



# POSGRADOS

## Maestría en **Biología Molecular**

RPC-SO-26-NO.430-2023

### Opción de Titulación:

Proyecto de titulación con componentes de investigación aplicada y/o de desarrollo

### Tema:

Composición del microbioma bacteriano de murciélagos de la familia Phyllostomidae en Ecuador

### Autor(es)

Valeria Lizeth Olmedo Lemache

### Director:

Gabriela Inés Méndez Silva

QUITO – Ecuador  
2025



**Autor(es):**



**Valeria Lizeth Olmedo Lemache**

Licenciada en Ciencias biológicas y ambientales  
Candidata a Magíster en Biotecnología Molecular por la  
Universidad Politécnica Salesiana – Sede Quito.  
volmedol@est.ups.edu.ec

**Dirigido por:**



**Gabriela Inés Méndez Silva**

Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales  
Magister en Microbiología, Magister en Biología computacional  
gmendez@ups.edu.ec

Todos los derechos reservados.

Queda prohibida, salvo excepción prevista en la Ley, cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública y transformación de esta obra para fines comerciales, sin contar con autorización de los titulares de propiedad intelectual. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual. Se permite la libre difusión de este texto con fines académicos investigativos por cualquier medio, con la debida notificación a los autores.

**DERECHOS RESERVADOS**

2025 © Universidad Politécnica Salesiana.

Elija un elemento.– ECUADOR – SUDAMÉRICA

Valeria Lizeth Olmedo Lemache

Magíster en Biotecnología Molecular

## **DEDICATORIA**

*A mis padres, por su amor y paciencia. Por ser los promotores de mis sueños y mi fortaleza en los momentos más difíciles.*

*A mis hermanos, por su compañía y apoyo incondicional.*

*A mi pequeño ángel en el cielo, por sembrar un rayo de esperanza en mi vida y ser mi motivación para seguir adelante.*

## **AGRADECIMIENTO**

*Agradezco a Dios por todas sus bendiciones, por ser mi luz, mi refugio y mi guía.*

*A mi tutora, por su respaldo durante este proceso y por brindarme su apoyo y dedicación.*

*A mis ex profesores de la facultad de Ciencias biológicas de la Universidad Central por abrirme las puertas e impulsarme a la realización de esta investigación.*

*A mi familia, mis amigos y todos quienes me apoyaron y creyeron en mí en este largo camino.*

*Gracias infinitas.*

# Tabla de Contenido

Resumen .....	7
Abstract .....	8
1. Introducción .....	9
2. Determinación del Problema.....	11
3. Marco teórico referencial.....	12
3.1 Generalidades sobre los murciélagos.....	12
3.1.1 Servicios ecosistémicos .....	13
3.1.2 Características que favorecen la transmisión de patógenos .....	13
3.2 Familia Phyllostomidae en Ecuador .....	16
3.3 Murciélagos como reservorios zoonóticos.....	13
3.4. Análisis metagenómico para estudio de microbioma.....	18
4. Materiales y metodología.....	19
4.1. Origen de las muestras .....	19
4.2. Generación y adquisición de datos .....	19
4.3. Bioinformática .....	20
4.3.1. Preparación de la máquina virtual .....	20
4.3.2. Preprocesamiento de lecturas .....	20
4.3.3. Filtrado y limpieza de secuencias .....	21
4.3.4. Limpieza de secuencias provenientes del huésped .....	21
4.3.5. Asignación taxonómica.....	22
5. Resultados y discusión.....	24
5.1. Preprocesamiento de lecturas .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
5.2. Filtrado, evaluación y procesamiento de lecturas .....	24
5.3. Asignación taxonómica.....	27
6. Conclusiones.....	39
7. Anexos .....	40
Referencias .....	44

# Composición del microbioma bacteriano de murciélagos de la familia Phyllostomidae en Ecuador

Autor(es):

VALERIA LIZETH OLMEDO LEMACHE

## Resumen

---

Los murciélagos son el segundo grupo más numeroso y diverso de mamíferos después de los roedores. Estos mamíferos desempeñan diversas funciones ecológicas fundamentales para el equilibrio y mantenimiento de los ecosistemas, aunque también actúan como reservorios de diversos patógenos bacterianos. En Ecuador se han registrado 114 especies de la familia Phyllostomidae que ocupan nichos dietarios variados. Sin embargo, a pesar de los avances en estudios ecológicos, morfológicos y filogenéticos, persisten grandes vacíos sobre la composición de su microbioma y su relación con el surgimiento de enfermedades zoonóticas.

Es por ello que, en este estudio, se analizaron muestras de hisopados orales de seis especies de filostómidos (*Carollia brevicauda*, *C. castanea*, *C. perspicillata*, *Sturnira ludovici*, *Rhinophylla alethina* y *Artibeus rufus*) mediante secuenciación por nanoporos de ARN genómico. Se evidenció un microbioma bacteriano diverso donde *C. brevicauda* y *C. castanea* presentaron las mayores proporciones de lecturas clasificadas y la mayor carga microbiana. El filo Proteobacteria, especialmente Gammaproteobacteria, predominó en todas las especies, con Enterobacterales como orden dominante, en particular *Escherichia coli*, el cual fue el componente central y más frecuente del microbioma. Otros géneros clínicamente relevantes como *Ralstonia*, *Bordetella*, *Shigella*, *Salmonella* y *Pseudomonas* aparecieron esporádicamente y se detectaron con baja frecuencia.

Bajo ese contexto, es importante focalizar los análisis en el núcleo proteobacteriano para investigar funciones digestivas e inmunológicas, manteniendo una vigilancia constante debido a la presencia de especies clínicamente relevantes. Para ello, la aproximación metagenómica resulta una herramienta útil que traza una hoja de ruta para profundizar en la función, estabilidad y riesgo zoonótico del microbioma de murciélagos neotropicales.

**Palabras clave:** microbioma, murciélagos, Phyllostomidae, Gammaproteobacteria, metagenómica

## Abstract

---

Bats are the second most numerous and diverse group of mammals after rodents. They perform key ecological functions essential for ecosystem balance and maintenance, but they also act as reservoirs for various bacterial pathogens. In Ecuador, 114 phyllostomid species have been recorded, occupying diverse dietary niches. However, despite advances in ecological, morphological, and phylogenetic studies, major gaps remain regarding their microbiome composition and its relationship to the emergence of zoonotic diseases.

In this study, oral swab samples from six phyllostomid species (*Carollia brevicauda*, *C. castanea*, *C. perspicillata*, *Sturnira ludovici*, *Rhinophylla alethina*, and *Artibeus rufus*) were analyzed using nanopore sequencing of genomic RNA. A diverse bacterial microbiome was observed, with *C. brevicauda* and *C. castanea* showing the highest proportions of classified reads and the greatest microbial loads. The phylum Proteobacteria, particularly Gammaproteobacteria, predominated across all species, with Enterobacterales as the dominant order. Notably, *Escherichia coli* was the core and most frequent component of the microbiome. Other clinically relevant genera, including *Ralstonia*, *Bordetella*, *Shigella*, *Salmonella*, and *Pseudomonas*, appeared sporadically and were detected at low frequency.

In this context, focusing analyses on the proteobacterial core is important for investigating digestive and immunological functions, while maintaining ongoing surveillance due to the presence of clinically relevant taxa. Metagenomic approaches provide a useful roadmap to deepen understanding of the function, stability, and zoonotic risk of the microbiome in Neotropical bats.

**Palabras clave:** microbiome, bats, Phyllostomidae, Gammaproteobacteria, metagenomic

# 1. Introducción

Los murciélagos, pertenecientes al orden Chiroptera, son el segundo grupo más numeroso y diverso de mamíferos después de los roedores (Brussel & Holmes, 2022; Wallau et al., 2023a). Estos mamíferos desempeñan diversas funciones ecológicas fundamentales para el equilibrio y mantenimiento de los ecosistemas contribuyendo a procesos como la polinización, la dispersión de semillas, la fertilización, la regeneración del suelo y el control biológico de plagas (De Oliveira & Bonvicino, 2021; Kunz et al., 2011). Sin embargo, los murciélagos también han sido reconocidos como reservorios naturales y potenciales vectores de una amplia gama de patógenos incluidos virus, bacterias, hongos y ectoparásitos (Allocati et al., 2016a; Han et al., 2015; Wu et al., 2016).

Esta capacidad para albergar y propagar microorganismos parece estar mediada por diferentes mecanismos biológicos, fisiológicos, ecológicos y evolutivos. Características como su capacidad para volar largas distancias, una esperanza de vida relativamente larga, su comportamiento gregario, uso de letargo, la hibernación y un sistema inmunológico que ha logrado adaptarse y tolerar gran parte de enfermedades a través de una dinámica coevolutiva huésped-patógeno; favorecen la persistencia prolongada y la transmisión de patógenos entre individuos, y directa o indirectamente hacia los humanos (Bonilla-Aldana et al., 2021; Salmier et al., 2017).

Debido a que los quirópteros mantienen asociaciones con una amplia gama de bacterias, la composición de su microbioma se ve directamente influenciado por diferentes factores tales como la dieta, ubicación geográfica, las condiciones ambientales, patrones conductuales, filogenia del huésped, entre otros (André et al., 2023a; Dietrich et al., 2018a). Y si bien este ha desempeñado un papel fundamental en la supervivencia y evolución de estos mamíferos, diversas investigaciones han identificado microorganismos presentes en estos animales que podrían actuar como patógenos para los seres humanos y otras especies (Dimkić et

al., 2021a; Selvin et al., 2019). Entre ellos destacan los pertenecientes al Phylum Proteobacteria, el cual incluye importantes géneros de importancia clínica y veterinaria como *Ehrlichia*, *Neorickettsia*, *Anaplasma* y *Coxiella* (Cicuttin et al., 2013; Ikeda et al., 2020; Rizzatti et al., 2017). Varios estudios han evaluado la composición del microbioma en muestras de heces, orina y saliva y han identificado géneros bacterianos que incluyen *Bartonella*, *Leptospira*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Rickettsia* y *Salmonella* (Dietrich et al., 2018b; Huang et al., 2022).

Hasta ahora, gran parte del descubrimiento de bacterias potencialmente patógenas se ha basado en métodos tradicionales como cultivos o PCR dirigidos a ciertas especies (Corduneanu et al., 2021a). No obstante, la metagenómica basada en secuenciación de alto rendimiento brinda uno de los enfoques más prometedores para caracterizar ácidos nucleicos en muestras diversas, permitiendo comprender la diversidad genética y la estructura de las comunidades microbianas desde una visión más amplia (Cholleti et al., 2022; De Leon et al., 2018b). Esta tecnología representa una herramienta valiosa para el descubrimiento de nuevas bacterias que pueden transmitirse a humanos, gracias a la detección de un espectro completo de patógenos presentes en huéspedes animales (Budkina et al., 2021; Wallau et al., 2023a; J. Wang et al., 2023).

En Ecuador se han descrito 178 especies de murciélagos. Entre ellas, la familia Phyllostomidae destaca como uno de los grupos más representativos, caracterizándose por su abundancia y amplia distribución en el Neotrópico. En el territorio ecuatoriano se han descrito 114 especies pertenecientes a esta familia, las cuales exhiben distintos nichos dietarios (Ruelas, 2017). Sin embargo, las investigaciones realizadas en la mayor parte de familias de quirópteros se han enfocado principalmente en aspectos ecológicos, morfológicos y filogenéticos, por lo que existen grandes lagunas de conocimiento en cuanto a la composición del microbioma de los murciélagos y su papel en la aparición de enfermedades zoonóticas. Por tanto, el presente estudio tiene como objetivo describir la diversidad y composición del microbiota de los murciélagos de la familia Phyllostomidae en Ecuador, para analizar sus posibles implicaciones en la salud.

## 2. Determinación del Problema

Alrededor del 60% de las enfermedades infecciosas emergentes son de origen zoonótico (Šimić et al., 2020). En años recientes, los quirópteros han sido objeto de interés en materia de salud pública debido a que se ha demostrado su papel como reservorios de virus altamente letales que tienen la capacidad de cruzar barreras interespecíficas y llegar a infectar a otras especies de mamíferos, incluyendo humanos (Chen et al., 2014; Dacheux et al., 2014). Este fenómeno se ve facilitado en gran parte debido a factores antropogénicos, como el cambio de uso de tierra y la degradación de los hábitats naturales de los murciélagos. Estos cambios promueven interacciones entre patógenos, vectores y huéspedes (Salmier et al., 2017).

Aunque el número de estudios relacionados con la presencia de patógenos en murciélagos aumenta cada año, la mayoría de estas investigaciones se han enfocado predominantemente en el estudio del viroma en lugar de la microbiota bacteriana o fúngica (Lutz et al., 2022a; Popov et al., 2023). El limitado número de estudios centrados en el microbioma de murciélagos utilizando secuenciación de nueva generación se han llevado a cabo principalmente en países de Asia, mientras que, en la región de América Latina, las investigaciones en quirópteros se han concentrado en Brasil y México (Wallau et al., 2023a).

La escasez de información actual sobre la microbiota presente en los murciélagos en Ecuador limita una evaluación a gran escala de las bacterias patógenas con relevancia clínica y veterinaria. Esta brecha de conocimiento subraya la necesidad urgente de llevar a cabo investigaciones a gran escala que permitan identificar y caracterizar géneros bacterianos potencialmente dañinos. En ese contexto, el uso de tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) amplía significativamente la capacidad de descubrimiento, facilitando la evaluación de riesgos asociados y contribuyendo a la prevención o mitigación de futuros brotes de enfermedades infecciosas.

## 3. Marco teórico referencial

---

### 3.1 Generalidades sobre los murciélagos

Los murciélagos pertenecen al segundo orden más amplio y diverso entre los mamíferos, con un linaje de más de 50 millones de años y más de 1400 especies distribuidas en 21 familias (Brussel & Holmes, 2022; Wallau et al., 2023b). Su proceso evolutivo les ha permitido desarrollar un amplio rango de adaptaciones y características ecológicas que los convierten en componentes clave de muchos ecosistemas, ya que sus estrategias de forrajeo y las preferencias de hábitat están estrechamente relacionadas con sus características morfológicas y fisiológicas (Kunz et al., 2011) .

Su capacidad de vuelo única entre los mamíferos y la estructura de sus alas les otorga una ventaja importante para su distribución y diversidad, puesto que la piel que las recubre no solo actúa como soporte para su vuelo, sino que también sirve de barrera contra microbios y parásitos, favorece la termorregulación y el intercambio de gases, regula la pérdida de agua y facilita la captura y manipulación de alimentos (Makanya & Mortola, 2007).

Esta particularidad ha favorecido la presencia de quirópteros en casi todos los continentes del mundo, a excepción de ciertas regiones polares e islas oceánicas (Presley et al., 2020a). Además, ha sido clave para el desarrollo de diferentes hábitos alimenticios, estrategias reproductivas y comportamiento social (Kunz et al., 2011). Durante el día se refugian en el follaje, cuevas, cavidades de árboles, grietas de rocas e incluso en estructuras de origen antropogénico (Kasso & Balakrishnan, 2013) y durante la noche explotan una diversidad de recursos alimenticios que van desde insectos, néctar, semillas, frutas, ranas, peces, mamíferos pequeños hasta sangre (Cholleti et al., 2022; De Leon et al., 2018b).

### 3.1.1 Servicios ecosistémicos

Los murciélagos presentan una amplia gama de características ecológicas que les permiten prosperar en diversos entornos. Estas preferencias de dieta influyen directamente en su papel dentro de los ecosistemas. Varias especies de quirópteros desempeñan funciones como dispersores de semillas y polinizadores (Hardmeier et al., 2021). En particular, las especies tropicales tienen un rol particular en la polinización de diversas plantas silvestres (Allocati et al., 2016b).

Asimismo, destacan por ser depredadores de insectos nocturnos, contribuyendo al control biológico de plagas. De esta manera, limitan la propagación de enfermedades humanas y evitan pérdidas en cultivos de importancia económica para la ganadería y agricultura (De Leon et al., 2018b). Además, tienen especial importancia en el ciclo de nutrientes ya que su guano es rico en nitrógeno, fósforo y potasio, convirtiéndolo en un biofertilizante ideal para la renovación del suelo (De Oliveira & Bonvicino, 2021; Selvin et al., 2019).

## 3.1 Murciélagos como reservorios zoonóticos

Los murciélagos son reconocidos no solo como reservorios naturales de virus, sino también de bacterias y hongos. Dado que estos mamíferos coexisten con una gran diversidad de bacterias por factores ambientales, conductuales y evolutivos, la composición de su microbioma se ve directamente influenciada (Carrillo-Araujo et al., 2015a).

Un ejemplo de ello es la relación ancestral de los murciélagos como huéspedes de las bacterias del género *Bartonella*, cuyo proceso coevolutivo permitió la diversificación y transmisión de este género a otros órdenes, incluyendo los humanos (McKee et al., 2021). Un estudio determinó que el 67% de los murciélagos vampiros estudiados en Perú y Bécice se encontraban infectados con *Bartonella*. Este patógeno puede transmitirse a través de mordeduras o por contaminación ambiental, llegando a causar endocarditis, una enfermedad potencialmente mortal en animales domésticos y seres humanos (Becker et al., 2018).

Varios géneros pertenecientes al Phylum Proteobacteria destacan por sus implicaciones en salud pública. Los géneros *Ehrlichia* y *Neorickettsia* se caracterizan por causar enfermedades transmitidas por garrapatas, las cuales mantienen una relación de ectoparasitismo con los murciélagos (Cicuttin et al., 2013). Asimismo, se ha informado sobre el género *Anaplasma*, agente causal de la anaplasmosis y *Coxiella*, cuyo agente *Coxiella burnetii* provoca la fiebre “Q” en animales y humanos (Matei et al., 2019; Silva-Ramos et al., 2022).

Otros estudios han identificado que diversas especies de murciélagos también pueden albergar bacterias como *Leptospira* pese a que los roedores son los principales reservorios de estos patógenos, lo que sugiere un papel de transmisión interespecífica (Robin, 2017). Además, patógenos entéricos como *Salmonella* y *Campylobacter* han sido identificados particularmente en la familia Vespertilionidae (Mühldorfer, 2013).

### 3.1.1 Características que favorecen la transmisión de patógenos

La capacidad de los quirópteros para transmitir patógenos está impulsada por diversos mecanismos. En términos ecológicos, su capacidad para desplazarse a largas distancias combinado con su presencia en diversos nichos incrementa las oportunidades de contacto con una amplia gama de especies animales, incluyendo aves, otros mamíferos y humanos, lo que facilita la transmisión interespecífica de patógenos (Salmier et al., 2017). En este sentido, factores como la deforestación y la expansión de la actividad humana aumentan el riesgo de transmisión por zoonosis (Plowright et al., 2014).

Por otra parte, el comportamiento social de muchas especies favorece la transmisión directa e indirecta de patógenos debido a la formación de colonias densamente agrupadas en sitios de descanso (Allocati et al., 2016b). El contacto físico constante entre individuos de una misma colonia facilita la propagación de patógenos, especialmente durante épocas de reproducción y migración (Drexler et al., 2012). La liberación de aerosoles producidos por las vibraciones de la laringe

como efecto de la ecolocalización y el contacto cercano con secreciones como orina y heces incrementan la transmisión de microorganismos (Calisher et al., 2006).

Los murciélagos que cohabitan dentro de una misma región geográfica suelen albergar una microbiota común, sin embargo, el proceso de transmisión de patógenos entre especies en comunidades que cambian estacionalmente aún no se comprende en su totalidad (Bonilla-Aldana et al., 2021). Las tasas de transmisión están determinadas por la frecuencia del contacto y la susceptibilidad a infecciones de cada población (Hayman et al., 2013).

Otra característica de la biología de los murciélagos que los convierte en buenos hospedadores de patógenos está vinculada a su capacidad para hibernar. Varias especies de murciélagos son heterotermos facultativos, es decir, son capaces de entrar en un estado de letargo profundo en respuesta a situaciones de estrés fisiológico, especialmente durante épocas de invierno, por lo que es probable que esta adaptación facilite la persistencia de patógenos (Hayman et al., 2013). La reducción de la tasa metabólica durante este período limita su capacidad para generar una respuesta inmune adecuada y favorece la proliferación de bacterias psicrófilas y enteropatógenas causantes de enfermedades sistémicas que amplifican el ciclo infeccioso e incrementan la capacidad infectiva de los microorganismos (Calderon et al., 2016).

En términos evolutivos, se ha planteado la hipótesis de una posible relación entre su capacidad de vuelo y su inmunidad pues poseen un conjunto de características que les han permitido adaptarse a la demanda fisiológica del vuelo. Entre ellas, el aumento de la tasa metabólica y la temperatura corporal reducen la capacidad replicativa de los agentes infecciosos sensibles al calor (Allocati et al., 2016b). Es posible que estos mecanismos hayan evolucionado con el fin de atenuar la inflamación resultante de la producción de especies reactivas de oxígeno durante el vuelo, lo que a su vez minimiza el daño en el ADN (Chionh et al., 2019). Además, se han identificado ciertas familias de genes de defensa como *nkg2* y *cd94* que presentan una alta diversificación en cuanto a receptores de células Natural Killer,

genes de MHC clase I e interferones de tipo I, los cuales son expresados constantemente para enfrentar posibles infecciones (Pavlovich et al., 2018).

Finalmente, los murciélagos tienen una longevidad destacable que supera los 30 años, lo que amplía su papel como reservorios prolongados de patógenos y multiplica sus oportunidades de transmisión interespecífica. La mayor parte de estos no representan una amenaza para los murciélagos y, por tanto, pueden permanecer largos periodos de tiempo sin inducir mortalidad (Allocati et al., 2016b).

### 3.2 Familia Phyllostomidae en Ecuador

La familia Phyllostomidae es una de las familias más diversas y ecológicamente importantes en el Neotrópico, incluido Ecuador. Los murciélagos pertenecientes a esta familia, conocidos comúnmente como murciélagos de nariz de hoja, presentan una amplia gama de hábitos alimentarios que incluyen frugivoría, insectivoría, nectivoría, hematofagia, etc (Carrera et al., 2019). Según Tirira *et. al* (2022), de las 178 especies de murciélagos descritas en Ecuador, 114 pertenecen a la familia Phyllostomidae, convirtiendo este territorio en un hotspot de diversidad.

Estudios recientes han documentado que varias especies cuentan con adaptaciones específicas que les permiten acumular grasa y tener una dieta variada, lo que es fundamental para su supervivencia en varios hábitats desde selvas de tierras bajas hasta bosques nublados andinos (Urgilés Verdugo et al., 2021). Géneros como *Carollia*, *Sturnira*, *Artibeus*, *Rhinophylla*, *Anoura*, *Lonchophylla*, *Micronycteris*, *Lophostoma*, *Phyllostomus* y *Desmodus*, son documentados frecuentemente en bosques húmedos y secundarios y dominan la biomasa de muchas comunidades de murciélagos de sotobosque (Carrera et al., 2010).

Esta familia desempeña funciones ecológicas fundamentales en los ecosistemas ecuatorianos, particularmente como polinizadores y dispersores de semillas (Tirira, 2020). Por ejemplo, los filostómidos frugívoros como *Carollia*, *Sturnira*, *Artibeus* y *Rhinophylla* son dispersores primarios de numerosas plantas pioneras y de

sotobosque, permitiendo la regeneración de bosques secundarios y conectando fragmentos de hábitat a través del movimiento de semillas (Burneo et al., 2015).

No obstante, aunque se cuenta con una cantidad robusta de estudios taxonómicos, biogeográficos y ecológicos sobre la familia Phyllostomidae, todavía existen vacíos importantes. Burneo et al. (2015) señalan la falta de evaluaciones sobre los efectos del cambio climático en poblaciones de murciélagos, estudios sistemáticos sobre bioacumulación de contaminantes o metales pesados en comunidades de filostómidos. De manera similar, la mayor parte de su investigación se ha centrado en diversidad, dieta, redes de interacción y uso del hábitat, mientras que aspectos como la microbiota asociada permanece poco explorada en poblaciones ecuatorianas.

En América Latina, región donde se concentra la mayor diversidad de Phyllostomidae, los estudios de microbioma han avanzado principalmente en México y Brasil. Análisis comparativos en múltiples especies de esta familia, como el estudio de Carrillo-Araujo et al. (2015) en México, mostraron que la estructura de las comunidades bacterianas se agrupa de manera más consistente por dieta que por identidad taxonómica del hospedador. Asimismo, André et al. (2023), documentaron la composición de microbiotas orales, cutáneas y asociadas a ectoparásitos en filostómidos, donde encontraron que la cavidad oral de murciélagos frugívoros y nectarívoros estuvo dominada por Gammaproteobacteria y albergó géneros clínicamente relevantes como *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, en individuos sanos.

Este contraste con la información disponible en otros países latinoamericanos pone en evidencia un vacío de conocimiento importante, pero al mismo tiempo resalta la oportunidad de aprovechar la alta diversidad de la familia Phyllostomidae en Ecuador para desarrollar estudios de microbioma de mayor escala.

### 3.4. Análisis metagenómico para estudio de microbioma

El análisis metagenómico se ha convertido en una herramienta eficaz para estudiar los microbiomas de los murciélagos ya que proporciona información sobre la diversidad y funciones de las comunidades microbianas asociadas a partir del ADN/ARN total de la muestra, permitiendo la identificación de bacterias, virus, hongos y otros microorganismos en un solo paso (Nam et al., 2023).

Los estudios metagenómicos han mostrado diferencias significativas en el microbiota intestinal de los murciélagos con diferentes dietas y hábitats, lo que sugiere que la ecología del hospedador (dieta y medio ambiente) desempeñan un papel crucial en la configuración de las comunidades microbianas (Carrillo-Araujo et al., 2015b; Corduneanu et al., 2021b; Lutz et al., 2019). Además, el análisis metagenómico ha sido fundamental para identificar nuevos virus y comprender sus posibles riesgos zoonóticos (Russell et al., 2025; Smith & Wang, 2013).

## 4. Materiales y metodología

### 4.1. Origen de las muestras

Las muestras que se utilizaron en este estudio fueron colectadas previamente para el desarrollo del proyecto senior de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Central del Ecuador, titulado “Caracterización del viroma de especies de murciélagos y roedores del Noroccidente del Ecuador y su potencial zoonótico sobre otros mamíferos” DI-CONV-2022-038. La colección de especímenes se llevó a cabo en la Reserva Río Manduriacu, ubicada en el occidente de la provincia de Imbabura. Contrato Marco de Acceso a Recursos Genéticos Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica: MAATE-DBI-CM-2023-0294 (Anexo A.)

Las muestras corresponden a hisopados orales de especies de murciélagos de la familia Phyllostomidae que exhiben diferentes estrategias de alimentación, incluyendo miembros del género *Carollia* como *C. brevicauda*, *C. perspicillata* (frugívoros) y *C. castanea* (frugívoro, insectívoro), *Sturnira ludovici* (frugívoro), *Rhinophylla alethina* y *Artibeus ravenus* (frugívoros e insectívoros).

### 4.2. Generación y adquisición de datos

Cabe señalar que las etapas iniciales de procesamiento de las muestras, como extracción y purificación del ARN genómico no fueron realizadas por la autora; dado que del proyecto previo se compartió solamente los archivos provenientes de la secuenciación en formato digital como salidas directas del sistema de secuenciación.

Las secuencias analizadas en el presente estudio correspondieron a datos crudos obtenidos mediante secuenciación de tercera generación, utilizando tecnología de Oxford Nanopore Technologies (ONT). La generación de las lecturas se llevó a cabo empleando el dispositivo MinION Mk1B, en combinación con celdas de flujo FLO-MIN114 (química R10.4.1) y el kit de preparación de bibliotecas SQK-NBD114-24,

diseñado para permitir la codificación por códigos de barras (barcodes) y optimizado para la obtención de lecturas de alta longitud y fidelidad.

### 4.3. Análisis bioinformáticos

#### 4.3.1. Preparación de la máquina virtual

Para el procesamiento de los archivos obtenidos del secuenciador, se requirió el uso de Linux para lo cual se realizó la instalación del sistema operativo, configurándose la máquina virtual con el nombre MICROBIOMA en Oracle VirtualBox. Para este propósito, se utilizó la imagen ISO de Ubuntu 22.04.4 (64-bit). La máquina virtual fue asignada con 7709 MB de memoria RAM y 3 núcleos de procesador, mientras que el disco virtual se configuró con una capacidad máxima de 25 GB.

#### 4.3.2. Preprocesamiento de lecturas

Las señales crudas generadas como resultado de la secuenciación por Oxford Nanopore se almacenaron inicialmente en formato FAST5, un tipo de archivo contenedor HDF5 (Hierarchical Data Format versión 5) diseñado para almacenar grandes conjuntos de datos junto con los metadatos del análisis (corrida, canal, poro, etc) (Gamaarachchi et al., 2022). Por razones de aprovechamiento de los recursos computacionales y trazabilidad de la información, los archivos FAST5 correspondientes a los 6 barcodes correspondientes a las especies de *Carollia brevicauda* (barcode 01), *Sturnira ludovici* (barcode 02), *C. castanea* (barcode 03), *Carollia perspicillata* (barcode 10), *Rhinophylla aethina* (barcode 11) y *Artibeus rufus* (barcode 13) se agruparon en un archivo fast5.tar para almacenamiento, transferencia y compatibilidad con otras herramientas (Anexo B.) (Loman & Quinlan, 2014).

Posteriormente, previo al procesamiento y análisis de las secuencias los archivos agrupados en fast5.tar se convirtieron al formato POD5, dado que el soporte para formato FAST5 se encuentra en desuso (Oxford Nanopore Technologies, 2024). Esta conversión se realizó en la plataforma Galaxy Australia mediante la herramienta fast5 to pod5 converter for raw Oxford Nanopore data (Galaxy Australia, s.f.)

compatible con la herramienta Dorado basecaller for raw Oxford Nanopore data (Galaxy Australia, s.f.; Oxford Nanopore Technologies, 2024). Esta conversión permitió realizar el basecalling de las señales eléctricas, transformándolas en secuencias de nucleótidos. Para ello, las lecturas fueron procesadas con el modelo de basecalling *dna\_r10.4.1\_e8.2\_400bps\_sup* (Oxford Nanopore Technologies, 2024), compatible con la celda de flujo FLO-MIN114 y el kit SQK-NBD114-24.

### 4.3.3. Filtrado y limpieza de secuencias

En primer lugar, las lecturas resultantes del basecalling con Dorado que se encontraban en formato .bam, fueron transformadas al formato FASTQ con la herramienta bedtools Convert from BAM to FastQ (Galaxy Australia, s.f.; Quinlan & Hall, 2010).

Posteriormente, la calidad de las lecturas antes y después del proceso de filtrado se evaluaron utilizando la herramienta NanoPlot Plotting suite for Oxford Nanopore sequencing data and alignments (Galaxy Australia, s.f.; De Coster et al., 2018). Posteriormente los archivos FASTQ se normalizaron al formato fastqsanger con FASTQ Groomer (Galaxy Australia, s.f.; Blankenberg et al., 2010). Luego, se eliminaron y recortaron lecturas cortas, fragmentos de adaptadores y lecturas con bases indeterminadas utilizando la herramienta NanoFilt Filtering and trimming of long read sequencing data con los parámetros establecidos por defecto (Galaxy Australia, s.f.; De Coster et al., 2018).

### 4.3.4. Limpieza de secuencias provenientes del huésped

De los géneros de murciélagos en estudio, se descargaron las secuencias de referencia del National Center for Biotechnology Information (NCBI), para separar las secuencias del hospedador de los microorganismos presentes en las muestras. Los genomas de referencia que se descargaron se describen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Genomas de referencia utilizados

Género o especie en estudio	Genoma de referencia utilizado	ID RefSeq/Gene Bank
-----------------------------	--------------------------------	---------------------

<b>Género <i>Carollia</i></b>	<i>Carollia perspicillata</i>	GCA_004027735.1
<b><i>Sturnira ludovici</i></b>	<i>Sturnira hondurensis</i>	GCF_014824575.3
<b><i>Artibeus ravus</i></b>	<i>Artibeus jamaicensis</i>	GCF_021234435.1
<b><i>Rhinophylla alethina</i></b>		

A continuación, se cargaron los genomas de referencia en Galaxy y se utilizó la herramienta Map with minimap2 A fast pairwise aligner for genomic and spliced nucleotide sequences para alinear las lecturas a los genomas de referencia (Galaxy Australia, s.f.; Li, 2018).

Posteriormente, se utilizaron las funciones de la herramienta Samtools view – reformat, filter, or subsample SAM, BAM or CRAM para separar las secuencias que se habían alineado con el genoma de referencia de aquellas que no lo hicieron (Galaxy Australia s.f.; Danecek et al., 2021) . Luego, con el fin de transformar las lecturas a formato FASTQ necesarias para análisis posteriores se utilizó la herramienta bedtools Convert from BAM to FastQ (Galaxy Australia, s.f.).

#### 4.3.5. Asignación taxonómica

Las secuencias que no se alinearon con el genoma de referencia, fueron consideradas como potencialmente de origen microbiano u otro origen no hospedero y se sometieron a asignación taxonómica utilizando Kraken2. Para ello, las lecturas no mapeadas se clasificaron de forma independiente frente a las últimas versiones de dos bases de datos de referencia. En primer lugar, la base Refseq estándar completa de NCBI, que incluye genomas de arqueas, bacterias, virus, plásmidos, genoma humano y una base UniVec\_Core, que contiene secuencias de cebadores y adaptadores importantes para identificar y descontaminar secuencias de ADN (National Center for Biotechnology Information, 2021). En segundo lugar, se utilizó una base GTDB (Genome Taxonomy Database) v220, que contiene genomas bacterianos y arqueanos curados filogenéticamente (Chaumeil et al., 2022).

La clasificación taxonómica se realizó utilizando los parámetros por defecto de Kraken2 y las asignaciones se resumieron a distintos niveles taxonómicos para

comparar la composición microbiana obtenida con cada base de datos. Posteriormente, se utilizaron los archivos de salida “report” de kraken2 para visualizar y explorar las abundancias taxonómicas utilizando la versión en línea de Pavian metagenomics data explorer (Breitwieser & Salzberg, 2016).

## 5. Resultados y discusión

### 5.1. Filtrado, evaluación y procesamiento de lecturas

Como resultado del preprocesamiento de lecturas obtuvieron archivos en formato FASTQ con las secuencias de nucleótidos provenientes de cada especie y una puntuación de calidad por base (Phred)(Cock et al., 2009). A partir de estos archivos, el análisis de las lecturas crudas de las seis especies de murciélagos evaluados mostró un conjunto de datos con una calidad moderada y de características heterogéneas, como se esperaba en esta etapa del análisis (Tabla 2.). El número de lecturas por especie varió entre 15,078 en *Artibeus rabus* y 23,275 en *Carollia castanea*, siendo esta última aquella con mayor rendimiento bruto, es decir, mayor cantidad de datos generados (0,0772 Gbp).

En cuanto a los indicadores de calidad, las calidades medias (Q) oscilaron entre 16,6 y 17,7. Estos valores bajos suelen ser típicos de lecturas en bruto provenientes de tecnologías de secuenciación como Oxford Nanopore en comparación con plataformas de lectura corta (donde Q30 es un umbral habitual) y han sido reportados de forma consistente en la literatura donde estudios que utilizaron ONT informan medianas/medias en el rango de Q 14–17 para corridas crudas dependiendo de la química, la preparación y el modelo de basecalling (Vereecke et al., 2025) .

Por otra parte, el porcentaje de lecturas con calidad superior a Q10 fue alto en todas las especies, superando el 96% en todos los casos. No obstante, el porcentaje de lecturas superiores a Q15 fue relativamente más bajo, con un rango entre 85.1% (*A.rabus*) y 88.8% (*C.castanea*).

De manera general, los resultados de las lecturas en bruto presentaron una calidad aceptable pero heterogénea, con una cantidad considerable de fragmentos de lectura con baja precisión. Por lo que posteriormente, se utilizaron herramientas de filtrado como Nanofilt para depurar el conjunto de datos de baja precisión y ayudar a mitigar el arrastre de errores hacia los análisis posteriores (De Coster et al., 2018).

**Tabla 2.** Resultados de evaluación de calidad pre filtrado

Especie	N° de lecturas	Rendimiento (Gbp)	Longitud media (pb)	Longitud máxima (pb)	Calidad media (Q)	% lecturas >Q10	% lecturas >Q15
<i>C. brevicauda</i>	18532	0.060	3224.9	15177	17.2	97.6 %	87.6 %
<i>S. ludovici</i>	18820	0.0604	3210.7	10288	16.6	96.1 %	85.5 %
<i>C. castanea</i>	23275	0.0772	3318.1	24374	17.7	98.5 %	88.8 %
<i>C. perspicillata</i>	17865	0.0564	3155.1	10958	17.2	97.6 %	87.4 %
<i>R. alethina</i>	23083	0.0734	3179.9	7481	17.4	98.1 %	87.8 %
<i>A. rabus</i>	15078	0.0451	2993.7	7587	16.8	96.4 %	85.1 %

La evaluación de calidad de las lecturas secuenciadas posterior al filtrado con Nanofilt reveló un conjunto de datos de alta fidelidad y altamente depurado (Tabla 3.) observándose valores de calidad significativamente más altos, donde el 100% de las lecturas de cada especie superaron los umbrales de Q10 y Q15, lo cual es indicativo de la precisión en la identificación de las bases y evidencia la eficiencia del paso de filtrado.

Las longitudes promedio de lectura presentaron una variabilidad considerable entre especies, con valores que oscilaron entre 90,7 pb (*A. rabus*) y 526,0 pb (*C. castanea*). En cuanto a la longitud máxima de las lecturas, se alcanzaron registros entre 868 pb y 3561 pb, lo cual podría sugerir diferencias en la integridad del material genético como en el tamaño de los fragmentos recuperados.

Las calidades medias (Q) se situaron en un rango entre 32,2 y 34,2, con *A. rabus* mostrando el valor más alto. Asimismo, esta especie presentó el mayor número de lecturas post-filtrado, mientras que *C. castanea* presentó la menor cantidad. Estas diferencias podrían atribuirse a diversas razones relacionadas a la calidad de la extracción, eficiencia de la secuenciación o condiciones del procesamiento de las muestras (Oxford Nanopore Technologies, 2025a, 2025b) .

**Tabla 3.** Resultados de evaluación de calidad post filtrado con Nanofilt

Especie	N° de lecturas	Rendimiento (pb)	Longitud media (pb)	Longitud máxima (pb)	Calidad media (Q)	% lecturas >Q10	% lecturas >Q15
<i>C. brevicauda</i>	56	24316	434.2	3548	33.3	100.0%	100.0%
<i>S. ludovici</i>	67	15916	237.6	1922	33.8	100.0%	100.0%
<i>C. castanea</i>	44	23144	526.0	3560	32.2	100.0%	100.0%
<i>C. perspicillata</i>	81	36031	444.8	3561	33.0	100.0%	100.0%
<i>R. alethina</i>	158	36284	229.6	3560	33.3	100.0%	100.0%
<i>A. rabus</i>	259	23484	90.7	868	34.2	100.0%	100.0%

Tras el filtrado de las lecturas con Nanofilt y el posterior mapeo con Minimap2, se observó que la proporción de lecturas que se alinearon al genoma de referencia del huésped fue muy baja a diferencia de aquellas que no se alinearon. Es decir que, la cantidad de lecturas que potencialmente representan las secuencias microbianas de interés se encontraron en mayor proporción (Tabla 4.). Este patrón podría explicarse, en primer lugar, por el paso de filtrado realizado previamente, lo que pudo haber enriquecido el conjunto final de secuencias microbianas y redujo la representación de secuencias del huésped, puesto que ya que se estaba trabajando con un conjunto de datos reducido.

Asimismo, Bohling (2020), Eisenhofer et al. (2023) y Wang et al. (2025) han mostrado que factores como la distancia evolutiva entre la muestra y el genoma de referencia, así como la calidad del ensamblaje y la elección de parámetros de alineación, pueden afectar la proporción de lecturas que se mapean correctamente.

Tabla 4. Resultados “post mapeo” con Minimap2

Especie	N° lecturas	Alineamientos totales	Alineamientos primarios	Alineamientos secundarios	Lecturas no mapeadas	% lecturas Huésped	% lecturas No-huésped
<i>C. brevicauda</i>	56	0	0	0	56	0.0%	100.0%
<i>S. ludovici</i>	67	0	0	0	67	0.0%	100.0%
<i>C. castanea</i>	44	0	0	0	44	0.0%	100.0%

<b>C.</b>	81	0	0	0	81	0.0%	100.0%
<b><i>perspicillata</i></b>							
<b>R. alethina</b>	158	9	9	0	149	5.7%	94.3%
<b>A. rabus</b>	259	19	16	3	243	6%	94%

## 5.2. Asignación taxonómica

El análisis del microbioma bacteriano en las seis especies de quirópteros analizados mostró una estructura comunitaria diversa (Anexos C. y D.). Esta variabilidad podría reflejar adaptaciones ecológicas, patrones dietéticos y rasgos fisiológicos específicos de cada hospedador (André et al., 2023b).

De acuerdo con Ley et al. (2008), en el intestino de los mamíferos la diversidad bacteriana aumenta conforme la dieta del hospedador se desplaza de carnívora a omnívora y luego a herbívora. De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, las estrategias de alimentación de las especies estudiadas están basadas principalmente en plantas e insectos, cuya fuente de alimento se descompone rápidamente en azúcares simples (Herbst, 1986; Karasov et al., 2011).

En estos animales, el sistema digestivo es necesario para procesar hemicelulosas, proceso que requiere la participación de múltiples enzimas de diferentes especies, lo que sustenta la presencia de un ecosistema bacteriano más diverso (Karasov et al., 2011). Por otra parte, Ingala et al. (2021) y Ochman (2010) han demostrado que la filogenia del hospedador puede imponerse sobre la dieta y los factores ambientales e influir directamente en la diversidad microbiana intestinal.

Los resultados obtenidos por la asignación taxonómica contra las bases de datos utilizadas mostraron diferencias en la proporción de lecturas clasificadas, así como en la composición taxonómica de los organismos detectados (Tabla 5.). En primer lugar, se utilizó una base de datos RefSeq (NCBI), una colección curada, integrada y no redundante de secuencias (genomas, transcriptos y proteínas) que sirve como una referencia sólida, su alcance abarca todos los dominios por lo que es ampliamente utilizada para anotación, análisis comparativos así como en métodos de clasificación basados en k-mers, en los cuales las lecturas se fragmentan en pequeñas subsecuencias de longitud fija (k-mers) y se asignan taxonómicamente al

comparar estos patrones con los genomas de referencia contenidos en la base de datos (National Center for Biotechnology Information, 2021). Por otra parte, la base de datos GTDB v220 utiliza una taxonomía estandarizada basada en filogenia genómica específicamente de Bacterias y Arqueas siguiendo criterios de divergencia evolutiva (RED) e identidad nucleotídica promedio (ANI), se usa para clasificación filogenética y asignación taxonómica, con la salvedad de posibles discrepancias nominales frente a NCBI (Chaumeil et al., 2022).

Con la base estándar de NCBI Prebuilt Refseq, las especies *Carollia brevicauda* y *Carollia castanea* alcanzaron las proporciones más altas de lecturas clasificadas (91,1% y 95,5% respectivamente) además de una alta carga de contenido microbiano (>41%), mientras que *Artibeus rabus* presentó una tasa de clasificación considerablemente baja (15,3%). Por otra parte, las lecturas de *Sturnira ludovici*, *Carollia perspicillata* y *Rhinophylla aletina* mostraron niveles intermedios de clasificación (entre 38% y 46,9%). En todas las muestras, la presencia de ADN correspondiente al filo Chordata fue baja, lo que sugiere una escasa contaminación por material del hospedador (Heravi et al., 2020).

Al clasificar con la base de datos GTDB v220 la proporción de lecturas asignadas aumentó de manera uniforme (88,9–95,6%), evidenciándose una fuerte afinidad con taxones procariotas bien representados. Bajo este marco, *R. aletina*, *C. castanea* y *S. ludovici* concentraron los mayores porcentajes de lecturas microbianas con valores entre el 93 al 95.6%. En cuanto a las fracciones no clasificadas se mantuvieron <11,1% y persistió la ausencia de contaminación.

**Tabla 5.** Resultados asignación taxonómica frente a dos bases de datos

Especies	NCBI Prebuilt Refseq (Versión 2022-06-07)		GTDB v220 (Bacteria y Archaea, 2024-11-09)			
	Lecturas clasificadas	Lecturas no clasificadas	Lecturas microbianas	Lecturas clasificadas	Lecturas no clasificadas	Lecturas microbianas
<i>C. brevicauda</i>	91.1%	8,93%	41.1%	91.1%	8.93%	91.1%
<i>S. ludovici</i>	40.3%	59.7%	16.4%	94%	5.97%	94%
<i>C. castanea</i>	95.5%	4.55%	40.9%	93.2%	6.82%	93.2%
<i>C. perspicillata</i>	46.9%	53.1%	27.2%	88.9%	11.1%	88.9%
<i>R. aletina</i>	38%	62%	14.6%	95.6%	4.43%	95.6%

<b>A. rabus</b>	15.3%	84.7%	5.34%	91.2%	8.78%	91.2%
-----------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

La interpretación de las asignaciones taxonómicas se discute a continuación por nivel taxonómico, es decir a nivel de filo, clase, orden, familia, género y especies. En las tablas generadas por la herramienta Pavian, se visualiza el número de lecturas asignadas al taxón por cada especie de murciélago y el identificador numérico para cada taxón en la base de datos de taxonomía del NCBI (TID).

- Nivel taxonómico de Filo

A nivel de filo, Pseudomonadota (Proteobacteria) dominó consistentemente en todas las especies, lo que sugiere una comunidad microbiana asociada a bacterias Gram negativas (Tabla 6.). De acuerdo con estudios realizados tanto con técnicas de cultivo tradicionales como estudios realizados por secuenciación, estas bacterias se han aislado de forma recurrente de cavidades oral y rectal, saliva e intestino (Banskar et al., 2016; Carrillo-Araujo et al., 2015b; Galicia et al., 2014).

De hecho, se ha determinado que los murciélagos presentan una mayor proporción de Proteobacteria a diferencia de otros mamíferos y comparten un núcleo bacteriano intestinal común, independientemente de la región geográfica o del tipo de dieta (Hughes et al., 2018). En este estudio la mayor cantidad de lecturas correspondientes a este filo se observaron en *Artibeus rabus*, *Carollia brevicauda*, *Rhinophylla alethina* y *Carollia perspicillata*.

El filo Actinobacteria junto con Bacteroidetes y Firmicutes también se han reportado como filos comunes en quirópteros (Cláudio et al., 2018; Lutz et al., 2022b). Los resultados mostraron una presencia relevante del filo Actinomycetota (Actinobacteria), especialmente en *C. perspicillata*. Presley et al. (2020) encontraron un predominio oral de este filo y Firmicutes en murciélagos frugívoros y herbívoros. Otros filos (Bacillota, Asgardarchaeota y Bacteroidota) aparecieron de forma esporádica y con baja representación.

**Tabla 6.** Perfil taxonómico a nivel de Filo

<b>A. Base NCBI Standard full</b>							
Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S.ludovici</i>	<i>C.castanea</i>	<i>C.perspicillata</i>	<i>R.alethina</i>	<i>A.rabus</i>

Proteobacteria	1224	23	10	7	21	22	13
Chordata	7711			2	2	5	1
Actinobacteria	201174					1	
Bacteroidetes	976						1
<b>B. Base GTDB v220</b>							
Pseudomonadota	175		38	2	10	17	206
Actinomycetota	32			2	35	2	
Bacillota_A	42				1		
Asgardarchaeota	6					1	

- Nivel taxonómico de Clase

A nivel de clase, Gammaproteobacteria constituye el núcleo común del microbioma en todas las especies (Tabla 7.), sugiriendo una estrecha relación ecológica de esta clase bacteriana con el hospedador, posiblemente a funciones digestivas o inmunológicas en quirópteros neotropicales (Berman et al., 2023; Carrillo-Araujo et al., 2015b; Ingala et al., 2018). En concordancia, Lutz et al. (2019), documentaron una alta abundancia de Gammaproteobacteria en el microbioma oral e intestinal de murciélagos insectívoros y frugívoros de Uganda y Kenia.

La diversidad de clases se vio aumentada en *R. aletina* y *A. rabus*, las cuales albergan también a las clases Betaproteobacteria, Alphaproteobacteria y Actinobacteria (Actinomycetes), estas últimas notablemente representadas en *A. rabus* y *C. perspicillata* respectivamente. Clases como Clostridia, Lokiarchaeia y Bacteroidia, están menos representadas puesto que aparecen únicamente con una lectura.

**Tabla 7.** Perfil taxonómico a nivel de Clase

<b>A. Base NCBI Standard full</b>							
Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S. ludovici</i>	<i>C. castanea</i>	<i>C. perspicillata</i>	<i>R. aletina</i>	<i>A. rabus</i>
Gammaproteobacteria	1236	22	7	6	20	18	11
Betaproteobacteria	28216		3		1	3	2
Alphaproteobacteria	28211			1		1	
Actinobacteria	1760					1	
Bacteroidia	200643						1
<b>B. Base GTDB v220</b>							
Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S. ludovici</i>	<i>C. castanea</i>	<i>C. perspicillata</i>	<i>R. aletina</i>	<i>A. rabus</i>
Gammaproteobacteria	747		38	1	10	16	6
Alphaproteobacteria	746			1		1	200
Actinomycetes	309			2	35	2	
Clostridia	349				1		

Lokiarchaeia	228	1	
Bacteroidia	410		1

- Nivel taxonómico de Orden

A nivel de órdenes bacterianos (Tabla 8.) se observó un patrón similar donde el microbioma estuvo claramente dominado por Enterobacterales. Su representación fue especialmente notoria en *Carollia perspicillata* y *C. brevicauda*. El orden Mycobacteriales también mostró predominio especialmente en *C. perspicillata*. Este orden suele ser común en ambientes húmedos y con presencia de sedimentos tales como las colonias de murciélagos, es detectado frecuentemente en muestras de guano y su abundancia en el microbioma de quirópteros es variable (Modra et al., 2017; Pavlik et al., 2021a).

El orden Burkholderiales estuvo presente en casi todas las especies estudiadas con excepción de *C. brevicauda* y *C. perspicillata*. Este orden está caracterizado por su amplitud metabólica, incluyendo la desnitrificación, degradación de compuestos aromáticos y estilos de vida tanto ambientales como oportunistas. En perfiles intestinales de murciélagos aparece de forma recurrente, familias como Comamonadaceae del orden Burkholderiales, adicionalmente de Enterobacteriaceae que se han registrado previamente en murciélagos de Borneo (Morni et al., 2025).

Órdenes adicionales como Rhizobiales, Rhodobacterales, Corynebacteriales y Bacteroidales aparecieron con menor abundancia lo cual podría estar vinculado a una dieta más compleja, diferencias ambientales o variaciones inmunológicas del hospedador (Bazzoni et al., 2024).

**Tabla 8.** Perfil taxonómico a nivel de Orden

<b>A. Base NCBI Standard full</b>							
Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S.ludovici</i>	<i>C.castanea</i>	<i>C.perspicillata</i>	<i>R.alethina</i>	<i>A.rabus</i>
Enterobacterales	91347	13	7	6	20	17	11
Burkholderiales	80840		3		1	3	2
Rhodobacterales	204455			1		1	
Pseudomonadales	72274					1	
Corynebacteriales	85007					1	

Bacteroidales	171549						1
<b>B. Base GTDB v220</b>							
Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S.ludovici</i>	<i>C.castanea</i>	<i>C.perspicillata</i>	<i>R.alethina</i>	<i>A.rabus</i>
Burkholderiales	2444		3		3	3	2
Xanthomonadales	2652		1				
Rhodobacterales	2379			1		1	5
Enterobacterales	2480			1	6	12	3
Mycobacteriales	1077			2	34	1	
Streptomycetales	1083				1	1	
Pseudomonadales	2587				1	1	1
Oscillospirales	1212				1		
Sigynarchaeales	847					1	
Rhizobiales	2378						3

- Nivel taxonómico de Familia

La familia Enterobacteriaceae tuvo un papel predominante en la composición microbiana de todas las especies (Tabla 9.) y se han identificado como habitantes comunes del tracto gastrointestinal de estos animales, mismos que pueden ser excretados a través de fluidos corporales y heces (Banskar et al., 2016; Lutz et al., 2019).

**Tabla 9.** Perfil taxonómico a nivel de Familia

<b>A. Base NCBI Standard full</b>							
Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S.ludovici</i>	<i>C.castanea</i>	<i>C.perspicillata</i>	<i>R.alethina</i>	<i>A.rabus</i>
Enterobacteriaceae	543	19	13	7	5	19	17
Burkholderiaceae	119060	2		2		1	1
Alcaligenaceae	506	2		1			2
Pectobacteriaceae	1903410	1			1		
Rhodobacteraceae	31989	1			1		1
Pseudomonadaceae	135621	1					1
Mycobacteriaceae	1762	1					1
Rikenellaceae	171550	1					
<b>B. Base GTDB v220</b>							
Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S.ludovici</i>	<i>C.castanea</i>	<i>C.perspicillata</i>	<i>R.alethina</i>	<i>A.rabus</i>
Burkholderiaceae	7419		3		3	3	2
Rhodanobacteraceae	7784		1				
Rhodobacteraceae	7219			1		1	5
Enterobacteriaceae	7517			1	6	12	3
Mycobacteriaceae	3683			2	34	1	
Streptomycetaceae	3708				1	1	
Halomonadaceae	7678				1		

Acutalibacteraceae	4089	1	
Pseudomonadaceae	7702		1 1
SOKP01	2921		1
Hyphomicrobiaceae	7182		3

- Nivel taxonómico de Género y especie

En la comparación a nivel de género se observaron diferencias marcadas (Tabla 10.). *Escherichia* se identificó como el taxón bacteriano más recurrente en las muestras y como un componente central del microbioma en concordancia con especies encontradas en muestras rectales que reportan *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiella* como géneros frecuentes en quirópteros neotropicales (André et al., 2023b).

Otros géneros bacterianos clínicamente relevantes como *Ralstonia*, *Bordetella*, *Shigella*, *Salmonella* y *Pseudomonas* aparecieron de manera esporádica y en menor abundancia, un patrón compatible con lo reportado en estudios previos que documentaron la presencia de bacterias entéricas patógenas, especialmente de la familia Enterobacteriaceae y de patógenos de importancia clínica y veterinaria tales como *Pasteurella*, *Salmonella*, *Escherichia* y *Yersinia* spp., cuya presencia está ligada a los hábitos alimentarios y la actividad dentro y fuera de las cuevas (De Leon et al., 2018a; Dhivahar et al., 2023). En términos de relevancia clínica, *Shigella* y *Salmonella* destacan como agentes entéricos causantes de infecciones del tracto gastrointestinal y con creciente resistencia a fármacos. Por su parte *Pseudomonas* se caracteriza por ser un patógeno oportunista clave en infecciones asociadas a la atención sanitaria y destaca por presentar resistencias de difícil tratamiento (Yang et al., 2023).

Finalmente, géneros menos frecuentes como *Castellaniella*, *Mycolicibacterium*, *Alistipes* y *Paracoccus* se identificaron con una única lectura, indicando una diversidad microbiana residual ligada a taxones de baja abundancia. Estos hallazgos son coherentes con reportes de micobacterias no tuberculosas encontradas en guano, *Alistipes* descrito en el intestino de murciélagos, *Castellaniella* encontrada

en muestras ambientales y *Paracoccus* identificado en el microbioma de la piel de murciélagos (Corduneanu et al., 2021b; Goff et al., 2024; Pavlik et al., 2021b).

Géneros como *Streptomyces*, *Ottowia*, *Modicisalibacter*, *Hyphomicrobium* y *Caproicibacter*, se encontraron distribuidos de manera dispersa entre las muestras. La presencia esporádica de estos taxones coincide con estudios de guano y microbiomas de murciélagos que reportaron subpoblaciones minoritarias con géneros ambientales y oportunistas de baja abundancia (Dimkić et al., 2021b). En particular, *Streptomyces* se ha documentado tanto por amplicones como por cultivo en guano y superficies externas de murciélagos (Hamm et al., 2017). En cambio, *Ottowia* (Comamonadaceae), *Modicisalibacter* (Gammaproteobacteria halófila asociada a aguas salinas) y *Hyphomicrobium* (metilotrofo/denitrificante) son géneros eminentemente ambientales cuyo hallazgo en guano suele interpretarse como señal de baja abundancia o aporte ambiental (Gam et al., 2007; Huang et al., 2024; Spring et al., 2004).

De forma similar, *Caproicibacter* es un género descrito recientemente en ambientes anaerobios productores de caproato que aparece con baja representación en perfiles de guano. Este compuesto es un insumo de alto interés industrial ya que actúa como materia prima en síntesis química, aditivo en nutrición animal (aves y cerdos), aromatizante en alimentos, agente antimicrobiano en aplicaciones farmacéuticas y precursor de biocombustibles. (Flaiz et al., 2020).

**Tabla 10.** Perfil taxonómico a nivel de Género

A. Base NCBI Standard full							
Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S.ludovici</i>	<i>C.castanea</i>	<i>C.perspicillata</i>	<i>R.alethina</i>	<i>A.rabus</i>
<i>Escherichia</i>	561	4	2	4	7		2
<i>Ralstonia</i>	48736		2		1	1	2
<i>Bordetella</i>	517		1				
<i>Salmonella</i>	590			1			
<i>Musicola</i>	2884243			1			
<i>Paracoccus</i>	265			1		1	
<i>Shigella</i>	620					1	
<i>Pseudomonas</i>	286					1	
<i>Castellaniella</i>	359336					2	
<i>Mycolicibacterium</i>	1866885					1	
<i>Alistipes</i>	239759						1

**B. Base GTDB v220**

Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S.ludovici</i>	<i>C.castanea</i>	<i>C.perspicillata</i>	<i>R.alethina</i>	<i>A.rabus</i>
<i>Ralstonia</i>	29791		2		1	1	2
<i>Castellaniella</i>	29588		1			2	
<i>Tahibacter</i>	31687		1				
<i>Paracoccus</i>	28645			1		1	5
<i>Shimwellia</i>	30552			1			
<i>Dietzia</i>	11571			1			
<i>Mycobacterium</i>	11582			1		1	
<i>Streptomyces</i>	11808				1	1	
<i>Escherichia</i>	30462				6	12	3
<i>Ottowia</i>	29745				2		
<i>Modicisalibacter</i>	31188				1		
<i>Caproicibacter</i>	14199				1		
<i>Pseudomonas_E</i>	31325					1	1
TEKIR-8	8500					1	
<i>Hyphomicrobium</i>	28101						2

En concordancia con lo mencionado anteriormente, *Escherichia coli* fue la especie bacteriana más frecuente detectada en todas las muestras, constituyendo el núcleo dominante del microbiota detectado. Aunque esta especie cumple funciones esenciales en el sistema digestivo y forma parte de la microbiota intestinal de la mayoría de los mamíferos, incluyendo la microbiota humana, puede comportarse como patógeno oportunista en humanos y otros animales (André et al., 2023b). Algunas especies animales, como los murciélagos, pueden albergar cepas patógenas para el ser humano (Nowak et al., 2017). Por ejemplo, se han detectado cepas de *E. coli* multirresistentes asociadas a enfermedades humanas en muestras de guano de murciélagos frugívoros en Polonia (Nowakiewicz et al., 2020).

Otras especies bacterianas identificadas, aunque con baja frecuencia, incluyen *Ralstonia pickettii*, *Bordetella petrii*, *Salmonella enterica*, *Castellaniella defragrans*, y *Pseudomonas rhodesiae*. La detección de *S. enterica* coincide con reportes previos en murciélagos frugívoros y en fauna silvestre (Adesiyun et al., 2009), mientras que *B. petrii* se caracteriza por su versatilidad ambiental y sus rasgos de virulencia en cepas patógenas (Gross et al., 2008). Por su parte *R. picketti* es una bacteria oportunista ambiental que se ha asociado a sistemas acuíferos y brotes nosocomiales vinculados a productos contaminados, asimismo *P. rhodesiae* se ha

descrito tanto en muestras de aguas minerales como en aislamientos clínicos (Coroler et al., 1996; Sandfort et al., 2025; Yuan et al., 2023). También se detectaron especies poco frecuentes como *Mycolicibacterium flavescens*, *Paracoccus denitrificans*, *Escherichia marmotae* y *Alistipes sp. dk3624*, cada una con una única lectura.

En términos generales, las bacterias enteropatógenas asociadas a los murciélagos pueden constituir un riesgo para la salud humana y animal. No obstante, la verdadera magnitud de ese riesgo en condiciones naturales permanece poco clara, entre otras razones por limitaciones de muestreo y diferencias metodológicas entre estudios (Carrillo-Araujo et al., 2015b; Hughes et al., 2018; Mehl et al., 2021; Xiao et al., 2019). A ello se suman variaciones ambientales tales como la dieta, temperatura y humedad, que modulan la composición microbiana y dificultan comparar estimaciones entre sitios y periodos (Klausenstock, 2016).

Aun así, la elevada diversidad de bacterias entéricas patógenas y no patógenas que hospedan los murciélagos, junto con sus rasgos ecológicos y fisiológicos los distingue como un modelo para explorar la evolución del microbioma en mamíferos (Hughes et al., 2018; Lutz et al., 2019; Nishida & Ochman, 2018). Desde la perspectiva sanitaria, existen reportes de cepas oportunistas y multirresistentes asociadas a murciélagos incluyendo *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella africana*, *K. pneumoniae* y *Streptococcus dysgalactiae* que señalan la importancia de una vigilancia integral (McDougall et al., 2021; Mioni et al., 2018; Nowakiewicz et al., 2020). En este sentido, tanto los enfoques tradicionales como aquellos basados en genómica de alto rendimiento pueden delimitar reservorios y factores de riesgo en la interacción fauna-humano-ganado, aportando evidencia útil para salud pública y conservación (De Leon et al., 2018a; Mehl et al., 2021; Xiao et al., 2019).

**Tabla 10.** Perfil taxonómico a nivel de Género

<b>A. Base NCBI Standard full</b>							
<b>Nombre</b>	<b>TID</b>	<b><i>C. brevicauda</i></b>	<b><i>S.ludovici</i></b>	<b><i>C.castanea</i></b>	<b><i>C.perspicillata</i></b>	<b><i>R.alethina</i></b>	<b><i>A.rabus</i></b>
<i>Escherichia coli</i>	562	4	2	4	6		1
<i>Ralstonia pickettii</i>	329		2				2

<i>Bordetella petrii</i>	94624	1					
<i>Salmonella enterica</i>	28901		1				
<i>Musicola paradisiaca</i>	69223		1				
<i>Paracoccus marcusii</i>	59779		1				
<i>Homo sapiens</i>	9606		2	2	5	1	
<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	76760					1	
<i>Castellaniella defragrans</i>	75697					2	
<i>Ralstonia insidiosa</i>	190721					1	
<i>Paracoccus denitrificans</i>	266					1	
<i>Mycolicibacterium flavescens</i>	1776					1	
<i>Escherichia marmotae</i>	1499973						1
<i>Alistipes sp. dk3624</i>	2662363						1

**B. Base GTDB v220**

Nombre	TID	<i>C. brevicauda</i>	<i>S.ludovici</i>	<i>C.castanea</i>	<i>C.perspicillata</i>	<i>R.alethina</i>	<i>A.rabus</i>
<i>Ralstonia pickettii</i>	128607		1			1	1
<i>Ralstonia sp007997035</i>	128619		1				
<i>Castellaniella denitrificans</i>	126808		1				
<i>Tahibacter soli</i>	140652		1				
<i>Paracoccus sp016869875</i>	121885			1			
<i>Shimwellia pseudoproteus</i>	133496			1			
<i>Dietzia aerolata</i>	46270			1			
<i>Mycobacterium mantenii</i>	46521			1			
<i>Streptomyces sp029269835</i>	49813				1		
<i>Escherichia coli</i>	133040				3	6	
<i>Escherichia albertii</i>	133039				1		
<i>Escherichia coli_F</i>	133042				1	1	
<i>Ottowia beijingensis</i>	127823				2		
<i>Modicisalibacter sp900961225</i>	136816				1		
<i>Caproicibacter sp023412715</i>	64408				1		
<i>Escherichia sp004211955</i>	133047					1	2
<i>Escherichia sp005843885</i>	133048					1	1
<i>Castellaniella defragrans</i>	126807					1	
<i>Castellaniella sp002421865</i>	126809					1	
<i>Pseudomonas_E rhodesiae</i>	138547					1	

<i>Paracoccus methylovorus</i>	121851	1
<i>Streptomyces malachitofuscus</i>	49255	1
<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	46507	1
<i>TEKIR-8 sp014730295</i>	33691	1
<i>Paracoccus sp029309835</i>	121893	5
<i>Hyphomicrobium_A sp029872155</i>	118779	2
<i>AWTP1-13 sp003963125</i>	118735	1
<i>Ralstonia pickettii_B</i>	128609	1
<i>Pseudomonas_E yangonensis</i>	138958	1

Como se visualizó en el análisis de los resultados, la base de datos de GTDB v220 (2024) presentó resultados más completos, que NCBI RefSeq (2022); dado que tiene una cobertura genómica más amplia basada en genomas completos, con una curación más reciente de los datos. Por tanto, la elección de la base de datos de referencia es un factor crucial en las clasificaciones taxonómicas de Kraken2. Idealmente, la base de datos de referencia debería incluir una amplia gama de genomas microbianos para garantizar una amplia cobertura de organismos potenciales en una muestra (Liu et al., 2024; CosmosID, s.f.).

## 6. Conclusiones

---

A nivel taxonómico, en todas las especies analizadas predominó el filo Proteobacteria, con Gammaproteobacteria y órdenes como Enterobacterales, siendo *Escherichia* el género que se distingue como componente central. No obstante, la composición del microbioma en cada especie varía, mostrando ser un microbioma flexible pero funcionalmente eficaz para las demandas fisiológicas y metabólicas de cada hospedador.

En términos de implicaciones, los resultados sugieren priorizar análisis centrados en el núcleo de Proteobacterias para explorar las diversas funciones digestivas e inmunológicas asociadas y mantener la vigilancia, dada la detección, aunque minoritaria, de géneros clínicamente relevantes como *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* y *Pseudomonas*.

La variabilidad del microbioma bacteriano en murciélagos responde a la interacción de tres factores principales. Los patrones dietéticos, que seleccionan funciones y taxones asociados al procesamiento de nutrientes, las adaptaciones ecológicas como los refugios, el clima y la estructura social de las colonias, que pueden actuar como filtros ambientales y vías de transmisión y los rasgos fisiológicos propios del hospedador, es decir, la hibernación, el metabolismo asociado al vuelo, o el estado reproductivo, que reconfiguran estacionalmente la estructura de la comunidad microbiana.

Esta investigación permitió demostrar la utilidad de la investigación centrada en metagenómica y delinear pasos concretos para profundizar en la función, estabilidad y riesgo zoonótico del microbioma de murciélagos neotropicales.

## 7. Anexos

### ANEXO A. Contrato Marco MAATE



**CONTRATO MARCO DE ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DENOMINADO: "CARACTERIZACIÓN DEL VIROMA DE MURCIÉLAGOS Y ROEDORES DEL NOROCCIDENTE DEL ECUADOR Y SU POTENCIAL ZONÓTICO MEDIANTE TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA" CELEBRADO ENTRE EL MINISTERIO DEL AMBIENTE, AGUA Y TRANSICIÓN ECOLÓGICA, A TRAVÉS DE LA SUBSECRETARÍA DE PATRIMONIO NATURAL; Y, LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**

MAATE-DBI-CM-2023-0294

#### COMPARECIENTES:

A la suscripción del presente **Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos** comparecen, por una parte el **Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica**, a través de la Subsecretaría de Patrimonio Natural, legalmente representado por el Lcdo. **LUIS RAFAEL CUMBA ENDARA**, en su calidad de Subsecretario de Patrimonio Natural, conforme Acción de Personal Nro. 0731 de 24 de Mayo de 2023, y delegación contenida en el Acuerdo Ministerial Nro. MAAE-2020-24 de 31 de agosto de 2020, a quien en adelante se le denominará **"MAATE"**; y, por otra, la **Universidad Central del Ecuador**, legalmente representada por la Dra. **MARÍA MERCEDES GAVILÁNEZ ENDARA**, en su calidad de Vicerrectora de Investigación, Doctorados e Innovación, quien actúa por delegación, conforme copia certificada de la RESOLUCIÓN No. R-23-2021 de 14 de junio de 2021, emitida por el Dr. Fernando Sempértegui Ontaneda, Rector de la Universidad Central del Ecuador, que se agrega como documento habilitante, y a quien en adelante se le denominará **"UCE"**.

Las partes convienen en celebrar, el presente **Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos** respecto de la solicitud del proyecto de investigación científica denominado: **"CARACTERIZACIÓN DEL VIROMA DE MURCIÉLAGOS Y ROEDORES DEL NOROCCIDENTE DEL ECUADOR Y SU POTENCIAL ZONÓTICO MEDIANTE TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA"**, contenido y estipulado en las siguientes cláusulas:

#### PRIMERA. ANTECEDENTES.-

1. El numeral 7, del artículo 3 de la Constitución de la República del Ecuador establece que son deberes primordiales del Estado: "(...)7. *Proteger el patrimonio natural y cultural del país. (...)*".
2. El artículo 14 de la Constitución de la República del Ecuador, determina que: "...Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*. **Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados...**" (lo destacado en

## ANEXO B. Código utilizado para comprimir archivos de secuencias

```
$ tar -cvf archivos.fast5.tar ~/Desktop/barcode01/*.fast5
```

Donde:

tar: es el comando general para comprimir archivos.

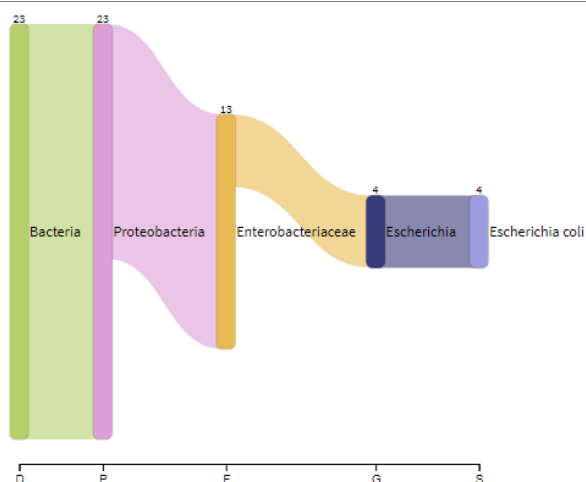
-c : permite crear un nuevo archivo tar.

-v: muestra en pantalla los archivos que se están generando.

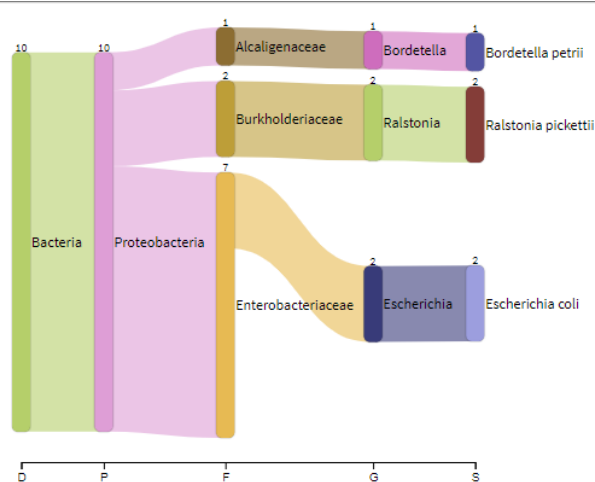
-f: indica el nombre del archivo que se va a crear.

## ANEXO C. Perfil taxonómico del microbioma por especie base estándar de NCBI Standard full

a. *Carollia brevicauda*

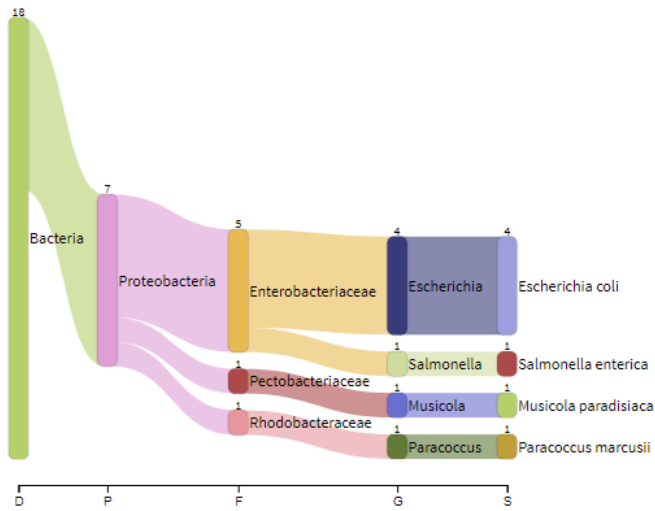


b. *Sturnira ludovici*

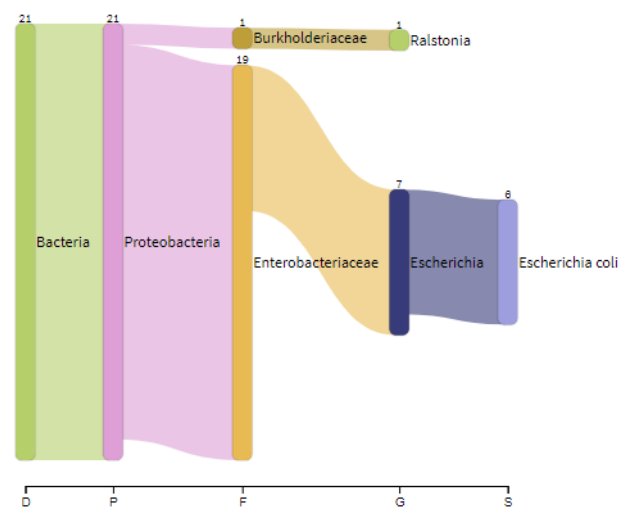


c. *Carollia castanea*

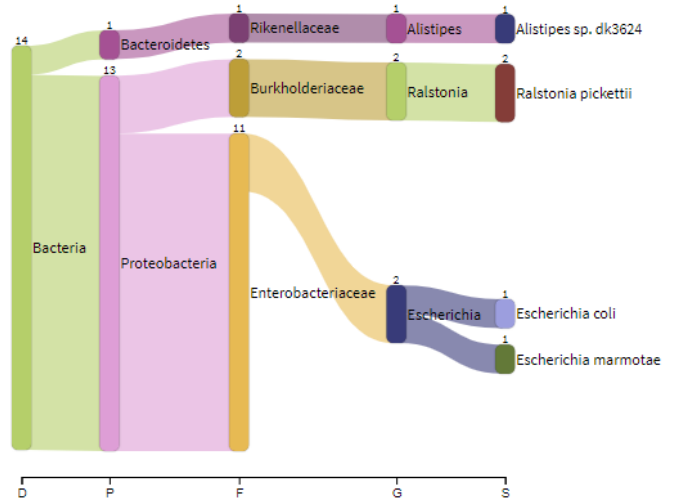
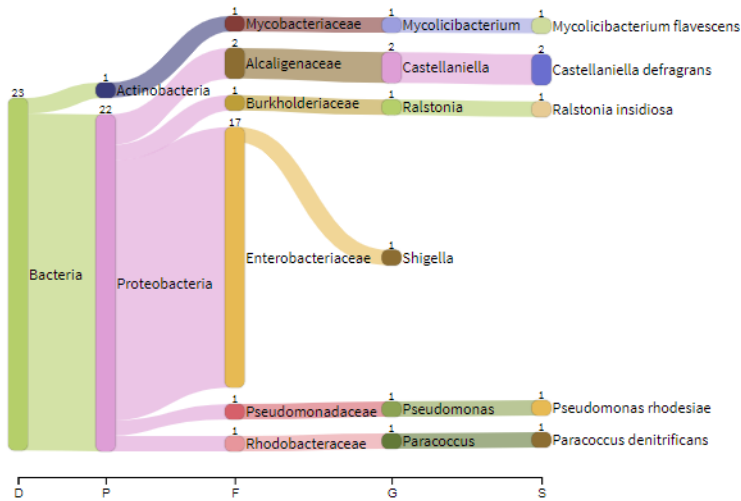
d. *Carollia perspicillata*



e. *Rhinophylla alethina*



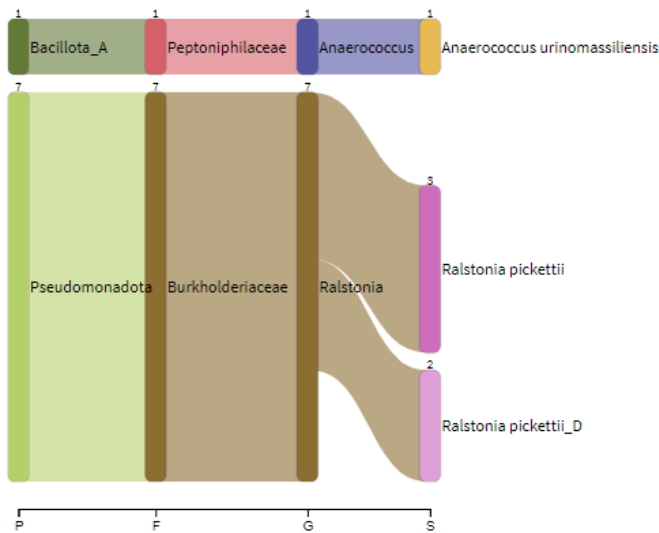
f. *Artibeus rabus*



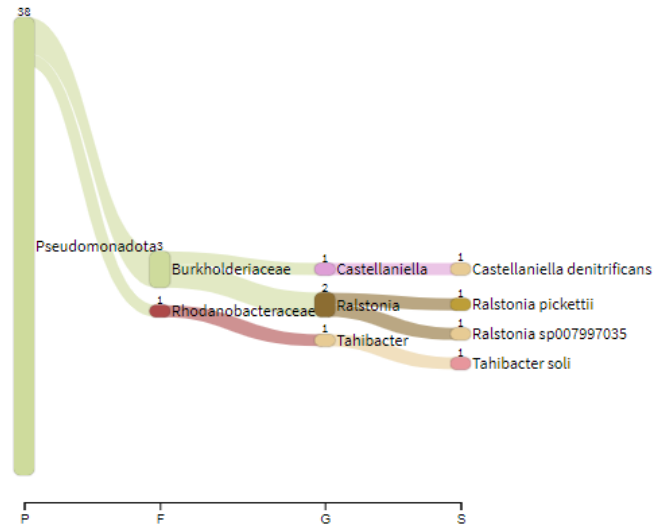
**ANEXO D. Perfil taxonómico del microbioma por especie, base GTDB v220 (Bacterial and Archaeal)**

a. *Carollia brevicauda*

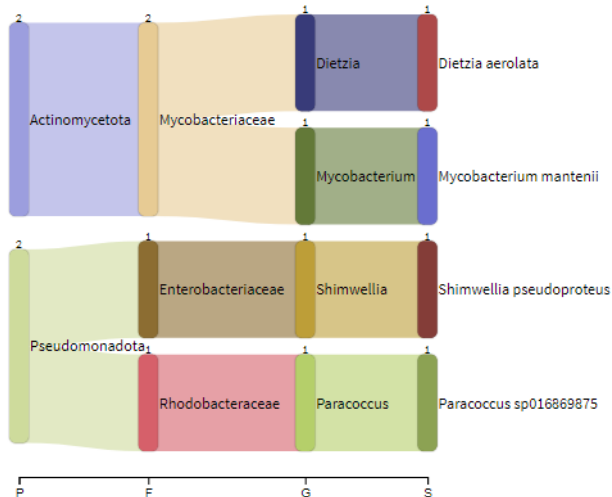
b. *Sturnira ludovici*



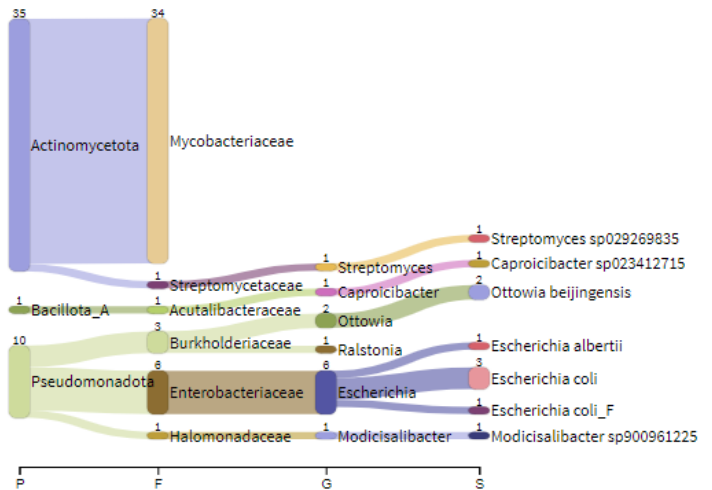
c. *Carollia castanea*



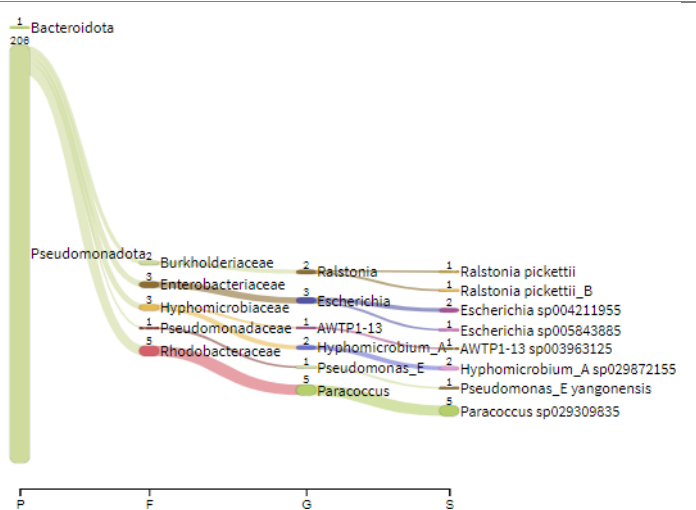
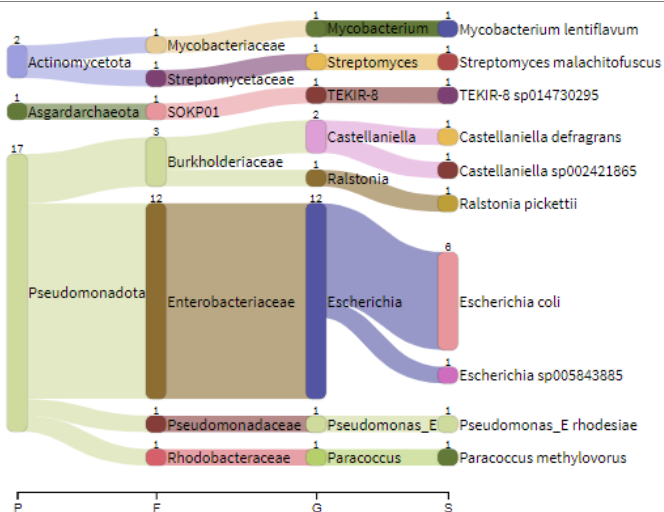
d. *Carollia perspicillata*



e. *Rhinophylla alethina*



f. *Artibeus rabus*



## Referencias

- Adesiyun, A. A., Stewart-Johnson, A., & Thompson, N. N. (2009). Isolation of enteric pathogens from bats in trinidad. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(4), 952–961. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.4.952>
- Allocati, N., Petrucci, A. G., Di Giovanni, P., Masulli, M., Di Ilio, C., & De Laurenzi, V. (2016a). Bat–man disease transmission: zoonotic pathogens from wildlife reservoirs to human populations. *Cell Death Discovery*, 2(1). <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2016.48>
- Allocati, N., Petrucci, A. G., Di Giovanni, P., Masulli, M., Di Ilio, C., & De Laurenzi, V. (2016b). Bat–man disease transmission: zoonotic pathogens from wildlife reservoirs to human populations. In *Cell Death Discovery* (Vol. 2, Issue 1). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2016.48>
- André, M. R., Ikeda, P., Lee, D. A. B., do Amaral, R. B., Carvalho, L. A. L., Pinheiro, D. G., Torres, J. M., de Mello, V. V. C., Rice, G. K., Cer, R. Z., Lourenço, E. C., Oliveira, C. E., Herrera, H. M., Barros-Battesti, D. M., Machado, R. Z., Bishop-Lilly, K. A., Dalgard, C. L., & Dumler, J. S. (2023a). Characterization of the bacterial microbiome of non-hematophagous bats and associated ectoparasites from Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 14(October). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1261156>
- André, M. R., Ikeda, P., Lee, D. A. B., do Amaral, R. B., Carvalho, L. A. L., Pinheiro, D. G., Torres, J. M., de Mello, V. V. C., Rice, G. K., Cer, R. Z., Lourenço, E. C., Oliveira, C. E., Herrera, H. M., Barros-Battesti, D. M., Machado, R. Z., Bishop-Lilly, K. A., Dalgard, C. L., & Dumler, J. S. (2023b). Characterization of the bacterial microbiome of non-hematophagous bats and associated ectoparasites from Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1261156>
- Banskar, S., Mourya, D. T., & Shouche, Y. S. (2016). Bacterial diversity indicates dietary overlap among bats of different feeding habits. *Microbiological Research*, 182, 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.10.006>
- Bazzoni, E., Cacciotto, C., Zobba, R., Pittau, M., Martella, V., & Alberti, A. (2024). Bat Ecology and Microbiome of the Gut: A Narrative Review of Associated Potentials in Emerging and Zoonotic Diseases. In *Animals* (Vol. 14, Issue 20). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ani14203043>
- Becker, D. J., Bergner, L. M., Bentz, A. B., Orton, R. J., Altizer, S., & Streicker, D. G. (2018). Genetic diversity, infection prevalence, and possible transmission routes of Bartonella spp. in vampire bats. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006786>
- Berman, T. S., Weinberg, M., Moreno, K. R., Cziráj, G., & Yovel, Y. (2023). In sickness and in health: the dynamics of the fruit bat gut microbiota under a bacterial antigen challenge and its association with the immune response. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1152107>
- Blankenberg, D., Gordon, A., Von Kuster, G., Coraor, N., Taylor, J., Nekrutenko, A., & Team, G. (2010). Manipulation of FASTQ data with galaxy. *Bioinformatics*, 26(14), 1783–1785. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq281>

- Bohling, J. (2020). Evaluating the effect of reference genome divergence on the analysis of empirical RADseq datasets. *Ecology and Evolution*, 10(14), 7585–7601. <https://doi.org/10.1002/ece3.6483>
- Bonilla-Aldana, D. K., Jimenez-Diaz, S. D., Arango-Duque, J. S., Aguirre-Florez, M., Balbin-Ramon, G. J., Paniz-Mondolfi, A., Suárez, J. A., Pachar, M. R., Perez-Garcia, L. A., Delgado-Noguera, L. A., Sierra, M. A., Muñoz-Lara, F., Zambrano, L. I., & Rodriguez-Morales, A. J. (2021). Bats in ecosystems and their Wide spectrum of viral infectious potential threats: SARS-CoV-2 and other emerging viruses. *International Journal of Infectious Diseases*, 102, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.08.050>
- Breitwieser, F. P., & Salzberg, S. L. (2016). *Pavian: Interactive analysis of metagenomics data for microbiomics and pathogen identification*. <https://doi.org/10.1101/084715>
- Brussel, K., & Holmes, E. (2022). Zoonotic disease and virome diversity in bats Kate. *Elsevier*, 52, 192–202.
- Budkina, A. Y., Korneenko, E. V., Kotov, I. A., Kiselev, D. A., Artyushin, I. V., Speranskaya, A. S., Khafizov, K., & Akimkin, V. G. (2021). Utilizing the viridal pipeline to search for viruses in the metagenomic data of bat samples. *Viruses*, 13(10), 1–14. <https://doi.org/10.3390/v13102006>
- Calderon, A., Guzman, C., Salazar-bravo, J., Tadeu, L., & Mattar, S. (2016). Viral Zoonoses That Fly with Bats : A Review. *MANTER: Journal of Parasite Biodiversity*, 7, 1–13.
- Calisher, C. H., Childs, J. E., Field, H. E., Holmes, K. V., & Schountz, T. (2006). Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 531–545. <https://doi.org/10.1128/CMR.00017-06>
- Carrera-E, J. P., Solari, S., Ordonez, N., & Balaguera-Reina, S. A. (2019). Phyllostomid bats as a model to test zoogeographic units in Ecuador. *Museum Texas Teach*, 1(71), 309–331. <https://www.researchgate.net/publication/336441456>
- Carrillo-Araujo, M., Tas, N., Alcántara-Hernández, R. J., Gaona, O., Schondube, J. E., Medellín, R. A., Jansson, J. K., & Falcón, L. I. (2015a). Phyllostomid bat microbiome composition is associated to host phylogeny and feeding strategies. *Frontiers in Microbiology*, 6(MAY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00447>
- Carrillo-Araujo, M., Tas, N., Alcántara-Hernández, R. J., Gaona, O., Schondube, J. E., Medellín, R. A., Jansson, J. K., & Falcón, L. I. (2015b). Phyllostomid bat microbiome composition is associated to host phylogeny and feeding strategies. *Frontiers in Microbiology*, 6(MAY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00447>
- Chaumeil, P. A., Mussig, A. J., Hugenholtz, P., & Parks, D. H. (2022). GTDB-Tk v2: memory friendly classification with the genome taxonomy database. *Bioinformatics*, 38(23), 5315–5316. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac672>
- Chen, L., Liu, B., Yang, J., & Jin, Q. (2014). DBatVir: The database of bat-associated viruses. *Database*, 2014, 1–7. <https://doi.org/10.1093/database/bau021>
- Chionh, Y. T., Cui, J., Koh, J., Mendenhall, I. H., Ng, J. H. J., Low, D., Itahana, K., Irving, A. T., & Wang, L. F. (2019). High basal heat-shock protein expression in bats confers resistance to cellular heat/oxidative stress. *Cell Stress and Chaperones*, 24(4), 835–849. <https://doi.org/10.1007/s12192-019-01013-y>
- Cholleti, H. ;, de Jong, J. ;, Blomström, A. ;, & Berg, M. (2022). Characterization of *Pipistrellus pygmaeus* Bat Virome from Sweden. *Viruses*, 14(2), 1–16. <https://doi.org/10.1191/0269216303pm716op>

- Cicuttin, G. L., Boeri, E. J., Beltrán, F. J., & Dohmen, F. E. G. (2013). Molecular detection of neorickettsia risticii in brazilian free-tailed bats (Tadarida brasiliensis) from Buenos Aires, Argentina. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 33(5), 648–650. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000500016>
- Cláudio, V. C., Gonzalez, I., Barbosa, G., Rocha, V., Moratelli, R., & Rassy, F. (2018). Bacteria richness and antibiotic-resistance in bats from a protected area in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *PLoS ONE*, 13(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203411>
- Cock, P. J. A., Fields, C. J., Goto, N., Heuer, M. L., & Rice, P. M. (2009). The Sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants. *Nucleic Acids Research*, 38(6), 1767–1771. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp1137>
- Corduneanu, A., Mihalca, A. D., Sándor, A. D., Hornok, S., Malmberg, M., Viso, N. P., & Bongcam-Rudloff, E. (2021a). The heart microbiome of insectivorous bats from Central and South Eastern Europe. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 75(December 2020). <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101605>
- Corduneanu, A., Mihalca, A. D., Sándor, A. D., Hornok, S., Malmberg, M., Viso, N. P., & Bongcam-Rudloff, E. (2021b). The heart microbiome of insectivorous bats from Central and South Eastern Europe. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 75. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101605>
- Coroler, L., Elomari, M., Hoste, B., Gillis, M., Izard, D., & Leclerc, H. (1996). Pseudomonas rhodesiae sp. nov., a new species isolated from natural mineral waters. *Systematic and Applied Microbiology*, 19(4), 600–607. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(96\)80032-4](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(96)80032-4)
- CosmosID. (s. f.). GTDB and NCBI taxonomy comparison [Technical appendix]. CosmosID Docs. Recuperado el 10 de noviembre de 2025, de <https://docs.cosmosid.com/docs/technical-appendix/gtdb-and-ncbi-taxonomy-comparison>
- Dacheux, L., Cervantes-Gonzalez, M., Guigon, G., Thiberge, J. M., Vandenbergert, M., Maufrais, C., Caro, V., & Bourhy, H. (2014). A preliminary study of viral metagenomics of french bat species in contact with humans: Identification of new mammalian viruses. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087194>
- Danecek, P., Bonfield, J. K., Liddle, J., Marshall, J., Ohan, V., Pollard, M. O., Whitwham, A., Keane, T., McCarthy, S. A., & Davies, R. M. (2021). Twelve years of SAMtools and BCFTools. *GigaScience*, 10(2). <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>
- De Coster, W., D’Hert, S., Schultz, D. T., Cruts, M., & Van Broeckhoven, C. (2018). NanoPack: Visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics*, 34(15), 2666–2669. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty149>
- De Leon, M. P., Montecillo, A. D., Pinili, D. S., Siringan, M. A. T., & Park, D. S. (2018a). Bacterial diversity of bat guano from Cabalyorisa Cave, Mabini, Pangasinan, Philippines: A first report on the metagenome of Philippine bat guano. *PLoS ONE*, 13(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200095>
- De Leon, M. P., Montecillo, A. D., Pinili, D. S., Siringan, M. A. T., & Park, D. S. (2018b). Erratum: Bacterial diversity of bat guano from cabalyorisa cave, mabini, pangasinan, philippines: A first report on the metagenome of philippine bat guano

- (PLoS ONE (2018) 13:10 (e0205947) DOI: 10.1371/journal.pone.0200095). *PLoS ONE*, 13(10), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205947>
- De Oliveira, M. B., & Bonvicino, C. R. (2021). Incidence of Viruses in Neotropical Bats. *Acta Chiropterologica*, 22(2), 461–489. <https://doi.org/10.3161/15081109ACC2020.22.2.018>
- Dhivahar, J., Parthasarathy, A., Krishnan, K., Kovi, B. S., & Pandian, G. N. (2023). Bat-associated microbes: Opportunities and perils, an overview. In *Heliyon* (Vol. 9, Issue 12). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22351>
- Dietrich, M., Kearney, T., Seamark, E. C. J., Paweska, J. T., & Markotter, W. (2018a). Synchronized shift of oral, faecal and urinary microbiotas in bats and natural infection dynamics during seasonal reproduction. *Royal Society Open Science*, 5(5). <https://doi.org/10.1098/rsos.180041>
- Dietrich, M., Kearney, T., Seamark, E. C. J., Paweska, J. T., & Markotter, W. (2018b). Synchronized shift of oral, faecal and urinary microbiotas in bats and natural infection dynamics during seasonal reproduction. *Royal Society Open Science*, 5(5). <https://doi.org/10.1098/rsos.180041>
- Dimkić, I., Fira, D., Janakiev, T., Kabić, J., Stupar, M., Nenadić, M., Unković, N., & Grbić, M. L. (2021a). The microbiome of bat guano: for what is this knowledge important? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(4), 1407–1419. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11143-y>
- Dimkić, I., Fira, D., Janakiev, T., Kabić, J., Stupar, M., Nenadić, M., Unković, N., & Grbić, M. L. (2021b). The microbiome of bat guano: for what is this knowledge important? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, 1407–1419. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11143-y/Published>
- Drexler, J. F., Corman, V. M., Müller, M. A., Maganga, G. D., Vallo, P., Binger, T., Gloza-Rausch, F., Rasche, A., Yordanov, S., Seebens, A., Oppong, S., Sarkodie, Y. A., Pongombo, C., Lukashev, A. N., Schmidt-Chanasit, J., Stöcker, A., Carneiro, A. J. B., Erbar, S., Maisner, A., ... Drosten, C. (2012). Bats host major mammalian paramyxoviruses. *Nature Communications*, 3. <https://doi.org/10.1038/ncomms1796>
- Eisenhofer, R., Odriozola, I., & Alberdi, A. (2023). Impact of microbial genome completeness on metagenomic functional inference. *ISME Communications*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/s43705-023-00221-z>
- Flaiz, M., Baur, T., Brahner, S., Poehlein, A., Daniel, R., & Bengelsdorf, F. R. (2020). *Caproicibacter fermentans* gen. Nov., sp. nov., a new caproate-producing bacterium and emended description of the genus *caproiciproducens*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(7), 4269–4279. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004283>
- Galaxy Australia. (s. f.). Galaxy Australia platform. Recuperado el 30 de noviembre de 2025, de <https://usegalaxy.org.au/>
- Galicia, M. M., Buenrostro, A., & García, J. (2014). *Diversidad específica bacteriana en murciélagos de distintos gremios alimenticios en la sierra sur de Oaxaca, México*.
- Gam, Z. B. A., Abdelkafi, S., Casalot, L., Tholozan, J. L., Oueslati, R., & Labat, M. (2007). *Modicisalibacter tunisiensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic, moderately halophilic bacterium isolated from an oilfield-water injection sample, and emended description of the family Halomonadaceae Franzmann et al. 1989 emend. Ntougias

- et al. 2007. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(10), 2307–2313. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65088-0>
- Gamaarachchi, H., Samarakoon, H., Jenner, S. P., Ferguson, J. M., Amos, T. G., Hammond, J. M., Saadat, H., Smith, M. A., Parameswaran, S., & Deveson, I. W. (2022). Fast nanopore sequencing data analysis with SLOW5. *Nature Biotechnology*, 40(7), 1026–1029. <https://doi.org/10.1038/s41587-021-01147-4>
- Goff, J. L., Szink, E. G., Durrence, K. L., Lui, L. M., Nielsen, T. N., Kuehl, J. V., Hunt, K. A., Chandonia, J. M., Huang, J., Thorgersen, M. P., Poole, F. L., Stahl, D. A., Chakraborty, R., Deutschbauer, A. M., Arkin, A. P., & Adams, M. W. W. (2024). Genomic and environmental controls on *Castellaniella* biogeography in an anthropogenically disturbed subsurface. *Environmental Microbiome*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00570-9>
- Gross, R., Guzman, C. A., Sebahia, M., Martins dos Santos, V. A. P., Pieper, D. H., Koebnik, R., Lechner, M., Bartels, D., Buhrmester, J., Choudhuri, J. V., Ebensen, T., Gaigalat, L., Herrmann, S., Khachane, A. N., Larisch, C., Link, S., Linke, B., Meyer, F., Mormann, S., ... Martinez-Arias, R. (2008). The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of environmental bacteria and virulence traits of pathogenic *Bordetellae*. *BMC Genomics*, 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-449>
- Hamm, P. S., Caimi, N. A., Northup, D. E., Valdez, E. W., Buecher, D. C., Dunlap, C. A., Labeda, D. P., Lueschow, S., & Porras-Alfaro, A. (2017). Western bats as a reservoir of novel *Streptomyces* species with antifungal activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(5). <https://doi.org/10.1128/AEM.03057-16>
- Han, H. J., Wen, H. ling, Zhou, C. M., Chen, F. F., Luo, L. M., Liu, J. wei, & Yu, X. J. (2015). Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases. *Virus Research*, 205, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.05.006>
- Hardmeier, I., Aeberhard, N., Qi, W., Schoenbaechler, K., Kraettli, H., Hatt, J. M., Fraefel, C., & Kubacki, J. (2021). Metagenomic analysis of fecal and tissue samples from 18 endemic bat species in Switzerland revealed a diverse virus composition including potentially zoonotic viruses. In *PLoS ONE* (Vol. 16, Issue 6 June 2021). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252534>
- Hayman, D. T. S., Bowen, R. A., Cryan, P. M., Mccracken, G. F., O’Shea, T. J., Peel, A. J., Gilbert, A., Webb, C. T., & Wood, J. L. N. (2013). Ecology of Zoonotic Infectious Diseases in Bats: Current Knowledge and Future Directions. *Zoonoses and Public Health*, 60(1), 2–21. <https://doi.org/10.1111/zph.12000>
- Herbst, L. H. (1986). *The Role of Nitrogen from Fruit Pulp in the Nutrition of the Frugivorous Bat *Carollia perspicillata**.
- Huang, Y., Schomer, R., Reyes, M. J. R., Costa, K., Parales, R. E., Whitaker, R., & Dawson, S. C. (2024). Metagenome-assembled genomes of freshwater *Hyphomicrobium* sp. G-191 and *Methylophilus* sp. enriched from Cedar Swamp, Woods Hole, MA . *Microbiology Resource Announcements*, 13(12). <https://doi.org/10.1128/mra.00608-24>
- Huang, Y., Sun, Y., Huang, Q., Lv, X., Pu, J., Zhu, W., Lu, S., Jin, D., Liu, L., Shi, Z., Yang, J., & Xu, J. (2022). The Threat of Potentially Pathogenic Bacteria in the Feces of Bats. *Microbiology Spectrum*, 10(6). <https://doi.org/10.1128/spectrum.01802-22>

- Hughes, G. M., Leech, J., Puechmaille, S. J., Lopez, J. V., & Teeling, E. C. (2018). Is there a link between aging and microbiome diversity in exceptional mammalian longevity? *PeerJ*, 2018(1). <https://doi.org/10.7717/peerj.4174>
- Ikeda, P., Torres, J. M., Perles, L., Lourenço, E. C., Herrera, H. M., de Oliveira, C. E., Machado, R. Z., & André, M. R. (2020). Intra-and inter-host assessment of bartonella diversity with focus on non-hematophagous bats and associated ectoparasites from Brazil. *Microorganisms*, 8(11), 1–20. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111822>
- Ingala, M. R., Simmons, N. B., Dunbar, M., Wultsch, C., Krampis, K., & Perkins, S. L. (2021). You are more than what you eat: potentially adaptive enrichment of microbiome functions across bat dietary niches. *Animal Microbiome*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s42523-021-00139-8>
- Ingala, M. R., Simmons, N. B., Wultsch, C., Krampis, K., Speer, K. A., & Perkins, S. L. (2018). Comparing microbiome sampling methods in a wild mammal: Fecal and intestinal samples record different signals of host ecology, evolution. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00803>
- Karasov, W. H., Martínez Del Rio, C., & Caviedes-Vidal, E. (2011). Ecological physiology of diet and digestive systems. *Annual Review of Physiology*, 73, 69–93. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142152>
- Kasso, M., & Balakrishnan, M. (2013). Ecological and Economic Importance of Bats (Order Chiroptera). *ISRN Biodiversity*, 2013, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/187415>
- Klausenstock, M. (2016). *An observational study of how diet affects the presence of oral microbiota in bats, May 2016*. [https://digitalcommons.usf.edu/tropical\\_ecology](https://digitalcommons.usf.edu/tropical_ecology)
- Kunz, T. H., de Torrez, E. B., Bauer, D., Lobo, T., & Fleming, T. H. (2011). Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1223(1), 1–38. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06004.x>
- Ley, R. E., Lozupone, C. A., Hamady, M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2008). *Microbiota Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota*. [www.nature.com/reviews/micro](http://www.nature.com/reviews/micro)
- Li, H. (2018). *Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
- Liu, Y., Ghaffari, M. H., Ma, T., & Tu, Y. (2024). Impact of database choice and confidence score on the performance of taxonomic classification using Kraken2. *ABIOTECH*, 5(4), 465–475. <https://doi.org/10.1007/s42994-024-00178-0>
- Loman, N., & Quinlan, A. (2014). *Poretools Documentation*.
- Lutz, H. L., Gilbert, J. A., & Dick, C. W. (2022a). Associations between Afrotropical bats, eukaryotic parasites, and microbial symbionts. *Molecular Ecology*, 31(7), 1939–1950. <https://doi.org/10.1111/mec.16044>
- Lutz, H. L., Gilbert, J. A., & Dick, C. W. (2022b). Associations between Afrotropical bats, eukaryotic parasites, and microbial symbionts. *Molecular Ecology*, 31(7), 1939–1950. <https://doi.org/10.1111/mec.16044>
- Lutz, H. L., Jackson, E. W., Webala, P. W., Babyesiza, W. S., Kerbis Peterhans, J. C., Demos, T. C., Patterson, B. D., & Gilbert, J. A. (2019). *Ecology and Host Identity Outweigh Evolutionary History in Shaping the Bat Microbiome*. <https://doi.org/10.1128/mSystems>

- Makanya, A. N., & Mortola, J. P. (2007). The structural design of the bat wing web and its possible role in gas exchange. *Journal of Anatomy*, 211(6), 687–697. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2007.00817.x>
- Matei, I. A., Estrada-Peña, A., Cutler, S. J., Vayssier-Taussat, M., Varela-Castro, L., Potkonjak, A., Zeller, H., & Mihalca, A. D. (2019). A review on the eco-epidemiology and clinical management of human granulocytic anaplasmosis and its agent in Europe. In *Parasites and Vectors* (Vol. 12, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3852-6>
- McDougall, F. K., Wyres, K. L., Judd, L. M., Boardman, W. S. J., Holt, K. E., & Power, M. L. (2021). Novel strains of *Klebsiella africana* and *Klebsiella pneumoniae* in Australian fruit bats (*Pteropus poliocephalus*). *Research in Microbiology*, 172(7–8). <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2021.103879>
- McKee, C. D., Bai, Y., Webb, C. T., & Kosoy, M. Y. (2021). Bats are key hosts in the radiation of mammal-associated *Bartonella* bacteria. *Infection, Genetics and Evolution*, 89. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104719>
- Mehl, C., Schoeman, M. C., Sanko, T. J., Bezuidenhout, C., Mienie, C. M. S., Preiser, W., & Vosloo, D. (2021). Wastewater treatment works change the intestinal microbiomes of insectivorous bats. *PLoS ONE*, 16(3 March). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247475>
- Mioni, M. D. S. R., Castro, F. F. C., Moreno, L. Z., Apolinário, C. M., Belaz, L. D., Peres, M. G., Ribeiro, B. L. D., Castro, M. J. D. S., Ferreira, A. M., Cortez, A., Moreno, A. M., Heinemann, M. B., & Megid, J. (2018). Septicemia due to *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *dysgalactiae* in vampire bats (*Desmodus rotundus*). *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28061-1>
- Modra, H., Bartos, M., Hribova, P., Ulmann, V., Hubelova, D., Konecny, O., Gersl, M., Kudelka, J., Voros, D., & Pavlik, I. (2017). Detection of mycobacteria in the environment of the Moravian Karst (Bull Rock Cave and the relevant water catchment area): The impact of water sediment, earthworm castings and bat guano. *Veterinarni Medicina*, 62(3), 153–168. <https://doi.org/10.17221/126/2016-VETMED>
- Morni, M. A., William-Dee, J., Jinggong, E. R., Al-Shuhada Sabaruddin, N., Azhar, N. A. A., Iman, M. A., Larsen, P. A., Seelan, J. S. S., Bilung, L. M., & Khan, F. A. A. (2025). Gut microbiome community profiling of Bornean bats with different feeding guilds. *Animal Microbiome*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s42523-025-00389-w>
- Mühldorfer, K. (2013). Bats and Bacterial Pathogens: A Review. *Zoonoses and Public Health*, 60(1), 93–103. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01536.x>
- Nam, N. N., Do, H. D. K., Loan Trinh, K. T., & Lee, N. Y. (2023). Metagenomics: An Effective Approach for Exploring Microbial Diversity and Functions. In *Foods* (Vol. 12, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods12112140>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2021, March 19). About RefSeq. National Library of Medicine. Recuperado el 7 de noviembre de 2025.
- Nishida, A. H., & Ochman, H. (2018). Rates of gut microbiome divergence in mammals. *Molecular Ecology*, 27(8), 1884–1897. <https://doi.org/10.1111/mec.14473>
- Nowak, K., Fahr, J., Weber, N., Lübke-Becker, A., Semmler, T., Weiss, S., Mombouli, J. V., Wieler, L. H., Guenther, S., Leendertz, F. H., & Ewers, C. (2017). Highly diverse and antimicrobial susceptible *Escherichia coli* display a naïve bacterial population in

- fruit bats from the Republic of Congo. *PLoS ONE*, 12(7).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178146>
- Nowakiewicz, A., Zięba, P., Gnat, S., Trościańczyk, A., Osińska, M., Łagowski, D., Kosior-Korzecka, U., & Puzio, I. (2020). Bats as a reservoir of resistant *Escherichia coli*: A methodical view. Can we fully estimate the scale of resistance in the reservoirs of free-living animals? *Research in Veterinary Science*, 128, 49–58.  
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.10.017>
- Ochman, H., Worobey, M., Kuo, C. H., Ndjango, J. B. N., Peeters, M., Hahn, B. H., & Hugenholtz, P. (2010). Evolutionary relationships of wild hominids recapitulated by gut microbial communities. *PLoS Biology*, 8(11).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000546>
- Oxford Nanopore Technologies. (s.f.). Basecalling overview: Basecalling pipeline. Dorado documentation. Recuperado el 2 de noviembre de 2025, de [https://software-docs.nanoporetech.com/dorado/latest/basecaller/basecall\\_overview/#basecalling-pipeline](https://software-docs.nanoporetech.com/dorado/latest/basecaller/basecall_overview/#basecalling-pipeline)
- Oxford Nanopore Technologies. (2025a). *Input DNA/RNA QC*.
- Oxford Nanopore Technologies. (2025b). *MINION: PROTOCOL MinION Mk1D user manual (M1D\_9214\_v1\_revF\_30Jun2025)*.
- Pavlik, I., Ulmann, V., Modra, H., Gersl, M., Rantova, B., Zupal, J., Zupalova, K., Konecny, O., Kana, V., Kubalek, P., Babak, V., & Weston, R. T. (2021a). *Institute of Vertebrate Biology of the Czech Academy of Sciences, v.v.i., Kvetna 8, 603 65 Brno*.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms>
- Pavlik, I., Ulmann, V., Modra, H., Gersl, M., Rantova, B., Zupal, J., Zupalova, K., Konecny, O., Kana, V., Kubalek, P., Babak, V., & Weston, R. T. (2021b). *Institute of Vertebrate Biology of the Czech Academy of Sciences, v.v.i., Kvetna 8, 603 65 Brno*.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms>
- Pavlovich, S. S., Lovett, S. P., Koroleva, G., Guito, J. C., Arnold, C. E., Nagle, E. R., Kulcsar, K., Lee, A., Thibaud-Nissen, F., Hume, A. J., Mühlberger, E., Uebelhoer, L. S., Towner, J. S., Rabadan, R., Sanchez-Lockhart, M., Kepler, T. B., & Palacios, G. (2018). The Egyptian Roussette Genome Reveals Unexpected Features of Bat Antiviral Immunity. *Cell*, 173(5), 1098-1110.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.070>
- Plowright, R. K., Eby, P., Hudson, P. J., Smith, I. L., Westcott, D., Bryden, W. L., Middleton, D., Reid, P. A., McFarlane, R. A., Martin, G., Tabor, G. M., Skerratt, L. F., Anderson, D. L., Cramer, G., Quammen, D., Jordan, D., Freeman, P., Wang, L. F., Epstein, J. H., ... McCallum, H. (2014). Ecological dynamics of emerging bat virus spillover. In *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* (Vol. 282, Issue 1798). Royal Society of London. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2124>
- Popov, I. V., Popov, I. V., Krikunova, A. A., Lipilkina, T. A., Derezhina, T. N., Chikindas, M. L., Venema, K., & Ermakov, A. M. (2023). Gut Microbiota Composition of Insectivorous Synanthropic and Fructivorous Zoo Bats: A Direct Metagenomic Comparison. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(24).  
<https://doi.org/10.3390/ijms242417301>
- Presley, S. J., Graf, J., Hassan, A. F., Sjodin, A. R., & Willig, M. R. (2020a). *Effects of host species identity and diet on biodiversity of oral and rectal microbiomes of Puerto Rican bats*. <https://doi.org/10.1101/2020.01.31.928994>

- Presley, S. J., Graf, J., Hassan, A. F., Sjodin, A. R., & Willig, M. R. (2020b). *Effects of host species identity and diet on biodiversity of oral and rectal microbiomes of Puerto Rican bats*. <https://doi.org/10.1101/2020.01.31.928994>
- Quinlan, A. R., & Hall, I. M. (2010). BEDTools: A flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics*, 26(6), 841–842. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq033>
- Rizzatti, G., Lopetuso, L. R., Gibiino, G., Binda, C., & Gasbarrini, A. (2017). Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases. *Frontiers in Microbiology*, 12(1), 1–9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41522-019-0091-8>  
<https://doi.org/10.1186/s13099-018-0231-3>  
<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-38218-7>  
<http://dx.doi.org/10.1038/s41522-019-0101-x>  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.063>  
<https://doi.org/10.1016/j.dl>
- Robin, V. (2017). *Presencia de Leptospira spp en murciélago de la ciudad de Sincelejo, Sucre, Colombia*.
- Ruelas, D. (2017). Diferenciación morfológica de *Carollia brevicauda* y *C. perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) de Perú y Ecuador. *Revista Peruana de Biología*, 24(4), 363–382. <https://doi.org/10.15381/rpb.v24i4.14063>
- Russell, T., Formiconi, E., Casey, M., McElroy, M., Mallon, P. W. G., & Gautier, V. W. (2025). Viral Metagenomic Next-Generation Sequencing for One Health Discovery and Surveillance of (Re)Emerging Viruses: A Deep Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(19), 9831. <https://doi.org/10.3390/ijms26199831>
- Salmier, A., Tirera, S., De Thoisy, B., Franc, A., Darcissac, E., Donato, D., Bouchier, C., Lacoste, V., & Lavergne, A. (2017). Virome analysis of two sympatric bat species (*Desmodus rotundus* and *Molossus molossus*) in French Guiana. *PLoS ONE*, 12(11), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186943>
- Sandfort, M., von Laer, A., Kampmeier, S., Eichhorn, I., Wolf, S. A., Driller, M., Bajić, V., Sedaghatjoo, S., Fuchs, S., Engelhart, S., Mutters, N. T., Cónsul-Tejero, E. P., Zündorf, J., Eckmanns, T., Hogardt, M., & Haller, S. (2025). Nosocomial Outbreak of *Ralstonia pickettii* Infections Likely Linked to Saline Solutions in Germany from August 2023 to March 2024—Challenges in Medical Product-Related Outbreaks. *Microorganisms*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms13092102>
- Selvin, J., Lanong, S., Syiem, D., De Mandal, S., Kayang, H., Kumar, N. S., & Kiran, G. S. (2019). Culture-dependent and metagenomic analysis of lesser horseshoe bats' gut microbiome revealing unique bacterial diversity and signatures of potential human pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 137(April), 103675. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103675>
- Silva-Ramos, C. R., Faccini-Martínez, Á. A., Pérez-Torres, J., Hidalgo, M., & Cuervo, C. (2022). First molecular evidence of *Coxiella burnetii* in bats from Colombia. *Research in Veterinary Science*, 150, 33–35. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.05.009>
- Šimić, I., Zorec, T. M., Lojkić, I., Krešić, N., Poljak, M., Cliquet, F., Picard-Meyer, E., Wasniewski, M., Zrnčić, V., Čukušić, A., & Bedeković, T. (2020). Viral metagenomic profiling of croatian bat population reveals sample and habitat dependent diversity. *Viruses*, 12(8), 1–24. <https://doi.org/10.3390/v12080891>

- Smith, I., & Wang, L. F. (2013). Bats and their virome: An important source of emerging viruses capable of infecting humans. In *Current Opinion in Virology* (Vol. 3, Issue 1, pp. 84–91). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.11.006>
- Spring, S., Jäckel, U., Wagner, M., & Kämpfer, P. (2004). *Ottowia thiooxydans* gen. nov., sp. nov., a novel facultatively anaerobic, N<sub>2</sub>O-producing bacterium isolated from activated sludge, and transfer of *Aquaspirillum gracile* to *Hylemonella gracilis* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(1), 99–106. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02727-0>
- Tirira, D., Brito, J., Burneo, S., Carrera-Estupiñan, J. P., & Comisión de Diversidad de la Asociación Ecuatoriana de Mastozoología. (2022). *MAMÍFEROS DEL ECUADOR: LISTA OFICIAL ACTUALIZADA DE ESPECIES*. <http://aem.mamiferosdeecuador.com>
- Tirira, D., & Burneo, S. (2012). *Investigación y conservación sobre murciélagos en el Ecuador*. [www.puce.edu.ec](http://www.puce.edu.ec)
- Tirira, D. G. (2020). Diversidad de murciélagos de la provincia de Pastaza, Amazonía del Ecuador. *Mammalia Aequatorialis*, 2. <https://doi.org/10.59763/mam.aeq.v2i.15>
- Urgilés Verdugo, C., Hiruois, M., Calero, B., Noboa, G., & Tunay, P. (2021). Notas reproductivas sobre varias especies de murciélagos filostómidos (Chiroptera, Phyllostomidae) en Ecuador. *Mammalia Aequatorialis*, 3. <https://doi.org/10.59763/mam.aeq.v3i.39>
- Verecke, N., Yoon, T. B., Luo, T. L., Corey, B. W., Lebreton, F., Mc Gann, P. T., & Dekker, J. P. (2025). An open-source nanopore-only sequencing workflow for analysis of clonal outbreaks delivers short-read level accuracy. *Journal of Clinical Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/jcm.00664-25>
- Wallau, G. L., Barbier, E., Tomazatos, A., Schmidt-Chanasit, J., & Bernard, E. (2023). The Virome of Bats Inhabiting Brazilian Biomes: Knowledge Gaps and Biases towards Zoonotic Viruses. *Microbiology Spectrum*, 11(1). <https://doi.org/10.1128/spectrum.04077-22>
- Wang, C., Zhang, L., Kan, C., He, J., Liang, W., Xia, R., Zhu, L., Yang, J., Jiang, X., Ma, W., Liang, Z., Xiao, Z., Zhang, J., Zhong, J., Sun, X., Chang, D., Wang, Z., Zhang, G., & Li, M. (2025). Benefits and challenges of host depletion methods in profiling the upper and lower respiratory microbiome. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41522-025-00762-2>
- Wang, J., Pan, Y. fei, Yang, L. fen, Yang, W. hong, Lv, K., Luo, C. ming, Wang, J., Kuang, G. peng, Wu, W. chen, Gou, Q. yu, Xin, G. yang, Li, B., Luo, H. le, Chen, S., Shu, Y. long, Guo, D., Gao, Z. H., Liang, G., Li, J., ... Shi, M. (2023). Individual bat virome analysis reveals co-infection and spillover among bats and virus zoonotic potential. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39835-1>
- Wu, Z., Yang, L., Ren, X., He, G., Zhang, J., Yang, J., Qian, Z., Dong, J., Sun, L., Zhu, Y., Du, J., Yang, F., Zhang, S., & Jin, Q. (2016). Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *ISME Journal*, 10(3), 609–620. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.138>
- Xiao, G., Liu, S., Xiao, Y., Zhu, Y., Zhao, H., Li, A., Li, Z., & Feng, J. (2019). Seasonal Changes in Gut Microbiota Diversity and Composition in the Greater Horseshoe Bat. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02247>
- Yang, C., Xiang, Y., & Qiu, S. (2023). Resistance in Enteric Shigella and nontyphoidal Salmonella: Emerging concepts. In *Current Opinion in Infectious Diseases* (Vol. 36,

Issue 5, pp. 360–365). Lippincott Williams and Wilkins.  
<https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000960>

Yuan, C., An, T., Li, X., Zou, J., Lin, Z., Gu, J., Hu, R., & Fang, Z. (2023). Genomic analysis of *Ralstonia pickettii* reveals the genetic features for potential pathogenicity and adaptive evolution in drinking water. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1272636>