



FORMATO 2

PORTADA INTERNA



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Ciencias Biológicas

Caracterización del fenómeno de
disbiosis en la dinámica de
comunidades microbianas sintéticas

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ciencias Biológicas

Presenta
Víctor Lázaro Vidal

Dirigido por:
Dr. Roberto Carlos Álvarez Martínez

Dr. Roberto Carlos
Álvarez Martínez
Presidente

Dra. Etzel Garrido
Espinosa

Secretario

Dra. Mónica Elisa
Queijeiro Bolaños

Vocal

Dr. Fausto Arellano
Carbajal

Suplente

Dra. Tania Aguilar López
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Fecha de aprobación por el Consejo Universitario (noviembre, 2024)
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.

Caracterización del fenómeno de disbiosis en la dinámica de comunidades microbianas sintéticas

Víctor Lázaro Vidal

Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas

Dedicatorias

Para mi mamá, mi abuelita y hermana, quienes siempre han estado conmigo en todo momento a lo largo de mi vida. Para Robert, mi mentor, quien me ha impulsado y apoyado enormemente a lo largo de mi formación académica y a quien le debo gran parte de mi éxito. A mis amistades Isa, Karel, Carmen, Andrés, Paty y Nami, por todos esos lindos momentos que hemos pasado juntos dentro y fuera del laboratorio. Y finalmente para mi papá que, aunque ya no está, fue en gran medida gracias él que me interesé por la ciencia.

Agradecimientos

Agradezco al CONAHCYT por haberme brindado la beca con la cual fue realizado este proyecto, así como a la Universidad Autónoma de Querétaro, en cuyas instalaciones llevé a cabo la maestría. Agradezco a mi comité sinodal conformado por la Dra. Etzel Garrido Espinosa, la Dra. Mónica Elisa Queijeiro Bolaños, el Dr. Fausto Arellano Carbajal, la Dra. Tania Aguilar López y el Dr. Roberto Carlos Álvarez Martínez, quien dirigió esta tesis. Finalmente, me gustaría agradecer a mi madre, Irma Petra Vidal Camacho, y a mi hermana, Carolina Arleth Lázaro Vidal, quienes fueron un constante apoyo durante toda mi formación académica.

Índice de contenido

- Índice de tablas
- índice de figuras
- Abreviaturas y siglas
- Resumen
- Abstract

1. Introducción

2. Antecedentes

2.1 Comunidades microbianas

2.2 Papel de la microbiota en la salud humana

2.3 El problema de la disbiosis

2.4 Dinámica de las comunidades microbianas

2.5 Modelaje matemático de comunidades microbianas

3. Hipótesis y objetivos

3.1 Hipótesis

3.2 Objetivo general

3.2.1 Objetivos particulares

4. Métodos

4.1 Análisis de datos de secuenciación

4.1.1 Obtención y procesamiento de datos

4.1.2 Inferencia de redes multiplex

4.1.3 Análisis de redes multicapa

4.1.3.1 Paquete mlBioNets

4.1.4 Análisis de disbiosis

4.2 Análisis comparativo de la composición de las comunidades

4.2.1 Análisis de señales de alerta temprana

4.3 Modelaje *in silico* de comunidades microbianas

4.3.1 Modelo basado en interacciones

4.3.2 Modelo basado en consumo de recursos

5. Resultados

5.1 Cambios topológicos en la estructura de las comunidades a nivel de las co-abundancias

5.2 Diferencias en la composición de las comunidades

5.3 Métricas de disbiosis: cambios en la composición y estructura de las comunidades microbianas

5.4 Alteraciones de la dinámica de las series temporales

5.5 Las interacciones afectan la respuesta ante perturbaciones

5.6 La dinámica de los recursos puede amplificar el impacto de las perturbaciones

6. Discusión

6.1 Conclusiones

7. Bibliografía

8. Anexos

8.1 Productos

8.2 Scripts

8.3 Imágenes suplementarias

Índice de tablas

Tabla 1: Datos de secuenciación utilizados.

Tabla 2: Índices de disbiosis.

Tabla 3: Índices de diversidad.

Tabla 4: Métricas de resiliencia, resistencia y recuperación.

Tabla 5: Cuantificación de las propiedades topológicas de las redes SparCC del bacterioma de ranas expuestas a distintos tratamientos de temperatura.

Tabla 6: Resultados del estadístico ANOVA para los valores de diversidad entre estadios de tratamiento y periodos de recuperación de los datos de ratones inoculados con microbiota humana extraídos del estudio de Gibson et al. (2021) ([Gibson et al., 2021](#)).

Índice de imágenes

Figura 1: La homeostasis intestinal y su relación con la microbiota ([Fan & Pedersen, 2021](#)).

Figura 2: Ratio Firmicutes-Bacteroidetes ([Stojanov, Berlec, & Štrukelj, 2020](#)).

Figura 3: Interacciones y dinámica de comunidades ([Coyte, Schluter, & Foster, 2015](#)).

Figura 4: Estabilidad de las comunidades microbianas ([Gonze, Coyte, Lahti, & Faust, 2018](#)).

Figura 5: Régimen neutral y de nicho en comunidades ([Fisher & Mehta, 2014b](#)).

Figura 6: a) Interacciones entre poblaciones y cambio de las abundancias ([Hanemaaijer et al., 2015](#)).

Figura 7: Representación gráfica del modelo de MacArthur ([Blumenthal & Mehta, 2023](#)).

Figura 8: Modelo de consumo de recursos de MacArthur ([Marsland, Cui, & Mehta, 2020](#)).

Figura 9: Resumen gráfico.

Figura 10: Sesgos en algoritmos de inferencia de redes ([Matchado et al., 2021](#)).

Figura 11: Representación de un modelo Lotka-Volterra generalizado.

Figura 12: Red multiplex inferida a partir del algoritmo ARACNe del bacterioma de pacientes con bronquiectasia a lo largo tres estadios diferentes de desarrollo de la enfermedad: leve, moderado y severo.

Figura 13: Análisis de cambio logarítmico de centralidad por grado entre capas de la red ARACNe múltiple de renacuajos a nivel del *phylum* bacteriano.

Figura 14: Cuantificación de las propiedades topológicas de las redes SparCC de ranas sometidas a tratamientos por temperatura.

Figura 15: Riqueza compartida entre los distintos grupos muestrales.

Figura 16: a) Análisis de escalamiento multidimensional y curvas de Whittaker de las muestras del bacterioma pulmonar de pacientes con bronquiectasia.

Figura 17: Comparación de los valores de la diversidad de Shannon para las muestras correspondientes a los tratamientos y periodos de recuperación de muestras fecales de ratones.

Figura 18: Análisis de disbiosis del efecto de los tratamientos por temperatura en las comunidades bacterianas de renacuajos.

Figura 19: Análisis de disbiosis mediante el método de distancias entre centroides en las muestras fecales de ratones.

Figura 20: Análisis de señales de alerta temprana de muestras de un paciente con diarrea.

Figura 21: Análisis de señales de alerta temprana de ratones expuestos a dos tratamientos con antibiótico (vancomicina y gentamicina) y un tratamiento con una dieta rica en grasas.

Figura 22: Comparación de las métricas de diversidad de Simpson obtenidas con las iteraciones del modelo Lotka-Volterra generalizado.

Figura 23: Curvas de Whittaker simples y log-log generadas a partir de las simulaciones con el modelo Lotka-Volterra generalizado.

Figura 24: Representación del análisis multidimensional de las iteraciones hechas al modelo Lotka-Volterra generalizado.

Figura 25: Cuantificación de las métricas de resistencia, resiliencia y recuperación de los valores de diversidad de Pielou para los modelos Lotka-Volterra generalizados.

Figura 26: Representación de un modelo de consumo de recursos de MacArthur mostrando los cambios en la dinámica de las poblaciones y de los recursos en respuesta a una perturbación pulsada.

Figura 27: Diferencias entre los valores arrojados por el índice de Pielou entre los estados basal, perturbado, post-perturbado y recuperado de las simulaciones hechas con el modelo de consumo de recursos de MacArthur.

Figura 28: Gráfico de escalamiento multidimensional de las abundancias de las comunidades sintéticas generadas mediante el modelo de consumo de recursos de MacArthur.

Figura 29: Análisis de señales de alerta temprana sobre las series temporales de los modelos de consumo de recursos de MacArthur.

Figura S1: Estimación de la desviación estándar de la diversidad de Shannon empleando un total de cincuenta iteraciones del modelo de consumo de recursos de MacArthur.

Figura S2: Comparación de la riqueza bacteriana compartida entre tratamientos de temperatura de la piel de ranas en distintas etapas de desarrollo.

Figura S3: Red de co-abundancia multicapa inferida con el algoritmo ARACNe muestra los principales filos bacterianos encontrados en la piel de los renacuajos.

Figura S4: Centralidad por grado entre tratamientos de los filos bacterianos encontrados en la piel de los renacuajos.

Figura S5: No existe evidencia de correlaciones entre el grado de centralidad de las redes multiplexadas ARACNe y SparCC y la abundancia de las especies bacterianas.

Figura S6: Cuantificación de las propiedades topológicas de la red ARACNe entre tratamientos del bacterioma de muestras fecales de ratones.

Figura S7: Gráfico de escalamiento multidimensional de los distintos grupos muestrales del bacterioma de ratones.

Figura S8: Índices de señales alerta temprana para transiciones en una serie temporal de ratones expuestos a dos tratamientos con antibióticos y una dieta rica en grasas.

Figura S9: a) Porcentaje de del ruido presente en las simulaciones y ajuste del modelo polinómico de la diversidad estimada sobre las simulaciones de los modelos LVg.

Figura S10: Análisis de señales de alerta temprana sobre las series temporales de los modelos LVg.

Abreviaturas y siglas

- AGCC: Ácidos grasos de cadena corta.
- LPS: Lipopolisacáridos.
- TMA: Trimetil amida.
- TMAO: N-óxido de trimetilamina.
- NAFLD: Enfermedad del hígado graso no-alcohólico.
- F/B: Ratio Firmicutes-Bacteroidetes.
- EC: Enfermedad de Crohn.
- AUC: Área bajo la curva (*area under the curve*).
- LVg: Modelo Lotka-Volterra generalizado.
- SOI: Modelo de inestabilidad autoorganizada (*Self-Organized Instability*).
- ARACNe: Algoritmo para la reconstrucción precisa de redes celulares (**Algorithm for the Reconstruction of Accurate Cellular Networks**).
- SparCC: Coeficiente de correlación parcial disperso (*Sparse Partial Correlation Coefficient*).
- CLOUD: Prueba de disbiosis imparcial lineal local basada en la nube (*Cloud-based Locally linear Unbiased Dysbiosis*).

Resumen

El comportamiento de las comunidades microbianas es el resultado de las interacciones entre las diversas poblaciones que las constituyen y su entorno. Estas comunidades son capaces de absorber perturbaciones ambientales y mantener su estructura. Sin embargo, alteraciones suficientemente grandes en las condiciones ambientales pueden interrumpir la composición y dinámica de las comunidades microbianas, un fenómeno que aún no se comprende completamente. En este estudio, se emplearon modelos matemáticos basados en interacciones y consumo de recursos para simular el comportamiento de las comunidades bacterianas y su respuesta a las perturbaciones. Además, se utilizaron datos publicados para analizar cómo responden estas comunidades a las perturbaciones bajo diferentes condiciones. Los análisis revelaron que la resiliencia y la capacidad de recuperación de las comunidades están condicionadas por el tipo de interacciones. Además, las

perturbaciones conducen a cambios en la composición de la comunidad, un aumento en la dominancia de ciertas poblaciones, una reducción en la diversidad y alteraciones en términos de co-abundancias entre estados.

Abstract

The behavior of microbial communities is the result of the interactions among the diverse populations that constitute them, and their environment. These communities are capable of absorbing environmental disturbances and maintaining their structure. However, sufficiently large alterations in environmental conditions can disrupt the composition and dynamics of microbial communities, a phenomenon that is still not fully understood. In this study, mathematical models based on interactions and resource consumption were employed to simulate the behavior of bacterial communities and their response to disturbances. Additionally, published data were used to analyze how these communities respond to perturbations under different conditions. The analyses revealed that the resilience and recovery capacity of communities are conditioned by the type of interactions. Furthermore, disturbances lead to changes in community composition, an increase in the dominance of certain populations, a reduction in diversity, and alterations in terms of co-abundances between states.

1. Introducción

Las comunidades microbianas son ecosistemas microscópicos conformados por un gran número de microorganismos que interactúan entre sí y con su entorno. Estas juegan un papel importante tanto al contribuir a la estabilidad de los ecosistemas del planeta (Nazaries et al., 2013), así como en el mantenimiento de la salud de los organismos multicelulares, incluyendo a los humanos (Cho & Blaser, 2012). Los avances en biología molecular nos han permitido explotar con mayor detalle a las comunidades microbianas. La creciente cantidad de datos experimentales, aunado a la mayor capacidad de procesamiento de las computadoras, ayudándonos a obtener un panorama más amplio del comportamiento de los microorganismos coexistiendo en comunidad (Hellweger, Clegg, Clark, Plugge, & Kreft, 2016).

Al igual que cualquier otro ecosistema, las comunidades microbianas están sujetas a la naturaleza variable de su medio y de las propias poblaciones que las componen. Sin embargo, los mecanismos que dominan su comportamiento, tanto macroscópico como microscópico, permanecen aún sin ser del todo entendidos. Al tratarse de sistemas complejos, es decir, sistemas donde las propiedades generales del sistema emergen de la interacción entre sus múltiples componentes, el enfoque reduccionista ha resultado insuficiente para su estudio. Debido a esto, tampoco existe un modelo único que defina el comportamiento de un ecosistema microbiano, sino que existen múltiples modelos basados en criterios distintos y con diferentes enfoques (Cariboni, Gatelli, Liska, & Saltelli, 2007).

A pesar de la naturaleza aparentemente caótica de la dinámica poblacional de los ecosistemas, lo cierto es que, de forma global, estos presentan patrones de comportamiento que se mantienen en el tiempo. Si bien las abundancias de las poblaciones pueden aumentar y disminuir a lo largo del tiempo, tienden a mantenerse dentro de ciertos rangos, fruto de la autorregulación del sistema, además de que el sistema amortigua las variaciones de las condiciones ambientales (Abreu, Andersen Woltz, Friedman, & Gore, 2020). Debido a esto, se considera que el sistema es robusto ante perturbaciones, por lo que, la mayor parte de las veces puede preservar sus características y resistir los cambios del entorno, ya sean estos de origen biótico o abiótico (Berg et al., 2022).

Diversos modelos matemáticos han sido propuestos como herramientas para comprender el comportamiento de estos sistemas como un todo, facilitando el entendimiento de sus propiedades emergentes, y de cómo se autorregulan y responden a los estímulos del ambiente (Berg et al., 2022). Si bien se trata de simplificaciones de una realidad mucho más compleja, los modelos han facilitado la comprensión de los procesos biológicos que gobiernan estos sistemas, además de aumentar nuestro poder predictivo sobre estos (Momeni, Xie, & Shou, 2017).

Para evaluar cómo es que ocurre el fenómeno de la disbiosis se realizaron simulaciones de comunidades microbianas *in silico* empleando dos modelos matemáticos con enfoques distintos. El primero fue el modelo Lotka-Volterra generalizado (LVg), basado en interacciones, y también el modelo de MacArthur, basado en el consumo y producción de recursos. Del mismo modo se trabajó con datos experimentales obtenidos de diversas publicaciones que fueron evaluados bajo distintas métricas. Los resultados con el modelo LVg mostraron que la proporción de interacciones positivas con respecto a las negativas afecta significativamente la resiliencia y resistencia de las comunidades microbianas ante perturbaciones ambientales, además de que las perturbaciones suponen un incremento de la dominancia y un decremento de los índices de diversidad. Gracias a los análisis realizados sobre el modelo de MacArthur se pudo determinar que, una vez ocurrida la perturbación, el sistema no necesariamente retorna a su condición original, sino que puede caer en estados alternativos.

Los análisis topológicos realizados sobre los datos experimentales bajo el enfoque de redes multicapa mostraron que las perturbaciones ambientales pueden suponer cambios importantes en la estructura de las comunidades microbianas en términos de sus coabundancias. Para evaluar dichos cambios, se emplearon dos algoritmos de inferencia distintos, tras lo cual se evaluaron distintas métricas de la topología de las redes. Del mismo modo, para analizar los cambios en la composición de las comunidades se emplearon distintos indicadores de disbiosis basados en la diversidad alfa-beta combinadas, la distancia euclidiana entre las muestras, la distancia entre los centroides y la detección de valores atípicos. Se midieron diversos indicadores de diversidad y se comparó la riqueza entre las muestras, así como la distribución de las abundancias y las diferencias en las proporciones de las

poblaciones, lo que arrojó resultados similares a los observados en las simulaciones con los modelos acerca del incremento en la dominancia y la aparición de equilibrios alternativos en algunos casos. Finalmente, se evaluaron indicadores de alerta temprana asociados a transiciones de fase, mostrando que, ante cambios significativos de las condiciones, las comunidades parecen sufrir alteraciones en su dinámica.

2. Antecedentes

2.1 Comunidades microbianas

Las comunidades microbianas son sistemas complejos, es decir, sistemas cuyas propiedades emergen de las interacciones entre sus componentes, y que no pueden ser inferidas a partir del estudio particular de sus componentes aislados ([Cariboni et al., 2007](#)). En condiciones naturales, los microorganismos interactúan con todo tipo de organismos de su entorno, incluyendo plantas, hongos, animales y otros microorganismos. Las bacterias, como los seres vivos más abundantes en el planeta, son una parte constituyente de la biología de cualquier ecosistema. La maquinaria enzimática de las bacterias a menudo brinda soporte a los tejidos de organismos multicelulares como plantas, animales u hongos ([Qu et al., 2020](#)). Estas funciones incluyen desde la síntesis de diversos compuestos que los huéspedes no son capaces de sintetizar, la protección contra la colonización de microorganismos patógenos, transporte de nutrientes, descomposición de desechos celulares, descomposición de macronutrientes, síntesis de toxinas, e incluso la regulación de ciertos procesos fisiológicos. A cambio, los microorganismos obtienen acceso a un ambiente estable, recursos abundantes y protección ([Van Vliet & Doebeli, 2019](#)).

2.2 Papel de la microbiota en la salud humana

Existe una gran diversidad de bacterias que se han adaptado a vivir en la superficie de tejidos expuestos y cavidades de los humanos, tales como la piel, el tracto respiratorio, los genitales y el tracto gastrointestinal. Si bien, la composición de la microbiota de cada individuo es única y evoluciona a lo largo de la vida de este, las proporciones entre los taxones son similares entre individuos con un estilo de vida y una alimentación parecidos ([Fan & Pedersen, 2021](#)). La microbiota está íntimamente asociada a la fisiología del organismo e incluso con la conducta. La presencia o ausencia de ciertas poblaciones bacterianas se ha correlacionado con determinadas respuestas que, bajo ciertas condiciones, pueden derivar en el desarrollo de alguna enfermedad (Fig. 1). La liberación de metabolitos secundarios y el reconocimiento de epítomos por parte de las células inmunes de la mucosa y el epitelio intestinal son parte esencial de la interacción entre el huésped y la microbiota y, por lo tanto, en gran parte responsables del desarrollo de tales respuestas en el organismo ([Sekirov, Russell, Antunes, & Finlay, 2010](#)). Si bien, en el presente estudio nos enfocaremos en el caso particular de las bacterias, cabe destacar que la definición de microbiota

engloba también a arqueas, virus de eucariotas, bacteriófagos, protozoos y hongos microscópicos ([Lynch & Pedersen, 2016](#)).

Estrictamente no hay un consenso con respecto a la definición de “microbiota saludable”, pues las características de la microbiota entre individuos o entre poblaciones, presentan diferentes patrones en respuesta a su contexto ambiental, cultural y a su tipo de alimentación. Estas diferencias también se ven reflejadas en función del sexo, la edad, el estilo de vida, la etnia, entre otros factores ([Senghor, Sokhna, Ruimy, & Lagier, 2018](#)). Además, cabe destacar que el tránsito intestinal altera la composición de la microbiota, lo que dificulta el establecer marcadores que actúen como indicadores imparciales de lo que podría considerarse una microbiota saludable, si bien un tránsito lento derivado del estreñimiento puede provocar alteraciones más severas y prolongadas en el tiempo ([Falony, Vieira-Silva, & Raes, 2018](#)).

También es importante aclarar que actualmente, con excepción de áreas del mundo geográfica y culturalmente muy aisladas, las poblaciones humanas modernas han estado altamente expuestas a los antibióticos, lo que altera la composición de la microbiota y dificulta su estudio. Especialmente en áreas urbanas, se ha reportado una reducción significativa de la diversidad de la microbiota, especialmente en géneros como *Bacteroides*, *Prevotella*, *Desulfovibrio*, *Lactobacillus* y *Oxalobacter*, lo que se ha asociado a trastornos metabólicos crónicos ([Clemente et al., 2015](#)). Una baja diversidad microbiana se ha relacionado con un aumento de la adiposidad, resistencia a la insulina, inflamación crónica y dislipidemia ([Le Chatelier et al., 2013](#)). Sin embargo, es importante destacar que la carga genética del individuo repercute en gran medida la predisposición a estas enfermedades ([Fujisaka et al., 2016](#)).

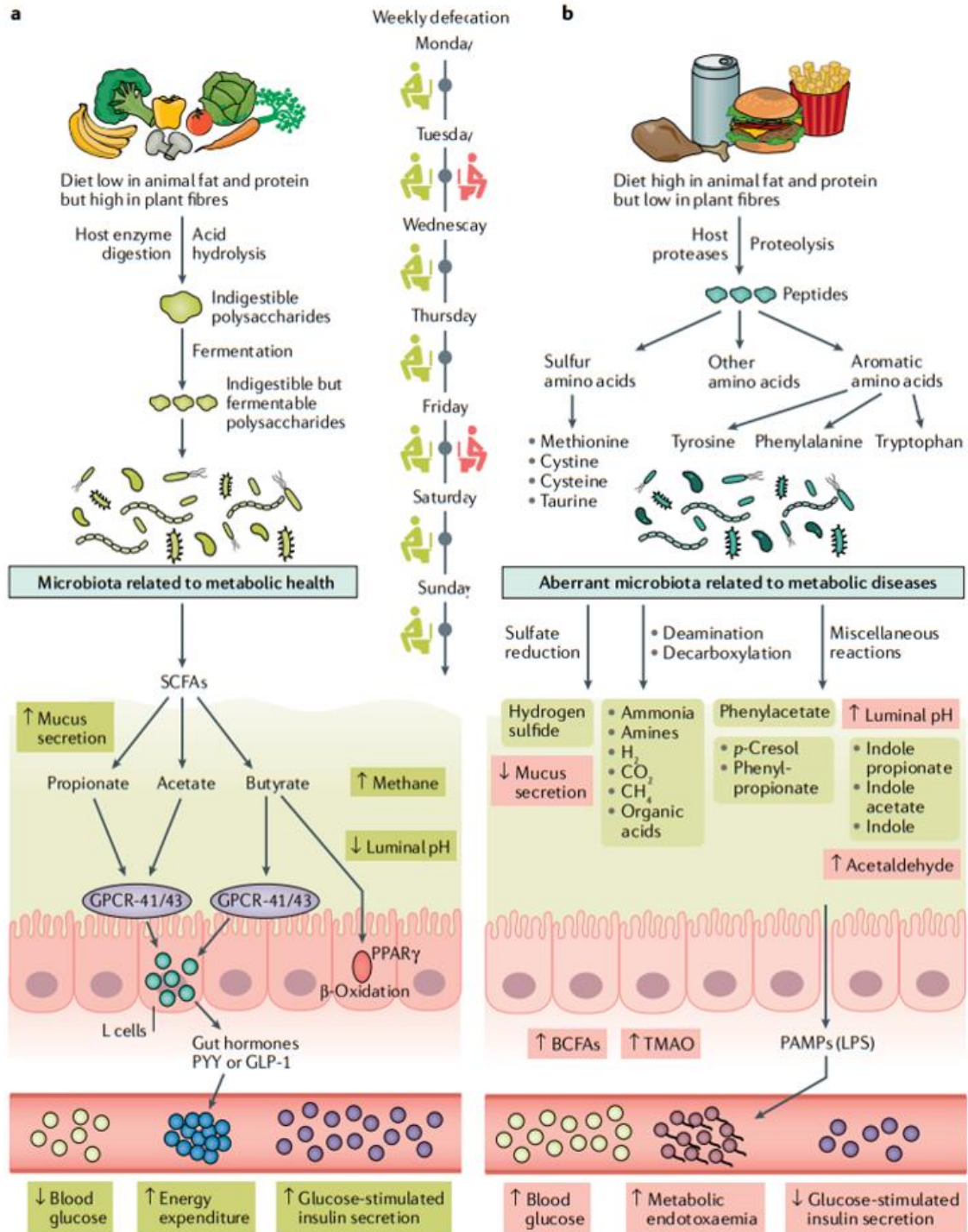


Figura 1: La homeostasis intestinal se mantiene por factores como la genética del huésped, la dieta, la frecuencia de las defecaciones, la actividad física, el tabaquismo y el uso de medicamentos. **a)** Microbiota saludable: Se fomenta con una dieta alta en fibra y baja en grasas y proteínas animales. Los polisacáridos no digeribles pero fermentables son procesados por la microbiota del intestino grueso, generando compuestos que refuerzan la capa de moco intestinal y sus funciones protectoras. Los

ácidos grasos de cadena corta (AGCC) producidos proporcionan energía a los colonocitos y bajan el pH en el lumen intestinal. Estos AGCC, como el acetato, butirato y propionato, activan receptores en las células L enteroendocrinas, promoviendo la liberación de hormonas que aumentan el gasto energético, reducen la ingesta de alimentos y mejoran el metabolismo de la glucosa y la secreción de insulina. El butirato también activa un receptor que estimula la oxidación de grasas y el consumo de oxígeno en el intestino, manteniendo un entorno anaeróbico. **b) Disbiosis:** Se origina por una dieta rica en grasas y proteínas animales, vida sedentaria, tabaquismo, consumo de alcohol y defecaciones poco frecuentes. Esto puede causar una mucosa intestinal permeable, inflamación y menor producción de AGCC, reduciendo la secreción de hormonas intestinales. Durante la fermentación de proteínas, se liberan aminoácidos y péptidos que se fermentan, produciendo ácidos grasos de cadena ramificada, trimetilamina, ácidos orgánicos, y gases, lo que aumenta el pH luminal. Estos cambios pueden llevar a la liberación de patrones moleculares asociados a patógenos en la sangre, provocando inflamación de bajo grado y resistencia a la insulina. Sin embargo, algunos derivados del indol, como el ácido 3-indolpropiónico, producidos por la fermentación de fibras dietéticas, pueden mejorar el metabolismo de la glucosa ([Fan & Pedersen, 2021](#)). Imagen extraída de Fan et al. (2021).

La infancia temprana es clave para definir el desarrollo y la composición tardía de la microbiota, estando también asociada con el metabolismo del infante, su futura preferencia por determinados alimentos, la predisposición a alergias, y la predisposición de enfermedades como la diabetes o la inflamación intestinal crónica ([Rodríguez et al., 2015](#)). Esto es especialmente relevante ante el uso de antibióticos durante el embarazo, lo que altera la microbiota vaginal, que es de gran relevancia para la consolidación de la microbiota neonatal, pudiendo favorecer el desarrollo futuro de obesidad en la infancia ([Ajslev, Andersen, Gamborg, Sørensen, & Jess, 2011](#)).

Las funciones de la microbiota son diversas, y van desde la degradación de biomoléculas adquiridas mediante la dieta a micronutrientes ([Qin et al., 2010](#)), la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), la síntesis de algunos lipopolisacáridos (LPS), y la síntesis de vitaminas y aminoácidos ([Huttenhower et al., 2012](#)). Debido a la estrecha relación entre el metabolismo y la microbiota, alteraciones en esta se han asociado a problemas de obesidad y sobrepeso. El cambio en el estilo de vida, especialmente en áreas urbanas, ha propiciado un aumento de la incidencia de trastornos metabólicos que han alcanzado cifras epidémicas en las últimas décadas. Un estilo de vida sedentario, una alimentación rica en grasas y baja en fibra, o la exposición a antibióticos pueden alterar significativamente la microbiota y tener efectos en la salud ([McAllister et al., 2009](#)).

El desarrollo de la diabetes tipo 2 también se ha asociado con alteraciones en la microbiota intestinal. Estudios en roedores han reportado que la hiperglucemia es capaz de aumentar la permeabilidad de la barrera intestinal al comprometer las uniones estrechas, lo que promueve la infiltración de componentes de origen microbiano en el torrente sanguíneo, provocando una inflamación crónica ([Thaiss et](#)

al., 2018). Durante la prediabetes existe una resistencia a la insulina en el tejido musculoesquelético, el hígado y en el tejido adiposo, lo que se traduce en una baja captación de glucosa y en un consecuente aumento en la biosíntesis de la insulina, lo que agrava el problema. Se ha reportado que en individuos con prediabetes existe una caída en la abundancia de taxones productores de butirato, destacando el caso de *Akkermansia muciniphila*, en contraste con la proliferación de taxones asociados a procesos inflamatorios (Allin et al., 2018). La importancia de los AGCCs, como el butirato, reside en su capacidad para estimular la proliferación de células T reguladoras, y por lo tanto, de regular la respuesta inmune (Maslowski et al., 2009). Además, la producción de butirato y propionato en la microbiota también está relacionado con el mantenimiento del ambiente anaerobio y la gluconeogénesis (Forslund et al., 2015). Algunos medicamentos antidiabéticos, sin embargo, alteran también la microbiota. La metformina, por ejemplo, es capaz de propiciar la proliferación de bacterias asociadas a inflamación y producción de gases como *Escherichia* e *Intestinibacter*, lo que dificulta el estudio del impacto que la microbiota tiene en el desarrollo de la diabetes mellitus (Wu et al., 2017).

La disbiosis de la microbiota está también asociada al desarrollo de enfermedades cardiovasculares como la arteriosclerosis, que a menudo también viene acompañada de otros padecimientos, tales como diabetes u obesidad. Al igual que en el caso anterior, la medicación altera significativamente las comunidades bacterianas, lo que dificulta su estudio, por lo que la mayoría de los estudios se han realizado en roedores o en las etapas tempranas de la enfermedad en humanos (Fan & Pedersen, 2021). Estudios en heces de pacientes con arteriosclerosis han señalado abundancias enriquecidas de bacterias de la clase Enterobacteriaceae, al igual que abundancias reducidas de *Bacteroides spp.* y *Faecalibacterium prausnitzii*, asociada a la regulación de la inflamación (Sokol et al., 2008). También se ha reportado un incremento en *Ruminococcus*, *Acinetobacter* y *Veillonella spp.*, así como una disminución de la abundancia de *Alistipes*, *Faecalibacterium* y *Oscillibacter spp.* A nivel funcional, esto se ha relacionado con un aumento en la biosíntesis de lipopolisacáridos (LPS) y N-óxido de trimetilamina (TMAO), lo que disminuye las capacidades fermentativas de la microbiota y promueve la inflamación (Cui et al., 2018). La trimetilamina (TMA) es producida a partir de la L-carnitina, la fosfatidilcolina y la lecitina, provenientes todas de productos cárnicos, para luego ser oxidada a TMAO en el hígado. Experimentos en roedores han asociado altas concentraciones de TMAO en sangre con el aumento en la agregación plaquetaria y un mayor riesgo de trombosis (Zhu et al., 2016). Además, la TMA inhibe la producción de 3,3-dimetil-1-butanol, un inhibidor de la TMA-liasas, lo que agrava la arteriosclerosis y la aparición de trombos (Wang et al., 2015).

Una microbiota disbiótica también se ha relacionado con el desarrollo de enfermedad del hígado graso no-alcohólico (NAFLD). En pacientes con dicho padecimiento se han reportado abundancias relativas anormalmente disminuídas de *Oscillibacter*, *Flavonifaractor*, *Odoribacter* y *Alistipes spp.*, en contraste con un aumento de las abundancias de *Clostridium*, *Anaerobacter*, *Streptococcus*, *Escherichia* y *Lactobacillus* (Jiang et al., 2015). En pacientes con NAFLD se han reportado

concentraciones altas de 2-butanona y 4-metil-2-pentanona, ambas sustancias capaces de provocar toxicidad hepatocelular, y que se han asociado a las alteraciones en la composición de la microbiota (Del Chierico et al., 2017). Además, la presencia enriquecida de *Escherichia* implica una mayor producción de etanol, molécula que además de generar un aliento alcohólico, activa la vía del factor nuclear NF- κ B, comprometiendo la integridad de la barrera intestinal y provocando endotoxemia portal ante la infiltración de compuestos microbianos en el torrente sanguíneo, además del consecuente estrés oxidativo que deriva en inflamación (Xu et al., 2011).

La exposición constante y repetida a antibióticos, no solo en medicamentos sino también en productos procesados, además de un cambio significativo en el tipo de alimentación, especialmente en las ciudades, y un estilo de vida sedentario, en conjunto tienen un impacto en la composición de la microbiota. Si bien el factor genético tiene gran relevancia en el desarrollo de enfermedades metabólicas, el papel de la microbiota se ha hecho cada vez más evidente. La influencia de factores externos capaces de provocar cambios en la dinámica de la microbiota, además de la exposición constante a tales factores, retroalimentan un ciclo que deriva en el desarrollo de múltiples padecimientos asociados, en mayor o menor medida, a un fenómeno de disbiosis (Cui et al., 2018).

2.3 El problema de la disbiosis

Desde una perspectiva clínica, la disbiosis se define como el desbalance del equilibrio microbiano asociado a una patología, debido a cambios cuantitativos o cualitativos de su composición, alteraciones en su funcionamiento o en su actividad metabólica (Myers & Hawrelak, 2004). También puede ser interpretada como cualquier cambio en la composición de las comunidades de microorganismos comensales con referencia a las comunidades encontradas en individuos saludables (Ringel & Maharshak, 2013). Ambas definiciones se encuentran sujetas a un estado de referencia, es decir, a la condición típica presente en individuos considerados sanos con respecto a los parámetros de su rango de edad y género. Es debido a esto, y a la gran variación y complejidad presente entre individuos, que resulta complicado y hasta problemático definir el concepto de disbiosis (Wei, Bahl, Baunwall, Hvas, & Licht, 2021).

Las investigaciones a lo largo de la última década han revelado el enorme impacto que el desequilibrio o disfunción de la microbiota puede tener sobre la salud. Dada la gran complejidad y variación en la composición de las comunidades microbianas entre individuos, actualmente no existe ningún estándar de oro que permita cuantificar de forma precisa la disbiosis, aunque sí se han realizado múltiples estudios que pretenden, empleando distintas aproximaciones, abordar el problema. Debido a que, incluso entre individuos sanos, la variabilidad de la microbiota es sustancial dada las diferencias en el estilo de vida, la alimentación, la edad, el sexo, o incluso cuestiones culturales, tampoco existe una definición clara de una microbiota sana, aunque se le ha denominado de forma genérica como normobiosis (Wei et al., 2021). Como ya hemos mencionado, la mayor parte de los estudios sobre disbiosis se han enfocado

en la microbiota intestinal, donde se han encontrado relaciones entre cambios en su composición y problemas de salud como arteriosclerosis, obesidad, diabetes, alergias, entre otros padecimientos (Fan & Pedersen, 2021).

Se han identificado poblaciones microbianas concretas asociadas a ciertos padecimientos, sin embargo, el término disbiosis no solo abarca cambios en una sola especie asociada a alguna enfermedad, sino que incluye el comportamiento de comunidades microbianas enteras. Para cuantificar este fenómeno se han propuesto numerosos índices que ayudan a caracterizar enfermedades asociadas a cambios en la composición de la microbiota con el fin de predecir tratamientos y proporcionar información sobre cómo dichos cambios alteran la salud de los individuos (Olesen & Alm, 2016). Dada la ambigüedad inherente a los términos de normobiosis y disbiosis, los distintos métodos que a menudo se fundamentan en la comparación con individuos o muestras de referencia, han resultado útiles en ciertos casos, pero en otros no. Por ende, los distintos índices suelen diferir en su metodología, enfoque y contexto clínico en los cuales se han aplicado (Wei et al., 2021).

Para perfilar a gran escala las comunidades bacterianas, una opción ha sido identificar ciertas poblaciones como marcadores clave que, en su conjunto, puedan definir cambios funcionales en la microbiota previamente asociados a enfermedades. Un ejemplo de una prueba de disbiosis basada en este principio es la GA-map o mapeado por análisis genético, desarrollado en Noruega, y que es uno de los pocos productos comerciales enfocados en la estimación de la disbiosis. La prueba emplea 54 sondas dirigidas contra el 16S-rRNA que permite identificar a poblaciones de seis filos bacterianos diferentes, asignando posteriormente una puntuación entre 1 y 5 a las distintas muestras, siendo puntuaciones mayores a 2 indicadores de disbiosis al comparar las muestras con valores de referencia definidos a partir de pacientes considerados sanos (Casén et al., 2015). Principalmente se ha utilizado para caracterizar la microbiota de pacientes con síndrome de intestino irritable. Del mismo modo, se ha empleado para evaluar la eficacia de los trasplantes de microbiota fecal o el impacto de la implementación de dietas en la microbiota (El-Salhy, Hausken, & Hatlebakk, 2019).

Otros estudios se han enfocado en emplear taxones como indicadores de la disbiosis, cuantificando las abundancias disponibles a partir de datos de secuenciación. Dada la simplicidad de esta aproximación, han sido ampliamente utilizados para estimar la disbiosis, calculando las diferencias entre las abundancias o las regresiones lineales de las muestras (Thorsen et al., 2016). Uno de los primeros métodos fue el implementado por Gevers et al. (2014), mismo que se utilizó originalmente para estimar las diferencias entre las abundancias de pacientes con enfermedad de Crohn. El índice permitió cuantificar una reducción general de la riqueza de las poblaciones presentes en el íleon, el recto y las heces, así como cambios en la composición general de las comunidades (Gevers et al., 2014). El índice se puede definir de la siguiente forma:

Ecuación 1

$$\ln \frac{\sum_{i=1}^n \text{abundancia (EC-taxones enriquecidos)}_i}{\sum_{i=1}^n \text{abundancia (EC-taxones decrementados)}_i}$$

Donde el numerador representa la suma de las abundancias de los taxones que se ven enriquecidos ante la presencia de la enfermedad de Crohn, mientras que el denominador es la suma de los taxones cuyas abundancias se ven disminuídas. Este índice adquiere valores más bajos cuando la riqueza es menor y más altos con la presencia de la enfermedad de Crohn según los hallazgos de Gevers *et al.* (2014) (Gevers *et al.*, 2014).

Generalizaciones de este índice han permitido extender su aplicación a otras enfermedades, así como incrementar su sensibilidad a las variaciones de la microbiota. En el estudio de Bajaj *et al.* (2014) (Bajaj *et al.*, 2014) utilizaron las abundancias relativas de pacientes con cirrosis, donde previamente se habían identificado abundancias reducidas de Lachnospiracidae, Ruminococcaceae y Clostridiales, además de poblaciones enriquecidas de Enterobacteriaceae y Bacteroidaceae. Midieron la disbiosis usando un cociente basado en la suma de las abundancias de taxones asociados a individuos sanos sobre la suma de las abundancias de taxones asociados a individuos enfermos, donde el valor de dicho ratio fue más próximo a cero cuando el individuo presentaba cirrosis, contrario al primer índice.

Algunos estudios han optado por emplear métodos más sencillos para cuantificar la disbiosis, enfocándose únicamente en determinados taxones. Por ejemplo, un estudio únicamente usó dos taxones para definir la disbiosis en pacientes con estomatitis aftosa recurrente, dado que el incremento de *Acinetobacter johnsonii* y la disminución *Streptococcus salivarius* se habían asociado a este padecimiento. Usando regresiones lineales para ambas poblaciones se logró identificar correctamente el 83% de los casos de pacientes con estomatitis (Kim *et al.*, 2016).

Del mismo modo, el índice F/B (Fig. 5), basado en las abundancias de poblaciones de Firmicutes y Bacteroidetes, ha sido ampliamente utilizado para cuantificar la disbiosis, dado que se trata de los filos más abundantes y relevantes presentes en la microbiota intestinal (Jeffery *et al.*, 2012). Si bien, este índice ha sido ampliamente utilizado, también ha sido muy cuestionado dado que no permite realizar diagnósticos precisos. Aunque su uso es controvertido, un incremento en las abundancias de Firmicutes en detrimento de Bacteroidetes se ha asociado fuertemente a pacientes con obesidad, mientras que individuos con enfermedad inflamatoria intestinal suelen presentar una mayor preponderancia de Bacteroidetes en detrimento de Firmicutes (Stojanov *et al.*, 2020). Si bien, la evidencia apoya la idea de que alteraciones en las abundancias de estos dos grupos tienen efectos importantes en la salud, no parece que el ratio sea extrapolable a la gran variedad de enfermedades asociadas a cambios en la microbiota. Algunos estudios, sin embargo, han arrojado resultados contradictorios, mostrando valores bajos del ratio en casos de obesidad, por lo que su

precisión ha sido muy cuestionada (Castaner et al., 2018). Factores como la edad, la alimentación, el sexo o factores genéticos y ambientales, pueden afectar este ratio, además de las variaciones en otros filos importantes como Proteobacteria. Además, solo se ha podido demostrar que ciertas especies de Firmicutes y Bacteroidetes sí juegan un papel importante en el desarrollo de la obesidad (Shin, Whon, & Bae, 2015).

Del mismo modo, se han planteado índices que tomen en cuenta otros microorganismos tales como los hongos para estimar la disbiosis. Sokol et al. (2017) (Sokol et al., 2017) propusieron un índice basado en Basidiomycota y Ascomycota, dado que cambios en la abundancia de ambos filos habían sido asociados a fenotipos clasificados como enfermedad inflamatoria intestinal. Pacientes sin la enfermedad obtuvieron valores significativamente más bajos de este índice.

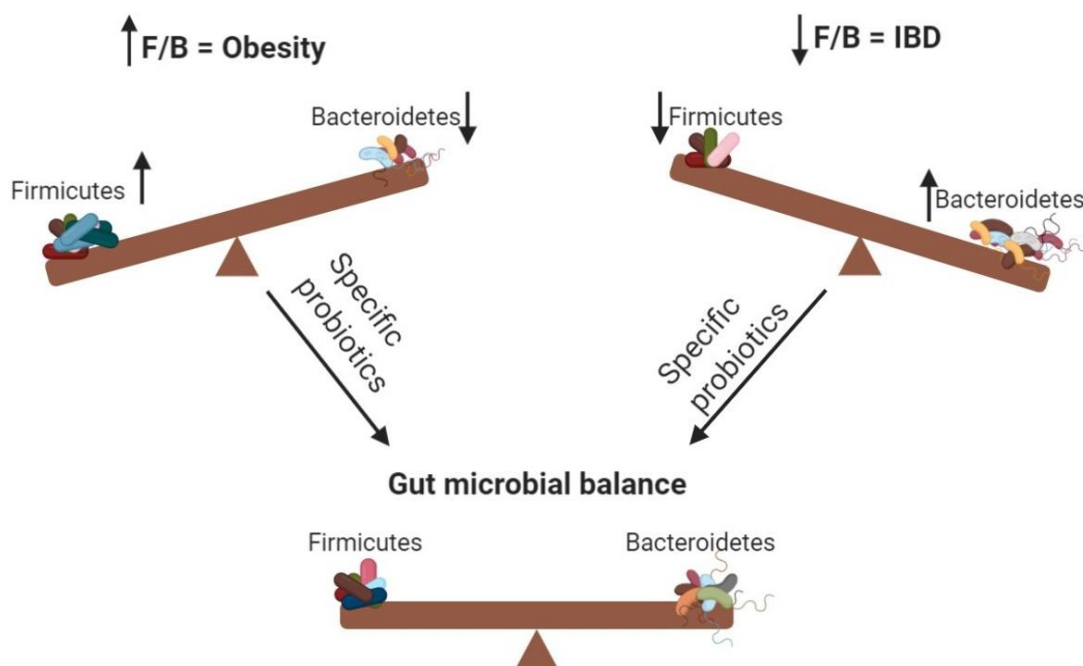


Figura 2: Ratio Firmicutes-Bacteroidetes. Valores altos del ratio han sido asociados a un incremento en las abundancias de Firmicutes con respecto a Bacteroidetes en individuos con obesidad y sobrepeso, mientras que valores bajos debidos a una mayor abundancia de Bacteroidetes con respecto a Firmicutes se relacionan con enfermedad inflamatoria intestinal (Stojanov et al., 2020).

La clasificación por vecindarios mide cómo se desvían las muestras microbianas de un conjunto de referencia, usando matrices de distancia para evaluar disbiosis en comparación con una población sana. Lloyd-Price et al. (2019) (Lloyd-Price et al., 2019) desarrollaron un índice de disbiosis basado en la disimilitud de Bray-Curtis entre la muestra de prueba y una población de referencia saludable, utilizando las herramientas computacionales MetaPhlAn2 y HUMAnN2. Para identificar disbiosis, se usa el percentil 90 del puntaje en muestras saludables, donde una muestra por encima de este umbral indica disbiosis. Este índice varía entre distintos fenotipos de

enfermedad. Al-Shawaqfeh *et al.* (2017) ([AlShawaqfeh et al., 2017](#)) crearon un índice de disbiosis para perros con enteropatía inflamatoria crónica, calculando la diferencia entre las distancias euclidianas a los centroides de las clases saludable y enferma. Este índice mostró una alta sensibilidad del 74% y una especificidad del 95% en la identificación de perros con la enfermedad, y se ha utilizado en estudios posteriores para evaluar disbiosis en diferentes contextos. Montassier *et al.* (2018) ([Montassier et al., 2018](#)) introdujeron la prueba “CLOUD” para identificar valores atípicos en muestras de microbiota. Aunque no fue diseñada específicamente para medir disbiosis, la estadística CLOUD transformada-logarítmica se usó como un puntaje de disbiosis. Se consideran como disbióticas las muestras cuya distancia CLOUD sea mayor a dos desviaciones estándar con respecto al valor promedio medido en el conjunto saludable. La prueba CLOUD, al ser no paramétrica, es útil para detectar firmas microbianas menos saludables en distintas condiciones o para evaluar la recuperación de la microbiota tras tratamientos como el trasplante de microbiota fecal ([Saffouri et al., 2019](#)).

Por su parte, el algoritmo de aprendizaje automático *Random Forest* utiliza datos de microbiota de pacientes con sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado o SIBO, e individuos sanos. Usando las abundancias de OTUs normalizadas de las muestras, el índice puede adoptar valores que van desde el 0 al 1, siendo los valores más próximos al 1 aquellos con mayor probabilidad de que las muestras provengan de pacientes sintomáticos. El índice ha sido efectivo detectando pacientes con SIBO (AUC=0.896) y diferenciándolos de individuos sanos ([Saffouri et al., 2019](#)).

La diversidad alfa y beta también pueden ser usadas en estudios de microbiota para describir las comunidades microbianas. La diversidad alfa, que mide la riqueza y uniformidad de taxones, es un biomarcador de salud, ya que su baja diversidad está asociada con riesgos metabólicos. La diversidad beta evalúa las diferencias en la composición microbiana entre individuos, por lo cual es útil para comparar pacientes y controles sanos ([Brahe et al., 2015](#)). Un estudio reciente combinó ambos tipos de diversidad para crear un índice de disbiosis en pacientes con *Clostridioides difficile* tratados con trasplante de microbiota fecal ([Santiago et al., 2019](#)). Este índice normalmente varía entre 0 y 5, siendo los valores entre 0 y 1 asociados a controles sanos, mientras que valores mayores a 1 se asocian a disbiosis ([Brahe et al., 2015](#)).

Los índices de disbiosis se utilizan para caracterizar la microbiota intestinal en diversas enfermedades, siendo útiles en diagnósticos específicos. Sin embargo, la disbiosis medida por estos índices no implica causalidad con la enfermedad, ya que la microbiota alterada puede resultar de factores como dieta, medicación o reacciones inmunitarias. La variabilidad entre individuos sanos dificulta definir la normobiosis ([Wei et al., 2021](#)). Estos índices deben interpretarse junto con hallazgos clínicos, aunque son valiosos para describir diferencias complejas en comunidades microbianas y hacer una aproximación al fenómeno de la disbiosis.

2.4 Dinámica de las comunidades microbianas

Las comunidades microbianas son sistemas que cambian constantemente en el tiempo. Las interacciones entre los organismos de distintas poblaciones y con su medio ambiente varían en función del tiempo y las condiciones; sin embargo, a pesar de su naturaleza, la microbiota es eminentemente estable a nivel de comunidad. Esta característica deriva en que, si bien se espera que las poblaciones cambien constantemente, esta variación ocurre dentro de ciertos rangos y, en general, la composición global de la microbiota se mantiene en el tiempo a pesar de las fluctuaciones del ambiente (Faith et al., 2013). Si bien se ha reportado que la microbiota puede variar en términos de su composición entre individuos humanos, en general se ha observado que los individuos mantienen el mismo conjunto de bacterias durante largos periodos de tiempo, aunque a largo plazo estos puedan variar gradualmente por efecto de la senescencia (Dethlefsen & Relman, 2011).

Se ha observado que las interacciones en la microbiota son eminentemente antagónicas, es decir, de competencia por recursos. Gran parte de los estudios académicos sobre la microbiota se concentran en las interacciones mutualistas, un sesgo que deriva de la concepción de que a mayor antagonismo, mayor actividad antimicrobiana (Foster & Bell, 2012), lo que teóricamente promueve la reducción de las abundancias de los taxones y el decremento en la secreción de compuestos derivados del metabolismo cooperativo a nivel de comunidad (Oliveira, Niehus, & Foster, 2014). Cabe destacar que, a diferencia de las redes tróficas o de polinización de los macroecosistemas, las redes de las comunidades microbianas no parecen mostrar una estructura altamente organizada (Stein et al., 2013), aunque sí presentan cierta organización al formar estructuras asociadas al intercambio metabólico de recursos (Oliveira et al., 2014).

Sin embargo, en contraste con la concepción que podría parecernos más intuitiva, se ha observado que las interacciones antagónicas juegan un papel muy importante en mantener la estabilidad de la comunidad. A mayor competencia entre las poblaciones, mayor estabilidad del sistema (Coyte et al., 2015). En principio, este fenómeno parece contradictorio, pues las interacciones antagónicas usualmente están asociadas con actividad antimicrobiana, por lo que se esperaría que esta derivara en el decaimiento y extinción de algunas poblaciones. Sin embargo, tanto la evidencia experimental como las simulaciones con modelos teóricos sugieren que las interacciones sinérgicas incrementan la inestabilidad global del sistema (Fiegna & Velicer, 2005). Este fenómeno está relacionado con el hecho de que las interacciones mutualistas generan bucles de retroalimentación positiva, mismos que se traducen en una codependencia entre las poblaciones, por lo que, si una de estas disminuye en abundancia, provoca el decaimiento del resto de poblaciones asociadas (Van den Abbeele, Van de Wiele, Verstraete, & Possemiers, 2011). Si bien, las interacciones positivas promueven la eficiencia del metabolismo mediante la cooperación (Oliveira et al., 2014), incrementan la inestabilidad del sistema, por lo que los sistemas ecológicos tienden a compensar este fenómeno al promover la preponderancia de las

interacciones negativas (Coyte et al., 2015). Esto contrasta en gran medida con los sistemas macroecológicos, donde las interacciones positivas juegan un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad del sistema (Mougi & Kondoh, 2012).

El hecho de que la mayoría de las interacciones sean negativas introduce otra problemática, dado que en teoría las interacciones negativas tenderían a disminuir la diversidad, favoreciendo la proliferación de las especies más aptas y provocando la extinción de las menos aptas. A este fenómeno se le conoce como la paradoja del plancton, dada la contradicción que representa la coexistencia de distintas especies de plancton a pesar de la competencia por los mismos recursos, tales como luz y nutrientes, paradoja que deriva del principio de exclusión competitiva (Hutchinson, 1961). Este principio sugiere que, teóricamente, una especie desplaza o provoca la extinción de otra al competir por un mismo recurso (Armstrong & McGehee, 1980). Sin embargo, en ecosistemas con un gran número de poblaciones, tanto las interacciones como el ambiente cambian constantemente. Es importante destacar que, dadas sus dimensiones, los ecosistemas microbianos están más expuestos a las turbulencias de su microambiente de lo que los macroecosistemas lo están a su medio (Hutchinson, 1961), además, debemos considerar la versatilidad del metabolismo de los organismos en condiciones naturales, donde estos son capaces de emplear más de un nutriente, o de modular su metabolismo para adecuarlo a las condiciones, evitando así el traslape de los nichos (Alexander, Jenkins, Ryneerson, & Dyhrman, 2015).

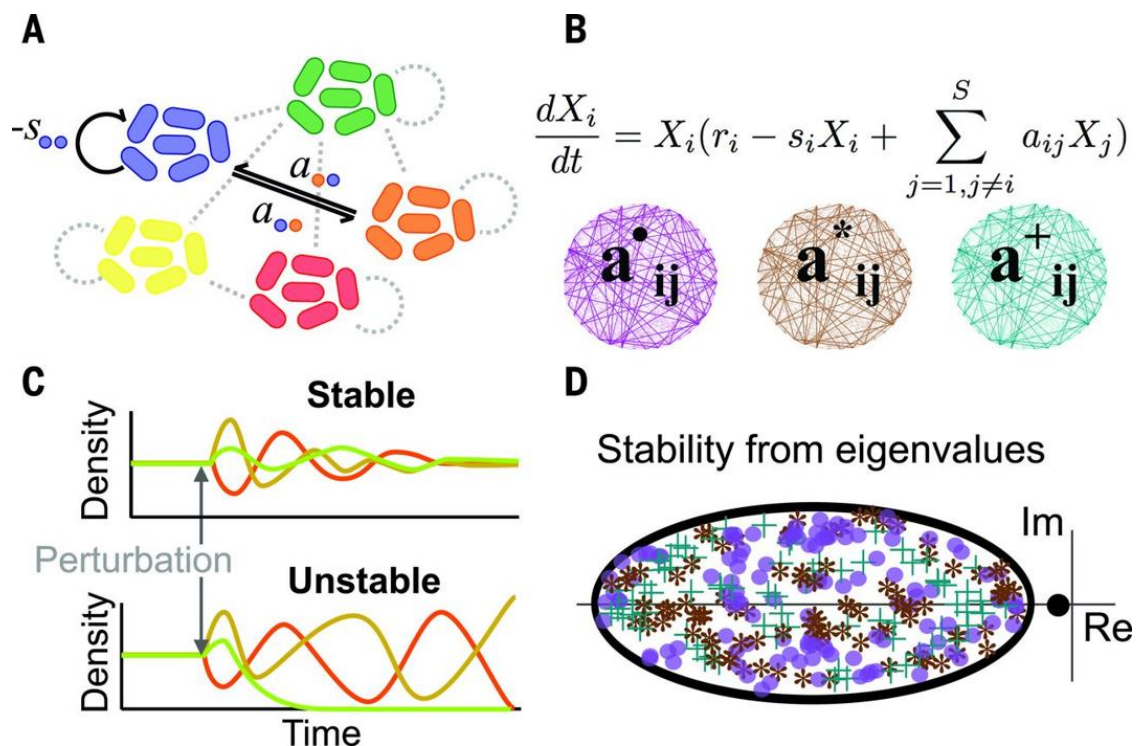


Figura 3: **a)** Podemos entender a una comunidad microbiana como un conjunto de poblaciones de distintas especies cuyos miembros interactúan entre sí y con los miembros de otras poblaciones. **b)** El comportamiento de cada una de las poblaciones

en función del tiempo puede ser descrito mediante ecuaciones diferenciales, donde una población mantiene interacciones de distintos tipos con otras poblaciones. c) Al producirse una perturbación debida a algún factor externo, ya sea este biótico o abiótico, la dinámica de las poblaciones puede cambiar por un periodo para luego estabilizarse, o nunca recuperarse tras la perturbación. d) El análisis de estabildades en un plano complejo, compuesto por una parte real correspondiente a los eigenvalores y una parte imaginaria. El plano muestra las estabildades para las tres poblaciones microbianas. Los eigenvalores indican si la comunidad volverá a estabilizarse y cuán rápido lo hará, siendo estables solo los valores negativos que se encuentran a la izquierda, y que, por lo tanto, son $Re(\lambda) < 0$. La parte imaginaria de los eigenvalores, por su parte, indica la frecuencia de las oscilaciones. Una elipse pequeña implica una estabildad más fuerte, mientras que la excentricidad se relaciona con la estabildad de las oscilaciones. Imagen extraída de Coyte et al. (2015) (Coyte et al., 2015).

Otro factor que afecta la estabildad de las comunidades microbianas es la diversidad. En general, la microbiota intestinal de los mamíferos se caracteriza por ser muy diversa, lo que plantea una cuestión problemática, puesto que a mayor diversidad la inestabilidad del sistema también incrementa. La estabildad del sistema, por lo tanto, podría derivarse de la aparición de bucles de retroalimentación negativa, que modulan el crecimiento de cada una de las poblaciones y las mantiene fluctuando dentro de cierto rango (Fig. 2). Por lo tanto, aunque las interacciones antagónicas reducen la eficiencia del metabolismo a nivel de comunidad, son capaces de amortiguar las constantes variaciones del ambiente y del sistema en compensación, teniendo un efecto estabilizador (Coyte et al., 2015). Si bien, la evidencia no es clara, es posible que el sistema inmune del huésped esté involucrado en mantener la estabildad de la microbiota tras una disbiosis derivada, por ejemplo, de una infección, donde la inmunidad adaptativa sería capaz de suprimir ciertas poblaciones bacterianas, evitando la formación de bucles de retroalimentación positiva (Van den Abbeele et al., 2011).

La fuerza de las interacciones es un elemento más a tomar en consideración. Las comunidades parecen presentar mecanismos que disminuyen la fuerza de las interacciones al tiempo que aumentan la estabildad, puesto que, si bien, las interacciones facilitan la regulación mutua de las poblaciones, también promueven el acoplamiento entre especies, lo que exacerba los bucles de retroalimentación provocando que algunas especies decaigan y otras proliferen, desestabilizando la comunidad, debido a que la elipse de eigenvalores se vuelve cada vez más positiva. Sin embargo, al introducir más componentes al sistema, la competencia aumenta lo que promueve la estabildad (Coyte et al., 2015). Un mecanismo por el cual potencialmente estas interacciones son reguladas a nivel comunidad, es mediante el crecimiento irregular de las poblaciones, dado que esto limita la mezcla y, por lo tanto, el contacto entre estas (Oliveira et al., 2014). Se ha observado que, en mamíferos, el epitelio intestinal es capaz de liberar nutrientes que alimentan a la microbiota durante periodos de inanición, lo que evita que la competencia por recursos incremente

(Hooper, Xu, Falk, Midtvedt, & Gordon, 1999). Experimentos en roedores *knockout* incapaces de proveer a su microbiota de fucosa, presentan una menor diversidad derivada del fortalecimiento de las interacciones antagónicas, mismas que desembocan en el decaimiento de algunas poblaciones (Kashyap et al., 2013).

Igualmente, los modelos teóricos indican que valores altos de competencia intraespecífica entre los miembros de una misma población, favorece la estabilidad. La competencia interespecífica, por su parte, podría ser clave, no solo en el mantenimiento de la estabilidad a nivel comunidad, sino también en la consolidación de la estabilidad en etapas tempranas del desarrollo en mamíferos (Coyte et al., 2015). En neonatos, las interacciones bacterianas tienden a ser mayoritariamente mutualistas conforme se lleva a cabo el proceso de colonización, por lo cual este periodo es vital para el futuro desarrollo de la microbiota. A medida que nuevas especies se integran y colonizan el tracto intestinal, la diversidad aumenta y la competencia por recursos lo hace a la par, favoreciendo que eventualmente, la microbiota se estabilice. Este enriquecimiento de la microbiota viene asociado a una alimentación más diversa en los primeros años de vida del infante, lo que promueve la llegada y proliferación de nuevas especies (Derrien, Alvarez, & Vos, 2019).

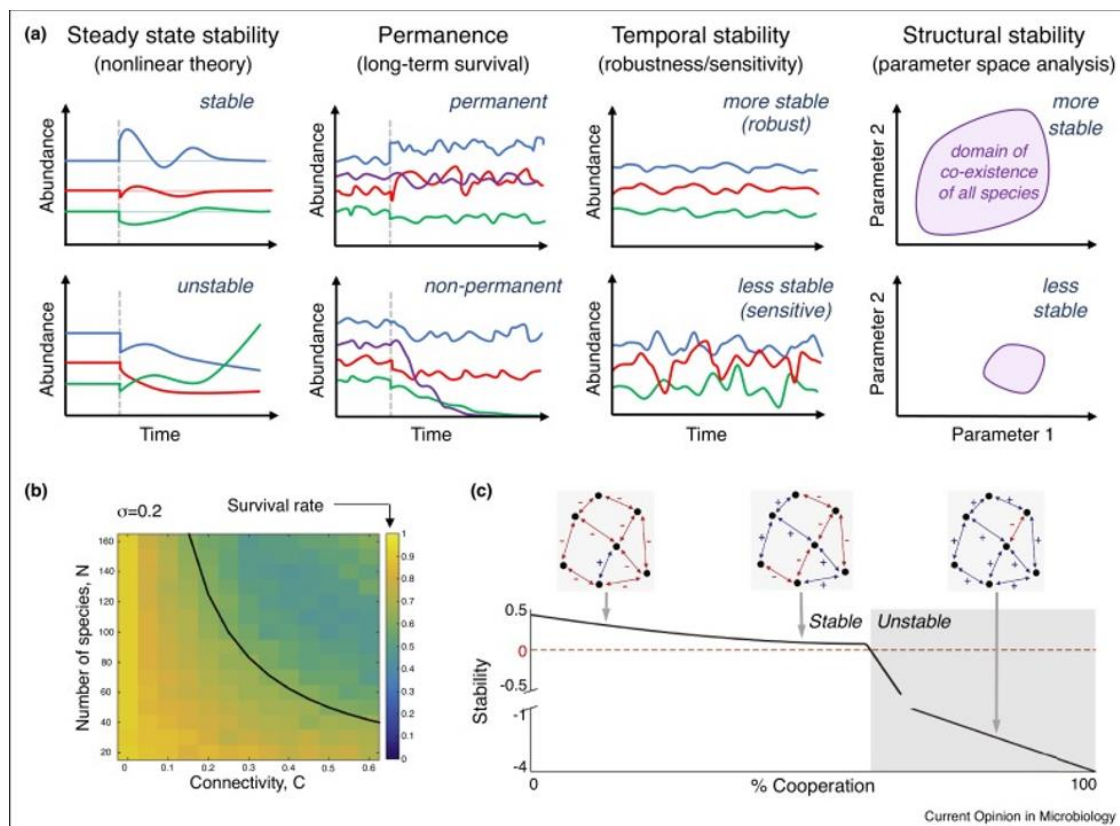


Figura 4: a) La estabilidad de las comunidades microbianas puede plantearse a partir de distintos enfoques, iniciando por la capacidad y el tiempo que le toma al sistema recuperar su dinámica previa a una perturbación, la supervivencia de las especies a través del tiempo, su sensibilidad al ambiente, y la capacidad de las poblaciones de

*coexistir dentro de ciertos rangos ambientales. **b)** El incremento en la conectividad y un mayor número de especies disminuye la tasa de supervivencia de las poblaciones. Ambas cualidades tienden a compensarse en la práctica. **c)** Las interacciones mutualistas aumentan la inestabilidad a nivel de comunidad. Imagen extraída de Gonze et al. (2018) (Gonze et al., 2018).*

La estabilidad de las comunidades microbianas es un fenómeno multifactorial que no depende únicamente de si serán capaces o no de volver a su dinámica inicial tras ocurrir una perturbación, o del tiempo que se demore en recuperar esa dinámica, como hemos visto previamente, sino también en la capacidad del sistema de mantener a las poblaciones que contiene (Gonze et al., 2018). La supervivencia de las poblaciones está fuertemente ligada a la diversidad y a la propia estabilidad de las comunidades (Fig. 3). Una de las características más notables de la disbiosis es la alteración en las abundancias relativas de las especies y la pérdida de diversidad debida al decaimiento y extinción de algunas poblaciones. Las poblaciones más pequeñas serán, por ende, más susceptibles a las fluctuaciones del sistema que las poblaciones más abundantes (Jansen, 1987). Enfermedades como la diabetes o la obesidad parecen guardar una estrecha relación con la disminución de poblaciones bacterianas asociadas a la descomposición de fibra y la síntesis de AGCCs, por lo que, la pérdida de estas poblaciones repercute en la funcionalidad de la microbiota dada la relevancia fisiológica de la síntesis de AGCCs (Le Chatelier et al., 2013). Del mismo modo, la estabilidad en el tiempo depende en gran medida de la sensibilidad de las comunidades al entorno, así como de su robustez, es decir, la capacidad del sistema de amortiguar las variaciones del ambiente. Comunidades con alta sensibilidad y baja robustez tienden a presentar una mayor variación en las abundancias de sus poblaciones en función del tiempo, mientras que la desviación estándar de las abundancias es menor entre mayor sea la robustez del sistema (Lozupone, Stombaugh, Gordon, Jansson, & Knight, 2012). La coexistencia de las poblaciones de una comunidad depende en gran medida de las condiciones del entorno. Al variar los parámetros del sistema podemos definir una región dentro de cuyos límites se mantenga la coexistencia, lo que llamamos estabilidad estructural. Entre mayor sea el rango de condiciones bajo las cuales el sistema mantiene su estabilidad, mayor será la capacidad del sistema de retener sus poblaciones ante las variaciones ambientales. Fuera de los límites de esta región de coexistencia, el sistema pierde la capacidad de mantener las poblaciones (Grilli et al., 2017).

El hecho de que la microbiota sea un sistema complejo cuyas condiciones naturales son en gran medida desconocidas, plantea numerosas problemáticas al momento de modelar el sistema (Gonze et al., 2018). El enfoque reduccionista resulta insuficiente al tratar con este tipo de sistemas, pues en principio la gran mayoría de las bacterias que componen la microbiota, tanto del suelo como del tracto digestivo de los mamíferos, no han podido ser cultivadas en condiciones de laboratorio (Puspita, Kamagata, Tanaka, Asano, & Nakatsu, 2012). Además, gran parte de las variables que influyen en su crecimiento son desconocidas o resultan difíciles de medir con precisión, dado que estos sistemas tienden a ser heterogéneos y a presentar

características y condiciones a nivel local. Los costos relacionados con la secuenciación de muestras a lo largo de periodos largos de tiempo, y la dificultad que plantea seguir casos en función del tiempo, especialmente tratándose de humanos, ha limitado considerablemente la cantidad de información que podemos conocer de la microbiota (Momeni et al., 2017). Algunos modelos han introducido un componente estocástico para mejorar las predicciones, además de considerar un mayor número de variables para mejorar su poder predictivo (Skvortsov, Ristic, & Kamenev, 2018). Sin embargo, entre mayor es el número de variables, más difícil se hace poder medir su efecto, además de aumentar considerablemente el poder de cómputo requerido para poder simular las comunidades (Berg et al., 2022).

Una forma de cuantificar la estocasticidad de un sistema es mediante el análisis del ruido, mismo que puede variar desde el determinismo absoluto (ruido negro), como sucede con los patrones generados mediante modelos como el Lotka-Volterra generalizado (LVg), hasta series totalmente aleatorias (ruido blanco), donde los datos no siguen ningún patrón temporal (Faust et al., 2018). El modelo SOI (*Self-Organized Instability*), que combina el enfoque basado en interacciones del Lotka-Volterra generalizado con los patrones de migración de un modelo neutro como el Hubble, suele mostrar patrones de ruido rosa, cuya densidad espectral es inversamente proporcional al incremento de la frecuencia, y que se caracteriza por ser estocástico a pequeña escala, pero seguir un comportamiento periódico en periodos largos de tiempo (Solé, Alonso, & McKane, 2002). Por su parte, el ruido browniano o café, característico de modelos como el de Hubbell, si bien es estocástico, la posición de cada valor de la serie en un tiempo t únicamente depende del valor en el tiempo $t - 1$ (Rosindell, Hubbell, & Etienne, 2011).

Llegados a este punto, resulta pertinente preguntarse cuál es la relevancia de la estocasticidad en la dinámica de las comunidades microbianas. La estocasticidad en el comportamiento de las poblaciones parece estar en principio fuertemente asociada a las variaciones en el ambiente, así como al nacimiento y muerte aleatoria de individuos dentro de las poblaciones (Fisher & Mehta, 2014b). La estabilidad de los ecosistemas en general depende de la dispersión de las poblaciones, la especiación, la selección natural y la deriva ecológica (Vellend, 2010). La deriva ecológica es eminentemente dependiente de la estocasticidad, por lo cual la distribución de los caracteres de una población obedece al principio de Hardy-Weinberg, donde la abundancia de caracteres se asemeja a las proporciones esperadas en la herencia mendeliana (Edwards, 2008). El modelo neutral se fundamenta sobre la deriva ecológica, y asume que las poblaciones de un determinado nivel trófico son funcionalmente equivalentes, lo que significa que sus tasas de muerte, nacimiento, especiación y migración son equivalentes. Debido a ello, todas las poblaciones tienen el mismo efecto las unas sobre las otras, dando lugar a que la aleatoriedad prime sobre las interacciones al momento de explicar el comportamiento del sistema (Palma, 2010). Sin embargo, la deriva ecológica solo mantiene su efecto en comunidades con poblaciones pequeñas y/o expuestas a un ambiente altamente fluctuante, donde los

patrones de especiación y extinción de las poblaciones sí ocurren de forma aleatoria (Fisher & Mehta, 2014b).

Por su parte, el modelo de nicho da mucho más peso a la presión de selección. En este modelo los tipos y pesos de las interacciones entre poblaciones juegan un papel mucho más relevante al momento de explicar los patrones de diferenciación y extinción de especies, siendo la selección natural el factor predominante (Palma, 2010). Si bien, el efecto de la selección natural resulta insignificante en poblaciones pequeñas, su peso se hace más notable al incrementar el tamaño de las poblaciones. Además, ambientes relativamente estables favorecen también el efecto de la selección natural al permitir la adaptación de las poblaciones a un ambiente más regular y con patrones relativamente predecibles, dado que eventualmente estas se acoplan para ocupar una posición o nicho dentro del ecosistema (Fisher & Mehta, 2014b). Este régimen está dominado por las diferencias entre los organismos al momento de emplear los recursos del medio, lo que permite explicar la coexistencia de especies a nivel local (Fig. 4). Sin embargo, esta teoría falla en explicar satisfactoriamente la presencia de especies muy abundantes en la comunidad, en contraste con la presencia de especies raras (Palma, 2010).

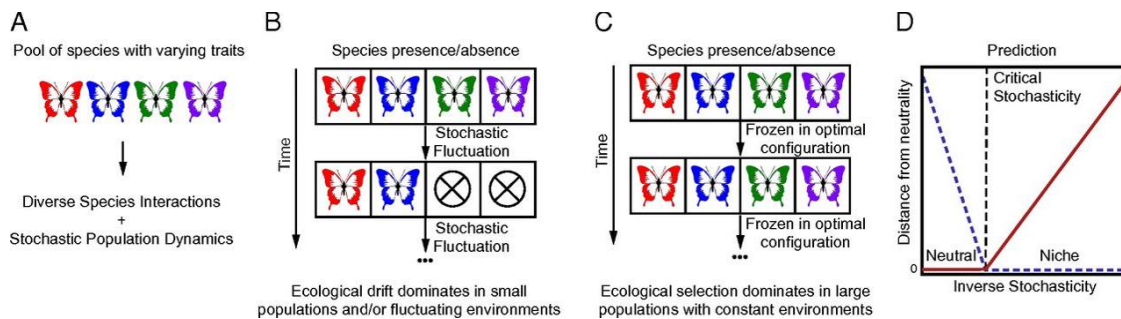


Figura 5: *a)* Las poblaciones constituyentes de una comunidad están moduladas por las interacciones entre especies y por factores estocásticos. *b)* En poblaciones pequeñas, el componente estocástico domina la dinámica poblacional. *c)* Poblaciones de gran tamaño en ambientes relativamente estables están más expuestas a la presión de selección. *d)* La dinámica de una comunidad puede pasar de un régimen neutral a uno de nicho tras cruzar cierto umbral, donde el efecto de la estocasticidad deja de ser la fuerza ecológica predominante. La línea roja representa la distancia al régimen neutral, la línea discontinua azul representa la distancia al régimen de nicho. La línea discontinua negra representa el umbral de transición entre ambos regímenes. Imagen extraída de Fisher & Mehta (2014) (Fisher & Mehta, 2014b).

Al aumentar el tamaño de las poblaciones también incrementa la competencia por recursos y, en consecuencia, se fortalece el efecto de las interacciones. Al incrementar esta competencia por recursos, la forma en que cada especie los emplea tiene un mayor peso, por lo cual, las poblaciones dejan de ser funcionalmente equivalentes para pasar a ocupar un nicho en el ecosistema, diluyendo en consecuencia el efecto de la estocasticidad, dominante en el régimen neutral. Por lo tanto, la transición de un régimen neutral a uno de nicho puede ocurrir durante la

colonización de un nuevo territorio por parte de diversas especies, lo que eventualmente lleva a la consolidación de un ecosistema a medida que las especies van ocupando nichos y fortaleciendo sus interacciones (David Tilman, 2004). El caso contrario, sin embargo, puede ocurrir tras un evento de perturbación. Un fenómeno que reduzca la capacidad de carga del medio puede provocar el descenso de las poblaciones al reducir la capacidad del ambiente de mantener a un gran número de individuos. Al incrementar la competencia intraespecífica, el tamaño de las poblaciones decrece, permitiendo así la transición de un régimen de nicho a uno neutral (Fisher & Mehta, 2014b).

2.5 Modelaje matemático de comunidades microbianas

Los ecosistemas son redes complejas de interacciones dinámicas, y los modelos matemáticos, como las ecuaciones diferenciales y los modelos estequiométricos, son formas de representar de forma abstracta dichos sistemas con el fin de simular su comportamiento (Succurro & Ebenhö, 2018). Los modelos matemáticos y computacionales se han convertido en herramientas fundamentales para analizar y predecir los comportamientos de la microbiota. Estos modelos permiten simular diferentes escenarios, evaluar el impacto de variables externas y desarrollar estrategias para manipular la microbiota con fines terapéuticos. Integrando datos experimentales con modelos matemáticos, los investigadores pueden avanzar en la comprensión de la dinámica de la microbiota y su relación con la salud y la enfermedad, facilitando el desarrollo de intervenciones más precisas y efectivas (Berg et al., 2022). Además, las técnicas de meta-ómica avanzadas han sido útiles principalmente para identificar la presencia de microorganismos en muestras ambientales, lo que, en conjunto con las aproximaciones teóricas, nos ha permitido ampliar nuestros conocimientos en el entendimiento de las comunidades microbianas (Hellweger et al., 2016).

La forma más simple de entender el comportamiento de una población es que el número de individuos de una población $x(t)$ es una función del tiempo y crece como función de una tasa de crecimiento r , por lo cual obtenemos una ecuación de la forma $\dot{x} = rx$, donde \dot{x} representa la tasa de cambio de la población con respecto al tiempo. Sin embargo, al resolver la ecuación diferencial podemos entender que la curva $x(t) = A_0 e^{rt}$ crece indefinidamente de forma exponencial, un fenómeno que contradice lo observado en la naturaleza. Las poblaciones siempre están limitadas por la disponibilidad de recursos a su alcance, ya sean estos nutrientes, el espacio físico o el agua, entre otros (Malthus, 1798). También cabe destacar que los individuos de una misma población compiten por tales recursos, por lo que, entre mayor sea su número, mayor será la competencia por recursos, lo que limita a su vez el crecimiento de la población. Podemos representar lo anterior de la siguiente forma, siguiendo el modelo de Verhulst (Andriani, Suyitno, Junaidi, et al., 2019).

Ecuación 2

$$\dot{x} = rx \left(1 - \frac{x}{k}\right)$$

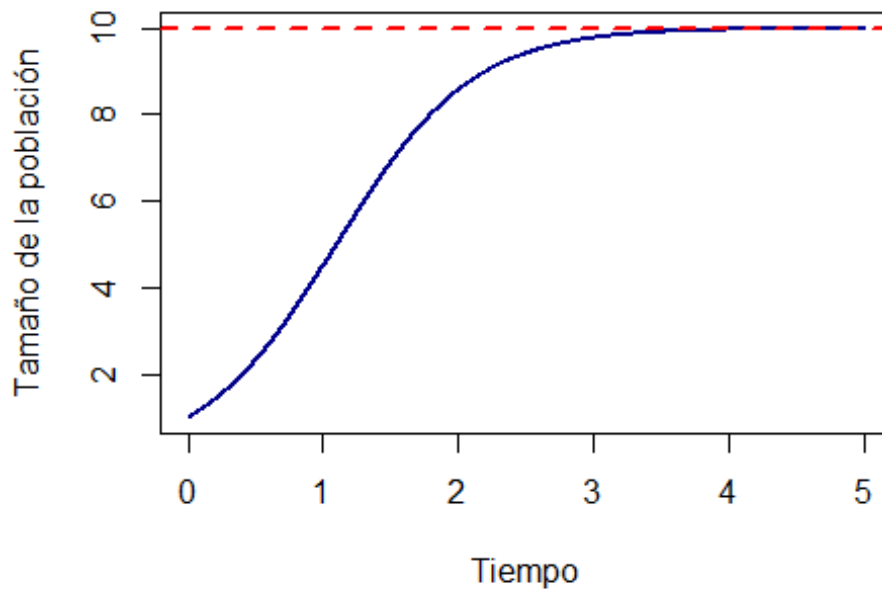
Donde el crecimiento de la población está limitado por la competencia intraespecífica correspondiente al término x^2 de la ecuación 2 y la cantidad de recursos disponibles k (Andriani et al., 2019). Sin embargo, cabe destacar que el modelo de Verhulst solo permite explicar el comportamiento de poblaciones en condiciones de laboratorio (Hillen, 2003), debido a que en la naturaleza la dinámica de las poblaciones está regulada por la interacción con otros organismos de distintas especies, mismos que a su vez compiten por recursos e interactúan entre sí y con el ambiente.

Ecuación 3

$$x(t) = \frac{k}{1 + \left(\frac{k - x_0}{x_0}\right) e^{-rt}}$$

```
# Tasa de crecimiento
r<-2
# Capacidad de carga
k<-10
# Población inicial
P0<-1
# Periodo de tiempo
t<-seq(0,5,length=1000)
# Modelo logístico de Verhulst
Pt<-k/(1+((k-P0)/P0)*exp(1)^(-r*t))
# Gráfico
plot(t, Pt, type = "l", lwd = 2, col = "darkblue",
      xlab = "Tiempo",
      ylab = "Tamaño de la población",
      main = "Crecimiento logístico del modelo de Verhulst"
)
abline(h=k, col = "red", lwd=2, lty=2)
```

Crecimiento logístico del modelo de Verhulst



Se han propuesto numerosos modelos para estudiar el comportamiento de sistemas ecológicos. El modelo Lotka-Volterra, ideado casi simultáneamente, pero de forma independiente, por Alfred Lotka y Vito Volterra a principios del siglo XX, fue inicialmente planteado para estudiar el comportamiento de poblaciones ante interacciones de tipo presa-depredador ([Wangersky, 1978](#)), sin embargo, este modelo también se puede implementar para todo tipo de interacciones ecológicas, tales como mutualismo, comensalismo, parasitismo, amensalismo o competencia. Por lo tanto, el sistema de ecuaciones no sólo incluye las interacciones intraespecíficas, sino también las interacciones interespecíficas que ocurren entre individuos de distintas poblaciones ([Takeuchi, 1996](#)).

Ecuación 3 y 4

$$\dot{x}_i = r_i x_i - \alpha_{ii} x_i^2 - \alpha_{ij} x_i x_j$$

$$\dot{x}_j = r_j x_j - \alpha_{jj} x_j^2 - \alpha_{ji} x_i x_j$$

Donde las poblaciones x_i y x_j crecen a una tasa constante r_i y r_j , respectivamente. Dado que los individuos de estas poblaciones ocupan el mismo nicho ecológico, compiten entre ellos por los mismos recursos x_i^2, x_j^2 . La competencia interespecífica entre ambas especies se define por xy , donde el efecto de esta interacción sobre cada especie depende de los parámetros α_{ij} y α_{ji} .

Este planteamiento, sin embargo, excluye la complejidad que podemos encontrar en un ecosistema, donde una especie mantiene interacciones con un gran número de

otras especies cuyas poblaciones también varían en el tiempo. La forma más simple de modelar este tipo de sistemas es mediante el Lotka-Volterra generalizado (LVg), donde el comportamiento de cada una de las poblaciones es el resultado de la suma de las interacciones con otras poblaciones, ya sea que estas sean mutualistas, antagónicas, neutrales o de cualquier otro tipo (Jones & Carlson, 2019).

Ecuación 5

$$\frac{dx_i}{dt} = x_i \left(r_i + \sum_{j=1}^n \alpha_{ij} x_j \right)$$

Donde el cambio de la población con respecto al tiempo dx_i/dt depende de la densidad poblacional de x_i que crece a una tasa r_i , al tiempo que interactúa con otras poblaciones de la comunidad x_j . La fuerza de estas interacciones está definida por α_{ij} , pudiendo ser estas interacciones positivas, negativas o neutras.

Pero el modelo excluye evidentemente las interacciones con el medio, además de considerar que las interacciones entre especies se dan únicamente en pares, dado que en la naturaleza la presencia de un tercer organismo puede mediar o afectar la relación entre dos especies (Momeni et al., 2017). Del mismo modo, el modelo supone que las interacciones son fijas en el tiempo, sin embargo, en la naturaleza la interacción entre los organismos es dinámica, y ante determinadas condiciones estas pueden variar, por ejemplo, entre el mutualismo y el antagonismo (Hoek et al., 2016). A esto debemos agregar el efecto que sustancias derivadas del metabolismo de los organismos tienen sobre el comportamiento de otras poblaciones (Mai, 2021). En este caso podemos destacar al *quorum sensing* o autoinducción, un mecanismo que responde a la densidad poblacional de algunas bacterias, y que es capaz de modular la expresión genética de dicha población y, por lo tanto, repercutir en su comportamiento poblacional (Zomorodi & Segrè, 2016). De este modo, tampoco toma en cuenta cómo factores como la temperatura pueden afectar las tasas de crecimiento, o fenómenos como las migraciones que ocurren, por ejemplo, durante el tránsito de alimentos por el tracto digestivo (Gonze et al., 2018).

También cabe destacar que el modelo LVg es un modelo esencialmente determinista, lo que limita su poder predictivo. La aparente aleatoriedad de las comunidades microbianas puede estar asociada al efecto de variables desconocidas en el sistema, por lo cual algunos modelos como el de Ricker consideran un componente estocástico (Faust et al., 2018). El modelo de Ricker es un modelo discreto que, al igual que el LVg, asocia las abundancias de cada una de las especies en un determinado momento, con las abundancias del resto de especies del sistema en función de sus interacciones (Fisher & Mehta, 2014a). Por su parte, modelos neutrales como el de Hubbell permiten simular comunidades a nivel local. Al igual que el anterior, se trata de un modelo discreto pero orientado a la distribución espacial, donde cada individuo ocupa un espacio físico en una malla regular. Esto permite al modelo simular muertes y nacimientos, pero también migraciones y procesos de especiación, donde cada uno

de estos fenómenos ocurre en función de cierta probabilidad ([Rosindell et al., 2011](#)). Sin embargo, el modelo asume que todas las especies son ecológicamente equivalentes y que la dinámica está regida por los procesos estocásticos de migración y extinción de especies ([Faust et al., 2018](#)). Por su parte, modelos como SOI (*Self-Organized Instability*) consideran tanto procesos de migración y extinción estocásticos, como interacciones entre especies ([Solé et al., 2002](#)).

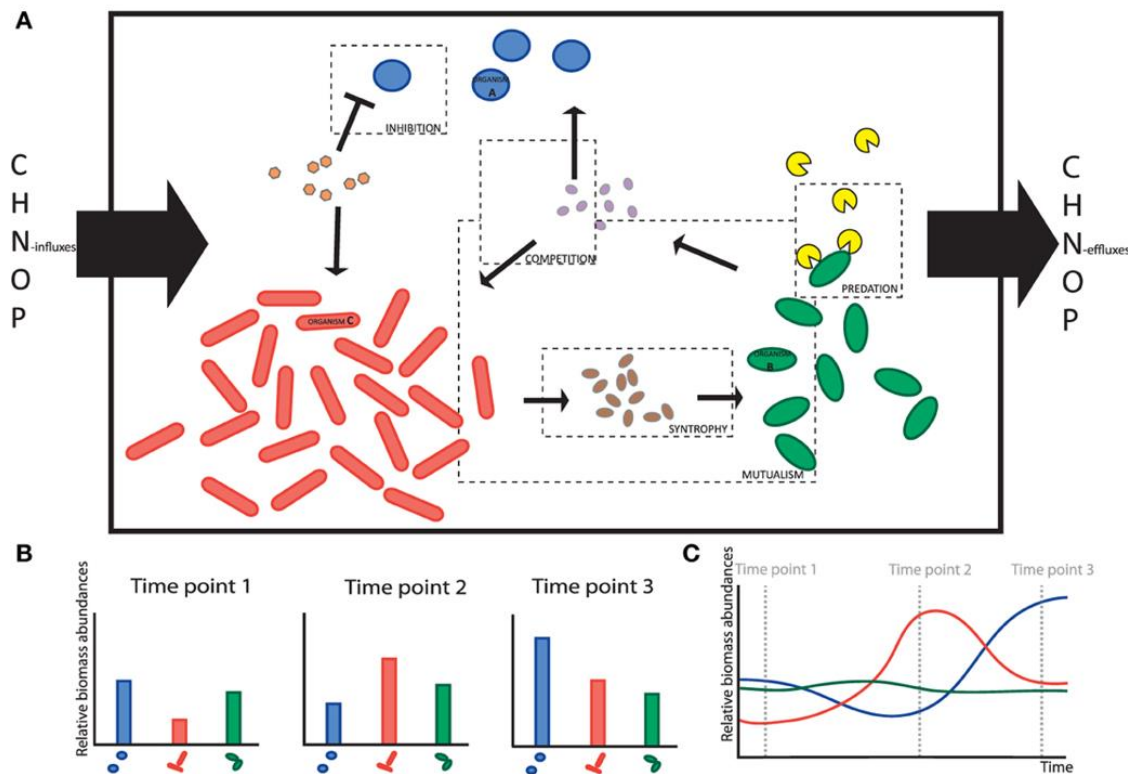


Figura 6: **a)** Representación de un ecosistema microbiano compuesto por diversas poblaciones que interactúan entre sí y con su medio, donde se pueden encontrar diversos metabolitos que median dichas interacciones. **b)** Secuencia del cambio en las abundancias de taxones, en términos de biomasa, a lo largo de varias muestras. **c)** Dinámica poblacional representada en una serie temporal. Imagen extraída de [Hanemaaijer et al. \(2015\)](#). ([Hanemaaijer et al., 2015](#)).

La forma en que las poblaciones reaccionan a la abundancia o escasez de los recursos disponibles en su medio define en gran medida su densidad en el tiempo (Fig. 6). A diferencia de lo que ocurre en el modelo Lotka-Volterra generalizado, en la realidad las interacciones entre microorganismos no son estáticas en el tiempo y no suelen ser directas, sino que suelen emerger del comportamiento de las poblaciones al momento de interactuar con su medio ambiente. La forma en que las distintas poblaciones emplean los recursos disponibles a su alcance o los metabolitos secundarios que estas producen afectan el comportamiento de las poblaciones, definiendo en su conjunto la dinámica del sistema. En 1970, MacArthur propuso un modelo basado en

el consumo de recursos con el fin de entender los mecanismos que permiten la coexistencia entre especies (Haygood, 2002).

El modelo de consumo de recursos de MacArthur aborda la problemática de cómo los organismos consumen los recursos disponibles en su medio (Fig. 7). La biodisponibilidad de nutrientes, como hemos visto, es de vital importancia para el crecimiento de las poblaciones (D. Tilman, 1982). Previamente hemos afrontado este problema añadiendo la denominada capacidad de carga k a la función de crecimiento poblacional, pero dicho modelo asume que la cantidad de recursos disponible es siempre constante, algo que, como veremos, contrasta con la realidad, donde un determinado nutriente es consumido y repuesto al sistema de modo que su abundancia y disponibilidad puede variar en el tiempo. El modelo también permite determinar el efecto que un recurso tiene sobre las comunidades, dado que una sustancia en el medio puede favorecer el crecimiento de una población, también puede tratarse de una toxina que tenga efectos antagónicos (Madeo, Comolli, & Mocenni, 2014) o de señales químicas que respondan a la densidad de organismos, como hemos visto que sucede en el *quorum sensing* (Zomorodi & Segrè, 2016).

Cabe destacar que, a diferencia del modelo LVg, este modelo no asume interacciones de tipo mutualistas o antagónicas entre los organismos, sino que estas pueden emerger de la forma en que las poblaciones emplean los recursos, ya sea que compitan por estos o que determinado organismo dependa de un recurso sintetizado por otro al transformar un recurso preexistente del medio (Berg et al., 2022).

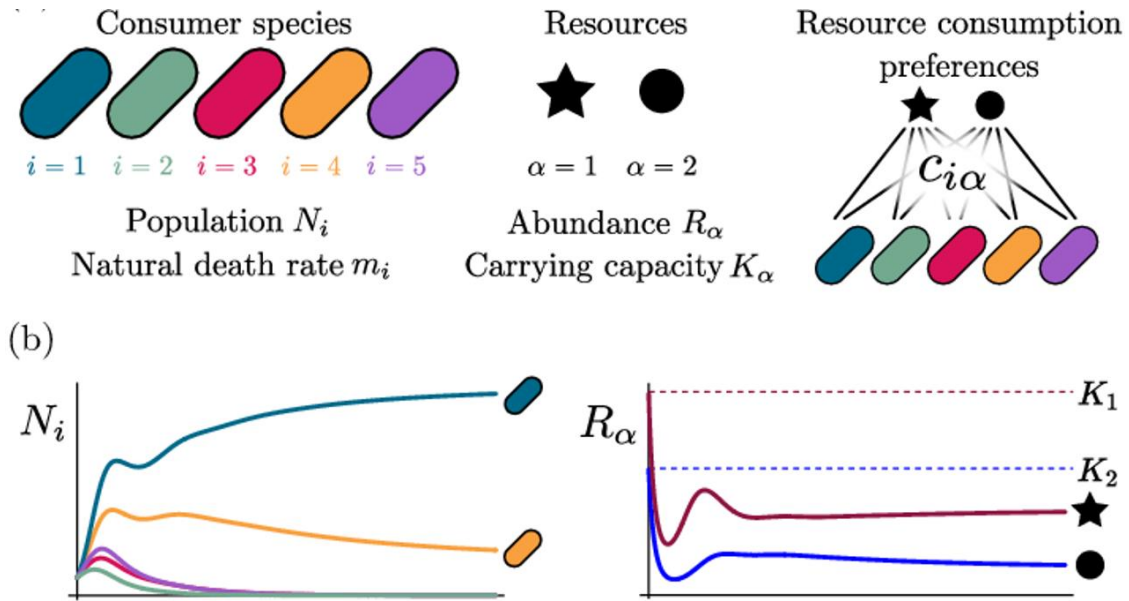


Figura 7: Representación gráfica del modelo de MacArthur. Cada una de las poblaciones que componen la comunidad (N_i) consumen los recursos disponibles en su medio R_α , tendiendo cada uno una capacidad de carga asociada K_α . No todas las poblaciones preferirán los mismos recursos. La variabilidad de formas en que las poblaciones emplean los recursos a su alcance define la dinámica tanto de las

poblaciones como de los recursos. Imagen extraída de Blumenthal et al. (2023) (Blumenthal & Mehta, 2023).

El crecimiento de cada población está definido de la forma:

Ecuación 6

$$\frac{dx_i}{dt} = r_i x_i \left(\sum_{\alpha} \Delta w_{i\alpha} C_{i\alpha} R_{\alpha} \right) - \mu_i x_i$$

.

Donde el cambio de las poblaciones con respecto al tiempo dx_i/dt está definido por las tasas de crecimiento r_i asociadas a cada población x_i , que a su vez se ve afectada por la biodisponibilidad de recursos en el medio R_{α} , la capacidad de cada especie de captar e incorporar dichos recursos $C_{i\alpha}$. La forma en que cada una de estas especies emplea estos recursos depende de $\Delta w_{i\alpha}$. Finalmente, el modelo también toma en cuenta una tasa de muerte μ_i dependiente de la densidad poblacional (Blumenthal & Mehta, 2023).

En este caso la tasa de captación de recursos $C_{i\alpha}$ está regulada por la velocidad de transformación de un recurso α en otro β :

Ecuación 7

$$\Delta w_{i\alpha} = w_{\alpha} - \sum_{\beta} D_{\beta\alpha}^i w_{\beta}$$

Donde w es energía por unidad de masa de cada recurso, y $D_{\beta\alpha}^i$ corresponde a la fracción del recurso α que es convertida en el recurso β .

Dado que la dinámica de los recursos depende de su captación, metabolismo y secreción, la abundancia de un recurso en el sistema en función del tiempo se define por:

Ecuación 8

$$\frac{dR_{\beta}}{dt} = \sum_{\alpha i} D_{\beta\alpha}^i C_{i\alpha} R_{\alpha} x_i - \sum_i C_{i\beta} R_{\beta} x_i$$

Por lo tanto, el modelo establece que cada recurso de tipo α con una abundancia R_{α} es consumido por una población i a una velocidad $C_{i\alpha} R_{\alpha}$, donde $C_{i\alpha}$ es una matriz que define la tasa a la que cada organismo consume cada tipo de recurso. La tasa a la cual cada recurso es transformado en otro mediante el metabolismo celular es definida por una matriz estequiométrica $D_{\alpha\beta}$ (R. MacArthur, 1970). Los coeficientes estequiométricos permiten relacionar el consumo de los recursos con la secreción de otros, sin embargo, el modelo asume que el metabolismo es fijo y, por lo tanto, el flujo

y transformación de sustancias en las células es constante en el tiempo (Berg et al., 2022). Esto plantea una limitante a este modelo, dado que el metabolismo es dinámico y responde las necesidades de la célula en un momento y condiciones determinadas, por lo que la disponibilidad de determinado recurso depende de señales ambientales, el ciclo celular y otros factores que afectan la expresión génica de las células y, por lo tanto, modulan su metabolismo (Fig. 8). Esto puede ser solventado hasta cierto punto incluyendo adaptaciones metabólicas dinámicas, que permiten al organismo emplear uno u otro nutriente dependiendo de su preferencia y concentración en el medio (Crowther et al., 2014).

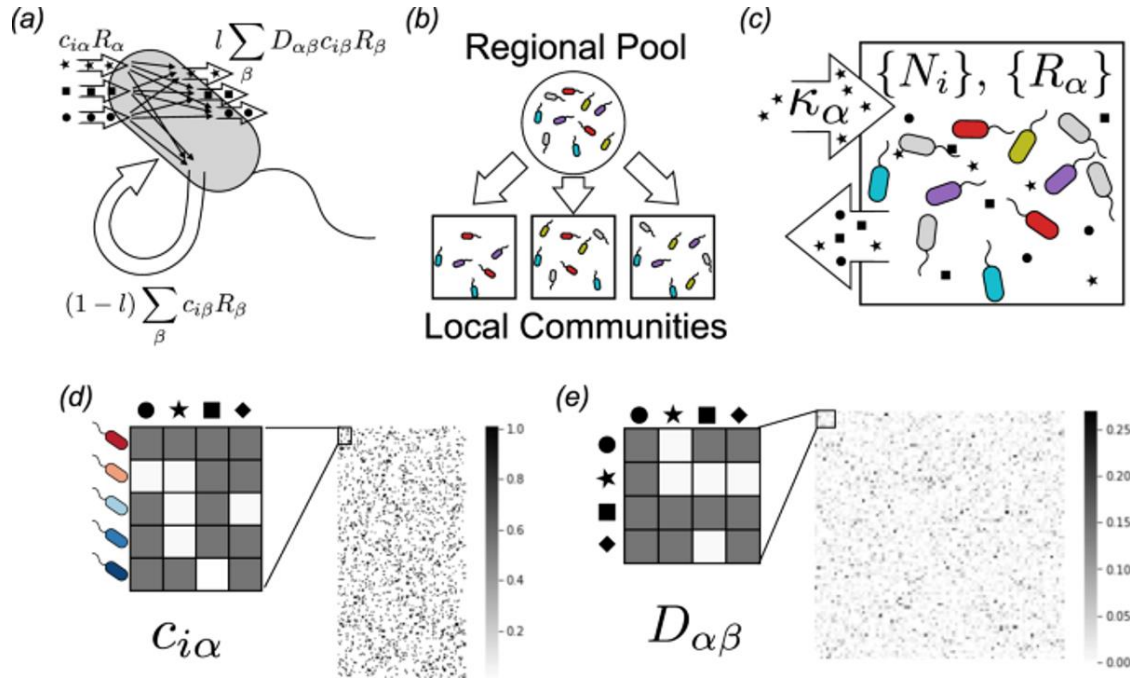


Figura 8: Modelo de consumo de recursos de MacArthur. a) Cada célula en el modelo consume recursos a una tasa fija para luego transformarlos y secretar una fracción l , siendo el resto $(1 - l)$ aprovechado por la célula para su crecimiento. b) El modelo permite generar distintas comunidades a partir del muestreo aleatorio de un conjunto mayor. c) Cada comunidad recibe un influjo de recursos K_α que son consumidos por una población de N_i organismos. d) La matriz $C_{i\alpha}$ define la tasa a la que cada especie consume cada tipo de recurso. e) La matriz estequiométrica $D_{\alpha\beta}$ define la tasa de transformación de los recursos. Imagen extraída de Marsland et al. (2020) (Marsland et al., 2020).

El aumento en el poder de cómputo de las últimas décadas ha permitido desarrollar modelos basados en agentes, que constituyen una de las mejores herramientas para simular comunidades microbianas debido a que cada uno de los miembros constituyentes posee un comportamiento individual e independiente al resto de miembros, aunque comparten características comunes con el resto de la comunidad (Hellweger et al., 2016). Al estar basados en el comportamiento de los individuos y no

del colectivo, los vuelve modelos esencialmente estocásticos (Griesemer & Sindi, 2022).

Al igual que en los modelos anteriores, la velocidad a la cual los organismos se multiplican depende de la biodisponibilidad de nutrientes R_α , de su tasa de consumo $C_{i\alpha}$, y la tasa de transformación de dicho recurso en otro $\Delta w_{i\alpha}$. Sin embargo, el modelo permite simular el comportamiento individual y la dinámica de recursos en cada uno de los miembros de la comunidad microbiana.

Ecuación 9

$$\frac{di}{dt} = r_i \left(\sum_{\alpha} \Delta w_{i\alpha} C_{i\alpha} R_{\alpha} \right)$$

Para describir el movimiento de los individuos en el espacio podemos dividir la superficie en celdas, cada una de las cuales posee un individuo dentro. Conforme estos crecen y superan un valor umbral $i > \text{umbral}$, se dividen $i/2$ y la célula hija migra a la celda contigua, permitiéndoles ir colonizando el espacio en busca de recursos para continuar reproduciéndose (Jayathilake et al., 2017). En la naturaleza, la continua búsqueda de recursos deriva de la necesidad de los organismos de mantenerse vivos y reproducirse, y de la competencia por los mismos con otras especies.

La difusión de los recursos en el medio se calcula para todos los compuestos solubles, $R = R_1, R_2, \dots, R_n$ usando derivadas parciales en función del tiempo y el espacio. La tasa de captación de nutrientes C y el coeficiente de difusión efectiva D_e se calculan dependiendo de la concentración de recursos a nivel local en cada celda, de modo que los recursos fluyen de las regiones con mayor concentración a las de menor concentración en función de la velocidad de flujo \vec{U} (Jayathilake et al., 2017).

Ecuación 10

$$\frac{\partial R_{\alpha}(r, t)}{\partial t} + \vec{U} \cdot \nabla R_{\alpha} = \nabla(D_e \cdot \nabla R_{\alpha}) + C_{i\alpha}$$

Donde $r = (x, y)$ determina las coordenadas espaciales en un plano en dos dimensiones sobre el cual se difunden los recursos.

Finalmente, podemos destacar a los denominados modelos a escala genómica, mismos que no solo son capaces de simular a los individuos como entidades en el espacio que interactúan con otros organismos y con los recursos del ambiente, sino que van más allá, permitiendo simular las reacciones bioquímicas dentro de las células. Para generar estos modelos normalmente se utilizan datos experimentales como entrada, como pueden ser los requerimientos nutricionales de las distintas especies (Mendoza, Olivier, Molenaar, & Teusink, 2019). Estos modelos permiten simular características fenotípicas como el crecimiento, las reacciones bioquímicas, así como la secreción y captación de nutrientes, y la respuesta de los organismos a cambios abruptos en las condiciones del medio o ante agentes antimicrobianos. De

este modo, cada recurso es absorbido y transformado en una serie de reacciones antes de ser secretado o consumido en la ruta metabólica, lo que confiere un mayor realismo al modelo, pues los recursos pueden combinarse o dividirse para formar otros, como sucede en las numerosas reacciones bioquímicas que se llevan a cabo dentro de las células ([Orth, Thiele, & Palsson, 2010](#)).

3. Hipótesis y objetivos

3.1 Hipótesis

Las interacciones y la biodisponibilidad de recursos afectan la respuesta de las comunidades microbianas ante perturbaciones.

3.2 Objetivo general

Mediante el uso de modelos ecológicos basados en diversos enfoques, identificar cómo las interacciones y la biodisponibilidad de recursos afectan la dinámica y composición de comunidades microbianas en respuesta a perturbaciones.

3.2.1 Objetivos particulares

- 1.- Identificar el papel de las interacciones en la capacidad de recuperación y resistencia de las comunidades.
- 2.- Estudiar el efecto de la biodisponibilidad de recursos en la dinámica de las comunidades microbianas y su respuesta ante perturbaciones.
- 3.- Comparar la dinámica de los modelos teóricos con series de tiempo de datos de secuenciación.
- 4.- Evaluar cómo la disbiosis afecta la estructura de las comunidades microbianas a partir del análisis de datos de secuenciación.
- 5.- Identificar si la disbiosis implica cambios composicionales en las comunidades.

4. Métodos

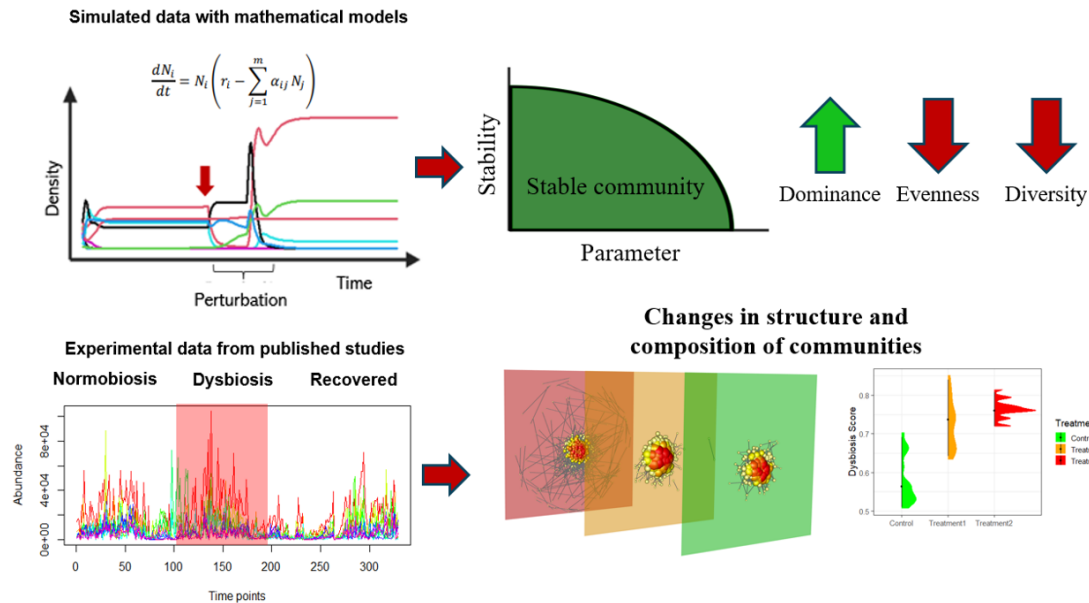


Figura 9: Se emplearon paralelamente datos secuenciación de diversos estudios y datos sintéticos generados mediante modelos matemáticos para analizar los efectos de las perturbaciones ambientales en la dinámica de comunidades microbianas. Usando un modelo LVg se varió la proporción de interacciones positivas del sistema para evaluar su efecto sobre la estabilidad al inducir perturbaciones pulsadas. También se empleó un modelo de consumo y producción de recursos para estudiar el efecto de la biodisponibilidad de nutrientes al inducirse una perturbación en el sistema. Usando modelos de redes multicapa, se analizaron los cambios topológicos en las comunidades con el fin de evaluar los cambios estructurales a partir de las coabundancias. Para evaluar cambios en la composición de las comunidades se utilizaron tanto índices de diversidad como distintas métricas de disbiosis y análisis de escalamiento multidimensional. Se usaron índices de alerta temprana para identificar cambios abruptos de la diversidad en las series temporales.

4.1 Análisis de datos de secuenciación

4.1.1 Obtención y procesamiento de datos

Se utilizaron datos de estudios previamente publicados para analizar los patrones de comportamiento y la estructura de comunidades microbianas en condiciones basales y bajo perturbaciones ambientales. Los datos empleados correspondían a pacientes con bronquiectasia en distintos estadios de la enfermedad (Narayana et al., 2020); chimpancés en vida silvestre y bajo condiciones de cautiverio (Sharma et al., 2022); individuos en un entorno urbano, rural y cazadores recolectores (Sharma et al., 2022); series temporales de individuos bajo procesos infecciosos (David et al., 2014); y de ratones inoculados con microbiota de donantes humanos, sometidos posteriormente

a distintas perturbaciones ([Gibson et al., 2021](#)); así como la microbiota de ranas, en distintas etapas de desarrollo, y sometidas a distintos tratamientos de temperatura. Las abundancias de OTUs y ASVs se colapsaron a nivel de especie y se separaron por estadios dependiendo de las características de cada conjunto de datos. Los datos se procesaron y analizaron utilizando el lenguaje de programación R.

Tabla 1: Los datos empleados en este estudio fueron recolectados de múltiples estudios ya publicados. En todos los casos se trata de datos de abundancias, tanto bacterianas como micobianas en algunos casos, a lo largo de varias muestras. Para ser seleccionados, los datos debían de poder ser separados en distintas categorías, donde al menos una de estas pudiese ser considerada como correspondiente a una microbiota perturbada.

Datos	Descripción	Fuente
Bronquiectasia (Narayana et al., 2020)	Datos de secuenciación del bacterioma y el fungoma de 217 pacientes con bronquiectasia de entre 60 y 74 años provenientes de Singapur, Kuala Lumpur, Malasia, Dundee, Escocia e Inglaterra. Los datos se separaron en tres etapas distintas de la enfermedad: Leve, moderado y severo. El estadio leve se empleó como control.	Narayana, J. K., Mac Aogáin, M., Tiew, P. Y., Ali, N. A. B. M., Lim, A. Y. H., Keir, H., ... & Chotirmall, S. H. (2020). “Integrative microbiomics” reveals a disrupted interactome in bronchiectasis exacerbations.
Primates (Sharma et al., 2022)	Datos de secuenciación del 16S-rRNA e ITS2 del bacterioma presente en muestras fecales de chimpancés de vida libre (n=11) y en cautiverio (n=12). Se emplearon como control las muestras de los especímenes de vida libre.	Sharma, A. K., Davison, S., Pafco, B., Clayton, J. B., Rothman, J. M., McLennan, M. R., ... & Gomez, A. (2022). The primate gut mycobiome-bacteriome interface is impacted by environmental and subsistence factors. <i>npj Biofilms and Microbiomes</i> , 8(1), 12

Datos	Descripción	Fuente
Humanos (Sharma et al., 2022)	Datos de secuenciación del 16S-rRNA e ITS2 del bacterioma presente en muestras fecales de individuos cazadores-recolectores de la tribu ba'aka (n=27), agricultores bantúes (n=13) y muestras de estudiantes estadounidenses de la Universidad de Minnesota (n=12).	Sharma, A. K., Davison, S., Pafco, B., Clayton, J. B., Rothman, J. M., McLennan, M. R., ... & Gomez, A. (2022). The primate gut mycobiome-bacteriome interface is impacted by environmental and subsistence factors. <i>npj Biofilms and Microbiomes</i> , 8(1), 12
Diarrea (David et al., 2014)	Serie temporal de un sujeto realizó un viaje entre los días 71 al 122, durante los cuales cambió su régimen alimenticio. La serie temporal consta de un total de 329 muestras, cada una correspondiente a un día distinto. Se consideraron tres estadios: Un periodo basal, el periodo de viaje, y un periodo de recuperación.	David, L. A., Materna, A. C., Friedman, J., Campos-Baptista, M. I., Blackburn, M. C., Perrotta, A., ... & Alm, E. J. (2014). Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. <i>Genome biology</i> , 15, 1-15.
Salmonelosis (David et al., 2014)	Serie temporal de sujeto que sufrió una infección por Salmonella entre los días 151 al 159. La serie temporal consta de un total de 329 muestras, cada una correspondiente a un día distinto. Se consideraron tres estadios: Un periodo basal, el periodo de viaje, y un periodo de recuperación.	David, L. A., Materna, A. C., Friedman, J., Campos-Baptista, M. I., Blackburn, M. C., Perrotta, A., ... & Alm, E. J. (2014). Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. <i>Genome biology</i> , 15, 1-15.
Ranas	Datos del bacterioma y el micobioma de ranas en distintas fases de su desarrollo:	Colaboración con la Dra. Eria Rebollar

Datos	Descripción	Fuente
	renacuajos, metamorfos y sub-adultos. Los tres grupos fueron a su vez expuestos a tres tratamientos de temperatura, empezando por un tratamiento de 18 a 20°C, que corresponde al rango de temperatura al que están habituadas las ranas en su hábitat natural. También fueron expuestas a 25°C y a 29°C.	Caudillo y Carlos Alberto Hernandez Orta del Centro de Ciencias Genómicas de la Universidad Autónoma de México.
Ratones (Gibson et al., 2021)	Serie temporal de bacterioma humano inoculado en ratones expuestos a dos tratamientos con antibióticos y un tratamiento con dieta rica en grasas.	Gibson, T. E., Kim, Y., Acharya, S., Kaplan, D. E., DiBenedetto, N., Lavin, R., ... & Gerber, G. K. (2021). Microbial dynamics inference at ecosystem-scale. <i>bioRxiv</i> , 2021-12.

4.1.2 Inferencia de redes multiplex

Una vez separados los datos de abundancias a nivel de especies por estadios, se emplearon dos algoritmos diferentes para inferir las co-abundancias entre las especies. El algoritmo ARACNe (*Algorithm for the Reconstruction of Accurate Cellular Networks*) emplea un enfoque de teoría de la información para eliminar conexiones indirectas entre nodos (Margolin et al., 2006), mientras que el algoritmo SparCC (*Sparse Correlations for Compositional data*) asume que la mayoría de las conexiones entre nodos son nulas o muy débiles, empleando un umbral arbitrario para eliminar la mayoría, enfocándose en calcular las correlaciones más fuertes y penalizando aquellas conexiones indirectas (Kurtz et al., 2015). Para las redes generadas mediante el algoritmo SparCC, se empleó un umbral de 0.4.

Es importante recalcar que las conexiones de una red de abundancias no implican necesariamente la existencia de interacciones reales entre dichas poblaciones, ya que los algoritmos de inferencia están sujetos a sesgos derivados de la composición de los datos, el número de muestras, y el efecto de variables ambientales sobre las abundancias. Sin embargo, los algoritmos de inferencia sí pueden ser muy útiles para aproximar la estructura de comunidades microbianas, empleando para ello diversos métodos estadísticos (Matchado et al., 2021). Las redes de co-abundancia inferidas a partir de los datos previamente mencionados, fueron consideradas como capas dentro de las redes multicapa construidas posteriormente.

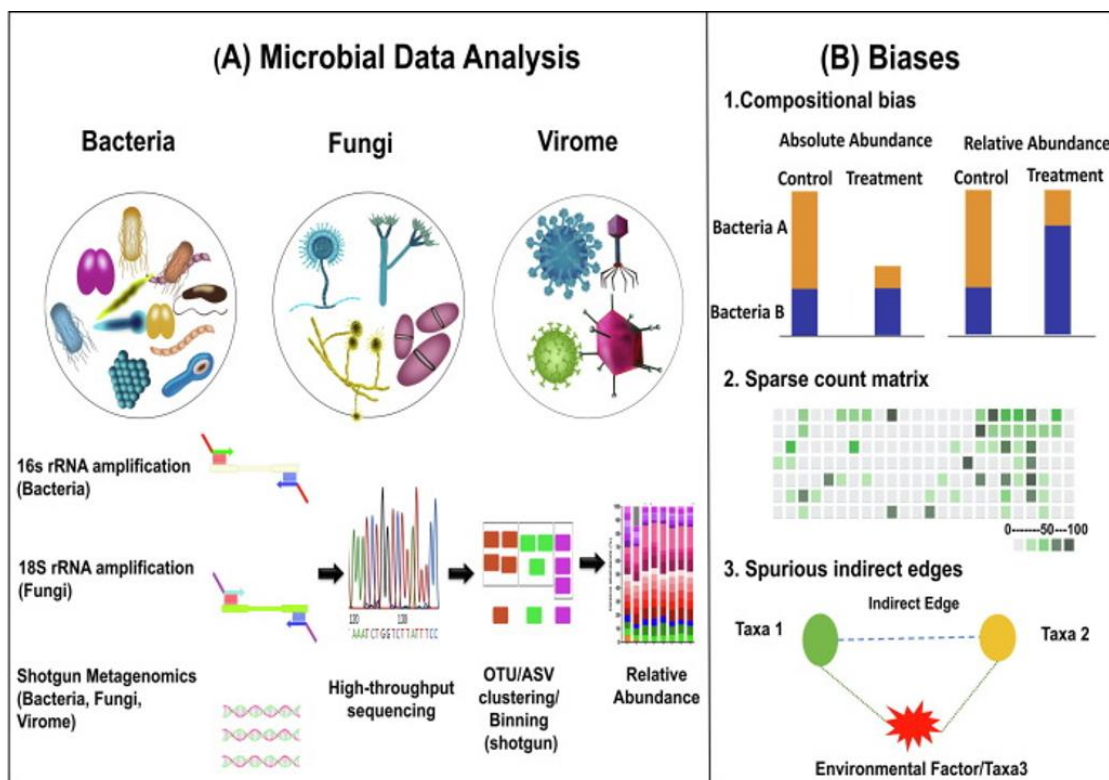


Figura 10: a) La secuenciación del material metagenómico presente en una muestra, mismo que puede ser de origen bacteriano, fúngico o viral, es amplificado y luego procesado mediante herramientas bioinformáticas para obtener sus abundancias, a partir de las cuales se procede a analizar la composición de las comunidades. **b)** La inferencia de redes de co-abundancia implica una serie de retos derivados de los sesgos que se pueden presentar al procesar los datos. Estos sesgos pueden derivarse de la deformación de las abundancias absolutas cuando estas son normalizadas, escasez de datos disponibles, o de factores ambientales que puedan afectar la dinámica de las poblaciones, provocando que los algoritmos interpreten erróneamente las co-abundancias (Matchado et al., 2021).

4.1.3 Análisis de redes multicapa

A partir de las redes inferidas mediante los algoritmos SparCC y ARACNe, se ensamblaron redes multicapa empleando el paquete muxViz de R (De Domenico, Porter, & Arenas, 2015). Los datos de David et al. (2014) (David et al., 2014) y Gibson et al. (2021) (Gibson et al., 2021), que correspondían a series temporales, se ensamblaron como redes temporales; mientras que el resto de los datos utilizados se emplearon para construir redes multiplex, dado que las capas podían ser separadas por estadios o tratamientos. En ambos casos, cada una de las capas estaba conformada por nodos réplica cuyas conexiones podían variar entre periodos, tratamientos o estadios.

Se cuantificó la importancia de la centralidad por grado, intermediación y cercanía de cada uno de los nodos, correspondientes a las especies presentes en las muestras. Debido a que tanto la centralidad por intermediación y cercanía no brindaron información suficiente sobre la estructura de las comunidades entre capas, solo se consideró la centralidad por grado para los subsecuentes análisis. Se cuantificó la relevancia por centralidad de cada uno de los *phyla*, así como el cambio relativo de su centralidad entre las capas. También se estimó si existían diferencias significativas en la distribución por *degree* entre capas.

Con el fin de comparar la estructura de las comunidades en términos de sus coabundancias, se cuantificaron diversas propiedades topológicas de las redes, realizando una regresión lineal de los valores de las métricas entre capas. Las métricas analizadas incluyeron la media y desviación estándar de la conectividad por *degree*, el coeficiente de agrupamiento o transitividad, la densidad de conexiones, la proporción de nodos conectados, y la modularidad de las redes. Con el fin de dilucidar si existía alguna correlación entre la abundancia de las especies y su centralidad dentro de las redes, se realizó una regresión lineal de ambos parámetros para cada una de las capas y se estimó la R-cuadrada para cada modelo.

Para conocer cómo se modificaban las subcomunidades entre las capas, se cuantificó el porcentaje de similitud entre los componentes de las capas. Igualmente, se estimaron las diferencias en el tamaño de los componentes entre capas. Se cuantificó una razón entre el número de nodos que presentaron diferencias significativas sobre la proporción que no presentó dichas diferencias, considerando un nivel de significancia superior al 5%, considerando únicamente las 30 especies más abundantes.

4.1.3.1 Paquete *mlBioNets*

Para realizar los análisis previamente mencionados, se ensamblaron un conjunto de funciones que fueron compiladas en el paquete de elaboración propia de R *mlBioNets*, disponible en GitHub: <https://github.com/Nertekkad/mlBioNets/tree/main>. Este paquete permite analizar datos de microbioma desde el enfoque de redes multicapa, aportando una variedad de funciones para la construcción de redes tipo multiplex y redes temporales, la visualización de las redes, integración de los datos y el análisis de sus propiedades topológicas.

El paquete admite objetos tipo *phyloseq* o tablas de abundancias en forma de *data.frames*, a partir de los cuales permite inferir redes de co-abundancia usando los algoritmos ARACNe, SparCC o SPIEC-EASI. Las redes ensambladas pueden ser visualizadas en 3D empleando el paquete de R *muxViz*. El paquete incluye un conjunto de funciones que permiten cuantificar distintas medidas de centralidad, cambios en la conectividad de la red, la importancia de los distintos taxones en términos de su centralidad, distintas propiedades topológicas de la red, además de distintas opciones de visualización de las redes inferidas.

T_collaspe: Esta función admite datos tipo *phyloseq* o *data.frames* con datos de abundancia y taxonómicos. Permite sumar las abundancias de los ASVs u OTUs que pertenezcan a un mismo grupo dentro del nivel taxonómico seleccionado, pudiendo colapsar las tablas de abundancias a nivel de especie, género, clase, familia o *phylum*.

net_inference: Permite inferir redes de co-abundancia a partir de los datos de abundancias muestrales mediante los algoritmos ARACNe, SparCC y SPIEC-EASI. En el caso del algoritmo SparCC, se le debe asignar un valor umbral arbitrario para descartar las conexiones más débiles.

v_colored: Asigna colores a los nodos en función de a qué grupo taxonómico de mayor orden pertenecen en una red monocapa. Por ejemplo, si los nodos se encuentran a nivel de género, esta función permite identificar y colorear a todos los nodos que pertenezcan a un mismo *phylum*.

v_colored_ml: Asigna colores a los nodos en función de a qué grupo taxonómico de mayor orden pertenecen en una red multicapa. Por ejemplo, si los nodos se encuentran a nivel de género, esta función permite identificar y colorear a todos los nodos que pertenezcan a un mismo *phylum*.

TaxGroup: Permite identificar a qué grupo taxonómico superior pertenece cada uno de los nodos de una red monocapa. Por ejemplo, si la red fue inferida a nivel de género, esta función permite identificar la familia, clase o *phylum* de cada nodo asociado a un género concreto.

TaxGroup_ml: Permite identificar a qué grupo taxonómico superior pertenece cada uno de los nodos de una red multicapa. Por ejemplo, si la red fue inferida a nivel de género, esta función permite identificar la familia, clase o *phylum* de cada nodo asociado a un género concreto.

abs_mat: Esta función permite construir una matriz que asocia a cada nodo un peso en función de su abundancia media a lo largo de las muestras, permitiendo ajustar el tamaño de los nodos a su abundancia relativa. La función incluye un parámetro que permite ajustar los valores de los pesos con el fin de mejorar la visualización del gráfico 3D.

node_color_mat: Esta función permite construir una matriz que asocia colores a los nodos de una red multicapa en función de su pertenencia a un grupo taxonómico o en función de su centralidad dentro de la red.

phyl_ctr_df: Construye una tabla que asigna a cada nodo replica los valores de centralidad asociados a cada una de las capas.

phyl_ctr_plot: Grafica la importancia de cada *phylum* a lo largo de las capas de la multired.

cor_degree_abs: Genera un gráfico que relaciona la conectividad de los nodos con su abundancia. Calcula la R-cuadrada de la regresión lineal y su *p-value*.

ctr_df: Devuelve un data.frame con valor de centralidad (si preproceso con ctr_ml o ctr_g: grado, intermediación o cercanía), *p_tax* y *g_tax* de cada nodo (la función toma esta información de *TaxGroup_ml()*).

ctr_g: Asigna un color a cada nodo en función de la centralidad de cada nodo de una red monocapa. La paleta de colores cálidos va desde el amarillo al rojo, siendo los nodos con tonos rojizos más intensos aquellos que poseen mayor centralidad. La centralidad puede ser estimada en función del número de conexiones de la red, su cercanía con otros nodos o por su intermediación entre dos conjuntos de nodos interconectados.

ctr_ml: Asigna un color a cada nodo en función de la centralidad de cada nodo de una red multicapa. La paleta de colores cálidos va desde el amarillo al rojo, siendo los nodos, con tonos rojizos más intensos aquellos que poseen mayor centralidad. La centralidad puede ser estimada en función del número de conexiones de la red, su cercanía con otros nodos o por su intermediación entre dos conjuntos de nodos interconectados.

diff_nodes_graph: Estima si existen o no diferencias significativas en las abundancias entre los nodos réplica con mayor abundancia relativa entre pares de capas de una red multiplex o de una red temporal.

g_abundance: Colorea los nodos de una red monocapa en función de su abundancia relativa en las muestras.

log2FC: Genera un gráfico que representa el cambio logarítmico de la centralidad entre pares de capas de una red multiplex o temporal.

ml_properties: Estima diferentes medidas topológicas de la red y realiza una regresión lineal que permite visualizar cómo cambian a lo largo de las capas. Las medidas topológicas incluyen la media de la centralidad, la desviación estándar de la centralidad, la densidad de conexiones, la transitividad de las redes, la modularidad y la proporción de nodos conectados. Para cada propiedad, la función calcula la R-cuadrada y el *p-value*.

net_plot: Permite visualizar las redes inferidas, extrayendo los colores asignados a los nodos por las funciones *v_colored()* y *ctr_g()*, que respectivamente asignan los colores en función del grupo taxonómico de los nodos y de su centralidad.

slope_R2: Devuelve un data.frame que describe la pendiente y la R-cuadrada de los modelos lineales del data.frame generado por *ml_properties()*.

4.1.4 Análisis de disbiosis

Se compararon las abundancias entre estadios empleando cuatro metodologías diferentes, y utilizando como control las condiciones basales en cada una de estas. Se empleó el método de nivel de variación de la comunidad, que cuantifica la distancia de Bray-Curtis y asigna una calificación a cada muestra con respecto a un control

asignado (Lloyd-Price et al., 2019). La puntuación basada en la distancia euclidiana (ED) de los centroides se calculó estimando la ED de cada una de las muestras al centroide control menos su distancia al centroide del estadio o tratamiento (AlShawaqfeh et al., 2017).

El índice basado en la diversidad combinada alfa y beta, por su parte, realiza una puntuación a partir de la diversidad de Shannon y la divergencia de Jensen-Shannon (JSD), estimando la diferencia media entre las muestras multiplicada por la JSD media entre la muestra de referencia con las demás (Santiago et al., 2019). Finalmente, también se usó la prueba de disbiosis imparcial lineal local basada en la nube o CLOUD, por sus siglas en inglés, es una prueba no-paramétrica que estima la distancia entre las muestras con respecto a una muestra de referencia (Montassier et al., 2018).

Tabla 2: Índices de disbiosis empleados para comparar las diferencias entre especies. Se utilizaron cuatro metodologías diferentes, cada una con un enfoque distinto con el fin de identificar diferencias entre los grupos muestrales empleando distintos fundamentos.

Método	Fundamento	Ejemplos de uso	Referencia
Índice CLV (Community Level Variation)	Pertenece a la familia de índices basados en la clasificación por vecindad. Se calcula empleando la distancia media de Bray-Curtis entre las muestras de referencia y las muestras de prueba.	Colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn.	Lloyd-Price, Jason, et al. "Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases." <i>Nature</i> 569.7758 (2019): 655-662 (Lloyd-Price et al., 2019).
Distancia euclidiana entre centroides	La disbiosis se calcula estimando la diferencia entre los grupos muestrales mediante la distancia euclidiana existente entre el conjunto de referencia, asociado a los individuos sanos, y el conjunto asociado a la enfermedad. En el estudio los datos de abundancias bacterianas se generaron a partir	Enteropatía inflamatoria canina.	AlShawaqfeh, M. K., et al. "A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy." <i>FEMS</i>

Método	Fundamento	Ejemplos de uso	Referencia
	de PCR cuantitativo en muestras de perros.		<i>microbiology ecology</i> 93.11 (2017): fix136 (AlShawaqfeh et al., 2017).
Índice Shannon-JSD	Este método combina la diversidad alfa y beta para estimar la diferencia entre conjuntos de muestras. La disbiosis se estima como la diferencia media de la diversidad de Shannon entre las muestras de referencia y las de prueba, multiplicado por la media de la divergencia de Jensen-Shannon entre los conjuntos de muestras de pacientes sanos (referencias) y enfermos (prueba).	Infección por <i>Clostridium difficile</i> .	Santiago, Marina, et al. "Microbiome predictors of dysbiosis and VRE decolonization in patients with recurrent <i>C. difficile</i> infections in a multi-center retrospective study." <i>AIMS microbiology</i> 5.1 (2019): 1 (Santiago et al., 2019).
Índice CLOUD	El método emplea abundancias normalizadas a partir de las cuales genera una matriz de distancias mediante un estadístico CLOUD. Se emplean las medias geométricas de proporciones por pares para normalizar las muestras. Una muestra se considera disbiótica si la distancia CLOUD entre las muestras de prueba y referencia es superior a las dos desviaciones estándar. El estadístico CLOUD es una prueba no-paramétrica que no toma en cuenta la distribución de las muestras, por lo que es más sensible a los valores atípicos.	Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado (SIBO).	Montassier, Emmanuel, et al. "CLOUD: a non-parametric detection test for microbiome outliers." <i>Microbiome</i> 6 (2018): 1-10 (Montassier et al., 2018).

4.2 Análisis comparativo de la composición de las comunidades

Se analizó la distribución de las poblaciones en las muestras y las diferencias en la composición de los grupos muestrales (Mohammadkarim Saeedghalati et al., 2017), así como la proporción de especies compartidas entre los distintos estadios y la riqueza total en cada grupo. Empleando las métricas de diversidad de Pielou, Simpson, Gini-Simpson y Shannon se estimaron las diferencias entre los distintos grupos muestrales correspondientes a los estadios de los datos utilizados mediante ANOVA.

Tabla 3: *Índices de diversidad utilizados durante los análisis y sus respectivos fundamentos.*

Índice	Ecuación	Descripción	Referencia
Shannon	H' $= - \sum_{i=1}^S p_i \ln(p_i)$	<p>(H') es el índice de diversidad de Shannon. (S) es el número total de especies. (p_i) es la proporción de individuos de la especie (i) en la comunidad. Valores altos de (H') indican una mayor diversidad en términos de la riqueza de especies y/o una distribución más equitativa de individuos entre las especies.</p>	Shannon y Weaver (1963).
Pielou	$J' = \frac{H'}{\ln(S)}$	<p>(J') es el índice de equitatividad de Pielou. (H') es el índice de diversidad de Shannon. (S) es la riqueza. Es una versión normalizada del índice de Shannon. Puede adoptar cualquier valor entre 0 y 1 y permite cuantificar la</p>	Pielou (1966).

Índice	Ecuación	Descripción	Referencia
Simpson	$D = \sum_{i=1}^s p_i^2$	<p>equidad entre el tamaño poblacional de las especies.</p> <p>(D) es el índice de Simpson. (S) es el número total de especies. (p_i) es la proporción de individuos de la especie (i) en la comunidad. Calcula la probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar de una muestra pertenezcan a la misma especie. Valores más altos indican una mayor dominancia de algunas especies sobre el resto.</p>	Simpson (1949).
Gini-Simpson	$GS = 1 - \sum_{i=1}^s p_i^2$	<p>(GS) es el índice de Gini-Simpson. (S) es el número total de especies. (p_i) es la proporción de individuos de la especie (i) en la comunidad. Se fundamenta en el índice de Simpson, pero en este caso valores más altos indican mayor diversidad. Puede adoptar cualquier valor entre 0 y 1.</p>	Simpson (1949).

Adicionalmente se realizó un análisis de escalamiento multidimensional empleando el paquete de R *RADanalysis* ([Mohammadkarim Saeedghalati, Farahpour, & Hoffmann,](#)

2016), así como la generación de curvas de Whittaker simples y log-log con el fin de visualizar las diferencias en la distribución de las abundancias entre los grupos muestrales de los datos analizados a lo largo del estudio.

4.2.1 Análisis de señales de alerta temprana

Para cuantificar los cambios a lo largo de las muestras ante la presencia de perturbaciones, se estimaron diversos índices de alerta temprana basándonos en la metodología desarrollada por O'Brien *et al.* (2023) (O'Brien *et al.*, 2023). Dichos análisis sólo pudieron realizarse en los datos de David *et al.* (2014) y de Gibson *et al.* (2021) (Gibson *et al.*, 2021), ya que, al tratarse de series temporales, permitieron identificar regiones en la secuencia de las muestras donde la dinámica del sistema cambiaba. Para simplificar la estimación de las señales de alerta temprana, se redujeron los datos a una dimensión calculando el índice de Pielou, el índice de Simpson y el índice de Gini-Simpson a lo largo de las muestras.

Empleamos la desviación estándar como indicador dado que según el estudio de Carpenter y Brock (2006), un incremento de la varianza o de la desviación estándar de las muestras se ha correlacionado con la presencia de transiciones, dado que al alejarse el sistema de su equilibrio sufre una ralentización crítica. El coeficiente de variación se calcula dividiendo la desviación estándar en un tiempo t sobre la desviación estándar media de toda la serie temporal (Carpenter & Brock, 2006). También empleamos la autocorrelación univariada, misma que representa la similitud entre sucesivas observaciones hechas a un sistema dinámico. Este valor tiende a incrementar al acercarse a una transición debido a la desaceleración crítica. El coeficiente de autocorrelación puede estimarse a partir de un modelo autorregresivo de primer orden o de una función de autocorrelación, según la metodología de Held y Kleinen (2004) (Held & Kleinen, 2004).

4.3 Modelaje *in silico* de comunidades microbianas

4.3.1 Modelo basado en interacciones

Usando el paquete *seqtime* de R, se generaron matrices de Klemm-Eguiluz (matrices de interacción) con distintas proporciones de interacciones positivas. Desde 0%, se incrementó el porcentaje de interacciones positivas de 10 en 10 hasta el 70%. Al incrementar la proporción de interacciones positivas más allá del 70%, el modelo se colapsa debido a la presencia de ciclos de retroalimentación positiva, por lo que valores superiores fueron descartados. Con cada una de las matrices generadas se realizaron 30 simulaciones, partiendo de condiciones iniciales aleatorias, usando el modelo Lotka-Volterra generalizado (LVg) (Faust *et al.*, 2018). Con esto se pretendió simular el comportamiento en función del tiempo de un conjunto de comunidades microbianas, compuestas cada una por un total de 50 especies distintas a lo largo de un periodo de 250 unidades temporales. Entre la unidad 100 y la 130 se introdujo una perturbación al sistema, producto de un cambio repentino y estocástico de los pesos de las tasas de éxito reproductivo, tras lo cual los valores originales se restablecieron.

Para agregar mayor realismo al modelo, se introdujo ruido blanco a las abundancias de las especies constituyentes, tomando en cuenta una desviación estándar de 0.05. Posteriormente, para cada unidad de tiempo en las simulaciones, se estimó la diversidad de Shannon, la dominancia de Simpson y el índice de equidad de Pielou.

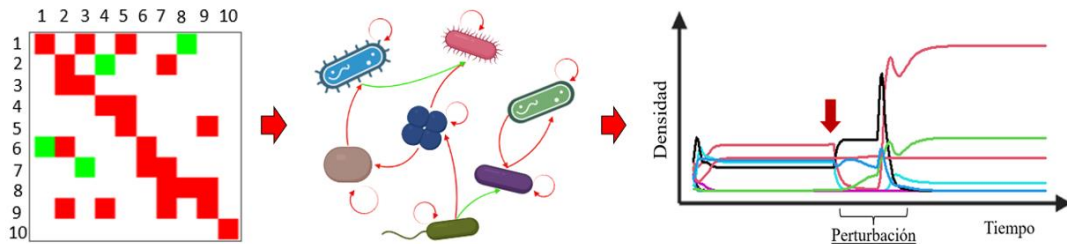


Figura 11: Representación de un modelo Lotka-Volterra generalizado. La matriz de Klemm-Eguiluz (interacciones positivas en verde, interacciones negativas en rojo, interacciones neutras en blanco) codifica el peso y valor de las interacciones entre una comunidad teórica de microorganismos. La solución del sistema de ecuaciones da como resultado la dinámica de las poblaciones en función del tiempo. Para analizar la respuesta del sistema a cambios abruptos en el entorno se introdujo una perturbación pulsada al modificar los valores del éxito reproductivo de las poblaciones temporalmente.

Para estimar el tiempo que le toma al sistema estabilizarse, se realizaron 30 simulaciones sin tomar en cuenta el ruido blanco ni las perturbaciones, tras lo cual se calculó la desviación estándar con las medidas de diversidad obtenidas de las 30 iteraciones del modelo. En función de ello, se descartaron las primeras 50 unidades en todos los modelos.

A partir de las tablas de abundancias depuradas, se realizó un modelo ajustado mediante modelos polinomiales, usando los datos de diversidad, dominancia y equidad. Para ello se emplearon únicamente los datos obtenidos de la mitad de los modelos, mismos que se usaron para entrenar dicho modelo. Posteriormente se contrastaron las predicciones del modelo con los datos de diversidad, equidad y dominancia de los modelos de prueba. A partir de esto, se estimó la R-cuadrada para los datos de entrenamiento y para los datos de prueba. Con el fin de encontrar el mejor modelo que equilibrara el poder predictivo sobre los datos de entrenamiento, y el poder explicativo sobre los datos de prueba, se utilizó el índice Akaike, estimando dicho valor en una $k = 8$.

Se replicaron los análisis descritos en el análisis de datos experimentales. Además, se estimó el impacto de las interacciones en la dinámica de las comunidades empleando diversas métricas de resiliencia, resistencia y recuperación (Van Meerbeek, Jucker, & Svenning, 2021).

Tabla 4: Métricas de resiliencia, resistencia y recuperación para el análisis de la respuesta de las comunidades microbianas a las perturbaciones.

Magnitud	Descripción	Fórmula
Resistencia: Diferencia entre el estado de referencia del sistema y su estado perturbado. Orwin & Wardle (2004).	Su valor fluctúa entre -1 y 1. Valores cercanos a 1 implican resistencia total, es decir, el sistema no cambia. Valores cercanos a 0 implican baja resistencia. Aquí S_R corresponde al estado de referencia del sistema, y S_X es el estado del sistema durante la perturbación en el momento $t_p + x$.	Rst $= 1 - \frac{2 * S_R - S_X }{S_R + S_R - S_X }$
Resiliencia: Tasa de recuperación del sistema tras una perturbación. Orwin & Wardle (2004).	Su valor puede fluctuar entre -1 y 1. Valores cercanos a 1 implican tasas de recuperación más aceleradas, mientras que valores cercanos a 0 indican que el sistema no se está recuperando. Aquí S_R representa el estado de referencia, mientras que S_X representa la desviación del sistema durante la perturbación. S_Y , por otro lado, es el valor del sistema después de un periodo de recuperación estandarizado.	Rsl $= \frac{2 * S_R - S_X }{ S_R - S_X + S_R - S_Y } - 1$
Recuperación: Diferencia entre el estado de referencia y el estado del sistema posterior a la perturbación. Oriens, (1974).	Su valor puede fluctuar entre -1 y 1. Valores cercanos a 1 indican que el sistema se ha recuperado en su totalidad, mientras que valores próximos a 0 implican que el sistema no se recuperó. La recuperación puede entenderse como la similitud entre el estado de referencia S_R y el estado recuperado S'_R .	rcv $= 1 - \frac{2 * S_R - S'_R }{S_R + S_R - S'_R }$

4.3.2 Modelo basado en consumo de recursos

Se utilizó un modelo de MacArthur de consumo de recursos modificado, basado en el paquete de R *miaSim* desarrollado por Gao et al. (2023) (Gao et al., 2023). El modelo describe las tasas de crecimiento de cada una de las especies x_i como una combinación lineal de los recursos consumidos por cada una. El modelo también contempla que cada una de las especies sea capaz de producir recursos, transformando aquellos que consume del medio.

Ecuación 11

$$\frac{dx_i}{dt} = x_i \left(r_i \sum_{\alpha=1}^k e_{i\alpha} f_{i\alpha} - \phi \right)$$

Donde r_i es la tasa máxima de crecimiento de la especie i . La densidad de cada población en el tiempo t está definida por x_i . El término $e_{i\alpha}$ representa el rendimiento del sustrato α en la especie i , mientras que $f_{i\alpha}$ limita la cantidad de sustrato que cada especie puede consumir por cada unidad de tiempo. El modelo también considera un parámetro ϕ que representa la constante de dilución de los recursos en el medio (Gao et al., 2023). El término $f_{i\alpha}$ se definió en función de la ecuación de Monod, misma que relaciona las tasas de crecimiento microbiano con la concentración de recursos limitantes en un ambiente acuoso donde se asume que la distribución del recurso en el medio es uniforme (Monod, 2012). Entonces definimos que $f_{i\alpha} = \frac{S_\alpha}{k_{i\alpha} + S_\alpha}$, donde $k_{i\alpha}$ es la constante de saturación del recurso α para la especie i , mientras que S_α es la concentración del recurso α en el tiempo t . La dinámica de los recursos se definió en función de:

Ecuación 12

$$\frac{dS_\alpha}{dt} = \phi(S_{\alpha 0} - S_\alpha) - \sum_{i=1}^n e_{i\alpha} f_{i\alpha} x_i + \sum_{i=1}^n p_{i\alpha} x_i \left(\sum_{\alpha=1}^k e_{i\alpha} f_{i\alpha} \right)$$

Donde ϕ corresponde al término de dilución, $S_{\alpha 0}$ es la concentración saturada del sustrato α por unidad de volumen del medio, por lo que entre mayor sea la concentración del sustrato S_α , menor será el efecto de la dilución en el medio. Por su parte, $p_{i\alpha}$ se define como el rendimiento de la producción de un recurso α dependiente de la densidad poblacional de x_i (Gao et al., 2023).

Para simular la incorporación, transformación y secreción de recursos en el medio se construyeron matrices estequiométricas definidas como E mediante la función *randomE()* del paquete. Se introdujo el número de especies y el número de recursos para los modelos. La matriz E , cuyo número de filas corresponde al número de especies y las columnas a los recursos presentes, permite que las especies puedan consumir, producir o simplemente ser indiferentes a la presencia de un recurso. Los signos permiten codificar estos cambios en la concentración de los recursos, dado que valores positivos corresponden a la producción de sustratos y los valores negativos a su consumo, mientras que los valores neutros indican que la presencia o ausencia del sustrato no afecta a la población en cuestión.

Al variar los parámetros de estos, se identificó que no existían diferencias significativas en términos de la diversidad de Pielou al iterar los modelos, al menos en poblaciones superiores a entre 10 y 15 especies. Debido a ello, se decidió realizar el resto de los análisis ajustando el número de especies a 50 y el número de recursos a 30, y se iteró

el modelo 100 veces por 1000 unidades temporales. Para cada iteración, las condiciones iniciales de densidad poblacional de las especies y las abundancias de los recursos se dispusieron de forma aleatoria. Para agregar mayor realismo al modelo, se consideró un término adicional que introducía ruido browniano al sistema con una desviación estándar de 0.001 con respecto a la media para cada paso de tiempo.

Se contemplaron un total de diez mil unidades temporales, y se utilizó la desviación estándar de las abundancias para estimar el punto en el cual se estabilizan los valores de diversidad de los modelos, a partir de lo cual se eliminaron las primeras veinte mil unidades temporales (Fig. S1). Posteriormente, se introdujeron perturbaciones entre las 50,000 y 60,000 unidades temporales, incrementando la desviación estándar del ruido a 0.05 para así alterar temporalmente la dinámica de las poblaciones y de los recursos. Se realizaron un total de cincuenta iteraciones del modelo a partir de las cuales fue posible replicar los análisis previamente realizados sobre los datos experimentales y el modelo LVg.

5. Resultados

5.1 Cambios topológicos en la estructura de las comunidades a nivel de las co-abundancias

Los modelos de redes generados mediante los algoritmos SparCC y ARACNe fueron consistentes al mostrar a los *phyla* más abundantes como aquellos con mayor conectividad, sin embargo, hubo disparidades importantes en los *phyla* de menor abundancia derivados de las diferencias entre ambos métodos de inferencia. Los resultados mostraron algunos cambios en la importancia por centralidad de algunos *phyla* entre tratamientos y estadios.

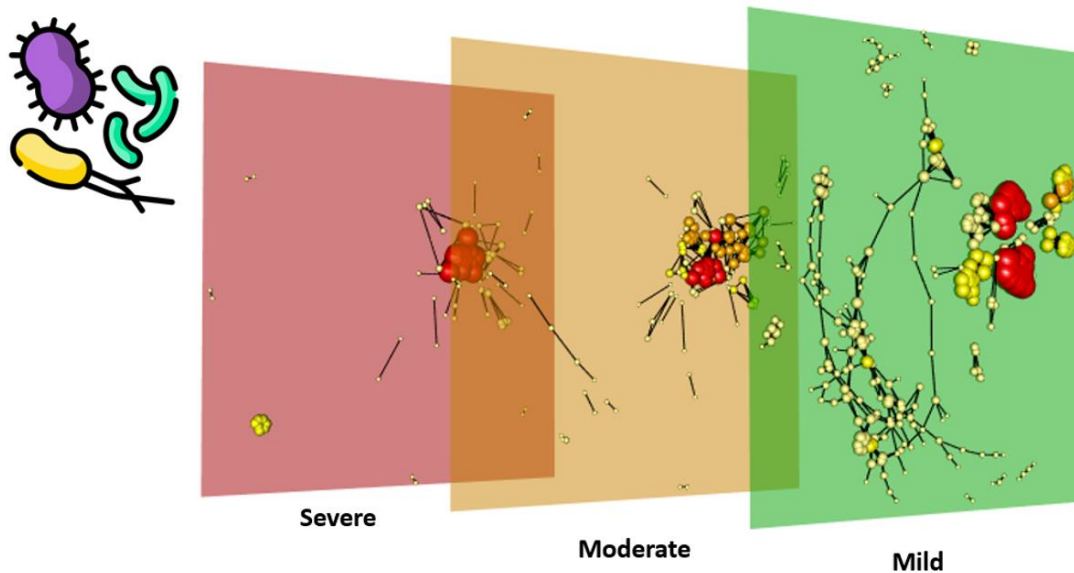


Figura 12: Red multiplex inferida a partir del algoritmo ARACNe del bacterioma de pacientes con bronquiectasia a lo largo tres estadios diferentes de desarrollo de la enfermedad: leve, moderado y severo (Narayana et al., 2020). Cada uno de los nodos representa un género distinto cuyo tamaño es proporcional a su abundancia dentro de las muestras. El color de cada nodo corresponde a su centralidad por grado dentro de la red, siendo los todos más próximos al rojo aquellos con mayor índice de centralidad. Las diferencias entre las capas de la red multiplex implican alteraciones en las co-abundancias que se corresponden a cambios estructurales a nivel de las comunidades bacterianas.

Para el caso concreto del bacterioma de las ranas, Proteobacteria se mantuvo como el *phylum* con mayor centralidad en las redes inferidas con ambos algoritmos a lo largo de todos los tratamientos, sin embargo, Bacteriodota perdió relevancia en detrimento de Firmicutes y Actinobacteriota en las redes ARACNe correspondientes a los renacuajos (Fig. S2). En contraste, en las redes SparCC Bacteriodota se mantiene como el *phylum* preponderante, prespues de Proteobacteria, y seguido en todos los tratamientos por Firmicutes y Actinobacteriota (Fig. S3, Fig. S4). El análisis basado en el cambio logarítmico reveló cambios estructurales entre las capas, mostrando que en proporción los mayores cambios en la centralidad ocurren a nivel de los *phyla* menos abundantes. Con respecto a los controles o estadios asociados a la normobiosis, algunos *phyla* adquieren mayor importancia en términos de su centralidad por grado en detrimento de otros, implicando cambios estructurales dentro de la estructura de la red.

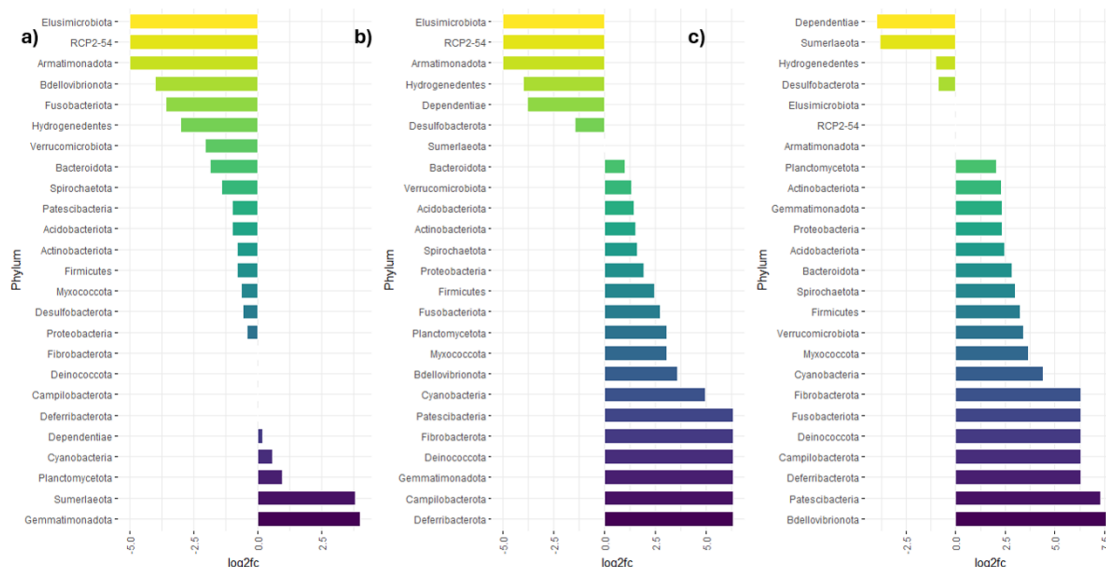


Figura 13: Análisis de cambio logarítmico de centralidad por grado entre capas de la red ARACNe múltiple de renacuajos a nivel del phylum bacteriano. **a)** Comparación entre el tratamiento 1 vs. control. **b)** Comparación entre el tratamiento 2 vs. control. **c)** Comparación entre el tratamiento 2 vs. el tratamiento 1. La gráfica muestra una pérdida inicial de conectividad, pero un aumento a medida que incrementa la temperatura en el tratamiento 2.

En general, durante los estadios asociados a disbiosis fue posible identificar subcomunidades de nodos que concentran la mayor parte de la conectividad de la red. Al analizar la composición de dichas subcomunidades fue posible identificar que algunas de estas fueron más resistentes a los efectos de las perturbaciones ambientales que otras. Por ejemplo, en los datos de secuenciación del bacterioma de las ranas, la similitud entre las sub-comunidades encontradas en los renacuajos fue notablemente menor que en los metamorfos y sub-adultos, lo que arrojó indicios de que las comunidades encontradas en los primeros eran más susceptibles a los efectos del incremento de la temperatura con respecto a los estadios más avanzados de desarrollo (S2).

Al comparar la riqueza de los grupos muestrales correspondientes a cada uno de los tratamientos y estadios, fue posible identificar que las mayores diferencias se dan entre el control y el tratamiento 2 en los renacuajos, sustentando aún más la idea de que el bacterioma de los mismos es más susceptible a los efectos del incremento de la temperatura. Si bien, las medidas topológicas discrepaban en los valores obtenidos en las redes SparCC y ARACNe, los resultados se mantuvieron consistentes al señalar que existían cambios estructurales notables en términos de las co-abundancias en los renacuajos y los metamorfos, sin embargo, dichas métricas fueron muy similares entre tratamientos en el caso de los sub-adultos, reforzando la idea de que dichas comunidades bacterianas eran más resistentes que las otras dos, diferenciándose especialmente del bacterioma de los renacuajos. Sin embargo, no se encontró una

correlación directa entre la abundancia muestral de los géneros y su conectividad, aunque sí fue posible detectar que los valores de centralidad por grado mostraron una mayor dispersión en el control de los renacuajos en contraste con las otras dos capas (Fig. S5). En el resto de los estadios, no se hallaron diferencias significativas entre los grupos en las redes SparCC, pero sí en las redes inferidas con ARACNe.

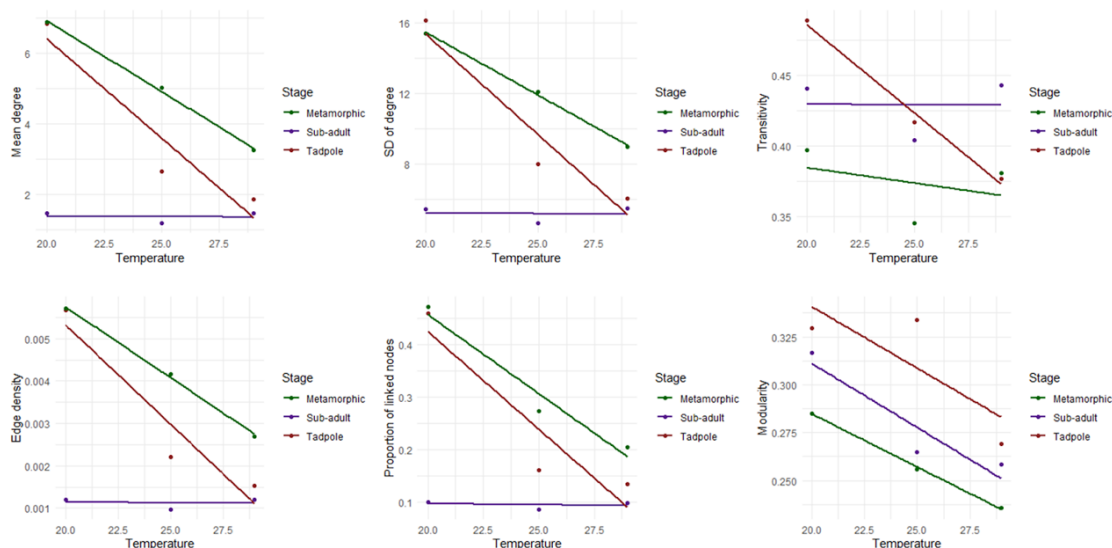


Figura 14: Cuantificación de las propiedades de la red SparCC (grado medio, desviación estándar de centralidad, transitividad, densidad de bordes, proporción de nodos vinculados y modularidad) entre tratamientos de temperatura (control = 20, tratamiento 1 = 25, tratamiento 2 = 29) para especies bacterianas. Los subadultos mostraron mayor estabilidad entre tratamientos. Los renacuajos y metamórficos mostraron una tendencia a la disminución en todos los parámetros medidos.

Tabla 5: Cuantificación de las propiedades de la red SparCC (grado medio, transitividad, densidad de bordes, número de bordes, proporción de nodos enlazados y modularidad) entre tratamientos de temperatura (control = 20°C, tratamiento 1 = 25°C, tratamiento 2 = 29°C) para especies bacterianas.

Treatments	Mean_degree	sd_degree	Clusterization	Edge_density	Connected_nodes	Modularity	Stage
20	6.829875	16.109368	0.4887468	0.0056727	0.4597510	0.3296008	Tadpole
25	2.647303	8.010536	0.4166566	0.0021988	0.1609959	0.3336795	Tadpole
29	1.852282	6.062911	0.3765598	0.0015384	0.1344398	0.2692331	Tadpole
20	6.878008	15.399418	0.3970667	0.0057126	0.4721992	0.2851912	Metamorphic
25	5.012448	12.077436	0.3451885	0.0041632	0.2738589	0.2560540	Metamorphic
29	3.251452	8.989880	0.3806042	0.0027005	0.2058091	0.2356019	Metamorphic
20	1.453942	5.442595	0.4407021	0.0012076	0.1012448	0.3167320	Sub-adult
25	1.175104	4.645762	0.4039033	0.0009760	0.0871369	0.2648694	Sub-adult
29	1.452282	5.471802	0.4431596	0.0012062	0.0987552	0.2582550	Sub-adult

considerando los tratamientos, los periodos de recuperación y el estado inicial o basal.

El análisis de redes realizado sobre los pacientes con bronquiectasia mostró una mayor susceptibilidad del bacterioma al progreso de la enfermedad en contraste con el fungoma. Estas diferencias fueron especialmente notables entre el control y el estado severo en términos de la conectividad y las métricas topológicas en las redes inferidas con ambos algoritmos. En general, a medida que progresaba el padecimiento, la estructura de la red pasó de tener una distribución más uniforme de la conectividad a concentrar la casi totalidad de las conexiones en unos pocos nodos, lo que corresponde con un incremento de la dominancia en el bacterioma de los pacientes en estado severo que también se vio reflejado en las métricas de diversidad. Por su parte, el fungoma no mostró diferencias significativas en la distribución de la conectividad por grado ni en las métricas de diversidad.

En los datos de David *et al.* (2014) ([David et al., 2014](#)) se observaron cambios estructurales a nivel de la topología de las redes generadas mediante ambos algoritmos durante los periodos correspondientes a la perturbación, siendo estos un episodio de diarrea y una infección por salmonella. En el segundo caso el proceso infeccioso tuvo efectos a largo plazo en la estructura de la comunidad, dado que la comunidad no se recuperó del todo en términos de la topología de la red y las métricas de diversidad. En cambio, el estado recuperado y el estado basal no mostraron diferencias significativas en términos de la diversidad y la conectividad de las redes, así como una mayor similitud en las métricas de topología, lo que, aunado a las métricas de resiliencia y recuperación, indican que la comunidad pudo retomar su dinámica previa al episodio de diarrea en contraste con lo sucedido con el segundo caso de infección por salmonela.

Por su parte, tras analizar los datos de abundancias obtenidos por Sharma *et al.* (2022) ([Sharma et al., 2022](#)) sobre el bacterioma y fungoma de poblaciones de chimpancés en cautiverio y vida libre, así como de seres humanos con un régimen de vida de cazadores-recolectores, agricultores y en un entorno urbano, se pudieron hallar diferencias topológicas en las redes inferidas para cada una de dichas condiciones. Las redes de los chimpancés en cautiverio mostraron un notable incremento en la centralidad con respecto a la red de los chimpancés en vida libre en determinados nodos, reflejando que en tales condiciones un número reducido de poblaciones acapara la casi totalidad de las conexiones. Un fenómeno muy similar se observó al analizar los datos de cazadores-recolectores y agricultores con los de individuos en entornos urbanos, donde estos últimos presentaron un número reducido de nodos con respecto al total, pero altamente interconectados entre sí. Estos resultados parecen correlacionarse con una menor diversidad microbiana, tanto con los humanos en entorno urbano como en los chimpancés en cautiverio, según lo reportado por Sharma *et al.* (2022).

5.2 Diferencias en la composición de las comunidades

Los resultados mostraron que la forma en cómo impactan las perturbaciones a las comunidades en cada uno de los casos analizados, no implica lo mismo al usar distintos índices de diversidad, ya que algunas perturbaciones mostraron valores significativos con algunas métricas, pero no en otras. Dado que el índice de Pielou es una versión normalizada del de Shannon, y que el índice de Gini-Simpson variaba de forma idéntica que el índice de dominancia de Simpson, solo se consideraron los índices de Pielou y Simpson para los análisis ANOVA.

Las métricas de diversidad sobre las muestras de las ranas revelaron diferencias significativas entre tratamientos en los datos obtenidos de los renacuajos entre el tratamiento 2, correspondiente a la temperatura más alta de 29°C, con respecto al tratamiento 1 de 25°C y el control, donde el incremento de la dominancia fue notable. En contraste, no hubo diferencias significativas en el resto de las muestras de los otros dos estadios. Por su parte, no se identificaron diferencias significativas en el caso del fungoma. El análisis multidimensional tampoco reveló diferencias notables entre los tratamientos sobre los datos del fungoma, pero sí para el caso del bacterioma.

En términos de la diversidad, tanto en los índices de Pielou como de Simpson, se hallaron diferencias significativas entre el estado severo y los estados moderado y leve de los datos de pacientes con bronquiectasia, extraídos del estudio de Narayana *et al.* (2020) ([Narayana et al., 2020](#)). El análisis multidimensional tampoco reveló diferencias notables entre el estado moderado y leve, pero sí con el estado severo de la enfermedad, lo que sugiere que este último supone mayores cambios en términos de la composición y estructura del bacterioma que los estados menos graves de la enfermedad. Los resultados también revelaron que no existían diferencias significativas en términos de la diversidad ni en el análisis multidimensional en los datos del fungoma. El análisis de escalamiento multidimensional (MDS) reveló diferencias notables entre la condición severa con respecto a las otras dos, reforzando los resultados arrojados por el ANOVA.

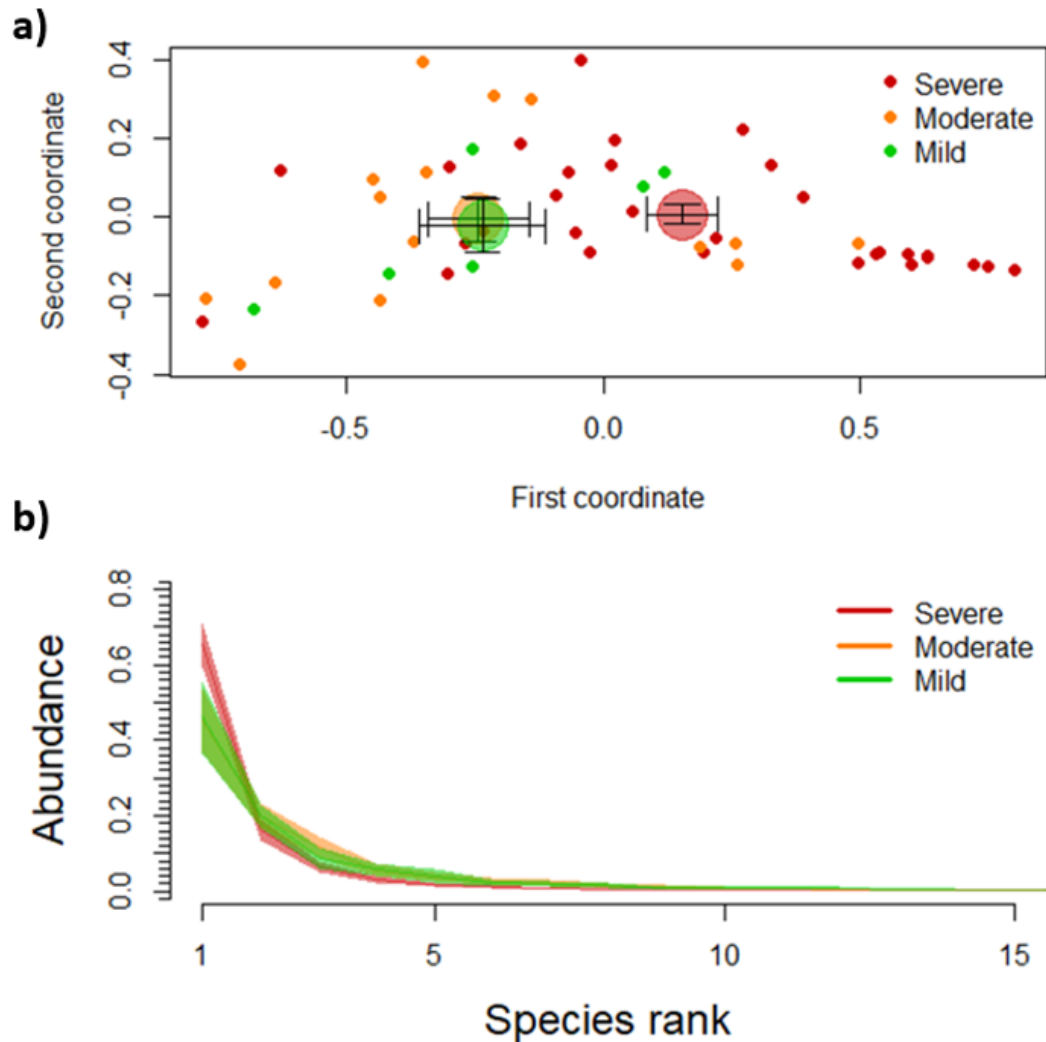


Figura 16: **a)** Análisis de escalamiento multidimensional de las muestras del bacterioma pulmonar de pacientes con bronquiectasia obtenidos del estudio de Narayana et al. (2020) (Narayana et al., 2020). **b)** Curva de Whittaker representando la distribución de las abundancias en las muestras. Las muestras correspondientes al estado severo de la enfermedad (rojo) se diferencian notablemente de las del estado leve (verde) y moderado (naranja) que, a su vez, no presentaron diferencias notables entre sí.

En los datos de Sharma et al. (2022) (Sharma et al., 2022) los resultados no arrojaron diferencia significativa entre los individuos cazadores-recolectores y los agricultores al cuantificar los índices de diversidad, pero sí se encontraron diferencias significativas al comparar ambos grupos con los individuos provenientes del ambiente urbano. Para el caso de los chimpancés, se encontraron igualmente diferencias significativas en términos de diversidad y composición de las comunidades entre los especímenes criados en cautiverio con respecto a los de vida libre con los valores de diversidad de Pielou. El gráfico MDS también mostró diferencias entre las poblaciones

de humanos en vida urbana con aquellos en entorno rural y de cazadores recolectores, y lo mismo ocurrió al comparar a las dos poblaciones de chimpancés.

Los análisis realizados sobre los datos de David *et al.* (2014) (David *et al.*, 2014) revelaron diferencias significativas entre el estado basal y el estado perturbado del bacterioma del paciente con salmonelosis, pero no sucedió así con el paciente con diarrea. Solo el método basado en la distancia entre centroides pudo identificar diferencias entre el estado basal y el perturbado, pero no entre el basal y el estado post-perturbado en el paciente con diarrea, mientras que sí se identificaron diferencias mediante dicho método entre el estado basal y los estados perturbado y post-perturbado en el paciente con salmonelosis. Al cuantificar la recuperación en ambos casos, el individuo con diarrea mostró que se conservaron al rededor del 20.3% de los taxones, mientras que en el individuo con diarrea se conservó hasta el 78.9% de la diversidad, lo que implica una mayor capacidad de recuperación tras la perturbación en el primer caso, mientras que al cuantificar la resistencia se obtuvieron valores de 86% y 61% respectivamente, lo que indica que la perturbación en el paciente con salmonelosis fue de mayor magnitud e implicó un mayor cambio en la composición del bacterioma en contraste con el paciente con diarrea. Paradójicamente, al analizar los datos mediante el escalamiento multidimensional, las diferencias entre los grupos no parecen ser evidentes.

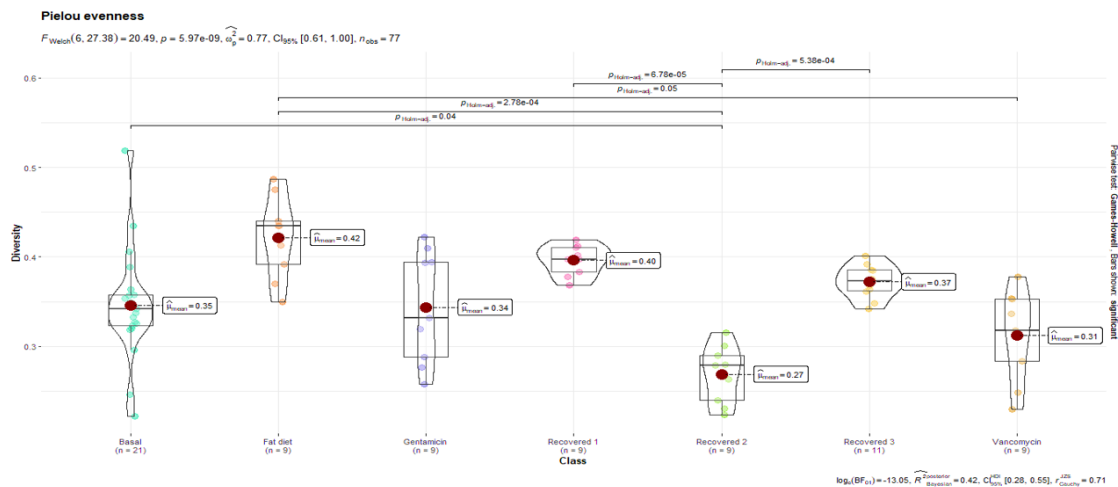


Figura 17: Comparación de los valores de la diversidad de Shannon para las muestras correspondientes a los tratamientos y periodos de recuperación de la serie temporal publicada por Gibson *et al.* (2021) (Gibson *et al.*, 2021). Las muestras se dividen en un periodo basal, un tratamiento con una dieta rica en grasas, dos tratamientos con antibióticos (vancomicina y gentamicina) y sus respectivos periodos de recuperación.

Al analizar bajo la misma óptica los datos de Gibson *et al.* (2021) (Gibson *et al.*, 2021) se identificaron diferencias significativas en los valores arrojados por los índices de diversidad entre el estado basal y el resto de estados de la serie temporal. Se estima que entre el periodo basal y el resto de los estadios se perdieron alrededor del 35.11% de los ASVs bacterianos. Entre el estado basal y el primer periodo de recuperación

únicamente se conservaron el 22.9% de los ASVs originales, implicando cambios importantes en la composición de las comunidades microbianas durante el periodo correspondiente a la dieta rica en grasas. Del mismo modo, también se encontraron diferencias significativas entre el primer periodo de recuperación y entre el primer periodo de recuperación y el tratamiento con gentamicina, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el segundo y el tercer periodo de recuperación y el tratamiento con vancomicina. El análisis multidimensional reveló diferencias entre el estado basal con respecto al resto de estados, así como entre los periodos subsecuentes de la serie temporal exceptuando el segundo periodo de recuperación y el tratamiento con vancomicina (Fig. S7).

Tabla 6: Resultados del estadístico ANOVA para los valores de diversidad entre estadios de tratamiento y periodos de recuperación de los datos de ratones inoculados con microbiota humana extraídos del estudio de Gibson et al. (2021) (Gibson et al., 2021). Solo se consideraron los índices de Pielou y Simpson, que son análogos a Shannon y Gini-Simpson, respectivamente, y presentaban la misma variación entre las muestras.

Índice	F de Welch	p-value ajustado	Omega cuadrado parcial	Número de observaciones
Simpson	11.08	3.11e-06	0.64	77
Pielou	20.49	5.97e-09	0.77	77

5.3 Métricas de disbiosis: cambios en la composición y estructura de las comunidades microbianas

Los resultados arrojados por las distintas métricas de disbiosis mostraron un panorama diverso donde, dependiendo del enfoque utilizado para cuantificar la disbiosis, algunas métricas resultaban más sensibles en algunos casos en contraste a otros. Esto parece indicar que la disbiosis es diversa en cuanto a cómo altera la composición de las comunidades, por lo que el uso de múltiples métricas para su medición es de suma utilidad para comprender sus implicaciones.

Para los datos de las ranas, se compararon los tres tratamientos a distintas temperaturas y en distintos estadios de desarrollo. En los datos de los renacuajos, el método CLV y la distancia entre centroides revelaron diferencias notables entre el control de 18-20°C y el tratamiento de 29°C, aunque no fue así con el resto de los métodos empleados. Para los metamorfos y sub-adultos, solo el método basado en la distancia euclidiana entre centroides identificó diferencias entre los tratamientos, mientras el resto no reveló diferencias en el bacterioma de las ranas. Las diferencias entre el control y el tratamiento 1, por su parte, solo fueron identificadas con el método

basado en centroides. Por su parte, en el caso del fungoma solo pudieron identificarse diferencias mediante el método basado en centroides y con el método CLOUD para los datos de los renacuajos y metamorfos, pero no para los sub-adultos. De los cuatro métodos utilizados, el AUC fue mayor en el método basado en centroides tanto en los datos del bacterioma como del fungoma.

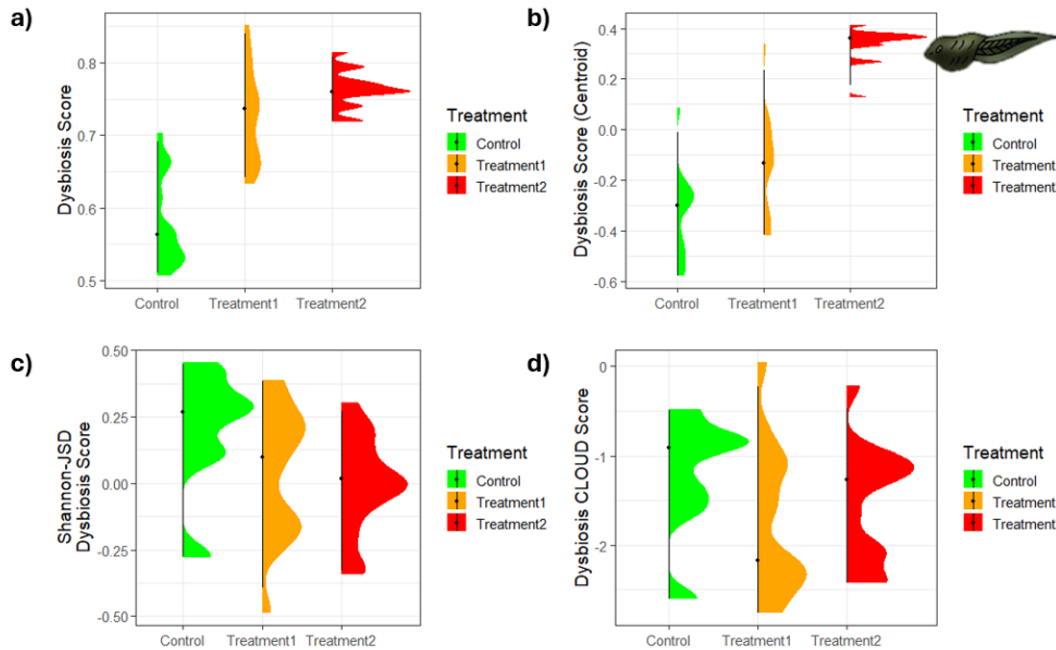


Figura 18: Análisis de disbiosis del efecto de los tratamientos por temperatura (Control: 18-20°C, tratamiento 1: 25°C, tratamiento 2: 29°C) en las comunidades bacterianas de renacuajos. Las diferencias entre las abundancias encontradas en el tratamiento y la condición control se midieron utilizando diferentes métodos: **a)** variación a nivel de comunidad (CLV), **b)** distancia euclidiana de centroides, **c)** puntaje combinado basado en diversidad alfa-beta, **d)** y disbiosis lineal imparcial local (CLOUD).

En los datos de Narayana et al. (2020) (Narayana et al., 2020) se hallaron diferencias entre las muestras del bacterioma entre el estado severo y el resto de condiciones usando el método de centroides y el puntaje basado en el índice Shannon-JSD, pero no se encontraron diferencias entre el estado leve y moderado, exceptuando el caso del método CLOUD, dado que los valores superaron las dos desviaciones estándar, lo que podría indicar la existencia de alteraciones puntuales en algunas poblaciones, más no un cambio generalizado en el resto de la comunidad. Del mismo modo, los resultados arrojaron que las comunidades micobianas no sufrieron cambios importantes en su composición, indicando que podrían ser más resistentes a los cambios derivados del proceso infeccioso que las comunidades bacterianas.

El análisis hecho sobre los datos de Sharma et al. (2022) (Sharma et al., 2022) reveló diferencias notables entre las poblaciones del entorno urbano con respecto a las

poblaciones de cazadores-recolectores y granjeros, que no mostraron diferencias entre sí. Tanto los índices de Shannon-JSD, el CLV y la distancia entre centroides mostraron diferencias, aunque para el caso de los datos de chimpancés, únicamente el índice basado en centroides reveló diferencias entre las poblaciones de vida libre y en cautiverio.

Por su parte, para los datos de David *et al.* (2014) (David *et al.*, 2014) ninguna de las métricas utilizadas halló evidencia de diferencias notables entre los estadios del paciente que sufrió el episodio de diarrea, mientras que sí se encontraron diferencias con los métodos CLV y de diferencia entre centroides entre el estado basal con respecto a los otros dos estados. Esto indica que el paciente con salmonelosis no solo sufrió una perturbación de mayor magnitud que el sujeto con el episodio de diarrea, sino que el sistema no logró recuperarse una vez ocurrido el evento.

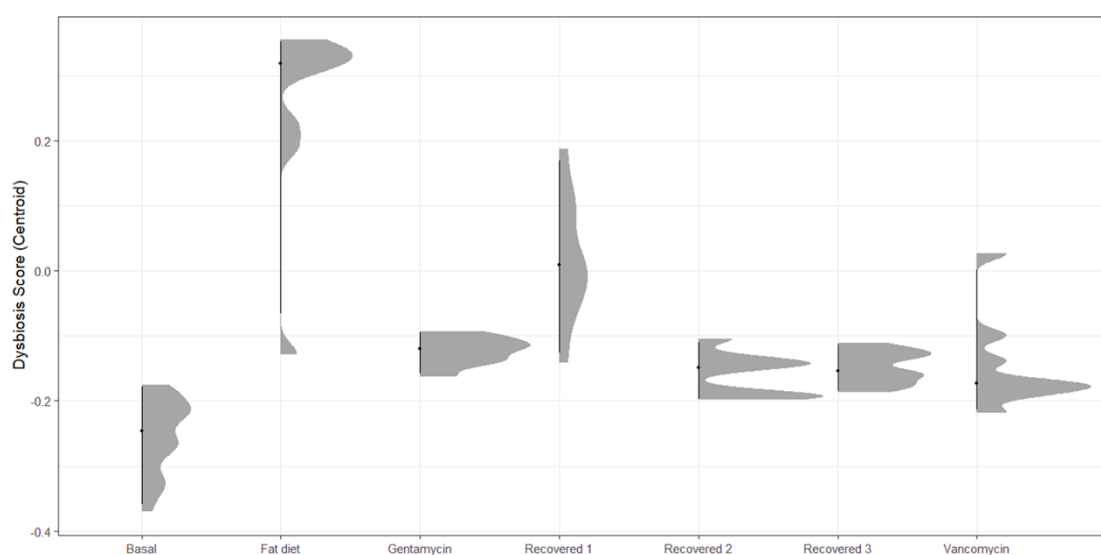


Figura 19: Análisis de disbiosis mediante el método de distancias entre centroides de los datos de Gibson *et al.* (2021) (Gibson *et al.*, 2021) separados por periodos de tratamientos y recuperación. Tras la perturbación con la dieta rica en grasas, el sistema no se recupera y cambia su composición con respecto al estado basal.

El método CLV basado en la distancia de Bray-Curtis identificó diferencias entre el periodo basal y el resto de los estados de la serie temporal de Gibson *et al.* (2021) (Gibson *et al.*, 2021), reforzando la idea de que, tras la primera perturbación derivada de una dieta rica en grasas, las comunidades bacterianas no recuperaron la composición que estas tenían antes de la perturbación. Del mismo modo, se identificaron diferencias entre el primer periodo de recuperación y el periodo con tratamiento de gentamicina, pero no entre este último con el resto de periodos, coincidiendo con el análisis previo. El método de distancia entre centroides identificó igualmente diferencias sustanciales entre el periodo basal y los datos correspondientes a la dieta rica en grasas, así como entre este último y los estados posteriores. Del mismo modo, hubo diferencias entre el tratamiento con gentamicina

y el resto de los tratamientos, pero no entre el tratamiento con vancomicina y el segundo y tercer periodo de recuperación. Por su parte, el método Shannon-JSD solo identificó entre el estado basal, el primer periodo de recuperación y el tratamiento con vancomicina con respecto al resto de estados, contrastando con los resultados de los dos métodos anteriormente mencionados, mientras que el método CLOUD no identificó diferencias entre los tratamientos.

5.4 Alteraciones de la dinámica de las series temporales

Los cambios en las secuencias de muestras sólo pudieron verse en los datos extraídos de David *et al.* (David *et al.*, 2014) y Gibson *et al.* (2021) (Gibson *et al.*, 2021), dado que en ambos casos se trataba de series temporales. Las métricas de alerta temprana no sólo adoptaron valores significativos durante las perturbaciones, sino también al inicio de algunos de los periodos de recuperación, lo que podría deberse a que el sistema intenta volver a la dinámica previa al evento.

Los resultados del análisis de señales de alerta temprana aplicados sobre los datos de David *et al.* (David *et al.*, 2014) mostraron valores significativos en el índice de oblicuidad durante el primer episodio de diarrea entre las muestras 104 a la 114, aunque ninguno de los otros índices mostró valores significativos en este episodio. Por su parte, el índice de autocorrelación univariada, el índice combinado de autocorrelación univariada y desviación estándar de la diversidad, y el índice combinado de desviación estándar y oblicuidad mostraron valores significativos entre las muestras 140 a la 155, que corresponden a un segundo episodio de diarrea más prolongado y severo que el primero, lo que parece respaldarse con el análisis realizado sobre la serie temporal (R6). En el paciente con salmonelosis todos los índices empleados obtuvieron valores significativos durante el periodo de la infección.

Algunos índices de alerta temprana mostraron valores significativos únicamente durante los periodos delimitados en el estudio como correspondientes a una perturbación, en este caso dos procesos infecciosos distintos, lo que indica su potencial como indicadores de cambios en la dinámica de un sistema como la microbiota.

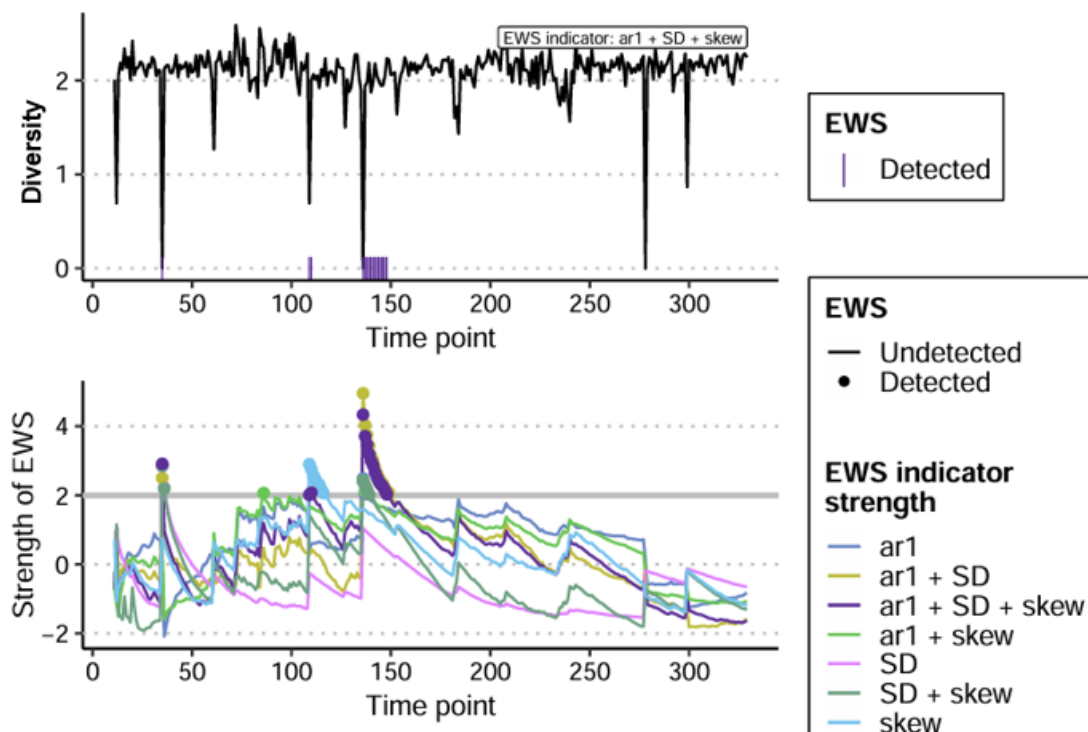


Figura 20: Análisis de la serie temporal de un paciente con diarrea (David et al., 2014) empleando índices para la autocorrelación univariada de la diversidad ($ar1$), la desviación estándar de los datos (SD) y la oblicuidad ($skew$), así como índices combinados de estos tres. Algunos de los índices muestran valores significativos sobre dos desviaciones estándar en las muestras correspondientes a los dos periodos de diarrea previamente reportados por David et al. (2014).

Por su parte, al analizar el número de ASVs a lo largo de la serie temporal de Gibson et al. (2021) (Gibson et al., 2021) se encontraron diferencias significativas en los tres tratamientos con respecto al resto de estadios. Todos los periodos donde los ratones fueron expuestos a alguno de los tratamientos mostraron una abundancia relativa menor a la del periodo basal y los periodos de recuperación. Es importante destacar que el periodo basal y el tercer periodo de recuperación fueron los que mostraron mayor riqueza en contraste con los dos periodos de recuperación entre tratamientos, siendo el tercero más prolongado que los dos primeros.

Tras evaluar la serie temporal mediante los índices de alerta temprana se obtuvieron valores significativos en la autocorrelación univariada y el índice combinado de autocorrelación univariada y desviación estándar de la diversidad durante el periodo asociado a la dieta rica en grasas, mientras que durante el tratamiento con gentamicina el índice triple combinado, el de oblicuidad y el de la desviación estándar obtuvieron valores significativos. Los mismos índices obtuvieron valores significativos a principios del primer periodo de recuperación, lo que pudo ser derivado del cambio de una dieta rica en grasas a una rica en fibra, mientras que ninguno de los indicadores tuvo valores significativos durante el periodo con vancomicina (Fig. S8).

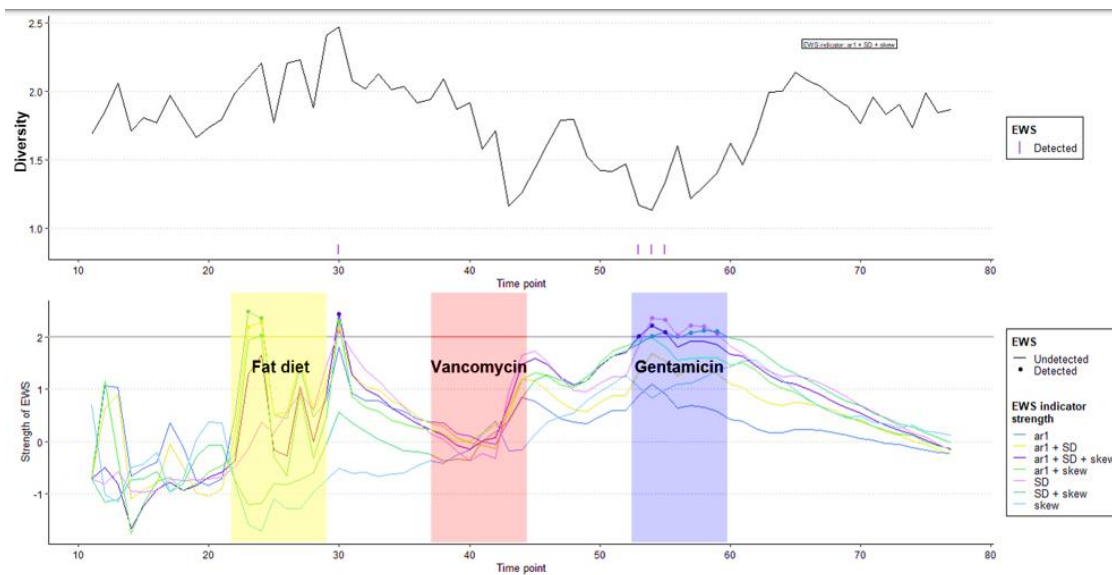


Figura 21: Análisis de señales de alerta temprana de ratones expuestos a dos tratamientos con antibiótico (vancomicina y gentamicina) y un tratamiento con una dieta rica en grasas (Gibson et al., 2021). Se emplearon índices de autocorrelación univariada, oblicuidad y desviación estándar de la diversidad, además de índices combinados de dichos parámetros para cuantificar cambios sobre la serie temporal. Se obtuvieron valores significativos al principio del periodo correspondiente a la dieta rica en grasas, el principio del primer periodo de recuperación y durante el tratamiento con gentamicina.

5.5 Las interacciones afectan la respuesta ante perturbaciones

El análisis hecho mediante los modelos Lotka-Volterra reveló que la proporción de interacciones positivas con respecto a las negativas tuvo un impacto en la respuesta de las comunidades microbianas a las perturbaciones. Inicialmente se evaluó el periodo de estabilización de las comunidades antes de efectuar los análisis, eliminando los datos previos a las 50 unidades temporales. Se varió la proporción de interacciones positivas, iterando numerosas veces el modelo para cada caso partiendo de condiciones iniciales aleatorias. Al evaluar la composición del ruido presente en las distintas iteraciones del modelo, se identificaron proporciones similares de ruido blanco, ruido rosa y ruido café o browniano (Fig. S9). Tras analizar el peso que cada uno de los tipos de ruido encontrados tenían sobre las distintas poblaciones, se pudo determinar que la mayoría de las poblaciones que describen ruido blanco eran también las de menor abundancia, estando más expuestas al efecto de las fluctuaciones estocásticas. En cambio, el ruido rosa fue predominante en las poblaciones de mayor abundancia. Cabe destacar que el mismo análisis fue realizado en las simulaciones hechas con el modelo neutro de Hubble, obteniendo predominantemente ruido browniano, lo que descartó este modelo para otros análisis dado que, a diferencia de los modelos LVg y de consumo de recursos, la dinámica del sistema nunca se estabiliza en el tiempo, sino que cambia constantemente.

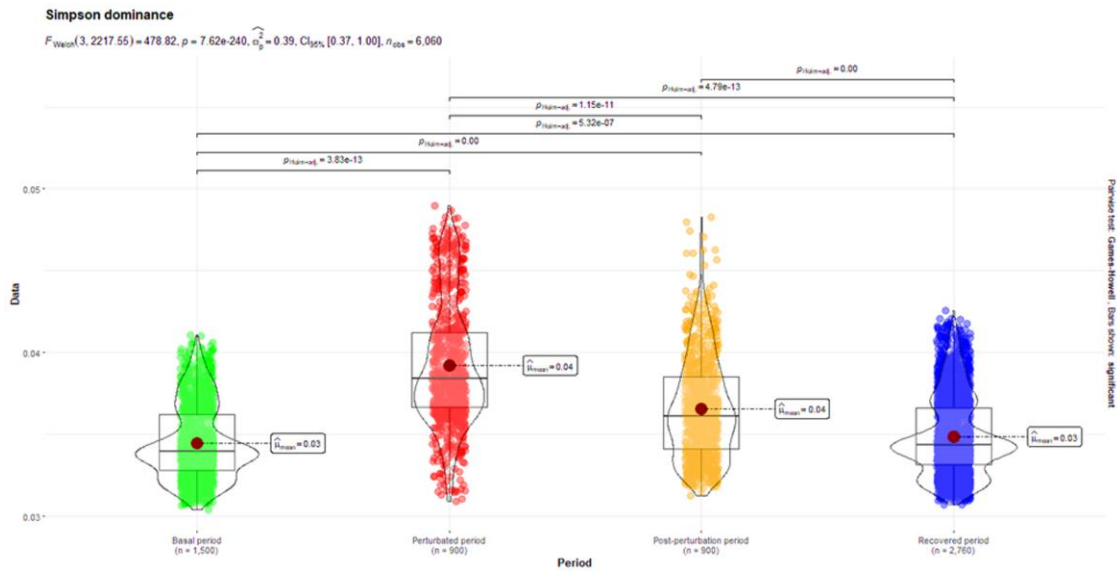


Figura 22: Comparación de las métricas de diversidad de Simpson obtenidas con las iteraciones del modelo Lotka-Volterra generalizado. Los datos están separados en cuatro estadios: basal, perturbado, post-perturbado y recuperado.

Dado que la magnitud de las perturbaciones se mantuvo, variando únicamente los parámetros asociados a las interacciones, se estimó la caída promedio de la diversidad empleando modelos polinómicos. El mejor ajuste se obtuvo con una $k=8$, según la optimización obtenida al estimar el índice Akaike de los modelos, donde la R -cuadrada del modelo de entrenamiento se estimó en 0.769, mientras que la R -cuadrada del modelo de prueba fue de solo 0.669. Los resultados sugirieron que, en promedio, la pérdida de diversidad, cuantificada con el índice de Pielou, fue de alrededor del 10 al 15%.

También se encontró que, tras la perturbación pulsada, el sistema tiende a fluctuar por un breve periodo antes de estabilizarse, lo que implica que las perturbaciones podrían seguir teniendo un efecto sobre la dinámica del sistema aún después de concluida la perturbación. Dado que en este modelo los valores de las abundancias fueron continuos, no hubo una pérdida de riqueza como tal, pero sí se registraron tamaños de poblaciones cuyos valores se aproximaron a cero.

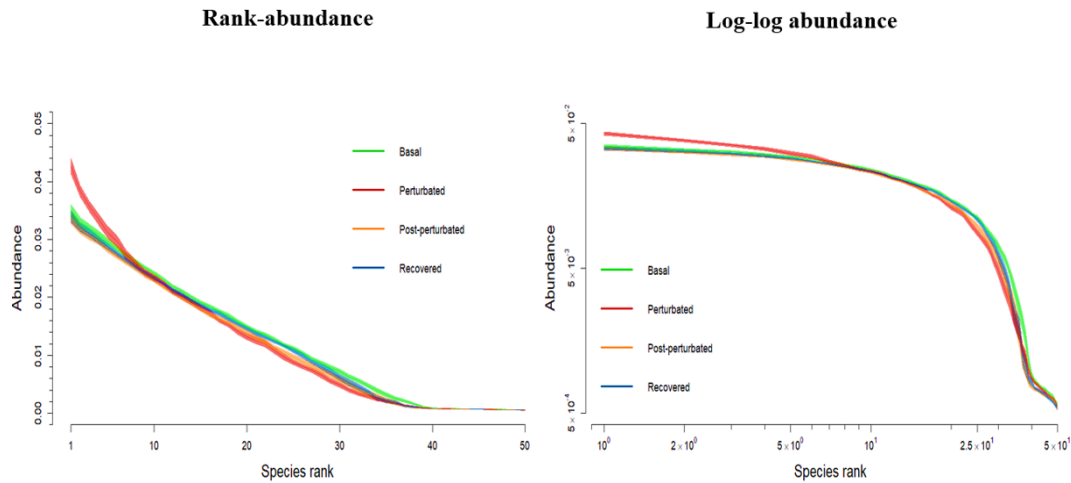


Figura 23: Curvas de Whittaker simples y log-log generadas a partir de las simulaciones con el modelo Lotka-Volterra generalizado para los estados basal (verde), perturbado (rojo), post-perturbado (naranja) y recuperado (azul). En ambos casos, las curvas de los estados basal, post-perturbado y recuperado son similares entre sí, mientras que el periodo perturbado si muestra diferencias en la distribución de los datos con respecto al resto de condiciones. El periodo perturbado exhibe una mayor presencia de especies dominantes o más abundantes que el resto en contraste con los otros tres estadios.

El incremento en la dominancia, cuantificado mediante el índice de Simpson, fue consistente en todas las iteraciones hechas sobre el modelo. Se hallaron diferencias significativas al comparar el estado con el resto de los estados, que no mostraron diferencias significativas entre sí, por lo que se asume que, tras el evento de perturbación pulsada, las comunidades fueron capaces de recuperarse. Las estimaciones hechas con el índice de Pielou arrojaron un decremento en la equidad entre las poblaciones, lo que podría ser interpretado como una reducción en la diversidad al disminuir las abundancias de una gran parte de las poblaciones en detrimento de unas pocas. Las estimaciones hechas con los índices de Gini-Simpson, Simpson y Pielou mostraron un incremento de la desviación estándar de los datos durante el periodo perturbado, lo que sugiere que la perturbación incrementa la variabilidad de las abundancias. La varianza de los datos, sin embargo, también fue más alta durante el periodo post perturbado, lo que se corresponde con la presencia de fluctuaciones registradas en ese periodo por el modelo polinómico.

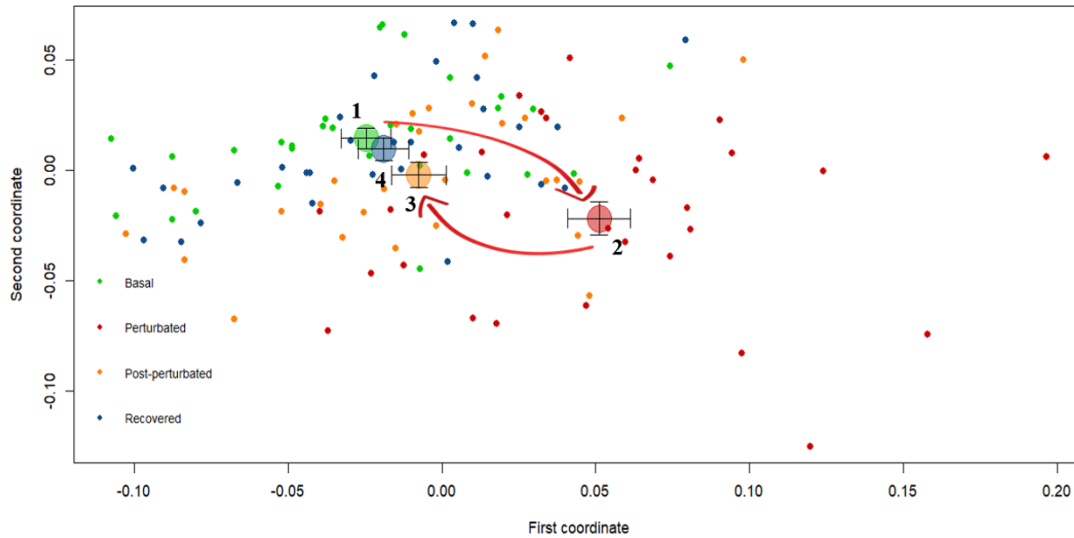


Figura 24: Representación del análisis multidimensional de las iteraciones hechas al modelo Lotka-Volterra generalizado. La perturbación pulsada fue capaz de alterar la composición de la comunidad, diferenciándose de su condición inicial y de los estados post-perturbados y recuperados. Una vez la perturbación se retira, los sistemas vuelven rápidamente a su dinámica original.

Al comparar la distribución de las abundancias mediante las curvas de Whittaker, tanto simples como log-log, no se pudieron identificar diferencias notables entre los estados basal, recuperado y post perturbado, aunque sí entre estos tres y el estado perturbado, reforzando la evidencia obtenida mediante los índices de diversidad de los modelos polinómicos. El incremento de la dominancia registrado por el índice de Simpson parece corresponderse a una mayor presencia de especies muy abundantes durante el periodo perturbado. Del mismo modo, el análisis de escalamiento multidimensional reveló que existían diferencias notables entre las muestras del estado perturbado en contraste con los otros tres estados, que exhiben mayor similitud entre sí.

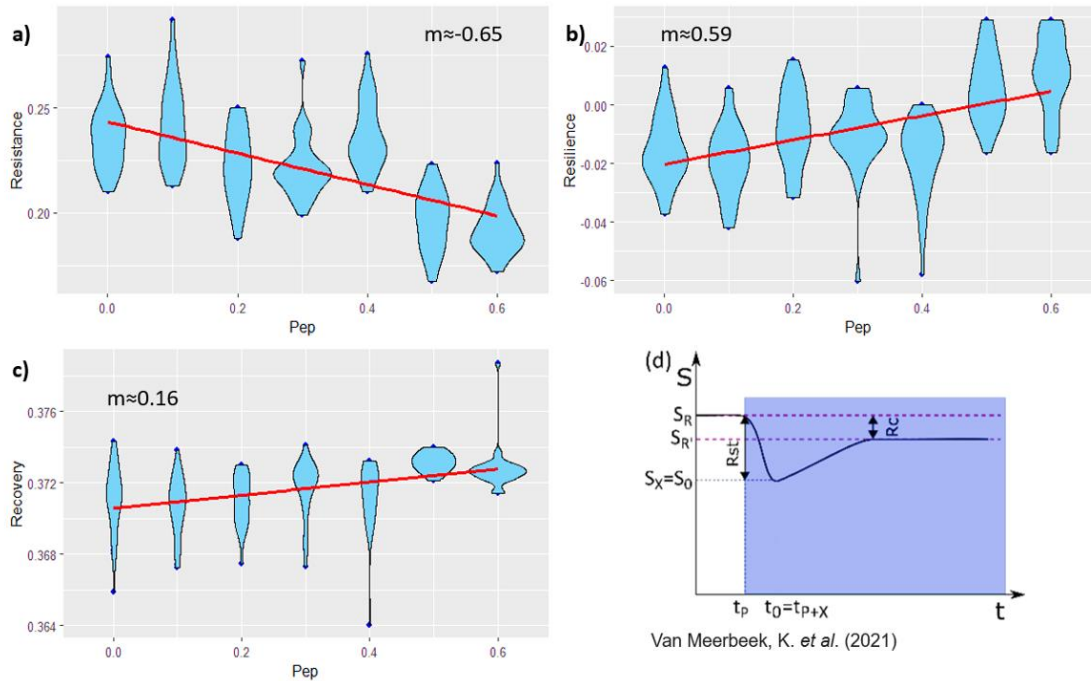


Figura 25: Cuantificación de las métricas de **a)** resistencia, **b)** resiliencia, y **c)** recuperación de los valores de diversidad de Pielou para los modelos Lotka-Volterra generalizados iterados bajo distintas proporciones de interacciones positivas, con sus respectivas pendientes. Las métricas podían variar entre valores de -1 a 1, siendo los valores más próximos a cero los considerados como más bajos. Se iteraron 30 veces los modelos bajo siete condiciones distintas, donde se modificó la proporción de interacciones positivas desde el 0 al 60%. Los valores de resistencia y resiliencia mostraron diferencias significativas con respecto al resto de condiciones al alcanzar proporciones de interacciones positivas por encima del 40%. **d)** Representación gráfica extraída de Van Meerbeek et al. (2021) (Van Meerbeek et al., 2021) de los conceptos de resistencia (R_{st}) y recuperación (R_c), entendidos como la magnitud del cambio inducido por la perturbación en el sistema y la similitud entre el estado inicial y final del sistema, respectivamente.

Al estimar las métricas de resiliencia, resistencia y recuperación variando la proporción de interacciones positivas en intervalos del 10% hasta el 60%, tras lo cual los modelos se volvían inestables, no se hallaron diferencias significativas en los valores de recuperación entre los conjuntos de modelos. Esto refuerza la idea de que, tras el evento de perturbación pulsada, el sistema es capaz de recuperar su dinámica inicial, independientemente de la magnitud de los cambios que ésta sufra durante la perturbación, siempre que la comunidad haya partido de una condición estable. Por su parte, no sucedió lo mismo con las métricas de resiliencia y resistencia. Los resultados del ANOVA no arrojaron diferencias significativas entre los conjuntos de modelos iterados entre el 0 y el 40% de interacciones positivas, pero sí se registraron diferencias significativas entre los modelos ya mencionados y aquellos cuya proporción de interacciones positivas alcanzaba el 50 y el 60%, conduciendo a un

decremento tanto en las métricas de resiliencia como en las de resistencia. Esto indica que el periodo que le toma al sistema recuperarse y la magnitud del efecto que la perturbación sí se está viendo afectado por la forma en que las interacciones están distribuidas en las comunidades sintéticas. Del mismo modo, el hecho de que, con proporciones bajas de interacciones positivas, según nuestros resultados, iguales o menores al 40% del total, sugiere la posible existencia de un umbral a partir del cual el decremento de los valores de las métricas de resiliencia y resistencia es notable.

Finalmente, el análisis de señales de alerta temprana reveló cambios en la dinámica del sistema al principio del evento de perturbación pulsada, obteniendo valores significativos en los indicadores de autocorrelación univariada, el índice triple, y los índices combinados de autocorrelación con ubicuidad y la desviación estándar (Fig. S10).

5.6 La dinámica de los recursos puede amplificar el impacto de las perturbaciones

La dinámica de los recursos afecta la forma en que las poblaciones de la comunidad responden ante las perturbaciones, pudiendo incluso amplificar sus efectos y llevar al sistema a un equilibrio alternativo. El modelo de MacArthur permitió modelar cómo las distintas poblaciones emplean, compiten y producen los recursos del medio, un entorno donde la abundancia de los recursos depende de las poblaciones y a su vez, el tamaño de las poblaciones depende de la biodisponibilidad de los recursos.

Tras iterar el modelo sin perturbación ni ruido 100 veces, se estimó el periodo de estabilización en 200 unidades temporales, por lo cual todas las muestras previas a dicho punto se descartaron. Como era de esperarse, en los modelos con perturbación, la desviación estándar de las métricas de diversidad en el periodo perturbado se incrementó.

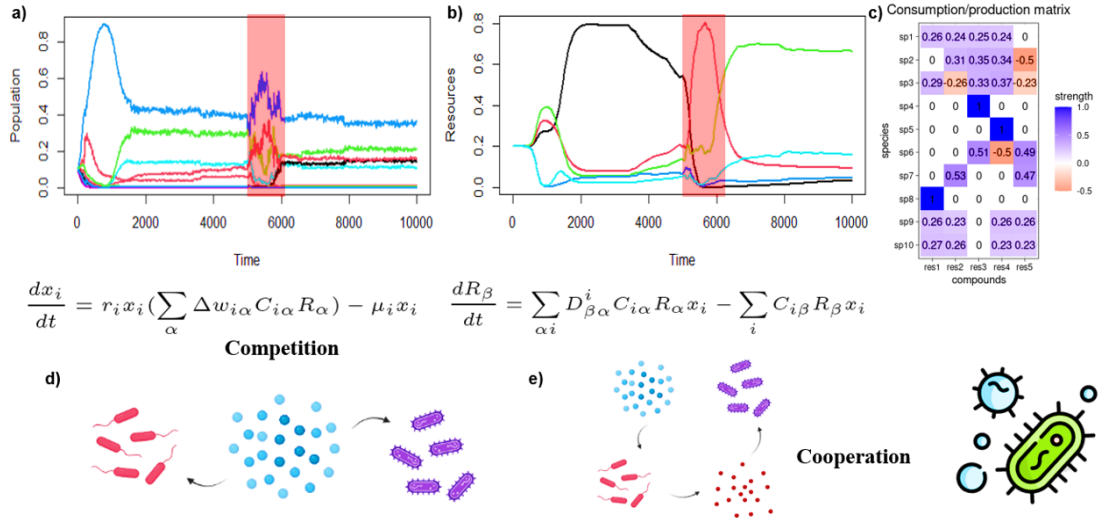


Figura 26: Representación de un modelo de consumo de recursos de MacArthur, mostrando los cambios en la dinámica de **a)** las poblaciones y de **b)** los recursos en respuesta a una perturbación pulsada (franja roja), con las ecuaciones que modelan su comportamiento abajo de cada imagen. **c)** La matriz estequiométrica codifica cómo cada una de las poblaciones (filas) emplea los recursos disponibles en su medio (columnas). Los valores positivos implican producción de recursos (azul), los valores negativos consumo (rojo), y los valores neutros implican que el recurso no es utilizado. **d)** Las interacciones de competencia emergen cuando dos o más especies utilizan un mismo recurso, **e)** mientras que la cooperación entre especies surge cuando una población produce un recurso consumido por otras poblaciones.

Se hallaron diferencias significativas entre los valores de todas las métricas de diversidad al comparar el estado basal con el estado perturbado, pero también con los estados post-perturbado y recuperado. Al iterar el modelo múltiples veces se registró un incremento significativo de la dominancia y un decremento de la equidad entre poblaciones. Los análisis realizados sobre la dinámica de los recursos revelaron, del mismo modo, diferencias significativas entre el estado basal con respecto al resto de condiciones, reflejando un decremento de la equidad y un incremento de la dominancia, como también se observó en el caso de los recursos. Los resultados parecen reflejar que algunas poblaciones se vuelven muy abundantes mientras la mayoría decrece en términos de su densidad, al mismo tiempo que algunos recursos sufren una dinámica similar.

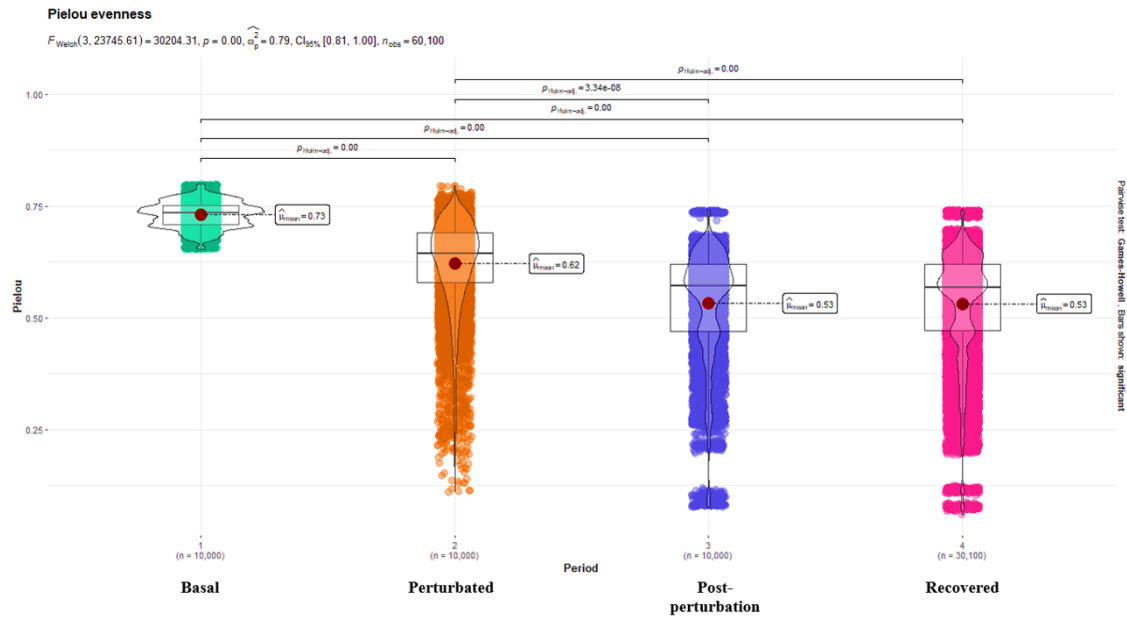


Figura 27: Diferencias entre los valores arrojados por el índice de Pielou entre los estados basal, perturbado, post-perturbado y recuperado de las simulaciones hechas con el modelo de consumo de recursos de MacArthur. Se registraron diferencias significativas entre el estado basal y el resto de las condiciones.

El análisis de escalamiento multidimensional reveló diferencias notables entre el estado recuperado con el resto de los estados, indicando que tras el evento de perturbación pulsada la composición de las comunidades sintéticas cambió radicalmente con respecto al estado inicial. Al evaluar las diferencias entre los estados mediante las métricas de disbiosis se hallaron diferencias entre el estado basal y el post-perturbado y recuperado, mientras que el estado perturbado exhibió una mayor dispersión de los valores arrojados por los índices CLV, Shannon-JSD y de distancia entre centroides, comparado con el resto de las condiciones. Las métricas sugieren que, una vez ocurrida la perturbación, el sistema no recupera su dinámica inicial.

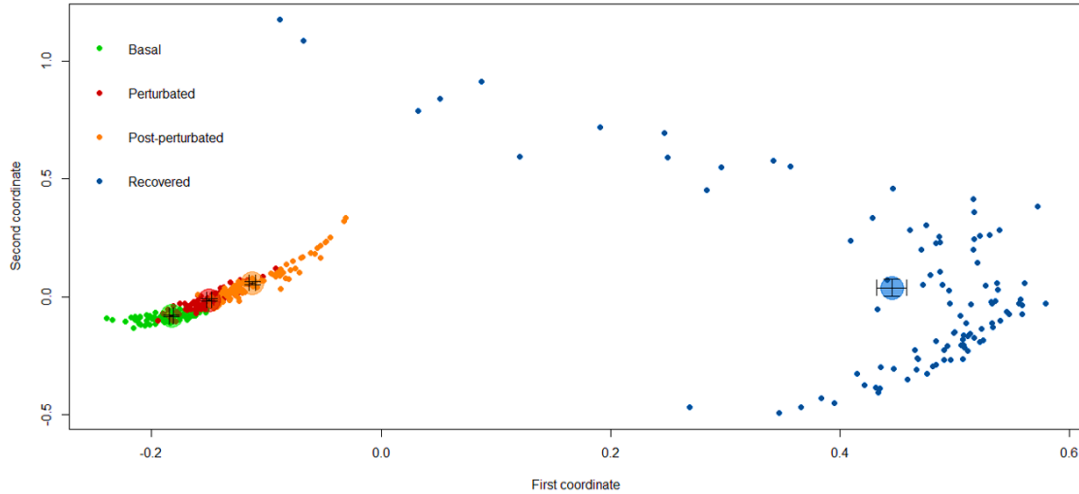


Figura 28: Gráfico de escalamiento multidimensional de las abundancias de las comunidades sintéticas generadas mediante el modelo de consumo de recursos de MacArthur, representando los estados basal (verde), perturbado (rojo), post-perturbado (naranja) y recuperado (azul). El estado “recuperado” se diferencia notablemente del resto de condiciones de las series temporales.

Al evaluar las métricas de alerta temprana sobre los modelos generados mediante el modelo de MacArthur, los índices de autocorrelación univariada, desviación estándar, y el índice combinado de estos dos, se obtuvieron valores significativos durante el periodo asociado a la perturbación pulsada. Los resultados arrojados por los distintos análisis hechos a las series temporales generadas con este modelo revelaron que, a diferencia de los resultados obtenidos con el modelo Lotka-Volterra generalizado, aquí no hay una recuperación, sino que el sistema se estabiliza en equilibrios alternativos.

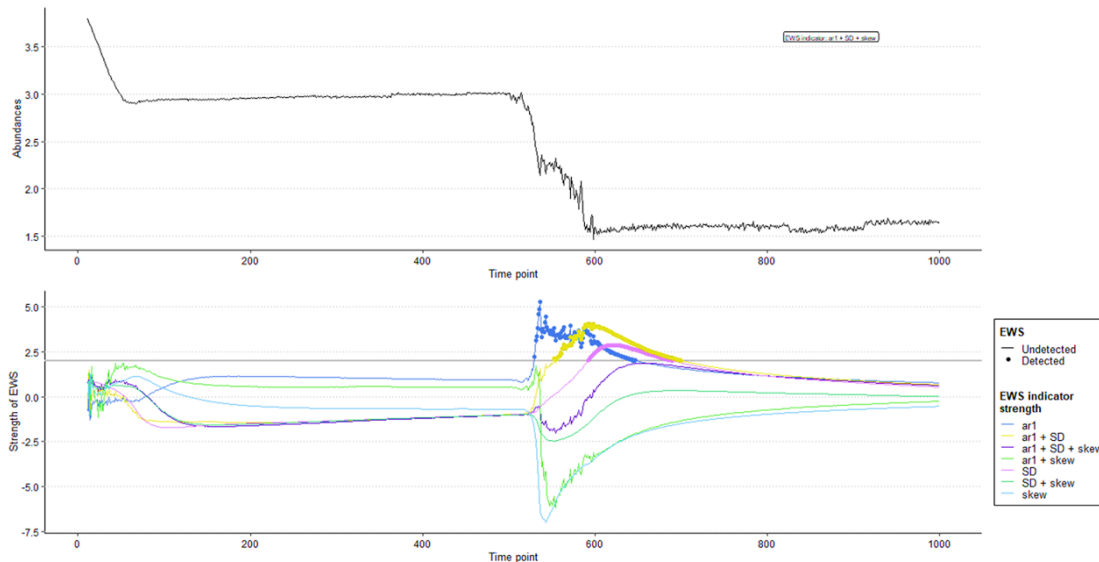


Figura 29: Análisis de señales de alerta temprana sobre las series temporales de los modelos de consumo de recursos de MacArthur. Se usaron índices de autocorrelación

univariada ($ar1$), oblicuidad (skew) y desviación estándar (SD) de la diversidad, además de índices combinados de dichos parámetros para cuantificar cambios sobre la serie temporal.

6. Discusión

La dinámica de comunidades microbianas es un fenómeno complejo. La forma en que las poblaciones cambian en el tiempo se ve influenciada por múltiples de factores, tanto intrínsecos a las propias poblaciones como de carácter ambiental. Los modelos matemáticos nos permiten hacer aproximaciones al comportamiento de estos sistemas, aunque ello implica trabajar bajo determinados supuestos, dado que se trata de simplificaciones de una realidad más compleja. Sin embargo, el uso de este tipo de modelos nos permite variar las condiciones teóricas del sistema y predecir su comportamiento, lo que supone una poderosa herramienta para ahondar en su comportamiento. Comprender la naturaleza de la disbiosis implica estudiar dicho fenómeno bajo condiciones muy distintas en pro de identificar patrones comunes que puedan ser asociados a comunidades microbianas perturbadas. Los análisis realizados sobre los distintos conjuntos de datos evaluados en el presente trabajo revelaron que las comunidades microbianas sufren cambios sustanciales durante periodos en los cuales están sometidos a alguna clase de estrés, ya sea por cambios en la biodisponibilidad de recursos, procesos infecciosos o variaciones de las condiciones ambientales.

El análisis topológico de las redes reveló que las perturbaciones ambientales son capaces de alterar la estructura de las comunidades en términos de sus co-abundancias, revelando cambios en la forma en que las distintas poblaciones se relacionan entre sí. Los algoritmos empleados no fueron del todo consistentes al momento de cuantificar las distintas métricas sobre la topología de las redes. Mientras que el algoritmo ARACNe prioriza un enfoque basado en la información mutua para identificar la dependencia entre las poblaciones, teniendo como ventaja que requiere números de muestra pequeños y que es robusto ante el ruido de las muestras y los valores atípicos, al mismo tiempo puede ser particularmente sensible a la elección de parámetros (Margolin et al., 2006). Por su parte, SparCC se fundamenta en la inferencia de correlaciones lineales y no-lineales entre las poblaciones a partir de datos composicionales, teniendo como ventaja el ser un modelo robusto al ruido y a los valores atípicos, pero que a diferencia de ARACNe, sí requiere de un gran número de muestras para ser efectivo (Kurtz et al., 2015). Las discrepancias entre ambos enfoques hacen que las redes generadas por ambos algoritmos sean distintas, dado que cada algoritmo se fundamenta en criterios diferentes, sin embargo, el hecho de que los resultados arrojados por el análisis topológico en ambos casos muestren resultados similares, refleja que el método es capaz de identificar consistentemente cambios en la estructura de las comunidades. Las redes generadas por ARACNe, por ejemplo, presentaban patrones reconocibles en los periodos asociados a la disbiosis que no aparecían en las redes SparCC. En las primeras, las comunidades perturbadas

mostraban subconjuntos de nodos altamente interconectados que no estaban presentes en las capas de los estados de control. Esta concentración de la conectividad en unos pocos nodos resultó ser una característica distintiva de las comunidades disbióticas analizadas mediante el algoritmo ARACNe.

A pesar de que el cambio en las propiedades topológicas de las redes pudiese diferir entre ambos algoritmos, lo que sí fue consistente al comparar tanto las redes ARACNe como las SparCC fueron las capas que presentaban cambios con respecto a los estados control. Los resultados no solo fueron consistentes en cuanto a qué estados presentaban cambios topológicos en la arquitectura de las redes, sino también en la magnitud de los cambios, revelando que no todas las perturbaciones afectan del mismo modo a las comunidades, y que algunas de estas comunidades podrían incluso ser más robustas ante el estrés con respecto a otras. En el caso de las ranas, por ejemplo, los resultados de las redes inferidas mediante ambos algoritmos fueron consistentes al identificar cambios topológicos en los renacuajos y metamorfos al ser expuestos a un estrés por incremento de la temperatura, al mismo tiempo que no se detectaron cambios sustanciales en la arquitectura de las redes de los sub-adultos, lo que indica que estos últimos poseían comunidades más robustas y resistentes al efecto de los tratamientos. Del mismo modo, los resultados fueron consistentes al reconocer que los cambios sufridos bajo el tratamiento de 25°C fueron menores que los hallados en las comunidades sometidas al tratamiento de 29°C.

Al analizar las muestras de los ratones bajo el enfoque de redes multicapa, se hallaron cambios topológicos en las redes que diferían en magnitud entre las distintas perturbaciones, dado que la dieta rica en grasas tuvo un efecto más acusado en la arquitectura de las redes que las perturbaciones con antibióticos. Además, los resultados igualmente habían revelado que el efecto de la gentamicina había sido mayor que el de la vancomicina en términos de la topología de las redes. Esta perspectiva ya había sido abordada previamente por Yuan *et al.* (2021) (Yuan *et al.*, 2021), quienes utilizaron redes inferidas mediante el algoritmo SparCC para analizar comunidades microbianas de muestras de suelo extraídas en las planicies de Oklahoma durante seis años consecutivos, esto con el fin de evaluar el efecto que tenía el cambio climático sobre su composición. Sus resultados también revelaron cambios en la topología de las redes que eran consistentes en el tiempo, donde las métricas se incrementaron en magnitud a medida que las temperaturas medias globales subían. Con estos resultados podemos concluir que, aunque puedan existir disparidades en las características topológicas de las redes, los análisis realizados sí fueron capaces de identificar de forma consistente cuáles capas sufrían cambios y en qué magnitud lo hacían con respecto al resto de condiciones. Además, estos también fueron consistentes con el resto de los análisis realizados, incluyendo las métricas de disbiosis, el análisis de escalamiento multidimensional y los cambios en los índices de diversidad evaluados bajo los indicadores de alerta temprana.

Los resultados arrojados al comparar la conectividad de las redes no solo fueron consistentes entre sí al momento de identificar correctamente las capas asociadas a

disbiosis, sino que coincidieron con los resultados arrojados al contrastar los índices de diversidad. El incremento en la dominancia de algunas especies en detrimento de otras, disminuyendo así la equidad entre las poblaciones se correspondió con la concentración de la conectividad en un número reducido de nodos de las redes ARACNe. En contraste a este enfoque, la mayoría de las métricas topológicas obtuvieron valores más bajos en las redes SparCC. En las redes SparCC de todas las bases de datos se identificaron indicios de que existía una pérdida notable en la conectividad, la densidad de conexiones, la modularidad y la transitividad de las redes que se corresponde con un decrecimiento en el tamaño de las poblaciones, una pérdida de la riqueza y un incremento de la abundancia en pocas especies al comparar los estados control o basales con los estados perturbados.

Si bien, cabe recalcar que las co-abundancias no nos permiten determinar interacciones ecológicas, los algoritmos de inferencia sí pueden ser utilizados para hacer una aproximación de cómo se relacionan las distintas poblaciones presentes en una comunidad, por lo que, bajo esta óptica, el uso de redes de co-abundancia nos facilita estudiar las comunidades microbianas bajo una perspectiva estructural ([Matchado et al., 2021](#)). Los cambios en la conectividad de las redes, por lo tanto, nos sugieren que los cambios en las abundancias de las poblaciones podrían estar afectando la forma en la que estas poblaciones interactúan, si bien se requeriría de análisis más exhaustivos con un enfoque experimental para evaluar dicha afirmación. Los cambios en la topología de las redes podrían deberse al hecho de que, al verse reducidas muchas de las poblaciones de las comunidades durante los períodos de perturbaciones, dado que estas están sometidas a un estrés ambiental, sus interacciones se debilitan y quedan más expuestas a la estocasticidad de su microambiente ([Fisher & Mehta, 2014b](#)).

Las alteraciones en los nutrientes disponibles, en variables físicas como la temperatura, o la presencia de sustancias antimicrobianas, alteran el éxito reproductivo de las poblaciones ([Van Meerbeek et al., 2021](#)). Dado que la mayor parte de las poblaciones presentes en una comunidad estarían adaptadas a sobrevivir bajo ciertas condiciones, un cambio lo suficientemente abrupto en su entorno podría afectar negativamente a muchas de las especies presentes. Algunas, sin embargo, al ver reducida la competencia por recursos y poseer ventajas competitivas ante condiciones adversas, como podrían ser genes de resistencia a antibióticos o una capacidad más amplia de emplear diferentes fuentes de carbono para mantener su crecimiento, pueden verse beneficiadas ([Hoek et al., 2016](#)).

Bajo condiciones donde las poblaciones se ven sometidas a un estrés ambiental, la competencia por recursos incrementa lo que reduce las tasas de crecimiento de las poblaciones, haciendo que éstas migren de un régimen donde las interacciones juegan un papel más relevante en su dinámica, a un régimen donde las poblaciones, al ser más pequeñas, quedan más expuestas a las variaciones del entorno. Al reducirse la densidad de estas poblaciones en el medio, las interacciones se debilitan dado que es menos probable que los individuos de distintas especies tengan un efecto

sobre sus vecinos. Este escenario ya fue explorado por Fisher *et al.* (2014) (Fisher & Mehta, 2014b) en un estudio que se enfocó en analizar los cambios en las poblaciones de mariposas en las selvas de Buru, Indonesia. Su estudio reveló una pérdida sustancial de la diversidad de mariposas ante la destrucción de su hábitat que se vio acompañado por un incremento sustancial de determinadas poblaciones locales. Este cambio en la dinámica de las poblaciones de mariposas de un régimen de nicho, definido por las interacciones, a un régimen neutral, dominado por la estocasticidad, fue además avalado por simulaciones realizadas con un modelo Lotka-Volterra estocástico. Este fenómeno se corresponde a la hipótesis planteada por el modelo de biogeografía de islas, donde la diversidad de un ecosistema aislado decrece en función de su superficie y de la distancia con respecto a un continente, por lo que islas de menor tamaño y más distantes entre sí serán menos capaces de sostener poblaciones grandes dada una mayor escasez de recursos y una menor tasa de inmigración (R. H. MacArthur & Wilson, 1963). Si bien, este modelo se ha empleado para explicar la pérdida de diversidad en ecosistemas fragmentados por el crecimiento de la actividad humana (Pardini, Nichols, & Püttker, 2017), el mecanismo propuesto que plantea que al aumentar el estrés sobre una población incrementa la competencia, disminuye el éxito reproductivo y provoca la caída de gran parte de las poblaciones, arrastrando a las comunidades a una dinámica alternativa donde las interacciones se debilitan, podría también ayudar a explicar el comportamiento de ecosistemas microbianos sometidos a una perturbación ambiental.

La caída en el tamaño de la mayoría de las poblaciones y la pérdida en la diversidad fue una constante en los datos analizados al comparar los estados perturbados con los estados basales. Esta pérdida de riqueza, sin embargo, también fue dependiente de la robustez de las comunidades y la magnitud de la perturbación. En el primer caso, citando como ejemplo los datos del bacterioma de las ranas, a pesar de que todos los especímenes en sus distintas fases de desarrollo fueron expuestas a los mismos tratamientos con temperatura, el efecto de las perturbaciones fue distinto entre los estadios de desarrollo. En este caso, las comunidades bacterianas de los sub-adultos no sufrieron cambios significativos entre tratamientos a diferencia de los renacuajos, donde la composición de las comunidades se vio sustancialmente afectada, algo que también pudo ser observado en los análisis con redes multicapa. Esto plantea la hipótesis de que las comunidades bacterianas de los sub-adultos estaban más consolidadas y eran más robustas ante perturbaciones que en los renacuajos, lo que les confería una mayor resistencia ante el incremento de la temperatura. Esta característica les permitía absorber las perturbaciones, manteniendo casi inalteradas su riqueza y estructura, mientras que las comunidades de los especímenes más jóvenes fueron más sensibles a la temperatura.

Por su parte, la serie temporal de los ratones indicó que las perturbaciones no afectan del mismo modo a las comunidades, sino que algunas pueden implicar cambios de mayor magnitud que otras. El análisis de la serie temporal reveló que un cambio en la dieta implicaba mayores cambios sobre la microbiota que la exposición a antibióticos. Este fenómeno podría deberse al hecho de que un cambio en la alimentación modifica

la biodisponibilidad de recursos en el microambiente, dado que las poblaciones que crecen en el tracto digestivo lo hacen en función de los nutrientes disponibles, por lo que una dieta rica en grasas favorece a poblaciones capaces de hidrolizar y consumir lípidos mientras afecta negativamente el éxito reproductivo de poblaciones que consumen otros sustratos (Hoek et al., 2016).

Por su parte, los tratamientos con antibióticos también mostraron diferencias entre sí, dado que el efecto de la gentamicina fue sustancialmente mayor que el de la vancomicina. Cabe destacar que la microbiota inoculada en los ratones por Gibson et al. (2021) (Gibson et al., 2021) provenían de pacientes humanos. Dado que, en la actualidad, las poblaciones humanas están altamente expuestas a una amplia gama de antibióticos, no únicamente a través de prescripción médica sino también mediante el consumo de diversos alimentos, la resistencia a antibióticos es un fenómeno que se ha generalizado en años recientes, suponiendo un problema grave para la salud pública (Zhang, Huang, Zhou, Buckley, & Wang, 2013). Esta resistencia a los antibióticos podría explicar el limitado efecto que estos tienen en la composición de la microbiota, especialmente en el caso de la vancomicina, dado que los análisis de redes no revelaron cambios durante dicho tratamiento ni tampoco se identificaron valores significativos en las métricas de alerta temprana. Resulta interesante resaltar que las métricas de alerta temprana obtuvieron valores significativos a lo largo de todo el periodo en el cual se suministró la gentamicina, mientras que durante la dieta rica en grasas esto sólo ocurrió al principio y al final de la perturbación, indicando que una vez implementada la nueva dieta, el sistema alcanzaba un equilibrio dinámico que se mantenía en el tiempo, mientras que el tratamiento con gentamicina suponía un estrés constante sobre las poblaciones.

Los análisis realizados sobre las series temporales de David et al. (2014) (David et al., 2014) mostraron resultados similares, revelando que algunos procesos infecciosos pueden ser más severos, en términos de la alteración de la microbiota, que otros. Mientras que los resultados de las muestras obtenidas del paciente con diarrea mostraron una clara recuperación tras el proceso infeccioso, no sucedió lo mismo con las muestras obtenidas del paciente con salmonelosis, donde la infección no únicamente supuso cambios de mayor magnitud en la composición de las comunidades, sino que tampoco hubo una recuperación una vez concluido el proceso infeccioso.

De forma similar a los resultados de Gibson et al. (2021) (Gibson et al., 2021), donde durante el periodo de cambio de dieta los indicadores de alerta temprana mostraron que el sistema eventualmente alcanzaba un equilibrio alternativo en el cual se mantenía hasta el instante en el cual se vuelve a cambiar la dieta de los ratones. En los datos de chimpancés y humanos de Sharma et al. (2022) (Sharma et al., 2022), los resultados revelaron que distintos estilos de vida y alimentación pueden mantener a las comunidades microbianas en estados que se corresponden con los patrones asociados a disbiosis, con una diversidad microbiana reducida e índices de dominancia mayores que los de sus contrapartes en vida salvaje y en entornos rurales,

respectivamente. Esto fue especialmente notable en el caso de muestras de humanos, donde las poblaciones urbanas mostraban mucho menor riqueza que la de los cazadores-recolectores y las comunidades rurales, lo que podría derivarse de una dieta menos diversa, un estilo de vida sedentario y una alta exposición a antibióticos y otros agentes antimicrobianos, algo que ya recalcan los autores en el estudio.

Los cambios en la distribución de las poblaciones también apoyan los resultados observados. Reordenamientos en el ranking de abundancias de las poblaciones, pérdida de riqueza y cambios en la equidad son indicadores importantes de perturbaciones en comunidades microbianas sometidas a alguna clase de estrés (Avolio et al., 2019). Estos cambios en la composición del sistema también suponen cambios en la dinámica, pudiendo incluso alterar a largo plazo la estructura de las comunidades, como se pudo observar en algunos de los casos analizados.

Por su parte, los resultados obtenidos a partir de diversas métricas de disbiosis revelaron un panorama variado. Dependiendo del método empleado para medir la disbiosis, algunas métricas mostraron mayor sensibilidad en ciertos casos comparados con otros, lo que sugiere que la disbiosis puede manifestarse de diferentes maneras en la composición de las comunidades, por lo que emplear múltiples métricas es muy útil para entender sus implicaciones. Mientras que métodos como CLOUD priorizaron la detección de poblaciones con valores atípicos, siendo especialmente útil para identificar poblaciones sensibles, otros métodos como el de distancia entre centroides resaltan cambios en la composición global de las comunidades, por lo que distintos enfoques permitían evaluar la disbiosis y sus implicaciones desde distintas perspectivas, lo que explica por qué las distintas métricas obtenían valores significativos en algunas condiciones y en otras no.

El hecho de que distintas perturbaciones afectasen de formas diferentes a las comunidades microbianas en términos de su composición, su estructura y su dinámica, es un fenómeno que ya ha sido previamente observado y estudiado. La forma en que las comunidades microbianas responden ante distintos escenarios es variada, pues procesos infecciosos, cambios en la dieta, presencia de toxinas o cambios en el pH, por poner algunos ejemplos, son fenómenos distintos que repercuten de formas muy variadas en las poblaciones, como indica el principio de Anna Karenina (Ma, 2020). Mientras que una dosis de un antibiótico específico puede alterar ciertas poblaciones sensibles mientras no repercute negativamente sobre otras poblaciones con resistencia, un cambio en el pH supone un impacto sobre las condiciones ambientales que puede incluso tener repercusiones sobre el metabolismo de ciertas especies de bacterias y hongos, teniendo un impacto muy distinto al de un antibiótico. Es por ello por lo que resulta tan difícil cuantificar de forma precisa la disbiosis bajo un único estándar, lo que recalca la necesidad de abordar esta problemática desde distintos enfoques.

Los análisis realizados sobre las comunidades simuladas mediante el modelo Lotka-Volterra generalizado sugieren que la proporción de interacciones positivas y

negativas podría afectar la capacidad de resistencia y resiliencia de las comunidades microbianas en respuesta a estrés ambiental, como ya sugiere el estudio de *Gonze et al.* (2018) ([Gonze et al., 2018](#)). Un mayor número de interacciones positivas incrementa la codependencia entre las poblaciones haciéndolas más susceptibles a sufrir cambios en su dinámica al ocurrir una perturbación. Es importante destacar que, aunque los resultados arrojados con este modelo, basado en interacciones, sugiere que las comunidades en general tienden a volver a su dinámica original una vez concluye una perturbación, las simulaciones con el modelo de MacArthur indican que los cambios en las concentraciones de recursos en el medio podrían amplificar los efectos de una perturbación, incluso obligando al sistema a caer en estados alternativos.

6.1 Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que es posible identificar patrones comunes que podrían ser clave para determinar si una comunidad microbiana está experimentando un estrés significativo, lo que podría inducir cambios importantes en su composición y estructura. Sin embargo, debido a la vasta diversidad de respuestas potenciales que una comunidad microbiana puede manifestar ante fluctuaciones ambientales, es esencial destacar la necesidad de abordar esta problemática desde enfoques multidisciplinarios. Solo a través de una aproximación integral es posible captar con mayor precisión las implicaciones de las perturbaciones en estas comunidades.

El análisis realizado sobre los distintos conjuntos de datos pone de manifiesto que el estrés ambiental, derivado de factores como procesos infecciosos, variaciones en la dieta o cambios en las condiciones físicas del entorno, tiende a provocar un aumento en la dominancia de ciertas poblaciones microbianas, en detrimento de otras. Este fenómeno suele ir acompañado de una pérdida generalizada de la diversidad, lo cual podría tener profundas repercusiones sobre la estabilidad y funcionalidad de las comunidades. No obstante, los resultados también indican que la respuesta de las comunidades ante estas perturbaciones está altamente condicionada por factores como la robustez estructural de las mismas, la magnitud de la perturbación y la sensibilidad intrínseca de las poblaciones involucradas. Por ejemplo, la resistencia a antibióticos y la intensidad de las interacciones entre especies pueden desempeñar un papel determinante en la capacidad de las comunidades para resistir o adaptarse a los cambios, según lo sugerido por los modelos teóricos empleados en este estudio.

Además, la estructura de las comunidades, entendida como la forma en la que están organizadas y las relaciones entre sus miembros, influye directamente en su capacidad de recuperación tras una perturbación. Sin embargo, un aspecto igualmente relevante que emergió de los análisis es la dinámica de los recursos disponibles. La disponibilidad y la calidad de los recursos pueden influir notablemente en cómo las comunidades microbianas responden y se adaptan a largo plazo, afectando su resiliencia frente a los cambios ambientales.

Esta tesis subraya la importancia de llevar a cabo análisis amplios que combinen datos experimentales con modelos teóricos, ya que solo mediante este enfoque se puede profundizar en la comprensión del fenómeno de la disbiosis y sus efectos. Las implicaciones de este fenómeno no solo se limitan a la dinámica interna de las comunidades microbianas, sino que también tienen repercusiones directas sobre la salud de los organismos que albergan dichas comunidades. En resumen, este trabajo pone de relieve la necesidad de enfoques integrados y colaborativos para desentrañar los complejos mecanismos que subyacen a las respuestas de las comunidades microbianas ante perturbaciones y, por ende, contribuir al desarrollo de estrategias más efectivas para mitigar los efectos adversos de la disbiosis en diversos contextos.

7. Bibliografía

9. Abreu, C. I., Andersen Woltz, V. L., Friedman, J., & Gore, J. (2020). Microbial communities display alternative stable states in a fluctuating environment. *PLoS Computational Biology*, 16(5), e1007934.
10. Ajslev, T., Andersen, C., Gamborg, M., Sørensen, T., & Jess, T. (2011). Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: The role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *International Journal of Obesity*, 35(4), 522–529.
11. Alexander, H., Jenkins, B. D., Ryneerson, T. A., & Dyhrman, S. T. (2015). Metatranscriptome analyses indicate resource partitioning between diatoms in the field. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(17), E2182–E2190.
12. Allin, K. H., Tremaroli, V., Caesar, R., Jensen, B. A., Damgaard, M. T., Bahl, M. I., et al. others. (2018). Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia*, 61(4), 810–820.
13. AlShawaqfeh, M., Wajid, B., Minamoto, Y., Markel, M., Lidbury, J., Steiner, J., ... Suchodolski, J. (2017). A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(11), fix136.
14. Andriani, S., Suyitno, H., Junaidi, I., et al. (2019). The application of differential equation of verhulst population model on estimation of bandar lampung

population. *Journal of Physics: Conference Series*, 1155, 012017. IOP Publishing.

15. Armstrong, R. A., & McGehee, R. (1980). Competitive exclusion. *The American Naturalist*, 115(2), 151–170.
16. Avolio, M. L., Carroll, I. T., Collins, S. L., Houseman, G. R., Hallett, L. M., Isbell, F., ... Wilcox, K. R. (2019). A comprehensive approach to analyzing community dynamics using rank abundance curves. *Ecosphere*, 10(10), e02881.
17. Bajaj, J. S., Heuman, D. M., Hylemon, P. B., Sanyal, A. J., White, M. B., Monteith, P., et al.others. (2014). Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *Journal of Hepatology*, 60(5), 940–947.
18. Berg, N. I. van den, Machado, D., Santos, S., Rocha, I., Chacón, J., Harcombe, W., ... Patil, K. R. (2022). Ecological modelling approaches for predicting emergent properties in microbial communities. *Nature Ecology & Evolution*, 1–11.
19. Blumenthal, E., & Mehta, P. (2023). Geometry of ecological coexistence and niche differentiation. *Physical Review E*, 108(4), 044409.
20. Brahe, L. K., Le Chatelier, E., Prifti, E., Pons, N., Kennedy, S., Blædel, T., et al.others. (2015). Dietary modulation of the gut microbiota—a randomised controlled trial in obese postmenopausal women. *British Journal of Nutrition*, 114(3), 406–417.
21. Cariboni, J., Gatelli, D., Liska, R., & Saltelli, A. (2007). The role of sensitivity analysis in ecological modelling. *Ecological Modelling*, 203(1-2), 167–182.
22. Carpenter, S. R., & Brock, W. A. (2006). Rising variance: A leading indicator of ecological transition. *Ecology Letters*, 9(3), 311–318.
23. Casén, C., Vebø, H., Sekelja, M., Hegge, F., Karlsson, M., Ciemniewska, E., et al.others. (2015). Deviations in human gut microbiota: A novel diagnostic test for determining dysbiosis in patients with IBS or IBD. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 42(1), 71–83.
24. Castaner, O., Goday, A., Park, Y.-M., Lee, S.-H., Magkos, F., Shiow, S.-A. T. E., & Schröder, H. (2018). The gut microbiome profile in obesity: A systematic review. *International Journal of Endocrinology*, 2018(1), 4095789.
25. Cho, I., & Blaser, M. J. (2012). The human microbiome: At the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 13(4), 260–270.
26. Clemente, J. C., Pehrsson, E. C., Blaser, M. J., Sandhu, K., Gao, Z., Wang, B., et al.others. (2015). The microbiome of uncontacted amerindians. *Science Advances*, 1(3), e1500183.

27. Coyte, K. Z., Schluter, J., & Foster, K. R. (2015). The ecology of the microbiome: Networks, competition, and stability. *Science*, 350(6261), 663–666.
28. Crowther, T. W., Maynard, D. S., Crowther, T. R., Peccia, J., Smith, J. R., & Bradford, M. A. (2014). Untangling the fungal niche: The trait-based approach. *Frontiers in Microbiology*, 5, 579.
29. Cui, X., Ye, L., Li, J., Jin, L., Wang, W., Li, S., et al.others. (2018). Metagenomic and metabolomic analyses unveil dysbiosis of gut microbiota in chronic heart failure patients. *Scientific Reports*, 8(1), 1–15.
30. David, L. A., Materna, A. C., Friedman, J., Campos-Baptista, M. I., Blackburn, M. C., Perrotta, A., ... Alm, E. J. (2014). Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. *Genome Biology*, 15, 1–15.
31. De Domenico, M., Porter, M. A., & Arenas, A. (2015). MuxViz: A tool for multilayer analysis and visualization of networks. *Journal of Complex Networks*, 3(2), 159–176.
32. Del Chierico, F., Nobili, V., Vernocchi, P., Russo, A., De Stefanis, C., Gnani, D., et al.others. (2017). Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese patients unveiled by an integrated meta-omics-based approach. *Hepatology*, 65(2), 451–464.
33. Derrien, M., Alvarez, A.-S., & Vos, W. M. de. (2019). The gut microbiota in the first decade of life. *Trends in Microbiology*, 27(12), 997–1010.
34. Dethlefsen, L., & Relman, D. A. (2011). Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(supplement_1), 4554–4561.
35. Edwards, A. (2008). Anecdotal, historical and critical commentaries on genetics: GH hardy (1908) and hardy–weinberg equilibrium. *Genetics*, 179(3), 1143.
36. El-Salhy, M., Hausken, T., & Hatlebakk, J. G. (2019). Increasing the dose and/or repeating faecal microbiota transplantation (FMT) increases the response in patients with irritable bowel syndrome (IBS). *Nutrients*, 11(6), 1415.
37. Faith, J. J., Guruge, J. L., Charbonneau, M., Subramanian, S., Seedorf, H., Goodman, A. L., et al.others. (2013). The long-term stability of the human gut microbiota. *Science*, 341(6141), 1237439.
38. Falony, G., Vieira-Silva, S., & Raes, J. (2018). Richness and ecosystem development across faecal snapshots of the gut microbiota. *Nature Microbiology*, 3(5), 526–528.

39. Fan, Y., & Pedersen, O. (2021). Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1), 55–71.
40. Faust, K., Bauchinger, F., Laroche, B., De Buyl, S., Lahti, L., Washburne, A. D., ... Widder, S. (2018). Signatures of ecological processes in microbial community time series. *Microbiome*, 6, 1–13.
41. Fiegna, F., & Velicer, G. J. (2005). Exploitative and hierarchical antagonism in a cooperative bacterium. *PLoS Biology*, 3(11), e370.
42. Fisher, C. K., & Mehta, P. (2014a). Identifying keystone species in the human gut microbiome from metagenomic timeseries using sparse linear regression. *PloS One*, 9(7), e102451.
43. Fisher, C. K., & Mehta, P. (2014b). The transition between the niche and neutral regimes in ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(36), 13111–13116.
44. Forslund, K., Hildebrand, F., Nielsen, T., Falony, G., Le Chatelier, E., Sunagawa, S., et al.others. (2015). Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*, 528(7581), 262–266.
45. Foster, K. R., & Bell, T. (2012). Competition, not cooperation, dominates interactions among culturable microbial species. *Current Biology*, 22(19), 1845–1850.
46. Fujisaka, S., Ussar, S., Clish, C., Devkota, S., Dreyfuss, J. M., Sakaguchi, M., et al.others. (2016). Antibiotic effects on gut microbiota and metabolism are host dependent. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(12), 4430–4443.
47. Gao, Y., Şimşek, Y., Gheysen, E., Borman, T., Li, Y., Lahti, L., ... Garza, D. R. (2023). miaSim: An r/bioconductor package to easily simulate microbial community dynamics. *Methods in Ecology and Evolution*, 14(8), 1967–1980.
48. Gevers, D., Kugathasan, S., Denson, L. A., Vázquez-Baeza, Y., Van Treuren, W., Ren, B., et al.others. (2014). The treatment-naïve microbiome in new-onset crohn's disease. *Cell Host & Microbe*, 15(3), 382–392.
49. Gibson, T. E., Kim, Y., Acharya, S., Kaplan, D. E., DiBenedetto, N., Lavin, R., ... Gerber, G. K. (2021). Microbial dynamics inference at ecosystem-scale. *bioRxiv*, 2021–2012.
50. Gonze, D., Coyte, K. Z., Lahti, L., & Faust, K. (2018). Microbial communities as dynamical systems. *Current Opinion in Microbiology*, 44, 41–49.
51. Griesemer, M., & Sindi, S. S. (2022). Rules of engagement: A guide to developing agent-based models. In *Microbial systems biology* (pp. 367–380). Springer.

52. Grilli, J., Adorisio, M., Suweis, S., Barabás, G., Banavar, J. R., Allesina, S., & Maritan, A. (2017). Feasibility and coexistence of large ecological communities. *Nature Communications*, 8(1), 1–8.
53. Hanemaaijer, M., Röling, W. F., Olivier, B. G., Khandelwal, R. A., Teusink, B., & Bruggeman, F. J. (2015). Systems modeling approaches for microbial community studies: From metagenomics to inference of the community structure. *Frontiers in Microbiology*, 6, 213.
54. Haygood, R. (2002). Coexistence in MacArthur-style consumer–resource models. *Theoretical Population Biology*, 61(2), 215–223.
55. Held, H., & Kleinen, T. (2004). Detection of climate system bifurcations by degenerate fingerprinting. *Geophysical Research Letters*, 31(23).
56. Hellweger, F. L., Clegg, R. J., Clark, J. R., Plugge, C. M., & Kreft, J.-U. (2016). Advancing microbial sciences by individual-based modelling. *Nature Reviews Microbiology*, 14(7), 461–471.
57. Hillen, T. (2003). Applications and limitations of the verhulst model for populations. *University of Ualberta, Pi, Issue6*, 19–20.
58. Hoek, T. A., Axelrod, K., Biancalani, T., Yurtsev, E. A., Liu, J., & Gore, J. (2016). Resource availability modulates the cooperative and competitive nature of a microbial cross-feeding mutualism. *PLoS Biology*, 14(8), e1002540.
59. Hooper, L. V., Xu, J., Falk, P. G., Midtvedt, T., & Gordon, J. I. (1999). A molecular sensor that allows a gut commensal to control its nutrient foundation in a competitive ecosystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(17), 9833–9838.
60. Hutchinson, G. E. (1961). The paradox of the plankton. *The American Naturalist*, 95(882), 137–145.
61. Huttenhower, C., Gevers, D., Knight, R., Abubucker, S., Badger, J. H., Chinwalla, A. T., et al.others. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207–214.
62. Jansen, W. (1987). A permanence theorem for replicator and lotka-volterra systems. *Journal of Mathematical Biology*, 25(4), 411–422.
63. Jayathilake, P. G., Gupta, P., Li, B., Madsen, C., Oyebamiji, O., González-Cabaleiro, R., et al.others. (2017). A mechanistic individual-based model of microbial communities. *PloS One*, 12(8), e0181965.
64. Jeffery, I. B., O'toole, P. W., Öhman, L., Claesson, M. J., Deane, J., Quigley, E. M., & Simrén, M. (2012). An irritable bowel syndrome subtype defined by species-specific alterations in faecal microbiota. *Gut*, 61(7), 997–1006.

65. Jiang, W., Wu, N., Wang, X., Chi, Y., Zhang, Y., Qiu, X., ... Liu, Y. (2015). Dysbiosis gut microbiota associated with inflammation and impaired mucosal immune function in intestine of humans with non-alcoholic fatty liver disease. *Scientific Reports*, 5(1), 1–7.
66. Jones, E. W., & Carlson, J. M. (2019). Steady-state reduction of generalized lotka-volterra systems in the microbiome. *Physical Review E*, 99(3), 032403.
67. Kashyap, P. C., Marcobal, A., Ursell, L. K., Smits, S. A., Sonnenburg, E. D., Costello, E. K., et al.others. (2013). Genetically dictated change in host mucus carbohydrate landscape exerts a diet-dependent effect on the gut microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(42), 17059–17064.
68. Kim, Y., Choi, Y. S., Baek, K. J., Yoon, S.-H., Park, H. K., & Choi, Y. (2016). Mucosal and salivary microbiota associated with recurrent aphthous stomatitis. *BMC Microbiology*, 16, 1–10.
69. Kurtz, Z. D., Müller, C. L., Miraldi, E. R., Littman, D. R., Blaser, M. J., & Bonneau, R. A. (2015). Sparse and compositionally robust inference of microbial ecological networks. *PLoS Computational Biology*, 11(5), e1004226.
70. Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., et al.others. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*, 500(7464), 541–546.
71. Lloyd-Price, J., Arze, C., Ananthakrishnan, A. N., Schirmer, M., Avila-Pacheco, J., Poon, T. W., et al.others. (2019). Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature*, 569(7758), 655–662.
72. Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220–230.
73. Lynch, S. V., & Pedersen, O. (2016). The human intestinal microbiome in health and disease. *New England Journal of Medicine*, 375(24), 2369–2379.
74. Ma, Z. S. (2020). Testing the anna karenina principle in human microbiome-associated diseases. *Iscience*, 23(4).
75. MacArthur, R. (1970). Species packing and competitive equilibrium for many species. *Theoretical Population Biology*, 1(1), 1–11.
76. MacArthur, R. H., & Wilson, E. O. (1963). An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution*, 373–387.
77. Madeo, D., Comolli, L. R., & Mocenni, C. (2014). Emergence of microbial networks as response to hostile environments. *Frontiers in Microbiology*, 5, 407.

78. Mai, T. S. N. (2021). *Impact of metabolic plasticity on microbial community diversity and stability* (PhD thesis).
79. Malthus, T. R. (1798). An essay on the principle of population, ed. J. JOHNSON, London, 1978, *Digitalizzazione Project Gutenberg*.
80. Margolin, A. A., Nemenman, I., Basso, K., Wiggins, C., Stolovitzky, G., Favera, R. D., & Califano, A. (2006). ARACNE: An algorithm for the reconstruction of gene regulatory networks in a mammalian cellular context. *BMC Bioinformatics*, 7, 1–15. Springer.
81. Marsland, R., Cui, W., & Mehta, P. (2020). A minimal model for microbial biodiversity can reproduce experimentally observed ecological patterns. *Scientific Reports*, 10(1), 1–17.
82. Maslowski, K. M., Vieira, A. T., Ng, A., Kranich, J., Sierro, F., Yu, D., et al.others. (2009). Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*, 461(7268), 1282–1286.
83. Matchado, M. S., Lauber, M., Reitmeier, S., Kacprowski, T., Baumbach, J., Haller, D., & List, M. (2021). Network analysis methods for studying microbial communities: A mini review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 2687–2698.
84. McAllister, E. J., Dhurandhar, N. V., Keith, S. W., Aronne, L. J., Barger, J., Baskin, M., et al.others. (2009). Ten putative contributors to the obesity epidemic. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(10), 868–913.
85. Mendoza, S. N., Olivier, B. G., Molenaar, D., & Teusink, B. (2019). A systematic assessment of current genome-scale metabolic reconstruction tools. *Genome Biology*, 20(1), 1–20.
86. Momeni, B., Xie, L., & Shou, W. (2017). Lotka-volterra pairwise modeling fails to capture diverse pairwise microbial interactions. *Elife*, 6, e25051.
87. Monod, J. (2012). The growth of bacterial cultures. *Selected Papers in Molecular Biology by Jacques Monod*, 139, 606.
88. Montassier, E., Al-Ghalith, G. A., Hillmann, B., Viskocil, K., Kabage, A. J., McKinlay, C. E., ... Knights, D. (2018). CLOUD: A non-parametric detection test for microbiome outliers. *Microbiome*, 6, 1–10.
89. Mougi, A., & Kondoh, M. (2012). Diversity of interaction types and ecological community stability. *Science*, 337(6092), 349–351.
90. Myers, S. P., & Hawrelak, J. (2004). The causes of intestinal dysbiosis: A review. *Altern Med Rev*, 9(2), 180–197.

91. Narayana, J. K., Mac Aogáin, M., Tiew, P. Y., Ali, N. A. B. M., Lim, A. Y. H., Keir, H., et al.others. (2020). “*Integrative microbiomics*” reveals a disrupted interactome in bronchiectasis exacerbations. *Eur Respiratory Soc.*
92. Nazaries, L., Pan, Y., Bodrossy, L., Baggs, E. M., Millard, P., Murrell, J. C., & Singh, B. K. (2013). Evidence of microbial regulation of biogeochemical cycles from a study on methane flux and land use change. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(13), 4031–4040.
93. O’Brien, D. A., Deb, S., Sidheekh, S., Krishnan, N. C., Sharathi Dutta, P., & Clements, C. F. (2023). EWSmethods: An r package to forecast tipping points at the community level using early warning signals, resilience measures, and machine learning models. *Ecography*, 2023(10), e06674.
94. Olesen, S. W., & Alm, E. J. (2016). Dysbiosis is not an answer. *Nature Microbiology*, 1(12), 1–2.
95. Oliveira, N. M., Niehus, R., & Foster, K. R. (2014). Evolutionary limits to cooperation in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(50), 17941–17946.
96. Orth, J. D., Thiele, I., & Palsson, B. Ø. (2010). What is flux balance analysis? *Nature Biotechnology*, 28(3), 245–248.
97. Palma, A. (2010). ¿‘ nicho, teoría neutral, o una alternativa emergente? *Ecología Austral*, 20(1), 63–69.
98. Pardini, R., Nichols, E., & Püttker, T. (2017). Biodiversity response to habitat loss and fragmentation. *Encyclopedia of the Anthropocene*, 3, 229–239.
99. Puspita, I. D., Kamagata, Y., Tanaka, M., Asano, K., & Nakatsu, C. H. (2012). Are uncultivated bacteria really uncultivable? *Microbes and Environments*, ME12092.
100. Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., et al.others. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59–65.
101. Qu, Q., Zhang, Z., Peijnenburg, W., Liu, W., Lu, T., Hu, B., ... Qian, H. (2020). Rhizosphere microbiome assembly and its impact on plant growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(18), 5024–5038.
102. Ringel, Y., & Maharshak, N. (2013). Intestinal microbiota and immune function in the pathogenesis of irritable bowel syndrome. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 305(8), G529–G541.
103. Rodríguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I., Juge, N., et al.others. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life,

with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26(1), 26050.

104. Rosindell, J., Hubbell, S. P., & Etienne, R. S. (2011). The unified neutral theory of biodiversity and biogeography at age ten. *Trends in Ecology & Evolution*, 26(7), 340–348.
105. Saeedghalati, Mohammadkarim, Farahpour, F., Budeus, B., Lange, A., Westendorf, A. M., Seifert, M., ... Hoffmann, D. (2017). Quantitative comparison of abundance structures of generalized communities: From b-cell receptor repertoires to microbiomes. *PLoS Computational Biology*, 13(1), e1005362.
106. Saeedghalati, Mohammadkarim, Farahpour, F., & Hoffmann, D. (2016). *RADanalysis: Normalization and study of rank abundance distributions*. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=RADanalysis>
107. Saffouri, G. B., Shields-Cutler, R. R., Chen, J., Yang, Y., Lekatz, H. R., Hale, V. L., et al.others. (2019). Small intestinal microbial dysbiosis underlies symptoms associated with functional gastrointestinal disorders. *Nature Communications*, 10(1), 2012.
108. Santiago, M., Eysenbach, L., Allegretti, J., Aroniadis, O., Brandt, L. J., Fischer, M., et al.others. (2019). Microbiome predictors of dysbiosis and VRE decolonization in patients with recurrent c. Difficile infections in a multi-center retrospective study. *AIMS Microbiology*, 5(1), 1.
109. Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., & Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*.
110. Senghor, B., Sokhna, C., Ruimy, R., & Lagier, J.-C. (2018). Gut microbiota diversity according to dietary habits and geographical provenance. *Human Microbiome Journal*, 7, 1–9.
111. Sharma, A. K., Davison, S., Pafco, B., Clayton, J. B., Rothman, J. M., McLennan, M. R., et al.others. (2022). The primate gut mycobiome-bacteriome interface is impacted by environmental and subsistence factors. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 8(1), 12.
112. Shin, N.-R., Whon, T. W., & Bae, J.-W. (2015). Proteobacteria: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in Biotechnology*, 33(9), 496–503.
113. Skvortsov, A., Ristic, B., & Kamenev, A. (2018). Predicting population extinction from early observations of the lotka–volterra system. *Applied Mathematics and Computation*, 320, 371–379.

114. Sokol, H., Leducq, V., Aschard, H., Pham, H.-P., Jegou, S., Landman, C., et al.others. (2017). Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut*, 66(6), 1039–1048.
115. Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L. G., Gratadoux, J.-J., et al.others. (2008). Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(43), 16731–16736.
116. Solé, R. V., Alonso, D., & McKane, A. (2002). Self-organized instability in complex ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 357(1421), 667–681.
117. Stein, R. R., Bucci, V., Toussaint, N. C., Buffie, C. G., Räscher, G., Pamer, E. G., ... Xavier, J. B. (2013). Ecological modeling from time-series inference: Insight into dynamics and stability of intestinal microbiota. *PLoS Computational Biology*, 9(12), e1003388.
118. Stojanov, S., Berlec, A., & Štrukelj, B. (2020). The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. *Microorganisms*, 8(11), 1715.
119. Succurro, A., & Ebenhöf, O. (2018). Review and perspective on mathematical modeling of microbial ecosystems. *Biochemical Society Transactions*, 46(2), 403–412.
120. Takeuchi, Y. (1996). *Global dynamical properties of lotka-volterra systems*. World Scientific.
121. Thaiss, C. A., Levy, M., Grosheva, I., Zheng, D., Soffer, E., Blacher, E., et al.others. (2018). Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection. *Science*, 359(6382), 1376–1383.
122. Thorsen, J., Brejnrod, A., Mortensen, M., Rasmussen, M. A., Stokholm, J., Al-Soud, W. A., ... Waage, J. (2016). Large-scale benchmarking reveals false discoveries and count transformation sensitivity in 16S rRNA gene amplicon data analysis methods used in microbiome studies. *Microbiome*, 4, 1–14.
123. Tilman, D. (1982). Resource competition and community structure: Monogr popul biol. *Princeton Univ Pr*.
124. Tilman, David. (2004). Niche tradeoffs, neutrality, and community structure: A stochastic theory of resource competition, invasion, and community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30), 10854–10861.

125. Van den Abbeele, P., Van de Wiele, T., Verstraete, W., & Possemiers, S. (2011). The host selects mucosal and luminal associations of coevolved gut microorganisms: A novel concept. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(4), 681–704.
126. Van Meerbeek, K., Jucker, T., & Svenning, J.-C. (2021). Unifying the concepts of stability and resilience in ecology. *Journal of Ecology*, 109(9), 3114–3132.
127. Van Vliet, S., & Doebeli, M. (2019). The role of multilevel selection in host microbiome evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(41), 20591–20597.
128. Vellend, M. (2010). Conceptual synthesis in community ecology. *The Quarterly Review of Biology*, 85(2), 183–206.
129. Wang, Z., Roberts, A. B., Buffa, J. A., Levison, B. S., Zhu, W., Org, E., et al.others. (2015). Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. *Cell*, 163(7), 1585–1595.
130. Wangersky, P. J. (1978). Lotka-volterra population models. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 9, 189–218.
131. Wei, S., Bahl, M. I., Baunwall, S. M. D., Hvas, C. L., & Licht, T. R. (2021). Determining gut microbial dysbiosis: A review of applied indexes for assessment of intestinal microbiota imbalances. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(11), e00395–21.
132. Wu, H., Esteve, E., Tremaroli, V., Khan, M. T., Caesar, R., Mannerås-Holm, L., et al.others. (2017). Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naïve type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nature Medicine*, 23(7), 850–858.
133. Xu, J., Lai, K. K., Verlinsky, A., Lugea, A., French, S. W., Cooper, M. P., ... Tsukamoto, H. (2011). Synergistic steatohepatitis by moderate obesity and alcohol in mice despite increased adiponectin and p-AMPK. *Journal of Hepatology*, 55(3), 673–682.
134. Yuan, M. M., Guo, X., Wu, L., Zhang, Y., Xiao, N., Ning, D., et al.others. (2021). Climate warming enhances microbial network complexity and stability. *Nature Climate Change*, 11(4), 343–348.
135. Zhang, L., Huang, Y., Zhou, Y., Buckley, T., & Wang, H. H. (2013). Antibiotic administration routes significantly influence the levels of antibiotic resistance in gut microbiota. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(8), 3659–3666.

136. Zhu, W., Gregory, J. C., Org, E., Buffa, J. A., Gupta, N., Wang, Z., et al.others. (2016). Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk. *Cell*, 165(1), 111–124.
137. Zomorodi, A. R., & Segrè, D. (2016). Synthetic ecology of microbes: Mathematical models and applications. *Journal of Molecular Biology*, 428(5), 837–861.

8. Anexos

8.1 Productos

- Paquete R mlBioNets disponible en GitHub para el análisis de comunidades microbianas mediante redes multicapa.
- Lázaro-Vidal, V., Álvarez-Martínez, R. (*In press*). Network Analysis: A Key Technique in Microbial Community Research. *Springer-Nature*.
- Colaboración (artículo) con la Dra. Eria Rebollar Caudillo y Carlos Alberto Hernández Orta del CCG-UNAM sobre los cambios en el bacterioma y fungoma de las ranas en respuesta al incremento de la temperatura.
- Blog de Ecología Teórica: Una introducción a los modelos matemáticos utilizados en ecología.

8.2 Scripts

La presente tesis se puede consultar en el repositorio de GitHub *Nertekkad/Microbial-communities*. Los *scripts* para analizar los datos se encuentran almacenados en *Nertekkad/MicroDynamics*, mientras que el análisis hecho a raíz de la colaboración con la Dra. Eria Rebollar del Instituto de Genómica de la UNAM se encuentra en *Nertekkad/frog_Eria*. El paquete de R empleado para el análisis de las redes multicapa se puede descargar a partir de la liga *Nertekkad/mlBioNets*.

8.3 Imágenes suplementarias

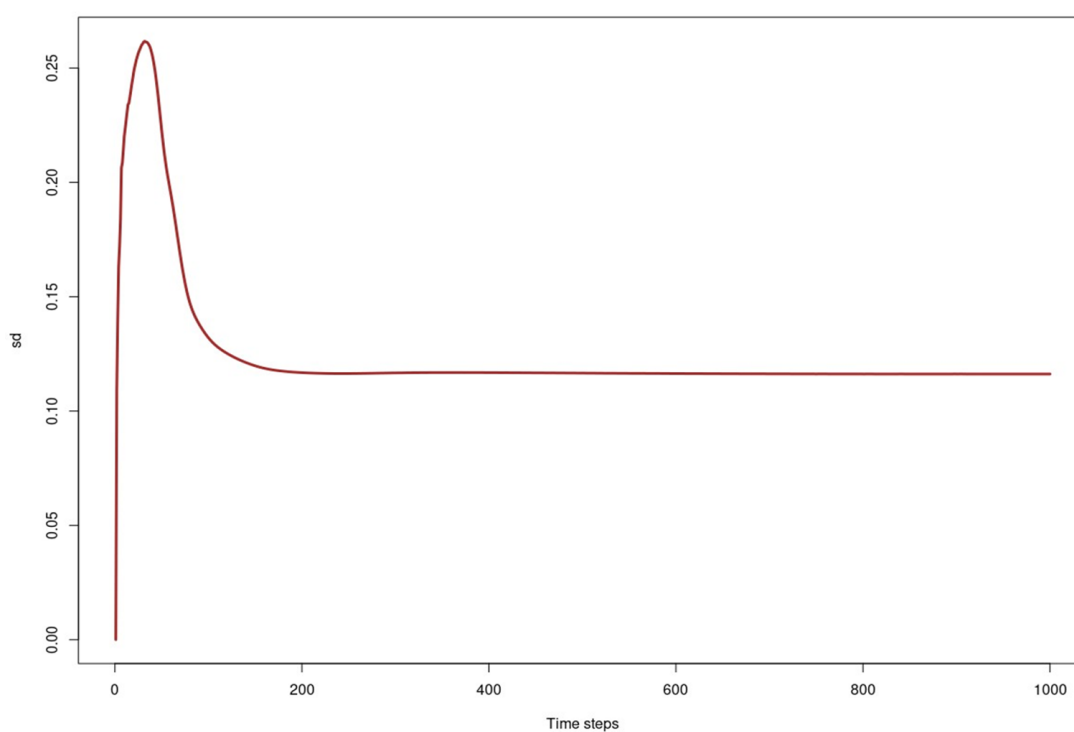


Figura S1: Estimación de la desviación estándar de la diversidad de Shannon empleando un total de cincuenta iteraciones del modelo de consumo de recursos de MacArthur. La curva permite visualizar el punto en el cual los modelos se estabilizan en promedio tras establecer condiciones iniciales aleatorias.

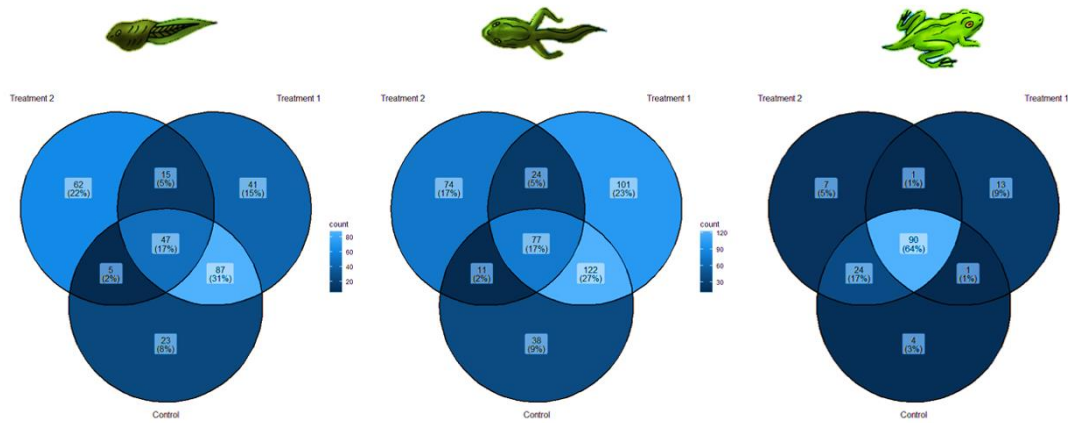


Figura S2: Comparación de la riqueza bacteriana compartida entre tratamientos de temperatura (Control: 18-20°C, tratamiento 1: 25°C y tratamiento 2: 29°C) de la piel de ranas en distintas etapas de desarrollo (renacuajo, metamorfo y sub-adulto).

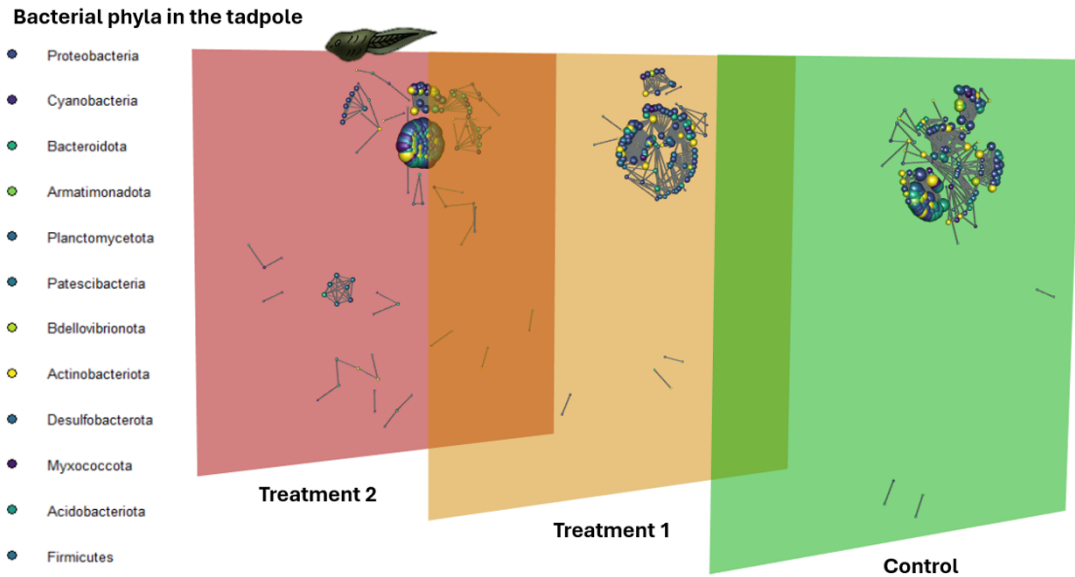


Figura S3: Red de co-abundancia multicapa inferida con el algoritmo ARACNe muestra los principales filos bacterianos encontrados en la piel de los renacuajos. Los bordes representan las co-abundancias y los nodos las especies. Los tamaños de los nodos son proporcionales a la abundancia de cada especie y los colores corresponden a los filos.

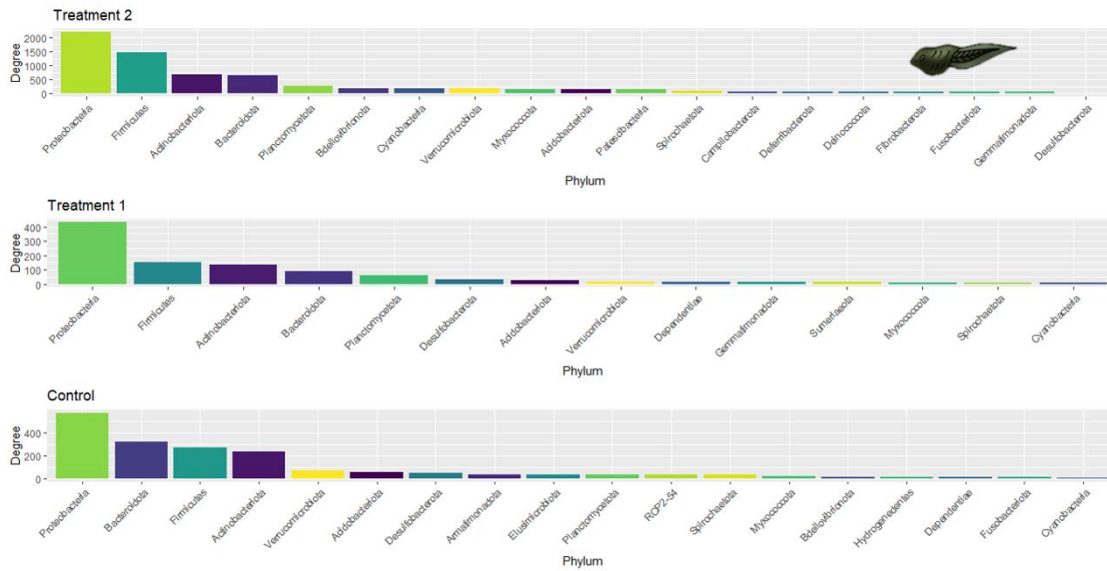


Figura S4: Centralidad por grado entre tratamientos de los filos bacterianos encontrados en la piel de los renacuajos. Red inferida con el algoritmo ARACNe. Firmicutes y Actinobacteriota adquirieron mayor importancia mientras que Bacteroidota disminuyó su importancia a medida que aumentó la temperatura. Proteobacteria se mantuvo como el filo más importante en términos de centralidad de grado sobre todos los tratamientos.

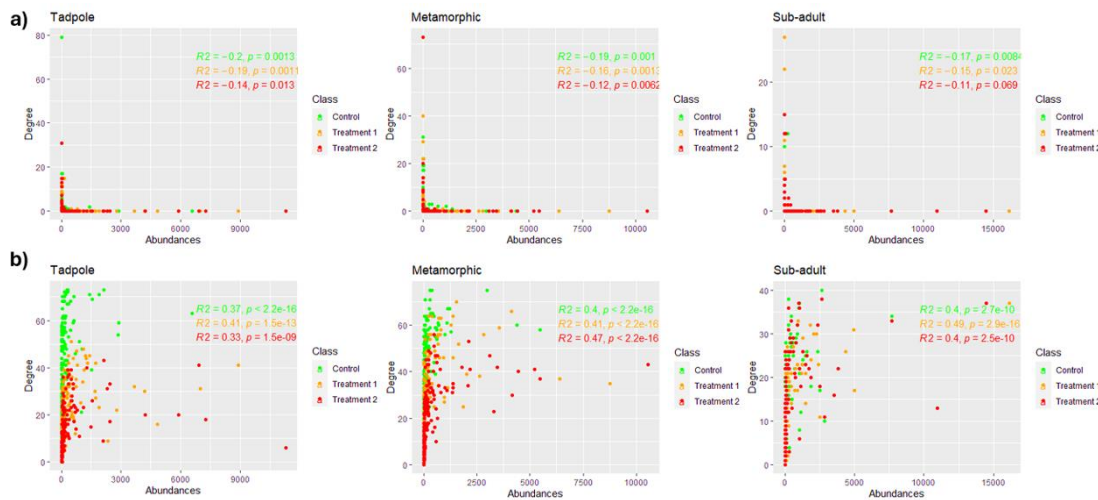


Figura S5: No existe evidencia de correlaciones entre el grado de centralidad de las redes multiplexadas **a)** ARACNe y **b)** SparCC y la abundancia de las especies bacterianas. Los puntos verdes corresponden a las especies en condiciones de control, los puntos naranjas corresponden al tratamiento 1 y los puntos rojos al tratamiento 2. No existe una correlación clara entre la abundancia de las especies y su grado en las redes. El p-valor y el R-cuadrado se muestran en los gráficos para cada tratamiento en muestras de renacuajos, metamórficos y subadultos. Los nodos en condición control muestran una mayor dispersión de datos en renacuajos y

metamórficos, pero no en subadultos, donde el comportamiento del sistema entre tratamientos parece más similar.

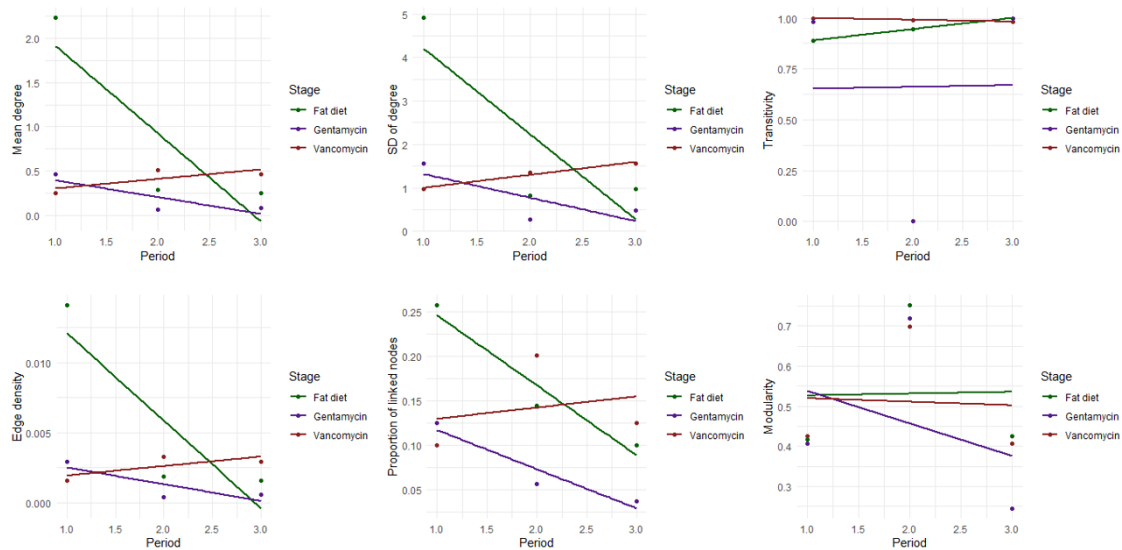


Figura S6: Cuantificación de las propiedades de la red ARACNe (grado medio, desviación estándar de centralidad, transitividad, densidad de bordes, proporción de nodos vinculados y modularidad) entre tratamientos. En la mayoría de las métricas, el efecto de la dieta rica en grasas tuvo un efecto más pronunciado sobre la estructura de la red que los dos tratamientos con antibióticos. Cada regresión lineal incluye tres periodos: el estado pre-perturbado, perturbado y post-perturbado correspondiente a cada tratamiento.

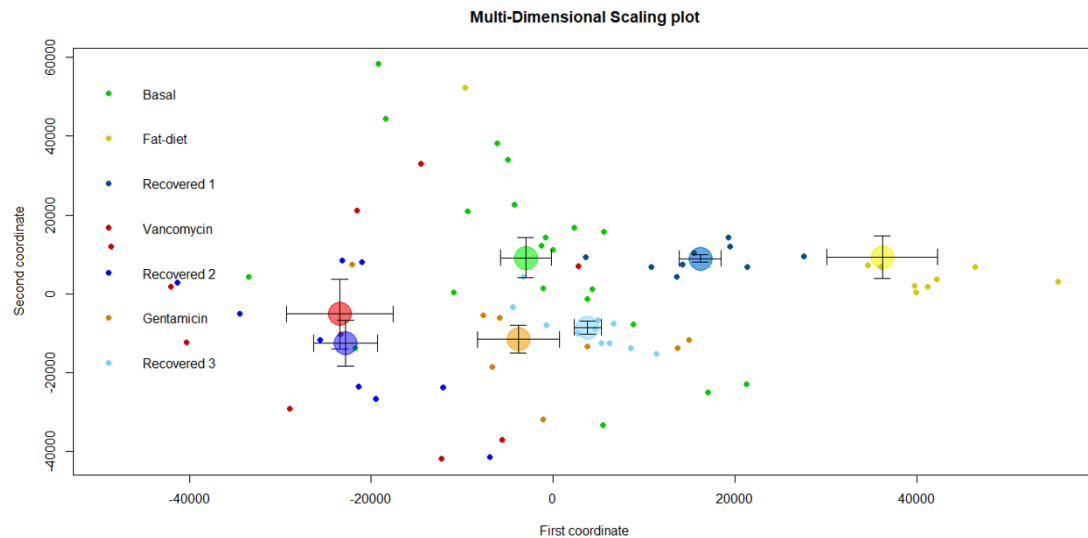


Figura S7: Gráfico de escalamiento multidimensional de los distintos grupos muestrales del bacterioma de ratones correspondientes al estado basal, los dos tratamientos con antibióticos, el tratamiento con una dieta rica en grasas y los

periodos de recuperación correspondientes a cada uno de los tratamientos de la serie temporal.

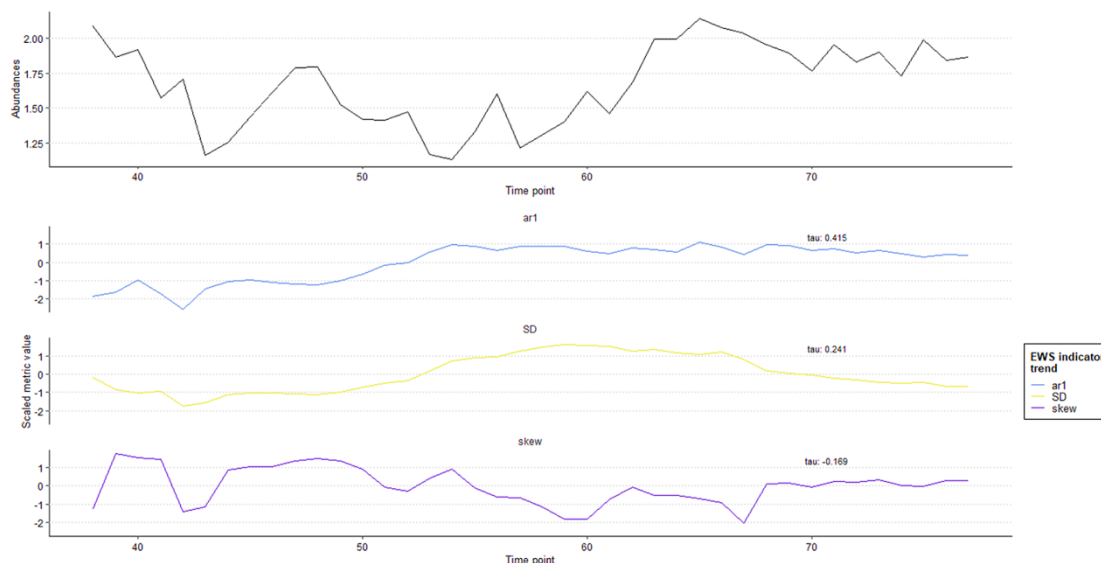


Figura S8: Índices de señales alerta temprana para transiciones en una serie temporal de ratones expuestos a dos tratamientos con antibióticos y una dieta rica en grasas. En la parte superior se representa el cambio de las abundancias totales en función del tiempo. Abajo se cuantifica el cambio de la autocorrelación univariada, la desviación estándar y la oblicuidad de la diversidad de Shannon en el tiempo.

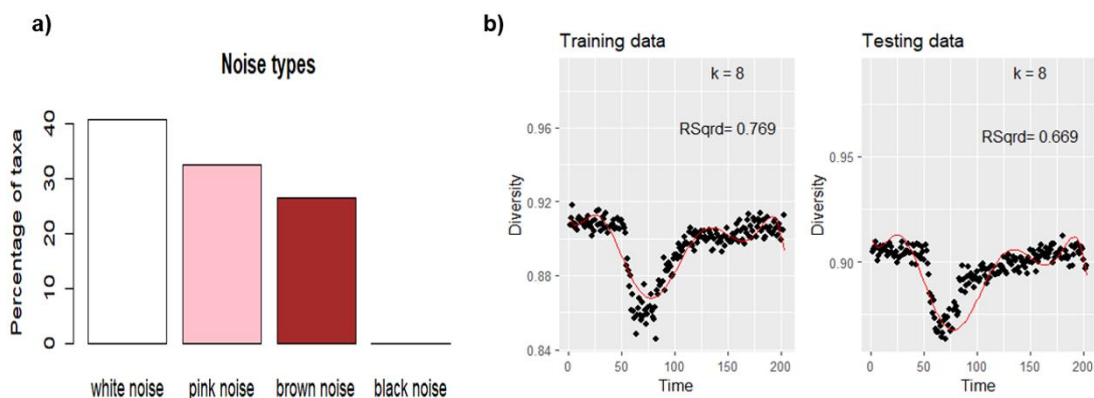


Figura S9: a) Porcentaje de del ruido presente en las simulaciones de los modelos LVg. **b)** Ajuste del modelo polinómico sobre los datos de entrenamiento y de prueba de las diversidad de Pielou de las simulaciones de los modelos LVg.

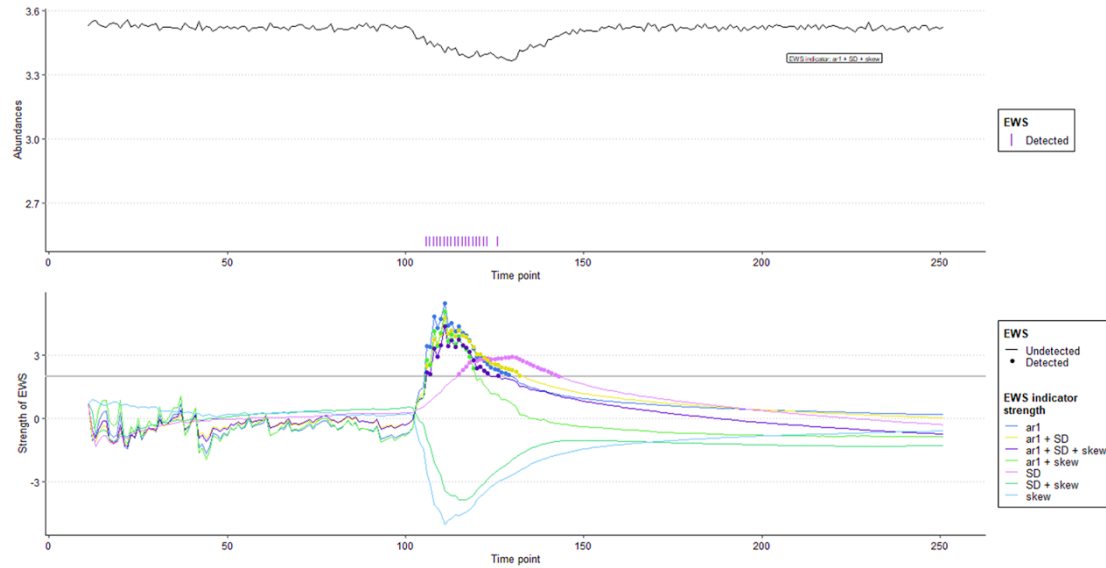


Figura S10: Análisis de señales de alerta temprana sobre las series temporales de los modelos LVg. Se usaron índices de autocorrelación univariada ($ar1$), oblicuidad ($skew$) y desviación estándar (SD) de la diversidad, además de índices combinados de dichos parámetros para cuantificar cambios sobre la serie temporal.