroformo-isoamil acohol (25:24:1), agregando el mismo volumen de solventes que de buffer y centrifugando 15 min a 13,000 g, que fue repetida tres veces. Finalmente, el ADN se precipita con un volumen de propanol frío al 97 % y 0.1V 3M de acetato de sodio. El pelet obtenido fue lavado con etanol al 80 %, resuspendido en 30 µl de agua grado molecular y almacenado a -70°C hasta su amplificación. Se siguió el protocolo descrito por Caporaso *et al.* (2010) usando los primers 515F/806R que tienen como blanco la región hipervariable V4 en bacteria y archaea. La región del intestino fue tratada como muestra separada. La concentración fue calculada de cada muestra con un Qubit dsDNA (Invitrogen, Carlsbad, CA). Se usó en promedio 2 ng/µl de DNA por región intestinal de cada individuo, 2.5 µl de buffer 10X (TaKaRa Corp., Shiga, Japón), 2 µl de dNTP (2.5 mM), 0.7 µl de BSA (albúmina de suero bovino, 20 mg/ml, Roche), oligos forward y reverse con itag (10 mM concentración final), 0.125 µl de Takara Ex Taq DNA Polimerasa (5u/µl). Los protocolos de amplificación incluyen un inicio de desnaturalización 95°C por 3 min., seguido por 35 ciclos de 95°C, 30 seg; 52°C, 40 seg; 72 °C, 90 seg. y una extensión final a 72 °C por 12 min. Cada muestra fue amplificada en triplicado, se combinaron y purificaron usando perlas magnéticas SPRI (Agencourt). Los amplicones fueron agrupados y secuenciados en la plataforma Illumina MiSeq en Yale Center for Genome Analysis, CT, USA.

Secuenciación

El tipo de secuenciación que elegimos forma parte de la plataforma de secuenciación Illumina Miseq, y aunque la longitud de los fragmentos es pequeña, la calidad y diversidad de secuencias, es mucho mayor que otras plataformas (región V4 hipervariable 16S rDNA). El proceso de secuenciación se lleva a cabo a través de cuatro etapas:

1. Preparación de muestra:

Una vez extraída y purificada la muestra, se tagmentisa la muestra, esto es; se le adicionan tres fragmentos que nos permiten polimerizar el fragmento; reconocer el fragmento de cada región específica y sujetar el fragmento a una placa para poderlo reconocer.

2. Generación de Cluster

Este es el proceso de generación de miles de clonas de nuestros fragmentos, ya previamente marcados. El fragmento se pega a una placa que contiene dos tipos de oligos que sirven como adaptadores para los diferentes fragmentos, y al mismo tiempo, permite reconocer entre un cadena sencilla forward y reverse. El fragmento pegado forma un puente ya que se une a los dos oligos, posteriormente se realiza una polimerización generando una cadena doble, que después se desnaturaliza y forma dos cadenas sencillas, se repite el proceso hasta formar millones de copias de nuestros fragmentos originales.

3. La secuenciación

Una vez generados los cluster, se procede a una secuenciación por síntesis, donde a cada cadena sencilla son adicionados nucleótidos con un marcador (fluróforo), que nos permite reconocer con precisión el tipo de nucleótido que se está uniendo a la cadena y nos permiten mayor exactitud a diferencia de otras plataformas de secuenciación. Estas marcas son reconocidas en una pantalla y registradas en el secuenciador. Este proceso se realiza tanto para los fragmentos forward como para los reverse.

4. Análisis de datos

Las secuencias son alineadas generando una lectura más confiable y agrupadas en unidades taxonómicas operacionales (OTUs) con un criterio del 98% de identidad, las quimeras fueron removidas usando USEARCH (). Las secuencias filtradas fueron comparadas contra el RDP (Ribosomal Data Project) y Greengenes en el programa QIIME (60) versión 1.7.0. Se realizó una matriz de abundancia relativa para los diferentes OTUs, análisis de diversidad Alfa (Shannon's H' , Fisher's y Faith's diversidad filogenética) y Beta (UniFrac) para las diferentes secciones de los intestino. Toda la comunidad detectada por el amplicón de la secuencia del gen 16S rDNA fue agrupada en una matriz de datos UniFrac analizada por QIIME y presentada en un análisis de componentes principales (Anexo).

Análisis Estadístico

Los análisis estadísticos de los datos se realizaron con el paquete Quantitative Insights Into Microbial Ecology (Qiime) [60] que está diseñado para la comparación de comunidades microbianas, que ha sido perfeccionado en el uso de la subunidad pequeña del 16S rDNA, utilizando

los paquetes del programa R “ade4” y “vegan”. Los resultados son definidos siendo significantes a $P < 0.05$. La diferencia entre la diversidad alfa de diferentes especies de murciélagos con diferentes estrategias alimenticias se calculó con una ANOVA seguida de una prueba de significancia Tukey’s. La contribución de la estrategia alimenticia, edad y sexo para la diversidad beta fue probada por un modelo de permutación MANOVA usando “adonis” una función del paquete vegan en R.

Resultados

Diversidad y estructura bacteriana en Phyllostomidae

La diversidad encontrada en cada uno de los organismos es muy variada, esto se puede apreciar en las curvas de rarefacción de especies bacterianas y arqueanas observadas (Figura 3) así como en los índices de diversidad (Tabla 1). Aquí se visualiza la riqueza para cada una de las especies. También se realizaron curvas de rarefacción para cada una de las tres regiones del intestino y para cada estrategia alimenticia (Anexo). La riqueza encontrada es diferente en cada una de las especies, como se puede observar en este análisis se encontró una mayor riqueza de Archaea y Bacteria en *Desmodus rotundus* seguido por *Macrotus waterhousii*, los filostómidos con menor riqueza fueron *Artibeus jamaicensis* y *Leptonycteris yerbabuena*.

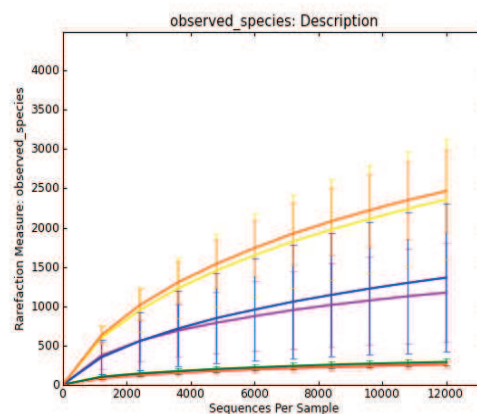


Figura 3. Curva de rarefacción de OTUs observados en seis especies de murciélagos. (Figuras para región intestinal, en anexo).

Tabla 1. Se muestran diferentes índices de diversidad y datos generales de las seis especies de murciélagos filostómidos.

Especie	PD	Chao1	H	OTUs	Alfa de Fisher	Estrategia	Cueva
<i>A. jamaicensis</i>	30	532	4	442	68	Frugívoros	+
<i>C. perspicillata</i>	203	4220	7	2963	782	Frugívoros	+
<i>G. soricina</i>	42	705	4	537	86	Nectarívoros	+
<i>L. yerbabuena</i>	133	2430	7	1860	410	Nectarívoros	+
<i>D. rotundus</i>	289	6731	10	4940	1446	Hematófagos	+
<i>M. waterhousii</i>	254	6072	10	4343	1215	insectívoros	*

Localidad de las cuevas + Las Vegas, Puebla, México; * El Huarache Guerrero, México; PD es la diversidad filogenética.

En cuanto a la estructura genética de los microbiomas analizados por medio de índices de diversidad en curvas de rarefacción (Figura 4), se utilizó Chao1 (4a) para datos no paramétricos, que también nos permite observar la rareza en las comunidades, donde podemos observar que las comunidades en *D. rotundus* y *M. waterhousii* presentan un mayor número de especies raras, *C. perspicillata* es el siguiente murciélago con especies raras. En cuanto a la equidad (4b) de nuevo *M. waterhousii* y *D. rotundus* presentan las comunidades más equitativas, por otro lado, *L. yerbabuena* presenta una comunidad más equitativa que *C. perspicillata* y quien presentó una comunidad menos equitativa fue *A. jamaicensis*. En cuanto a la presencia de grupos dominantes (4d) se observa que *D. rotundus*, *M. waterhousii* y *L. yerbabuena* presentan el mayor porcentaje de grupos dominantes. Podemos observar la diversidad en función del número de individuos en relación con el número de especies (4c). Los taxa encontrados o diversidad filogenética dentro de cada grupo, se muestran en la figura 4f. Sin embargo, como podemos ver los patrones de estructura genética no cambian significativamente entre las tres regiones intestinales analizadas (Figura 5).

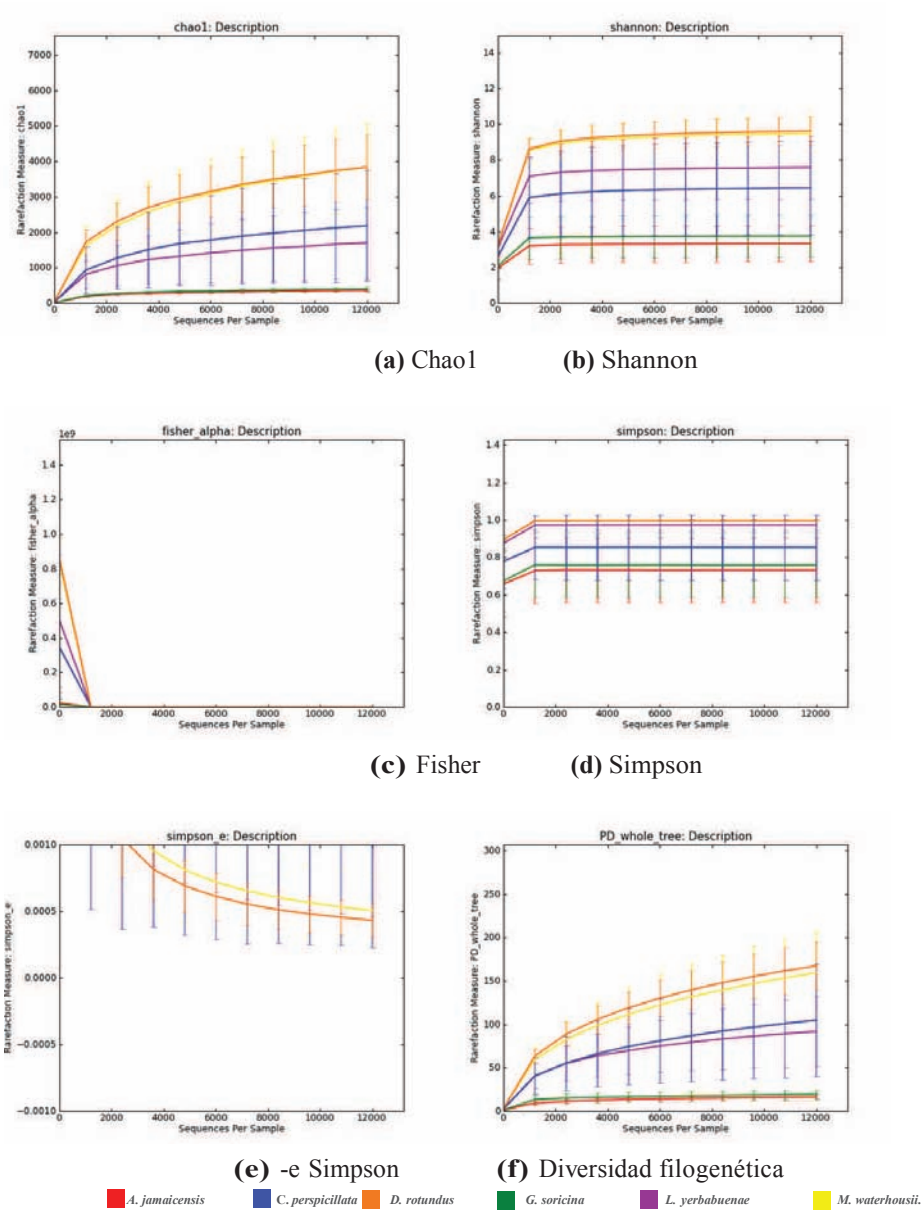


Figura 4. Estructura de la diversidad del microbioma medida con índices de diversidad en tres secciones del intestino de murciélagos filostómidos.

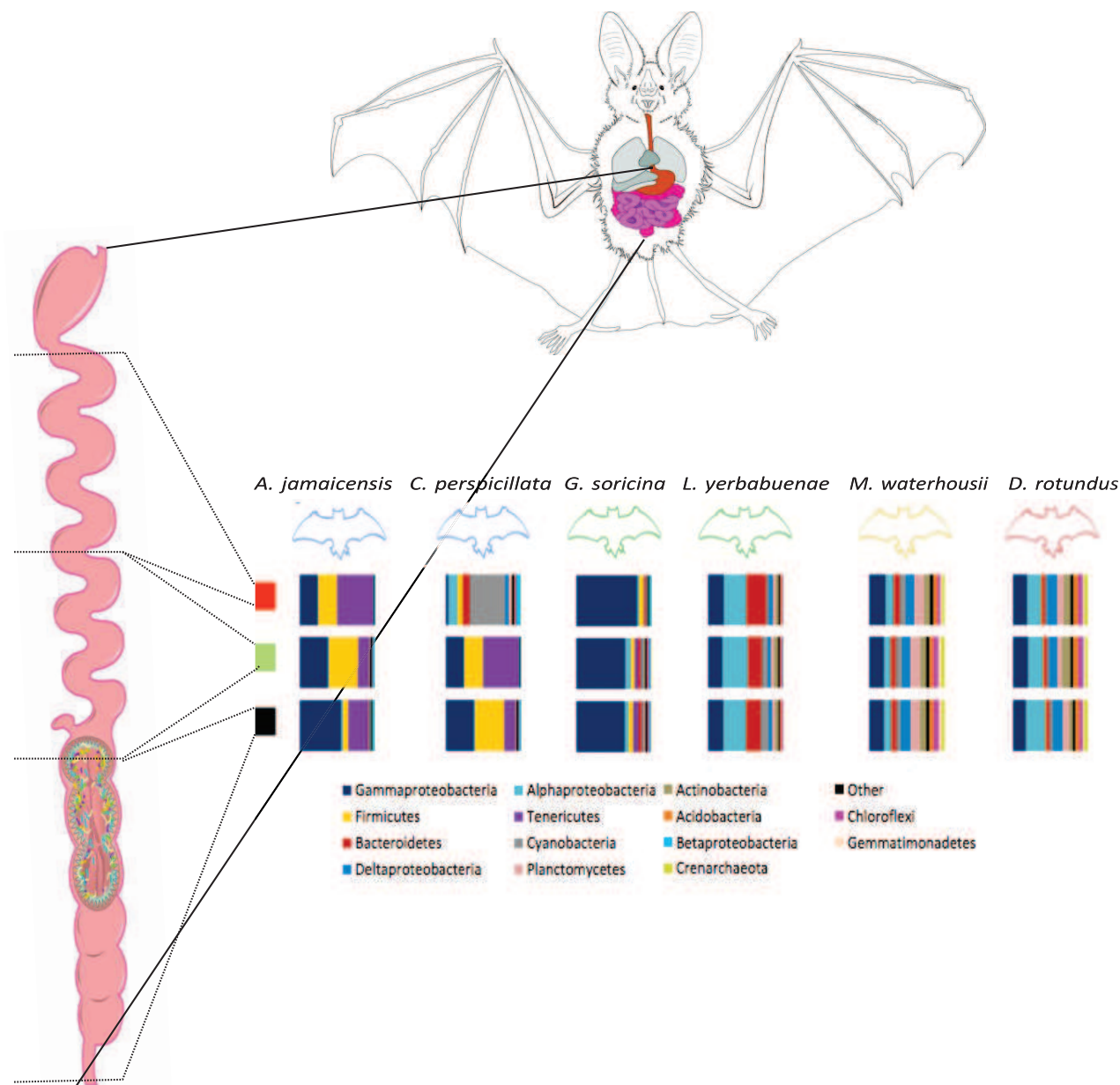


Figura 5. Estructura de las comunidades predominantemente bacterianas en seis especies de murciélagos filostómidos en tres regiones intestinales. Esquema del intestino modificado de Kovatcheva-Datchary 2013[37].

En cuanto a los datos de rutina, se encontraron correlaciones significativas entre el peso y el tamaño del intestino, así como también, la longitud del antebrazo y el tamaño del intestino (Figura 6).

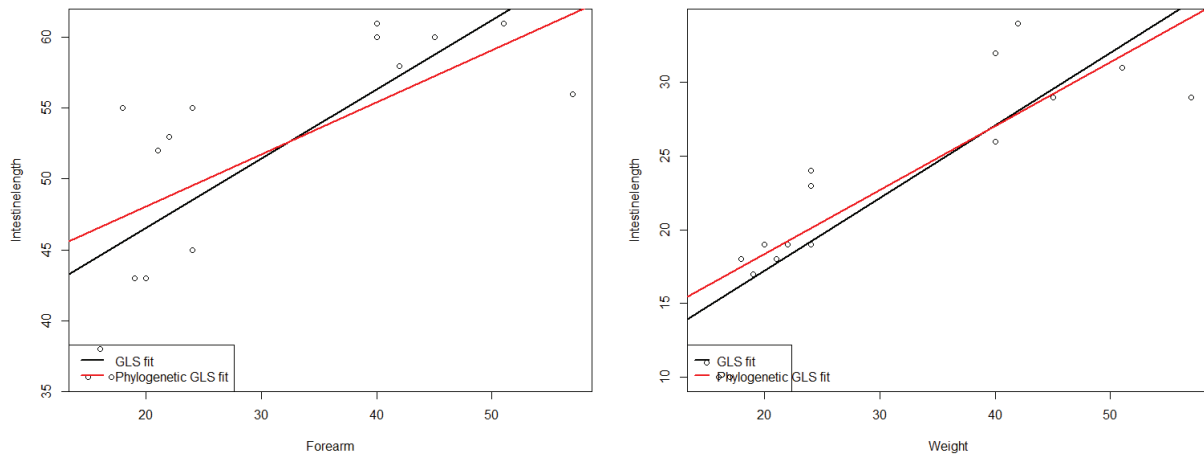


Figura 6. Correlaciones entre el largo del intestino y a) la longitud del antebrazo y b) el peso de murciélagos filostómidos.

Composición del microbioma

Archaea

Dentro de los análisis de estructura de arqueas en el intestino (Figura 7) se encontró mínima abundancia, con una mayor proporción de arquea en los murciélagos con dietas que incluyen animales, *D. rotundus* y *M. waterhousii*. En cuanto a las clases encontradas tenemos que dentro de *Euryarchaeota* se encuentran *Parvarchaea*, *Thermoplasmata*, *Methanobacteria*, *Methanomicrobia* y otras *Euryarchaeota* aún no identificadas. Dentro de *Crenoaarcheota*, *Thamarcheota* y otras *Crenoaarcheota* no identificadas. También se encontraron otros grupos dentro de *Archaea* que no han sido asignados.

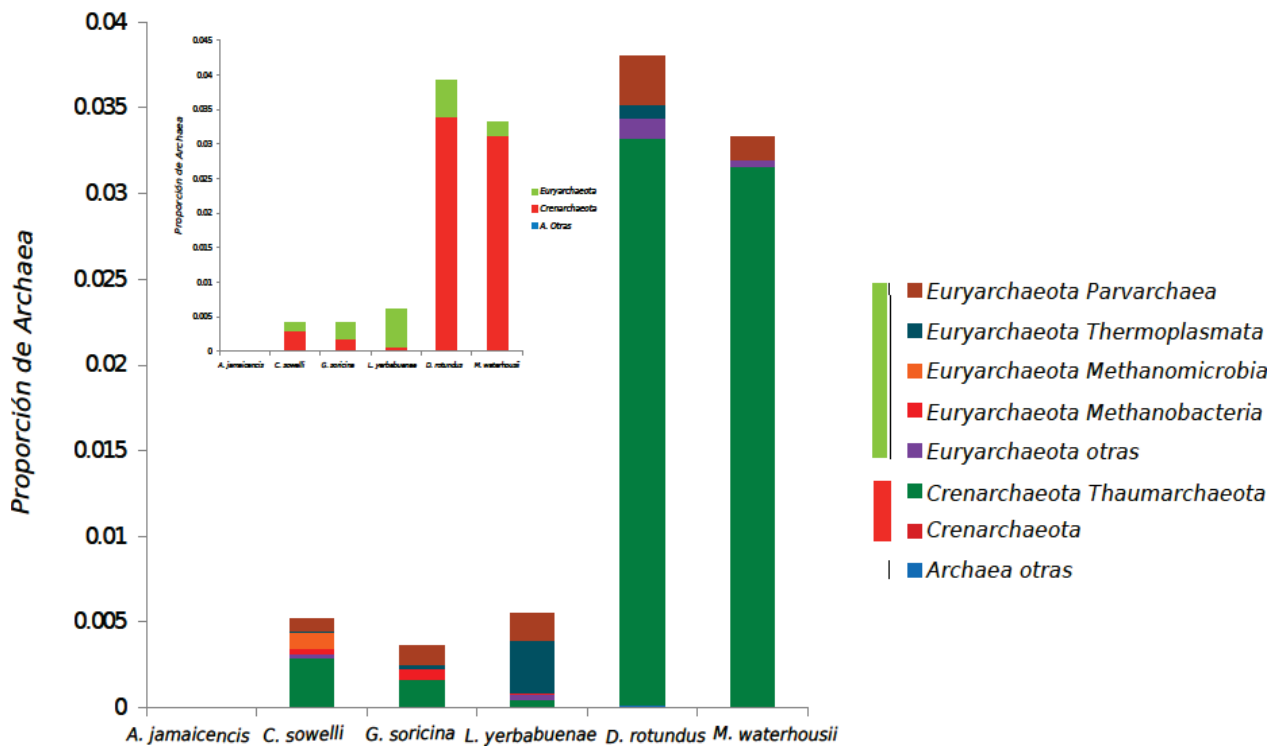
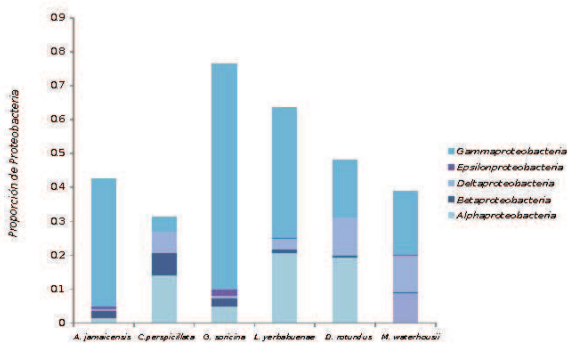


Figura 7. Arqueas encontradas en el microbioma de los murciélagos filostómidos anlaizados.

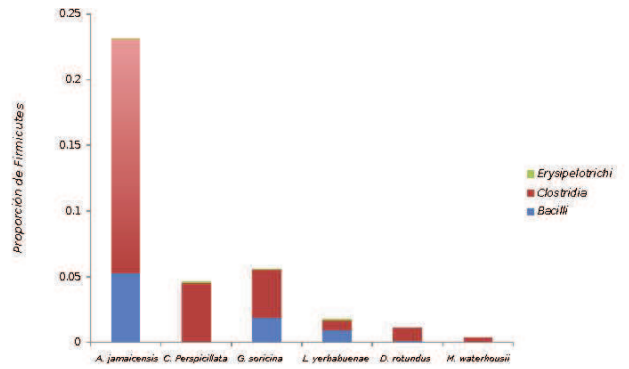
Bacteria

El grupo más dominante fue bacteria. Dentro de los grupos más representativos (Figura 8) se encontró Protobacteria, el cual incluye α , β , γ , δ , ϵ -Protobacteria. Estas clases de *Protobacteria* se encontraron con mayor abundancia en todas las estrategias alimenticias dentro de la familia Phyllostomidae (Fig 8a). Se observa también que la proporción de diferentes clases varía de acuerdo a la especie y a la estrategia alimenticia que los murciélagos presentan. Por ejemplo, se observa una mayor presencia de *Gammaprotobacteria* en murciélagos nectarívoros y el frugívoro *A. jamaicensis* que en otras especies, mientras que en *C. perspicillata* se observó una poca abundancia. *C. perspicillata* en particular fue la especie de murciélago que presento un menor número de Protobacterias. Sin embargo, estas se presentaron en una forma más equitativa además la presencia de Epsilonprotobacteria es nula. La presencia de todos los grupos de Protobacteria (α , β , γ , δ , ϵ -Protobacteria) se observó solo en *L. yerbabuena*, *G. soricina* y *A. jamaicensis*. Dentro del Phylum Firmicutes encontramos tres clases Erysipelotrichi, Clostridia y

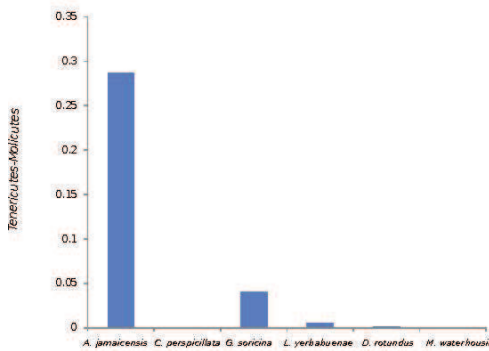
Bacilli (Fig 8b). Es importante señalar que estos grupos, sobre todo Clostridia, se han relacionado con la degradación de compuestos fibrosos en plantas, como pueden ser la celulosa y la lignina. Lo que concuerda con una mayor abundancia en *A. jamaicensis*, *C. perspicillata* y *G. soricina*. Por otro lado Bacilli se ha relacionado con la degradación en azúcares menos elaborados y se encuentra en mayor proporción en *A. jamaicensis*, *G. soricina*, *L. yerbabuena*. La Clase Tenericutes-Mollicutes (Fig 8c) que han sido centro de controversia debido a sus características morfológicas y al tamaño de su genoma, son organismos parásitos o comensales estrictos que se han asociado a vertebrados y también a plantas e insectos. Encontramos a estos grupos en *A. jamaicensis* presentando una alta abundancia, otro murciélago que también presenta Mollicutes es *G. soricina* este grupo puede estar relacionado con la hidrólisis de la urea [61].



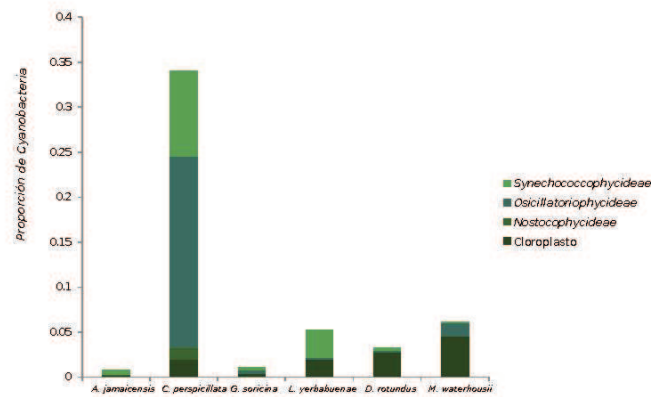
(a) Proteobacteria



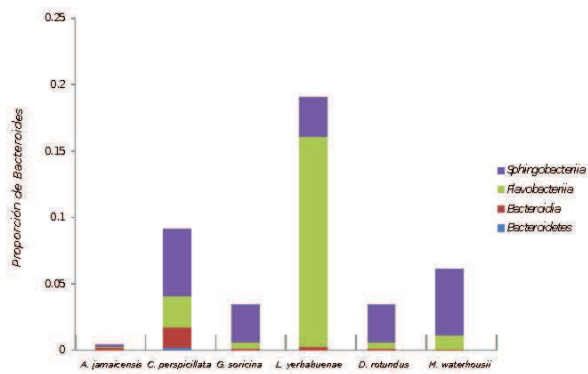
(b) Firmicutes



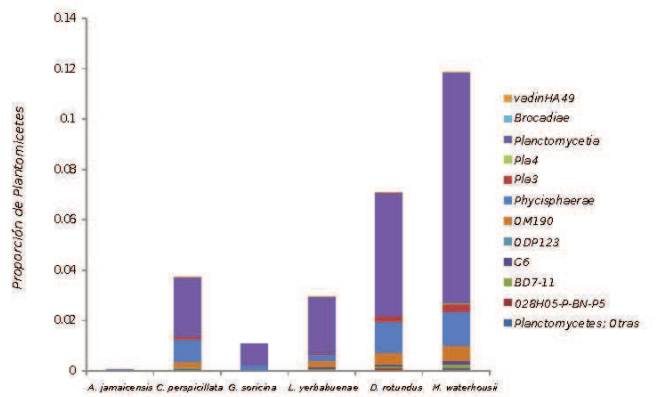
(c) Tenericutes Mollicutes



(d) Cyanobacteria



(e) Bacteroidetes



(f) Planctomycetes

Figura 8. Composición de los grupos más representativos en el intestino de murciélagos filostómidos.

Dentro de las bacterias encontradas es difícil imaginar la presencia de cianobacterias (Fig 8d)

debido a sus características metabólicas y su necesidad de luz para la realización de fotosíntesis. Sin embargo, estas se encontraron presentes en todos los grupos y en mayor proporción en *C. perspicillata*, probablemente debido a la capacidad que tienen para formar biofilm en las plantas de donde se alimenta. La presencia de cloroplastos es otra característica que no esperaríamos encontrar sobre todo en especies como *D. rotundus* o *M. waterhousii*. Sin embargo, las estrategias que estos murciélagos utilizan para obtener su alimento muy posiblemente influyen en la adquisición de cloroplastos. Hay que dejar claro que dentro de la composición del microbioma de filostómidos hay organismos que son autóctonos y hay organismos que son alóctonos, claramente las cianobacterias son un grupo que está de paso en el intestino de los filostómidos.

Dentro Bacteroidetes (Fig 8e) encontramos al parecer sus tres clases y un cuarto grupo que no se identificó, que se presenta solamente en *C. perspicillata*. En cuanto a las clases podemos observar la presencia de Sphingobacteria en todas las especies de murciélagos, con una mayor presencia en *L. yerbabuena*, *C. perspicillata* y *M. waterhousii* en esta clase encontramos bacterias con la capacidad de degradar quitina, un carbohidrato complejo, que no puede ser degradado por los murciélagos. Sin duda este grupo de bacterias es clave en la degradación de este compuesto. Es importante mencionar que en este grupo de bacterias encontramos a *Chitinophagace*, que han sido aisladas de hojarasca del bosque y en su caracterización se ha encontrado que no hidrolizan celulosa, ni almidón solo quitina. Uno de los grupos también representativos fueron los *Planctomycetes* (Fig 8f).

La presencia de *Planctomycetia* dentro de las diferentes especies de murciélagos se observó con mayor frecuencia en la especie insectívora y en la hematófaga seguido de *C. perspicillata*, *L. yerbabuena* y *G. soricina*. Por otro lado en *A. jamaicensis* la presencia es casi nula. Dentro las clases más representadas están *Planctomycetia* donde encontramos bacterias con la capacidad de llevar un metabolismo anaeróbico único, en el cual se lleva a cabo la oxidación de amonio, a este proceso se le conoce como Anammox (oxidación anaerobia de amonio) y es una ruta de desnitrificación. También se observa un patrón casi

idéntico en las proporciones de cinco clases de *Planctomicetes* (VadinHA49, Planctomycetia, Pla3, Phycisphaerae y OM190), que también han sido reportadas en termitas [62] y colon humano.

La presencia de Acidobacteri, Actinobateria, Chloroflexi, Gemmatinomonadetes y Verrucomicrobia fueron encontrados en menor proporción (Anexo). Estos grupos también están presentes en una forma equitativa en *M. waterhousii* y en *D. rotundus*.

Agrupación de las comunidades predominantemente bacterianas

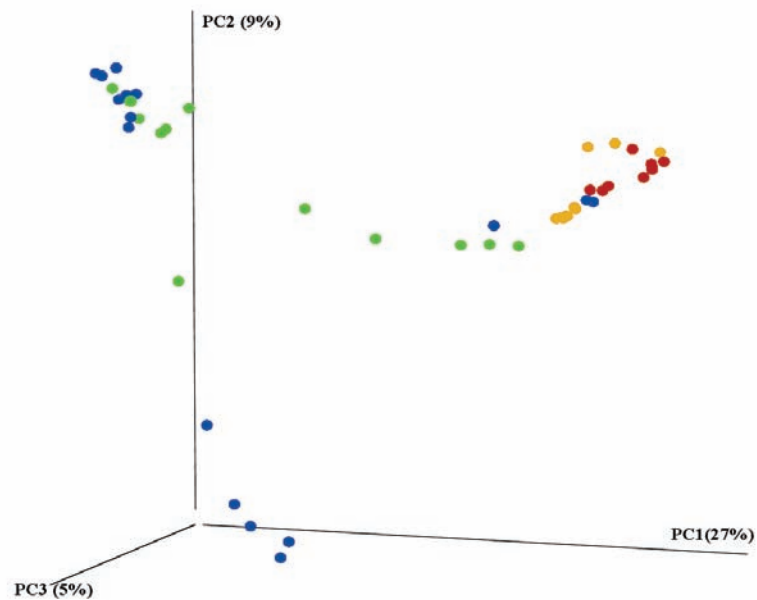


Figura 9. PCoA (Análisis de componentes principales) en distintas regiones del intestino de murciélagos con diferentes estrategias alimenticias.

Tabla 2. Análisis multivariado de composición genética del microbioma en murciélagos filostómidos.

	df	Suma de cuadrados	Modelo F	r ²	P	
Especies de Murciélagos	5	1.767	14.188	0.174	0.001	***
Estrategias de Alimentación	3	1.403	11.268	0.138	0.001	***
Localización	1	0.839	4.416	0.083	0.004	**
Sexo	1	0.318	1.583	0.031	0.130	
Sección del intestino	2	0.274	0.666	0.027	0.758	
Edad	1	0.070	0.812	0.007	0.526	
Residual	37	5.474		0.540		
Total	50	10.145		1.000		

Dentro de los PCoA y prueba de análisis multivariado (Figura 9 y Tabla 2), se explica la agrupación por región del intestino y los colores en la figura, las estrategias alimenticias. Se puede apreciar que hay una clara agrupación por estrategias y que lo que explica mejor esta agrupación es, por un lado la especie y por otro la estrategia alimenticia, sin dejar de mencionar que son muchos los factores que intervienen en la composición de las comunidades predominantemente bacterianas y lo que observamos es solo un estudio transversal de su composición, ya que estas comunidades son dinámicas. También se puede observar una separación de murciélagos frugívoros, lo cual se puede explicar por las dos especies de murciélagos que tenemos *C. perspicillata* que se observó se alimenta de *Pipper* sp. una planta que tiene características muy particulares en cuanto a su contenido de fibra y contenido de nitrógeno [63]. También se puede apreciar una agrupación de los murciélagos que se alimentan de animales los cuales presentaron una diversidad mayor.

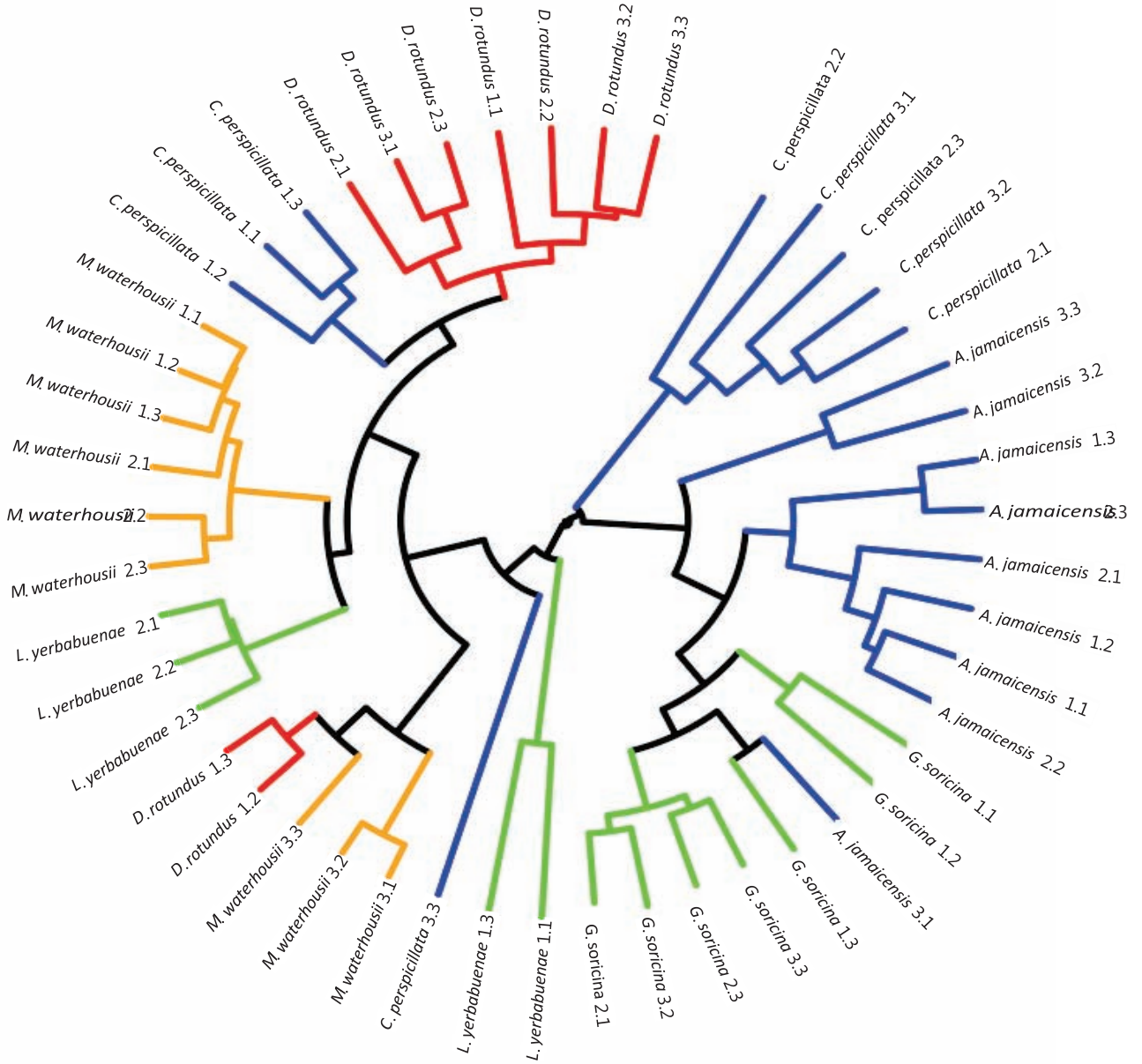


Figura 10. UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) que muestra la relación del microbioma en diferentes secciones del intestino de murciélagos filostómidos.

El árbol UPGMA (Figura 10) muestra las comunidades compartidas para las diferentes secciones del intestino. En este árbol podemos observar una clara división de las comunidades en tres grupos, de acuerdo a los murciélagos que se alimentan de animales y aquellos que se alimentan de plantas, así como también, un grupo que se alimenta de néctar. Algunos grupos están bien definidos como *C. perspicillata* sobre todo los individuo dos y tres, mientras tanto el microbioma del individuo uno es más parecido a las comunidades bacterianas encontradas en *D. rotundus*. Por otro lado en *A. jamaicensis* y *G. soricina* hay una agrupación bien establecida, donde *G. soricina* comparte características en su microbioma con *A. jamaicensis*. Algo muy peculiar en estos dos grupos es el parecido en la región tres del intestino también hay una asociación entre la región uno y dos en los organismos. Por otro lado el individuo uno de *L. yerbabuena* es muy diferentes a los otros microbiomas, lo cual nos recuerda que estos organismos no solamente se nutren de néctar. La otra parte del árbol parece estar constituida por organismos que se alimentan de animales como es el hematófago *D. rotundus* y el insectívoro *M. waterhousii* lo que es claro es que algunos organismos que se alimentan de plantas aún pueden alimentarse de insectos, que es la dieta ancestral para todos los filostómidos y están presentes del lado izquierdo del árbol donde se agrupan los organismos que se alimentan de animales. Dentro de estos organismos se encuentra un *L. yerbabuena*, lo cual no es difícil de explicar ya que estos organismos pueden complementar su dieta y de hecho comen accidentalmente algunos tisanópteros o mosquitos que también son atraídos por el néctar del que se alimenta este murciélago. También en su parte basal un *C. perspicillata* comparte características del microbioma con *D. rotundus*, lo cual parecería complicado de explicar a mi parecer el microbioma puede ser parecido debido a que este *C. perspicillata* comió algunos insectos. El grupo de murciélagos que se observó presenta una mayor agrupación son los murciélagos que se alimentan de animales *D. rotundus* y *M. waterhousii* estos comparten características en su microbioma.

Discusión

Los organismos aparte de su clasificación taxonómica, se han agrupado de acuerdo a su forma de obtener energía. De esta forma tenemos a organismos autótrofos, heterótrofos, quimiótrofos etc. También de acuerdo a las características que presentan en su sistema digestivo como son los deuterostomados o protostomados, rumiantes o al tipo de estrategia alimentaria que los organismos presentan, de esta forma tenemos carnívoros, herbívoros, frugívoros, insectívoros, polinívoros, nectarívoros, picívoros, folívoros y cuando un organismo presenta más de una de estas estrategias se le considera omnívoro. Sin embargo, ¿qué es lo que consideramos cuándo decidimos que un organismo es carnívoro? ¿Cuándo presenta las características morfológicas de un carnívoro? ejemplo dientes de tipo carnacial, garras o decimos que un organismo es herbívoro cuando éste se alimenta de plantas o tienen que presentar ambas características. Lo cierto es que estas estrategias alimentarias son el producto de la adecuación de los organismos a la obtención de energía, y como se ejemplifica en el oso panda gigante, ésta adecuación es producto de su microbioma. ¿Qué es lo que en este organismo con todas las características indispensable para desgarrar y obtener energía de un trozo de carne con altas cantidades proteicas, lo ha llevado a consumir bambú? Esta planta que presenta grandes cantidades de celulosa, un compuesto que se sabe no puede ser digerida por el panda. Pues como podemos ver en este trabajo la microbiota intestinal tiene mucho que ver.

Muy parecido a los dientes carnaciales, el microbioma de los organismos presentan características metabólicas que le ayudan a degradar esos compuestos tan complejos como puede ser la celulosa. Lo que es más el microbioma es tan importante en los organismos organótrofos, como los mamíferos, que sin este sistema no podrían sobrevivir, ya que interviene en la maduración del sistema inmune. De esta forma en filostómidos el tracto gastrointestinal, como ya se mencionó, es un sistema que está formado por diferentes regiones. El intestino está dividido en intestino delgado formado por el duodeno, yeyuno e íleon y el intestino grueso que puede presentar un ciego, el colon y el recto. Cada una de estas secciones presenta diferentes características tanto anatómicas como fisiológicas, como son diferentes tipos celulares, tasa de tránsito del contenido luminal, pH, potencial redox y diferentes secreciones como son ácidos hidrolíticos, enzimas digestivas y la propia bilis. Todas estas características intervienen en la composición del microbioma de filostómidos, ya que todas estas características constituyen parte de cada organismo. Pero recordemos que otras características intervienen en la composición del microbioma, como son el sexo, la condición reproductiva, la edad, la biogeografía de los organismos, como ya lo ha reportado en los trabajos de Phillips et al. (2012) donde se

observa a *grosso modo* todas las características que intervienen en la composición de los murciélagos en general incluidos los filostómidos. Sin embargo en este estudio son muchos los factores que impiden ver cómo la alimentación, un factor determinante, interviene en la constitución del microbioma de murciélagos filostómidos (que es el grupo que presenta una alta diversidad en cuanto a estrategias alimentarias se refiere). En el estudio de Phillips et al. (2012) se utiliza un método diferente de secuenciación (454-Pirosecuenciación) y no se presentan arqueobacterias. En este estudio como se mencionó se pretende reconocer como influye la dieta en la composición de filostómidos de este modo tratamos de evitar algunas variables que gracias al trabajo de Phillips et al. (2012), se sabe intervienen en la composición del microbioma. En este estudio y como en varios estudios han encontrado que las características de los individuos intervienen en la composición del microbioma y se encontró también que las especies sí presentan características en común en su microbioma. Así también, se encontró una relación que divide a estos murciélagos en dos grandes estrategias. Por un lado los murciélagos que se alimentan de animales con todas las características particulares que eso implica y por otro lado los murciélagos que se alimentan de plantas. Sin embargo, hay que recordar que la constitución de la microbiota responde a un complejo multifactorial y con este estudio podemos observar la importancia de la alimentación en la constitución de su microbioma como grupo.

Macrotus waterhousii

Dentro de la alimentación de los filostómidos insectívoros, encontramos que en promedio los insectos están constituidos por 70 % de agua, 17.8 de proteína, 4.5 % de grasa y 2.2 % carbohidratos, el esqueleto de quitina forma otro 3.8%. La degradación de las proteínas comienza con las enzimas secretadas por las glándulas salivales y la secreción de HCl por el estómago, así como, pepsinas y diferentes enzimas secretadas por el duodeno, degradando las proteínas hasta aminoácidos con diferentes cargas. Los aminoácidos son asimilados en el intestino delgado. Sin embargo, hay compuestos que no están completamente digeridos y que tienen que ser degradados por las bacterias del intestino, como son elastinas, colágenos, las propias enzimas pancreáticas, células desechadas y bacterias lisadas. Estos compuestos son degradados hasta compuestos más sencillos como son butarato, propionato, acetato y también CO₂, H₂, CH₄, Amonio, Aminas, Fenoles, Thioles e Indoles. Las grasas por otro lado no tienen problema para ser asimiladas por las

células intestinales. Dentro de la asimilación de carbohidratos encontramos que la quitina que forma aproximadamente solo un 3 % de los insectos. De esta forma se puede observar que la mayor parte del metabolismo del microbioma en *M. waterhousii* se centra en degradación de proteínas. Encontrando una gran proporción de Protobacterias (Gamma, Alfaproteobacterias, Deltaprotobacteria) Bacteroidetes, Planctomycetes, Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Gemmatimonadetes y Verrucomicrobia. Este murciélago también presenta arqueas metanogénicas.

Desmodus rotundus

En la digestión de *D. rotundus* encontramos que la principal fuente de energía es a base de proteína. Sorprendentemente es el organismo que presenta una diversidad más elevada y como se observa en la figura 9, este tiende a agruparse y comparte parte de su microbioma con *M. waterhousii*, lo cual pareciera no absurdo, ya que *D. rotundus* se ha observado, se alimentan de vez en cuando de insectos. Por otro lado, también se observa una asociación con *C. perspicillata* lo cual es más complicado de entender debido a que esta especie se alimenta de plantas y pensar que *D. rotundus* coma plantas suena extraño, sin embargo algo que podemos observar es la presencia de Planctomycetes y Firmicutes muy parecida algo que podemos inferir es que *D. rotundus* presenta un comportamiento de forrajeo muy particular, ya que muchas veces no aterriza directamente en su presa, lo que hace es aterrizar en el piso y posteriormente trepar su presa o morder alguna de sus extremidades, con lo cual hay más contacto con el suelo y posiblemente este comportamiento pueda justificar la presencia de Planctomycetes y otros grupos por el comportamiento de aseo posterior a la alimentación y debido a esto aumente la diversidad de su microbioma. Por otro lado, es entendible que al absorber toda el agua y mantener todas las células, su microbioma este más relacionado con murciélagos que capturan insectos en su dieta ya que ellos al digerirlos rompen primero toda la materia blanda y al último la quitina.

Carollia perspicillata

Se ha reportado en el trabajo de Klite, P. (1965) [28] que *C. perspicillata* es un murciélago con poca presencia bacteriana, esta especie al parecer presentan una dieta muy similar y se observó en campo que *C. perspicillata* se alimenta de *Piper* sp. Una planta que se ha demostrado presenta grandes cantidades de nitrógeno y fibra. Sin embargo, esta especie es la que presenta una mayor diferenciación en su microbioma (figura 5.8) sobre todo el individuo uno, que presento una agrupación con

organismos que se alimentan de sangre, aunque esta especie presento una agrupación muy definida dentro de los frugívoros, a esta especie también se la ha visto alimentándose de insectos [63]. En esta especie también se encontró la presencia de arqueas productoras de metano dentro de su microbioma, también encontramos una gran cantidad de cianobacterias, una alta diversidad de Bacteroidetes y Planctomycetes y no encontramos Tenericutes-Mollicutes ni Bacilli que si fueron encontrados en los grupos cercanos como *A. jamaicensis* y *G. soricina*.

Artibeus jamaicensis

Dentro de la composición del microbioma de *A. jamaicensis* se registró que esta especie presenta muy poca diversidad bacteriana y su microbioma es más parecido al microbioma de *G. soricina* que al de *C. perspicillata*, lo cual puede ser apreciado en el análisis de componentes principales (Fig. 9) y en el UPGMA (Fig. 10) No se encontró la presencia de *Archaea* dentro de su microbioma además una casi nula presencia de Bacteroidetes, Cyanobacteria y Planctomycetes. Por otro lado presento la mayor proporción de Firmicutes, Tenericutes-Mollicutes que fueron muy abundantes en esta especie, y como las demás especies la presencia de Protobacteria, con la presencia de todos los grupos, las bacterias que presenta son conocidas por metabolizar azúcares y se han asociado a la obesidad en los humanos sobre todo los grupos de Firmicutes. Los murciélagos frugívoros y nectarívoros presentan una alta tasa energética esto debido a los azúcares que consumen de esta forma podemos observar que la alimentación en cuestiones energéticas son más parecidas a las de *G. soricina* que al propio *C. perspicillata* en cuanto a proporción de azúcar. Por otro lado sus diferencias, con *C. perspicillata* están dadas por la presencia excesiva de cianobacterias y algunas Arqueas, así como la falta de Tenericutes-Mollicutes y casi nula presencia de Bacilli.

Glossophaga soricina

Este murciélago presenta un microbioma bien definido, lo que indica que el recurso del cual se estaba alimentando por un lado es suficiente, ya que se ha reportado a *G. soricina* comiendo insectos y fruta. En la región se observaron algunas *Ipomoeas* en floración este murciélago se ha observado que no recorre largas distancias como es el caso de *L. yerbabuena*. *G. soricina* comparte muchas características de su microbioma con *A. jamaicensis*. Una de las diferencias es una gran cantidad de

Proteobacterias sobre todo Gammaproteobacterias, también presenta Arqueas metanógenas. Por lo tanto si hay un cambio en la alimentación de *G. soricina* seguro habrá una disbiosis en su microbioma pero para este estudio este murciélago presenta un microbioma muy estable.

Leptonycteris yerbabuena

En cuanto a las características del microbioma pensaríamos encontrar una relación más estrecha entre los murciélagos que se alimentan de néctar, que con otros tipos de estrategias alimenticias, sin embargo podemos observar que los murciélagos aunque pueden tener un tipo de dieta en común utilizan diferente estrategia para alimentarse, una de las diferencias que presenta esta especie con *G. soricina* es el área de forraje en *L. yerbabuena* presenta una área de forrajeo mucho mayor, lo que le permite ampliar su dieta o encontrar diferentes recursos, *G. soricina* presenta rangos de forrajeo más limitados. Dentro de la figura 10 podemos observar que el microbioma del individuo 2 de *L. yerbabuena* presenta más parecido a un insectívoro además, que presenta una gran cantidad de bacterias del grupo Bacteroidetes que han sido relacionadas con la degradación de quitina, sobre todo el grupo Sphingobacteriia. Lo que puede ser un indicador que este organismo se está alimentando de insectos quizá tizánópteros o mosquitos. En este estudio se observó que esta especie presenta un microbioma bien caracterizado y diferente a las otras especies.

Disbiosis por la dieta en Phyllostomidos

Podemos observar que la disbiosis que tuvieron los murciélagos filostómidos va acompañada de un cambio en la adquisición de recursos. De esta manera de una estrategia como la insectivoría se desarrolla a dietas que pueden presentar comunidades muy parecida como la hematófaga, a la degradación de carbohidratos como lignina, celulosa, fructosa y azúcares menos complejos. Por otro lado esto también lleva a una disminución de la diversidad bacteriana. Que puede deberse a diferentes factores como puede ser la producción de enzimas, la propia acidez o la producción de antibióticos en los alimentos consumidos.

Lo que también podemos observar es una división de los grupos en dos grandes estrategias los organismos que se alimentan de plantas y los que se alimentan de animales, y a la constitución de los mismos con dos diferentes inclinaciones organismos que presentan una alta cantidad de proteínas y

otros que presentan una gran cantidad de carbohidratos y azúcares de rápida degradación para un rápido aporte de energía.

Conclusión

Dentro de la comparación del microbioma de murciélagos filostómidos con diferente especialización alimentaria podemos concluir que hay una clara división en dos grupos de microbiomas, esto es en murciélagos que se alimentan de animales y murciélagos que se alimentan de plantas. En cuanto a la diversidad bacteriana, la mayor se encontró en *D. rotundus* (hematófago), seguido de *M. waterhousii* (insectívoro), *C. perspicillata* (frugívoro) *L. yerbabuena* (nectarívoro), *G. soricina* (nectarívoro) y el murciélago con la más baja diversidad es *A. jamaicensis* (frugívoro) (Figura 11)..

Un resultado muy relevante que sale de este estudio es que hay una diferencia significativa entre las diferentes estrategias alimentarias, pero no entre las diferentes regiones del intestino. En cuanto a las relaciones de estructura y composición de enterobacterias con relación a las diferentes estrategias, podemos observar que estas no se muestran similares, posiblemente debido a que estas son muy generales. Ejemplo *C. perspicillata* y *A. jamaicensis* son considerados frugívoros. Sin embargo, la composición de los frutos de los cuales se alimentan son muy diferentes, por tanto la estructura y la composición son muy diferentes.

Es importante tomar en cuenta que este es un estudio transversal, que compara la composición en diferentes estrategias de alimentación. Por lo tanto este estudio tiene limitaciones y las conclusiones son de acuerdo a las características en un tiempo y espacio específicos. Por tanto más adelante se sugieren perspectivas que ayudarían en el entendimiento de la composición enterobacteriana en murciélagos filostómidos.

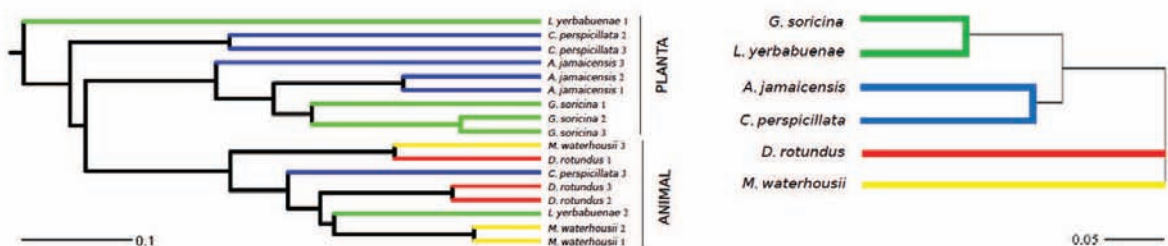


Figura 11. UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) que muestra la relación del microbioma en diferentes secciones del intestino de murciélagos filostómidos.

Perspectivas

Con este trabajo se observó la composición del microbioma de los murciélagos filostómidos. Se recomienda un estudio horizontal para observar cómo cambia las comunidades de murciélagos filostómidos. Así como también, se recomienda utilizar excretas para este estudio ya que no se observó una diferencia significativa entre regiones del intestino, no se pudo diferenciar entre organismos autóctonos u alóctonos. También se pueden hacer estudios para analizar cómo cambian los grupos bacterianos en organismos preñados y en diferentes estadios de vida.

Se recomienda hacer estudios más específicos sobre todo de la degradación de ciertos compuestos en el intestino de murciélagos para observar su actividad metabólica, en ciertos compuestos de interés, como son el amonio que ha sido uno de los recursos ecosistémicos que aportan estos organismos. La degradación de ciertos compuestos como son la lignina, celulosa y quitina dentro de los diferentes grupos de murciélagos y medir la eficiencia en esta degradación.

Bibliografia

- [1] Madigan, M. T, Martinko, J. M, Dunlap, P. V, & Clark, D. P. (2008) Brock Biology of microorganisms 12th edn. Vol. 11, pp. 65–73.
- [2] Ley, R. E, Lozupone, C. a, Hamady, M, Knight, R, & Gordon, J. I. (2008) Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nature reviews. Microbiology* 6, 776–88.
- [3] Godoy-Vitorino, F, Leal, S. J, Díaz, W. a, Rosales, J, Goldfarb, K. C, García-Amado, M. a, Michelangeli, F, Brodie, E. L, & Domínguez-Bello, M. G. (2012) Differences in crop bacterial community structure between hoatzins from different geographical locations. *Research in microbiology* 163, 211–20.
- [4] Zhu, L, Wu, Q, Dai, J, Zhang, S, & Wei, F. (2011) Evidence of cellulose metabolism by the giant panda gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 17714–9.
- [5] Qin, J, Li, R, Raes, J, Arumugam, M, Burgdorf, K. S, Manichanh, C, Nielsen, T, Pons, N, Levenez, F, Yamada, T, Mende, D. R, Li, J, Xu, J, Li, S, Li, D, Cao, J, Wang, B, Liang, H, Zheng, H, Xie, Y, Tap, J, Lepage, P, Bertalan, M, Batto, J.-M, Hansen, T, Le Paslier, D, Linneberg, A, Nielsen, H. B. r, Pelletier, E, Renault, P, Sicheritz-Ponten, T, Turner, K, Zhu, H, Yu, C, Li, S, Jian, M, Zhou, Y, Li, Y, Zhang, X, Li, S, Qin, N, Yang, H, Wang, J, Brunak, S. r, Doré, J, Guarner, F, Kristiansen, K, Pedersen, O, Parkhill, J, Weissenbach, J, Bork, P, Ehrlich, S. D, & Wang, J. (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59–65.
- [6] Ochman, H, Lawrence, J. G, & Groisman, E. A. (2000) Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature* 405, 299–304.
- [7] McFall-Ngai, M., Hadfield, M. G., Bosch, T. C. G., Carey, H. V, Domazet-Loso, T., Douglas, A. E., ... Wernegreen, J. J. (2013). Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(9), 3229–3236. doi:10.1073/pnas.1218525110
- [8] Lister, A. M. (2004). The impact of Quaternary Ice Ages on mammalian evolution. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 359, 221–41.
- [9] Pagani, M, Zachos, J. C, Freeman, K. H, Tipple, B, & Bohaty, S. (2005) Marked decline in atmospheric carbon dioxide concentrations during the paleogene. *Science* 309, 600–603.

- [10] Rawls, J. F. (2012) Gut microbial communities in health and disease. *Gastroenterology and Pathology* 277–278.
- [11] Simmons, N. (1998) A reappraisal of interfamilial relationships of bats. *Bat biology and conservation (TH Kunz and PA Racey, eds.)*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC pp. 3–26.
- [12] Teeling, E. C, Springer, M. S, Madsen, O, Bates, P, O'brien, S. J, & Murphy, W. J. (2005) A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. *Science* 307, 580–584.
- [13] Rojas, D, Vale, Á, Ferrero, V, & Navarro, L. (2012) The role of frugivory in the diversification of bats in the neotropics. *Journal of Biogeography* 39, 1948–1960.
- [14] Datzmann, T, von Helversen, O, & Mayer, F. (2010) Evolution of nectarivory in phyllostomid bats (Phyllostomidae gray, 1825, chiroptera: Mammalia). *BMC Evolutionary Biology* 10, 165.
- [15] Schondube, J. E, Herrera-M, L. G, & Martínez del Rio, C. (2001) Diet and the evolution of digestion and renal function in phyllostomid bats. *Zoology* 104, 59–73.
- [16] Wetterer, A. L, Rockman, M. V, & Simmons, N. B. (2000) Phylogeny of phyllostomid bats (mammalia: Chiroptera): data from diverse morphological systems, sex chromosomes, and restriction sites. *Bulletin of the American Museum of Natural History* pp. 1–200.
- [17] Studier, E. H & Wilson, D. E. (1983) Natural urine concentrations and composition in neotropical bats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 75, 509–515.
- [18] Geluso, K. N. (1978) Urine concentrating ability and renal structure of insectivorous bats. *Journal of Mammalogy* pp. 312–323.
- [19] Carpenter, R. E. (1969) Structure and function of the kidney and the water balance of desert bats. *Physiological Zoology* 42, 288–302.
- [20] Karasov, W. H & Diamond, J. M. (1988) Interplay between physiology and ecology in digestion. *BioScience* 38, 602–611.
- [21] Salyers, A, Shipman, J, Staley, J, & Reysenbach, A. (2002) Getting in touch with your prokaryotic self: mammal-microbe interactions. *Biodiversity of Microbial Life*. Wiley-Liss, Nueva York, EEUU pp. 315–341.

- [22] Bull, A. T & Slater, J. H. (1982) *Microbial interactions and communities*. (Academic Press New York).
- [23] Jawetz, E, Melnick, J. L, & Adelberg, E. A. (1980) *Review of medical microbiology*. (Springer).
- [24] Reviews, A & Savage, D. C. (1977) Microbial ecology of the gastrointestinal tract, 1699.
- [25] Costello, E. K, Stagaman, K, Dethlefsen, L, Bohannan, B. J. M, & Relman, D. a. (2012) The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science (New York, N.Y.)* **336**, 1255–62.
- [26] Mühlendorfer, K. (2013) Bats and bacterial pathogens: a review. *Zoonoses and Public Health* **60**, 93–103.
- [27] Chaverri, G. (2006) Flora bacteriana aeróbica del tracto digestivo del vampiro común, *desmodus rotundus* (chiroptera: Phyllostomidae). *Revista de biología tropical* **54**, 717–724.
- [28] Klite, P. (1965) Intestinal bacterial flora and transit time of three neotropical bat species. *Journal of bacteriology* **90**, 375–379.
- [29] Gunnell, G. F & Nancy B. Simmons, e. (2012) *Evolutionary History of Bats*. (Cambridge University Press).
- [30] Racey, P. A & Entwistle, A. C. (2000) Life-history and reproductive strategies of bats. *Reproductive biology of bats*. Academic Press, London pp. 363–414.
- [31] Forman, G. L. (1972) Comparative morphological and histochemical studies of stomachs of selected American bats. *The Univ. of Kansas science bull.* **49**.
- [32] Neuweiler, G. (2000) *The biology of bats*. (Oxford University Press).
- [33] Cruz-Neto, a. P, Garland, T, & Abe, a. S. (2001) Diet, phylogeny, and basal metabolic rate in phyllostomid bats. *Zoology (Jena, Germany)* **104**, 49–58.
- [34] Casotti, G, Gerardo Herrera M, L, Flores M, J. J, Mancina, C. a, & Braun, E. J. (2006) Relationships between renal morphology and diet in 26 species of new world bats (suborder microchiroptera). *Zoology (Jena, Germany)* **109**, 196–207.
- [35] Pacheco, Jesus R. y Salazar, L. E. (1990) Apartado digestivo de los quirópteros frugívoros de la costa chica de Guerrero, México (Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza, UNAM).

- [36] Kanehisa, L. (1995-2014) Kyoto encyclopedia of genes and genomes (kegg). [37] Baker, R. J, Jones, J. K, & Carter, D. C. (1979) in Special publications the Museum Texas Tech University. (Texas Tech University) Vol. III.
- [38] Gunnell, G. F & Simmons, N. B. (2005) Fossil evidence and the origin of bats. *Journal of Mammalian Evolution* **12**, 209–246.
- [37] Kovatcheva-Datchary, P., Tremaroli, V., & Bäckhed, F. (2013). The gut microbiota. In *The Prokaryotes* (pp. 3-24). Springer Berlin Heidelberg.
- [39] Simmons, N. B & Geisler, J. H. (1998) Phylogenetic relationships of icaronycteris, archaeonycteris, hassianycteris, and palaeochiropteryx to extant bat lineages, with comments on the evolution of echolocation and foraging strategies in microchiroptera. *Bulletin of the amnh*; no. 235.
- [40] Martínez-Delclòs, X. (1996) El registro fósil de los insectos. *Boletín de la Asociación española de Entomología* **20**, 9–30.
- [41] Sil-Berra, L. M. (2010) Análisis de la dieta de los murciélagos insectívoros del parque nacional grutas de Cacahuamilpa, Guerrero, México (UNAM).
- [42] Menchaca-Rodríguez, A. (2010) Determinación de la dieta de dos murciélagos vampiro (*Desmodus rotundus* y *Diphylla ecaudata*) con un método no invasivo, del noreste de Puebla, México (UNAM).
- [43] Blood, B, Bat, V, Source, C. P. B, Society, A, & Url, M. S. (1942) the American Society of Mammalogists. *Science* (New York, N.Y.) **95**, 427–8.
- [44] Joermann, G, Schmidt, U, & Seidel, M. R. (1942) the American Society of Mammalogists. *Science* (New York, N.Y.) **95**, 427–8.
- [45] Ortega, J, Source, C.-a, Species, M, Society, A, & Url, M. S. (1942) the American Society of Mammalogists. *Science* (New York, N.Y.) **95**, 427–8.
- [46] Baker, R. J, Solari, S, & Hoffmann, F. G. (2002) A new Central American species from the carollia brevicauda complex. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University* **217**, 1–12.
- [47] Hernández, A. G. D. (2010) *Tratado de nutrición: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición*. (Ed. Médica Panamericana) Vol. 2.
- [48] Phillips, C. J. (1971) The dentition of glossophagine bats: development, morphological characteristics, variation, pathology, and evolution.

- [49] Griffiths, T. A. (1978) Muscular and vascular adaptations for nectar-feeding in the glossophagine bats *monophyllus* and *glossophaga*. *Journal of Mammalogy* pp. 414–418.
- [50] Gardner, A. L. (1977) Feeding habits. *Biology of the bats of the New World family Phyllostomatidae. Part II* (RJ Baker, JK Jones, Jr., and DC Carter, eds.). Special Publications, The Museum, Texas Tech University **13**, 1–364.
- [51] Bonaccorso, F. J & Gush, T. J. (1987) Feeding behaviour and foraging strategies of captive phyllostomid fruit bats: an experimental study. *The Journal of Animal Ecology* pp. 907–920.
- [52] Arita, H. T & Santos-del Prado, K. (1999) Conservation biology of nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of Mammalogy* pp. 31–41.
- [53] Ceballos, G, Fleming, T. H, Chávez, C, & Nassar, J. (1997) Population dynamics of *leptonycteris curasoae* (chiroptera: Phyllostomidae) in Jalisco, Mexico. *Journal of Mammalogy* pp. 1220–1230.
- [54] Sahley, C. T, Horner, M. A, & Fleming, T. H. (1993) Flight speeds and mechanical power outputs of the nectar-feeding bat, *leptonycteris curasoae* (Phyllostomidae: Glossophaginae). *Journal of Mammalogy* pp. 594–600.
- [55] Fleming, T. H & Nassar, J. (2002) Population biology of the lesser long-nosed bat *leptonycteris curasoae* in Mexico and northern South America. *Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology, and conservation* (TH Fleming and A. Valiente-Banuet, eds.). University of Arizona Press, Tucson pp. 283–305.
- [56] Cole, F. R & Wilson, D. E. (2006) *Leptonycteris yerbabuenae*. *Mammalian Species* **797**, 1–7.
- [57] Percival, M. S. (1961) Types of nectar in angiosperms. *New Phytologist* **60**, 235–281.
- [58] Brunet, A. K & Medellín, R. A. (2001) The species-area relationship in bat assemblages of tropical caves. *Journal of Mammalogy* **82**, 1114–1122.
- [59] Nordgård, L, Traavik, T, & Nielsen, K. M. (2005) Nucleic acid isolation from ecological samples vertebrate gut flora. *Methods in enzymology* **395**, 38–48.
- [60] Caporaso J Gregory, Justin Kuczynski, J. S. K. B. F. D. B. E. K. C. N. F. A.G. P. J. K. G. J. I. G. G. A. H. S. T. K. D. K. J. E. K. R. E. L. C. A. L. D. M. B. D. M. M. P. J. R. J. R. S. P. J. T. W. A. W. J. W. T. Y. J. Z & Knight, R. (2010) Qiime allows analysis of high throughput community sequencing data (Nature Methods).

- [61] Tully, J. G. (2012). Class Mollicutes: new perspectives from plant and arthropod studies. *The mycoplasmas*, 5, 131.
- [62] Kudo, T. (2009). Termite-microbe symbiotic system and its efficient degradation of lignocellulose. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 73(12), 2561-2567.
- [63] Herbst, L. H. (1986). The role of nitrogen from fruit pulp in the nutrition of the frugivorous bat *Carollia perspicillata*. *Biotropica*, 39-44.
- [64] Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. a, Berg-Lyons, D., Lozupone, C. a, Turnbaugh, P. J., Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl, 4516–22. doi:10.1073/pnas.1000080107
- [65] Quiroz, D.L., Xelhuanzi M.S. and Zamora M.C. (1986) Analisis palinologico del contenido gastrointestinal de los murcielagos *Glossophaga soricina* y *Leptonycteris yerbabuena* de las Grutas de Juxtlahuaca, Guerrero. Instituto Nacional de Antropología Historia Serie Prehistoria, 1-62.

Anexos.

Mapa de datos

Muestra	Barcode	Linker Primer
L.yerbabuena1.1	CAGAACEITE	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
L.yerbabuena1.2	AATACAGACCTG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
L.yerbabuena1.3	TCCGCAACCTGA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
L.yerbabuena2.1	GCATGCATCCCA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
L.yerbabuena2.2	ATCCCAGCATGC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
L.yerbabuena2.3	ACCAACAGATTG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii1.1	CTGGTGCTGAAT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii1.2	GTGACGTTAGTC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii1.3	GTCCGAAATTGT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii2.1	GACTCAACCAGT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii2.2	TCACTTGGTGCG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii2.3	GATCTAATCGAG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii3.1	GCTTCCAGACAA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii3.2	GTGGCCTACTAC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
M.waterhousii3.3	GACAGAGGTGCA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus1.1	GAGTCTTGGTAA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus1.2	TCTAACGAGTGC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus1.2	GGAAGAAGTAGC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus2.1	TTATGTACGGCG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus2.2	AATCTTGCGCCG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus2.3	ACACAGTCCTGA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus3.1	TTCCCTTCTCCG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus3.2	TCAGACCAACTG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
D.rotundus3.3	TCGTCGCCAAAC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 1.1	CATCTGGGCAAT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 1.2	ATCGATCCACAG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 1.3	TTGGACGTCCAC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 2.1	GGAAATCCCATC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 2.2	ATTATACGGCGC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 2.3	CATTTGACGACG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 3.1	AGTGATGTGACT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 3.2	AACATGCATGCC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
<i>C.perspicillata</i> 3.3	TGTCCGTGGATC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
A.jamaicensis1.1	ACACCGCACAAT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
A.jamaicensis1.2	TCCAGGGCTATA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
A.jamaicensis1.3	GACCGTCAATAC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
A.jamaicensis2.1	ATTCAGATGGCA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT

A.jamaicensis2.2	AAGTGAAGCGAG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
A.jamaicensis2.3	CTTAGCTACTCT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
A.jamaicensis3.1	GTCTGTTGAGTG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
A.jamaicensis3.2	ACTCGGCCAACT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
A.jamaicensis3.3	GTCTCCTCCCTT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina1.1	GCGTAGAGAGAC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina1.2	TTGGAACGGCTT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina1.3	TAAACGCGACTC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina2.1	TGCCGCCGTAAT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina2.2	TCGGTCCATAGC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina2.3	TGAGTTCGGTCC	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina3.1	GTTGGTTGGCAT	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina3.2	GTAGCACTCATG	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT
G.soricina3.3	GAAACTCCTAGA	CCGGACTACHVGGGTWTCTAAT

Datos y sitios de colecta

	Especie	Dieta	Localidad	Sexo	Edad	Antebrazo (mm)	Condición reproductiva	Peso (gr)	Longitud de intestino (mm)
1	<i>Carollia perspicillata</i>	Frugívoro	Las vegas	M	Adulto	42.6	T.E	19	20.3
2	<i>Carollia perspicillata</i>	Frugívoro	Las vegas	M	Adulto	43.3	T.E	17	19.4
3	<i>Carollia perspicillata</i>	Frugívoro	Las vegas	M	Adulto	44.7	T.E	19	24.1
4	<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro	Las vegas	M	Juvenil	35.8	In	10	16.7
5	<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro	Las vegas	M	Adulto	36.1	T.E	11	15
6	<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro	Las vegas	M	Juvenil	37.5	In	10	16
7	<i>Leptonycteris yerbabuenae</i>	Nectarívoro	Las vegas	M	Adulto	54.5	T.E	23	24
8	<i>Leptonycteris yerbabuenae</i>	Nectarívoro	Las vegas	M	Adulto	54.9	T.E	24	24
9	<i>Leptonycteris yerbabuenae</i>	Nectarívoro	Las vegas	M	Adulto	53.6	T.E	23	25.5
10	<i>Artibeus jamaicensis</i>	Frugívoro	Las vegas	M	Juvenil	58	In	34	42
11	<i>Artibeus jamaicensis</i>	Frugívoro	Las vegas	M	Adulto	61.3	T.E	32	40
12	<i>Artibeus jamaicensis</i>	Frugívoro	Las vegas	M	Juvenil	60.3	In	26	40
13	<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago	Las vegas	F	Adulto	61.3	In	31	51
14	<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago	Las vegas	M	Juvenil	59.2	In	29	45
15	<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago	Las vegas	M	Adulto	56.4	T.E	29	57
16	<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro	El Huarache	M	Adulto	35	T.E	9	16
17	<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro	El Huarache	M	Adulto	37.1	In	9	16
18	<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro	El Huarache	M	Adulto	37	In	10	17
19	<i>Macrotus waterhousii</i>	Insectívoro	El Huarache	M	Adulto	55	In	18	18
20	<i>Macrotus waterhousii</i>	Insectívoro	El Huarache	M	Adulto	53	In	19	22

	Especie	Dieta	Localidad	Sexo	Edad	Antebrazo (mm)	Condición reproductiva	Peso (gr)	Longitud de intestino (mm)
21	<i>Macrotus waterhousii</i>	Insectívoro	El Huarache	M	Adulto	52	In	18	21

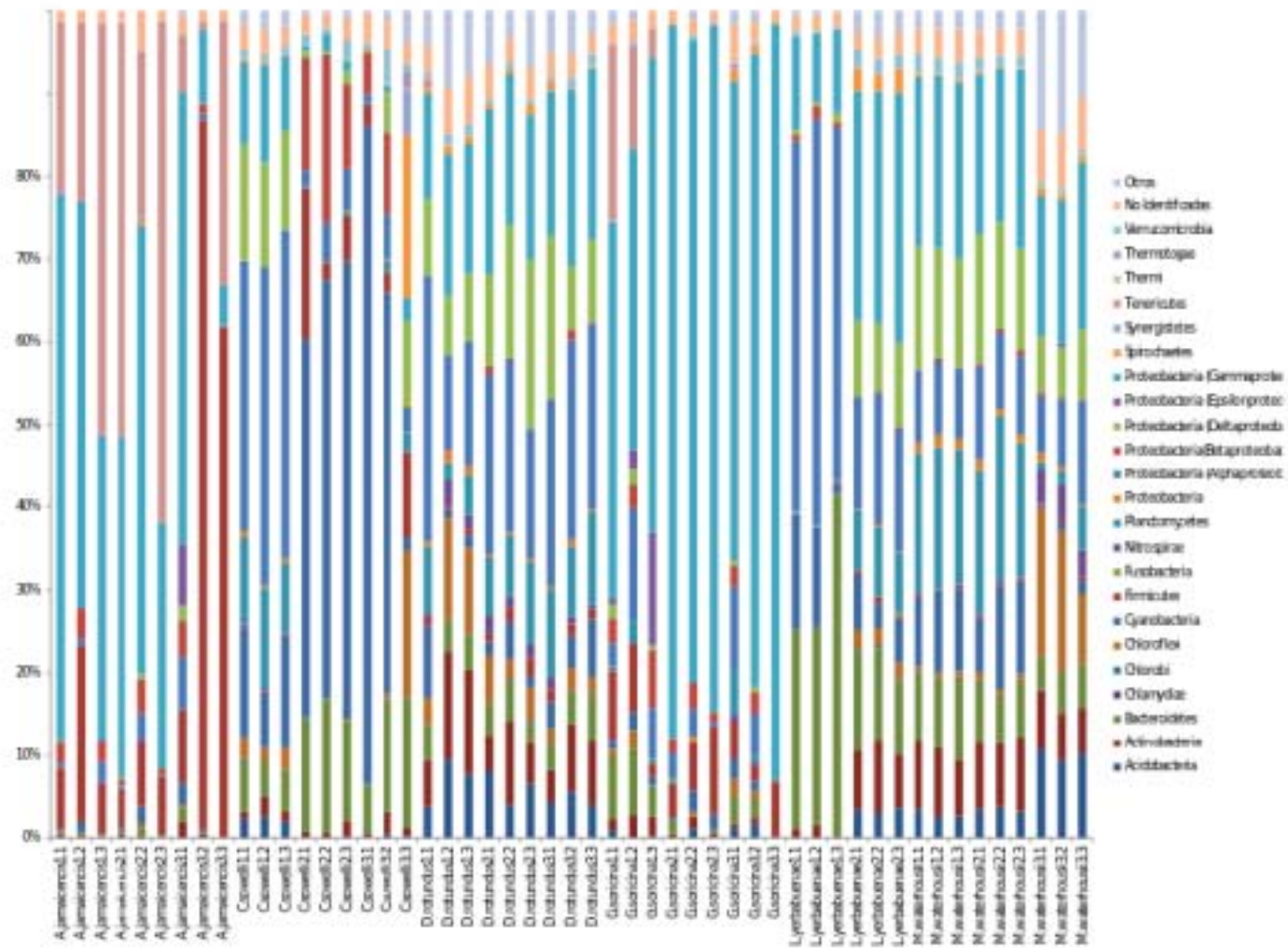
En cuanto a la condición reproductiva podemos encontrar machos inactivos reproductivamente representados por In y Machos con los testículos escrotados. La edad se determinó de acuerdo a la osificación de los ligamentos del antebrazo, los adultos presentan osificación mientras los juveniles no. Todos son machos a excepción de una hembra de *Desmodus rotundus*. Es importante mencionar que en algunas ocasiones *Glossophaga* puede alimentarse de insectos o incluso de frutos.

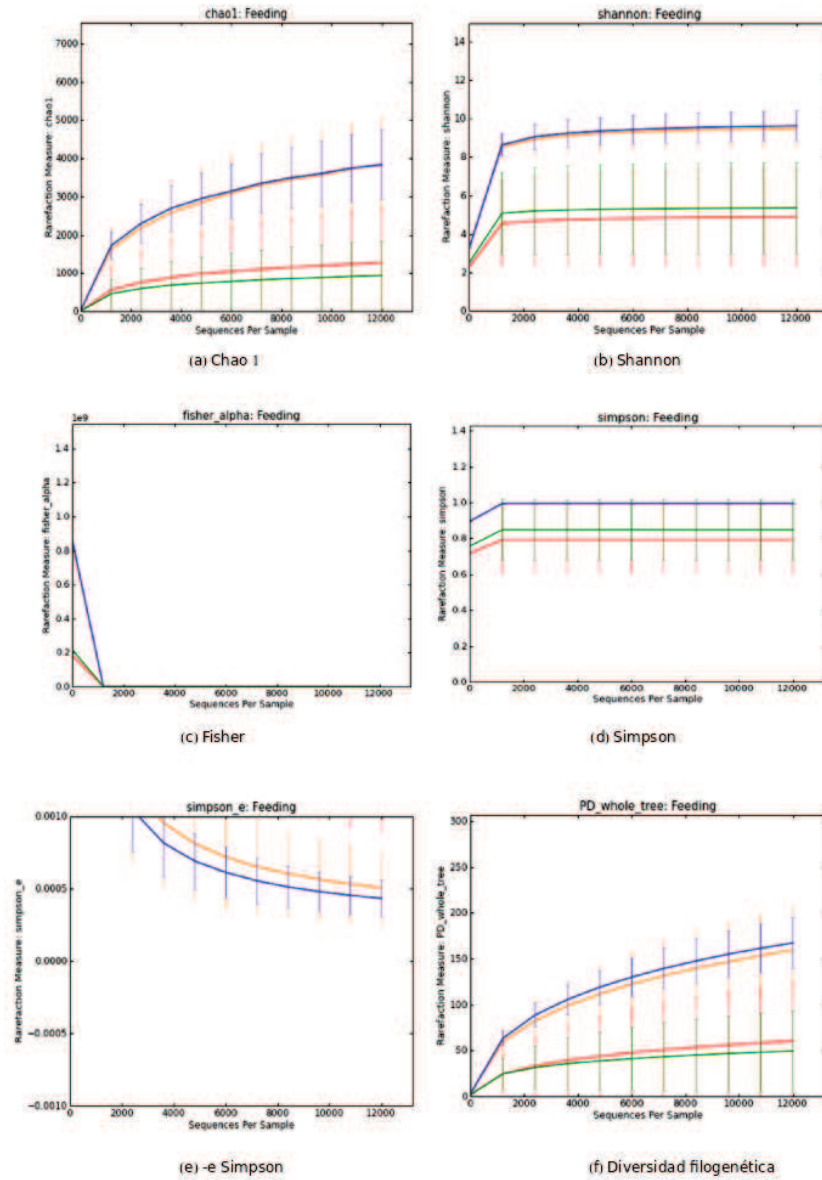
La Cueva del Huarache en Palo Blanco ($17^{\circ}23'38.37''N$ $99^{\circ}28'15.50''O$), cerca Chilpancingo en una cueva con la boca sobre el piso donde se puede colocar la red de niebla fácilmente. Entre los murciélagos que se encontraron en esta cueva están *Glossophaga soricina*, *Macrotus waterhousii*, *Leptonycteris yerbabuena* dentro Phyllostomidae otras especies encontradas están *Pteronotus davyi*, *Mormoops megalophylla*.

La Cueva de Las Vegas a 2.5 Km del sur de Tenampulco; Puebla ($20^{\circ}08'54''$ N, 97° , $24'39''$ W) la cueva presenta una gran diversidad de filostómidos la temperatura dentro de la cueva oscila entre $21.6 \pm 2.5^{\circ}C$.

Gráfico de composición por sección de intestino.

Abundancia relativa de las comunidades predominantemente bacterianas en diferentes secciones del intestino de murciélagos filostómidos.





Curvas de rarefacción por estrategia alimenticia: rojo (nectarívora); azul (hematófaga); anaranjado (insectívora); verde (frugívora).

Estimadores de diversidad utilizados.

Rarefacción

La rarefacción es un método básico y esencial en microbiomas ya que permite comparar comunidades con diferentes tamaños de muestra. Estandarizando el tamaño de la muestra, con lo cual nos permite, observar la diversidad de los organismos.

$$E(S) = \sum 1 - \frac{(N - Ni)/n}{N/n}$$

Parámetros

$E(S)$ = número esperado de especies.

N = número total de individuos en lamuestra.

N_i = número de individuos de la i ésima especie.

N = tamaño de la muestra estandarizado.

Chao 1

Este índice describe las especies raras en la muestra

$$Chao1 = S + \frac{a^2}{2b}$$

S = núm. De sp.

a = singleton

b = dobleton

Shannon

Este es un índice de equidad

$$H' = - \sum p_i \ln p_i$$

Fisher

Este índice calcula la diversidad en función del número de individuos y el número de especies.

$$S = a * \ln\left(1 + \frac{n}{a}\right)$$

S = núm. de taxa

n = núm de individuos

a = alfa de Fisher

Simpson

Este es un índice de dominancia

$$\lambda = \sum p_i^2$$

Pi = abundancia proporcional de la especie