

Informe final* del Proyecto HK002
Biología reproductiva y diversidad genética: hacia el conocimiento integral del murciélago pescador *Myotis vivesi*

Responsable: Dr. Luis Gerardo Herrera Montalvo
Institución: Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Biología
Estación Chamela
Dirección: Apartado Postal 21, San Patricio Melaque, Jal, 48980, México
Correo electrónico: gherrera@ib.unam.mx
Teléfono, fax 01 312 3114879
Fecha de inicio: Septiembre 30, 2010
Fecha de término: Octubre 2, 2014

Principales resultados: Informe final, cartografía, base de datos, hojas de cálculo.

Forma de citar el informe final y otros resultados:** Herrera Montalvo, L. G. y J. J. Flores-Martínez. 2016. Biología reproductiva y diversidad genética: hacia el conocimiento integral del murciélago pescador *Myotis vivesi*. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. **Informe final SNIB-CONABIO, HK002**, México D. F.

Resumen:

A pesar de ser una especie endémica de México, se conoce poco sobre la biología, ecología y estado de conservación del Murciélago Pescador *Myotis vivesi*. Por ejemplo, el único estudio sobre su ecología y biología fue realizado hace más de 40 años. Desde 1999 iniciamos un proyecto con el fin de aportar información reciente sobre diversos aspectos de la biología de esta especie. Durante estos años hemos obtenido información de campo sobre su distribución geográfica, el tamaño y la composición de su población más grande conocida, el nivel de diversidad genética de la especie utilizando marcadores nucleares y mitocondriales, y otros temas relevantes. A partir de nuestro trabajo previo hemos identificado algunos aspectos que aún faltan por resolver para esta especie y que podrían ser importantes para ofrecer un conocimiento integral de la especie y poder evaluar su estado de conservación con el método de evaluación de riesgo. En particular el presente estudio tiene dos ejes principales de trabajo: 1) la determinación de la diversidad genética de la especie a partir de genes codificantes; y 2) la determinación del patrón reproductivo de la especie y de la distribución geográfica de sus colonias de maternidad. Estos dos aspectos cumplen con los objetivos de la convocatoria y representan el tipo de información solicitada.

-
- * El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx
 - ** El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

**BIOLOGIA REPRODUCTIVA Y DIVERSIDAD GENETICA: HACIA EL
CONOCIMIENTO INTEGRAL DEL MURCIELAGO PESCADOR *MYOTIS VIVESI***

DR. LUIS GERARDO HERRERA MONTALVO

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

INFORME FINAL

11 de septiembre de 2014

Resumen

En este informe se registraron las actividades realizadas entre septiembre de 2010 y abril de 2014. Durante este periodo, se realizaron 8 salidas de campo a Isla Partida Norte en las que se colectaron 200 muestras de heces de *Myotis vivesi* con el fin de analizar su contenido de metabolitos de testosterona en los machos, y de estrógeno (estradiol) y progesterona en las hembras. Estas colectas se hicieron para describir la actividad reproductiva de la especie. Además, se hicieron 4 salidas de campo adicionales a esta isla en diciembre de 2012, en julio y octubre de 2013, y en abril de 2014 para realizar pruebas de respuesta inmune en 114 individuos. Se colectaron 176 muestras de membrana alar de *M. vivesi* en 6 islas en el Golfo de California para su análisis del ADN mitocondrial. Se visitaron 19 islas, de las cuales en 12 se encontraron colonias de maternidad de *M. vivesi* y en 7 no se encontraron individuos de esta especie. Como parte de este informe se incluye una descripción de la especie y de su historia natural. El informe contiene cuatro anexos con mapas y sus metadatos que describen los siguientes aspectos de *M. vivesi*: 1) los sitios en que se colectaron muestras de membrana alar, 2) los sitios en que se encontraron colonias de maternidad, 3) los sitios en que se ha reportado históricamente su presencia, y 4) los sitios en que hemos encontrado colonias entre 2000-2011. Se presenta información sobre la biología reproductiva de la especie (metabolitos hormonales y registro de colonias de maternidad), y su distribución geográfica histórica y actual. Se presenta el informe de los resultados moleculares, y de la aplicación del MER con la especie de estudio, así como un anexo de los individuos de *M. vivesi* marcados en nuestro estudio. Por último, se presentan los resultados de las medidas de respuesta inmune.

Introducción

México está considerado como un área importante para la conservación de la diversidad biológica en el mundo porque contiene un gran número de especies y altos niveles de endemismo (Alvarez et al. 2014). Entre los vertebrados mexicanos, los mamíferos presentan niveles significativos de endemismo (32%), con 20% de las especies localizadas únicamente en islas (Ceballos y Rodríguez 1993). Las especies endémicas insulares son particularmente vulnerables a la invasión de especies exóticas y a la pérdida de hábitat, y demandan esfuerzos de conservación especiales. Por ejemplo, 80% de las extinciones de mamíferos endémicos mexicanos ha ocurrido en islas (Ceballos y Navarro 1991).

Cerca de 10% (14 spp.) de los mamíferos endémicos de México son murciélagos, con unas cuantas especies restringidas a islas. *Myotis vivesi* (Vespertilionidae) se encuentra únicamente en las islas del Golfo de California. Esta especie de murciélago es considerada como rara, con unas pocas colonias y un tamaño poblacional aparentemente en disminución (Ceballos y Navarro 1991) por lo que se considera como vulnerable por la International Union for the Conservation of Nature (IUCN; Arroyo-Cabrales y Alvarez Castañeda 2008) y como en peligro de extinción por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT 2010).

A pesar de ser una especie endémica de México, se conoce poco sobre su biología, ecología y estado de conservación. Por ejemplo, el único estudio sobre la ecología y biología de esta especie fue realizado hace más de 40 años (Maya 1968). En dicho estudio se hace una estimación del tamaño de la población en Isla Partida Norte y de su composición por sexos y edades durante la temporada de

reproducción. También se presenta información parcial de sus hábitos alimentarios correspondientes a unos pocos meses del año. Por último, se hace un listado de algunos sitios donde se presenta la especie en el área. Además de este trabajo, existen algunos estudios sobre algunos aspectos morfológicos y fisiológicos relacionados con sus hábitos de alimentación, así como reportes anecdóticos de su forma de forrajeo y del efecto de algunas especies introducidas de roedores (Blood y Clark 1998).

Desde 1999 iniciamos un proyecto con el fin de aportar información reciente sobre diversos aspectos de la biología de esta especie. Durante estos años hemos obtenido información de campo sobre su distribución geográfica actual, el tamaño y la composición de la población en Isla Partida Norte, el nivel de diversidad genética de la especie utilizando marcadores nucleares y mitocondriales, la presencia de especies de ratas y gatos introducidos en algunas islas que pudieran afectar la presencia del murciélago pescador, la variación de los hábitos alimentarios a lo largo del año mediante la combinación de métodos tradicionales y del análisis de isótopos estables, y su histología reproductiva.

A partir de nuestro trabajo de campo hemos encontrado que (a) la especie presenta colonias en varias islas del Golfo de California, aunque aparentemente ha desaparecido de algunos lugares donde se le reporta históricamente (Flores-Martínez 2005); (b) que la población de Isla Partida Norte mantiene un tamaño similar al reportado por Maya hace casi 40 años (Flores-Martínez 2005, Flores-Martínez et al. 2005); (c) que la especie mantiene niveles de diversidad genética similares a los de especies de murciélagos que no están en peligro de extinción (Flores-Martínez 2005, 2009, Flores-Martínez et al. 2005, Floyd et al. 2010); y (d)

que existe presencia de ratas introducidas en algunas islas donde no se encontraron colonias de murciélago pescador o en islas donde aún existen poblaciones de esta especie (Flores-Martínez y Herrera, datos no publicados). Si bien nuestros hallazgos de una elevada diversidad genética son alentadores para la conservación de la especie, en este estudio analizamos la diversidad genética en muestras colectadas recientemente.

En cuanto a la biología reproductiva de *M. vivesi*, existe información basada en el estudio de los cambios estacionales en la histología del sistema reproductivo de machos y hembras en Isla Partida Norte (la isla con la colonia más grande de esta especie). Debido a que los estudios histológicos requieren del sacrificio del animal, las observaciones se reducen a unos cuantos individuos por lo que es necesario una técnica menos invasiva que permita hacer inferencias a nivel poblacional. El estudiar la endocrinología reproductiva de esta especie nos permitiría describir su patrón reproductivo con una metodología fácil de implementar y que no afecta a los organismos. Para cumplir con este objetivo se midieron los niveles de los metabolitos de testosterona en los machos, y de estrógenos (estradiol) y progesterona (20-oxopregnona) en las hembras de distintas temporadas del año. En las hembras, la concentración de los metabolitos del estrógeno llega al máximo nivel durante el desarrollo folicular e indica la presencia de ovulación, mientras que el aumento de los metabolitos de la progesterona indica la preparación del endometrio para la implantación del embrión. En los machos, los niveles de testosterona aumentan durante la producción de esperma.

Como parte de nuestro trabajo sobre la distribución geográfica de la especie, hemos registrados 8 sitios de maternidad. Esta información es muy importante porque la especie es altamente vulnerable a la presencia de fauna introducida debido a sus hábitos de anidamiento. Con este estudio pretendemos complementar estos registros debido a que, de 30 islas que hemos visitado, solamente 9 de estas visitas ocurrieron en el periodo en que las hembras tienen sus crías (primavera-verano). En total se tienen registros históricos de la presencia de murciélago pescador en 49 islas, islotes y áreas costeras continentales, por lo que el conocimiento de la distribución geográfica de las colonias de maternidad es muy preliminar y requiere de más trabajo de campo.

El embarazo y lactancia representan los periodos energéticamente más exigentes del ciclo de vida de las hembras (Thompson y Nicoll, 1986; Speakman 2000). Para sobrevivir, los animales deben ser capaces de generar respuestas inmunes para resistir enfermedades que pueden ser mortales. Sin embargo, el montaje de una respuesta inmune requiere de una inversión sustancial de energía (Demas et al. 1997, Derting y Compton 2003). Algunos estudios han encontrado apoyo para la idea de la existencia de un equilibrio entre la reproducción y la respuesta inmune, donde la actividad inmunológica se reduce durante el periodo reproductivo. Por ejemplo, las hembras lactantes y gestantes de una especie de hámster (*Phodopus sungorus*) tuvieron menores respuestas de anticuerpos en comparación con las hembras nulíparas (Drazen et al. 2003). Del mismo modo, el grado de fiebre inducida por la inyección de un antígeno inerte de *Escherichia coli* (LPS) en ratas (*Rattus rattus*) gestantes y lactantes se redujo en comparación con los animales vírgenes (Martin et al. 1995). En especies de aves paseriformes

(*Parus major*) la respuesta inmune celular disminuyó a medida que avanzaba la temporada de cría (Dubiec y Cichon 2005). En contraste, las hembras gestantes de murciélagos (*Myotis myotis*) tuvieron una respuesta inmune celular más débil que las hembras no reproductoras pero la respuesta aumentó progresivamente a lo largo de la gestación, alcanzando un máximo durante la lactancia (Christe et al. 2000). Un aumento similar en la capacidad de la respuesta inmune se observó en las hembras lactantes de una especie de topo (*Lasiopodomys brandtii*) a pesar del alto costo energético de la lactancia (Xu et al. 2012).

Los factores que determinan el éxito reproductivo para machos y hembras son diferentes, donde generalmente las hembras invierten mayor esfuerzo energético en alcanzar mayor longevidad que los machos, para así presentar varios eventos reproductivos a lo largo de la vida y alcanzar un mayor éxito reproductivo (Nunn et al. 2009, Rolff 2002). De esta manera, las diferentes estrategias reproductivas de machos y hembras conllevarían a respuestas inmunes distintas, donde se espera que las hembras presenten mayores respuestas inmunes que los machos (Schulenburg et al. 2009, Rolff 2002). La idea de una compensación de la actividad inmunológica y otras funciones vitales dictadas por el sexo ha sido recientemente evaluada con resultados contrastantes, pero ilustrativos de la complejidad de esta relación. Un estudio con alondras (*Alauda arvensis*) demostró que la respuesta inmune en individuos en libertad varía en relación con la actividad reproductiva pero no difiere entre sexos (Hegemann et al. 2012a). En contraste, un estudio con alondras sometidas a un reto inmunológico al inyectarles LPS demostró que la respuesta inmune no difiere a lo largo del año ni entre sexos (Hegemann et al. 2012b). Estos estudios indican

que la respuesta inmune puede significar un proceso esencial para la supervivencia de ciertas especies en cada etapa del ciclo anual de manera que no sacrifican esta forma costosa de la defensa con otras exigencias de vida. Así, la relación entre la actividad inmunológica y la reproducción puede ser más compleja de lo que la teoría de historias de vida predice.

En este estudio se midió la respuesta inmune de *M. vivesi* a lo largo del año. La actividad reproductiva de esta especie inicia en el invierno con el apareamiento y finaliza con la preñez y la lactancia en primavera-verano (Carmona Maldonado 2007). Por tanto, el conflicto para mantener una respuesta inmune adecuada varía a lo largo del año en esta especie en un ambiente donde los recursos son limitados. Esta especie de murciélago ha padecido una extensiva pérdida de poliformismo en el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) como una consecuencia de su distribución geográfica limitada (Richman et al. 2010), lo cual significa que el murciélago pescador es potencialmente vulnerable a cambios locales en su ambiente. En comparación con una especie continental del mismo género, el murciélago pescador presenta una menor diversidad de ectoparásitos y un menor polimorfismo de los genes de la clase II del CMH (Richman et al. 2010). Los genes de la clase II del MH están involucrados en la respuesta inmune adaptativa, principalmente en relación con la respuesta frente a la presencia de patógenos extracelulares (e.g., bacterias extracelulares). Al igual que en otros grupos de vertebrados (Oliver et al. 2009), es probable que la heterogeneidad del CMH en *M. vivesi* sea en parte resultado de la presión evolutiva ejercida por la abundancia de endoparásitos y ectoparásitos. Sin embargo, no hay información suficiente para especificar el factor de selección específico para *M. vivesi*. Los

animales han desarrollado complejas respuestas fisiológicas para resistir o eliminar patógenos, las cuales se clasifican en innatas y adquiridas (o adaptativas; Muehlenbein 2010). En general, las respuestas innatas son relativamente rápidas y no específicas, y sirven como la línea inicial de defensa contra los patógenos invasores. La respuesta inmune adquirida involucra respuestas más lentas a patógenos específicos que requieren la activación y sirven como línea de defensa adicional. La aparente predisposición de las poblaciones insulares a los agentes patógenos exóticos está al parecer asociada a la presencia de una fauna pobre de parásitos en las poblaciones naturales de los huéspedes (Dobson and McCallum 1997). Sin embargo, existen pocos estudios sobre la respuesta inmune en poblaciones naturales insulares (Wikelski et al. 2004). El conocer la capacidad de respuesta inmunológica del murciélago pescador en comparación con las mediciones efectuadas en otras especies de murciélagos es importante para evaluar su vulnerabilidad ante la aparición de enfermedades emergentes, las cuales han llevado recientemente a la virtual desaparición de poblaciones enteras de murciélagos en el Estados Unidos y Canadá (Blehert et al. 2009). Con el fin de tener una aproximación de la vulnerabilidad de *M. vivesi* a las enfermedades emergentes, se estimará su capacidad de respuesta inmune innata y su respuesta inflamatoria generalizada; esta última involucra procesos inmunes innatos y adaptativos y podría estar determinada parcialmente por la diversidad del CMH clase II. La respuesta inmune innata está asociada al CMH clase I, pero no se tiene información sobre la diversidad de estos genes en *M. vivesi*. Se espera que los índices de respuesta inmune de *M. vivesi* disminuyan durante la época

reproductiva y que sean menores a los reportados en la literatura para especies de murciélagos continentales.

Objetivo General

Proporcionar información integral sobre diversos aspectos relevantes para conocer el estado de conservación del murciélago pescador *Myotis vivesi*.

Objetivos Específicos

- 1) Determinar la distribución geográfica de la diversidad genética de ADN mitocondrial del murciélago pescador.
- 2) Determinar el patrón reproductivo del murciélago pescador.
- 3) Determinar la distribución geográfica de las colonias de maternidad del murciélago pescador.
- 4) Determinar si la respuesta inflamatoria generalizada y la respuesta inmune innata varían a lo largo del año en función de la actividad reproductiva de machos y hembras del murciélago pescador en condiciones naturales

Metodología

Patrón reproductivo

Se realizaron salidas de campo a isla Partida Norte en septiembre y octubre de 2010 y enero, febrero, marzo, abril, junio y julio de 2011. Cada visita tuvo una duración de 4-6 días. Se capturaron individuos de *M.vivesi* con redes de niebla y se colectaron sus heces fecales. Las heces fueron colocadas en viales con etanol y mantenidas en hielo para su traslado al laboratorio. A cada individuo se le registraron datos externos que indicaran su condición reproductiva (tamaño y posición de los testículos en los machos, presencia de preñez, lactancia o post-

lactancia en las hembras). Las muestras fueron enviadas al Instituto Leibniz de Vida Silvestre, en Berlín, Alemania para la extracción de metabolitos de estrógenos (estradiol), progesterona (20-oxo-pregnona) y testosterona (Schwarzenberger et al. 2004). El responsable del proyecto (LGHM) se encargó de realizar los análisis de laboratorio de las muestras. Las muestras se colocaron en una solución de etanol al 70% y se centrifugaron por 30 minutos. Se colectó 1 ml del sobrenadante y se le agregó 1 ml de agua destilada. Se hicieron inmuno ensayos de varias alícuotas de acuerdo el método descrito por Schwarzenberger et al. (2004). Los extractos fecales fueron analizados mediante reacciones inmunes a los metabolitos de estrógeno, progesterona y testosterona. Los anticuerpos usados en los inmuno ensayos fueron obtenidos de conejos de laboratorio: 5 α -pregnona-3 β -ol-20-one 3HS:BSA para los metabolitos de progesterona, estradiol-17 β -OH 17-HS:BSA para los metabolitos de estrógenos, y 17 α -OH-testosterona-HS-3-RSA para los metabolitos de testosterona. Los ensayos fueron validados con curvas estándares y diluciones seriales de extractos fecales. Los resultados se expresaron en nanogramos por g de heces húmedas y se compararon las medias mensuales de cada metabolito con un análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis) seguido de comparaciones múltiples a posteriori. Los análisis estadísticos se realizaron en STATISTICA 7 (StatSoft, Tulsa, Oklahoma).

Estructura genética

Se colectaron 176 muestras de membrana alar de seis poblaciones insulares de *M. vivesi* en 2011; las muestras fueron almacenadas en crioviales con etanol al 95% y refrigeradas hasta su análisis. Se extrajo ADN genómico de las

muestras con un kit para tejidos (GenElute; Sigma Aldrich). Se amplificó un fragmento de ADN mitocondrial de estas muestras en la Universidad de California-Merced usando los cebadores y las condiciones descritas en Floyd et al. (2010). Además, se amplificaron 23 muestras de membranas de dos poblaciones colectadas en 2001.

Distribución geográfica de las colonias de maternidad

Durante el verano de 2011, se visitaron 14 islas e islotes donde se tienen reportes históricos de la presencia de *M. vivesi* y 5 islas donde se sospechaba la presencia de esta especie (Fig. 1). Estas visitas fueron realizadas de manera coordinada con la colecta de muestras para el análisis molecular. En cada visita se colocaron redes de nylon para capturar a los murciélagos o bien se les buscó en su refugio diurno. Una vez capturados, se registró el sexo, la edad, el peso y la condición reproductiva de cada individuo.

Respuesta inmune

Para esta parte del estudio, se visitó la isla Partida Norte en diciembre de 2012, en julio y octubre de 2013, y en abril de 2014. En cada visita, se atraparon entre 5 y 16 machos y entre 14 y 23 hembras en sus refugios diurnos, y se les registró el peso, la edad (adulto, juvenil o cría), y el estado reproductivo.

La respuesta inflamatoria generalizada se mide mediante la inyección de fitohematoaglutinina (PHA). La inyección de PHA permite evaluar la actividad del sistema inmune innato y adaptativo mediada por las células debido a que induce la mitosis celular, activa la proliferación de células inmunes y causa inflamación en el lugar de aplicación (Allen et al. 2009). La PHA se obtiene de una especie de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y es uno de los antígenos naturales más comúnmente

usados en estudios ecoinmunológicos (Boughton et al. 2011). Cada inyección constó de 100 μL de una solución 0.1mg mL^{-1} de PHA en la almohadilla de la pata derecha de cada individuo (Allen et al. 2009). La inflamación de la almohadilla se midió usando un vernier digital antes de la inyección y a las 3, 6, y 12 horas después de la inyección. Un estudio preliminar con otras especies de murciélagos demuestra que la inflamación máxima ocurre entre las 6 y las 12 horas después de la inyección (L. G. Herrera, datos no publicados); para el análisis de los datos se consideraron solamente las mediciones hechas a las 12 horas de la inyección. Se tomaron tres medidas por cada individuo tratado y se empleó el promedio de las tres lecturas. Además, se inyectaron 100 μL de una solución salina en la pata izquierda de cada individuo como control. La inflamación inducida por PHA se entiende como la sustracción entre la medida máxima de la inflamación después de la inyección y el espesor inicial de la almohadilla antes de la inyección en referencia al control (Allen et al. 2009). Al final del proceso, los animales fueron liberados en la zona donde fueron capturados. Este procedimiento no es perjudicial para el animal y ha sido ampliamente usado en varios grupos de vertebrados.

La respuesta inmune innata se evaluó mediante la medición de la actividad antibacteriana en muestras de sangre. El ensayo bactericida mide la capacidad de la sangre total fresca para matar las bacterias *ex vivo* (Tieleman et al. 2005), siguiendo el protocolo empleado en Allen et al. (2009). Se tomaron muestras de sangre de la mayoría de los individuos capturados (200 μl por individuo, aproximadamente). Las muestras de sangre fueron centrifugadas en el campo y el plasma fue conservado en alícuotas de 8 μl , las cuales se congelaron en nitrógeno

líquido y posteriormente se transportaron al Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Se tomó una muestra de 6 µl de sangre, la cual fue diluida a 1:50 en medio RPMI-1640 suplementado con 5% de suero fetal bovino (FBS). Se empleó una solución 1:1000 de *Escherichia coli* en un buffer de fosfato salino (PBS). Se tomaron 140 µl de sangre diluida y se mezclaron con 10 µl de bacteria diluida. Se tomaron 50 µl de la sangre combinada con la dilución de la bacteria y se esparció la mezcla en cajas de Petri tanto en el tiempo 0 como a los 60 minutos después de realizada esta mezcla. Se establecieron dos controles que consistieron de una mezcla de FBS al 5% con la bacteria diluida sin adicionar la sangre. Todas estas muestras se incubaron durante 12 horas a 37 °C y posteriormente se contaron visualmente las colonias de *E. coli*. La habilidad bactericida se estimó con el índice HB = $-1 \times ((\text{muestra con sangre 60} - \text{muestra con sangre 0} / \text{muestra con sangre 0}) \times 100) - ((\text{control 60} - \text{control 0} / \text{control 0}) \times 100)$. El índice presenta valores positivos que se entiende como alta capacidad citotóxica y valores negativos que indican poca o ninguna actividad citotóxica contra la bacteria (Allen et al. 2009). Esta técnica ha sido probada de manera preliminar con otras especies de murciélagos por nuestro grupo de trabajo (A. Otálora, datos no publicados) y no presentó problemas durante su uso con *M. vivesi*.

Para comparar los valores medios de los dos tipos de respuesta inmune examinados, se realizaron análisis de varianza de dos vías para cada tipo de respuesta considerando el sexo y el mes como factores. Cuando alguno de los factores y/o su interacción (sexo-mes) fue significativo, se realizaron análisis a

posteriori usando pruebas de Tukey para tamaños de muestra diferentes. Los análisis estadísticos se realizaron en STATISTICA 7 (StatSoft, Tulsa, Oklahoma).

Resultados

Descripción de la especie

Myotis vivesi es una especie que exhibe gran diferenciación en su morfología con respecto a sus congéneres y tienen el mayor tamaño corporal de este grupo (solo comparable al de *M. myotis* del Viejo Mundo). Esta especie presenta adaptaciones para atrapar presas de la superficie del agua, observadas en otras especies pescadoras no relacionadas filogenéticamente (Stadelmann *et al.*, 2004). El gran tamaño corporal, las largas extremidades inferiores, y los pies con garras alargadas y lateralmente comprimidas han sido consideradas adaptaciones a este tipo de dieta (Hood y Jones, 1984; Blood y Clark, 1998). Estas características ubican a esta especie lejos de sus congéneres, hasta el punto de ser considerada inicialmente parte de un género monotípico (Miller y Allen, 1928). Esta variación se refleja en las hipótesis de relaciones filogenéticas publicadas para el género, ya que no proporcionan información sobre cuál es el grupo hermano de *M. vivesi* (Stadelmann *et al.*, 2004). *M. vivesi* es una especie endémica de las islas del Golfo de California, donde se alimenta de crustáceos y peces que captura de la superficie del mar (Blood y Clark, 1998). Este patrón de distribución y las características morfológicas mencionadas anteriormente son un indicio de la divergencia adaptativa que pudo haber ocurrido a partir de la colonización de nuevos nichos por parte del grupo (Kawata, 2001).

El murciélago pescador mide 139-144 mm de longitud total y tiene un peso de 27.5 g. La coloración del pelaje varia de café oscuro a negro y el pelaje ventral es de color blanquecino (Maya, 1968). El rostro tiene una forma triangular (Villa y Cervantes, 2002), y las orejas (20 mm de largo) están desnudas y tienen dobleces que van de la base hasta casi la punta de la oreja. El trago es alargado y la punta es ovalada y en la base los márgenes del trago son aserrados (Miller y Allen, 1928). La fórmula dental es $i \frac{2}{3}; c \frac{1}{1}; p \frac{3}{3}, m \frac{3}{3}$ con un total de 38 dientes (Reeder, 1953; Ávila y Medellín 2005). Los incisivos son típicos de cualquier *Myotis*; sin embargo, los caninos y los premolares tienen cúspides que son más altas y delgadas. Además, el primer y segundo premolar están elevados y, el segundo cede al primero en altura, característica que no existe en otra especie del género *Myotis* de Norte América; el tercer molar no está reducido como pasa en otras especies del género (Miller y Allen, 1928). Las alas no presentan pelo y el pulgar tiene una uña que está aplanada dorso-ventralmente; el plagiopatagio se extiende hasta la tibia; la cola (70 mm de largo) está embebida en el uropatagio (Miller y Allen, 1928; Blood, 1987), y las patas son grandes en relación al cuerpo (23 mm de largo). La pata, incluyendo las uñas, es igual en la longitud a la tibia (24 mm); las uñas están aplanadas dorso-ventralmente, al igual que el pulgar (Blood, 1987; Fish et al., 1991).

En síntesis, las características morfométricas del murciélago pescador con base en la información obtenida en la literatura (Miller y Allen, 1928; Blood, 1987; Villa y Cervantes 2002) son las siguientes:

- fórmula dentaria $i \frac{2}{3}; c \frac{1}{1}; p \frac{3}{3}, m \frac{3}{3}$ con un total de 38 dientes;
- longitud total: 139-144 mm;

- longitud de la cola: 67-69 mm;
- longitud de la tibia: 23 mm;
- longitud de la pata: 23 mm;
- longitud de la garra más larga: 9 mm;
- longitud del antebrazo: 59-63 mm;
- longitud de la oreja: 15 a 20 mm.

Con base en nuestro trabajo de campo (Ospina Garcés 2010), se registraron las siguientes medidas del cráneo de ejemplares en la isla Partida Norte (media \pm de):

- largo mayor del cráneo: 21.43 ± 0.41 mm;
- largo cóndilo canino: 19.53 ± 0.48 mm;
- ancho de la fila maxilar: 9.18 ± 0.24 mm;
- ancho zigomático: 14.06 ± 0.30 mm;
- ancho maxilar a través del molar 3: 8.88 ± 0.22 mm;
- constricción postorbital: 5.56 ± 0.14 mm;
- longitud del dentario: 17.08 ± 0.40 mm;
- altura del proceso coronoide: 5.03 ± 0.17 mm.

Además, registramos las siguientes medidas:

- peso hembras: 30.8 ± 4.8 g;
- peso machos: 28.8 ± 4 g;
- longitud del uropatagio hembras: 65.7 ± 4.2 mm;
- longitud del uropatagio machos: 65.9 ± 3.6 mm.

Historia natural de la especie

Este murciélago se encuentra reportado principalmente en islas e islotes a lo largo del Golfo de California desde Isla San Jorge (N 31°01'00'' W113°15'00'') hasta Isla Cayo (N 24° 53'00'' W110°37'00''). También existen registros del lado del Océano Pacífico en Bahía Tortugas y en Bahía Sebastián Vizcaíno, así como en las zonas costeras de la península de Baja California y Sonora (Reeder y Norris 1954; Patten y Findley 1970; Villa 1979; Blood y Clark 1998). La población más grande conocida de *M. vivesi* se localiza en Isla Partida Norte (Maya 1968). Estos murciélagos viven principalmente en islas, teniendo sus refugios debajo de rocas, en acantilados, en canto rodado y grietas (Reeder y Norris 1954; Villa 1966; Maya 1968; Patten y Findley 1970; Villa 1979; Blood y Clark 1998; Herrera y Flores-Martínez 2001). En algunas islas, estos refugios son compartidos con aves marinas, como los petreles (*Oceanodroma microsoma* y *O. melania*) (Maya 1968; Herrera y Flores-Martínez 2001). Los murciélagos pescadores tienen un hábito alimentario poco común, ya que se alimentan principalmente de crustáceos, peces marinos y en ocasiones insectos (Maya 1968). Este murciélago es una de las especies de mayor tamaño del género *Myotis* y tiene las patas y garras relativamente grandes con relación a su tamaño corporal (Stadelmann et al. 2004). Estas características morfológicas al parecer están relacionadas con su tipo de dieta piscívora. A nivel global, esta especie ha sido considerada como vulnerable dentro de las categorías de amenaza de la IUCN, porque se presume que sus niveles poblacionales han disminuido (Hutson et al. 2001, Arroyo-Cabrales y Alvarez Castañeda 2008) y en México es considerada como una especie en peligro de extinción (SEMARNAT 2010).

Biología reproductiva

Se colectaron 200 muestras de heces: 118 de machos y 82 de hembras. La mayoría de las muestras correspondieron a individuos adultos. Se hicieron mediciones de metabolitos hormonales en la mayoría de las muestras colectadas. En el caso de las hembras, en ocasiones solamente se hizo el análisis de uno de los dos metabolitos de interés de acuerdo al mes de colecta (por ejemplo, en octubre no se realizaron mediciones de metabolitos de progesterona dado que la época de gestación corresponde a los meses de febrero-mayo). Los valores medios de concentración de metabolitos hormonales se presentan en la tabla 1 y en el anexo 1 (Anexo 1) los valores de cada individuo.

El análisis de varianza mostró diferencias en los niveles de metabolitos de testosterona (MT) a lo largo del año ($H_7 = 51.9$, $p < 0.0001$, $n = 118$). Los valores medios más altos de MT ocurrieron en octubre y enero, sin diferencias significativas entre estos meses ($p = 1$); en febrero y marzo hubo una disminución en el valor medio de MT con respecto a octubre ($p < 0.01$) y enero ($p < 0.04$), y se mantuvo sin cambios significativos con respecto a abril ($p = 1$), junio ($p = 1$), julio ($p = 1$) y septiembre ($p = 1$).

No hubo diferencias significativas entre meses en los niveles de metabolitos de progesterona ($H_4 = 8.9$, $p = 0.06$, $n = 75$) pero sí las hubo en los niveles de metabolitos de estradiol ($H_5 = 13.4$, $p = 0.01$, $n = 74$) entre junio y octubre ($p = 0.02$).

En general, nuestros datos indican que el momento más probable en el que ocurre el apareamiento es entre octubre y enero dado que los valores promedio de los niveles de testosterona en los machos y de estradiol en las hembras son los

más elevados. Es importante notar que si bien los valores promedio indican este patrón, existe una elevada variación entre los individuos pero los individuos con los valores más altos de los metabolitos de estas dos hormonas ocurren en este periodo. Si bien estadísticamente no hubo diferencias significativas en los niveles de metabolitos de progesterona durante los meses muestreados y solo hubo diferencias en los niveles de metabolitos de estradiol entre junio y octubre, los valores medios de estos compuestos son más altos en los periodos en que probablemente ocurre la ovulación (octubre a febrero) y cuando las hembras están en estado de preñez avanzada (abril).

Genética de poblaciones

Se colectaron 176 muestras de membrana de *M. vivesi* en 6 islas del Golfo de California en julio de 2011 (Anexo 2): La Mestiza ($n = 39$), Piojo ($n = 24$), San Vicente ($n = 21$), Pescador ($n = 36$), Cholludo ($n = 29$) y Partida Norte ($n = 27$). Estas islas representan distintos puntos en la distribución geográfica de la especie (Fig. 1).

Se obtuvieron las secuencias derivadas de la amplificación de los cebadores de ADN mitocondrial (Floyd et al. 2010). Se obtuvieron 173 secuencias de ADN mitocondrial, registrándose un total de 66 haplotipos. La diversidad de haplotipos fue 0.951, y la diversidad nucleotídica fue de 0.02. La diferenciación genética media (F_{st}) entre las colonias fue de 0.16. Al comparar los resultados de este análisis con los reportados por Floyd et al. (2010), encontramos diferencias en el número e identidad de los haplotipos detectados por lo que decidimos analizar muestras colectadas en dicho estudio. Se obtuvieron secuencias de ADN mitocondrial con los mismos cebadores de muestras colectadas en 2001 en las

islas de Muela ($n = 12$) y Cayo ($n = 11$) y los resultados obtenidos al agregar estas muestras a las anteriormente reportadas son los siguientes: se obtuvieron 191 secuencias de ADN mitocondrial, registrándose un total de 82 haplotipos, la diversidad de haplotipos fue 0.96, la diversidad nucleotídica fue de 0.268, y la diferenciación genética media (F_{st}) entre las colonias fue de 0.13.

Colonias de Maternidad

Se encontraron colonias de maternidad de *M. vivesi* en 12 de las 19 islas visitadas, y en las 7 restantes no se registró la presencia de esta especie (Fig. 1; Anexo 2). De las islas donde no hubo presencia de colonias de maternidad, solo una corresponde a un registro histórico de la especie (Cayo) y el resto no tienen registros históricos (Almagre Chico, Almagre Grande, Colorado, Mellizas Este, Mellizas Oeste y Pájaros). A las colonias de maternidad se debe agregar el registro de isla Cardonosa reportada por Flores-Martínez (2005).

Marcaje de Individuos

Se marcaron 60 individuos en Isla Partida Norte, de los cuales se obtuvo una recaptura. Los datos de cada individuo se presentan en el anexo correspondiente (Anexo 3).

Respuesta inmune

Se realizaron cuatro salidas de campo en isla Partida Norte durante diciembre de 2012, en julio y octubre de 2013, y en abril de 2014. En diciembre se capturaron 19 individuos (14 hembras, 5 machos), en julio se capturaron 33 individuos (22 hembras y 11 machos), en octubre 33 individuos (17 hembras y 16 machos), y en abril 29 individuos (23 hembras, 6 machos). Todos los individuos fueron adultos. Se hicieron mediciones de la respuesta inflamatoria generalizada en 19 individuos

en diciembre (14 hembras, 5 machos), en 31 individuos en julio (22 hembras y 9 machos), en 33 individuos en octubre (17 hembras y 16 machos) y 16 en abril (10 hembras, 6 machos). Durante el mes de julio se capturaron hembras lactantes y poslactantes. Hubo diferencias significativas en los valores de la respuesta inflamatoria generalizada entre meses ($F_{3,91} = 6.7$, $p < 0.0001$), pero no entre sexos ($F_{1,91} = 0.03$, $p = 0.8$) y la interacción mes-sexo no fue significativa ($F_{3,91} = 0.2$, $p = 0.8$). Las diferencias entre meses se dieron solamente entre julio y octubre ($p = 0.0003$) y entre julio y diciembre ($p = 0.001$). El índice (media \pm DE) más alto se registró en diciembre (1.12 ± 0.44), seguido de octubre (1.05 ± 0.33), abril (0.77 ± 0.48) y julio (0.57 ± 0.51 ; Anexo 4).

Se evaluó la actividad bactericida del plasma de 19 individuos en diciembre (14 hembras, 5 machos), 29 individuos de julio (19 hembras, 10 machos), de 33 individuos de octubre (17 hembras, 16 machos), y de 29 individuos de abril (23 hembras, 6 machos). Hubieron diferencias significativas entre meses ($F_{3, 102} = 13.6$, $p < 0.00001$), pero no entre sexos ($F_{1, 102} = 0.2$, $p = 0.6$) y la interacción mes-sexo no fue significativa ($F_{3, 102} = 1.4$, $p = 0.2$). Las diferencias entre meses se dieron entre abril y julio ($p = 0.0001$), y entre julio y octubre ($p = 0.0001$). El valor medio del índice fue mayor en octubre (103.1 ± 23.7), seguido de abril (98.1 ± 56.6), diciembre (60.4 ± 54.1) y julio (26.4 ± 61.5 ; Anexo 4).

Tablas y Figuras

Tabla 1.- Valores medios (ng/g heces húmedas \pm desviación estándar; n) de los metabolitos hormonales de testosterona (machos), y de progesterona y estradiol (hembras) en heces de individuos de *Myotis vivesi*.

Mes	Testosterona	Progesterona	Estradiol
Septiembre	52.2 \pm 36.8; 13		
Octubre	943.9 \pm 890.2; 8		27.6 \pm 19.03; 7
Enero	1809.3 \pm 3851.3; 21	107.2 \pm 75.1; 21	21.8 \pm 23.9; 21
Febrero	613.1 \pm 1819.5; 12	125.3 \pm 210.6; 19	11.8. \pm 14.4; 19
Marzo	48.3 \pm 64.3; 17	83.0 \pm 69.7; 9	8.8 \pm 5.9; 9
Abril	214.8 \pm 389.0; 12	152.9 \pm 226.6; 15	19.1 \pm 41.8;15
Junio	46.1 \pm 53.9; 18	35.9 \pm 26.4; 11	1.1 \pm 0.5; 3
Julio	129.2 \pm 99.6; 17		



Fig. 1.- Islas visitadas en julio de 2011. 1.- Cayo. 2.-Tijera*. 3.- Colorado. 4.- Danzante*. 5.- La Mestiza*. 6.- Pescador*. 7.- Piojo*. 8.- Estanque*. 9.- Partida Norte*. 10.-Cholludo*. 11.- Dátil o Turner*. 12.- Alcatraz o Pelicano*. 13.- San Vicente*. 14.- Pájaros. 15.- Almagre Grande. 16.- Almagre Chico. 17.- Mellizas Este. 18.-Mellizas Oeste. 19.- Blanco*. *Islas con colonias de maternidad. A las

colonias de maternidad se debe agregar el registro de isla Cardonosa reportada por Flores-Martínez (2005); esta isla no se presenta en la figura pero su ubicación es casi contigua a la isla Partida Norte.

Discusión y Conclusiones

Hormonas reproductivas

Antes de iniciar con la discusión de este apartado, es pertinente aclarar que los valores de las concentraciones de metabolitos hormonales no son comparables a los de otros estudios similares con murciélagos. Los estudios de metabolitos hormonales usan diferentes protocolos por lo que no necesariamente miden los mismos compuestos. Incluso el mismo protocolo puede rendir valores contrastantes en especies distintas de murciélagos. Por tanto, los valores absolutos de las concentraciones de metabolitos hormonales no deben usarse con fines comparativos ni se pueden validar comparando estudios que usaron protocolos distintos.

Los valores más altos de metabolitos de testosterona se presentan en enero lo que indica que es en este mes cuando ocurren la mayoría de los apareamientos. El aumento del nivel de metabolitos de testosterona en enero parece entonces asociado a la actividad de apareamiento y no necesariamente a la producción de esperma, pues ésta parece ocurrir en septiembre y octubre. Es importante hacer notar que la variación interindividual de las concentraciones de metabolitos de testosterona es muy amplia y que el valor promedio incluye

individuos que probablemente no estaban implicados en alguna actividad reproductiva. El examen histológico del aparato reproductor de los machos de *M. vivesi* (Carmona Maldonado 2007) muestra que los testículos descienden al escroto en septiembre y alcanzan su máximo tamaño en octubre. En enero, los testículos vuelven a su posición inguinal pero el epidídimo aumenta de tamaño y se convierte en almacén de esperma (Carmona Maldonado 2007). Por su parte, en las hembras existe evidencia de presencia de espermatozoides en el útero en enero y febrero (Herrera et al. datos no publicados). Por su parte, la ovulación en las hembras parece ocurrir entre octubre y febrero, cuando los niveles de metabolitos de estradiol y progesterona se elevan. En marzo, los valores de los metabolitos de progesterona y estradiol tienen un ligero descenso seguido de un aumento en abril, indicando la presencia de hembras preñadas. En junio los niveles de metabolitos de progesterona y estradiol descienden, indicando el fin del embarazo. Es importante señalar que este patrón en los niveles de metabolitos de progesterona no está soportado estadísticamente, lo cual puede deberse a la amplia variación interindividual que existió en los niveles de estos metabolitos. La mayor presencia de hembras preñadas de *M. vivesi* ocurre entre abril y mayo y la lactancia inicia en junio (Maya 1968), lo cual coincide con el patrón hormonal de las hembras detectadas en el presente estudio.

Colonias de Maternidad

Se registraron 13 colonias de maternidad de *M. vivesi* en islas del Golfo de California. Si agregamos estos registros a los encontrados previamente, el total de colonias de maternidad confirmado por nuestros viajes de exploración es de 21.

En la mayoría de estas islas las condiciones de conservación parecen ser adecuadas si bien en algunas de han identificado algunos factores de riesgo (Flores-Martínez 2005). Por ejemplo, en San Marcos hay registros de gatos y perros domésticos, en Alcatraz de ratones (*Mus musculus*), y en Encantada hay ratas (*Rattus rattus*). La única localidad donde ha sido posible estimar el tamaño poblacional de la colonia de maternidad es Partida Norte, el cual es de ~23,000 madres con cría (Mejía et al. 2011).

Diversidad genética

Los resultados obtenidos a partir del análisis de ADN mitocondrial son similares a los reportados anteriormente por Floyd et al. (2010) y Mejía et al. (2011). El valor de F_{st} obtenido sugiere la existencia de filopatría de las hembras como ocurre en otras especies de murciélagos (Petit y Mayer 1999; Castella et al. 2001; Ruedi y Castella 2003; Chen et al. 2008).

Se hicieron algunas estimaciones preliminares del comportamiento poblacional histórico de *M. vivesi* a partir de los resultados de ADN mitocondrial usando el método de distribución *mismatch* de la forma en que se describe en Mejía et al. (2011). Los resultados de este nuevo análisis indican una expansión reciente de las poblaciones de *M. vivesi* en los últimos 70,000 o 280,000 años (dependiendo de la tasa de mutación asumida), lo que coincide con los periodos propuestos por Mejía et al. (2011; e.g. hace 50,000 o 230,000 años).

Respuesta inmune

Los resultados de las pruebas de respuesta inmune indican cambios significativos a lo largo del año en la respuesta inflamatoria generalizada y en la habilidad bactericida. La respuesta inflamatoria generalizada tuvo sus valores más

bajos en los meses que las hembras se encuentran lactando (julio). Este patrón es más evidente cuando se consideran solamente los datos de las hembras: en julio el índice es menor (0.53 ± 0.52) que en abril (0.79 ± 0.43), octubre (1.07 ± 0.31) y diciembre (1.10 ± 0.36). Existen pocos estudios que examinen el patrón estacional en la respuesta inflamatoria en murciélagos. Por ejemplo, en *M. myotis* el índice es mayor cuando las hembras están lactantes y más reducido durante la gestación (Christe et al. 2000). De hecho, los valores reportados para *M. myotis* en hembras lactantes (-0.85 ; Christe et al. 2000) son muy parecidos a los encontrados en *M. vivesi* cuando las hembras están gestantes o no reproductivas; en contraste, los valores encontrados en *M. vivesi* durante la lactancia son muy parecidos a los valores encontrados en hembras gestantes de *M. myotis* (-0.5 ; Christe et al. 2000). El patrón estacional encontrado en *M. vivesi* sugiere que el costo energético de la lactancia podría estar limitando su capacidad de respuesta inflamatoria generalizada.

La habilidad bactericida también presentó cambios a lo largo del año. Al igual que la respuesta inflamatoria, el índice de habilidad bactericida fue menor en julio, particularmente cuando se consideran únicamente a las hembras en este mes (18.2 ± 61.3). No existen estudios en murciélagos que examinen su capacidad bactericida a lo largo del año. Sin embargo, con excepción de los valores medios encontrados en julio, los valores del índice bactericida de *M. vivesi* (60 a 103) se encuentran dentro del rango de valores reportados en otras especies de murciélagos. Por ejemplo, Schneeberger et al. (2013) reportan valores medios del índice bactericida que van de 40 a 100 en una muestra de 24 especies de murciélagos.

En conclusión, los índices de respuesta inmunológica examinados en *M. vivesi* presentaron valores similares a los de otras especies de murciélagos, lo que sugiere que su sistema inmunológico funciona con la misma eficiencia, al menos en lo que respecta a la respuesta inflamatoria generalizada y a la respuesta inmune innata. Los valores de ambos índices examinados fueron significativamente menores en julio, cuando ocurre la lactancia. Es difícil interpretar el significado de esta variación con respecto a la susceptibilidad de la especie debido a que no hay estudios comparativos con murciélagos que consideren distintas épocas del año, con excepción del trabajo de Christe et al. (2000) el cual muestra un patrón distinto al encontrado en *M. vivesi*. En contraste con otros estudios (Schulenburg et al. 2009, Rolff 2002), no se encontraron diferencias entre sexos en la expresión de la respuesta inmune, pero no descartamos por completo esta posibilidad en la especie de estudio en estudios que incrementen el tamaño de muestra, particularmente de los machos.

Conclusión general

Myotis vivesi es una especie de murciélago que se encuentra amenazado por factores antropogénicos, principalmente por la introducción de fauna exótica (*R. rattus*, *R. norvegicus* y *F. silvestres*) en las islas del Golfo de California (Mellink et al. 2002; Flores-Martínez 2005). La extirpación de fauna exótica en las islas del Golfo de California es una estrategia de manejo que podría beneficiar la conservación de *M. vivesi*, en particular para su reintroducción en aquellos sitios donde esta especie fue afectada. Sin embargo, nuestros resultados del análisis de ADN mitocondrial sugieren la existencia de filopatría de las hembras de *M. vivesi*,

lo cual podría reflejarse en una reducción de su probabilidad de recolonizar nuevas islas. Los resultados de los análisis hormonales indican también una marcada estacionalidad en la actividad reproductiva de *M. vivesi*, lo cual debe ser considerado también en el eventual desarrollo de algún plan para su conservación. En general, la reducida heterocigosidad del complejo mayor de histocompatibilidad reportada para la especie (Richman *et al.* 2010) al parecer no se ve reflejada en el desempeño de la respuesta inmune innata y de la respuesta inflamatoria generalizada. Sin embargo, es importante señalar la reducción en los valores de los índices de respuesta inmunológica de las hembras durante la lactancia por lo que se debe dar importancia a este periodo del ciclo de vida por la probable vulnerabilidad de la especie a los agentes infecciosos emergentes. Los datos también sugieren que las hembras preñadas pudieran tener su sistema inmune comprometido, pero es necesario aumentar el tamaño de muestra para corroborar este patrón. Los resultados de presente estudio develan, por tanto, diversos factores biológicos que hacen vulnerable a la especie y que justifican su protección para garantizar su conservación.

Referencias Bibliográficas

- Allen, L. C., A. S. Turmelle, M. T. Mendonça, K. J. Navara, T. H. Kunz & G. F. McCracken. 2009. Roosting ecology and variation in adaptive and innate immune system function in the Brazilian free-tailed bat (*Tadarida brasiliensis*). *J. Comp. Physiol. B* 179: 35-323.
- Álvarez, F., E. Martínez Meyer & J. E. Sosa-Escalante. 2014. El estudio de la

biodiversidad en México: ¿una ruta con dirección? Rev. Mex. Biod. 85: S1-S9.

Arroyo-Cabrales, J. & S. T. Alvarez Castañeda. 2008. *Myotis vivesi*. In: The IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2014.2.

<<http://www.iucnredlist.org/details/14209/0>>. Consultado el 28 de agosto de 2014.

Ávila, F. R. y R. A. Medellín. 2005. *Myotis vivesi* Menegaux, 1901. Pp. 295-296.

En: Los mamíferos silvestres de México. G. Ceballos y G. Oliva (editores). México: FCE, CONABIO. 986 pp.

Blehert, D. S., A. C. Hicks, M. Behr, C. U. Meteyer, B. M. Berlowski-Zier, E. L.

Buckles, J. T. H. Coleman, S. R. Darling, A. Gargas, R. Niver, J. C.

Okoniewski, R. J. Rudd & W. B. Stone. 2009. Bat white-nose syndrome: an emerging fungal pathogen? Science 323: 227.

Blood, B. R. 1987. Convergent hind limb morphology and the evolution of fish-catching in the bats *Noctilio leporinus* and *Myotis (Pizonyx) vivesi* (Mammalia: Chiroptera). Ph. D. dissert, University of Southern California, Los Angeles, 186 pp.

Blood, B. R. & M. K. Clark. 1998. *Myotis vivesi*. Mammalian Species, 588: 1-3.

Boughton, R. K., G. Joop & S. A. O. Armitage. 2011. Outdoor immunology:

methodological considerations for ecologists. Funct. Ecol. 25: 81–100.

Castella, V., M. Ruedi & L. Excoffier. 2001. Contrasted patterns of mitochondrial and nuclear structure among nursery colonies of the bat *Myotis myotis*. J.

Evol. Biol. 14:708–720.

- Carmona Maldonado, M. V. 2007. Descripción morfológica e histológica del aparato reproductor masculino del murciélago pescador *Myotis vivesi* Menegaux 1901 (Chiroptera: Vespertilionidae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 63 pp.
- Ceballos, G. & L. C. Navarro. 1991. Diversity and conservation of Mexican mammals. Pp. 167-198. In: Topics in Latin American mammalogy: history, biodiversity and diversity. M. A. Mares & D. J. Sehidly (eds.). University of Oklahoma Press. Norman, Oklahoma.
- Ceballos, G. y P. Rodríguez. 1993. Diversidad y conservación de los mamíferos De México: II. Patrones de endemidad. Pp. 87-108. En: Avances en el estudio de los Mamíferos de México. R. A. Medellín y G. Ceballos (eds.). Publicaciones Especiales, Vol. 1. Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C., México, D. F.
- Chen S. F., G. Jones, & S. J. Rossiter. 2008. Sex-biased gene flow and colonization in the Formosan lesser horseshoe bat: inference from nuclear and mitochondrial markers. J. Zool. (Lond.) 274: 207–215.
- Christe, P., R. Arlettaz & P. Vogel. 2000. Variation in intensity of a parasitic mite (*Spintunix myoti*) in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host (*Myotis myotis*). Ecol. Letters 3: 207-212.
- Demas, G. E., V. Chefer, M. I. Talan & R. J. Nelson. 1997. Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged C57BL/6J mice. American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology 273: R1631-R1637.
- Derting, T. L. & S. Compton. 2003. Immune response, not immune maintenance, is

- energetically costly in wild white - footed mice (*Peromyscus leucopus*).
Physiol. Biochem. Zool. 76: 744-752.
- Dobson, A. P. & H. McCallum. 1997. The role of parasites in bird conservation.
Pp. 155-173. In: Host-parasite evolution: general principles and avian
models. D. H. Clayton and J. Moore (eds.). Oxford Univ. Press, Oxford, UK.
- Drazen, D. L., A. Trasy & R. J. Nelson. 2003 Photoperiod differentially affects
energetics of immunity in pregnant and lactating Siberian hamsters
(*Phodopus sungorus*). Can. J. Zool. 81: 1406-1413.
- Dubiec, A. & M. Cichon. 2005 Seasonal decline in nestling cellular
immunocompetence results from environmental factors - an experimental
study. Can. J. Zool. 83: 920-925.
- Fish, F. E., B. R. Blood & B. D. Clark. 1991. Hydrodynamics of the feet of fish-
catching bats: influence of the water surface on drag and morphological
design. Journal of Experimental Zoology, 258: 164-173.
- Flores-Martínez, J. J. 2005. Estado de conservación del murciélago pescador
Myotis vivesi (Vespertilionidae) en el Golfo de California México, a través de
métodos genéticos y ecológicos. Tesis de Maestría, Escuela Nacional de
Ciencias Biológicas, IPN. 84 pp.
- Flores-Martínez, J. J. 2009. Aspectos ecológicos y filogeografía de *Myotis vivesi*
Una especie de murciélago endémico del Golfo de California. Tesis de
Doctorado. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. 75 pp.
- Flores-Martínez, J. J., F. Chris, L. G. Herrera & B. May. 2005. Genetic variation
and population size of the fishing bat, *Myotis vivesi*, in Isla Partida. Pp. 185-

190. En: Homenaje a Bernardo Villa. Medellín. R. y V. Sánchez-Cordero (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Floyd, C. H., J. J. Flores-Martínez, L. G. Herrera M., O. Mejia & B. May. 2010. Conserving the endangered Mexican fishing bat (*Myotis vivesi*): genetic variation indicates extensive gene flow among islands in the Gulf of California. *Conservation Genetics* 11: 813-822.
- Hegemann, A., K. D. Matson, C. Both & B. I. Tieleman. 2012a. Immune function in a free-living bird varies over the annual cycle, but seasonal patterns differ between years. *Oecologia* 170: 605-18.
- Hegemann, A., K. D. Matson, M. A. Versteegh & B. I. Tieleman. 2012b. Wild skylarks seasonally modulate energy budgets but maintain energetically costly inflammatory immune responses throughout the annual cycle. *PLoS ONE* 7(5): e36358.
- Herrera, G. L. & J. Flores-Martínez. 2001. Conserving fishing bats in the Sea of Cortez. *Bats* 19: 7-11.
- Hood, C. S. & J. K. Jones. 1984. *Noctilio leporinus*. *Mammalian Species* 216: 1-7.
- Hutson, A. M., S. P. Mickleburgh & P. A. Racey (comps.). 2001. Microchiropteran bats: global status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Chiroptera Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 258 pp.
- Kawata, M. 2001. Invasion of vacant niches and subsequent sympatric speciation. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences* 269: 55–63.

- Martin, S. M., T. J. Malkinson, W. L. Veale & Q. J. Pittman. 1995. Fever in pregnant parturient, and lactating rats. *American Journal Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 37: R919-R923.
- Maya, J. A. 1968. The natural history of the fish-eating bat *Pizonyx vivesi*. Ph. D. dissert; University of Arizona, Tucson.
- Mejía, O., L. G. Herrera M., B. May, R. Medellín & J. J. Flores-Martínez. 2011. Effective population size dynamics of *Myotis vivesi* during the Pleistocene and Holocene climatic changes. *Acta Chiropterologica* 13: 33-40.
- Mellink E., G. Ceballos & J. Luévano. 2002. Population demise and extinction treat of the Ángel de la Guarda deer mouse (*Peromyscus guardia*). *Biol. Cons.* 108: 107-111.
- Miller, G. S. & G. M. Allen. 1928. The American bats of the genera *Myotis* and *Pizonyx*. *United States National Museum Bulletin* 144: 1-218.
- Muehlenbein, M. P. 2010. Evolutionary medicine, immunity and infectious diseases. In: *Human Evolutionary Biology* . M. P. Muehlenbein (ed.), pp. 351–377. Cambridge University Press, New York, N.Y.
- Nunn, C. L., P. Lindenfors, E. R. Pursall & J. Rolff. 2009. An introduction to ecological immunology. *Philosoph. Trans. Royal Soc. B* 364: 61-69.
- Oliver, M. K., S. Telfer & S.B Piertney. 2009. Major histocompatibility complex (MHC) heterozygote superiority to natural multi -parasite infections in the water vole (*Arvicola terrestris*). *Proc. R. Soc. B* 276: 1119-1128.
- Ospina Garcés, S. M. 2010. Análisis ecomorfológico del aparato masticatorio de *Myotis vivesi* (Chiroptera: Vespertilionidae). Tesis de Maestría, Posgrado en Ciencias Biológicas. UNAM.

- Patten, D. R. & L. T. Findley. 1970. Observations and records of *Myotis (Pizonyx) vivesi* Menegaux (Chiroptera; Vespertilionidae). Contributions in Science, Natural History Museum of Los Angeles Conty, 183: 1-9.
- Petit, E. & F. Mayer. 1999. Male dispersal in the noctule bat (*Nyctalus noctula*): where are the limits? Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 266: 1717–1722.
- Reeder, W. F. 1953. The deciduous dentition of fish-eating bat, *Pizonyx vivesi*. Occasional Papers of the Museum of Zoology, University of Michigan, 545: 1-3.
- Reeder, W. G. & K. S. Norris. 1954. Distribution, type locality, and habits of the fish-eating bat, *Pizonyx vivesi*. Journal of Mammalogy 35: 81-87.
- Richman, A., L. G. Herrera M., J. J. Flores-Martínez, S. Ortega, J. Morales-Malacara & J. Arroyo. 2010. Class II *DRB* polymorphism and sequence diversity in two vesper bats in the genus *Myotis*. International Journal of Immunogenetics 37: 401-405.
- Rolff, J. 2002. Bateman's principle and immunity. Procc. Royal Soc. London B 269: 867-872.
- Ruedi, M. & V. Castella. 2003. Genetic consequences of the ice ages on nurseries of the bat *Myotis myotis*: a mitochondrial and nuclear survey. Mol. Ecol. 12:1527–1540.
- Schneeberger, K., A. G. Czirják & C. C. Voigt. 2013. Measures of the constitutive immune system are linked to diet and roosting habits of Neotropical bats PLoS ONE 8: e54023.
- Schulenburg, H., J. Kurtz, Y. Moret & M. T. Siva-Jothy. 2009. Introduction. Ecological immunology. Philosoph. Trans. Royal Soc, B 364:3-14.

- Schwarzenberger, F., G. Fredriksson, K. Schaller & L. Kolter. 2004. Fecal steroid analysis for monitoring reproduction in the sun bear (*Helarctos malayanus*). *Theriology* 62: 1677-1693.
- Secretaría del medio ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, 30 de diciembre de 2010.
- Stadelmann, B., L. G. Herrera, J. Arroyo-Cabrales, J. J. Flores-Martínez, B. P. May & M. Ruedi. 2004. Molecular systematics of the fishing bat *Myotis (Pizonyx) vivesi*. *Journal of Mammalogy* 85: 133–139.
- Speakman, J. R. 2000 The cost of living: field metabolic rates of small mammals. *Adv. Ecol. Res.* 30: 177-297.
- Thompson, S. D. & M. E. Nicoll. 1986. Basal metabolic-rate and energetics of reproduction in eutherian mammals. *Nature* 321: 690-693.
- Tieleman, I. B., J. B. Williams, R. E. Ricklefs & K. C. Klasing. 2005. Constitutive innate immunity is a component of the pace-of-life syndrome in tropical birds. *Proceedings of the Royal Society B* 272: 1715–1720.
- Villa, B. 1966. Los murciélagos de México. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F., 491 pp.
- Villa, B. 1979. Algunas aves y la rata noruega *Rattus norvegicus* "versus" el murciélago insulano *Pizonyx vivesi* en las islas del mar de Cortés. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoológica*, 50: 729-736.

- Villa, B. y F. Cervantes. 2002. Mamíferos de México. Grupo Editorial Iberoamérica e Instituto de Biología UNAM. 140 pp.
- Wikelski, M., J. Foufopoulos, H. Vargas & H. Snell. 2004. Galápagos birds and diseases: invasive pathogens as threats for island species. *Ecol. Soc.* 9: 5.
- Xu, Y. C., D. B. Yang & D. H. Wang. 2012. No evidence for a trade-off between reproductive investment and immunity in a rodent. *PLoS ONE* 7: e37182.