



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

**PREVALENCIA DE *Leishmania mexicana* Y *Trypanosoma cruzi* EN LOS
MURCIÉLAGOS *Carollia sowelli* Y *Sturnira lilium* BAJO DOS
CONDICIONES DISTINTAS DE PERTURBACIÓN
ANTROPOGÉNICA EN LA SELVA LACANDONA, CHIAPAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
LUIS ROBERTO VÍQUEZ RODRÍGUEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. RODRIGO A. MEDELLÍN LEGORRETA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
COMITÉ TUTORAL: DRA. INGEBORG DOROTHEA BECKER FAUSER
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
DR. GERARDO SUZÁN AZPIRI
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA, UNAM
MÉXICO, D.F. MARZO, 2015



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
ECOLOGÍA

**PREVALENCIA DE *Leishmania mexicana* Y *Trypanosoma cruzi* EN LOS
MURCIÉLAGOS *Carollia sowelli* Y *Sturnira lilium* BAJO DOS
CONDICIONES DISTINTAS DE PERTURBACIÓN
ANTROPOGÉNICA EN LA SELVA LACANDONA, CHIAPAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

LUIS ROBERTO VÍQUEZ RODRÍGUEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. RODRIGO A. MEDELLÍN LEGORRETA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
COMITÉ TUTORAL: DRA. INGEBOURG DOROTHEA BECKER FAUSER
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
DR. GERARDO SUZÁN AZPIRI
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA, UNAM
MÉXICO, D.F. MARZO, 2015



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

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 24 de noviembre de 2014, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del Posgrado en Ciencias Biológicas, del alumno **VIQUEZ RODRÍGUEZ LUIS ROBERTO** con número de cuenta **512452799** con la tesis titulada **"PREVALENCIA DE LEISHMANIA MEXICANA Y TRYPANOSOMA CRUZI EN LOS MURCIELAGOS CAROLLIA SOWELLI Y STURNIRA LILIUM BAJO DOS CONDICIONES DISTINTAS DE PERTURBACIÓN ANTROPOGÉNICA EN LA SELVA LACANDONA, CHIAPAS"**, bajo la dirección del **DR. RODRIGO ANTONIO MEDELLÍN LEGORRETA:**

Presidente: DR. JOAQUÍN ARROYO CABRALES
Vocal: DR. RURIK HERMANN LIST SÁNCHEZ
Secretario: DRA. INGEBORG DOROTHEA BECKER FAUSER
Suplente: DRA. MIRIAM BERZUNZA CRUZ
Suplente: DR. GERADO SUZAN AZPIRI

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 03 de marzo de 2015.


DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ÁRRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



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

Agradecimientos

Primero que todo debo agradecer al posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM y a todos los colaboradores del mismo por toda la ayuda prestada durante estos años.

Debo agradecer también al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) quien me dio una beca (CVU 402022, becario 270173) para poder estudiar la maestría y realizar la investigación que aquí les presento.

A los miembros de mi comité tutorial Dr. Rodrigo A. Medellín Legorreta, la Dra. Ingeborg Becker, y el Dr. Gerardo Suzán Azpiri quienes me guiaron durante todo este tiempo y sin cuyos valiosos comentarios y asesorías esta tesis nunca hubiese llegado a su final. Estaré eternamente agradecido con todos ustedes.

Agradecimientos a título personal

Tengo que agradecer a muchísimas personas por toda la ayuda prestada durante este proyecto. Primero que todo tengo que agradecer a mi familia que han sido un apoyo incondicional durante todo este proceso y sin los cuales nunca podría haber terminado. Los amo con todo mi corazón. No importa donde esté ni que haga, ustedes siempre son mi base y mi comité de apoyo más importante. A Dani, gracias por estar siempre ahí, gracias por todo tu apoyo y comprensión. Mi tiempo en México no hubiera sido lo mismo sin tu compañía; gracias por todo el tiempo que compartimos.

No puedo dejar de mencionar a toda la gente de la Universidad que me ha brindado un apoyo impresionante para la realización de este proyecto. A toda la gente del posgrado Coro, Lilia, Armando, Patricia, Paty, Lilia, Erika, Karina y todos los demás que de una u otra forma me han brindado su apoyo para la realización de este proyecto. A CONACyT y al gobierno de México por darme el apoyo económico para poder estudiar en México esta maestría.

A las autoridades que extendieron los permisos para poder trabajar en México: el INM, la embajada de Costa Rica en México, la embajada de México en Costa Rica, la DGVS, SEMARNAT, Reserva de la Biósfera Montes Azules, CONANP, mil gracias por el apoyo y la confianza para la realización de esta tesis.

A las agencias que financiaron este proyecto: BBVA, Witley Fund for Nature y un especial agradecimiento a Bioconciencia A.C., las Maris y Laura Navarro que siempre estuvieron ahí para facilitar la obtención de fondos para este proyecto.

A Rodrigo; he aprendido mucho más que murciélagos durante estos años; todas esas conversaciones y lecciones me acompañarán de por vida y sin duda me han ayudado a marcar mi camino, mil gracias por la confianza y el apoyo.

A mi laboratorio, han sido instrumentales en estos años y tengo que dar las gracias a todos por su ayuda y apoyo en los buenos y malos momentos. Rodrigo, Nora, Marina, Toño, Aseneth, Cecilia, Ana, Mari Pau, Rubén, Alma, Sergio, Majo, Abi, Valeria; a todos les estaré eternamente agradecido. También gracias a Angélica, Memo, Clemen, Tania y Tona por todos sus consejos y guías para que un tico sobreviviera más o menos entero en México.

A los que me apoyaron en el trabajo de campo: Rafa, Ana y toda la familia Lombera, Don Chilo, Tepo, Ana Galicia, Nora, Ceci, Lili, Domingo, Jackie, Mogel y a los comisariados de los ejidos de Chajul y de Galacia por los permisos para trabajar en sus tierras.

Al laboratorio de Inmunoparasitología de la Unidad de investigación en Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM, Hospital General de México por abrirme las puertas para que pudiera realizar toda la fase de laboratorio allá. Mil gracias a la Dra. Becker, Dra. Miriam Berzunza por todo el apoyo técnico; a Bere, Daniel, Edi y a todos los que me aconsejaron y soportaron mis constantes dudas y consultas durante las pruebas de

laboratorio. Al Dr. Gerardo Suzán y a todo su laboratorio por todos los consejos y la ayuda prestada en campo. Al Dr. Oscar Rico y todos los estudiantes de su curso por toda la ayuda en la segunda salida de campo.

A mis amigos que desde la distancia han hecho esta estancia mucho más llevadera, siempre puedo contar con ustedes no importa que pase: Beto, Tanya, Amanda, Betty, Jennifer, Pri, David, Adán; gracias por siempre estar ahí a la distancia.

A mi familia adoptiva en México, los García-Rivas. Joaquín, Martha, Renata, Valentina, Moi, Santi y a todos los otros integrantes de esa familia extensiva, gracias por recibirme cada jueves y hacerme sentir siempre como en casa.

A mis hermanos adoptivos: Andrés y José: gracias por estar siempre ahí, es imposible sentirse solo sabiendo que los tengo ahí conmigo. A mi otra familia de extranjeros y nacionales: Dani, José, Andrés, Andrea, Ángela, Cuauhtémoc, Heliot, Chucho, Lalo, Rodrigo, Néstor, Deisy, Chema, Pepelo, Nora y todos los demás que siempre estuvieron ahí para aconsejarme y para ayudarme en todo lo que pudieran.

A todos aquellos que han cultivado mi amor e interés por los murciélagos; Bernal, Rodrigo, Eli, Marco; gracias por compartir todo su conocimiento y pasión conmigo, han dejado una marca profunda en mi vida.

A México, este país se me ha metido bajo la piel, estaré eternamente agradecido por todo lo que he vivido aquí. Yo sé que nunca podré alejarme completamente de esta que fue mi casa por 3 años; gracias por adoptarme como uno más, espero algún día poder repagar este amor que me han brindado.

Mil gracias a todos, los llevaré siempre en mi mente y mi corazón.

A mis papás, mis hermanos y mis abuelos

Índice

Agradecimientos.....	5
Agradecimientos a título personal	6
Índice	9
Índice de figuras	11
Índice de tablas	11
Resumen	13
Abstract.....	16
Introducción.....	17
Los murciélagos y su diversidad.....	17
Pérdida del hábitat y cambios de uso de suelo.....	18
Especies seleccionadas para este estudio.....	20
Antecedentes.....	21
Ciclos de vida.....	22
Vectores	23
Métodos de infección de doble vía	24
Importancia de los reservorios silvestres	25
Objetivos.....	27
Objetivo general.....	27
Objetivos específicos	27
Hipótesis.....	27
Predicciones.....	27
Métodos	28
Sitio de estudio.....	28
Selección de parcelas	28
Salidas de campo	28
Identificación de los parásitos.....	29
Toma de muestras.....	29
Extracción de ADN	29
Amplificación del ADN de los parásitos mediante PCR.....	30
Mezcla de reacción	30
Condiciones de amplificación	30

Electroforesis en geles de agarosa	31
Análisis de datos	31
Resultados.....	32
Diversidad.....	32
Identificación de los parásitos.....	34
<i>Leishmania mexicana</i>	34
<i>Trypanosoma cruzi</i>	35
Discusión	36
Diversidad.....	36
Prevalencia de <i>L. mexicana</i> y <i>T. cruzi</i>	38
Conclusiones.....	43
Referencias	44
Anexo 1.	54

Índice de figuras

Figura 1. Curvas de rango-abundancia para las especies de murciélagos de los sitios de bosque y de las zonas perturbadas en la región de Marqués de Comillas y la reserva de la biósfera de Montes Azules 2012-2013. Los números en el eje horizontal representan las especies ordenadas según sus rangos de abundancia y los valores en el eje vertical la proporción del total de individuos capturados en ese hábitat que corresponden a cada especie.	32
Figura 2. Relación lineal entre la raíz cuadrada de la prevalencia y la riqueza de especies de cada sitio en la región de Marqués de Comillas y la reserva de la biósfera de Montes Azules 2012-2013. Los triángulos representan a los sitios del hábitat perturbado mientras que los círculos los del hábitat conservado.	35

Índice de tablas

Tabla 1. Lista de especies de murciélagos de los sitios de bosque y de las zonas perturbadas en la región de Marqués de Comillas y la reserva de la biósfera de Montes Azules 2012-2013.	33
---	----

Nota del autor:

La taxonomía de una de las especies de este estudio ha estado en discusión en los últimos años. Tradicionalmente se ha utilizado el nombre de *Sturnira lilium* sin embargo, las referencias más actuales sobre la taxonomía de este género señalan que el nombre correcto es *Sturnira parvidens*. El título de este trabajo utiliza el nombre tradicional (*S. lilium*) ya que por motivos administrativos el nombre de la tesis ya no puede ser modificado pero el texto de esta tesis utiliza el nombre actualmente reconocido como correcto (*S. parvidens*).

Resumen

Los murciélagos son uno de los grupos más diversos de mamíferos del mundo, sus adaptaciones morfológicas y fisiológicas les han permitido colonizar prácticamente todos los ecosistemas del mundo con excepción de los círculos polares y los ambientes marinos. Al igual que en muchos otros grupos, la mayor riqueza de murciélagos se encuentra en las zonas tropicales del mundo. México por su posición latitudinal estratégica tiene una gran diversidad de murciélagos gracias a que tiene especies tanto de la zona neártica como especies de la zona neotropical. Los murciélagos proveen gran cantidad de servicios ambientales como la polinización, dispersión de semillas, control de plagas, etc.; pero todos estos servicios se encuentran amenazados ya que las poblaciones de murciélagos se encuentran seriamente amenazadas por la pérdida de hábitat y la fragmentación de los ecosistemas naturales.

Estas amenazas no solo ponen en peligro los servicios ambientales sino que también alteran los equilibrios naturales de los patógenos presentes en los murciélagos y pueden ser un verdadero factor de riesgo si dichos patógenos llegaran a provocar eventos zoonóticos. Los murciélagos han sido identificados como reservorios de diversos patógenos a lo largo de los años y una de las relaciones más conocidas es la de los murciélagos con los kinetoplástitos del género *Trypanosoma*. Estos parásitos son los causantes de enfermedades como la de Chagas (*T. cruzi*) y la enfermedad del sueño (*T. brucei*). Las relaciones entre los murciélagos y los *Trypanosoma* son estrechas y bien conocidas. Recientemente un estudio en Panamá demostró al menos la presencia de 5 linajes independientes de los parásitos que están presentes en los murciélagos *Artibeus jamaicensis*. Otros kinetoplástitos parasíticos son los organismos del género *Leishmania*; estos son los causantes de la Leishmaniasis cutánea y visceral, también conocida como Papalomoyo o úlcera del chiclero dependiendo de la región. Aunque este último parásito ha sido menos estudiado en murciélagos, si se tiene conocimiento de que los murciélagos son potenciales reservorios competentes de la enfermedad y pueden adquirirla y transmitirla a través de la mordedura de los vectores de la enfermedad.

Estudiar cómo estas relaciones entre los murciélagos y los parásitos son afectadas por los cambios a nivel de paisaje son de vital importancia para entender y manejar los riesgos asociados con las enfermedades que pueden afectar a humanos. Se estima que en el

mundo 10 millones de personas sufren de enfermedades causadas por *Trypanosoma* y *Leishmania* por lo cual estos parásitos no son solo de interés biológico sino también epidemiológico y de salud pública. Muchos estudios se han dedicado a buscar parásitos en los murciélagos pero ignoran de manera completa el contexto ecológico y paisajístico de las regiones donde estos animales son capturados. Tener en cuenta estos factores ambientales es fundamental para poder hacer evaluaciones de riesgo completas y realmente ajustadas a la realidad de los ecosistemas. Es por eso que el objetivo de este trabajo es determinar la prevalencia de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania mexicana* en los murciélagos *Sturnira parvidens* y *Carollia sowelli* en un ambiente conservado y uno perturbado en el sur de México.

Para esto, se seleccionaron 6 sitios en la región de la selva Lacandona en la porción sur de la misma; 3 de estos sitios se ubicaban dentro de la matriz del bosque continuo y 3 de ellos se encontraban en la zona perturbada del municipio de Marqués de Comillas. En cada uno de los sitios se realizaron capturas con redes de niebla de manera estandarizada para obtener tanto los datos de la comunidad de murciélagos (diversidad, riqueza, equitatividad de la comunidad, etc.) y para tomar las muestras de los individuos de las especies seleccionadas. De cada individuo se tomaron muestras de hígado, bazo, corazón y piel de la membrana alar. Posteriormente, se realizó la detección de los parásitos mediante el método de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los oligonucleótidos específicos para cada uno de los parásitos.

En términos ecológicos, se vio una clara diferenciación del ambiente perturbado del ambiente conservado. Tanto la diversidad como la riqueza de especies fue significativamente mayor en los sitios conservados que en los sitios perturbados y de la misma forma al analizar la lista de especies de ambos sitios se observa cómo hay clara señal de la buena calidad de hábitat conservado por la presencia de muchos murciélagos filostominos (subfamilia Phyllostominae) que son indicadores de la calidad del hábitat.

Colectamos tejidos de un total de 124 individuos, distribuidos de manera heterogénea entre los diferentes sitios. Al realizar la extracción y amplificación del ADN de los tejidos en búsqueda de los parásitos, obtuvimos una prevalencia general de 8.87% para *Leishmania mexicana* (11 de 124 individuos) y de 1.60% para *T. cruzi* (2 de 124

individuos). En las detecciones para *L. mexicana*, en 5 individuos el órgano positivo fue el bazo, en 5 individuos el corazón y solo en un individuo (S025) ambos órganos resultaron positivos para el parásito. Para *T. cruzi* la detección solo se realizó en el tejido cardíaco y se identificaron solo 2 individuos infectados, ambos de la especie *C. sowerli*. Sólo un individuo presentó una doble infección (C044) en donde la detección por PCR de ambos parásitos fue positiva para el tejido cardíaco. Para *L. mexicana* se encontró una tendencia de disminución de la prevalencia conforme aumenta la riqueza de especies en cada uno de los sitios, sin embargo, dicho efecto no es significativo.

Nuestro estudio encontró un murciélago infectado con ambos parásitos y si pareciera que existe un patrón de prevalencia diferencial de acuerdo a las condiciones del hábitat, sin embargo dicho patrón no es claro y es necesario tomar muestras más grandes y que consideren mejor la heterogeneidad de los sitios para tener una mejor resolución de las prevalencias. Un mayor número de muestras y un diseño que tome en consideración más variables locales de los sitios permitiría tener una mejor resolución sobre los factores que intervienen en el equilibrio de las enfermedades así como se sabe de estos efectos en ratones y en murciélagos.

Abstract

Habitat loss and forest fragmentation have proven to be two major threats to bats in the tropics, as fragmentation increases, the diversity decreases. The dilution hypothesis states that as the species richness decreases due to habitat loss or disturbance, the incidence of parasites becomes higher. Since bats are known reservoirs of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania mexicana*, two pervasive zoonotic parasites; the primary objective of our study was to determine the prevalence of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania mexicana* in bats of the species *Sturnira parvidens* and *Carollia sowelli* on conserved and disturbed conditions in the Lacandona forest in southern México. The disturbed area is dotted by human communities extracting forest resources and causing fragmentation and deforestation. Our hypothesis is that in conserved ecosystems bats will have a lower prevalence of the parasites due to the dilution effect. Bats were captured using mist nets in 6 sites (3 under conserved conditions and 3 within the agricultural matrix of the surrounding areas) and tissue samples (heart and spleen) were taken. Parasite detection was conducted by PCR for parasite DNA with the collected tissues.

We sampled 124 individual in total, unevenly distributed across the different sampling sites. We obtained low overall prevalence of both parasites (8.87% for *Leishmania mexicana* and 1.60% for *Trypanosoma cruzi*) for both species, and prevalence did not varied significantly between the conserved or disturbed condition of the forest. There was a not significant trend showing that prevalence of *Leishmania mexicana* prevalence decreased with the increase in species richness in the specific sampling site. It is still unclear if there is an important effect of biodiversity for this particular system of parasite-host relationship that could support the dilution effect theory. This hypothesis have been tested by other authors within a larger landscape such as BCI in Panama; hence more data and bigger samples are needed to fully support or disprove this effect on the Lacandona Region.

Introducción

Los murciélagos y su diversidad

Los murciélagos son uno de los grupos más diversos de mamíferos del mundo con más de 1240 especies reconocidas (Tudge 2000, Wilson y Reeder 2005). Este número representa alrededor del 25% de todos los mamíferos conocidos superado solo por los roedores en número de especies. México es el sexto país a nivel mundial en cuanto a número de especies se refiere, cuenta con 138 especies de murciélagos reportadas para el país (Medellín et al. 2008). Solo lo superan en diversidad países de la cuenca amazónica como Brasil, Perú, Colombia, Ecuador y Venezuela (Ceballos y Simonetti 2002, Simmons 2005).

La gran diversidad de mamíferos de México (525 especies) puede ser explicada en parte por la posición estratégica del territorio mexicano ya que convergen dentro de sus fronteras dos grandes zonas biogeográficas como lo son la región Neártica y la región Neotropical (Ceballos et al. 2005). Además, la gran variedad de climas y una topografía compleja también juegan su papel en la gran diversidad mexicana. Dentro de todos los ecosistemas con representación en México quizás uno de los más cautivantes y diverso es el bosque húmedo tropical de la Región de Chiapas.

La importancia de los murciélagos va más allá de una vasta diversidad, ya que proveen una gran cantidad de servicios ambientales de los cuales todos nos beneficiamos como: servicios de polinización (Kunz et al. 2011), dispersión de semillas (Melo et al. 2009, Kunz et al. 2011) y control de plagas (Federico et al. 2008, Cleveland et al. 2009). En años recientes, las virtudes de los murciélagos han sido opacadas por diversos estudios que los relacionan con una amplia gama de patógenos (Calisher et al. 2006) y plantean a los murciélagos como los responsables de una gran cantidad de enfermedades zoonóticas sin tener evidencia contundente del papel de los mismos en los contagios. Esta campaña de desacreditación hacia los murciélagos ha tenido un fuerte impacto sobre la percepción general que se tiene de este grupo de mamíferos pero lo que ha faltado es estudiar como los cambios inducidos por presiones antropogénicas en los ecosistemas afectan los ciclos de las enfermedades y pueden ser los verdaderos detonantes de los brotes de enfermedades y parásitos.

Pérdida del hábitat y cambios de uso de suelo

La pérdida de hábitat y la fragmentación del bosque han probado ser dos amenazas importantes en la pérdida de diversidad de quirópteros en los trópicos (Meyer et al. 2008, Meyer y Kalko 2008); sabemos que la diversidad y la riqueza de especies disminuye con la pérdida de hábitat crítico para las especies. Algunos murciélagos pueden ser considerados como indicadores de la calidad de bosque debido a sus hábitos específicos como es el caso de *Lonchorhina aurita* y de muchos otros filostomínos que necesitan del bosque prístino para existir (Medellín et al. 2000, Jones et al. 2009). Los murciélagos utilizan una gran diversidad de refugios que en mayor o menor medida pueden limitar una población natural (Evelyn y Stiles 2003, Kunz y Lumsden 2003, ter Hofstede y Fenton 2005, Lewis 2007, Perry et al. 2007). Estos refugios van desde troncos huecos y cuevas hasta el caso particular de los murciélagos tenderos en donde los murciélagos modifican una hoja en forma de tienda de campaña construidas en la vegetación (Rodríguez-Herrera et al. 2007, Rodríguez-Herrera et al. 2011). Las implicaciones ecológicas y fisiológicas que puede tener la utilización de uno u otro refugio son en realidad poco conocidas con excepción de algunos pocos trabajos sobre la economía energética durante las horas del día. Aún menos se sabe sobre cómo el tipo de refugio puede influenciar la carga parasítica de los murciélagos con excepción de los estudios de ectoparásitos (Patterson et al. 2007, Pearce y O'Shea 2007).

En años recientes se ha desatado un gran interés por el estudio de las enfermedades zoonóticas, en especial en virus que están presentes de forma natural en poblaciones silvestres y puedan generar un brote zoonótico (Calisher et al. 2006, Fenton et al. 2006, Calisher et al. 2008, Rupprecht 2009, Wibbelt et al. 2010). Esto ha desencadenado gran cantidad de estudios en donde se pone en evidencia la gran cantidad de virus y parásitos que pueden tener los murciélagos pero pocas veces se han estudiado las limitantes ecológicas de las especies que portan estos patógenos y que otros factores influyen en la cadena de transmisión de la enfermedad o el parásito. Si algo es rescatable de toda la mala fama de la que se han hecho acreedores los murciélagos es que los virólogos han retomado el estudio de las enfermedades en las poblaciones silvestres. Desgraciadamente, en parasitología el auge no ha sido tan grande y la mayoría de los estudios siguen ignorando

las variables ecológicas y de paisaje que juegan un papel importante como determinantes de la prevalencia e incidencia de parásitos en murciélagos (Suzán et al. 2008, Suzán et al. 2012).

Existen muchísimos parásitos en poblaciones naturales que pueden eventualmente infectar humanos. Dentro de todos estos un grupo importante son los Kinetoplástidos (Filo Kinetoplastida), este taxa contiene varios géneros parasíticos como los son *Leishmania* y *Trypanosoma*. Estos dos géneros son causantes de varias enfermedades a nivel mundial como lo son la Leishmaniasis o úlcera del Chiclero (*Leishmania* spp.), la enfermedad del sueño (*Trypanosoma brucei*) y la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*) (Hotez et al. 2008, Jurberg 2009). A nivel mundial, se estima que al menos 10 millones de personas se encuentran infectadas de cada una de dichas enfermedades (Organización Mundial de la Salud 2010, Organización Panamericana de la Salud 2010, TDR 2012). La relación de dichas enfermedades con la fauna silvestre se puede rastrear muchísimo tiempo atrás, incluso la enfermedad de Chagas lleva ese nombre debido a que fue descubierta por Carlos Chagas en 1909 y ha sido declarada por la PAHO una de las 13 enfermedades tropicales desatendidas (Hotez et al. 2007, Hotez et al. 2008, Rassi y Marin-Neto 2010).

Cottontail y colaboradores (2009) demostraron en Panamá cómo la incidencia de *Trypanosoma cruzi* era mayor en los murciélagos capturados en los fragmentos aislados de bosque que en los capturados en el bosque continuo. La presencia de *Trypanosoma* en murciélagos es bien conocida al igual que en ratones, primates y por supuesto en humanos (Marinkelle 1966, Lisboa et al. 2006, De Lima et al. 2008). Además, recientemente se documentó cómo ha habido más de una “invasión” de los tripanosomas a los murciélagos y cómo en Panamá hay hasta 5 diferentes grupos filogenéticos de *Trypanosoma cruzi* que infectan a *Artibeus jamaicensis* (Cottontail et al. 2014).

Lampo y colaboradores (2000) demostraron que los murciélagos pueden representar una fuente de sangre infectada para el vector principal de la *Leishmania*, incluso se ha demostrado como los murciélagos pueden infectarse por la ingesta de vectores portadores de *Trypanosoma* (Thomas et al. 2007). Es cada vez más importante estudiar cómo los Kinetoplástidos afectan a las poblaciones de murciélagos y las implicaciones que

pueda tener esta afección sobre las poblaciones humanas adyacentes a las áreas de conservación.

Especies seleccionadas para este estudio

La región neotropical es una de las zonas con mayor diversidad y riqueza de especies de murciélagos en el mundo (Kalko 1997). Los patrones geográficos y latitudinales que determinan dichas relaciones son bien conocidos y como en la gran mayoría de los mamíferos responden a condiciones relacionadas con la productividad primaria de las regiones tropicales.

Los murciélagos frugívoros de las subfamilias Stenodermatinae y Carrollinae son sumamente abundantes en los bosques tropicales e incluso representan hasta el 86% (este estudio) de las capturas en los mismos cuando se utilizan redes de niebla para su captura. Dentro de estas dos subfamilias podemos encontrar más de 60 especies de las cuales 21 están presentes en México y de esos, 16 en la región de la selva Lacandona (Medellín et al. 2008). Medellín y colaboradores (2000) encontraron que de estas 16 especies, las más abundantes en la región de la selva Lacandona son *Carollia sowelli*, *Carollia perspicillata*, *Sturnira parvidens*, *Artibeus lituratus* y *Artibeus jamaicensis*. Estas especies tienen la particularidad de que parecen tener una alta tolerancia a la fragmentación y están presentes a lo largo de todo el gradiente de perturbación de la región.

Debido a la naturaleza de este estudio, las especies que se utilizaron para determinar la prevalencia de los parásitos debían cumplir ciertas condiciones: (1) ser abundantes tanto en el bosque como en las zonas impactadas por actividades antropogénicas en la región, (2) no ser especies migratorias, (3) tener altas densidades poblacionales locales y ser fáciles de capturar, (4) no ser especies amenazadas o en peligro de extinción y (5) que ambas especies tuvieran diferentes tipos de refugios. Tomando en cuenta todas estas características, las dos especies que cumplían de mejor manera dichas condiciones son: *Sturnira parvidens* y *Carollia sowelli*. Ambas especies cumplen con todos los requisitos y en términos de refugios son perfectas ya que *Sturnira parvidens* se refugia principalmente en el follaje mientras que *Carollia sowelli* tiende a ser más cavernícola aunque rara vez puede ser observado en la vegetación.

Antecedentes

El ciclo de vida del *Trypanosoma* es complejo y Deane (1964) reconoce la presencia de tres ciclos que se sobreponen: doméstico, peri-doméstico y silvestre. Además se ha logrado detectar este parásito para más de 150 especies de animales domésticos y silvestres (Rassi y Marin-Neto 2010). El Mal de Chagas se encuentra distribuida por toda América Latina e incluso alcanza la zona sur de Texas y por la gran cantidad de migrantes latinoamericanos se espera que la enfermedad empiece a aparecer en nuevas zonas donde la transmisión vertical de la enfermedad entre los reservorios puede jugar un papel sumamente importante (Kribs-Zaleta 2010). Es una enfermedad muy importante en las zonas tropicales principalmente en las zonas más pobres donde el riesgo de infección parece ser más alto, además tiene la particularidad de que es una enfermedad que puede pasar desapercibida por el afectado durante muchísimo tiempo (Guhl 1999, Organización Panamericana de la Salud 2007, Jurberg 2009, Organización Panamericana de la Salud 2009, Organización Mundial de la Salud 2010, Organización Panamericana de la Salud 2010).

En el caso de la *Leishmania*, existen pocos estudios que hayan analizado a profundidad la relación entre éste parásito y los murciélagos. Se sabe que de al menos 30 especies conocidas de *Leishmania* en el mundo, al menos 20 pueden causar afecciones en humanos (Ashford 2000). En una de las revisiones más completas sobre *Leishmania* en animales, Lainson y Shaw (1979) no tienen registros de ningún quiróptero entre la lista de más de 45 mamíferos reportados como hospederos. Sin embargo, hoy sabemos que los murciélagos pueden ser reservorios del parásito (De Lima et al. 2008, Berzunza-Cruz et al. 2015). Oliviera y colaboradores (2005) reconocen al menos 40 especies de mamíferos en las cuales se ha podido detectar la presencia de *Leishmania* ya sea por PCR o por serología.

Para *Leishmania*, un estudio en Brasil encontró una muy baja prevalencia del parásito en murciélagos (0.9%) cuando se utilizaba una prueba de inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos, sin embargo cuando se utilizó una prueba de detección mediante PCR la prevalencia de la enfermedad fue de 3.2% (Savani et al. 2010). En este estudio un total de 21 animales dieron resultados positivos para dos especies distintas de *Leishmania*, 18 para *L. (Leishmania) amazonensis* y 4 para *L. (Leishmania) infantum chagasi*. Los resultados obtenidos mediante las dos pruebas independientes muestran como las técnicas

de inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos (IFAT, por sus siglas en inglés) puede que no sean la mejor opción para la detección de la *Leishmania*, es posible que en infecciones en etapas tempranas la detección por PCR sea posible pero por pruebas de IFAT sea deficiente (Morsy et al. 1987, De Lima et al. 2008, Savani et al. 2010). En un estudio realizado en Guyana Francesa, Rotureau y colaboradores (2006) reportan la ausencia total de *Leishmania* en 260 murciélagos de 29 especies distintas. Sin embargo este estudio fue realizado en una zona donde la Leishmaniasis es poco común y la muestra estuvo compuesta principalmente por murciélagos insectívoros que por aspectos ecológicos son menos accesibles para los vectores del parásito.

Ciclos de vida

Los ciclos de vida de los Kinetoplástitos son digénicos y relativamente complejos, e involucran una serie de etapas de desarrollo características de este grupo (Hoare 1972). Tradicionalmente dichas etapas fueron nombradas con los nombres del género en el cual dicha forma corporal era más común (ej. Leptomonadal, Leishmanial, Trypanosomal, etc.); sin embargo, Hoare y Wallace (1966) propusieron una nueva terminología que es la que se utiliza desde entonces. Dichos autores reconocen siete estados principales dentro de los *Trypanosoma* (*sensu lato*): Amastigote, Esferomastigote, Promastigote, Opistomastigote, Epimastigote, Tripomastigote y Coanomastigote. No todos los estadios son observables en todas las especies de Kinetoplástitos, además existen algunos que solo se desarrollan en los vectores y otros que son desarrollados solo cuando el parásito está en un hospedero competente (Hoare 1972).

Para *Trypanosoma*, en el hospedero se presentan Tripomastigotes libres en sangre, cuando un vector muerde a un hospedero infectado adquiere estos Tripomastigotes. Ya dentro del vector los Tripomastigotes se diferencian en Epimastigotes que luego se multiplican por fisión binaria en el intestino medio. En esta fase se da un crecimiento de la infección, luego los Epimastigotes migran hacia el intestino posterior donde algunos se adhieren a la pared intestinal mientras que otros se diferencian a Tripomastigotes metacíclicos que son excretados por las heces y las gotas de orina del vector (Schaub y Löscher 1988). Posteriormente el vector muerde a otro hospedero y los Tripomastigotes metacíclicos presentes entran por alguna mucosa o por la misma herida causada por la

mordedura cuando el individuo se rasca y las heces depositadas por el vector entran en contacto con la herida. Ya dentro del hospedero los Tripomastigotes metacíclicos ingresan a las células en donde se transforman en Amastigotes que se dividen por fisión binaria y producen un estado pseudocístico en las células.

Estos Amastigotes se pueden diferenciar en Tripomastigotes que se liberan a la sangre e infectan otros tejidos cerrándose así el ciclo. El método de infección tradicional es por la contaminación de una herida o mucosa con heces de un vector infectado pero existen otras formas de infección atípicas como: transmisión congénita, transfusiones con sangre infectada, transmisión oral por ingesta, transmisión por leche materna, entre otros (Pipkin 1969, Miles 1979, Schaub 1988).

Para *Leishmania* el ciclo es un poco diferente, partiendo desde el mismo sitio en la sangre del hospedero lo que hay libre son células pseudocísticas (ej. macrófagos) infectadas con Amastigotes, el vector se alimenta de la sangre del hospedero y adquiere estas células infectadas. Ya dentro del vector hay una migración del parásito junto con la sangre ingerida hacia la sección abdominal del intestino medio en donde se forma una membrana peritrófica que engloba la sangre. En esta etapa los Amastigotes se dividen antes de convertirse en Promastigotes. Luego estos Promastigotes escapan ya sea por una apertura anterior de la membrana peritrófica o cuando la misma se destruye cuando inicia el paso de la sangre al íleon. Aquí los Promastigotes se adhieren a la pared del intestino medio que está recubierto de micro vellosidades. Aquí se da una extensa división por fisión binaria, para posteriormente migrar hacia la parte torácica del intestino medio y de ahí pasar a faringe en donde se adhieren a la misma mediante hemidesmosomas. De aquí los Promastigotes pasan a la probóscide donde son transmitidos al hospedero cuando el vector se alimenta en donde los Promastigotes son fagocitados y se convierten en amastigotes cerrando así el ciclo (Killick-Kendrick 1979).

Vectores

Un vector puede definirse como cualquier agente animal que es capaz de transmitir un patógeno (o parásito para el caso de *Leishmania* y *Trypanosoma*) a algún hospedero potencial (Schmidt y Roberts 1977, Porta 2008). El conocer los vectores de la enfermedad es sumamente importante ya que en muchos casos el control tradicional epidemiológico que

se hace sobre las mismas es a nivel de las poblaciones de vectores. Varios trabajos se han dado a la tarea de encontrar los vectores de cada uno de estos parásitos.

En el caso de la *Leishmania*, se conoce que el principal vector en México es *Lutzomyia olmeca* mientras que para Suramérica generalmente se asume que el principal vector es *Lutzomyia longipalpis*; aunque se conocen gran cantidad de especies que pueden ser vectores del parásito pero cuyo papel aún no es claro (Killick-Kendrick 1979, Lampo et al. 2000, Lainson et al. 2001, Organización Panamericana de la Salud 2009, González et al. 2011). Además algunos modelos de cambio climático demuestran cómo incluso en el escenario más conservador posible las distribuciones tanto de los vectores como de los posibles reservorios podrían ampliarse de forma significativa con la posibilidad de que ambos lleguen incluso a la parte sur de Canadá (González et al. 2010).

Para *Trypanosoma* es bien conocido que los vectores principales son las chinches pertenecientes a la familia Reduviidae y más específicamente de la subfamilia Triatominae. En México se conoce de 33 especies que pueden funcionar como vectores de *Trypanosoma* (Galvao et al. 2003). De todas estas, se sabe que las más comunes son *Triatoma barberi*, *T. dimidiata*, *T. phyllosoma*, *T. longipennis*, *T. mazzotti*, *T. pallidipennis* y *T. picturata* (Lent y Wygodzinsky 1979, Zárate y Zárate 1985, Magallón-Gastélum et al. 1998, Martínez-Ibarra et al. 2001). Es relativamente común encontrar a los triatominos viviendo dentro de las viviendas en zonas rurales (Guhl 1999). Este hecho representa un gran factor de riesgo para los habitantes de la vivienda y la mayoría de las campañas de erradicación se han centrado al hecho de eliminar estos vectores de las zonas urbanas y peri-urbanas (Organización Panamericana de la Salud 2010).

Métodos de infección de doble vía

Para *Leishmania* un estudio realizado en Venezuela demostró como *Lutzomyia longipalpis* puede alimentarse de la sangre de murciélagos con facilidad (Lampo et al. 2000). Este es un dato importante ya que demuestra que de tener el parásito, los murciélagos pueden transmitirlo a los vectores. En un estudio en Colombia se demostró cómo más de 21 especies de murciélagos neotropicales pueden actuar como reservorio de *Trypanosoma* indiferentemente de sus hábitos alimentarios, aunque el estudio no hace

inferencia a si algún gremio tiene una propensión mayor de ser portador del parásito (D'Alessandro y Barreto 1985).

Para *Trypanosoma*, también se demostró que realmente los murciélagos son una fuente de la cual los vectores pueden alimentarse, y adquirir así los parásitos (Thomas et al. 2007). Este hecho es sumamente importante ya que es la prueba concisa de la importancia que pueden tener los murciélagos como reservorio de la enfermedad. Además, este mismo estudio probó que tanto mediante la ingesta de los vectores infectados como mediante la inoculación intra-gástrica de subproductos de vectores infectados, los murciélagos adquirirían los parásitos. El conocimiento de los ciclos de vida y de los métodos de infección es crucial para generar estrategias de manejo y prevención de las enfermedades.

Importancia de los reservorios silvestres

Cuando una relación parásito-hospedero es relativamente antigua; se espera que existan equilibrios estables que favorezcan características adaptativas de las dos especies. Esto generalmente resulta en una infección asintomática y con poca o casi ninguna manifestación patogénica (Lainson y Shaw 1979, Ashford 2000, Lainson et al. 2001). Cuando las presas usuales escasean, entonces los vectores se alimentarán de los huéspedes no tradicionales disponibles. Ya que entre los huéspedes no tradicionales y los parásitos no existe una relación parasítica afinada, es aquí donde se dan las manifestaciones más virulentas de las enfermedades.

Dentro de la epidemiología cada vez es más importante estudiar cómo las relaciones entre los parásitos y los hospederos responden a los cambios en la estructura del paisaje. Algunos estudios han probado de forma fehaciente cómo al disminuir la cobertura boscosa, y por ende la composición de la comunidad animal de un sitio, se registra un aumento en la prevalencia de los parásitos en las especies que permanecen en los sitios fragmentados o deforestados (Ostfeld y Keesing 2000, Chivian 2001, Dobson et al. 2006, Keesing et al. 2006). Esto se ha probado muy bien en diversos sistemas con roedores y hantavirus (Ruedas et al. 2004, Suzán et al. 2009), con monos y nemátodos (Chapman et al. 2005, Gillespie et al. 2005, Gillespie y Chapman 2006, 2008) y de manera evidencial se tiene información que este mismo efecto se puede observar con murciélagos y *Trypanosoma* (Cottontail et al. 2009); estos son los efectos de la pérdida de hábitat sobre los equilibrios

de las enfermedades. Otro fenómeno relacionado es el efecto de dilución y su fundamento básico es que cuando disminuye la diversidad y la riqueza de especies de un sitio, la prevalencia de los parásitos en los organismos que permanecen en las comunidades en sitios con alto grado de impacto antropogénico (las especies que podrían ser consideradas generalistas) tienden a tener prevalencias mayores en los mismos. Esto se puede explicar de manera sencilla ya que al mismo tiempo que disminuyen las poblaciones de las especies que requieren de hábitats más prístinos, las poblaciones de especies generalistas tienden a aumentar. Si al mismo tiempo, dichas especies son más susceptibles o de alguna forma mejores transmisores o reservorios de los parásitos entonces se da un aumento en las prevalencias generales en cada tipo de hábitat.

La importancia de la biodiversidad como un elemento importante en el control de las enfermedades ha sido relegada por muchísimo tiempo y su papel es transcendental para el control efectivo de las enfermedades. Algunos esfuerzos han tratado de crear conciencia de cómo la defaunación y la pérdida de hábitat podría representar un riesgo epidemiológico en algunas enfermedades, sin embargo estos esfuerzos son aislados y escasos (Patz et al. 2000, Patz et al. 2004, Dirzo et al. 2014). Es importante que los estudios futuros analicen a profundidad la relación entre la prevalencia de enfermedades y los disturbios antropogénicos, el enfoque tradicional de buscar enfermedades por el simple hecho de buscarlas debe cambiar y considerar las enfermedades como un sistema complejo y que debe ser estudiado desde todas las aristas posibles.

Objetivos

Objetivo general:

Determinar la prevalencia de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania mexicana* en los murciélagos *Sturnira parvidens* y *Carollia sowelli* en condiciones conservadas y perturbadas en un sitio con perturbación antropogénica en el sur de México.

Objetivos específicos:

1. Indagar si existe alguna relación entre la perturbación antropogénica y la prevalencia de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania mexicana* en los murciélagos.
2. Determinar si el tipo de refugio tiene alguna influencia en la prevalencia de uno u otro parásito en los murciélagos.

Hipótesis

1. La prevalencia de ambos parásitos (*Leishmania mexicana* y *Trypanosoma cruzi*) es mayor en las zonas con perturbación antropogénica que en el continuo de bosque
2. *Sturnira parvidens* tiene una mayor prevalencia de *Leishmania mexicana* que *Carollia sowelli* ya que al vivir principalmente en el follaje está más expuesto a los vectores de esa enfermedad.
3. *Carollia sowelli* tiene una mayor prevalencia de *Trypanosoma cruzi* que *Sturnira parvidens* ya que al vivir principalmente en cuevas y árboles huecos está más expuesto a los vectores de esa enfermedad.

Predicciones

De acuerdo a las hipótesis las predicciones son que la prevalencia global de ambos parásitos sea mayor en las zonas con perturbación antropogénica que en las regiones del continuo de bosque. En cuanto a las especies, se espera que la prevalencia de *L. mexicana* sea mayor en los individuos de la especie *S. parvidens* que en *C. sowelli* mientras que para *T. cruzi* se espera el caso inverso pero siempre respetando las tendencias de la hipótesis uno, en donde la prevalencia dentro de cada especie también son mayores en los hábitats perturbados.

Métodos

Sitio de estudio

La Selva Lacandona se encuentra en el este de Chiapas, México, abarca alrededor de 1,5 millones de hectáreas y el tipo de vegetación primaria es bosque tropical lluvioso (Medellín 1994). El área boscosa de la selva se ha reducido en dos tercios en 40 años, sólo alrededor de 500.000 hectáreas permanecen en pie. Actualmente, la Reserva de la Biosfera Montes Azules (que representa un 0,16% del territorio total de México) contiene la mayoría de los de los remanentes de bosque de la región; alrededor del 90% de sus 331.200 hectáreas están cubiertas de bosque. El sitio específico de trabajo es el ejido Boca de Chajul ubicado muy cerca de la frontera con Guatemala. Este ejido se encuentra delimitado entre los ejidos de Loma Bonita y Playón de la Gloria.

Selección de parcelas

Para la selección de los sitios se establecieron dos categorías: zonas conservadas y zonas con perturbación antropogénica. Como zona con perturbación antropogénica se consideró aquellos fragmentos de bosque que se encuentran inmersos en la matriz perturbada del ejido y que estuvieran al menos a 2 kilómetros lineales del borde del bosque.

Salidas de campo

Se realizaron en total tres salidas de campo, la primera en junio-julio del 2012, la segunda en noviembre del 2012 y la tercera en marzo del 2013. En cada salida se visitó al menos dos veces cada una de las parcelas fijas en noches no consecutivas. Se utilizaron seis redes de niebla para la captura de los animales durante al menos cuatros horas por noche empezando media hora antes del anochecer. Se identificó taxonómicamente a todos los murciélagos capturados *in situ* utilizando la clave de campo para la identificación de las especies de murciélagos de México de Medellín y colaboradores (2008). A todos los especímenes capturados se les tomaron datos básicos de captura que incluían; largo del antebrazo, peso, categoría de edad (*sensu* Brunet y Rossinni 2009 que divide a los animales en tres categorías de acuerdo a la osificación de las falanges en juveniles, subadultos y adultos) y el estado reproductivo determinado mediante palpación del vientre y observación del estado de los pezones en hembras y la posición de los testículos en los machos (abdominales o escrotados). Todos los individuos, excepto los pertenecientes a las especies

Carollia sowelli y *Sturnira parvidens*, fueron liberados esa misma noche y en caso de que alguno de los animales mostrara signos de debilidad eran alimentados con jugo de mango mediante el uso de una jeringa de 5 mL sin aguja.

Identificación de los parásitos

La presencia de ambos parásitos en los murciélagos se determinó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el análisis de los fragmentos amplificados en un gel de agarosa.

Toma de muestras

Los individuos pertenecientes a las especies de interés para esta tesis, eran cuidadosamente transportados a la estación de campo en donde se alimentaban con jugo natural de mango para posteriormente realizar las disecciones en un periodo nunca mayor a seis horas después de la captura. Cada animal recibió un código continuo por especie con el cual se identificaron todas las muestras provenientes de un mismo individuo seguido por dos letras que determinaban el órgano contenido y el medio de conservación (etanol o formol). Para este estudio solo se tomaron muestras de tejido de machos adultos y de hembras adultas inactivas, se excluyeron los juveniles y las hembras en periodo de gestación o lactancia. Solo se colectaron hembras preñadas en caso de que tuvieran lesiones similares a Leishmaniasis cutánea. Los animales fueron eutanasiados mediante la inyección de una dosis pequeña de Pentobarbital aplicado vía intraperitoneal con una jeringa de 5 mL siguiendo los protocolos de la *American Society of Mammalogist* (ASM) (Sikes et al. 2011). De cada animal eutanasiado, se tomaron muestras de: hígado, corazón, bazo y piel de la membrana alar. Las muestras se tomaron extrayendo cada órgano y dividiéndolo en cuatro porciones de igual tamaño. Dos porciones de la muestra de cada órgano se conservó en un tubo Eppendorf de 1,5 mL con 1 mL de formol al 10% y las otras 2 en un tubo Eppendorf de 1,5 mL con 1 mL de etanol grado reactivo 70% con agua inyectable, para la extracción de ADN.

Extracción de ADN

La extracción del ADN se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Inmunoparasitología de la Unidad de Investigación en Medicina Experimental de la Facultad de Medicina, UNAM. Únicamente se realizó la extracción del ADN de las

muestras de bazo y de corazón. Para la extracción de los ácidos nucleicos se utilizó el DNeasy® Blood and Tissue kit (QIAGEN, Alemania, No. de catálogo 69506). Dicho kit utiliza el método de extracción de ADN mediante una etapa previa de lisis de las muestras utilizando un buffer de lisis y proteinasa K y luego la purificación de los ácidos nucleicos mediante el uso de mini columnas con membrana de Sílica-Gel para la posterior elución de los ácidos nucleicos en el buffer AE que se compone básicamente de Tris 10 mM - EDTA 1 mM. Posteriormente, se hizo un análisis del ADN total utilizando un Nanodrop 2000C (Thermo Scientific, EUA) para determinar la concentración y pureza del ADN. Las muestras se almacenaron a -20°C para asegurar su integridad.

Amplificación del ADN de los parásitos mediante PCR

Con el fin de detectar el ADN de los parásitos en los órganos de los animales colectados, se realizó una PCR utilizando los oligonucleótidos diseñados por Kato y colaboradores (2005) para la detección del género *Leishmania*: LMC-1S 5'-CTRGGGGTTGGTGTAATAATAG-3' y LMC-1R 5'-TWTGAACGGGRTTCTG-3' (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) y para *Trypanosoma cruzi* utilizamos los oligonucleótidos S121 5'-AAATAATGTACGGG[T/G]GAGATGCATGA-3' y S122 (5'-GGTTCGATTGGGGTTGGTGTAATATA-3' (Diez et al. 2008). La determinación de *Leishmania* se realizó tanto para corazón como para bazo; mientras que el análisis de *Trypanosoma* se realizó solo en corazón. Como control positivo para el diagnóstico de *Leishmania* se utilizó ADN de la cepa MHOM/MX/84/SET GS y para *Trypanosoma* el control positivo fue ADN de la cepa NINOA.

Mezcla de reacción

Mezclamos en un tubo de 0.25 mL, 25 µL de *Master mix* QIAGEN, (QIAGEN, Alemania, No. de catálogo 201445), 100 ng de los oligonucleótidos respectivos, 1 µL de ADN de cada una de las muestras (300 ng) y agua libre de DNasa para aforar el volumen de reacción a un total de 50 µL. El *Master Mix* contiene todos los elementos necesarios para la reacción de PCR: ADN Taq polimerasa, buffer de PCR, MgCl₂ y los dNTPs necesarios para la elongación de la cadena de ADN.

Condiciones de amplificación

Leishmania. Se colocaron los tubos Eppendorf de 0.25 mL conteniendo la mezcla de reacción en el termociclador Perkin Elmer 2720 (EUA). Se realizó una amplificación del

ADN mediante 30 ciclos de: 1 min a 94°C, 1 min a 55°C y 1 min a 72°C. Los ciclos son precedidos por un ciclo de 5 min a 94°C y al finalizar, un ciclo de extensión de 7 min a 72°C (Kato et al. 2005).

Trypanosoma: Se colocaron los tubos Eppendorf de 0.25 ml conteniendo la mezcla de reacción en el termociclador Perkin Elmer 2720 (EUA). Se realizó una amplificación del ADN mediante 30 ciclos de: 1 min a 94°C, 1 min a 60°C y 1 min a 72°C. Los ciclos son precedidos por un ciclo de 3 minutos a 94°C y al final un ciclo de extensión de 7 minutos a 72°C (Diez et al. 2008).

Electroforesis en geles de agarosa

Se analizaron los productos del PCR mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% en TAE 1x a 80V. Los geles se tiñeron con Syto 60 y se revelaron utilizando un scanner Odyssey Fc Imaging System (LI-COR Biosciences) a una longitud de onda de 700 nm. En este gel se observaron las bandas de ADN y se compararon con las obtenidas con el control positivo para determinar los individuos infectados con cada uno de los parásitos.

Análisis de datos

Calculamos el esfuerzo de captura por sitio estandarizando el muestreo por horas red, donde una hora red equivale a una red de 6m de largo por 2.5m de alto abierta durante una hora. Para evaluar la diversidad, se construyó el índice de diversidad de Shannon-Wiener y se calculó la equitatividad ($J=H/H'$) para cada uno de los tipos de hábitat tomando como réplicas cada uno de los sitios de muestreo (3) dentro de cada tipo de hábitat. Se construyeron curvas de rango abundancia para determinar la dominancia en cada tipo de hábitat. Los análisis de diversidad se realizaron utilizando el programa PAST v2.7 (Hammer et al. 2001).

Para el análisis del efecto de la diversidad y la riqueza de especies sobre la prevalencia de *L. mexicana* realizamos regresiones lineales entre la prevalencia transformada con la función raíz cuadrada y la riqueza de especies (s) y el índice de dominancia (d). Para analizar si existe una prevalencia diferencial entre ambas especies se utilizó una prueba de Shapiro-Wilks primero para constatar la normalidad de los datos y luego una prueba de Mann-Whitney U para explorar las diferencias en la prevalencia por especie.

Resultados

Diversidad

El promedio de horas red por sitio fue de (180±54) con un total de 623 horas red para el bosque y 630.8 horas red para las zonas perturbadas. Se capturaron un total de 537 murciélagos de 29 especies distintas distribuidos de forma no homogénea entre los dos tipos de hábitat; 12 de estas especies fueron exclusivas del bosque mientras que solo hubo dos especies que únicamente se encontraron en las zonas perturbadas (Tabla 1). La efectividad de captura fue de 0.029 individuos/m²hr. La especie más abundante en los sitios de bosque correspondió a *Artibeus jamaicensis* mientras que en los fragmentos la especie más abundante fue *Carollia sowelli*. En las curvas de rango-abundancia se muestra cómo existen en los fragmentos cuatro especies dominantes en los sitios mientras que en la curva de rango abundancia del bosque se ve una distribución más equitativa entre las especies (Figura 1). El índice de Shannon-Wiener muestra cómo el bosque (H=2.28±0.09) tiene una diversidad mayor que las zonas con perturbación (H=1.77±0.39) y esta diferencia es mayor que la esperada por el azar (t=6.18; gl=526.96; p<0.001). De la misma forma, el bosque (J=0.77) tiene una distribución más equitativa de las especies que la zona perturbada (J=0.69) y al realizar un *bootstrap* de 1000 aleatorizaciones, esta diferencia es mayor que la esperada por el azar (p<0.005).

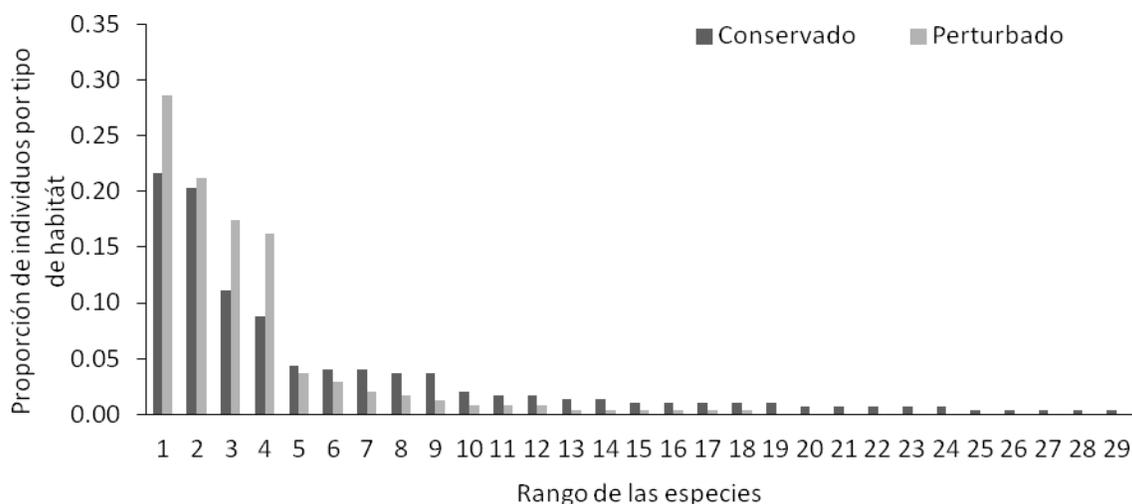


Figura 1. Curvas de rango-abundancia para las especies de murciélagos de los sitios de bosque y de las zonas perturbadas en la región de Marqués de Comillas y la reserva de la biósfera de Montes Azules 2012-2013. Los números en el eje horizontal representan las especies ordenadas según sus rangos de abundancia y los valores en el eje vertical la proporción del total de individuos capturados en ese hábitat que corresponden a cada especie.

Tabla 1. Lista de especies de murciélagos de los sitios de bosque y de las zonas perturbadas en la región de Marqués de Comillas y la reserva de la biósfera de Montes Azules 2012-2013.

Especie	Familia	Subfamilia	Bosque	Zona con perturbada
<i>Carollia perspicillata</i>	Phyllostomidae	Carollinae	12	51
<i>Carollia sowelli</i>	Phyllostomidae	Carollinae	33	69
<i>Desmodus rotundus</i>	Phyllostomidae	Desmodontinae	12	1
<i>Lichonycteris obscura</i> °	Phyllostomidae	Glossophaginae	0	1
<i>Glossophaga commissarisi</i>	Phyllostomidae	Glossophaginae	2	2
<i>Glossophaga soricina</i>	Phyllostomidae	Glossophaginae	3	7
<i>Chrotopterus auritus</i> *	Phyllostomidae	Phyllostominae	1	0
<i>Lophostoma evotis</i> *	Phyllostomidae	Phyllostominae	1	0
<i>Lonchorhina aurita</i> *	Phyllostomidae	Phyllostominae	3	0
<i>Mimon cozumelae</i> *	Phyllostomidae	Phyllostominae	5	0
<i>Tonatia saurophila</i> *	Phyllostomidae	Phyllostominae	6	0
<i>Micronycteris microtis</i> •	Phyllostomidae	Phyllostominae	0	1
<i>Dermanura tolteca</i> *	Phyllostomidae	Stenodermatinae	1	0
<i>Vampyrodes major</i> *	Phyllostomidae	Stenodermatinae	2	0
<i>Sturnira hondurensis</i> *	Phyllostomidae	Stenodermatinae	3	0
<i>Centurio senex</i> *	Phyllostomidae	Stenodermatinae	3	0
<i>Platyrrhinus helleri</i> *	Phyllostomidae	Stenodermatinae	11	0
<i>Dermanura watsoni</i>	Phyllostomidae	Stenodermatinae	15	1
<i>Vampyressa thylene</i>	Phyllostomidae	Stenodermatinae	1	2
<i>Uroderma bilobatum</i>	Phyllostomidae	Stenodermatinae	5	3
<i>Dermanura phaeotis</i>	Phyllostomidae	Stenodermatinae	6	4
<i>Artibeus jamaicensis</i>	Phyllostomidae	Stenodermatinae	64	9
<i>Artibeus lituratus</i>	Phyllostomidae	Stenodermatinae	60	39
<i>Sturnira parvidens</i>	Phyllostomidae	Stenodermatinae	26	42
<i>Moormops megalophylla</i> *	Mormoopidae	-	1	0
<i>Pteronotus parnellii</i>	Mormoopidae	-	16	2
<i>Bauerus dubiaquercus</i>	Vespertilionidae	Antrozoinae	2	5
<i>Myotis nigricans</i>	Vespertilionidae	Vespertilioninae	1	1
<i>Noctilio leporinus</i> *	Noctilionidae	-	2	0

Las especies exclusivas de la zona perturbada están denotadas con el símbolo (°) mientras que las exclusivas de la zona conservada están denotadas con (*).

Identificación de los parásitos

De los 537 murciélagos colectados, 124 fueron analizados mediante PCR para la identificación de parásitos, 83 *C. sowerli*, 41 *S. parvidens*, distribuidos de forma no equitativa entre los sitios de colecta y las especies. Al realizar la extracción y amplificación de los tejidos en búsqueda de los parásitos, obtuvimos una prevalencia general de 8.87% para *L. mexicana* (11 de 124 individuos) y de 1.60% para *T. cruzi* (2 de 124 individuos). En las detecciones para *L. mexicana*, en 5 individuos el órgano positivo fue el bazo, en 5 individuos el corazón y solo en un individuo (S025) ambos órganos resultaron positivos para el parásito. Para *T. cruzi* la detección solo se realizó en el tejido cardíaco y se identificaron solo dos individuos infectados, ambos de la especie *C. sowerli*. Sólo un individuo presentó una doble infección (C044) en donde la detección por PCR de ambos parásitos fue positiva para el tejido cardíaco. El resumen de todos los animales colectados y analizados se encuentra en el anexo 1.

Leishmania mexicana

Al analizar los resultados por tipo de hábitat encontramos que en la zona perturbada hay un mayor número de individuos infectados con *L. mexicana* que en los sitios de bosque y la prevalencia de la zona fragmentada (13.94%) es mayor que en la zona conservada (6.83%). Sin embargo, dicho patrón no es claro cuando analizamos las muestras tomando en cuenta los diferentes sitios dentro de cada tipo de hábitat como réplicas y la desviación estándar, en gran parte debido a que la presencia de sitios sin animales infectados, enmascaran completamente el efecto del tipo de hábitat ($t=0.95$; $gl=4$; $p<0.05$).

El efecto de la riqueza de especies sobre la prevalencia muestra una tendencia decreciente con el aumento de la primera variable (figura 2), es decir, al aumentar la riqueza de especies disminuye la prevalencia de *L. mexicana* en los murciélagos de ese sitio; sin embargo, dicha relación no difiere de lo esperado por el azar ($R^2=0.08$; $F=0.37$; $gl_{(total/error)}=4/5$; $p<0.05$). De manera contraria analizamos que el efecto del índice de dominancia tiene una relación positiva, sin embargo dicha relación tampoco difiere de lo esperado por el azar ($R^2=0.01$; $F=0.06$; $gl_{(total/error)}=4/5$; $p>0.05$). Es necesario aclarar que además de no ser relaciones estadísticamente significativas, dichos efectos son sumamente pequeños como se nota por los bajos valores de R^2 (0.08 para la riqueza de especies y 0.01 para la dominancia).

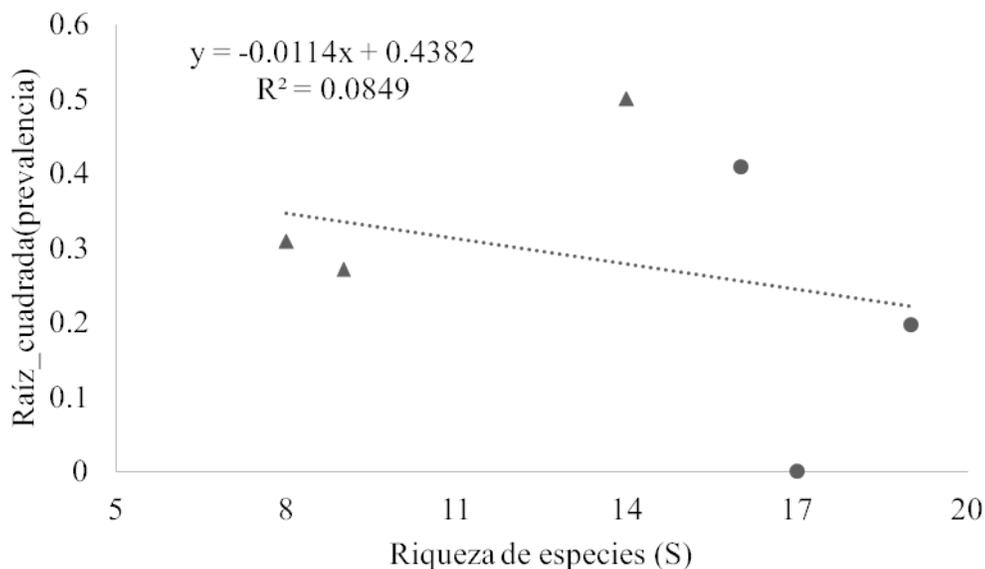


Figura 2. Relación lineal entre la raíz cuadrada de la prevalencia y la riqueza de especies de cada sitio en la región de Marqués de Comillas y la reserva de la biósfera de Montes Azules 2012-2013. Los triángulos representan a los sitios del hábitat perturbado mientras que los círculos los del hábitat conservado.

En términos de las diferencias en la prevalencia de *L. mexicana* entre las 2 especies (encontramos que no existen diferencias significativas entre especies a nivel global según la prueba de Mann-Whitney U ($n_{1/2}=5/6$; $m_{1/2}=0.08/0.19$; $W=34$; $p>0.05$); se utilizó dicha prueba no paramétrica ya que los datos no se comportan de forma normal según la prueba de Shapiro-Wilks ($n=11$; $m=0.13$; $W=0.81$; $p<0.05$).

Trypanosoma cruzi

La prevalencia global de *T. cruzi* es de 1.6%; en términos de las especies, los únicos dos individuos que dieron positivos para el parásito pertenecían a una sola especie: *C. sowellii*. Ambos individuos (C044 y C038) fueron colectados en uno de los fragmentos: Flor de Marqués. Este era uno de los fragmentos más pequeños y estaba completamente rodeado de zonas perturbadas. Debido a que ambos individuos infectados son de la misma especie y del mismo sitio, es imposible analizar si existen diferencias por especie y por tipo de hábitat. Al calcular la prevalencia de *T. cruzi* para *C. sowellii* es de 2.38% (2 de 83 individuos) y la prevalencia por tipo de hábitat es de 0% (0 de 46 individuos) para la zona conservada y de 2.56% (2 de 78 individuos) para la zona perturbada.

Discusión

Diversidad

Los bosques tropicales tienen una alta diversidad de murciélagos y la Selva Lacandona no es la excepción. Esto no es una conclusión nueva ya que numerosos estudios realizados en la zona demuestran cómo es una zona con alta riqueza de especies de murciélagos y cómo estos son de una u otra manera sensibles a los cambios de uso de suelo y a las perturbaciones de origen antropogénico (Medellín et al. 2000, Ceballos et al. 2005). Medellín (1994) estima que la riqueza total de especies de murciélagos de la Selva Lacandona ronda las 64 especies y con algunas actualizaciones a la lista de dicho autor (Escobedo Morales et al. 2005, Escobedo Morales et al. 2006) la región alcanza un total de 86 especies; sin embargo, este número incluye también a los murciélagos insectívoros aéreos los cuales son relativamente raros de capturar con la técnica utilizada en este estudio.

Los resultados de este estudio muestran claramente cómo los sitios conservados son significativamente más diversos que los que se encuentran dentro de la matriz perturbada del municipio de Marqués de Comillas. Hay 12 especies exclusivas del bosque y solo 2 especies exclusivas de la zona perturbada. Dentro de estas especies exclusivas del bosque, encontramos especies que son claros indicadores de una buena calidad del ecosistema como lo son los 5 murciélagos de la Subfamilia Phyllostominae (Medellín et al. 2000) y un murciélago pescador. Estas especies por sus historias de vida particulares son dependientes del bosque tropical prístino y su presencia en nuestros sitios de bosque da evidencia concreta de que estos sitios representan realmente ecosistemas conservados en la dimensión de los murciélagos. Cabe aclarar, que esto no implica que en dicha zona no existan presiones antropogénicas como la cacería, sino más bien habla sobre el estado general del ecosistema en su parte estructural y de los estadios de sucesión. Los murciélagos sufren las consecuencias de la presión antropogénica principalmente en términos de pérdida de hábitat y vandalización de los refugios (Mickleburgh et al. 2002); sin embargo, para la región Neotropical la cacería directa no representa realmente un factor de riesgo como lo es en las regiones del Paleotrópico (Kingston 2010, Jacques et al. 2012).

Con respecto a las especies dominantes nuestros resultados son consistentes por lo encontrado por otros autores en otras regiones con bosque húmedo tropical como Yaxchilán

(Escobedo Morales et al. 2005) y Los Tuxtlas (Estrada et al. 1993) en donde las especies dominantes son similares (*Artibeus jamaicensis*, *Carollia sowelli* (= *C. brevicauda*), *Sturnira parvidens* (= *S. lilium*)). En la región adyacente de Guatemala, no existen estudios sobre las comunidades de murciélagos y aunque la conectividad en algunos puntos es limitada, no es extraño pensar que el patrón se mantenga a lo largo de la región.

Durante el estudio se capturó una especie de la cual solo se conocía un registro para la Selva Lacandona, *Lichonycteris obscura*. Esta es una especie rara y de los pocos datos que se tienen sobre sus patrones de movimiento se sabe que en Costa Rica esta especie es estacional y solo fue encontrada dentro del bosque cuando había picos estacionales de producción de néctar (Tschapka 2004). Esta especie se refugia en cavidades de troncos caídos con estados de descomposición que varían de moderado a avanzado (Villalobos-Chaves et al. 2013). Sin embargo, debido a su pequeño tamaño Tschapka (2004) sugiere que esta especie posiblemente tiene un patrón de movimiento nómada en donde permanece por poco tiempo en un mismo sitio. El hallazgo de esta especie exclusivamente en un sitio de la zona perturbada coincide con los datos del primer registro ya que Medellín y colaboradores (2000) también reportan la presencia de esta especie solo en los campos de cultivo de la misma región. Sin embargo, en una visita posterior a la zona de Montes Azules, una hembra de *L. obscura* (Viquez-R, datos no publicados) fue capturada en las cercanías de la estación Chajul dentro de la matriz del bosque y Tschapka (2004) también capturó esta especie dentro del bosque en la Selva, Costa Rica, lo cual parece indicar que esta especie sigue un patrón nómada.

Cuando analizamos las curvas de acumulación de especies y las curvas de rango abundancia vemos también patrones consistentes con los resultados anteriores; en el bosque la dominancia es mucho menos marcada que en la zona perturbada, lo que indica que hay una distribución más equitativa de las especies. Esto está respaldado también por la medida de equitatividad (índice J) el cual es significativamente mayor en el bosque que en la zona perturbada. Tomando en cuenta todos los resultados del componente de biodiversidad llegamos a un mensaje muy claro: bajo el marco de este proyecto, sí existen diferencias importantes entre la comunidad de murciélagos de los sitios conservados y la comunidad de murciélagos de la zona perturbada.

Prevalencia de *L. mexicana* y *T. cruzi*

Ambos parásitos tiene prevalencias globales bajas (1.60% para *T. cruzi* y 8.87% para *L. mexicana*) en comparación con otros estudios. En *Artibeus jamaicensis* en el sistema de islas del Canal de Panamá, Cottontail y colaboradores (2009) encontraron una prevalencia global de *T. cruzi* de un 10.2% mientras que otro estudio en México, encontró un 0% de prevalencia en murciélagos de la región de Chalcatzingo, Morelos (Ramsey et al. 2012). Para *L. mexicana*, (Berzunza-Cruz et al. 2015) reportan una prevalencia de 10.87% para el estado de Chiapas, lo cual nos da una diferencia de alrededor de 2% entre nuestros resultados y los del estudio más reciente en la región. La marcada diferencia en la prevalencia de *T. cruzi* es sumamente interesante ya que entre el estudio de Panamá y nuestro estudio hay una diferencia de más de 8 puntos porcentuales.

Nuestra hipótesis planteaba un escenario en donde la pérdida de diversidad y una disminución en la riqueza de especies explicarían parcialmente la prevalencia de ambos parásitos en las dos categorías de hábitat; sin embargo, aunque la relación entre la prevalencia de *L. mexicana* y la riqueza de especies de cada uno de los sitios muestra un tendencia congruente con la hipótesis del efecto de dilución (Ostfeld y Keesing 2000, Keesing et al. 2006, Suzán et al. 2009), dicha tendencia no es significativamente distinta de lo esperado por azar. Si lo analizamos solo a nivel de los porcentajes de murciélagos infectados vemos que la prevalencia en los sitios de hábitat perturbado es casi el doble que en los sitios de hábitat conservado; sin embargo, al considerar los sitios como réplicas dentro de cada tipo de hábitat dicho efecto pierde fuerza debido en gran parte a la alta varianza en la prevalencia dentro de los sitios de un mismo tipo de hábitat. Para *T. cruzi* el patrón es menos claro ya que solo se detectaron dos individuos infectados y ambos pertenecían a la misma especie y provenían del mismo sitio de la zona perturbada; así que aunque la prevalencia es de 2.57% para la zona perturbada y de 0% para la zona conservada, la falta de más datos hace imposible explorar si los patrones son consistentes en las diferentes categorías de hábitat o si son productos de un sesgo de muestreo debido al tamaño de las muestras.

Las dos hipótesis restantes trataban sobre la prevalencia diferencial entre las dos especies de murciélagos, en gran parte explicado por las diferencias en sus sitios de refugio

y el nivel de exposición a los diferentes vectores que implicaba esta selección de refugio (ver sección: Especies seleccionadas para este estudio) en donde esperábamos una prevalencia mayor de *L. mexicana* para *S. parvidens* en comparación con *C. sowellii* y un patrón inverso (es decir, prevalencia *C. sowellii* > prevalencia *S. parvidens*) para *T. cruzi*. Para ambos casos las tendencias de prevalencia globales coinciden con nuestras hipótesis, sin embargo, debido a la alta varianza entre sitios, estos resultados no son diferentes del azar. Para *L. mexicana* la prevalencia de *S. parvidens* es más del doble (19% contra 8%) que en *C. sowellii*, de la misma forma, para *T. cruzi* la prevalencia es mayor en la especie que esperábamos de acuerdo a nuestras hipótesis, donde sólo hubo individuos infectados en la especie *C. sowellii* (2.38%) contra una prevalencia de 0% en *S. parvidens*. Existe una alta variación intra e interespecífica de la prevalencia de ambas enfermedades y con el tamaño de muestra utilizado en este estudio es difícil atribuir dichas diferencias a las características ecológicas de las especies y menos aún explorar los patrones de cada una de las especies si tomamos en cuenta el efecto del tipo de hábitat. Un estudio en Yucatán demostró que en ratones existe una gran variabilidad en las tasas de infección y la prevalencia de *Leishmania* spp. en diferentes reservorios a lo largo de cinco años (Van Wynsberghe et al. 2009); para roedores en Morelos este efecto de cambios anuales en las tasas de infección y prevalencia también fue demostrado pero en este caso para *T. cruzi* (Ramsey et al. 2012). Puede que este patrón temporal esté presente en murciélagos por lo cual para estudios futuros es de suma importancia tomar en cuenta esta heterogeneidad anual y temporal.

Hay múltiples factores que pueden estar enmascarando los efectos tanto del hábitat como de la especie. Uno de los causales de los cuales no tenemos suficiente información es la tasa de mortalidad de los animales infectados con *Leishmania*. Si las tasas de mortalidad son sumamente altas, los individuos sobreviven poco tiempo y aunque si están siendo afectados por los parásitos es virtualmente imposible detectarlos porque mueren al poco tiempo. Sabemos relativamente poco de la patogenia y la evolución de la enfermedad en los individuos infectados y esto es una de las principales interrogantes que debe ser estudiada más a profundidad para comprender de mejor forma la dinámica de la relación parásito-hospedero.

Uno de los resultados más interesante es la alta varianza en la prevalencia de *L. mexicana* entre los diferentes sitios de cada tipo de hábitat. Si bien es cierto que no existen diferencias significativas a nivel de tipo de hábitat, al ver más de cerca los datos es fácil notar como en los sitios de bosque hay uno que se comporta de manera muy diferente a los otros. Este sitio estaba localizado en el sendero La Ceiba, que se encuentra en una zona sumamente inundable de la Selva Lacandona. En este sitio particular, durante los muestreos fue evidente la gran cantidad de flebotómíneos que había en dicha zona y esto puede que sea un factor importante que explique la alta prevalencia de *L. mexicana* en este sitio en particular. En el ciclo de vida de los mosquitos de la subfamilia Phlebotominae, las hembras depositan los huevos en suelos húmedos y usualmente sobre materia orgánica en descomposición (Ximenes et al. 2001). Este sitio tiene condiciones que podrían considerar ideales para los diferentes estadios de los vectores. Con el fin de mejorar la resolución de los estudios que buscan establecer relaciones entre la prevalencia de los parásitos y los cambios en las características del hábitat, es necesario que el diseño experimental incluya perfiles edafológicos y documentación de las fuentes materia orgánica en descomposición (Porta et al. 1999).

Para este estudio, no tomamos en cuenta las poblaciones de los vectores de los parásitos; sin embargo, la determinación de la relación entre las poblaciones de vectores y las de los hospederos es vital para establecer los alcances de los estudios bajo el concepto del efecto de dilución (Ostfeld y Keesing 2000). Algunos estudios han proyectado como la distribución de los vectores cambiaría de acuerdo a los diferentes escenarios de cambio climático global (González et al. 2010, Moo-Llanes et al. 2013), pero la mayoría de los estudios de vectores de *L. mexicana* en México se han dado en la región de Campeche (Rebollar-Tellez et al. 1996, Andrade-Narvaez et al. 2003, Rebollar-Tellez et al. 2005) y algunos pocos en Chiapas (Pech-May et al. 2013) y Quintana Roo (May-Uc et al. 2011). Un estudio en Guyana Francesa reportó un 0% de prevalencia de *L. mexicana* en murciélagos (Rotureau et al. 2006); sin embargo, debido a un extenso periodo de lisis de las muestras, esta ausencia de *L. mexicana* en los murciélagos puede deberse más a un error en el método usado para el aislamiento de los ácidos nucleicos que una ausencia del parásitos en los murciélagos.

Para el caso de *T. cruzi* las prevalencias son bajas comparadas para los datos que se tiene de murciélagos en Panamá (10.2%) (Cottontail et al. 2009) y Colombia (9%) (D'Alessandro y Barreto 1985); sin embargo, un estudio reciente en Morelos encontró una prevalencia del 0% en murciélagos y una prevalencia en ratones que varió por especie entre 6-26% (Ramsey et al. 2012). Debido a estas diferencias importantes en la prevalencia de Chagas en los diferentes países, sería interesante estudiar más a fondo si existe un patrón latitudinal en la prevalencia de *T. cruzi* en los murciélagos y contrastar dicho patrón con la prevalencia en ratones.

El ciclo del *T. cruzi* es complejo y una gran cantidad de posibles reservorios han sido previamente identificados, incluidos varios marsupiales (Deane 1964, Apt et al. 1987), primates (Marinkelle 1966), murciélagos (Marinkelle 1966, Marinkelle 1982, Cottontail et al. 2009) y animales domésticos (Chapman et al. 1984). El cómo los ciclos selváticos y peri-domésticos de *T. cruzi* interactúan entre sí sigue siendo una interrogante pero en el caso de los vectores hay evidencia de que dichos ciclos pueden ser independientes (Apt et al. 1987). Los datos obtenidos en este estudio demuestran la importancia investigar el papel que juegan los ciclos silváticos en los equilibrios dinámicos de las enfermedades.

Uno de los principales problemas para estudiar estas enfermedades es el alto número de especímenes que se necesitan recolectar y examinar para detectar la presencia de los parásitos (Rotureau et al. 2006). Existen algunas otras técnicas menos invasivas para realizar las detecciones como ELISA (Caballero et al. 2007, Quaresma et al. 2011) y frotis sanguíneos (Cottontail et al. 2009) que permitirían tomar muestras más grandes y tener un mejor poder de detección de efectos. Sin embargo, estas pruebas muchas veces tienen resolución menor que la detección por PCR y un enfoque que se debe explorar en los próximos estudios es la creación de factor de corrección entre ambas pruebas para poder tener muestras más grandes pero sin perder poder de detección.

Parte del problema es que al tener valores de prevalencia tan bajos, es necesario tener muestras muy grandes para poder detectar los efectos. Podemos calcular el poder mínimo de detección de un sitio de manera sencilla siguiendo la fórmula ($\text{poder} = (1/n) * 100$); donde n corresponde al total de individuos colectados en dicho sitio. Por ejemplo, si en un sitio se colectan sólo 10 animales, el poder de detección mínimo de ese sitio es de

$(1/10)*100$, es decir, la mínima prevalencia que dicha muestra me permite detectar es de un 10% lo cual es insuficiente para las diferencias que estamos observando en este estudio. Si tomamos los valores medios de cada tipo de hábitat (6.83% para conservado y 13.94% para perturbado) y los consideramos como si fueran los valores reales (es decir, el μ poblacional) y realizamos prueba de poder para determinar el tamaño de muestra mínimo necesario para detectar diferencias significativas entre esas 2 medias poblacionales necesitaríamos al menos 300 animales en comparación con los 124 colectados en este estudio. Esto sin considerar aún el efecto que tiene el factor de la especie. Bajo este concepto, es recomendable que el poder de detección de al menos el doble que la prevalencia que esperamos en un sitio; es decir si mi prevalencia esperada es de 10% mi poder de detección debe de ser al menos dos veces más poderoso (5%). Para este estudio 4 de los 6 sitios tenían un poder de detección insuficiente para detectar la prevalencia mínima de los parásitos lo que apoya la necesidad de muestras más grandes.

La importancia de los estudios de ecología de las enfermedades en fauna silvestre ha venido sido reconocida en los últimos años (Suzán et al. 2012). Cada vez se publican más artículos y tesis que exploran los alcances de las enfermedades dentro de los ecosistemas naturales; sin embargo, en muchos casos los estudios no toman en consideración las variables ecológicas y los procesos naturales que intervienen en la ecología de las enfermedades (Calisher et al. 2006, Rupprecht 2009). Los estudios como el presente deben ser cada vez más comunes en donde no solo se exploren las condiciones de infección sino de qué manera las características del ecosistema que rodea a dichas especies tienen un efecto sobre los niveles de prevalencia de las enfermedades y sus ciclos.

Conclusiones

Existen diferencias importantes entre la comunidad de murciélagos de la zona perturbada en el ejido de Marqués de Comillas y la reserva de la biósfera Montes Azules en términos de composición, equitatividad y riqueza de especies. Estos cambios en la comunidad de murciélagos son un claro indicativo de que en la zona perturbada las actividades humanas y los cambios en la estructura del ecosistema han tenido un impacto significativo sobre la comunidad de murciélagos y los resultados muestran los patrones de pérdida de diversidad descritos con anterioridad para la zona y para otros estudios en zonas tropicales.

Nuestro estudio encontró varios murciélagos de las especies *Sturnira parvidens* y *Carollia sowelli* infectados tanto por *Trypanosoma cruzi* como por *Leishmania mexicana* y sugiere un patrón de prevalencia diferencial de acuerdo a las condiciones del hábitat, sin embargo dicho patrón no es claro y es necesario tomar muestras más grandes y que consideren mejor la heterogeneidad de los sitios para tener una mejor resolución de las prevalencias. Un mayor número de muestras y un diseño que tome en consideración más variables locales de los sitios permitiría tener una mejor resolución sobre los factores que intervienen en el equilibrio de las enfermedades así como se sabe de estos efectos en ratones y en murciélagos.

Se debe seguir explorando el efecto que tiene la pérdida de biodiversidad y la fragmentación del hábitat sobre los equilibrios y ciclos naturales de las enfermedades. Además, se deben cuantificar en qué medida las actividades humanas y la pérdida de hábitat son factores determinantes en los ciclos de las enfermedades y cómo podemos no solo resarcir el daño sino también revertirlo.

Referencias

- Andrade-Narvaez, F. J., S. B. Canto Lara, N. R. Van Wynsberghe, E. a. Rebollar-Tellez, A. Vargas-Gonzalez, y N. E. Albertos-Alpuche. 2003. Seasonal transmission of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in the state of Campeche, Yucatan Peninsula, Mexico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 98:995-998.
- Apt, W., X. Aguilera, A. Arribada, L. Gomez, M. A. Miles, y G. Widmer. 1987. Epidemiology of Chagas' disease in northern Chile: isozyme profiles of *Trypanosoma cruzi* from domestic and sylvatic transmission cycles and their association with cardiopathy. *Am J Trop Med Hyg* 37:302-307.
- Ashford, R. W. 2000. The leishmaniases as emerging and reemerging zoonoses. *International journal for parasitology* 30:1269-1281.
- Berzunza-Cruz, M., et al. 2015. *Leishmania (L.) mexicana* Infected Bats in Mexico: Novel Potential Reservoirs. *PLoS Neglected Tropical Diseases*.
- Brunet-Rossinni, A. y G. S. Wilkinson. 2009. Methods for age estimation and the study of senescence in bats. Pp. 315-325. En: *Ecological and behavioral methods for the study of bats* (Kunz TH y Parsons S eds.), John Hopkins University Press, Baltimore.
- Caballero, Z. C., O. E. Sousa, W. P. Marques, A. Saez-Alquezar, y E. S. Umezawa. 2007. Evaluation of Serological Tests To Identify *Trypanosoma cruzi* Infection in Humans and Determine Cross-Reactivity with *Trypanosoma rangeli* and *Leishmania* spp. *Clinical and Vaccine Immunology* 14:1045-1049.
- Calisher, C. H., J. E. Childs, H. E. Field, K. V. Holmes, y T. Schountz. 2006. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical microbiology reviews* 19:531-545.
- Calisher, C. H., K. V. Holmes, S. R. Dominguez, T. Schountz, y P. Cryan. 2008. Bats prove to be rich reservoirs for emerging viruses. *Microbe* 3:521-528.
- Ceballos, G., J. Arroyo-Cabrales, R. A. Medellín, L. Medrano, y G. Oliva. 2005. *Diversidad y Conservación de los Mamíferos de México*. Pp. 23-66 (Ceballos G y Oliva G eds.), Fondo de Cultura Económica.
- Ceballos, G. y J. Simonetti. 2002. *Diversidad y conservación de los mamíferos Neotropicales*. CONABIO-UNAM, México D.F. 584-584.
- Cleveland, C. J., et al. 2009. Economic value by of Brazilian the pest control bats service in provided south-central Texas. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4:238-243.
- Cottontail, V. M., et al. 2014. High Local Diversity of *Trypanosoma* in a Common Bat Species, and Implications for the Biogeography and Taxonomy of the *T. cruzi* Clade. *PLoS one* 9:e108603.

Cottontail, V. M., N. Wellinghausen, y E. K. V. Kalko. 2009. Habitat fragmentation and haemoparasites in the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostomidae) in a tropical lowland forest in Panamá. *Parasitology* 136:1133-1145.

Chapman, C. a., T. R. Gillespie, y T. L. Goldberg. 2005. Primates and the Ecology of their Infectious Diseases: How will Anthropogenic Change Affect Host-Parasite Interactions? *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews* 14:134-144.

Chapman, M. D., et al. 1984. *Trypanosoma cruzi* from the Paraguayan Chaco: isoenzyme profiles of strains isolated at Makthlawaiya. *The Journal of protozoology* 31:482-486.

Chivian, E. 2001. Environment and health: 7. Species loss and ecosystem disruption--the implications for human health. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* 164:66-69.

D'Alessandro, A. y P. Barreto. 1985. Parásitos-reservorios-control-situación. Pp. 377-399. En: *Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas* (Carcavallo R, Rabinovich J, y Tonn R eds.), Centro panamericano de ecología humana y Organización mundial de la salud, Colombia.

De Lima, H., N. Rodríguez, M. a. Barrios, A. Avila, I. Cañizales, y S. Gutiérrez. 2008. Isolation and molecular identification of *Leishmania chagasi* from a bat (*Carollia perspicillata*) in northeastern Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 103:412-414.

Deane, L. M. 1964. Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Revista brasileira de malariologia e doenças tropicais Publicações avulsas* 16:27-48.

Diez, C. N., S. Manattini, J. C. Zanuttini, O. Bottasso, y I. Marcipar. 2008. Short Report: The Value of Molecular Studies for the Diagnosis of Congenital Chagas Disease in Northeastern Argentina. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 78:624-627.

Dirzo, R., H. S. Young, M. Galetti, G. Ceballos, N. J. Isaac, y B. Collen. 2014. Defaunation in the Anthropocene. *Science* 345:401-406.

Dobson, A., et al. 2006. Sacred cows and sympathetic squirrels: the importance of biological diversity to human health. *PLoS medicine* 3:e231-e231.

Escobedo Morales, L. A., L. León Paniagua, J. Arroyo-Cabrales, y F. Greenaway. 2006. Distributional Records for Mammals from Chiapas, Mexico. *The Southwestern Naturalist* 51:269-272.

Escobedo Morales, L. A., L. León Paniagua, J. Arroyo-Cabrales, y O. J. Polaco. 2005. Diversidad y abundancia de los mamíferos de Yaxchilán, municipio de Ocosingo, Chiapas. Pp. 283-298. En: *Contribuciones Mastozoológicas en Homenaje a Bernardo Villa* (Sánchez-Cordero V y Medellín RA eds.), Instituto de Biología, UNAM; Instituto de Ecología, UNAM; CONABIO, México.

Estrada, A., R. Coates-Estrada, y D. Meritt, Jr. 1993. Bat species richness and abundance in tropical rain forest fragments and in agricultural habitats at Los Tuxtlas, Mexico. *Ecography* 16:309-318.

Evelyn, M. J. y D. A. Stiles. 2003. Roosting Requirements of Two Frugivorous Bats (*Sturnira lilium* and *Arbeteus intermedius*) in Fragmented Neotropical Forest. *Biotropica* 35:405-418.

Federico, P., et al. 2008. Brazilian free-tailed bats as insect pest regulators in transgenic and conventional cotton crops. *Ecological applications* : a publication of the Ecological Society of America 18:826-837.

Fenton, M. B., M. Davison, T. H. Kunz, G. F. McCracken, P. A. Racey, y M. D. Tuttle. 2006. Linking bats to emerging diseases. Pp. 1098-1099; author reply 1098-1099.

Galvao, C., R. Carcavallo, D. Silva-Rocha, y J. Jurberg. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa* 202:1-36.

Gillespie, T. R. y C. A. Chapman. 2006. Prediction of Parasite Infection Dynamics in Primate Metapopulations Based on Attributes of Forest Fragmentation. *Conservation Biology* 20:441-448.

Gillespie, T. R. y C. A. Chapman. 2008. Forest fragmentation, the decline of an endangered primate, and changes in host-parasite interactions relative to an unfragmented forest. *American journal of primatology* 70:222-230.

Gillespie, T. R., C. A. Chapman, y E. C. Greiner. 2005. Effects of logging on gastrointestinal parasite infections and infection risk in African primates. *Journal of Applied Ecology* 42:699-707.

González, C., et al. 2011. Current knowledge of *Leishmania* vectors in Mexico: how geographic distributions of species relate to transmission areas. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 85:839-846.

González, C., O. Wang, S. E. Strutz, C. González-Salazar, V. Sánchez-Cordero, y S. Sarkar. 2010. Climate change and risk of leishmaniasis in north america: predictions from ecological niche models of vector and reservoir species. *PLoS neglected tropical diseases* 4:e585-e585.

Guhl, F. 1999. Estado actual del control de la enfermedad de Chagas en Colombia. *Medicina (Buenos Aires)* 59:103-116.

Hammer, Ø., D. A. T. Harper, y P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4:9.

Hoare, C. A. 1972. *The Trypanosomes of Mammals: a Zoological Monograph*. Oxford : Blackwell Scientific Publications, Edinburgh 749-749.

- Hoare, C. A. y F. G. Wallace. 1966. Developmental stages of trypanosomatid flagellates: a new terminology. *Nature* 212:1385-1386.
- Hotez, P. J., M. E. Bottazzi, C. Franco-Paredes, S. K. Ault, y M. R. Periago. 2008. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS neglected tropical diseases* 2:e300-e300.
- Hotez, P. J., D. H. Molyneux, y A. Fenwick. 2007. Control of neglected tropical diseases. *England Journal of*:1018-1027.
- Jacques, D. T., K. T. Marc, D. Agossou Bruno, y O. Clément. 2012. Bats as bushmeat in Benin: yield in carcass and meat quality of the fruit bats *Eidolon helvum* (Kerr, 1792) and *Epomophorus gambianus* (Ogilby, 1835). *International Journal of Science and Advanced Technology* 2:81-90.
- Jones, G., D. Jacobs, T. Kunz, M. Willig, y P. Racey. 2009. Carpe noctem: the importance of bats as bioindicators. *Endangered Species Research* 8:93-115.
- Jurberg, C. 2009. Enfermedad de Chagas : 100 años después. *Boletín de la Organización Mundial de la Salud* 87:485-564.
- Kalko, E. K. V. 1997. Diversity in tropical bats. Pp. 13-43 (Ulrich H ed.), *Zool Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn, Germany*.
- Kato, H., et al. 2005. Detection and identification of *Leishmania* species within naturally infected sand flies in the Andean areas of Ecuador by a polymerase chain reaction. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 72:87-93.
- Keesing, F., R. D. Holt, y R. S. Ostfeld. 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecology letters* 9:485-498.
- Killick-Kendrick, R. 1979. Biology of *Leishmania* in phlebotomine sandflies. Pp. 738-738 (Lumsden WHR y Evans DA eds.), *Academic Press, London*.
- Kingston, T. 2010. Research priorities for bat conservation in Southeast Asia: a consensus approach. *Biodiversity and Conservation* 19:471-484.
- Kribs-Zaleta, C. 2010. Estimating contact process saturation in sylvatic transmission of *Trypanosoma cruzi* in the United States. *PLoS neglected tropical diseases* 4:e656-e656.
- Kunz, T. H., E. Braun de Torrez, D. Bauer, T. Lobova, y T. H. Fleming. 2011. Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1223:1-38.
- Kunz, T. H. y L. F. Lumsden. 2003. Ecology of cavity and foliage roosting bats. Pp. 3-89. En: *Bat Ecology* (Kunz TH y Fenton MB eds.), *University of Chicago Press*.

- Lainson, R., E. A. Y. Ishikawa, y F. T. Silveira. 2001. American visceral leishmaniasis: wild animal hosts. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 96:630-631.
- Lainson, R. y J. J. Shaw. 1979. The Role of Animals in the Epidemiology of South American Leishmaniasis. Pp. 738-738 (Lumsden WHR y Evans DA eds.), Academic Press, London.
- Lampo, M., M. D. Feliciangeli, L. M. Márquez, C. Bastidas, y P. Lau. 2000. A possible role of bats as a blood source for the Leishmania vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *The American journal of tropical medicine and hygiene* 62:718-719.
- Lent, H. y P. Wygodzinsky. 1979. Revision of the Triatominae Hemiptera: Reduviidae and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Am Museun Nat Hist* 163:123-520.
- Lewis, S. E. 2007. Roost Fidelity of Bats : A Review. *Journal of Mammalogy* 76:481-496.
- Lisboa, C. V., et al. 2006. Stable infection of primates with *Trypanosoma cruzi* I and II. *Parasitology* 133:603-611.
- Magallón-Gastélum, E., N. C. Magdaleno-Peñaloza, G. Kattahain-Duchateau, F. Trujillo-Contreras, F. J. Lozano-Kasten, y R. J. Hernández-Gutiérrez. 1998. Distribución de los vectores de la enfermedad de Chagas Hemiptera: Reduviidae Triatominae en el estado de Jalisco, México. *Rev Biom* 9:151-157.
- Marinkelle, C. 1982. Prevalence of *Trypanosoma cruzi*-like infection of Colombian bats. *Annals of tropical medicine and parasitology* 76:123-134.
- Marinkelle, C. J. 1966. Observations on human, monkey and bat trypanosomes and their vectors in Colombia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 60:109-116.
- Martínez-Ibarra, J. A., et al. 2001. Role of two *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) species in the transmission of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) to man in the west coast of Mexico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96:141-144.
- May-Uc, E., H. A. Hernández-Arana, y E. A. Rebollar-Téllez. 2011. Distribución de flebotominos (Diptera: Psychodidae) en Quintana Roo, México. *Acta Zoológica Mexicana (Nueva Serie)* 27:273-289.
- Medellín, R. A. 1994. Mammal Diversity and Conservation in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Conservation Biology* 8:780-799.

Medellín, R. A., H. T. Arita, y Ó. Sánchez. 2008. Identificación de los murciélagos de México Clave de campo, Segunda Edición. Instituto de Ecología, UNAM, México D.F. 79-79.

Medellín, R.A., M. Equihua, y M. Amin. 2000. Bat Diversity and Abundance as Indicators of Disturbance in Neotropical Rainforests. *Conservation Biology* 14:1666-1675.

Melo, F. P. L., B. Rodriguez-Herrera, R. L. Chazdon, R. A. Medellín, y G. Ceballos. 2009. Small Tent Roosting Bats Promote Dispersal of Large Seeded Plants in a Neotropical Forest. *Biotropica* 41:737-743.

Meyer, C. F. J., J. Frund, W. P. Lizano, y E. K. V. Kalko. 2008. Ecological correlates of vulnerability to fragmentation in Neotropical bats. *Journal of Applied Ecology* 45:381-391.

Meyer, C. F. J. y E. K. V. Kalko. 2008. Assemblage-level responses of phyllostomid bats to tropical forest fragmentation: land-bridge islands as a model system. *Journal of Biogeography* 35:1711-1726.

Mickleburgh, S. P., A. M. Hutson, y P. A. Racey. 2002. A review of the global conservation status of bats. *Oryx* 36:18-34.

Miles, M. A. 1979. Transmission Cycles and the Heterogeneity of *Trypanosoma cruzi*. Pp. 738-738 En: *Biology of the Kinetoplastida* (Lumsden W y Evans D eds.), Academic Press, London.

Moo-Llanes, D., C. N. Ibarra-Cerdena, E. A. Rebollar-Tellez, S. Ibanez-Bernal, C. Gonzalez, y J. M. Ramsey. 2013. Current and future niche of North and Central American sand flies (Diptera: psychodidae) in climate change scenarios. *PLoS neglected tropical diseases* 7:e2421.

Morsy, T. A., M. M. I. Salama, y H. M. Y. Abdel. 1987. Detection of *Leishmania* antibodies in bats. *J Egypt Soc Parasitol* 17:797-798.

Oliveira, F. S., C. Pirmez, M. Q. Pires, R. P. Brazil, y R. S. Pacheco. 2005. PCR-based diagnosis for detection of *Leishmania* in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. *Veterinary parasitology* 129:219-227.

Organización Mundial de la Salud. 2010. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the control of Leishmaniasis. Pp. 22-26.

Organización Panamericana de la Salud. 2007. Update of American Trypanosomiasis and Leishmaniasis Control and Research: Final Report. Pp. 172-172.

Organización Panamericana de la Salud. 2009. Encuentro sobre vigilancia , prevención y control de leishmaniasis visceral (LV) en el Cono Sur de Sudamérica.

Organización Panamericana de la Salud. 2010. Enfermedad de Chagas : control y eliminación. Pp. 5-5.

Ostfeld, R. S. y F. Keesing. 2000. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. 2078:2061-2078.

Patterson, B. D., C. W. Dick, y K. Dittmar. 2007. Roosting habits of bats affect their parasitism by bat flies (Diptera: Streblidae). *Journal of Tropical Ecology* 23:177-177.

Patz, J. A., et al. 2004. Unhealthy Landscapes: Policy Recommendations on Land Use Change and Infectious Disease Emergence. *Environmental Health Perspectives* 112:1092-1098.

Patz, J. A., T. K. Graczyk, N. Geller, y A. Y. Vittor. 2000. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *International journal for parasitology* 30:1395-1405.

Pearce, R. D. y T. J. O'Shea. 2007. Ectoparasites in an urban population of big brown bats (*Eptesicus fuscus*) in Colorado. *The Journal of parasitology* 93:518-530.

Pech-May, A., et al. 2013. Genetic structure and divergence in populations of *Lutzomyia cruciata*, a phlebotomine sand fly (Diptera: Psychodidae) vector of *Leishmania mexicana* in southeastern Mexico. *Infect Genet Evol* 16:254-262.

Perry, R. W., R. E. Thill, y D. M. Leslie. 2007. Selection of roosting habitat by forest bats in a diverse forested landscape. *Forest Ecology and Management* 238:156-166.

Pipkin, A. C. 1969. Transmission of *Trypanosoma cruzi* by arthropod vectors: anterior versus posterior route infection. *International review of tropical medicine* 3:1-47.

Porta, J., M. Acevedo-López, y C. Roquero. 1999. Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente, 2da. ed. Mundi-Prensa, Barcelona, España.

Porta, M. 2008. *Dictionary of Epidemiology*, 5th ed. Oxford University Press, New York 281-281.

Quaresma, P. F., et al. 2011. Wild, synanthropic and domestic hosts of *Leishmania* in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 105:579-585.

Ramsey, J. M., A. E. Gutiérrez-Cabrera, L. Salgado-Ramírez, a. T. Peterson, V. Sánchez-Cordero, y C. N. Ibarra-Cerdeña. 2012. Ecological Connectivity of *Trypanosoma cruzi* Reservoirs and *Triatoma pallidipennis* Hosts in an Anthropogenic Landscape with Endemic Chagas Disease. *PloS one* 7:e46013-e46013.

Rassi, A. y J. A. Marin-Neto. 2010. Chagas disease. *Lancet* 375:1388-1402.

Rebollar-Tellez, E. A., F. Reyes-Villanueva, I. Fernandez-Salas, y F. J. Andrade-Narvaez. 1996. Population dynamics and biting rhythm of the anthropophilic sandfly *Lutzomyia cruciata* (Diptera: Psychodidae) in Southeast, Mexico. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 38:29-33.

Rebollar-Tellez, E. A., E. Tun-Ku, P. C. Manrique-Saide, y F. J. Andrade-Narvaez. 2005. Relative abundances of sandfly species (Diptera: Phlebotominae) in two villages in the same area of Campeche, in southern Mexico. *Annals of tropical medicine and parasitology* 99:193-201.

Rodríguez-Herrera, B., G. Ceballos, y R. A. Medellín. 2011. Ecological Aspects of the Tent Building Process by *Ectophylla alba* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Acta Chiropterologica* 13:365-372.

Rodríguez-Herrera, B., R. A. Medellín, and R. M. Timm. 2007. Neotropical tent-roosting bats, 1st ed. Instituto Nacional de Biodiversidad, InBio, Santo Domingo de Heredia 184-184.

Rotureau, B., F. Catzeflis, y B. Carme. 2006. Short Report : Absence Of *Leishmania* In Guianan Bats. *journal of tropical medicine and hygiene* 74:318-321.

Ruedas, L. A., J. Salazar-Bravo, y D. S. Tinnin. 2004. Community ecology of small mammal populations in Panama following an outbreak of Hantavirus pulmonary syndrome. *Journal of Vector Ecology*.

Rupprecht, C. E. 2009. Bats, Emerging Diseases, and the Human Interface. *PLoS neglected tropical diseases* 3:2-2.

Savani, E. S. M. M., et al. 2010. Detection of *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* and *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum chagasi* in Brazilian bats. *Veterinary parasitology* 168:5-10.

Schaub, G. A. 1988. Direct transmission of *Trypanosoma cruzi* between vectors of Chagas' disease. *Acta tropica* 45:11-19.

Schaub, G. A. y P. Lösch. 1988. *Trypanosoma cruzi*: Origin of metacyclic trypomastigotes in the urine of the vector *Triatoma infestans*. *Experimental parasitology* 65:174-186.

Schmidt, G. D. y L. S. Roberts. 1977. *Foundations of parasitology*. The John Hopkins University, Baltimore, USA.

Sikes, R. S., G. , W. L., y The Animal Care And Use Committee Of The American Society Of Mammalogists. 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy* 92:235–253.

Simmons, N. 2005. Order Chiroptera. Pp. 312-529. En: *Mammal Species of the World: a geographic and taxonomic reference* (Wilson DE y Reeder DM eds.), The John Hopkins University, Baltimore, USA.

Suzán, G., F. Esponda, R. Carrasco-Hernández, y A. A. Aguirre. 2012. habitat fragmentation and infectious disease ecology. Pp. 135-150. En: *New directions in*

conservation medicine Applied cases of ecological health (Aguirre aA, Ostfeld RS, y Daszak P eds.), Oxford University Press, New York.

Suzán, G., et al. 2008. The effect of habitat fragmentation and species diversity loss on hantavirus prevalence in Panama. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1149:80-83.

Suzán, G., et al. 2009. Experimental evidence for reduced rodent diversity causing increased hantavirus prevalence. *PloS one* 4:e5461-e5461.

TDR. 2012. Research priorities for Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis.

ter Hofstede, H. M. y M. B. Fenton. 2005. Relationships between roost preferences, ectoparasite density, and grooming behaviour of neotropical bats. *Journal of Zoology* 266:333-340.

Thomas, M. E., J. J. Rasweiler Iv, y A. D'Alessandro. 2007. Experimental transmission of the parasitic flagellates *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* between triatomine bugs or mice and captive neotropical bats. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 102:559-565.

Tschapka, M. 2004. Energy density patterns of nectar resources permit coexistence within a guild of Neotropical flower-visiting bats. *Journal of Zoology* 263:7-21.

Tudge, C. 2000. *The variety of life : a survey and a celebration of all the creatures that have ever lived.* Oxford University Press, London 684-684.

Van Wynsberghe, N. R., S. B. Canto-Lara, E. I. Sosa-Bibiano, N. a. Rivero-Cárdenas, y F. J. Andrade-Narváez. 2009. Comparison of small mammal prevalence of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in five foci of cutaneous leishmaniasis in the State of Campeche, Mexico. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 51:87-94.

Villalobos-Chaves, D., B. Rodriguez-Herrera, y M. Tschapka. 2013. First records of day roosts of the nectar-feeding bat *Lichonycteris obscura* (Phyllostomidae: Glossophaginae). *Caribbean Journal of Science* 47:335-338.

Wibbelt, G., M. S. Moore, T. Schountz, y C. C. Voigt. 2010. Emerging diseases in Chiroptera: why bats? *Biology letters* 6:438-440.

Wilson, D. E. y D. M. Reeder. 2005. *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*, 3rd ed. Johns Hopkins University Press.

Ximenes, M. d. F. F. d., J. C. Maciel, y S. M. B. Jerônimo. 2001. Characteristics of the biological cycle of *Lutzomyia evandroi* Costa Lima y Antunes, 1936 (Diptera: Psychodidae) under experimental conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96:883-886.

Zárate, L. G. y R. J. Zárate. 1985. Checklist of the Triatominae Hemiptera Reduviidae of Mexico. *Inter J Entomol* 61:257-271.

Anexo 1. Murciélagos colectados de los sitios de bosque y de las zonas perturbadas en la región de Marqués de Comillas y la reserva de la biósfera de Montes Azules 2012-2013. AB: tamaño del antebrazo en milímetros; Estado reproductivo: inactivo representa a los macho no escrotados y las hembras no lactantes ni gestantes, mientras que test son los machos con testículos escrotados; las letras en las columnas de *L. mexicana* y *T. cruzi* representan los órganos positivos para ese individuo (corazón: C y bazo: B).

sitio	hábitat	ID	sexo	AB	Estado Reproductivo	código	<i>L. mexicana</i>	<i>T. cruzi</i>
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	41	inactivo	C003		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	41,4	test	C004		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	40,5	test	C005		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	39,4	test	C006		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	41	inactivo	C007		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	39,8	inactivo	C008		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	39	test	C009		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	40,2	inactivo	C020		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	39,5	inactivo	C021		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	40,3	inactivo	C045	C	

Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	38,8	inactivo	C046		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	40,8	inactivo	C047		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	38,5	test	C060		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	39,2	inactivo	C061		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	39,6	inactivo	C062		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	40,8	inactivo	C063		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	40	test	C064		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho		test	C100		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	41,2	inactivo	C101		
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	40,4	inactivo	S020	B	
Astillero Chajul	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	41,2	inactivo	S021		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	macho	41	inactivo	C010		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	macho	39,1	inactivo	C011		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	hembra	40,6	inactivo	C012		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	hembra	41,1	inactivo	C021b		
El Siete	Zona	<i>C. sowelli</i>	macho	41	inactivo	C022		

	Conservada							
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	39,3	inactivo	C023		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40,4	inactivo	C024		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	40,9	inactivo	C025		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	41,1	inactivo	C026		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40,5	inactivo	C027		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	40,2	inactivo	C028		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	39,5	test	C068		
El Siete	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40	inactivo	C069		
El Siete	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	38,9	inactivo	S100		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	39,8	inactivo	C029		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	41	inactivo	C030		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	44,1	inactivo	C031		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	41,5	inactivo	C032		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	44,4	inactivo	C033		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	43,8	inactivo	C034		

Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	macho	38,3	inactivo	C035		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	39,8	inactivo	C036		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	macho	42,5	test	C037		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40,8	inactivo	C038		C
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	macho	41,4	inactivo	C039		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	41	inactivo	C040		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40,6	inactivo	C041		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	macho	39,2	inactivo	C042		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	macho	37,5	inactivo	C043	C	
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	38,2	inactivo	C044	C	C
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	41,2	inactivo	C057		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40	inactivo	C058		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40,1	inactivo	C059		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	macho	41,9	test	C105		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowellii</i>	macho	40,2	inactivo	C106		
Flor de Marqués	Zona	<i>C. sowellii</i>	macho	40,2	test	C107		

	Perturbada							
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	38,9	inactivo	C108		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	41	inactivo	C109		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	38,9	inactivo	C110		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	40,1	gestante	S001		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	39,9	gestante	S002		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	38,1	gestante	S003		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	38,5	inactivo	S011		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	38,7	test	S012		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	38,3	inactivo	S013		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	37,6	inactivo	S014		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	40,3	inactivo	S015		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	39,1	inactivo	S016		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	37,9	inactivo	S017		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	38	inactivo	S018		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	38,7	inactivo	S019		

Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	38,5	test	S025	BC	
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	39	inactivo	S026		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	39,7	inactivo	S027		
Flor de Marqués	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	37,6	inactivo	S109		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	41	inactivo	C013		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	40,7	test	C014		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	42	inactivo	C015		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	41,6	inactivo	C016		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	41,6	inactivo	C018		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	40,8	inactivo	C019		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	macho	40	test	C051	B	
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	40	inactivo	C052	B	
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	41,5	inactivo	C066		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>C. sowelli</i>	hembra	40,5	inactivo	C067		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	40,2	inactivo	S004		
Gutiérrez Frontera	Zona	<i>S. parvidens</i>	hembra	39,4	inactivo	S005	B	

	Perturbada							
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	39,9	inactivo	S006		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	40	inactivo	S007		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	hembra	40	gestante	S008		
Gutiérrez Frontera	Zona Perturbada	<i>S. parvidens</i>	macho	39,7	test	S024	C	
La Ceiba	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	39,2	inactivo	C053		
La Ceiba	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	39,4	inactivo	C054		
La Ceiba	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40,5	inactivo	C055		
La Ceiba	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40,4	inactivo	C056	B	
La Ceiba	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	39	inactivo	C065		
La Ceiba	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	39,4	inactivo	C066		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	41	inactivo	C001		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	40,5	inactivo	C002		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	hembra	44,8	inactivo	C048		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	38,5	test	C049		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowellii</i>	macho	41,5	test	C050		

Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	hembra	40	inactivo	C070		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	macho	39	test	C071		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	macho	39,9	test	C102		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	hembra	41,4	inactivo	C103		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>C. sowelli</i>	macho	40,7	inactivo	C104		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	37,8	test	S009		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	hembra	37,5	inactivo	S022		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	hembra	40,2	inactivo	S023	C	
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	39,2	inactivo	S027		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	38,2	inactivo	S028		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	39,4	test	S029		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	39,5	inactivo	S030		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	38,4	test	S031		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	39	inactivo	S101		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	macho	41	test	S102		
Playón de la Gloria	Zona	<i>S. parvidens</i>	macho	39	inactivo	S103		

	Conservada							
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	hembra	40,8	inactivo	S104		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	hembra	37,2	inactivo	S105		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	hembra	41,2	inactivo	S106		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	hembra	40,2	inactivo	S107		
Playón de la Gloria	Zona Conservada	<i>S. parvidens</i>	hembra	38,9	gestante	S108		