

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Microbiología



EFFECTO DE LA SELECCIÓN DEPENDIENTE DE LA FRECUENCIA EN UNA COMUNIDAD BACTERIANA SINTÉTICA MULTIESPECIE

TESIS

que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Licenciada en Microbiología

Presenta:

Valeria Hernández Zendejas

Dirigido por:

Dra. Etzel Garrido Espinosa

SINODALES

Dra. Etzel Garrido Espinosa
Presidente

Dr. Roberto Carlos Álvarez Martínez
Sinodal Secretario

Dr. José Antonio Cervantes Chávez
Sinodal Vocal

Dr. Fausto Arellano Carbajal
Sinodal Vocal

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
México

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

A todos los que me apoyaron en este camino

ÍNDICE

Resumen.....	5
Summary	6
1. Introducción	7
2. Marco teórico	8
2.1 Comunidades microbianas	8
2.1.1 Comunidades bacterianas	10
2.2 Interacciones ecológicas interespecíficas.....	11
2.3 Diversidad funcional	12
2.4 Comunidades sintéticas bacterianas	13
2.5 Selección natural.....	13
2.5.1 Selección natural en bacterias.....	14
2.6 Selección dependiente de la frecuencia	16
2.6.1 Selección dependiente de la frecuencia en bacterias	17
2.7 Modelos matemáticos y comunidades bacterianas.....	18
3. Hipótesis.....	19
4. Justificación	20
5. Objetivos	20
5.1 Objetivo general	20
5.2 Objetivos específicos	21
6. Material y Métodos.....	21
6.1 Sistema de estudio.....	21
6.2 Diseño experimental.....	22
6.2.1 Comunidades bacterianas	22
6.2.2. Bioensayos de frecuencia y disponibilidad de recursos	23
6.2.3 Manipulación de las frecuencias in silico	24
6.3 Análisis de datos	25
7. Resultados.....	26
7.1 Bioensayos.....	26
7.1.1 Comunidad bacteriana intra-género.....	26
7.1.2 Comunidad bacteriana inter-género.....	28
7.2 Inferencias del modelo gLV	30
7.2.1 Interacciones y parámetros.....	30
7.2.2. Simulaciones in silico.....	35
8. Discusión.....	39
8.1. Manipulación de frecuencias in vitro.....	39
8.2. Manipulación de las frecuencias in silico	41
9. Conclusiones y perspectivas	42
10. Bibliografía	43
Anexo 1.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Relación del volumen inoculado y las UFCs por mL de acuerdo a los tratamientos de frecuencia.....	23
Tabla 2. Tasas de crecimiento promedio estimadas para las diferentes especies bacterianas bajo diferentes condiciones experimentales.....	32
Tabla 3. Coeficientes de interacción intra- e inter-específicas para la comunidad intra-género conformada por <i>S. sp. KP5-3</i> (e3) y <i>S. luteola</i> (e4) bajo diferentes condiciones experimentales (frecuencia relativa y tipo de medio).....	33
Tabla 4. Coeficientes de interacción intra- e inter-específicas para la comunidad inter-género conformada por <i>B. pumilus</i> (e2) y <i>S. luteola</i> (e4) bajo diferentes condiciones experimentales (frecuencia relativa y tipo de medio).....	33
Tabla 5. Puntos de equilibrio y su estabilidad para la comunidad intra-género conformada por <i>S. sp. KP5-3</i> (e3) y <i>S. luteola</i> (e4) bajo diferentes condiciones experimentales (frecuencia relativa y tipo de medio).....	34
Tabla 6. Puntos de equilibrio y su estabilidad para la comunidad inter-género conformada por <i>B. pumilus</i> (e2) y <i>S. luteola</i> (e4) bajo diferentes condiciones experimentales (frecuencia relativa y tipo de medio).....	34
Tabla S1. Resultados del modelo lineal generalizado para la comunidad intra-género conformada por <i>S. sp. KP5-3</i> (e3) y <i>S. luteola</i> (e4) después de 10 horas de incubación.....	56
Tabla S2. Resultados del modelo lineal generalizado para la comunidad intra-género conformada por <i>S. sp. KP5-3</i> (e3) y <i>S. luteola</i> (e4) después de 18 horas de incubación.....	56
Tabla S3. Resultados del modelo lineal generalizado para la comunidad inter-género conformada por <i>B. pumilus</i> (e2) y <i>S. luteola</i> (e4) después de 10 horas de incubación.....	57
Tabla S4. Resultados del modelo lineal generalizado para la comunidad inter-género conformada por <i>B. pumilus</i> (e2) y <i>S. luteola</i> (e4) después de 18 horas de incubación.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número de UFC/mL (media $\pm$ EE) de cada especie de la comunidad intra-género dada su frecuencia después de (A) 10 y (B) 18 horas de incubación.....	27
Figura 2. Cantidad de UFC/mL predichas por el modelo GLM, por especie, para la comunidad intra-género a las 10 horas (izquierda) y 18 horas (derecha).....	28
Figura 3. Número de UFC/mL (media $\pm$ EE) de cada especie de la comunidad inter-género dada su frecuencia después de (A) 10 y (B) 18 horas de incubación.....	29
Figura 4. Cantidad de UFC/mL predichas por el modelo GLM, por especie, para la comunidad inter-género a las 10 horas (izquierda) y 18 horas (derecha).....	29
Figura 5. Simulaciones del modelo gLV para la comunidad intra-género conformada por <i>S. sp. KP5-3</i> (e3) y <i>S. luteola</i> (e4).....	37
Figura 6. Simulaciones del modelo gLV para la comunidad inter-género conformada por <i>B. pumilus</i> (e2) y <i>S. luteola</i> (e4).....	38

Resumen

Comprender los mecanismos que regulan el ensamblaje de las comunidades es clave para predecir su respuesta a cambios ambientales. En particular, explicar cómo se mantiene la diversidad microbiana ante variaciones en la composición y disponibilidad de recursos sigue siendo un desafío en ecología evolutiva. La selección dependiente de la frecuencia negativa, donde las especies raras son favorecidas, se ha propuesto como un mecanismo que promueve la coexistencia. En esta tesis se evaluó si la coexistencia en comunidades bacterianas está mediada por este tipo de selección y cómo varía según la identidad de las especies y el ambiente. Para ello, se utilizaron comunidades sintéticas intra- e inter-género, manipulando la frecuencia inicial de las especies y el tipo de medio. Además, se emplearon simulaciones con un modelo de Lotka-Volterra generalizado para explorar la estabilidad de las comunidades. Los resultados muestran que, en la comunidad intra-género, los efectos de la frecuencia y la identidad de especie dependen de su interacción a tiempos tempranos, pero se debilitan con el tiempo, sin influencia del medio. En la comunidad inter-género, la dinámica depende fuertemente de la frecuencia, el ambiente y la identidad, con dominancia en medio rico y colapso en medio mínimo. Las simulaciones reproducen estas tendencias generales, aunque predicen principalmente escenarios de exclusión con pocos casos de coexistencia. En conjunto, estos resultados sugieren que la selección dependiente de la frecuencia no actúa de manera consistente en el tiempo ni entre contextos, y que su papel en el mantenimiento de la diversidad está fuertemente condicionado por la identidad de las especies y la disponibilidad de recursos.

Summary

Understanding the mechanisms that regulate community assembly is essential for predicting their response to environmental changes. Particularly, explaining how microbial diversity is maintained under variation in resource availability and composition remains a challenge in evolutionary biology. Negative frequency-dependent selection, where rare species are favored, has been proposed as a mechanism that promotes coexistence. In this thesis, we evaluated whether coexistence in bacterial communities is regulated by this type of selection and how it varies depending on species identity and environmental conditions. To address this question, the initial frequency of inter- and intra-genus synthetic bacterial communities was manipulated as well as the type of medium. In addition, simulations with the generalized Lotka-Volterra model were conducted to explore community stability in the long term. The results show that in the intra-genus community, the effects of frequency and identity of the species depends on their early interaction, but they weaken over time, without an effect of the type of medium. In the inter-genus community, the dynamic depends strongly on the frequency, the environment and the identity, with dominance in a nutrient-rich medium and collapse in minimal medium. Simulations reproduce these general tendencies, although they mostly predict exclusion scenarios with limited cases of coexistence. These findings suggest that frequency-dependent selection doesn't act consistently over time nor contexts, and their maintenance of diversity is strongly conditioned by species identity and resources availability.

1. Introducción

Entender cómo se mantiene la diversidad biológica sigue siendo una de las preguntas centrales en ecología evolutiva. Actualmente, a pesar de décadas de investigación, los mecanismos detrás de la persistencia de la variación genética dentro de las poblaciones y la coexistencia de especies en las comunidades continúan siendo objeto de debate (Lewontin, 1974; Hedrick, 2006). La Selección Dependiente de la Frecuencia (SDF), en la que el éxito reproductivo de un genotipo depende de su frecuencia relativa, ha sido propuesto como uno de los mecanismos clave para el mantenimiento de la variación intraespecífica (Ayala & Campbell, 1974; Calsbeek et al., 2010; Clarke, 1979). Sin embargo, la SDF no se limita a operar a nivel poblacional ya que sus efectos pueden escalar de nivel afectando la coexistencia de las especies y la dinámica de las comunidades (Adler et al., 2007; Chesson, 2000). Es decir, la SDF podría contribuir a la resiliencia y estabilidad de las comunidades al generar mecanismos de retroalimentación negativa que favorecen la persistencia de la diversidad. En el caso particular de comunidades microbianas, también se ha documentado que la SDF actúa (Kerr et al., 2002; Rainey & Rainey, 2003). Sin embargo, aún se desconoce cómo factores ecológicos clave como la intensidad de las interacciones interespecíficas y la disponibilidad de los recursos en el medio pueden modular tanto la dirección como la magnitud de este tipo de selección. Entender los efectos relativos de estas condiciones ecológicas nos podría ayudar a predecir cuándo la SDF promueve la diversidad y cuándo, por el contrario, puede reducirla.

Las comunidades bacterianas representan sistemas ideales para abordar preguntas complejas ya que, experimentalmente, se puede manipular quiénes son las especies que interactúan, así como las condiciones ambientales bajo las cuales se relacionan (Buckling et al., 2009; Hibbing et al., 2010). En la naturaleza, las bacterias participan en redes complejas de interacciones que incluyen competencia, cooperación y antagonismo, las cuales determinan la dinámica ecológica y evolutiva de las comunidades. Sin embargo, gran parte del conocimiento actual proviene de estudios realizados con cultivos axénicos o de enfoques metagenómicos, los cuales, aunque informativos, limitan la inferencia causal sobre la relación entre las interacciones ecológicas y los procesos evolutivos como la SDF (Widder et al., 2016). Por esta razón, analizar cómo actúa la selección natural en comunidades multi-específicas bajo condiciones controladas resulta esencial para entender cómo los procesos ecológicos y evolutivos interactúan para mantener o reducir la diversidad biológica. Además, los patrones de selección natural en estos sistemas no solo dependen del tipo e intensidad de las interacciones bióticas, sino también del ambiente, particularmente de la disponibilidad de recursos, que puede alterar los costos y beneficios asociados a distintos genotipos y, por ende, modificar el patrón de selección (Brockhurst et al., 2007; Tilman, 1982). La SDF constituye un marco conceptual particularmente útil para integrar estos

factores, ya que describe escenarios en los que el valor adaptativo de un fenotipo depende explícitamente de su contexto ecológico.

Si la SDF negativa, donde las especies raras son favorecidas, es uno de los mecanismos que favorece la coexistencia dentro de las comunidades bacterianas, una pregunta central sería evaluar si este patrón de selección es suficientemente robusto para determinar la dinámica y estabilidad de dichas comunidades bajo diferentes contextos ecológicos y condiciones ambientales. En esta tesis se combinan bioensayos de evolución experimental con modelación matemática para poner a prueba la hipótesis de que los patrones de SDF dependen de la intensidad de las interacciones ecológicas y de la disponibilidad de recursos, los cuales modulan los costos y beneficios relativos de las especies que interactúan. Para esto, se analizó el efecto de la SDF en comunidades bacterianas simples, conformadas por dos especies que interactúan bajo distintos escenarios ecológicos. Este enfoque experimental permite integrar procesos ecológicos y evolutivos en un marco controlado, contribuyendo a esclarecer el papel de la SDF en la estructuración de comunidades biológicas.

2. Marco teórico

2.1 Comunidades microbianas

Desde hace décadas se ha reconocido que los microorganismos están ampliamente distribuidos: desde el fondo del mar hasta la cima de un volcán, llevando a cabo procesos importantes que impactan en otros seres vivos. Uno de ellos son las relaciones simbióticas que mantienen con numerosos organismos, entre ellos se encuentran plantas y animales. Por lo anterior, son de interés humano, ya que su dinámica y comportamiento se relacionan con áreas como la salud, la industria, producción de alimentos, entre otros. Además, dada su distribución tan amplia, es raro encontrar a algún microorganismo aislado, normalmente se encuentran conviviendo en comunidades donde pueden encontrarse diferentes dominios, tanto procariota como eucariota, y diferentes reinos representados, como protozoarios, hongos y nematodos. Debido a la diversidad en su conformación, junto con otros factores bióticos y abióticos con los que interactúan, se consideran como entidades dinámicas, ya que varias están en un cambio constante. También pueden considerarse sistemas complejos porque exhiben propiedades emergentes, es decir, que al estar todos los microorganismos juntos adquieren características, comportamientos o funciones que de forma aislada no presentarían (Konopka, 2009).

Un ejemplo bastante representado de comunidades microbianas en la literatura es la microbiota intestinal, debido a su diversidad e importancia, debido a que se ha publicado evidencia que relaciona su estado con la salud humana. La cual interviene en procesos como la nutrición al facilitar la digestión y producir algunas vitaminas, pero también tienen un impacto directo sobre la fisiología, el desarrollo e incluso el

comportamiento (Foster & Neufeld, 2013; Rooks & Garrett, 2016). Lo anterior ha contribuido en cómo se percibe a los microorganismos, por ejemplo, algunas enfermedades intestinales han comenzado a abordarse como una alteración en la comunidad debido a la presencia de un patógeno, no solo al patógeno. Las comunidades microbianas asociadas a plantas también son ampliamente estudiadas, tanto las que se encuentran en el suelo como aquellas asociadas a las raíces, debido a la importancia para la agricultura y su relevancia para protección de la diversidad (Trivedi et al., 2020).

Conforme la ciencia y la tecnología han avanzado, también lo ha hecho la forma en la que se estudian las comunidades, así como las preguntas que buscan responderse. El método más popular para su estudio en los últimos años es la secuenciación, por factores como la constante innovación y la reducción en el costo. Por lo anterior, el estudio de comunidades microbianas se ha enfocado en caracterizarlas metagenómicamente, es decir, identificar los organismos que se encuentran presentes en la muestra, así como conocer su abundancia relativa (Großkopf & Soyer, 2014). Este enfoque ha permitido avances considerables en la comprensión y caracterización de comunidades microbianas de diferentes ambientes, sin embargo, para comprenderlas mejor se necesitan diferentes enfoques para su aprovechamiento. Hay mucho interés en entender el funcionamiento y la composición de las comunidades microbianas, no solo por el efecto que tienen sobre otros seres vivos, también porque comprender su dinámica permitiría el diseño de nuevas comunidades o la manipulación de las ya existentes.

No debe perderse de vista que todos los organismos están sujetos a presiones de selección constantes que determinan la supervivencia de una población, por lo que dentro de los enfoques para su estudio debe haber uno que busque comprender las dinámicas evolutivas que influyen en la estabilidad de las comunidades microbianas, ya que procesos como la coevolución por interacción, por ejemplo, podrían cambiar las dinámicas entre los miembros de una comunidad, llevándola a un estado indeseable (Shibasaki & Mitri, 2020). Por su tamaño, complejidad y diversidad, el estudio de las comunidades microbianas considerándolas como un todo es complicado, por lo que suelen estudiarse sólo algunos miembros, dependiendo de la pregunta que se busque responder, o se divide por grupos taxonómicos para que sea más fácil. Esto ha limitado el estudio de características como el ensamblaje, cómo responden a perturbaciones o la estabilidad. Otra limitante es la inclinación al estudio de ciertos grupos taxonómicos, como bacterias u hongos, de los que hay mayor información disponible a comparación de otros, como los protistas, menos estudiados pero que podrían desempeñar papeles claves.

2.1.1 Comunidades bacterianas

Las comunidades microbianas pueden estar conformadas por diferentes tipos de microorganismos o ser un conjunto del mismo tipo, como las comunidades de bacterias.

El estudio de estas comunidades ha sido relevante debido a que históricamente se han reportado fenómenos interesantes y más complejos a partir de comunidades bacterianas que de una sola especie (Stubbenieck et al., 2016). Por ejemplo, algunos experimentos realizados con comunidades bacterianas han reportado que las especies que evolucionan dentro de una comunidad suelen presentar cambios metabólicos o modifican las interacciones que mantienen con otras especies (Germerodt et al., 2016; Pacciani-Mori et al., 2020), algo que no suele observarse cuando una especie crece aislada.

La mayor parte de la dinámica de cada comunidad depende de las interacciones por pares entre especies, las cuales pueden escalar a niveles más complejos (Gallardo-Navarro et al., 2024). Es decir, el resultado de las interacciones entre dos células puede verse reflejado en otros organismos, como otros miembros de la comunidad, o, en el caso de las comunidades asociadas a hospederos, en el hospedador. Además, muchas de estas interacciones no son estrictamente uno a uno. Dependiendo de la comunidad, puede haber un gran número de interacciones ocurriendo simultáneamente, con diferentes factores influyendo en el desenlace. Incluso aunque puedan distinguirse ciertos patrones, suele haber un componente estocástico en la evolución de estas comunidades que influye en la repetición de dichos patrones, aún cuando las comunidades parten de condiciones iniciales similares.

Lo anterior evidencia un problema común en ecología relacionado con la dificultad de escalar interacciones pares a dinámicas comunitarias más complejas. Otra problemática durante el estudio de comunidades bacterianas es delimitar las comunidades debido a su tamaño y a la naturaleza microscópica de sus integrantes, que a diferencia de los macroorganismos, suelen delimitarse con mayor facilidad en función del espacio físico que ocupan. Debido a que el ambiente también es importante para la estructura de una comunidad bacteriana, ya que dependiendo de las condiciones ambientales es posible que ciertas especies interactúen o no, o por el contrario, no coincidan en el mismo espacio. Tanto la disponibilidad, como el tipo y la distribución de recursos también moldean la estructura de las comunidades; por ejemplo, en el caso de las bacterias que habitan el tracto gastrointestinal humano, no reciben la misma proporción de nutrientes, ni el mismo tipo ni al mismo tiempo, lo cual va generando heterogeneidad en la comunidad. Entonces, la forma en la que se establece la comunidad es un factor clave, ya que dependiendo de las necesidades de las especies que la conformen, habrá mejores condiciones para que un espacio sea colonizado, y a su vez, la selección de dicho ambiente puede determinar su permanencia o su extinción (Nemergut et al., 2013).

Por lo anterior, para las bacterias, el establecimiento en comunidades también representa beneficios metabólicos, ya que las bacterias suelen tener acceso a una mayor diversidad de nutrientes a comparación de aquellas que viven aisladas (Ponomarova & Patil, 2015). De esta forma, los sintrofismos metabólicos tienen un rol importante, ya que pueden llegar a una dependencia de los metabolitos secundarios de una especie a otra.

Por ejemplo, algunas bacterias se benefician de la detoxificación del peróxido de hidrógeno que llevan a cabo otras especies, lo cual permite su establecimiento (Morris et al., 2012).

2.2 Interacciones ecológicas interespecíficas

Las interacciones entre microorganismos son importantes para mantener la diversidad y el funcionamiento de los ecosistemas, además de ayudar a construir una comunidad al influenciar sus funciones. Dada la distribución tan amplia de las bacterias y el interés por su importancia ecológica, comprender las interacciones tanto con organismos de la misma especie como de diferentes especies, resulta esencial para entender los ecosistemas que habitan y el impacto que tienen los cambios en la composición de la comunidad. Por ejemplo, al conocer cómo las interacciones moldean las comunidades se puede anticipar la respuesta de la comunidad ante perturbaciones, que es un aspecto importante en el manejo de ecosistemas. Desde una perspectiva biotecnológica, se amplía la capacidad de manipular y aprovechar a las comunidades en actividades como la agricultura, donde consorcios microbianos pueden promover el crecimiento vegetal o protegerlos al inhibir patógenos (Shayanthan et al., 2022).

La ecología teórica menciona que el resultado de la interacción de una unidad biológica con otra puede ser: positiva(+), negativa (-) o neutral (0); a partir de estas categorías se derivan interacciones como el mutualismo (++), depredación (+-) o parasitismo (+-), amensalismo (-0) o comensalismo (+0). Además del signo, pueden asignarse valores numéricos que representan la magnitud, que es útil para su estudio si se utilizan modelos matemáticos. Dentro de una comunidad microbiana, dichas interacciones pueden ocurrir entre individuos de la misma especie como entre especies diferentes, incluso entre dominios. Sin embargo, esta clasificación no debe considerarse como algo fijo: al estar en un ambiente dinámico las interacciones entre microorganismos pueden modificarse dependiendo de la composición de la comunidad en cierto momento, de las señales que reciben y de las condiciones de su entorno, lo que suma complejidad a su estudio.

Dicha complejidad tiene una base molecular, dado que diferentes autores definen la expresión de genes como la unidad básica de la interacción, ya que dependiendo de la presencia o ausencia de cierto estímulo la respuesta génica será diferente, lo cual podría resultar en la producción de moléculas que intervengan en la dinámica de la comunidad (Weiland-Bräuer, 2021). Por su inherente complejidad, es una práctica común reducir el estudio de las comunidades a conjuntos pequeños en condiciones controladas. Esto ha permitido identificar mecanismos clave que explican cómo se estructura una comunidad y cómo responde en condiciones y momentos diferentes (Ishizawa et al., 2025; Özkurt, 2025).

2.3 Diversidad funcional

Se le conoce como diversidad funcional a los procesos metabólicos, rasgos fisiológicos y ecológicos que se encuentran en una comunidad. Debido a la cantidad de funciones que llevan a cabo las comunidades microbianas (como la regulación de ciclos biogeoquímicos, la degradación de materia orgánica, el ciclo de nutrientes en ambientes como el suelo o los servicios ecosistémicos que proveen), es un enfoque necesario para el estudio de una comunidad microbiana (Iqbal et al., 2025; Konopka, 2009).

A través del estudio de rasgos ecológicos se ha profundizado la comprensión de la relación entre las comunidades microbianas y los procesos en el ecosistema (Ramond et al., 2025). Para describir las funciones de una comunidad se han propuesto tres conceptos análogos a la diversidad de especies. El primero es la riqueza funcional, la cual se refiere a la cantidad de funciones presentes en una comunidad. El segundo es la divergencia funcional, que refleja el grado de diferenciación entre los rasgos de los organismos presentes. El tercero es la equidad funcional, la cual describe la distribución de la abundancia de organismos entre distintos rasgos funcionales (Mason et al., 2005).

En las comunidades bacterianas los rasgos funcionales incluyen características como el aprovechamiento de diferentes fuentes de carbono o nitrógeno, la producción de metabolitos y la tolerancia a factores como la temperatura o el pH (Krause et al., 2014). Este conjunto de rasgos también refleja el nicho ecológico que ocupa cada miembro de la comunidad, además determina las interacciones que tendrá con otros organismos, lo que podría indicar su importancia en el ecosistema.

Otro concepto importante cuando se habla de diversidad funcional es la redundancia funcional, que se presenta cuando múltiples especies comparten rasgos funcionales similares, por lo que pueden desempeñar funciones equivalentes dentro del ecosistema. En las comunidades de bacterias, la redundancia funcional es relativamente común debido a la presencia de genes y rutas metabólicas similares en distintos grupos taxonómicos (Louca et al., 2018). Se ha visto que esta característica puede contribuir a la resiliencia de las comunidades microbianas, ya que la pérdida o disminución de una especie puede ser compensada por otras que llevan a cabo procesos similares (Allison & Martiny, 2008). De hecho, debido a dicha cualidad, el estudio de comunidades microbianas se ha realizado identificando las especies presentes para comprender la dinámica de la comunidad a través de sus interacciones metabólicas (Flamholz & Newman, 2022).

El estudio de la diversidad funcional en comunidades bacterianas permite vincular la estructura de las comunidades microbianas con los procesos ecológicos que estas sostienen. Este enfoque es útil para analizar interacciones microbianas, dinámicas de crecimiento y respuestas frente a perturbaciones ambientales, ya que permite identificar cómo las características funcionales de los organismos determinan el desempeño colectivo de la comunidad.

2.4 Comunidades sintéticas bacterianas

Naturalmente las comunidades bacterianas están integradas por cientos o miles de especies que interactúan entre ellas y con su entorno mediante el intercambio de moléculas de señalización, la producción de metabolitos secundarios y el sinergismo entre ellos, o bien, cooperando en la obtención de nutrientes (Zhang et al., 2020). Todos estos procesos que se llevan a cabo simultáneamente, sumado a la inherente complejidad de la comunidad, dificultan identificar los mecanismos que determinan cómo funciona la comunidad y qué la mantiene estable. Para facilitar su estudio se emplean comunidades sintéticas (también llamadas *SynComs*, del inglés *synthetic microbial communities*), que son una herramienta para estudiar comunidades microbianas. Consisten en seleccionar un subconjunto de especies de una comunidad natural para su estudio, ya que al simplificar dicha comunidad se permite establecer relaciones de causalidad con mayor facilidad y precisión, que a su vez contribuye a realizar inferencias sobre la comunidad completa.

El estudio de las comunidades bacterianas a través de las comunidades sintéticas ofrece una alternativa experimental simplificada que facilita la observación y el análisis de interacciones específicas en condiciones controladas, que además da lugar a diferentes hipótesis y a su vez, distintas condiciones experimentales (Vrancken et al., 2019). Al reducir una comunidad completa a unas cuantas especies se facilita el estudio de interacciones microbianas entre los integrantes, como la competencia por nutrientes o la cooperación metabólica, también permite distinguir la dependencia metabólica entre especies.

Además de su utilidad para comprender aspectos fundamentales de una comunidad, las comunidades sintéticas tienen aplicaciones directas: desde optimizar procesos de producción o degradación de compuestos hasta promover el crecimiento vegetal en sistemas agrícolas.

2.5 Selección natural

La selección natural es el resultado o el proceso, dependiendo del autor, en el que la variación de rasgos heredables entre organismos, en un momento y espacio en específico, determina diferencias en la supervivencia de las poblaciones. Un concepto importante en el estudio de la selección natural es el éxito reproductivo (o *fitness*, en inglés) de un organismo, que puede definirse como una medida de la producción total (o relativa) de la producción de descendencia con cierto genotipo, por lo que hay una relación en que mientras más descendencia deje un organismo, mayor será su *fitness* (Gregory, 2009).

Existen diferentes tipos de selección natural: direccional, estabilizadora y diversificadora, los cuales se distinguen por los rasgos que favorecen la supervivencia y la reproducción. En la selección direccional se favorece solo a uno de los extremos de la

variación; por ejemplo, durante el comienzo de la Revolución Industrial las polillas de coloración oscura se vieron favorecidas sobre las de coloración clara porque podían camuflarse con mayor facilidad en los árboles ennegrecidos por el hollín. En la selección estabilizadora se actúa en contra de ambos extremos y se favorece el fenotipo intermedio; como es el caso de los cuernos de los venados, donde las astas demasiado pequeñas no son atractivas para las hembras pero las astas demasiado grandes son inconvenientes para el portador. Y el tercer tipo, la selección natural disruptiva, o diversificadora, la menos frecuente de las tres, favorece ambos fenotipos extremos (Futuyma & Kirkpatrick, 2017; Lande & Arnold, 1983).

Para la comprensión de la selección natural se desarrollaron metodologías que permitan su estudio de forma controlada. Entre ellas se encuentran la selección artificial y la evolución dirigida, dos enfoques relacionados en los que los investigadores deciden qué organismos se reproducen, aunque con diferencias en su alcance y procedimiento. La selección artificial opera sobre rasgos fenotípicos observables: los humanos identifican ciertos individuos con características deseables que quieren preservar y favorecen su reproducción. Así se sentó la base con las primeras poblaciones de humanos con organismos como el maíz, el trigo o el ganado. Por su parte, la evolución dirigida incorpora un proceso previo de mutagénesis, seguido de la selección del investigador sobre los organismos que pasan a la siguiente generación (Bloom & Arnold, 2009). Ambos métodos están diseñados de tal manera que la selección sea rápida, sin embargo, sacrifican variación genética y el tamaño de la población también.

A la par se ha desarrollado la evolución experimental, que incluye diseños experimentales en donde la presión de selección es impuesta por los investigadores pero se busca que la selección natural sea la fuerza predominante en la dinámica evolutiva (Lewis & Morran, 2022). Con este enfoque de selección natural se han abordado preguntas sobre conceptos evolutivos en condiciones de laboratorio, como la evolución de la multicelularidad (Ratcliff et al., 2012).

2.5.1 Selección natural en bacterias

En poblaciones microbianas la selección natural actúa sobre rasgos que favorecen la supervivencia bajo ambientes con presiones selectivas específicas. A diferencia de los macroorganismos, las bacterias pueden adaptarse en tiempos más cortos gracias a mecanismos génicos como la transferencia horizontal de genes, la cual les permite adquirir rasgos adaptativos de otras especies a través de elementos genéticos como los plásmidos, lo cual favorece su evolución en pocas generaciones sin esperar a la intervención de otros mecanismos adaptativos (Garcillán-Barcia et al., 2025; Nguyen et al., 2018).

En la actualidad, comprender estos procesos adaptativos en bacterias remite a un hecho fundamental: los mecanismos moleculares y metabólicos que regulan la evolución moderna tienen su origen en los primeros linajes procariotas.

La selección natural regula el crecimiento bacteriano a través de factores abióticos como la disponibilidad de recursos en su ambiente, y de la historia evolutiva de cada linaje. Los genomas bacterianos se han adaptado para perdurar en diferentes entornos y condiciones, y varias de estas adaptaciones surgieron gracias a la convivencia con otros organismos (Saati-Santamaría et al., 2026). Por ejemplo, las bacterias han desarrollado un mecanismo de comunicación intercelular que les ha permitido coordinar comportamientos colectivos en función de su densidad poblacional: el *Quorum Sensing* (Abisado et al., 2018). Este tipo de adaptaciones también se refleja en estrategias de obtención de nutrientes que han sido favorecidas por selección natural, como el secuestro de nutrientes, particularmente aquellos más escasos, por ejemplo, el hierro (Barber & Fitzgerald, 2024)

Las bacterias han sido un sistema de estudio valioso para comprender procesos evolutivos, como el efecto de las mutaciones o de la selección natural. Gracias a características ventajosas como su tamaño poblacional y los tiempos de generación cortos de algunas especies, los cuales han hecho posible observar cambios evolutivos en tiempo real. Además, la capacidad de preservar aislados con características de interés y almacenarlas también ha favorecido su estudio, ya que ha sido posible comparar poblaciones en distintos puntos en el tiempo (Lenski et al., 1991) o contrastar cepas entre sí. También pueden obtenerse varias generaciones en tiempos reducidos, comparado con los macroorganismos, y se requieren de menos recursos para su mantenimiento. Los primeros estudios evolutivos en bacterias consistieron en experimentos basados en aproximaciones comparativas, posteriormente se introdujo la evolución experimental y eso cambió la perspectiva de estudio (Elena & Lenski, 2003).

Uno de los motivos por lo que la evolución en bacterias ha sido tan estudiada en los últimos años es por el aumento de cepas resistentes a antibióticos, un problema de salud pública mundial (Maeda & Furusawa, 2024; Sanz-García et al., 2023). La presión de selección que ha impuesto el uso desmedido e irresponsable de antimicrobianos ha llevado a una evolución rápida de cepas resistentes, por lo que la investigación se ha enfocado en el desarrollo de nuevos antibióticos y en comprender diversos aspectos de comunidades de bacterias patógenas, como las biopelículas.

La resistencia a antibióticos es un ejemplo de evolución actual, por lo que para entender su dinámica se recurre a medidas cuantitativas basadas en un proxy del *fitness*. Es considerado así debido a que el fitness darwiniano, que puede entenderse como la contribución de un individuo a las generaciones futuras, suele ser difícil de medir en la práctica, por lo que se recurre a cuantificar componentes como la supervivencia o el número de descendientes, por ejemplo, el número de semillas de una planta (Wen & Simons, 2020). En el caso de las bacterias, las UFC son un proxy, ya que cada una representa una célula, o un grupo de células, capaz de generar colonias visibles, que a su vez se entiende como una medida de viabilidad celular (Fink & Manhart, 2026).

Normalmente se utilizan dos procedimientos para calcularlo: a través de una curva de crecimiento o por ensayos de competencia por pares. En el primero se utilizan algunos parámetros como la μ_{max} , que se refiere a la tasa máxima de crecimiento específico, es decir, la velocidad máxima a la que una población bacteriana puede duplicarse (Ceballos & Stacy, 2020); la capacidad de carga (k) o el área bajo la curva (AUC, Area Under the Curve). Mientras que los ensayos de competencia por pares, consisten en colocar dos especies o cepas diferentes en proporciones iniciales conocidas y se monitorea cómo va creciendo cada una, donde la más adecuada o la del mayor *fitness* es la que incrementa su proporción (Worthan et al., 2023).

2.6 Selección dependiente de la frecuencia

La selección dependiente de la frecuencia es un fenómeno evolutivo en el que el *fitness* (o éxito reproductivo) de un fenotipo o genotipo depende de su frecuencia en la población. Se considera un tipo de selección natural balanceadora, es decir, mantiene múltiples alelos a frecuencias más altas de lo esperado bajo neutralidad. Estos procesos pueden encontrarse en varias poblaciones, desde comunidades de organismos macroscópicos hasta comunidades microbianas, ya que contribuyen al mantenimiento de la diversidad.

Fue descrito por primera vez por los genetistas matemáticos Sewall Wright y Ronald Fisher. Wright pensó que la selección natural no necesariamente debe maximizar el *fitness* poblacional, mientras que Fisher observó que la selección sexual por las hembras podía tener retroalimentación positiva sobre los rasgos masculinos extravagantes (Fisher, 1930; Kirkpatrick, 1982).

Se observa selección dependiente de la frecuencia en diferentes circunstancias, como: cuando los individuos compiten por recursos; cuando los depredadores detectan más fácilmente a presas con fenotipos comunes; cuando los polinizadores prefieren fenotipos comunes o raros; o las hembras prefieren aparearse con machos comunes o raros (Otto et al., 2008). Algunos ejemplos de selección dependiente de la frecuencia en macroorganismos incluyen las dinámicas de mimetismo mülleriano y batesiano, en el que una especie inofensiva imita el patrón de una especie venenosa o de sabor desagradable para evitar a los depredadores.

Existen dos tipos de selección dependiente de la frecuencia: positiva y negativa. En la selección dependiente de la frecuencia positiva el *fitness* de un genotipo o fenotipo es mayor cuando son comunes en la población, puede llevar a la fijación de un rasgo y la reducción de polimorfismos. Un ejemplo son los patrones en las alas de las mariposas del género *Heliconius*, los cuales son aprendidos y evitados por los depredadores, favoreciendo a los fenotipos más comunes (Chouteau et al., 2016). En la selección dependiente de la frecuencia negativa, el *fitness* es mayor cuando el fenotipo o genotipo es raro, lo que promueve que se mantenga la diversidad. Por ejemplo, durante el reconocimiento de proteínas superficiales de patógenos las variantes más comunes son

reconocidas y eliminadas, mientras que las variantes raras evaden la respuesta inmune y tienen mayor probabilidad de sobrevivir (Frank, 2002).

En general, en microorganismos es común observar selección dependiente de la frecuencia sobre la producción de compuestos que pueden ser aprovechados por otros microorganismos de la comunidad. Un ejemplo estudiado en *Pseudomonas aeruginosa* muestra que las mutantes del gen *lasR*, encargado de la producción de una proteasa reguladora de *Quorum Sensing*, presentan un fitness mayor cuando son minoría en la población, ya que son capaces de aprovechar las proteasas que secretan las bacterias de la cepa no mutante sin asumir el costo de producirlas (Sandoz et al., 2007). La selección dependiente de la frecuencia negativa, en particular, es un mecanismo efectivo para mantener la variación de polimorfismos y favorecer la coexistencia a largo plazo (Brisson, 2018).

2.6.1 Selección dependiente de la frecuencia en bacterias

La selección dependiente de la frecuencia, al igual que otros fenómenos evolutivos, ha sido trasladada del estudio de macroorganismos al de microorganismos para comprender el funcionamiento de las comunidades. Sin embargo, su aplicación en bacterias tiene consideraciones diferentes; por ejemplo, las mutaciones que llevan a la variación en animales o insectos pueden tener efectos discretos, en cambio, en bacterias ese pequeño cambio podría tener consecuencias más grandes, debido a la estrecha relación entre genotipo y fenotipo en estos organismos.

Un estudio muy importante en esta área se dio a partir de una observación en *Pseudomonas aeruginosa*: se identificó que esta bacteria secreta sideróforos (moléculas de alta afinidad por el hierro que no todas las bacterias son capaces de producir) al ambiente, y que otras bacterias presentes aprovechan los sideróforos sin contribuir a la comunidad (Harrison et al., 2008). Este fenotipo se identificó como “tramposo” (*cheater*). A partir de esta observación, (Ross-Gillespie et al., 2007a) evaluaron si el fenotipo tramposo está sujeto a selección dependiente de la frecuencia negativa, es decir, si su *fitness* es mayor mientras sea raro en la población, ya que, de haber una proporción muy grande de fenotipos tramposos se reduciría la cantidad de sideróforos disponibles y la comunidad podría verse afectada.

Este principio también se ha documentado en otros organismos. En *Saccharomyces cerevisiae*, las cepas productoras de la enzima invertasa, cuya función consiste en hidrolizar disacáridos en el espacio periplásmico, pueden ser explotadas por cepas que no producen dicha enzima cuando es excretada al medio (Gore et al., 2009). Desde una perspectiva teórica, se han planteado modelos matemáticos para describir la dinámica entre bacterias con fenotipo resistente y susceptible bajo presión de selección de compuestos bactericidas o toxinas en el ambiente (Levin et al., 1997). También se ha propuesto a la selección dependiente de la frecuencia negativa como un mecanismo para

explicar la variación antigénica, ya que las regiones más raras son detectadas en menor medida por el sistema inmune (Corander et al., 2017).

Un ejemplo ilustrativo de selección dependiente de la frecuencia negativa en bacterias es la producción de polisacáridos extracelulares en *Pseudomonas fluorescens* (Rainey & Travisano, 1998). El genotipo capaz de producirlo se ve favorecido en medio líquido, ya que le permite a las bacterias flotar y acceder más eficientemente al oxígeno. Sin embargo, cuando su producción es excesiva, la matriz se vuelve demasiado densa y termina por hundirse, lo que confiere una ventaja selectiva a las poblaciones donde las células que producen polisacáridos extracelulares son raros.

2.7 Modelos matemáticos y comunidades bacterianas

Los modelos matemáticos son herramientas útiles para responder preguntas sobre mecanismos de competencia y estabilidad en comunidades microbianas. Las interacciones entre miembros de una comunidad bacteriana generan dinámicas tan complejas que en ocasiones puede ser difícil comprenderlas únicamente a partir de observaciones experimentales, por lo que los modelos matemáticos forman parte de las herramientas para el estudio de la estructura y estabilidad de comunidades microbianas, ya que permiten representar las interacciones entre especies y explorar la influencia que tienen en la composición y el funcionamiento del sistema (Kuntal et al., 2019). A través de ellos es posible explorar el número mínimo de reglas y relaciones necesarias para explicar un fenómeno complejo, y las simulaciones derivadas de estos modelos contribuyen a la generación de nuevas hipótesis que podrán ponerse a prueba a partir de los datos disponibles (Silva, 2011).

Al permitir la integración de datos experimentales con aspectos ecológicos y evolutivos, las predicciones que se generan sobre el comportamiento de la comunidad suelen describir mejor el sistema y dar información más acertada. Por ejemplo, un enfoque muy utilizado es la inferencia de redes de interacción entre especies para evaluar cómo las perturbaciones o cambios en su conformación pueden alterar la estabilidad de la comunidad (Huang et al., 2025). Estos modelos han ganado popularidad debido a su flexibilidad para adaptarse al estudio de poblaciones provenientes de diferentes ambientes, tanto ambientes naturales como asociadas a otros organismos (Zaccaria et al., 2017).

Un enfoque complementario son los modelos basados en ecuaciones diferenciales, los cuales permiten describir la variación temporal en la abundancia de cada especie en función de parámetros como la tasa de crecimiento y la interacción con otras especies. Uno de ellos es el modelo Lotka-Volterra, que originalmente fue desarrollado para describir dinámicas presa-depredador, y posteriormente ampliado para describir interacciones entre múltiples especies, el cual recibe el nombre de modelo Lotka-Volterra generalizado (o gLV, del inglés generalized Lotka-Volterra). En este modelo, la dinámica de cada especie se describe mediante una ecuación diferencial que

incorpora su tasa de crecimiento y los efectos de interactuar con organismos tanto de la misma especie (interacciones intraespecíficas) como de otras especies (interacciones interespecíficas). El modelo gLV puede escribirse de la siguiente manera:

$$\frac{dx_i}{dt} = x_i(r_i + \sum_{j=i}^n a_{ij}X_j) \quad (1)$$

donde x_i representa la abundancia de la especie i ; r_i es su tasa de crecimiento, y el término a_{ij} describe el efecto de la especie j sobre la especie i . Los coeficientes del último término pueden representar distintos tipos de interacciones ecológicas, como competencia, mutualismo o depredación, dependiendo de la combinación de signos. El modelo gLV se ha utilizado para estudiar la estabilidad y resiliencia de diferentes comunidades frente a perturbaciones ambientales, ya que algunas extensiones del modelo incorporan componentes estocásticos que permiten representar la variabilidad ambiental y el ruido biológico (Phan et al., 2025).

3. Hipótesis

En esta tesis se puso a prueba la hipótesis de que el éxito reproductivo de cada una de las especies que interactúan se encuentra bajo selección dependiente de la frecuencia negativa. Es decir, el éxito reproductivo de cada bacteria disminuye conforme incrementa su frecuencia relativa dentro de la comunidad. Este patrón de selección promueve la coexistencia durante el establecimiento de la comunidad. Cambios en la identidad de las especies que interactúan (*i.e.* cambios en el ambiente biótico) así como cambios en la disponibilidad de recursos en el medio (*i.e.* cambios en el ambiente abiótico) pueden alterar este patrón de selección. Si las especies que interactúan son filogenéticamente cercanas, pertenecen al mismo género, se espera que la interacción antagónica sea más fuerte limitando la coexistencia y llevando al desplazamiento de una de ellas. Sin embargo, si las especies que interactúan no pertenecen al mismo género, se espera que diferencias en la preferencia por ciertos recursos clave favorezcan una coexistencia. Finalmente, si la comunidad se desarrolla en medios mínimos con una baja concentración de recursos se espera que la competencia por recursos incremente, principalmente entre bacterias del mismo género, por lo que la coexistencia no es favorecida, a diferencia de lo que ocurriría en medios ricos en nutrientes.

4. Justificación

Entender los mecanismos que favorecen el mantenimiento de la variación genética en poblaciones y comunidades sigue siendo un reto en la rama de la biología evolutiva. La selección dependiente de la frecuencia, donde el éxito reproductivo de los individuos

depende de su frecuencia relativa, se ha propuesto como uno de los principales mecanismos que mantiene la variación genética ya sea en forma de polimorfismos genéticos o la coexistencia de las especies. A diferencia de la selección direccional, que tiende a eliminar la variación, la selección dependiente de la frecuencia negativa puede favorecer la coexistencia al favorecer genotipos poco frecuentes, sobre todo en contextos de competencia por recursos. Generalmente, los efectos de la selección dependiente de la frecuencia se han estudiado en sistemas simples, pero en la naturaleza las especies interactúan y, en el caso particular de las comunidades bacterianas, las interacciones pueden fluctuar entre el antagonismo, la competencia y la cooperación por lo que la intensidad y dirección con la que opera la selección dependiente de la frecuencia se puede modificar. Además, la disponibilidad de recursos en el medio puede alterar el resultado de la competencia intraespecífica y, por lo tanto, la ventaja relativa de los genotipos raros o comunes afectado la coexistencia de las especies. En este sentido, evaluar cómo las interacciones bióticas y el ambiente influyen de manera conjunta sobre los patrones de selección dependiente de la frecuencia nos permitirá entender mejor el papel de los mecanismos ecológicos y evolutivos que mantienen la diversidad biológica en bacterias.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar si la coexistencia en comunidades microbianas es promovida por la selección dependiente de la frecuencia, y determinar cómo este patrón de selección se modifica por la cercanía taxonómica de las especies que interactúan y por la disponibilidad de recursos en el medio.

5.2 Objetivos específicos

- a)** Determinar si el éxito reproductivo de las bacterias, estimado como el número de unidades formadoras de colonia, depende de su frecuencia relativa dentro de la comunidad.
- b)** Determinar cambios en la intensidad o dirección de la selección dependiente de la frecuencia dependiendo de si las especies que interactúan pertenecen al mismo género o a géneros distintos.
- c)** Determinar si la disponibilidad de recursos en el medio modifica la intensidad o dirección de selección dependiente de la frecuencia.
- d)** Evaluar *in silico* la dinámica y estabilidad de las comunidades bacterianas bajo los distintos escenarios de interacción y disponibilidad de recursos.

6. Material y Métodos

6.1 Sistema de estudio

Las especies bacterianas que se utilizaron forman parte del “Cepario Bacteriano de Plantas e Insectos” del Laboratorio de Ecología Teórica y Evolución Experimental de la Unidad de Microbiología Básica y Aplicada de la Universidad Autónoma de Querétaro. Las especies del cepario fueron aisladas de localidades ubicadas en el municipio de El Marqués, en el estado de Querétaro, durante el verano de 2020. Para la elaboración de esta tesis se seleccionaron tres bacterias epífitas aisladas del filoplano de *Datura innoxia* e identificadas molecularmente (Morán, 2023) como: *Bacillus pumilus* (e2), *Sporosarcina* sp. KP5-3 (e3) y *Sporosarcina luteola* (e4).

La bacteria *Bacillus pumilus* pertenece a la familia Bacillaceae, orden Bacillales, clase Bacilos y filo Bacillota. Estas bacterias tienen forma cilíndrica elongada, son Gram positivas y forman endosporas. Puede crecer en temperaturas que van desde los 5 hasta los 50°C, en pH de 5 a 11 y tolerar ambientes con NaCl del 10% (Branquinho et al., 2014). Su morfología en medio Luria-Bertani (LB) se observa como colonias circulares grandes, de color amarillo, convexas con márgenes enteros, superficie lisa y brillante, y de consistencia viscosa. En medio mínimo son colonias circulares medianas, color amarillo, convexas con márgenes enteros, superficie lisa y brillante y de consistencia viscosa. Es una especie distribuida ampliamente, ya que se ha encontrado en ambientes como suelo, en agua marina y sedimentos en el fondo del mar, incluso en vehículos espaciales (La Duc et al., 2004). Su amplia distribución puede atribuirse a que son bastante resistentes, ya que se ha visto que prevalecen en ambientes con pocos nutrientes, resisten la desecación, desinfectantes químicos y la radiación (Parvathi et al., 2009). Además, ha sido clasificada como una bacteria promotora del crecimiento en plantas, debido a la producción de fitohormonas, así como por su antagonismo mediado por compuestos antifúngicos y antibacterianos (Dobrzyński et al., 2022).

El género *Sporosarcina* forma parte de la familia Caryophanaceae, orden Bacillales, clase Bacilli y filo Bacillota. Las especies de este género que se han estudiado son, generalmente, móviles formando endosporas redondas; además, son aerobios estrictos o anaerobios facultativos (Gupta & Patel, 2020). Este género también se caracteriza por usar MK-7 como la principal menaquinona, una forma de vitamina K2 presente en algunos alimentos fermentados. Específicamente, la bacteria *Sporosarcina* sp. KP5-3 corresponde al identificador en GenBank: JQ794609.1, reportada por Jantapalaboon et al. (2012), como parte de la comunidad microbiana del Kapi, una pasta de camarones fermentada tradicional de Tailandia. En medio LB esta bacteria crece como colonias puntiformes planas de color beige, con bordes enteros y consistencia cremosa y viscosa. Por el contrario, cuando ésta crece en medio mínimo presenta colonias puntiformes de color blanco, con bordes enteros, de consistencia seca y bordes

irregulares. Finalmente, la bacteria *Sporosarcina luteola* es considerada metaloresistente, y su capacidad de precipitar carbonatos metálicos ha sido de interés para procedimientos de biorremediación (Cuaxinque-Flores et al., 2020). Es también formadora de endosporas (Board, 2015), lo que le otorga la capacidad de sobrevivir a ambientes hostiles, como en maquinaria alimentaria que es sometida a procesos intensivos de limpieza (Tominaga et al., 2009). Tanto en medio LB como en medio mínimo, la morfología colonial de *S. luteola* se aprecia como colonias circulares y elevadas de color blanco, con bordes completos, superficie brillante, consistencia seca y poco viscosas.

6.2 Diseño experimental

6.2.1 Comunidades bacterianas

Las tres especies bacterianas que se utilizaron forman parte de una comunidad sintética que ha sido estudiada previamente por Anistro (2024). Estas especies fueron seleccionadas bajo el supuesto de que las dos especies pertenecientes al género *Sporosarcina* presentan nichos metabólicos traslapados y, por lo tanto, al competir por recursos similares la competencia entre ellas es más intensa (Koeppel & Wu, 2014). Por esta razón, la primera comunidad fue una combinación intra-género que incluyó a *S. sp. KP5-3* (e3) y *S. luteola* (e4). Para la segunda comunidad inter-género se seleccionó a *B. pumilus* (e2) y *S. luteola* (e4) dado que, aunque pertenecen a géneros diferentes, se ha demostrado experimentalmente que son antagonistas, con un antagonismo muy marcado por parte de *S. luteola* hacia *B. pumilus* (Morán, 2023). Utilizar ambas combinaciones de bacterias y modificar sus frecuencias relativas permite evaluar si la selección dependiente de la frecuencia se modifica como resultado de la intensidad de las interacciones. Además, la morfología colonial de cada bacteria en ambas combinaciones es diferente por lo que realizar los conteos de colonias se puede hacer a simple vista.

6.2.2. Bioensayos de frecuencia y disponibilidad de recursos

Tomando en cuenta las dos comunidades bacterianas descritas previamente, se realizaron bioensayos en los que se manipuló la frecuencia relativa de cada especie y la disponibilidad de recursos siguiendo un diseño factorial completo. Se tuvieron tres niveles para el tratamiento de frecuencia y dos niveles para el tratamiento de disponibilidad de recursos. Cada combinación de tratamientos se hizo por triplicado para un total de 18 réplicas.

Para manipular la frecuencia relativa de las bacterias dentro de la comunidad se realizaron los siguientes pasos. Cada especie bacteriana fue sembrada en condiciones axénicas en medio sólido LB doce horas antes de iniciar los bioensayos. Pasadas las

doce horas, se cultivó una colonia de cada especie en 7 mL de medio líquido LB y se incubaron en agitación (28°C, 120 rpm) hasta que entraron en la fase exponencial de su curva de crecimiento (DO_{600}). Una vez que alcanzaban este punto de la curva, se recolectaron dos alícuotas, de 1 mL cada una, de cada cultivo axénico y se diluyeron para obtener una cantidad de UFC/mL similares de cada especie siguiendo tres frecuencias: 1:9, 1:1 y 9:1., cada uno replicado seis veces (seis jaulas por tratamiento). Teniendo las frecuencias 1:9, 1:1 y 9:1 (ver Tabla 1). Además, cada combinación de bacterias en cada nivel de frecuencia fueron incubadas en dos medios de cultivo: medio LB (medio rico) y medio de sales mínimas (medio M9, preparado siguiendo el protocolo de Zimbro (2009)) para determinar si la disponibilidad de recursos en el medio afectó el patrón de selección. Todas las réplicas fueron incubadas a 28°C y 120 rpm. Después de 10 y 18 horas de incubación, se tomó una alícuota de 1 mL para sembrar 20µL en cajas de Petri con el medio sólido correspondiente y obtener la cuantificación de UFCs en esos dos tiempos.

Tabla 1. Relación del volumen inoculado y las UFC por mL de acuerdo a los tratamientos de frecuencia.

tratamiento de frecuencia	equivalencia en µL	equivalencia* en UFCs
1 : 9	14 : 126	57 : 573
1 : 1	70 : 70	302: 302
9 : 1	126 : 14	573 : 57

* valores promedio considerando todas las réplicas por combinación

6.2.3 Manipulación de las frecuencias *in silico*

Con el fin de evaluar el efecto de la SDF en la dinámica temporal de las comunidades bajo diferentes escenarios ecológicos, se realizaron simulaciones del modelo Lotka-Volterra generalizado (1) utilizando el paquete *deSolve* (Soetaert et al., 2010) de R (R Core Team, 2024). Para construir el modelo, los coeficientes de interacción intra e inter específicos se estimaron a partir de los conteos de UFC/mL como series de tiempo de cada una de las condiciones experimentales, bajo la hipótesis de que tanto el signo como la intensidad de la interacción podría ser diferente en cada una. Específicamente, los coeficientes se calcularon utilizando el método propuesto por (Stein et al., 2013), que consiste en resolver el modelo Lotka-Volterra como una regresión lineal con regularización de Tikhonov. La regresión fue aplicada mediante el paquete *glmnet* (Friedman et al., 2010) de R. El tipo de penalización que se seleccionó fue Ridge (L_2), que en la librería se indica con un valor de “alpha” igual a 0.

Para estimar la tasa de crecimiento de cada especie en cultivo individual y compararla con las tasas de crecimiento en cultivo binario, se sembraron cultivos

axénicos de cada especie en medio LB sólido. Después de 12 horas, se inoculó una colonia en medio LB líquido y, cada dos horas por las siguientes 14 horas, se tomó una muestra que se inoculó nuevamente en medio sólido para realizar el conteo de colonias y calcular las UFC/mL. La estimación de las UFCs por mL se hizo siguiendo la fórmula propuesta por Tomlin & Axelrod (2007):

$$UFC/mL = \frac{\text{Número de colonias} \cdot \text{Factor de dilución}}{\text{volumen sembrado (mL)}} \quad (2)$$

El factor de dilución se estimó de acuerdo a Reynolds (2005) como:

$$f = \frac{\text{volumen de la muestra}}{\text{volumen de la muestra} + \text{volumen de dilución}} \quad (3)$$

La tasa de crecimiento (r) también se estimó a partir de las UFC/mL de las primeras 14 horas, tanto de los cultivos axénicos como de los cultivos binarios (experimentos con manipulación de la frecuencia y medios diferentes). El cálculo se realizó linealizando el modelo de crecimiento exponencial (4) y se transformó en (5), de manera que pudiera estimarse como una regresión lineal (Foerster et al., 2015).

$$N(t) = N_0 e^{rt} \quad (4)$$

$$\ln(N(t)) = \ln(N_0) + rt \quad (5)$$

donde $N(t)$ representa el tamaño de la población al tiempo t ; N_0 es el tamaño inicial de la población; e es la base de logaritmo natural; r es la tasa intrínseca de crecimiento poblacional y t es el tiempo. Finalmente, para calcular los puntos de equilibrio y su estabilidad se usó el paquete *phaseR* (Grayling, 2014) de R.

6.3 Análisis de datos

Para todos los bioensayos, la variable de respuesta fue el número de UFCs por mL. Esta estimación se considera un buen *proxy* del fitness porque toma en cuenta tanto la capacidad de supervivencia como la reproducción de las bacterias. Los análisis estadísticos se hicieron de forma independiente para las 10 y las 18 horas. Se realizó un modelo lineal generalizado con distribución quasi-Poisson y función liga log utilizando la función *glm* en R (R Core Team, 2024). El modelo incluyó el efecto de la especie, la frecuencia, el medio de cultivo y todas sus interacciones como fuentes de variación. Finalmente, las gráficas se hicieron usando el paquete *ggplot2* de R (Wickham, 2016).

7. Resultados

En esta tesis se manipuló la frecuencia relativa con la que comenzaron dos comunidades bacterianas, una compuesta por especies del mismo género (comunidad intra-género) y otra compuesta por especies de géneros distintos (comunidad inter-género). Ambas comunidades fueron inoculadas en dos tipos de medio: un medio rico (LB) y en medio mínimo. Se analizaron los efectos de las combinaciones de los tratamientos en términos del número de UFC/mL después de 10 y 18 horas de incubación.

7.1 Bioensayos

7.1.1 Comunidad bacteriana intra-género

Para el bioensayo realizado con las dos especies de *Sporosarcina*, los resultados del modelo estadístico realizado a las 10 horas indican que tanto la frecuencia inicial como la identidad de la especie afectan significativamente el número de colonias, aunque estos efectos dependen de su interacción. En particular, cuando la bacteria *S. sp. KP5-3* (e3) se encontraba en alta frecuencia (0.9), se observó un efecto positivo significativo en el número de colonias en comparación con el tratamiento de baja frecuencia ($\beta = 1.21$, $P = 0.009$), mientras que la frecuencia intermedia (0.5) no mostró un efecto significativo ($P = 0.50$). Asimismo, se encontró un efecto positivo significativo de la especie *S. luteola* (e4) ($\beta = 1.25$, $P = 0.007$), lo que sugiere diferencias inherentes entre especies. No obstante, se detectó una interacción negativa y altamente significativa entre la frecuencia 0.9 y la especie e4 ($\beta = -4.25$, $P < 0.001$; Fig. 1a), indicando que el efecto de la frecuencia depende del contexto específico de la especie. La interacción entre la frecuencia 0.5 y la especie mostró una tendencia marginal ($P = 0.074$; Fig. 1a). En contraste, ni el efecto principal del medio ni sus interacciones con las demás variables (cada una de las frecuencias de inicio y la especie) resultaron significativos después de 10 horas, lo que sugiere que las condiciones ambientales evaluadas no modifican sustancialmente la respuesta de la comunidad en este tiempo.

A las 18 horas, el patrón general se mantiene, pero los efectos se vuelven más consistentes y marcados. La frecuencia alta (0.9) continúa mostrando un efecto positivo significativo ($\beta = 0.91$, $P = 0.039$), mientras que la frecuencia intermedia (0.5) presenta nuevamente una tendencia marginal ($\beta = 0.74$, $P = 0.098$). Por su parte, el efecto de la especie *S. luteola* (e4) se intensifica, siendo positivo y altamente significativo ($\beta = 1.97$, $P < 0.001$), lo que refuerza la existencia de diferencias entre especies. Sin embargo, estas tendencias están moduladas por interacciones negativas significativas entre la

especie e4 y ambas frecuencias evaluadas (frecuencia de 0.5: $\beta = -1.57$, $P = 0.004$; frecuencia de 0.9: $\beta = -2.33$, $P < 0.001$; Fig. 1b), lo que sugiere que el efecto positivo de la frecuencia disminuye o incluso se revierte en este contexto. Al igual que a las 10 horas, el medio y sus interacciones no mostraron efectos significativos; además, el error estándar extremadamente grandes en algunas de estas interacciones indican una baja precisión en su estimación. En conjunto, estos resultados muestran que la dinámica del sistema está consistentemente determinada por la interacción entre la frecuencia y la identidad de la especie, mientras que el efecto del ambiente es limitado bajo las condiciones evaluadas. Asimismo, la comparación temporal sugiere que estos patrones se consolidan a lo largo del tiempo, con efectos más claros y robustos a las 18 horas.

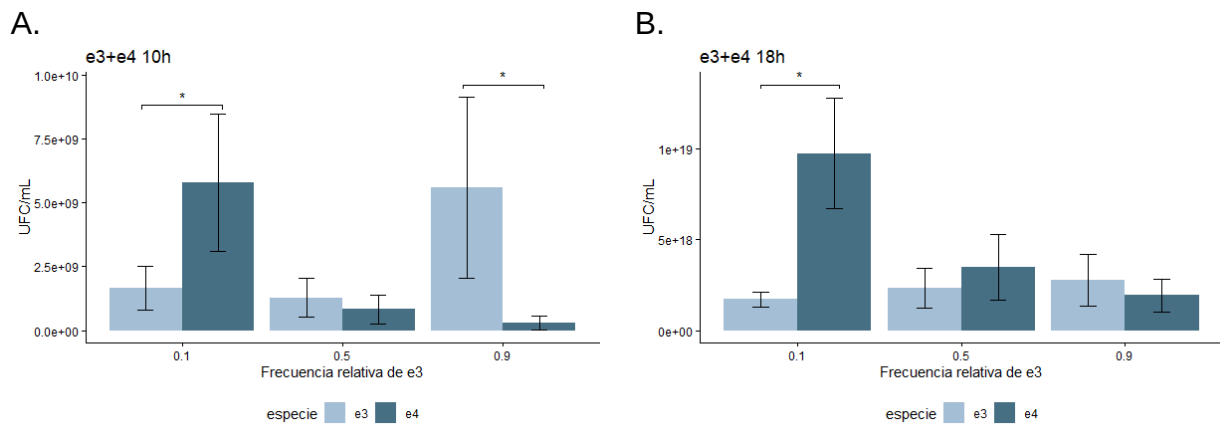


Figura 1. Número de UFC/mL (media $\pm$ EE) de cada especie de la comunidad intra-género dada su frecuencia después de (A) 10 y (B) 18 horas de incubación. * indican diferencias entre los valores después de una prueba a posteriori de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

Predicciones del modelo GLM para la comunidad e3+e4

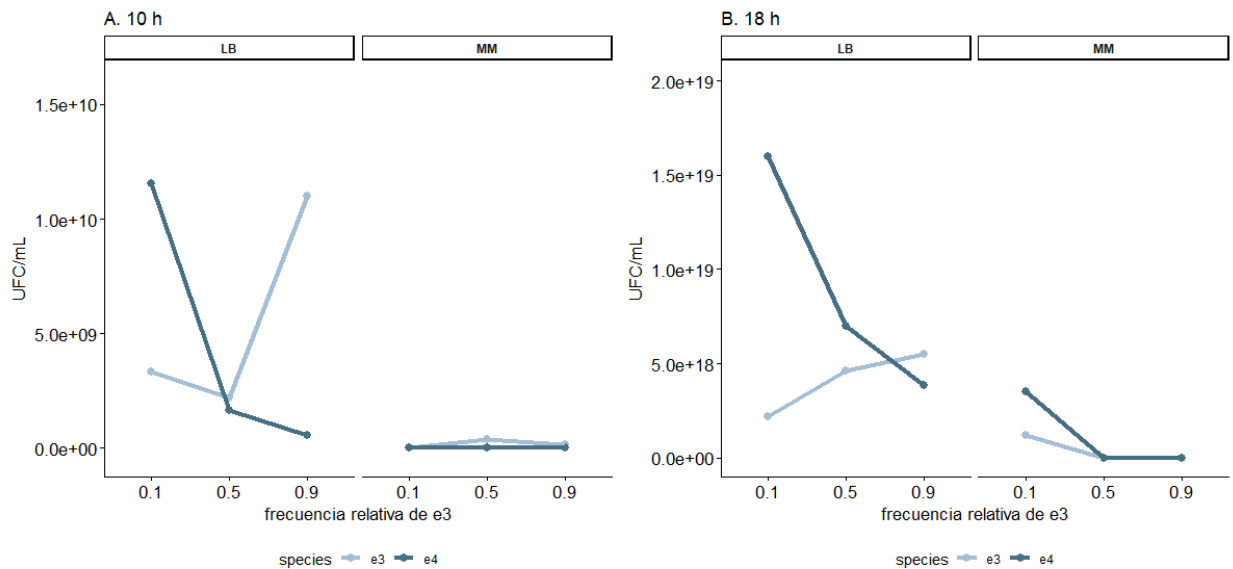


Figura 2. Cantidad de UFC/mL predichas por el modelo GLM, por especie, para la comunidad intra-género a las 10 horas (izquierda) y 18 horas (derecha).

7.1.2 Comunidad bacteriana inter-género

Para el bioensayo realizado con *S. luteola* (e4) y *B. pumilus* (e2), los resultados a las 10 horas indican que tanto la frecuencia inicial como la identidad de la especie afectan significativamente el número de unidades formadoras de colonias, y que estos efectos dependen de su interacción. En particular, tanto la frecuencia intermedia (frecuencia 0.5; $\beta = 0.84$, $P = 0.016$) como la frecuencia alta (frecuencia 0.9; $\beta = 1.16$, $P < 0.001$) mostraron efectos positivos significativos, lo que sugiere que un incremento en la frecuencia inicial favorece el número de colonias de toda la comunidad. Asimismo, la especie *S. luteola* (e4) presentó un efecto positivo significativo ($\beta = 1.15$, $P = 0.001$), indicando diferencias entre las especies. No obstante, estos efectos están modulados por interacciones negativas y significativas entre la especie e4 y ambas frecuencias evaluadas (frecuencia 0.5: $\beta = -1.61$, $P < 0.001$; frecuencia 0.9: $\beta = -4.00$, $P < 0.001$; Fig. 2a), lo que sugiere que el efecto positivo de la frecuencia disminuye o se revierte en el contexto de esta especie. En contraste, el medio y sus interacciones no mostraron efectos significativos, lo que indica que las condiciones ambientales evaluadas no influyen de manera importante en el número de colonias. El patrón observado a las 18 horas es completamente diferente ya que la mayoría de los efectos dejan de ser significativos, lo que sugiere una pérdida de la estructura detectada inicialmente. En particular, la frecuencia intermedia (0.5) no mostró un efecto significativo ($P = 0.566$), mientras que la frecuencia alta (0.9) mantuvo un efecto positivo significativo ($\beta = 2.54$, $P = 0.046$), aunque con mayor incertidumbre en comparación con el tiempo inicial. A diferencia de lo observado a las 10 horas, la identidad de la especie ya no tuvo un efecto significativo ($P = 0.858$), indicando que las diferencias entre ambas especies se atenúan con el tiempo. De manera consistente, tampoco se detectaron interacciones significativas

entre la frecuencia y la especie (Fig. 2b), lo que contrasta con el patrón claro de interacción observado a las 10 horas. El efecto del medio y sus interacciones tampoco fueron significativos, aunque los errores estándar considerablemente grandes asociados a estos términos sugieren una estimación poco precisa de sus efectos. En conjunto, estos resultados indican que, a las 18 horas, la dinámica del sistema está menos determinada por la interacción entre frecuencia y especie, y que los efectos de la selección dependiente de la frecuencia observados a tiempos tempranos tienden a debilitarse o desaparecer con el tiempo bajo estas condiciones experimentales.

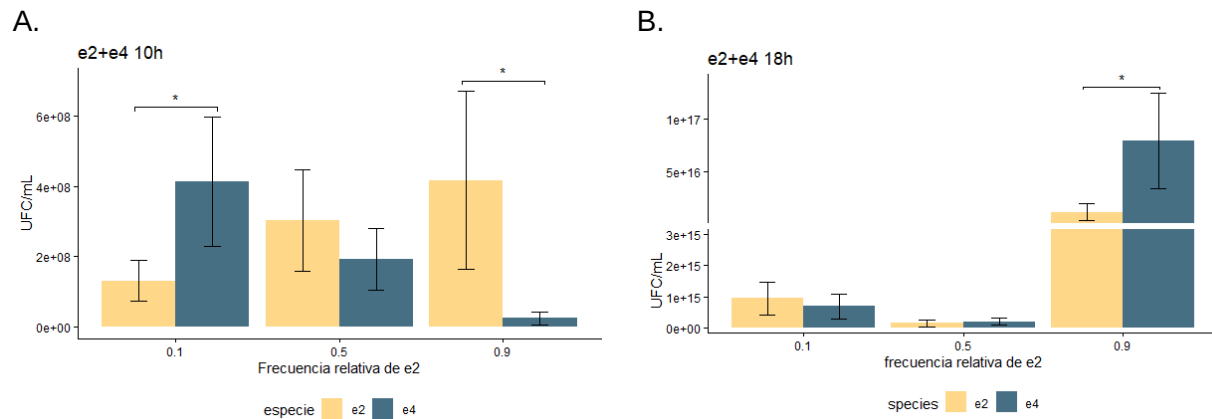


Figura 3. Número de UFC/mL (media $\pm$ EE) de cada especie de la comunidad inter-género dada su frecuencia después de (A) 10 y (B) 18 horas de incubación. * indican diferencias entre los valores después de una prueba a posteriori de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

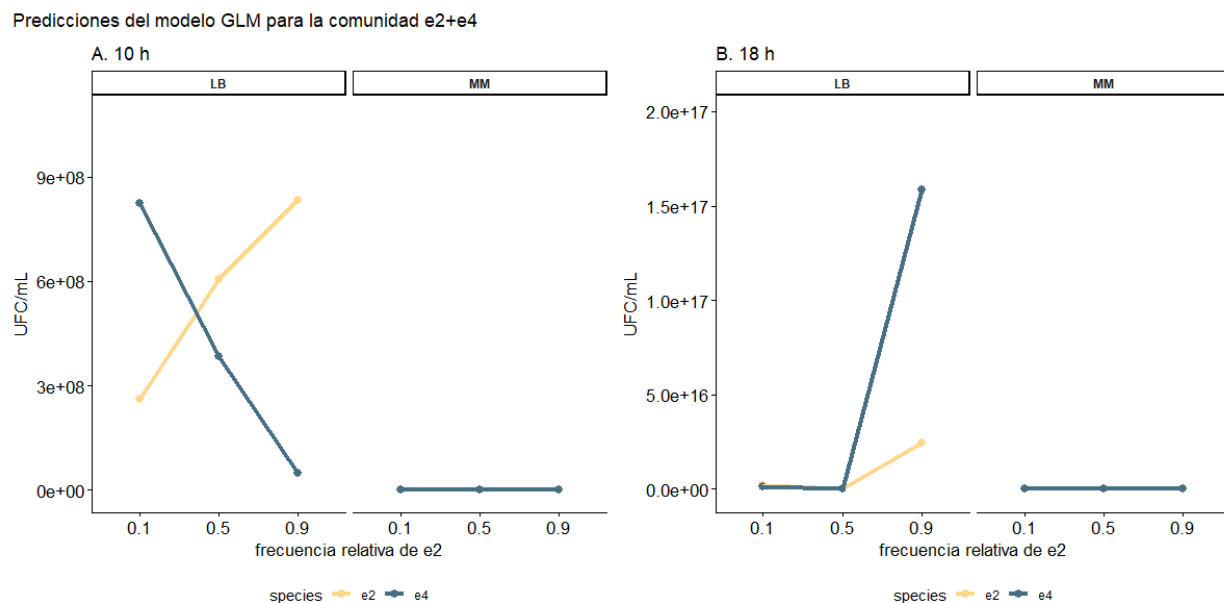


Figura 4. Cantidad de UFC/mL predichas por el modelo GLM, por especie, para la comunidad inter-género a las 10 horas (izquierda) y 18 horas (derecha).

7.2 Inferencias del modelo gLV

7.2.1 Interacciones y parámetros

A partir de los datos de UFC/mL a lo largo del tiempo se calcularon las tasas de crecimiento para las tres especies en cultivo axénico. Se obtuvieron valores de 1.65 ± 0.396 , 2.33 ± 0.311 y 4.06 ± 0.618 (media $\pm$ EE) para *B. pumilus* (e2), *S. sp. KP5-3* (e3) y *S. luteola* (e4), respectivamente. Además de la estimación bajo condiciones axénicas, se obtuvieron las tasas de crecimiento considerando las combinaciones de las interacciones y el medio de cultivo (Tabla 2). Para el caso de la comunidad intra-género, la tasa de crecimiento de e3 en medio LB disminuyó a comparación del cultivo axénico por muy poco, mientras que, en medio mínimo su tasa de crecimiento aumentó una unidad. En cambio, *S. luteola* (e4) disminuyó su tasa de crecimiento en ambos tipos de medio. Considerando a la comunidad inter-género, *B. pumilus* (e2) tuvo una tasa de crecimiento mayor cuando se encontró en interacción; mientras que en medio LB la tasa de crecimiento de *S. luteola* (e4) disminuyó independientemente de su frecuencia inicial. Mientras que en medio mínimo, la tasa de crecimiento de ambas bacterias disminuyó.

Además, a partir de los bioensayos se estimaron los parámetros de interacción (Tabla 3). Los signos de los parámetros indican el tipo de interacción ecológica: si es positivo la interacción se considera una cooperación mientras que signos negativos indican interacción antagonista o de competencia. Además, el valor absoluto indica qué tan intensa es la interacción. La estimación de estos parámetros también se hizo para todas las condiciones experimentales. En general, los coeficientes de interacción mostraron una fuerte dependencia tanto de la frecuencia relativa como del tipo de medio en ambas comunidades. En la comunidad intra-género (Tabla 3), predominaron coeficientes negativos, particularmente en el medio mínimo, lo que sugiere interacciones mayormente competitivas que se intensifican bajo condiciones de limitación de recursos. En contraste, en medio LB se observaron algunos coeficientes positivos, especialmente a frecuencias intermedias, indicando posibles efectos de facilitación o menor intensidad competitiva. Además, las interacciones intraespecíficas (valores en negritas) tendieron a ser más negativas o cercanas a cero en comparación con las interespecíficas, lo que sugiere una fuerte regulación dependiente de la densidad. Por otro lado, en la comunidad inter-género (Tabla 4) se observó una mayor variabilidad en el signo y magnitud de los coeficientes, con transiciones entre interacciones positivas y negativas dependiendo de la frecuencia y el medio. En particular, en medio mínimo emergieron tanto efectos competitivos como facilitadores, mientras que en medio LB las interacciones fueron predominantemente negativas. En conjunto, estos resultados indican que la estructura

de interacciones es altamente contextual y depende de la identidad de las especies, la disponibilidad de recursos y su frecuencia relativa en la comunidad.

Finalmente, se estimaron los puntos de equilibrio y su estabilidad mediante el cálculo de la matriz jacobiana y el método de traza y determinante. Para la comunidad intra-género, se encontraron tres puntos de equilibrio con interpretación biológica: uno con un equilibrio tipo silla de montar (saddle) y los otros dos con equilibrios estables (Tabla 5). Las condiciones experimentales en las que se da uno de ellos es en medio LB cuando la especie *S. sp. KP5-3* (e3) comienza como la especie más común. Los otros dos se dan en medio mínimo cuando ambas especies inician con frecuencias relativas diferentes (Tabla 5). Por el contrario, para la comunidad inter-género, ninguno de los puntos de equilibrio tiene interpretación biológica, ya que tienen signos negativos (Tabla 6).

Tabla 2. Tasas de crecimiento intrínsecas (r , en unidades de tiempo $^{-1}$) promedio estimadas para las diferentes especies bacterianas bajo diferentes condiciones experimentales.

	medio LB			medio mínimo		
Comunidad intra-género	frecuencia de e3					
	0.1	0.5	0.9	0.1	0.5	0.9
<i>Sporosarcina sp. KP5-3</i> (e3)	2.078	2.106	2.044	3.11	0.633	0.624
<i>Sporosarcina luteola</i> (e4)	2.359	2.385	2.346	3.06	0.435	0.148
Comunidad inter-género	frecuencia de e2					
	0.1	0.5	0.9	0.1	0.5	0.9
<i>Bacillus pumilus</i> (e2)	2.041	1.760	2.001	1.366	1.312	1.294
<i>Sporosarcina luteola</i> (e4)	1.910	2.072	2.262	1.231	1.208	1.101

Tabla 3. Coeficientes de interacción intra- e inter-específicas para la comunidad intra-género conformada por *S. sp. KP5-3* (e3) y *S. luteola* (e4) bajo diferentes condiciones experimentales (frecuencia relativa y tipo de medio). Valores en negrita indican interacciones intraespecíficas.

	medio LB		medio mínimo	
	e3	e4	e3	e4
frecuencia 0.1 de e3				
e3	-2.91×10^{-10}	6.27×10^{-12}	-4.62×10^{-7}	3.13×10^{-8}
e4	6.59×10^{-25}	1.54×10^{-21}	-3.93×10^{-7}	-9.45×10^{-7}
frecuencia 0.5 de e3				
e3	7.61×10^{-22}	6.86×10^{-21}	-3.39×10^{-28}	-9.96×10^{-30}
e4	-1.75×10^{-22}	5.19×10^{-23}	-2.22×10^{-28}	-6.71×10^{-30}
frecuencia 0.9 de e3				
e3	1.27×10^{-15}	-3.04×10^{-16}	-4.58×10^{-8}	7.21×10^{-8}
e4	1.21×10^{-18}	-3.59×10^{-18}	-3.23×10^{-8}	-5.80×10^{-8}

Tabla 4. Coeficientes de interacción intra- e inter-específicas para la comunidad inter-género conformada por *B. pumilus* (e2) y *S. luteola* (e4) bajo diferentes condiciones experimentales (frecuencia relativa y tipo de medio). Valores en negrita indican interacciones intraespecíficas.

	medio LB		medio mínimo	
	e2	e4	e2	e4
frecuencia 0.1 de e2				
e2	3.00×10^{-36}	3.22×10^{-23}	-2.87×10^{-9}	5.39×10^{-10}
e4	-2.07×10^{-13}	-3.75×10^{-15}	4.27×10^{-9}	4.17×10^{-11}
frecuencia 0.5 de e2				
e2	-4.46×10^{-13}	-2.18×10^{-15}	2.01×10^{-8}	-1.15×10^{-9}
e4	-5.53×10^{-25}	-6.32×10^{-24}	-3.22×10^{-10}	5.31×10^{-9}
frecuencia 0.9 de e2				
e2	2.42×10^{-15}	-1.18×10^{-15}	6.54×10^{-7}	-1.02×10^{-5}
e4	7.99×10^{-15}	1.15×10^{-14}	3.16×10^{-8}	1.60×10^{-10}

Tabla 5. Puntos de equilibrio y su estabilidad para la comunidad intra-género conformada por *S. sp. KP5-3* (e3) y *S. luteola* (e4) bajo diferentes condiciones experimentales (frecuencia relativa y tipo de medio). Valores en negrita muestran puntos de equilibrio con interpretación biológica.

frecuencia de e3	medio LB		medio mínimo	
	puntos de equilibrio (e3, e4)	estabilidad	punto de equilibrio (e3, e4)	estabilidad
0.1	$(-5.68 \times 10^{19}, -2.64 \times 10^{21})$	silla	(4556626, 2401318)	estable
0.5	$(2.24 \times 10^{22}, -2.78 \times 10^{21})$	silla	$(-4.22 \times 10^{29}, 1.46 \times 10^{31})$	silla
0.9	(2.93 × 10¹⁷, 1.23 × 10¹⁸)	silla	(82336422, 24147131)	estable

Tabla 6. Puntos de equilibrio y su estabilidad para la comunidad inter-género conformada por *B. pumilus* (e2) y *S. luteola* (e4) bajo diferentes condiciones experimentales (frecuencia relativa y tipo de medio). Aunque se encontraron puntos estables, ninguno de ellos tiene interpretación biológica.

frecuencia de e2	medio LB		medio mínimo	
	puntos de equilibrio (e2, e4)	estabilidad	puntos de equilibrio (e2, e4)	estabilidad
0.1	$(9.28 \times 10^{20}, -5.12 \times 10^{22})$	silla	$(-875403569, -7722464273)$	silla
0.5	$(-3.14 \times 10^{21}, 6.42 \times 10^{23})$	silla	$(-126273144, -772252345)$	estable
0.9	$(-6.38 \times 10^{14}, 9.01 \times 10^{13})$	silla	$(-128440134, -8073514)$	estable

7.2.2. Simulaciones *in silico*

En general, las abundancias esperadas (UFC/mL) variaron marcadamente en función de la frecuencia relativa, el tipo de medio y la identidad de las especies. En la comunidad intra-género (Fig. 3A), en medio LB se observa una respuesta opuesta entre especies: mientras *S. sp. KP5-3* (e3) incrementa su abundancia conforme aumenta su frecuencia inicial, *S. luteola* (e4) disminuye de manera consistente, lo que sugiere una interacción competitiva asimétrica. En contraste, en medio mínimo ambas especies presentan abundancias considerablemente menores y tienden a decrecer con la frecuencia, indicando un efecto más fuerte de la limitación de recursos. Por otro lado, en la comunidad inter-género (Fig. 3B), en medio LB la especie *S. luteola* (e4) muestra un aumento pronunciado en abundancia con la frecuencia, superando ampliamente a *B. pumilus* (e2), que sólo incrementa ligeramente, lo que sugiere una ventaja competitiva de la *Sporosarcina* en condiciones ricas. Sin embargo, en medio mínimo ambas especies colapsan a valores cercanos a cero independientemente de la frecuencia inicial, evidenciando que la disponibilidad de recursos restringe severamente el crecimiento. En conjunto, estos patrones indican que tanto la frecuencia relativa como el ambiente modulan fuertemente la dinámica poblacional y pueden alterar la dominancia entre especies.

En particular, las simulaciones del modelo gLV realizadas para la comunidad intra-género, conformada por las dos especies de *Sporosarcina*, no necesariamente corresponden con las observaciones experimentales. En el escenario donde *S. sp. KP5-3* (e3) empieza siendo la más común (frecuencia de 0.9) en medio LB, la especie no se extingue, se mantiene común. Sucede lo mismo en el caso de la especie *S. luteola* (e4) que cuando comienza siendo común en medio mínimo, se mantuvo como la más abundante (Fig. 4). La mayoría de las simulaciones muestran la extinción de una de las especies, pero hay tres simulaciones en las que se observan condiciones de coexistencia. Una se aprecia en medio LB cuando *S. sp. KP5-3* (e3) comienza con una frecuencia relativa rara y *S. luteola* (e4) está en alta frecuencia. Los otros dos escenarios de coexistencia se observan en medio mínimo cuando ambas especies comienzan en frecuencias relativas diferentes. Cuando *S. sp. KP5-3* (e3) es rara y a las cuatro horas comienza su crecimiento exponencial que la coloca como la más común, sin extinguir a *S. luteola* (e4). El último escenario de coexistencia es cuando esta misma especie e3 empieza en una frecuencia de 0.9 y la especie e4 en 0.1, durante las dos primeras horas se intercambian y después regresan al estado en el que comenzaron (Fig. 4). Por el otro lado, para las simulaciones de la comunidad inter-género que está conformada por *B. pumilus* (e2) y *S. luteola* (e4) se observa que, independientemente del medio o la frecuencia en la que comienzan, la especie *B. pumilus* (e2) se extingue, a excepción de un escenario: cuando *B. pumilus* (e2) comienza con una frecuencia relativa de 0.1, donde a las 16 horas tiene un crecimiento exponencial y *S. luteola* (e4) termina por extinguirse (Fig. 5). Exceptuando por el último escenario, las simulaciones reprodujeron la tendencia

que se observó experimentalmente, dado que al final el mayor número de colonias que se encontraba era de la especie *S. luteola* (e4), mientras que *B. pumilus* (e2) estaba por debajo del límite de detección (Fig. 5).

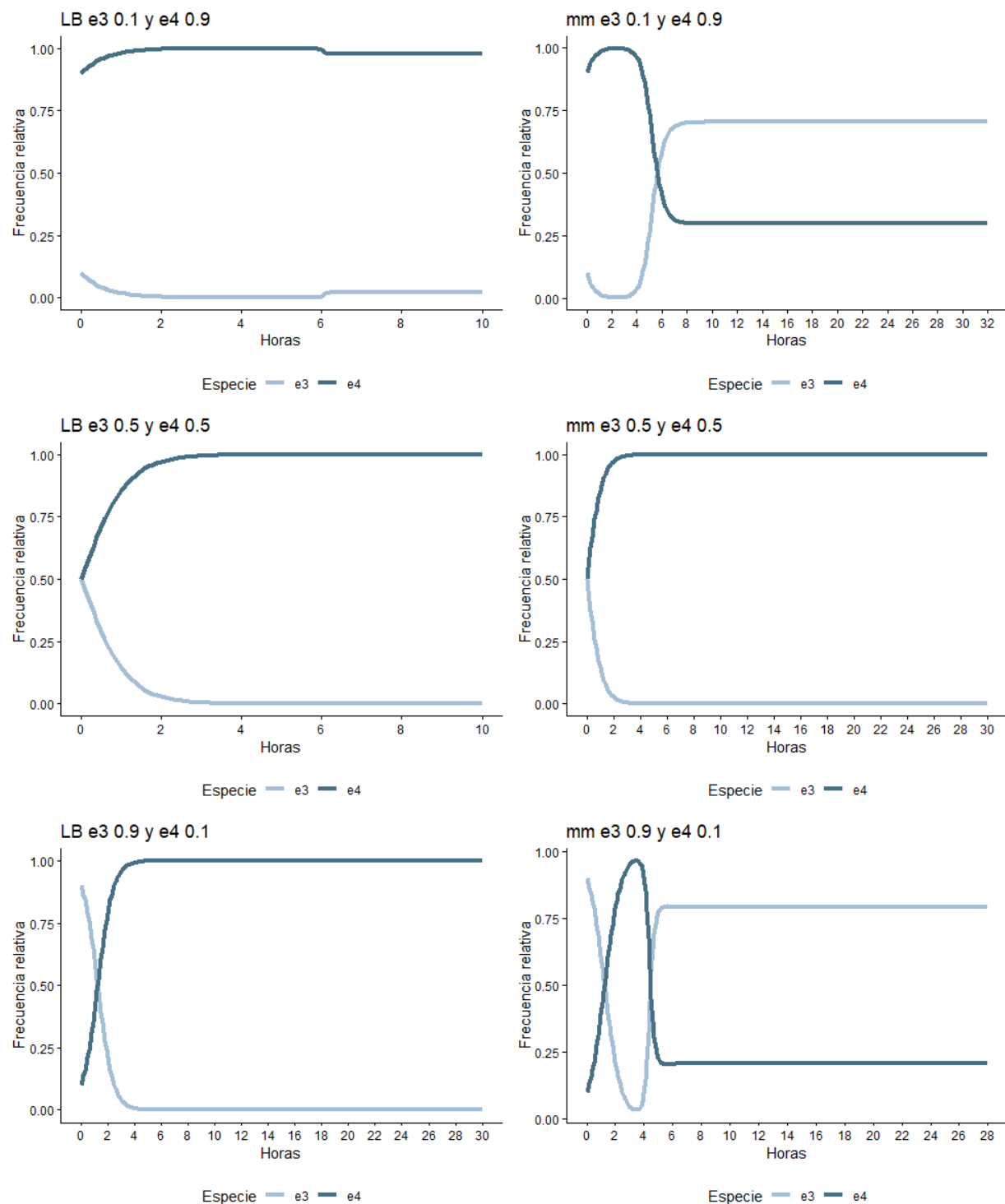


Figura 5. Simulaciones del modelo gLV para la comunidad intra-género conformada por *S. sp. KP5-3* (*e3*) y *S. luteola* (*e4*). Las simulaciones corresponden a medio LB (izquierda) y medio mínimo (derecha) iniciando en frecuencias contrastantes.

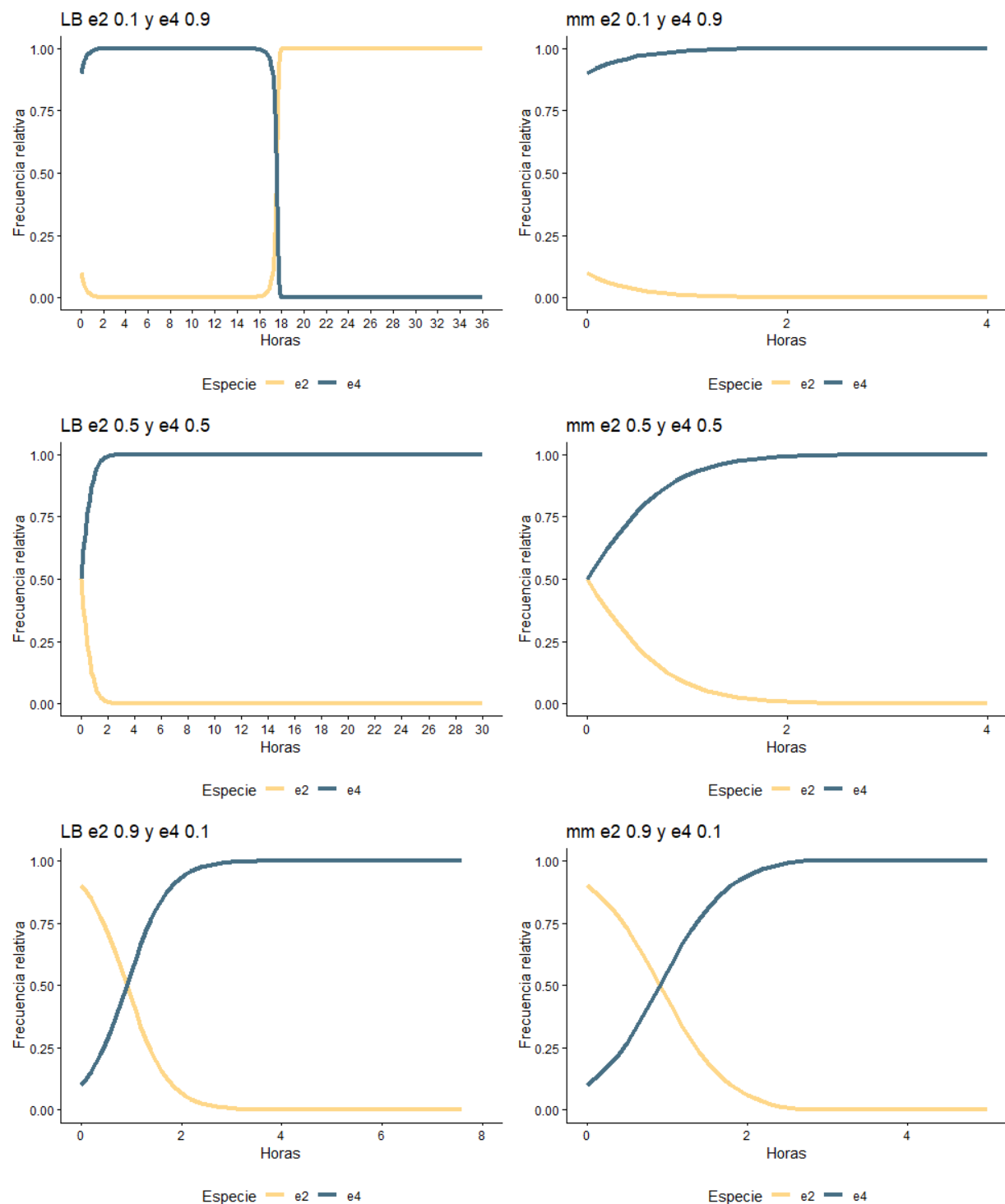


Figura 6. Simulaciones del modelo gLV para la comunidad inter-género conformada por *B. pumilus* (e2) y *S. luteola* (e4). Las simulaciones corresponden a medio LB (izquierda) y medio mínimo (derecha) iniciando en frecuencias contrastantes.

8. Discusión

8.1. Manipulación de frecuencias *in vitro*

Los resultados de manipular la frecuencia de cada especie dentro de la comunidad intra-género son consistentes con un patrón de SDF positiva, donde el fitness de *Sporosarcina luteola* (e4) es mayor cuando comienza en una frecuencia relativa alta. Es decir, el fitness de e4 aumenta cuando es la variante común en la comunidad, lo que sugiere que su éxito reproductivo incrementa con su frecuencia relativa. Una posible explicación es que e4 activa genes ventajosos cuando, mediante Quorum Sensing (QS), percibe la densidad celular necesaria para comenzar a expresar factores competitivos ventajosos. En bacterias gram positivas, varias especies de estreptococos, enterococos y bacilos controlan fenotipos a través de moléculas de QS, entre ellos los relacionados con la producción de toxinas, enzimas digestivas, factores de virulencia o proteínas para la formación de biopelículas (Cosgriff et al., 2019; Williams, 2025), lo que podría sugerir cooperación intraespecífica entre las células de *S. luteola*. De ser el caso también explicaría el por qué su fitness es menor cuando comienza en una baja frecuencia, debido a que la señal podría estar diluyéndose y no expresa dichos factores (Jung & Meile, 2020). Además, teóricamente ya se ha abordado la idea de que la SDF que actúa sobre rasgos cooperativos suele ser común en organismos unicelulares asexuales (Ross-Gillespie et al., 2007b). Otra explicación plausible es que e4 produce bienes públicos que pueden ser aprovechados por sus conespecíficas. Esto es apoyado por la similitud entre los géneros *Sporosarcina* y *Bacillus*, (debido a que previamente algunas especies de *Sporosarcina* habían sido clasificadas dentro del género *Bacillus* (Yoon et al., 2001)), ya que sí hay reportes de que este género excreta bienes públicos en biopelículas (Kalamara et al., 2018; Lyons & Kolter, 2017). Sin embargo, hasta la fecha, aún no se cuenta con evidencia de la producción de metabolitos que sean excretados al medio por el género *Sporosarcina*. Considerando que un factor para que haya SDF negativa es la competencia intraespecífica fuerte (Christie & McNickle, 2023), el hecho de que se observara SDF positiva sugiere que el mecanismo dominante no es la competencia por recursos, sino la cooperación.

Dado que el fitness de ambas *Sporosarcinas* no mostró diferencias significativas entre tipos de medio, podría proponerse que e3 y e4 pueden compartir metabolitos liberados al medio mediante cross-feeding, favorecido por su similitud fisiológica, principalmente en el medio con fuentes de carbono limitadas, ya que anteriormente se ha reportado que esta interacción surge en situaciones de estrés (L. Wang et al., 2024). Aunque la cooperación suele ser más frecuente entre individuos altamente emparentados, como poblaciones clonales, también se ha documentado entre especies diferentes mediante redes de intercambio metabólico, especialmente cuando tienen

compatibilidad fisiológica (Pande & Kost, 2017). También podría argumentarse que la falta de diferencia estadística significativa del fitness entre tipos de medio se debe a que, al estar emparentadas, ambas especies son capaces de aprovechar las fuentes de carbono de ambos medios con la misma eficiencia (Hunting et al., 2015; Roman & Wagner, 2018).

Por su parte, las bacterias de la comunidad inter-género fueron reportadas anteriormente como antagonistas, por lo que se esperaba que la competencia entre ambos géneros fuera intensificada por los recursos disponibles en el medio mínimo y por la presión de la frecuencia, sin embargo, la falta de diferencia en el fitness de las bacterias (UFC) entre frecuencias sugiere que la interacción entre *B. pumilus* (e2) y *S. luteola* (e4) es independiente de la frecuencia, por lo que el resultado de su interacción podría ser regulada por características intrínsecas a cada célula, como su capacidad para captar recursos; modificar el ambiente a su favor (como la capacidad ya conocida del género *Bacillus* para modificar el pH de su ambiente); o de la capacidad de e2 para compensar el antagonismo de e4, debido a que la especie *B. subtilis* posee mecanismos complementarios para resistir la intoxicación de antimicrobianos producidos por otras bacterias gram positivas (Peterson et al., 2020; Ratzke & Gore, 2018; J. Wang et al., 2025). Respecto a su interacción antagonista, se reportó la capacidad de tres especies del género *Sporosarcina* para inhibir a bacterias patógenas como *Serratia marcescens* (Priyodip & Balaji, 2019), sin embargo, hasta la fecha no se ha descrito el mecanismo antagonista del género; pero, dado que al final del experimento (18 horas) todavía se encontraron UFC/mL de ambas especies, esto podría indicar que al estar inoculadas en medio líquido la concentración del compuesto inhibitorio de e4 se diluyó, ya que (Chao & Levin, 1981) demostraron que en cultivos líquidos bien agitados la producción de péptidos antimicrobianos es menos efectiva debido a su distribución. O bien, existe la posibilidad de que el antagonismo sea contexto dependiente y no se haya expresado, o al menos no plenamente, en las condiciones experimentales (Podnar et al., 2022).

Respecto a la falta de diferencia entre el fitness independientemente del medio de cultivo, podría ser que ambas especies tengan eficiencias metabólicas similares para las fuentes de carbono de ambos tipos de medio, que se refleja en las tasas de crecimiento intrínsecas (r) tanto de e2 como de e4, las cuales son semejantes y consistentes entre los tratamientos, por lo que pareciera que ninguna tiene una ventaja por crecimiento. En ese caso, cambiar el tipo de medio no generaría asimetrías en el fitness, independientemente del mecanismo de competencia, respaldado por un reporte previo de (Yang et al., 2019), donde se observó en *Bacillus amyloliquefaciens* que el tipo de fuente de carbono afecta la biomasa total pero no necesariamente se refleja en el fitness.

8.2. Manipulación de las frecuencias *in silico*

De forma general, parece que el modelo Lotka-Volterra generalizado logró capturar adecuadamente la dirección y la magnitud de la mayoría de las interacciones entre las especies de ambas comunidades, considerando que refleja la exclusión de e4 hacia e2 y la coexistencia de e3 y e4. Respecto a esta última, todos los puntos de equilibrio que se encontraron fueron en esta comunidad, probablemente porque los coeficientes de interacción intraespecíficos sí tienen un signo negativo que regula mejor el crecimiento de cada especie, por lo que la dinámica que modelan es más realista. Los puntos de equilibrio estables que se encontraron pueden atribuirse a los signos de los coeficientes de interacción en las condiciones del medio mínimo, los cuales reflejan que la interacción intraespecífica negativa es mayor a la interacción entre especies, que biológicamente sugeriría que cada especie de *Sporosarcina* compite más con sus conespecíficas por los mismos recursos. Mientras que la comunidad inter-género tuvo únicamente puntos de equilibrio con componentes negativos, sin interpretación biológica (Hong & Pego, 2021), probablemente por la asimetría de la interacción, donde la competencia inter-específica de e4 sobre e2 supera a la competencia intra-específica de *B. pumilus*.

A pesar de que las simulaciones lograron reproducir un patrón general de competencia en ambas comunidades, los resultados que muestran difieren de los experimentales, debido a que la mayoría muestra exclusión competitiva en la mayoría de los escenarios, mientras que experimentalmente sí se encontraron UFC/mL de ambas especies. Lo anterior podría atribuirse a la naturaleza misma del modelo, como que los parámetros son constantes a lo largo del tiempo y las interacciones son lineales (Joseph et al., 2020), además de las limitaciones del método utilizado para estimar los parámetros, ya que el método puede conducir a estimaciones sesgadas (Dunsmuir & He, 2016). Lo anterior corresponde a una de las limitaciones de esta tesis, debido a que las penalizaciones tipo lasso para series temporales que se utilizaron para estimar los parámetros no suelen considerar la correlación temporal de los datos (Song & Bickel, 2011). Además de que la regresión tipo ridge introduce una regularización que reduce la varianza a costa de introducir sesgo, lo que puede desplazar ligeramente la posición del equilibrio respecto al comportamiento real del sistema (Hastie, 2020).

En relación a lo anterior, el método utilizado para estimar el fitness de las especies fue conteo de colonias en placa y después se estimaron las UFC/mL como un *proxy* del fitness, en el cual se asume que cada colonia observable en la placa proviene de una célula viable capaz de replicarse. Este método en sí mismo tiene limitaciones intrínsecas, como el error asociado al muestreo y la preparación de las diluciones seriadas, además de la naturaleza estocástica del proceso de muestreo (Martini et al., 2024; Worthan et al., 2023b). Otra limitación es que el haber evaluado únicamente interacciones por pares disminuye la validez externa de las predicciones generadas a partir de las observaciones *in vitro*, ya que podrían cambiar en condiciones naturales (Ishizawa et al., 2024).

También es importante considerar el número reducido de réplicas biológicas para los tratamientos, ya que la variabilidad inherente al conteo de UFC/mL incrementó la varianza entre réplicas, que a su vez se refleja en las barras de error tan amplias y pudo disminuir el poder estadístico.

9. Conclusiones y perspectivas

Los resultados sugieren que la dinámica competitiva entre especies bacterianas del mismo género puede diferir de manera sustancial según la identidad de los competidores y los recursos disponibles. La SDF positiva observada en una de las comunidades sugiere que ciertas especies dependen de mecanismos dependientes de la frecuencia relativa (como el *Quorum Sensing*) para expresar su ventaja competitiva, mientras que la ausencia de este efecto en la comunidad inter-género puede indicar que el potencial inhibitorio no es suficiente para generar diferencias en el fitness bajo las condiciones evaluadas en esta tesis. En conjunto, estos descubrimientos apuntan a que la estructura de la competencia bacteriana depende fuertemente del contexto, lo que a su vez tiene implicaciones importantes para comprender la estabilidad de las comunidades microbianas en ambientes naturales y la diversidad de las mismas. Como perspectivas, se plantea reforzar la comprensión de las interacciones por pares de las especies de la comunidad sintética, utilizando medios más parecidos a su ambiente natural y con frecuencias relativas diferentes a las evaluadas en esta tesis, con proporciones 0.2 : 0.8 o 0.3 : 0.7, por ejemplo. Además, extender el número de generaciones evaluadas en el experimento podría sumar a la comprensión de la dinámica de cada comunidad a lo largo del tiempo y determinar si se llega a la extinción, tal como sugieren los modelos.

10. Bibliografía

- Abisado, R. G., Benomar, S., Klaus, J. R., Dandekar, A. A., & Chandler, J. R. (2018). Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. *mBio*, 9(3), 10.1128/mbio.02331-17.
<https://doi.org/10.1128/mbio.02331-17>
- Adler, P. B., HilleRisLambers, J., & Levine, J. M. (2007). A niche for neutrality. *Ecology Letters*, 10(2), 95–104. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00996.x>
- Allison, S. D., & Martiny, J. B. H. (2008). Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(supplement_1), 11512–11519. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801925105>
- Anistro, C. (2024). *Ensamblaje de una comunidad bacteriana sintética multiespecie a partir de interacciones pareadas*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Ayala, F. J., & Campbell, C. A. (1974). Frequency-Dependent Selection. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 5(Volume 5, 1974), 115–138.
<https://doi.org/10.1146/annurev.es.05.110174.000555>
- Barber, M. F., & Fitzgerald, J. R. (2024). Mechanisms of host adaptation by bacterial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 48(4), fuae019. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuae019>
- Bloom, J. D., & Arnold, F. H. (2009). In the light of directed evolution: Pathways of adaptive protein evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(supplement_1), 9995–10000.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0901522106>
- Board, T. E. (2015). Sporosarcina. En *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (pp. 1–7). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00563>
- Branquinho, R., Sousa, C., Lopes, J., Pintado, M. E., Peixe, L. V., & Osório, H. (2014). Differentiation of *Bacillus pumilus* and *Bacillus safensis* Using MALDI-TOF-MS. *PLoS ONE*, 9(10), e110127.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110127>
- Brisson, D. (2018). Negative Frequency-Dependent Selection Is Frequently Confounding. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00010>

- Brockhurst, M. A., Morgan, A. D., Fenton, A., & Buckling, A. (2007). Experimental coevolution with bacteria and phage: The *Pseudomonas fluorescens*— Φ 2 model system. *Infection, Genetics and Evolution*, 7(4), 547–552. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2007.01.005>
- Buckling, A., Craig Maclean, R., Brockhurst, M. A., & Colegrave, N. (2009). The Beagle in a bottle. *Nature*, 457(7231), 824–829. <https://doi.org/10.1038/nature07892>
- Calsbeek, R., Bonvini, L., & Cox, R. M. (2010). Geographic variation, frequency-dependent selection, and the maintenance of a female-limited polymorphism. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 64(1), 116–125. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00808.x>
- Ceballos, R. M., & Stacy, C. L. (2020). Quantifying relative virulence: When μ max fails and AUC alone just is not enough. *The Journal of General Virology*, 102(1), jgv001515. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001515>
- Chao, L., & Levin, B. R. (1981). Structured habitats and the evolution of anticompetitor toxins in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(10), 6324–6328. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.10.6324>
- Chesson, P. (2000). Mechanisms of Maintenance of Species Diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31, 343–366.
- Chouteau, M., Arias, M., & Joron, M. (2016). Warning signals are under positive frequency-dependent selection in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(8), 2164–2169. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519216113>
- Christie, M. R., & McNickle, G. G. (2023). Negative frequency dependent selection unites ecology and evolution. *Ecology and Evolution*, 13(7), e10327. <https://doi.org/10.1002/ece3.10327>
- Clarke, B. C. (1979). The Evolution of Genetic Diversity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 205(1161), 453–474.
- Corander, J., Fraser, C., Gutmann, M. U., Arnold, B., Hanage, W. P., Bentley, S. D., Lipsitch, M., & Croucher, N. J. (2017). Frequency-dependent selection in vaccine-associated pneumococcal population dynamics. *Nature Ecology & Evolution*, 1(12), 1950–1960. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0337-x>

- Cosgriff, C. J., White, C. R., Teoh, W. P., Grayczyk, J. P., & Alonzo, F. (2019). Control of *Staphylococcus aureus* Quorum Sensing by a Membrane-Embedded Peptidase. *Infection and Immunity*, 87(5), e00019-19. <https://doi.org/10.1128/IAI.00019-19>
- Cuaxinque-Flores, G., Aguirre-Noyola, J. L., Hernández-Flores, G., Martínez-Romero, E., Romero-Ramírez, Y., & Talavera-Mendoza, O. (2020). Bioimmobilization of toxic metals by precipitation of carbonates using *Sporosarcina luteola*: An in vitro study and application to sulfide-bearing tailings. *Science of The Total Environment*, 724, 138124. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138124>
- Dobrzyński, J., Jakubowska, Z., & Dybek, B. (2022). Potential of *Bacillus pumilus* to directly promote plant growth. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1069053>
- Dunsmuir, W. T. M., & He, J. Y. (2016). *Marginal Estimation of Parameter Driven Binomial Time Series Models* (arXiv:1606.00976). arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1606.00976>
- Elena, S. F., & Lenski, R. E. (2003). Evolution experiments with microorganisms: The dynamics and genetic bases of adaptation. *Nature Reviews Genetics*, 4(6), 457–469. <https://doi.org/10.1038/nrg1088>
- Fink, J. W., & Manhart, M. (2026). Quantifying microbial fitness in high-throughput experiments. *eLife*, 13. <https://doi.org/10.7554/eLife.102635.2>
- Fisher, R. A. (1930). *The genetical theory of natural selection*. Clarendon Press. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.27468>
- Flamholz, A. I., & Newman, D. K. (2022). Microbial communities: The metabolic rate is the trait. *Current Biology*, 32(5), R215–R218. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.02.002>
- Foerster, S., Unemo, M., Hathaway, L. J., Low, N., & Althaus, C. L. (2015). *Time-kill curve analysis and pharmacodynamic functions for in vitro evaluation of antimicrobials against Neisseria gonorrhoeae*. Microbiology. <https://doi.org/10.1101/028506>
- Foster, J. A., & Neufeld, K.-A. M. (2013). Gut–brain axis: How the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 36(5), 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.01.005>
- Frank, S. A. (2002). Measuring Selection with Population Samples. En *Immunology and Evolution of Infectious Disease*. Princeton University Press. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2379/>

- Friedman, J. H., Hastie, T., & Tibshirani, R. (2010). Regularization Paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent. *Journal of Statistical Software*, 33(1), 1–22.
<https://doi.org/10.18637/jss.v033.i01>
- Futuyma, D. J., & Kirkpatrick, M. (2017). *Evolution* (4ta ed.). Oxford University Press.
- Gallardo-Navarro, O., Aguilar-Salinas, B., Rocha, J., & Olmedo-Álvarez, G. (2024). Higher-order interactions and emergent properties of microbial communities: The power of synthetic ecology. *Heliyon*, 10(14), e33896. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33896>
- Garcillán-Barcia, M. P., de la Cruz, F., & Rocha, E. P. C. (2025). The extended mobility of plasmids. *Nucleic Acids Research*, 53(14), gkaf652. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf652>
- Germerodt, S., Bohl, K., Lück, A., Pande, S., Schröter, A., Kaleta, C., Schuster, S., & Kost, C. (2016). Pervasive Selection for Cooperative Cross-Feeding in Bacterial Communities. *PLoS Computational Biology*, 12(6), e1004986. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004986>
- Gore, J., Youk, H., & van Oudenaarden, A. (2009). Snowdrift game dynamics and facultative cheating in yeast. *Nature*, 459(7244), 253–256. <https://doi.org/10.1038/nature07921>
- Grayling, M., J. (2014). phaseR: An R Package for Phase Plane Analysis of Autonomous ODE Systems. *The R Journal*, 6(2), 43. <https://doi.org/10.32614/RJ-2014-023>
- Gregory, T. R. (2009). Understanding Natural Selection: Essential Concepts and Common Misconceptions. *Evolution: Education and Outreach*, 2(2), 156–175.
<https://doi.org/10.1007/s12052-009-0128-1>
- Großkopf, T., & Soyer, O. S. (2014). Synthetic microbial communities. *Current Opinion in Microbiology, Cell regulation*, 18, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.02.002>
- Gupta, R. S., & Patel, S. (2020). Robust Demarcation of the Family Caryophanaceae (Planococcaceae) and Its Different Genera Including Three Novel Genera Based on Phylogenomics and Highly Specific Molecular Signatures. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2821.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02821>
- Harrison, F., Paul, J., Massey, R. C., & Buckling, A. (2008). Interspecific competition and siderophore-mediated cooperation in *Pseudomonas aeruginosa*. *The ISME Journal*, 2(1), 49–55.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2007.96>

- Hastie, T. (2020). Ridge Regularization: An Essential Concept in Data Science. *Technometrics : a journal of statistics for the physical, chemical, and engineering sciences*, 62(4), 426–433.
<https://doi.org/10.1080/00401706.2020.1791959>
- Hedrick, P. W. (2006). Genetic polymorphism in heterogeneous environments: The age of genomics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 67–93.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110132>
- Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: Surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature Reviews Microbiology*, 8(1), 15–25.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2259>
- Hong, W. E., & Pego, R. L. (2021). *Exclusion and multiplicity for stable communities in Lotka-Volterra systems* (arXiv:2102.00611). arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2102.00611>
- Huang, Y., Tang, T., Dai, X., & Sun, F. (2025). Quantifying microbial interactions based on compositional data using an iterative approach for solving generalized Lotka-Volterra equations. *PLOS Computational Biology*, 21(11), e1013691. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1013691>
- Hunting, E. R., Vijver, M. G., van der Geest, H. G., Mulder, C., Kraak, M. H. S., Breure, A. M., & Admiraal, W. (2015). Resource niche overlap promotes stability of bacterial community metabolism in experimental microcosms. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00105>
- Iqbal, S., Begum, F., Nguchu, B. A., Claver, U. P., & Shaw, P. (2025). The invisible architects: Microbial communities and their transformative role in soil health and global climate changes. *Environmental Microbiome*, 20, 36. <https://doi.org/10.1186/s40793-025-00694-6>
- Ishizawa, H., Noguchi, S., Kito, M., Nomura, Y., Kimura, K., & Takeo, M. (2025). Decoding emergent properties of microbial community functions through subcommunity observations and interpretable machine learning. *The ISME Journal*, 19(1), wraf236.
<https://doi.org/10.1093/ismejo/wraf236>
- Ishizawa, H., Tashiro, Y., Inoue, D., Ike, M., & Futamata, H. (2024). Learning beyond-pairwise interactions enables the bottom–up prediction of microbial community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121(7), e2312396121.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2312396121>

- Joseph, T. A., Shenhav, L., Xavier, J. B., Halperin, E., & Pe'er, I. (2020). Compositional Lotka-Volterra describes microbial dynamics in the simplex. *PLoS Computational Biology*, 16(5), e1007917. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007917>
- Jung, H., & Meile, C. D. (2020). Numerical investigation of microbial quorum sensing under various flow conditions. *PeerJ*, 8, e9942. <https://doi.org/10.7717/peerj.9942>
- Kalamara, M., Spacapan, M., Mandic-Mulec, I., & Stanley-Wall, N. R. (2018). Social behaviours by *Bacillus subtilis*: Quorum sensing, kin discrimination and beyond. *Molecular Microbiology*, 110(6), 863–878. <https://doi.org/10.1111/mmi.14127>
- Kerr, B., Riley, M. A., Feldman, M. W., & Bohannan, B. J. M. (2002). Local dispersal promotes biodiversity in a real-life game of rock–paper–scissors. *Nature*, 418(6894), 171–174. <https://doi.org/10.1038/nature00823>
- Kirkpatrick, M. (1982). SEXUAL SELECTION AND THE EVOLUTION OF FEMALE CHOICE. *Evolution*, 36(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1982.tb05003.x>
- Koeppel, A. F., & Wu, M. (2014). Species matter: The role of competition in the assembly of congeneric bacteria. *The ISME Journal*, 8(3), 531–540. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.180>
- Konopka, A. (2009). What is microbial community ecology? *The ISME Journal*, 3(11), 1223–1230. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.88>
- Krause, S., Le Roux, X., Niklaus, P. A., Van Bodegom, P. M., Lennon, J. T., Bertilsson, S., Grossart, H.-P., Philippot, L., & Bodelier, P. L. E. (2014). Trait-based approaches for understanding microbial biodiversity and ecosystem functioning. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00251>
- Kuntal, B. K., Gadgil, C., & Mande, S. S. (2019). Web-gLV: A Web Based Platform for Lotka-Volterra Based Modeling and Simulation of Microbial Populations. *Frontiers in Microbiology*, 10, 288. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00288>
- La Duc, M. T., Kern, R., & Venkateswaran, K. (2004). Microbial Monitoring of Spacecraft and Associated Environments. *Microbial Ecology*, 47(2), 150–158. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-1012-0>

- Lande, R., & Arnold, S. J. (1983). THE MEASUREMENT OF SELECTION ON CORRELATED CHARACTERS. *Evolution*, 37(6), 1210–1226. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1983.tb00236.x>
- Lenski, R. E., Rose, M. R., Simpson, S. C., & Tadler, S. C. (1991). Long-Term Experimental Evolution in *Escherichia coli*. I. Adaptation and Divergence During 2,000 Generations. *The American Naturalist*, 138(6), 1315–1341. <https://doi.org/10.1086/285289>
- Levin, B. R., Antonovics, J., Sharma, H., Clarke, B. C., Partridge, L., Robertson, A., Clarke, B. C., & Partridge, L. (1997). Frequency-dependent selection in bacterial populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 319(1196), 459–472. <https://doi.org/10.1098/rstb.1988.0059>
- Lewis, J. A., & Morran, L. T. (2022). Advantages of laboratory natural selection in the applied sciences. *Journal of Evolutionary Biology*, 35(1), 5–22. <https://doi.org/10.1111/jeb.13964>
- Lewontin, R. C. (with Internet Archive). (1974). *The genetic basis of evolutionary change*. New York, Columbia University Press. <http://archive.org/details/geneticbasisofev00lewo>
- Louca, S., Polz, M. F., Mazel, F., Albright, M. B. N., Huber, J. A., O'Connor, M. I., Ackermann, M., Hahn, A. S., Srivastava, D. S., Crowe, S. A., Doebeli, M., & Parfrey, L. W. (2018). Function and functional redundancy in microbial systems. *Nature Ecology & Evolution*, 2(6), 936–943. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1>
- Lyons, N. A., & Kolter, R. (2017). *Bacillus subtilis* Protects Public Goods by Extending Kin Discrimination to Closely Related Species. *mBio*, 8(4), 10.1128/mbio.00723-17. <https://doi.org/10.1128/mbio.00723-17>
- Maeda, T., & Furusawa, C. (2024). Laboratory Evolution of Antimicrobial Resistance in Bacteria to Develop Rational Treatment Strategies. *Antibiotics*, 13(1), 94. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13010094>
- Martini, K. M., Boddu, S. S., Nemenman, I., & Vega, N. M. (2024). Maximum likelihood estimators for colony-forming units. *Microbiology Spectrum*, 12(9), e03946-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03946-23>

- Mason, N. W. H., Mouillot, D., Lee, W. G., & Wilson, J. B. (2005). Functional richness, functional evenness and functional divergence: The primary components of functional diversity. *Oikos*, 111(1), 112–118. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13886.x>
- Morán, A. (2023). *Interacciones ecológicas entre bacterias, una aproximación para entender el efecto de la microbiota de los insectos sobre las defensas de las plantas*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Morris, J. J., Lenski, R. E., & Zinser, E. R. (2012). The Black Queen Hypothesis: Evolution of Dependencies through Adaptive Gene Loss. *mBio*, 3(2), 10.1128/mbio.00036-12. <https://doi.org/10.1128/mbio.00036-12>
- Nemergut, D. R., Schmidt, S. K., Fukami, T., O'Neill, S. P., Bilinski, T. M., Stanish, L. F., Knelman, J. E., Darcy, J. L., Lynch, R. C., Wickey, P., & Ferrenberg, S. (2013). Patterns and Processes of Microbial Community Assembly. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 77(3), 342–356. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00051-12>
- Nguyen, T. A., Greig, J., Khan, A., Goh, C., & Jedd, G. (2018). Evolutionary novelty in gravity sensing through horizontal gene transfer and high-order protein assembly. *PLOS Biology*, 16(4), e2004920. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2004920>
- Otto, S. P., Servedio, M. R., & Nuismer, S. L. (2008). Frequency-Dependent Selection and the Evolution of Assortative Mating. *Genetics*, 179(4), 2091–2112. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.084418>
- Özkurt, E. (2025). Experimental systems are essential for strengthening ecological modeling of microbiomes beyond observational data. *mSystems*, 10(8), e01745-24. <https://doi.org/10.1128/msystems.01745-24>
- Pacciani-Mori, L., Giometto, A., Suweis, S., & Maritan, A. (2020). Dynamic metabolic adaptation can promote species coexistence in competitive microbial communities. *PLoS Computational Biology*, 16(5), e1007896. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007896>
- Pande, S., & Kost, C. (2017). Bacterial Unculturability and the Formation of Intercellular Metabolic Networks. *Trends in Microbiology*, 25(5), 349–361. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.02.015>

- Parvathi, A., Krishna, K., Jose, J., Joseph, N., & Nair, S. (2009). Biochemical and molecular characterization of *Bacillus pumilus* isolated from coastal environment in Cochin, India. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(2), 269–275. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000200012>
- Peterson, S. B., Bertolli, S. K., & Mougous, J. D. (2020). The Central Role of Interbacterial Antagonism in Bacterial Life. *Current Biology*, 30(19), R1203–R1214. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.103>
- Phan, T. A., Ridenhour, B. J., & Remien, C. H. (2025). Resilience of a stochastic generalized Lotka-Volterra model for microbiome studies. *Mathematical Biosciences and Engineering: MBE*, 22(6), 1517–1550. <https://doi.org/10.3934/mbe.2025056>
- Podnar, E., Erega, A., Danevčič, T., Kovačec, E., Lories, B., Steenackers, H., & Mandic-Mulec, I. (2022). Nutrient Availability and Biofilm Polysaccharide Shape the Bacillaene-Dependent Antagonism of *Bacillus subtilis* against *Salmonella Typhimurium*. *Microbiology Spectrum*, 10(6), e01836-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01836-22>
- Ponomarova, O., & Patil, K. R. (2015). Metabolic interactions in microbial communities: Untangling the Gordian knot. *Current Opinion in Microbiology, Antimicrobials • Microbial systems biology*, 27, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.06.014>
- Priyodip, P., & Balaji, S. (2019). A Preliminary Study on Probiotic Characteristics of *Sporosarcina* spp. For Poultry Applications. *Current Microbiology*, 76(4), 448–461. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01647-2>
- R Core Team. (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing* [Software]. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rainey, P. B., & Rainey, K. (2003). Evolution of cooperation and conflict in experimental bacterial populations. *Nature*, 425(6953), 72–74. <https://doi.org/10.1038/nature01906>
- Rainey, P. B., & Travisano, M. (1998). Adaptive radiation in a heterogeneous environment. *Nature*, 394(6688), 69–72. <https://doi.org/10.1038/27900>
- Ramond, P., Galand, P. E., & Logares, R. (2025). Microbial functional diversity and redundancy: Moving forward. *FEMS Microbiology Reviews*, 49, fuae031. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuae031>

- Ratcliff, W. C., Denison, R. F., Borrello, M., & Travisano, M. (2012). Experimental evolution of multicellularity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(5), 1595–1600. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115323109>
- Ratzke, C., & Gore, J. (2018). Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. *PLOS Biology*, 16(3), e2004248. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2004248>
- Reynolds, J. (2005). *Serial Dilution Protocols*. <https://asm.org/asm/media/protocol-images/serial-dilution-protocols.pdf?ext=.pdf>
- Roman, M. S., & Wagner, A. (2018). An enormous potential for niche construction through bacterial cross-feeding in a homogeneous environment. *PLOS Computational Biology*, 14(7), e1006340. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006340>
- Rooks, M. G., & Garrett, W. S. (2016). Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nature reviews. Immunology*, 16(6), 341–352. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.42>
- Ross-Gillespie, A., Gardner, A., West, S. A., & Griffin, A. S. (2007a). Frequency dependence and cooperation: Theory and a test with bacteria. *The American Naturalist*, 170(3), 331–342. <https://doi.org/10.1086/519860>
- Ross-Gillespie, A., Gardner, A., West, S. A., & Griffin, A. S. (2007b). Frequency dependence and cooperation: Theory and a test with bacteria. *The American Naturalist*, 170(3), 331–342. <https://doi.org/10.1086/519860>
- Saati-Santamaría, Z., Pérez-Mendoza, D., Khashi u Rahman, M., de Sousa, B. F. S., Montero-Calasanz, M. del C., Rey, L., Roy, S., Sanjuán, J., & García-Fraile, P. (2026). Evolutionary mechanisms underlying bacterial adaptation to the plant environment. *FEMS Microbiology Reviews*, 50, fuag005. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuag005>
- Sandoz, K. M., Mitzimberg, S. M., & Schuster, M. (2007). Social cheating in *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(40), 15876–15881. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705653104>
- Sanz-García, F., Gil-Gil, T., Laborda, P., Blanco, P., Ochoa-Sánchez, L.-E., Baquero, F., Martínez, J. L., & Hernando-Amado, S. (2023). Translating eco-evolutionary biology into therapy to tackle

- antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 21(10), 671–685.
<https://doi.org/10.1038/s41579-023-00902-5>
- Shayanthan, A., Ordoñez, P. A. C., & Oresnik, I. J. (2022). The Role of Synthetic Microbial Communities (SynCom) in Sustainable Agriculture. *Frontiers in Agronomy*, 4.
<https://doi.org/10.3389/fagro.2022.896307>
- Shibasaki, S., & Mitri, S. (2020). Controlling evolutionary dynamics to optimize microbial bioremediation. *Evolutionary Applications*, 13(9), 2460–2471. <https://doi.org/10.1111/eva.13050>
- Silva, G. A. (2011). The Need for the Emergence of Mathematical Neuroscience: Beyond Computation and Simulation. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 5, 51.
<https://doi.org/10.3389/fncom.2011.00051>
- Soetaert, K., Petzoldt, T., & Setzer, R. W. (2010). deSolve. *Solving Differential Equations in R: Package deSolve*, 33(9), 1–25. <https://doi.org/doi:10.18637/jss.v033.i09>
- Song, S., & Bickel, P. J. (2011). *Large Vector Auto Regressions* (arXiv:1106.3915). arXiv.
<https://doi.org/10.48550/arXiv.1106.3915>
- Stein, R. R., Bucci, V., Toussaint, N. C., Buffie, C. G., Räscher, G., Pamer, E. G., Sander, C., & Xavier, J. B. (2013). Ecological Modeling from Time-Series Inference: Insight into Dynamics and Stability of Intestinal Microbiota. *PLoS Computational Biology*, 9(12), e1003388.
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003388>
- Stubbendieck, R. M., Vargas-Bautista, C., & Straight, P. D. (2016). Bacterial Communities: Interactions to Scale. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01234>
- Tilman, D. (1982). *Resource Competition and Community Structure*. (MPB-17), Volume 17. Princeton University Press. <https://doi.org/10.2307/j.ctvx5wb72>
- Tominaga, T., An, S.-Y., Oyaizu, H., & Yokota, A. (2009). *Sporosarcina luteola* sp. Nov. Isolated from soy sauce production equipment in Japan. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 55(3), 217–223. <https://doi.org/10.2323/jgam.55.217>
- Tomlin, C. J., & Axelrod, J. D. (2007). Biology by numbers: Mathematical modelling in developmental biology. *Nature Reviews Genetics*, 8(5), 331–340. <https://doi.org/10.1038/nrg2098>

- Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: From community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), 607–621.
<https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
- Vrancken, G., Gregory, A. C., Huys, G. R. B., Faust, K., & Raes, J. (2019). Synthetic ecology of the human gut microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 17(12), 754–763.
<https://doi.org/10.1038/s41579-019-0264-8>
- Wang, J., Qiu, M., Shen, Z., Chen, L., & Ge, Y. (2025). Microbial modulation of soil pH: A self-benefiting mechanism exemplified by *Bacillus*. *Soil Biology and Biochemistry*, 210, 109949.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2025.109949>
- Wang, L., Wang, X., Wu, H., Wang, H., & Lu, Z. (2024). Interspecies synergistic interactions mediated by cofactor exchange enhance stress tolerance by inducing biofilm formation. *mSystems*, 9(9), e00884-24. <https://doi.org/10.1128/msystems.00884-24>
- Weiland-Bräuer, N. (2021). Friends or Foes—Microbial Interactions in Nature. *Biology*, 10(6), 496.
<https://doi.org/10.3390/biology10060496>
- Wen, L., & Simons, A. M. (2020). Delusions of grandeur: Seed count is not a good fitness proxy under individual variation in phenology. *Journal of Evolutionary Biology*, 33(8), 1039–1049.
<https://doi.org/10.1111/jeb.13633>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
<https://ggplot2.tidyverse.org>
- Widder, S., Allen, R. J., Pfeiffer, T., Curtis, T. P., Wiuf, C., Sloan, W. T., Cordero, O. X., Brown, S. P., Momeni, B., Shou, W., Kettle, H., Flint, H. J., Haas, A. F., Laroche, B., Kreft, J.-U., Rainey, P. B., Freilich, S., Schuster, S., Milferstedt, K., ... Soyer, O. S. (2016). Challenges in microbial ecology: Building predictive understanding of community function and dynamics. *The ISME Journal*, 10(11), 2557–2568. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.45>
- Williams, P. (2025). Microbial Primer: Agr-mediated quorum sensing in Gram-positive pathogens. *Microbiology*, 171(7), 001590. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001590>

- Worthan, S. B., McCarthy, R. D. P., & Behringer, M. G. (2023). Case Studies in the Assessment of Microbial Fitness: Seemingly Subtle Changes Can Have Major Effects on Phenotypic Outcomes. *Journal of Molecular Evolution*, 91(3), 311–324. <https://doi.org/10.1007/s00239-022-10087-9>
- Yang, C., Dong, Y., Friman, V.-P., Jousset, A., Wei, Z., Xu, Y., & Shen, Q. (2019). Carbon resource richness shapes bacterial competitive interactions by alleviating growth-antibiosis trade-off. *Functional Ecology*, 33(5), 868–875. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13292>
- Yoon, J. H., Lee, K. C., Weiss, N., Kho, Y. H., Kang, K. H., & Park, Y. H. (2001). *Sporosarcina aquimarina* sp. Nov., a bacterium isolated from seawater in Korea, and transfer of *Bacillus globisporus* (Larkin and Stokes 1967), *Bacillus psychrophilus* (Nakamura 1984) and *Bacillus pasteurii* (Chester 1898) to the genus *Sporosarcina* as *Sporosarcina globispora* comb. Nov., *Sporosarcina psychrophila* comb. Nov. And *Sporosarcina pasteurii* comb. Nov., and emended description of th. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(Pt 3), 1079–1086. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-1079>
- Zaccaria, M., Dedrick, S., & Momeni, B. (2017). Modeling Microbial Communities: A Call for Collaboration between Experimentalists and Theorists. *Processes*, 5(4), 53. <https://doi.org/10.3390/pr5040053>
- Zhang, Z., Kleunen, M. van, Becks, L., & Thakur, M. P. (2020). Towards a General Understanding of Bacterial Interactions. *Trends in Microbiology*, 28(10), 783–785. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.05.010>
- Zimbro, M. J. (Ed.). (2009). *Difco & BBL Manual: Manual of microbiological culture media* (2. ed). Becton, Dickinson.
- Worthan, S. B., McCarthy, R. D. P., & Behringer, M. G. (2023a). Case Studies in the Assessment of Microbial Fitness: Seemingly Subtle Changes Can Have Major Effects on Phenotypic Outcomes. *Journal of Molecular Evolution*, 91(3), 311–324. <https://doi.org/10.1007/s00239-022-10087-9>
- Worthan, S. B., McCarthy, R. D. P., & Behringer, M. G. (2023b). Case Studies in the Assessment of Microbial Fitness: Seemingly Subtle Changes Can Have Major Effects on Phenotypic Outcomes. *Journal of Molecular Evolution*, 91(3), 311–324. <https://doi.org/10.1007/s00239-022-10087-9>
- Zaccaria, M., Dedrick, S., & Momeni, B. (2017). Modeling Microbial Communities: A Call for Collaboration between Experimentalists and Theorists. *Processes*, 5(4), 53. <https://doi.org/10.3390/pr5040053>

Zhang, Z., Kleunen, M. van, Becks, L., & Thakur, M. P. (2020). Towards a General Understanding of Bacterial Interactions. *Trends in Microbiology*, 28(10), 783–785.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.05.010>

Zimbardo, M. J. (Ed.). (2009). *Difco & BBL Manual: Manual of microbiological culture media* (2. ed). Becton, Dickinson.

Anexo 1.

Tabla S1. Resultados del modelo lineal generalizado para la comunidad intra-género conformada por *S. sp. KP5-3* (e3) y *S. luteola* (e4) después de 10 horas de incubación. Valores en negritas indican significancia estadística.

	<i>estimador</i>	<i>error std.</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Intercepto	21.92	0.38	58.07	2.50×10^{-27}
frecuencia 0.5	-0.41	0.59	-0.68	0.5033
frecuencia 0.9	1.21	0.43	2.80	0.0099
especie e4	1.25	0.43	2.93	0.0074
medio mínimo (mm)	-6.10	7.97	-0.77	0.4515
frecuencia 0.5 × especie e4	-1.54	0.83	-1.87	0.0743
frecuencia 0.9 × especie e4	-4.25	1.04	-4.09	0.0004
frecuencia 0.5 × mm	4.31	8.06	0.54	0.5976
frecuencia 0.9 × mm	1.71	8.18	0.21	0.8357
especie e4 × mm	-3.86	30.30	-0.13	0.8998
frecuencia 0.5 × especie e4 × mm	0.63	31.03	0.02	0.9839
frecuencia 0.9 × especie e4 × mm	4.48	30.97	0.15	0.8862

Tabla S2. Resultados del modelo lineal generalizado para la comunidad intra-género conformada por *S. sp. KP5-3* (e3) y *S. luteola* (e4) después de 18 horas de incubación. Valores en negritas indican significancia estadística.

	<i>estimador</i>	<i>error std.</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Intercepto	42.25	0.35	119.62	7.84×10^{-35}
frecuencia 0.5	0.74	0.43	1.72	0.0982
frecuencia 0.9	0.91	0.42	2.18	0.0395
especie e4	1.97	0.38	5.23	2.32×10^{-5}
medio mínimo (mm)	-0.63	0.59	-1.05	0.3056
frecuencia 0.5 × especie e4	-1.57	0.49	-3.19	0.0039
frecuencia 0.9 × especie e4	-2.33	0.51	-4.53	0.0001
frecuencia 0.5 × mm	-34.66	1.12×10^7	-3.09×10^6	0.9999
frecuencia 0.9 × mm	-35.44	1.52×10^7	-2.33×10^6	0.9999
especie e4 × mm	-0.89	0.67	-1.32	0.2006
frecuencia 0.5 × especie e4 × mm	-1.57	3.32×10^7	-4.71×10^8	1.0000
frecuencia 0.9 × especie e4 × mm	-0.64	4.18×10^7	-1.52×10^8	1.0000

Tabla S3. Resultados del modelo lineal generalizado para la comunidad inter-género conformada por *B. pumilus* (e2) y *S. luteola* (e4) después de 10 horas de incubación. Valores en negritas indican significancia estadística.

	<i>estimador</i>	<i>error std.</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Intercepto	19.38	0.27	71.68	1.65×10^{-29}
frecuencia 0.5	0.84	0.32	2.59	0.0157
frecuencia 0.9	1.16	0.31	3.75	0.0009
especie e4	1.15	0.31	3.71	0.0011
medio mínimo (mm)	-7.07	9.26	-0.76	0.4526
frecuencia 0.5 × especie e4	-1.61	0.42	-3.82	0.0008
frecuencia 0.9 × especie e4	-3.99	0.72	-5.58	9.72×10^{-6}
frecuencia 0.5 × mm	0.08	10.96	0.01	0.9946
frecuencia 0.9 × mm	0.16	10.42	0.01	0.9878
especie e4 × mm	-0.74	11.96	-0.06	0.9509
frecuencia 0.5 × especie e4 × mm	0.98	14.85	0.07	0.9479
frecuencia 0.9 × especie e4 × mm	1.99	16.75	0.12	0.9066

Tabla S4. Resultados del modelo lineal generalizado para la comunidad inter-género conformada por *B. pumilus* (e2) y *S. luteola* (e4) después de 18 horas de incubación. Valores en negritas indican significancia estadística.

	<i>estimador</i>	<i>error std.</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Intercepto	35.19	1.16	30.26	1.26×10^{-20}
frecuencia 0.5	-1.79	3.08	-0.58	0.5658
frecuencia 0.9	2.54	1.21	2.10	0.0462
especie e4	-0.33	1.79	-0.18	0.8577
medio mínimo (mm)	-12.65	647.97	-0.02	0.9846
frecuencia 0.5 × especie e4	0.61	4.18	0.15	0.8845
frecuencia 0.9 × especie e4	2.20	1.83	1.20	0.2409
frecuencia 0.5 × mm	-27.70	1.32×10^9	-2.10×10^8	1.0000
frecuencia 0.9 × mm	-2.54	916.36	-0.03	0.9978
especie e4 × mm	4.79	651.68	0.07	0.9942
frecuencia 0.5 × especie e4 × mm	28.89	1.32×10^9	2.2×10^{-8}	1.0000
frecuencia 0.9 × especie e4 × mm	-2.46	922.40	-0.03	0.9979