

Viabilidad y caracterización de la radioresistencia UV de cepas del género *Serratia*

Lezly Andrea Ordoñez Torres

Trabajo de Grado para Optar al Título de Biólogo

Director

Jorge Luis Fuentes Lorenzo

Doctor en Ciencias Agrícolas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Bucaramanga

2026

Dedicatoria

A mi papá,

Por su inteligencia, sacrificio y sueños que hoy se hacen realidad en mí. Este logro es tan suyo como mío. Gracias por inspirarme siempre.

A mi mamá,

Por su amor incondicional, su apoyo inquebrantable y por creer en mí incluso cuando yo dudé. Este logro es también suyo.

A Paula,

Por su apoyo, su amor y la resiliencia que implantó en mi vida para afrontar todas las adversidades. Este logro también es para ella.

Agradecimientos

Agradezco profundamente a mi director de trabajo de grado, por siempre estar presente cuando necesitaba aclarar mis dudas, y centrarme nuevamente en la investigación, sus palabras sabias me ayudaron mucho a continuar. A mis papás por la confianza y esperanza que depositaron en mí desde que empecé esta hermosa carrera universitaria. A mi tía Luz Marina por el apoyo brindado todos estos años, por ser mi segunda mamá y creer siempre en mí y brindarme palabras de aliento, y por inspirarme la fortaleza de salir adelante sola en un mundo lleno de adversidades. A mi pareja por siempre acompañarme en este proceso, por dedicarme horas de escucha cuando algo me aquejaba, por estar a mi disposición cuando necesitaba un consejo y ser mi mano derecha cuando lo necesite. A mi amiga Manuela Tellez que estuvo para escucharme y ayudarme cuando nadie más estaba, gracias por acompañarme en el silencio y la soledad.

Agradezco profundamente a todos mis compañeros del laboratorio, por su disposición a ayudar, por el buen ambiente académico y la hermandad que creamos. Porque gracias al trabajo en equipo que desempeñamos hemos logrado salir adelante.

Gracias a cada una de las personas que hizo parte de este trabajo de grado, siempre las llevaré en el corazón.

Tabla de contenidos

INTRODUCCIÓN	10
1. OBJETIVOS	12
1.1 Objetivo General	12
1.2 Objetivos Específicos	12
2. COMPETENCIAS DE LA PASANTÍA	12
3. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1 Material biológico	13
3.2 Medios de cultivo	14
3.3 Reactivación y preservación de cepas de <i>Serratia</i> .	14
3.4 Porcentajes de supervivencia y viabilidad de la colección de cepas bacterianas	15
3.5 Ensayos de resistencia a la radiación UVB en <i>S. marcescens</i>	15
3.6 Cinética de letalidad celular y cálculo de los parámetros radiobiológicos D90 y D99.99	16
3.7 Análisis estadísticos.	17
4. RESULTADOS	17
5. DISCUSIÓN	22
5.1. Evaluación de la viabilidad de cepas del género <i>Serratia</i> .	22
5.2 Caracterización de la radioresistencia UV-B de <i>Serratia marcescens</i> .	24
6. CONCLUSIONES	26
Referencias Bibliográficas	27
Apéndices	31

Lista de Tablas

Tabla 1. Listado de cepas evaluadas con su respectivo etiquetado de cepario UIS.	11
Tabla 2. Porcentaje de viabilidad global y tiempo de viabilidad para <i>Serratia</i> .	16
Tabla 3. Porcentajes de dosis letales y concentración de pigmento para cada cepa evaluada.	17
Tabla 4. Correlación entre concentración de pigmento ($\mu\text{g mL}^{-1}$) y $D_{90}/D_{99,99}$.	19

Lista de Figuras

- Figura 1.** *Comparación de los valores de D_{90} y $D_{99.99}$ entre cepas pigmentadas y no pigmentadas de Serratia.* 19
- Figura 2.** *Porcentaje de viabilidad por especies de Serratia.* 21

Lista de Apéndices

Apéndice A. <i>Curva de radioresistencia de UIS-0502 cepa pigmentada.</i>	30
Apéndice B. <i>Curva de radioresistencia de UIS-0696 cepa pigmentada.</i>	30
Apéndice C. <i>Curva de radioresistencia de UIS-0814 cepa pigmentada.</i>	31
Apéndice D. <i>Curva de radioresistencia de UIS-0923 cepa pigmentada.</i>	31
Apéndice E. <i>Curva de radioresistencia de UIS-0940 cepa pigmentada.</i>	32
Apéndice F. <i>Curva de radioresistencia de UIS-1123 cepa no pigmentada.</i>	32
Apéndice G. <i>Curva de radioresistencia de UIS-1132 cepa no pigmentada.</i>	33
Apéndice H. <i>Curva de radioresistencia de UIS-1199 cepa no pigmentada.</i>	33
Apéndice I. <i>Curva de radioresistencia de UIS-1200 cepa no pigmentada.</i>	34
Apéndice J. <i>Diagrama de dispersión de la relación entre la concentración de pigmento ($\mu\text{g}/\text{mL}$) y el valor D_{90} (J/m^2).</i>	35
Apéndice K. <i>Diagrama de dispersión de la relación entre la concentración de pigmento ($\mu\text{g}/\text{mL}$) y el valor $D_{99,99}$ (J/m^2).</i>	36

Resumen

Título: Viabilidad y caracterización de la radioresistencia UV de cepas del género *Serratia*.^{1*}

Autor: Lezly Andrea Ordoñez Torres, Jorge Luis Fuentes Lorenzo^{2*}

Palabras Clave: *Serratia marcescens*, prodigiosina, viabilidad, criopreservación, radiación UV-B, resistencia

Descripción: En este estudio se evaluó la viabilidad de cepas del género *Serratia* conservadas en el cepario LMMA-UIS y se caracterizó la radio-resistencia UVB de cepas pigmentadas y no pigmentadas de *Serratia marcescens*. Las cepas fueron cultivadas y sometidas a diferentes dosis de radiación UVB para determinar la fracción de supervivencia y los valores de D_{90} y $D_{99.99}$. Los resultados mostraron diferencias en la viabilidad durante su crio-preservación, con porcentajes como sigue: *S. fonticola* (100%) = *Serratia* sp.1–sp.5 (100%) > *S. liquefaciens* (78%) > *S. marcescens* (72%). Las cepas de *S. marcescens* pigmentadas y no pigmentadas, no mostraron diferencias significativas en sus valores D_{90} y $D_{99.99}$. Esto indicó, que la presencia de pigmento prodigiosina no confiere a *S. marcescens* una ventaja relevante en término de su resistencia a la radiación UVB. Los resultados respaldan la necesidad de mantener condiciones de crio-preservación óptimas para el mantenimiento en colección de cepas de *S. marcescens*; así como, aportan información útil sobre la viabilidad en crio-preservación y la respuesta de *S. marcescens* a la radiación UVB, permitiendo comprender mejor el comportamiento de estas cepas bajo las condiciones evaluadas.

^{1*} Trabajo de Grado

^{2**} Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Biología. Director: Jorge Luis Fuentes Lorenzo. Doctor en Ciencias Agrícolas.

Abstract

Title: Viability and characterization of UV radioresistance in strains of the genus *Serratia*^{1*}

Author(s): Lezly Andrea Ordoñez Torres, Jorge Luis Fuentes Lorenzo^{2*}

Key Words: *Serratia marcescens*, prodigiosin, viability, cryopreservation, UV-B radiation, resistance

Description: This study evaluated the viability of *Serratia* strains preserved in the LMMA-UIS culture collection and characterized the UVB radio-resistance of pigmented and non-pigmented *Serratia marcescens* strains. The strains were cultivated and exposed to different UVB radiation doses to determine their survival fraction and D_{90} and $D_{99.99}$ values. The results showed differences in viability during cryopreservation, with the following percentages: *S. fonticola* (100%) = *Serratia* sp.1–sp.5 (100%) > *S. liquefaciens* (78%) > *S. marcescens* (72%). Pigmented and non-pigmented *S. marcescens* strains showed no significant differences in their D_{90} and $D_{99.99}$ values. This indicated that the presence of the pigment prodigiosin does not confer a meaningful advantage to *S. marcescens* in terms of UVB resistance. These findings support the need to maintain optimal cryopreservation conditions for the preservation of *S. marcescens* strains in culture collections and provide useful information on their viability during cryopreservation and their response to UVB radiation, allowing a better understanding of the behavior of these strains under the evaluated conditions.

^{1*} Degree Work

^{2**} Faculty of Sciences. School of Biology. Biology. Director: Jorge Luis Fuentes Lorenzo, Ph.D. in Agricultural Sciences.

INTRODUCCIÓN

El género *Serratia*, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, se encuentra ampliamente distribuido en diversos ambientes naturales de Colombia (Suescún-Sepulveda et al., 2023). Este grupo bacteriano, presentan una notable versatilidad fisiológica y metabólica; y se caracteriza por contener la especie *S. marcescens* que produce el pigmento prodigiosina; bien conocido por su valor biotecnológico, como colorante en la industria textil, y por su potencial en la industria médico-farmacéutica (Darshan & Manonmani, 2015; Huang et al., 2024; Liu et al., 2013).

Adicionalmente, un estudio evidenció que la prodigiosina producida por cepas del género *Vibrio* incrementa su supervivencia celular frente a la exposición a radiación ultravioleta (Borić et al., 2011). Estos autores sugirieron que, la prodigiosina actúa como un filtro UV evitando el daño oxidativo producido por la radiación ultravioleta; y que este pigmento podría tener un papel en la adaptación de este grupo a condiciones ambientales adversas. Por el contrario, otros estudios indican que la resistencia bacteriana a la radiación UV depende principalmente de la capacidad celular de reparar el daño producido en el ADN (Goosen & Moolenaar, 2008). Recientemente, nuestro grupo de trabajo mostró que la prodigiosina producida por la especie *S. marcescens* tiene propiedades fotoprotectoras y antígenotóxica frente a la radiación ultravioleta (Cediel-Becerra et al., 2022). Este estudio mostró que la producción de prodigiosina en *S. marcescens* está correlacionada con factores ambientales como la temperatura y la irradiancia solar; pero no se estudió la relación de este compuesto con la resistencia de la especie bacteriana a la radiación UV. En este sentido, sería relevante estudiarlo.

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

A pesar de la alta relevancia biológica e industrial de las especies del género *Serratia*, existen pocos estudios que evalúen la eficacia de los métodos de crio-preservación para su mantenimiento prolongado en colecciones de cultivos (Tutrina & Zhurilov, 2024). Factores como el tipo de preservante, la humedad del medio, y la capacidad fisiológica de cada especie, influyen directamente en la supervivencia microbiana durante la crio-preservación (Hubálek, 2003). Así, la evaluación de la viabilidad de cepas del género *Serratia* conservadas en el cepario LMMA-UIS resulta esencial para asegurar la eficacia de las técnicas de crio-preservación y la conservación a largo plazo de recursos microbianos de valor biotecnológico (Hubálek, 2003).

El presente estudio tiene como objetivos evaluar la viabilidad de cepas del género de *Serratia* crio-preservadas en la colección “Cepario LMMA-UIS” y estudiar la supervivencia de cepas pigmentadas y no pigmentadas de *S. marcescens* frente a la radiación UVB. Esto último, con el propósito de conocer si el pigmento prodigiosina influye en la supervivencia bacteriana frente a la radiación ultravioleta.

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo General

Evaluar la viabilidad de cepas del género de *Serratia* y la supervivencia de cepas de la especie *S. marcescens* a diversas dosis de radiación UVB.

1.2 Objetivos Específicos

1. Determinar la viabilidad de cepas del género *Serratia* crio-preservadas en glicerol.
2. Caracterizar la radioresistencia UV de cepas pigmentadas y no pigmentadas de *S. marcescens*.

2. COMPETENCIAS DE LA PASANTÍA

1. Se adquirieron conocimientos en el manejo y cuidado de colecciones biológicas, con énfasis en el área de Microbiología.
2. Se aplicaron técnicas de crio-preservación y se realizó la evaluación de la radio-resistencia en bacterias.
3. Se efectuó la interpretación y análisis de los datos científicos obtenidos.
4. Se desarrolló y estructuró un informe de investigación científica con coherencia técnica y fundamentación lógica.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material biológico

Se evaluó la viabilidad de 69 cepas del género *Serratia* perteneciente a la clase γ -Proteobacterias (**Tabla 1**), las cuales se encontraban crio-preservadas en el cepario LMMA-UIS en 30% de glicerol embebidas en una matriz de zeolita a una temperatura de -80°C . Para obtener detalle sobre el origen y la identificación taxonómica de las mencionadas cepas, consultar el trabajo de Suescún-Sepulveda et al. (2023).

Tabla 1.

Listado de cepas evaluadas con su respectivo etiquetado de Cepario LMMA-UIS.

Taxon (species)	N₀	No. UIS
<i>Serratia fonticola</i>	4	UIS1042, UIS1054, UIS1055 y UIS1056
<i>Serratia liquefaciens</i>	9	UIS0902, UIS1015, UIS1016, UIS1027, UIS1028, UIS1090, UIS1121, UIS1124, UIS1216 y UIS1228
<i>Serratia marcescens</i>	50	UIS0067, UIS0371, UIS0379, UIS0386, UIS0392, UIS0417, UIS0440, UIS0447, UIS0449, UIS0494, UIS0500, UIS0502 , UIS0526, UIS0599, UIS0601, UIS0649, UIS0662, UIS0680, UIS0684, UIS0687, UIS0696 , UIS0722, UIS0728, UIS0731, UIS0766, UIS0795, UIS0806, UIS0811, UIS0814 , UIS0892, UIS0913, UIS0914, UIS0920, UIS0923 , UIS0940 , UIS0941, UIS0990, UIS1088, UIS1093, UIS1100, UIS1112, UIS1123 , UIS1132 , UIS1159, UIS1174, UIS1182, UIS1199 , UIS1200 , UIS1202
<i>Serratia</i> sp1.	1	UIS0458
<i>Serratia</i> sp2.	1	UIS0595
<i>Serratia</i> sp4.	2	UIS0742, UIS0924
<i>Serratia</i> sp5.	2	UIS0934, UIS1188

Nota: Cepas trabajadas del cepario LMMA-UIS crio-preservadas. **N₀**: Número de cepas preservadas, **No. UIS**: Número de registro en el cepario LMMA-UIS. Las cepas resaltadas en negrita fueron seleccionadas para la caracterización de radio-resistencia.

3.2 Medios de cultivo

Los medios de cultivo usados para la evaluación de viabilidad fueron los mismos que se usaron para el aislamiento inicial de cada cepa. En el caso de *S. marcescens* se usó medio Clostridium Reforzado o RCM (Oxoid LTD, Basingstoke, Inglaterra), mientras que para las cepas de otras especies de *Serratia* se usó el medio Luria Bertani o (Amresco, Solon, OH, Estados Unidos). Los medios de cultivo fueron preparados de acuerdo a las indicaciones del fabricante a razón de 15 mL/tubo Falcon o 30 mL/cajas Petri. Estos medios fueron esterilizados en autoclave durante 25 minutos a 1 atm.

3.3 Reactivación y preservación de cepas de *Serratia*.

Se reactivaron las cepas mediante la inoculación del contenido de los crio-viales en medios de cultivo líquido LB y RCM. La pureza de las cepas se verificó mediante la uniformidad celular y de colonias, en tinciones de Gram y en estría de agotamiento de cultivos, respectivamente. Adicionalmente, se comprobó la estabilidad fisiológica de las cepas mediante las pruebas de oxidasa y catalasa. Para su conservación, las cepas puras se cultivaron en los medios mencionados solidificados y se incubaron a temperatura óptima de crecimiento (28°C) empleando incubadoras microbiológicas convencionales. Se siguió el protocolo de crio-preservación vigente de la colección de cultivos, que consiste en embeber la cepa en una matriz absorbente de zeolita y glicerol al 30%, y luego crio-preservación a una temperatura de -80°C. Este proceso permite la reducción drástica del metabolismo microbiano, ya que el glicerol desplaza el agua de la célula, lo que posibilita su preservación a bajas temperaturas por periodos prolongados. Los resultados de la evaluación se registran en el formato Darwin Core de la colección, cumpliendo con los requisitos de las plataformas GBIF (<https://www.gbif.org>) y SiB

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Colombia (<https://ipt.biodiversidad.co/sib>). Posteriormente, se actualizan los registros de viabilidad y las imágenes de las cepas viables en la página web del Cepario LMMA-UIS (http://biologia.uis.edu.co/museo/coleccion_cepario.html).

3.4 Porcentajes de supervivencia y viabilidad de la colección de cepas bacterianas

Para las 7 especies putativas se registró el número de cepas viables y no viables. Las especies microbianas estuvieron representadas por una o varias cepas de diferente origen y los registros se obtuvieron para periodos de almacenamiento de entre 3.7 y los 6.6 años. Se preservaron un total de seis (6) crio-viales (copias), por cepa en la colección de cultivos. Por lo tanto, se registró: N_0 = Número de cepas almacenadas. N_1 = Número de cepas viables. S (%) = La supervivencia, expresada en porcentaje, se calculó dividiendo el número de cepas viables entre el número de cepas almacenadas y multiplicando por 100. Con base en los periodos de almacenamiento de las cepas viables, se calculó su promedio de viabilidad (AV) anual por especie microbiana. También se calculó la viabilidad media corregida (VAC) con la fracción de supervivencia, que representa el tiempo (años) de supervivencia de todas las cepas de cada especie.

3.5 Ensayos de resistencia a la radiación UVB en *S. marcescens*

Los ensayos se llevaron a cabo según la metodología descrita por (Prada-Medina et al., 2016), con modificaciones. Se seleccionaron cepas pigmentadas y no pigmentadas de la especie *S. marcescens* en fase estacionaria de crecimiento (resaltadas en negrita en **Tabla 1**). Estas cepas fueron inoculadas en medio RCM sólido y crecidas durante 72 horas, posteriormente se cosechó la biomasa producida, y esta se suspendió en 40 mL de solución salina (0.8% NaCl). La

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

suspensión, se distribuyó en cajas Petri de 9cm de diámetro y se irradió en un rango de dosis entre 40 y 200 J/cm² bajo condiciones de oscuridad, utilizando una cámara UVA/UVB modelo BS-02 equipada con un controlador UV-MAT (Opsytec Dr. Groebel, Alemania). De todas las suspensiones celulares, se prepararon diluciones seriadas en solución salina estéril (0,8% NaCl) para las cinco dosis seleccionadas y se sembraron en medio sólido. Como control negativo, siempre se incluyó un experimento sin irradiar. Los ensayos se realizaron con un mínimo de tres experimentos independientes en días distintos. Para su comparación, se empleó la cepa *Deinococcus radiodurans* ATCC®13939, reconocida por su alta resistencia a la radiación UV y la cepa de *Escherichia coli* ATCC®33876, perteneciente a la misma familia de *Serratia* (Enterobacteriaceae), como un control más radiosensible que *D. radiodurans*. Las placas sembradas se incubaron durante 72 horas a 28°C. Se cuantificaron las unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL) de cada tratamiento como sigue:

$$\text{UFC/mL} = \text{Colonias contadas} \times \text{Factor de dilución.}$$

Finalmente, se calculó la fracción de supervivencia para cada tratamiento, como el cociente entre el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en las muestras irradiadas y las UFC del control no irradiado, expresándose como porcentaje de supervivencia.

3.6 Cinética de letalidad celular y cálculo de los parámetros radiobiológicos D_{90} y $D_{99,99}$

La letalidad de la radiación UVB en células de *S. marcescens* se estudió siguiendo el modelo Log-lineal descrito por Severin et al. (1983): $\frac{N}{N_0} = 10^{-kF}$, donde N (ufc/mL) es la concentración celular en el tiempo t (segundos), N_0 (ufc/mL) = concentración celular en el tiempo cero (0 segundos), k (cm²/mJ) es la tasa constante de inactivación, y F (mJ/cm²) es la dosis UV en el tiempo t (Ghosh et al., 2025).

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Para estudiar la cinética de letalidad celular en cada cepa, se preparó un “script” en la plataforma R versión 4.4.3 (R Core Team 2013). A tales fines, se ingresaron los valores de fracción de supervivencia (N/N_0) experimentales y se aplicó una regresión lineal al $\text{Log}(N/N_0)$ & dosis de radiación UVB (J/m^2); lo que permitió estimar los parámetros del ajuste del modelo (valores R y probabilidades) y los parámetros radiobiológicos D_{90} (dosis necesaria para reducir en un ciclo logarítmico (90%) la población celular) y $D_{99,99}$ (dosis necesaria para reducir hasta un 99.99% la población celular). Así, las representaciones gráficas correspondiente a cada cepa, incluyó tanto los parámetros de ajuste del modelo y los radiobiológicos.

3.7 Análisis estadísticos.

Los valores de D_{90} y de $D_{99,99}$ obtenidos para cada cepa pigmentada y no pigmentada, fueron usados para realizar una prueba Shapiro de normalidad y una F-máxima de homogeneidad. Dado que los datos no cumplían los supuestos del análisis paramétrico, se usó una prueba de Wilcoxon rank-sum para comprobar diferencias significativas entre los valores promedio de los grupos estudiados. Los valores promedios de D_{90} y de $D_{99,99}$ de cada grupo de cepas (pigmentadas y no pigmentadas), y sus correspondientes errores estándar, fueron graficados usando el programa *ggplot v2* en la plataforma R. Finalmente, se realizó un análisis de correlación de rangos de Spearman (Croux & Dehon, 2010), para comprobar la relación entre los parámetros de radioresistencia (D_{90} y $D_{99,99}$) y la concentración de pigmento ($\mu\text{g mL}^{-1}$) en cada cepa evaluada usando el programa *dplyr* de la plataforma R. Los diagramas de dispersión del ajuste lineal, y sus límites de confianza (5%), son presentados en los apéndices de la presente tesis.

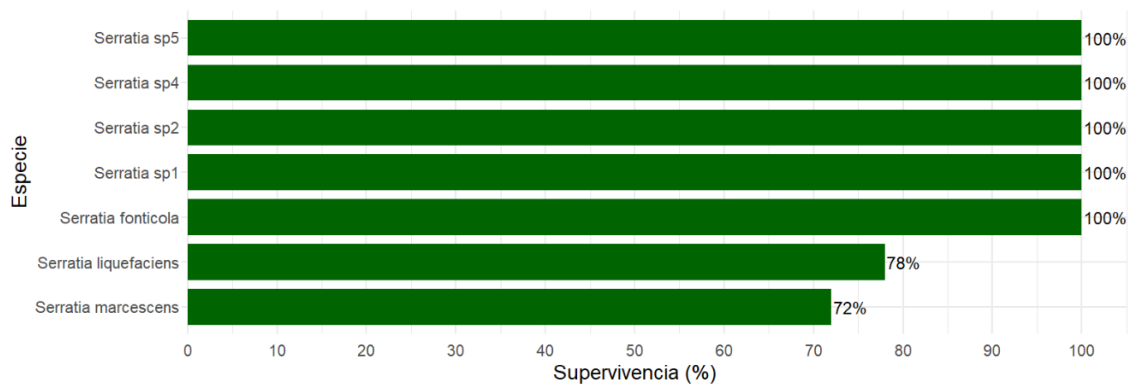
4. RESULTADOS

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Se evaluó la viabilidad de las cepas del género *Serratia* conservadas en el cepario LMMA-UIS con el propósito de determinar la efectividad del método de crio-preservación para su mantenimiento en la colección (**Figura 1**). En análisis que la viabilidad de la mayoría de las especies de *Serratia* presentaron 100% de viabilidad (*S. fonticola*, *Serratia* sp.1, *Serratia* sp.2, *Serratia* sp.4, y *Serratia* sp.5). En contraste, *S. liquefaciens* y *S. marcescens* mostraron viabilidades más bajas (78% y 72%, respectivamente). Los valores de porcentajes de viabilidad en *S. liquefaciens* y *S. marcescens* indican mayor sensibilidad de estas especies a las condiciones de crio-preservación en comparación con las demás especies del género. Globalmente, el porcentaje de viabilidad para las especies estudiadas fue del 93% (**Tabla 2**).

Figura 1

Porcentaje de viabilidad por especies de Serratia.



Nota: El gráfico representa los porcentajes de supervivencia de cada especie evaluada de Serratia.

En la **Tabla 2**, además se presentan los valores corregidos de tiempo de viabilidad (VA^\dagger) para las especies *S. liquefaciens* y *S. marcescens*, confirmando que estas dos especies presentan

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

un menor desempeño frente al almacenamiento prolongado, en comparación con el resto.

Tabla 2.

Porcentajes de viabilidad y tiempo de viabilidad para especies de Serratia.

No.	Taxon (species)	ST (year)	N ₀	N ₁	S (%)	Viability (year)	
						VA	VA [†]
<i>γ-Proteobacteria</i>							
1	<i>Serratia fonticola</i>	6.1	4	4	100	6.1	6.1
2	<i>Serratia liquefaciens</i>	6.1	9	7	78	6.1	4.7
3	<i>Serratia marcescens</i>	3.7 – 6.6	50	36	72	6.3	4.5
4	<i>Serratia</i> sp1.	6.6	1	1	100	6.6	6.6
5	<i>Serratia</i> sp2.	6.6	1	1	100	6.6	6.6
6	<i>Serratia</i> sp4.	6.1	2	2	100	6.1	6.1
7	<i>Serratia</i> sp5.	6.1	2	2	100	6.1	6.1
Total =		6.1	69	53	92.9%	6.3	5.8

Nota: Para cada especie se mostró: ST: El tiempo de crioconservación o almacenamiento en años. N₀: Número de cepas conservadas por especie. N₁: Número de cepas supervivientes (%): Sobrevivencia expresada en porcentaje de viabilidad. VA: Los valores medios de viabilidad por especie. VA[†]: Los valores medios de viabilidad corregidos con la fracción de sobrevivencia, que representan el tiempo (años) en el que sobreviven todas las cepas de un grupo.

La representación gráfica de las curvas de letalidad para cada cepa estudiada, pueden encontrarse los apéndices A al I. Los valores de ajuste (R) al modelo Log-lineal estuvieron entre 0.87 y 0.96 con probabilidades siempre menores de 0.05. Tales resultados, indicaron la letalidad producto de radiación UVB en *S. marcescens* responde a una función lineal. Con base en los ajustes antes mencionados, se calcularon los parámetros radiobiológicos D₉₀ y D_{99,99} para las cepas de *S. marcescens*, la cepa *D. radiodurans* ATCC®13939 y la cepa *E. coli* ATCC®33876

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

(Tabla 3).

Los resultados obtenidos muestran que los valores de D_{90} en cepas pigmentadas de *S. marcescens* se ubicaron entre 169 y 216 J/m^2 , mientras que los valores en cepas no pigmentadas oscilaron entre 183 y 252 J/m^2 . Estos valores fueron consistentemente inferiores al obtenido con la cepa resistente *D. radiodurans*; inclusive menores al observado con la cepa de *E. coli*, indicando que *S. marcescens* es una especie bacteriana altamente sensible a la radiación UV.

Tabla 3.

Porcentajes de dosis letales y concentración de pigmento para cada cepa evaluada.

No. UIS	Taxón (especie)	D_{90}	$D_{99,99}$	C($\mu g/mL^{-1}$)
*UIS:LMMA:0502	<i>Serratia marcescens</i>	179 J/m^2	203 J/m^2	17.8
*UIS:LMMA:0696	<i>Serratia marcescens</i>	216 J/m^2	238 J/m^2	18.7
*UIS:LMMA:0814	<i>Serratia marcescens</i>	170 J/m^2	193 J/m^2	40.1
*UIS:LMMA:0923	<i>Serratia marcescens</i>	169 J/m^2	193 J/m^2	19.7
*UIS:LMMA:0940	<i>Serratia marcescens</i>	195 J/m^2	219 J/m^2	19.6
UIS:LMMA:1123	<i>Serratia marcescens</i>	252 J/m^2	279 J/m^2	-
UIS:LMMA:1132	<i>Serratia marcescens</i>	183 J/m^2	208 J/m^2	0.45
UIS:LMMA:1199	<i>Serratia marcescens</i>	188 J/m^2	211 J/m^2	2.08
UIS:LMMA:1200	<i>Serratia marcescens</i>	195 J/m^2	209 J/m^2	0.51
UIS:LMMA:1324	ATCC: <i>Deinococcus radiodurans</i>	10140 J/m^2	11398 J/m^2	-
UIS:LMMA:0369	<i>Escherichia coli</i>	872 J/m^2	1003 J/m^2	-

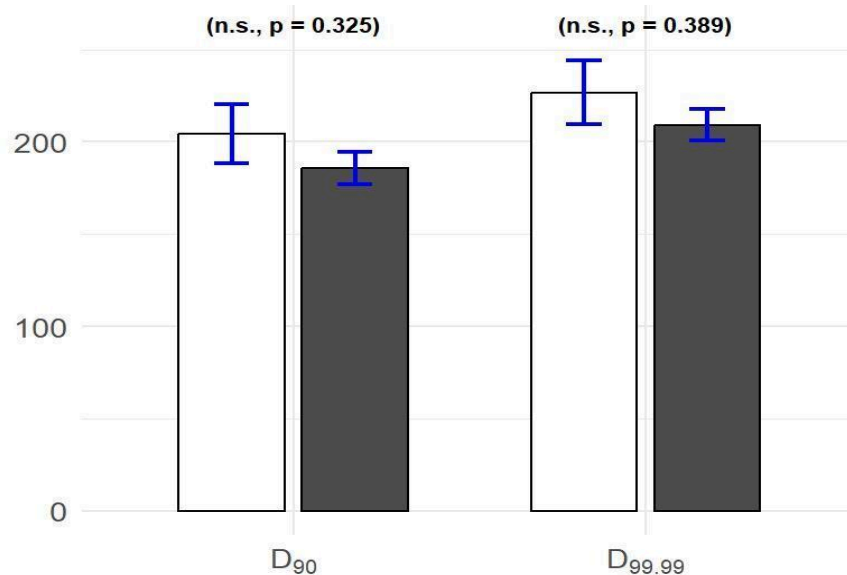
Nota: Para la especie se mostró: D_{90} : Corresponde a la dosis necesaria para reducir el 90% de la población microbiana. $D_{99,99}$: Corresponde a la dosis necesaria para reducir el 99.99% de la población microbiana. Las cepas señaladas con * representan las especies pigmentadas. C($\mu g/mL^{-1}$): Representa la concentración de prodigiosina estimada en los extractos. Tomado de (Cediél-Becerra et al., 2022).

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

En la **Figura 2** se representan los valores promedio de D_{90} y $D_{99,99}$ para las cepas pigmentadas y no pigmentadas de *S. marcescens*, expresados como medias \pm error estándar. En promedio, las cepas pigmentadas presentaron un D_{90} de $185,8 \text{ J/m}^2$ y un $D_{99,99}$ de $209,2 \text{ J/m}^2$, en contraste con las no pigmentadas que alcanzaron valores ligeramente superiores, con un D_{90} de $204,5 \text{ J/m}^2$ y un $D_{99,99}$ de $226,7 \text{ J/m}^2$. Una prueba de comparación de medias Wilcoxon rank-sum no evidenció diferencias significativas entre los dos grupos, indicando que la presencia de pigmento no generó una diferencia estadísticamente significativa en los parámetros de radio-resistencia bajo las condiciones evaluadas.

Figura 2.

Comparación de los valores de D_{90} y $D_{99,99}$ entre cepas pigmentadas y no pigmentadas de *Serratia*.



Nota: Se compararon promedio de D_{90} y $D_{99,99}$ (J/m^2) entre cepas pigmentadas representadas en gris y no pigmentadas representadas en blanco. Se presentan con sus errores estándar. Los valores de p fueron obtenidos por medio de la prueba Wilcoxon rank-sum test y se hizo la

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

respectiva observación de que no se hallaron diferencias significativas (n.s.).

Adicionalmente, un análisis de correlación de rangos de Spearman, no mostró valores positivos y significativos entre la concentración de pigmento y los valores de D_{90} y $D_{99,99}$ en *S. marcescens* (Tabla 4). Esto indica, que no existe relación alguna entre la producción del pigmento y la radio-resistencia a radiación UV en dicha especie.

Tabla 4.

Correlación entre concentración de pigmento ($\mu\text{g mL}^{-1}$) y $D_{90}/D_{99,99}$.

Variable	r (Spearman (ρ))	p-value
C($\mu\text{g mL}^{-1}$) vs D_{90}	-0.383	0.349
C($\mu\text{g mL}^{-1}$) vs $D_{99,99}$	-0.323	0.435

Nota: Se presentan los coeficientes de correlación Spearman (ρ) entre la concentración de pigmento y los valores de D_{90} y $D_{99,99}$ en cepas de *S. marcescens*. Los valores de p corresponden al test de correlación de Spearman, sin detectarse correlaciones estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

5. DISCUSIÓN

5.1. Evaluación de la viabilidad de cepas del género *Serratia*.

Determinar la viabilidad de las estirpes microbianas en el contexto del manejo de colecciones de cultivos, constituye un paso esencial para determinar las condiciones efectivas para la crio-preservación. De ello depende mantener la durabilidad y estabilidad de las

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

colecciones de cultivo a largo plazo. Factores como el equilibrio hídrico, el uso de crio-preservantes y la capacidad fisiológica de cada especie influyen directamente en la supervivencia bacteriana durante periodos prolongados de almacenamiento (Hubálek, 2003).

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que las cepas del género *Serratia* conservaron una viabilidad general del 92.9% después de 6 años de crio-preservación, con un tiempo promedio de viabilidad (VA) de 6.3 años y un valor corregido de viabilidad (VA[†]) de 5.8 años. Estos valores son consistentemente superiores a los reportados previamente para otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae* conservados en glicerol bajo condiciones comparables (Tutrina & Zhurilov, 2024), lo que evidencia una mayor estabilidad fisiológica del género *Serratia* frente al estrés asociado a la crio-conservación prolongada. En concordancia con dichos estudios, nuestros resultados sugieren que este crio-preservante desempeña un papel determinante en la protección estructural y funcional de las células del género *Serratia* durante el almacenamiento prolongado. Excepto por el estudio aquí mencionado, en la literatura revisada no se encontraron trabajos adicionales que evalúen la respuesta de la especie de *Serratia* durante la crio-preservación con glicerol. Esto resalta la relevancia de nuestros resultados para la crio-conservación a largo plazo de este género. En conjunto, los resultados indican que el glicerol es un crio-protector efectivo para la preservación de cepas del género *Serratia*. Con base en los valores de viabilidad y tiempo de preservación obtenidos, *Serratia* puede considerarse como un modelo celular de las *Enterobacteriaceae* con alta resistencia a la crio-preservación; aportando información valiosa para el diseño y mantenimiento de bancos microbianos más estables.

5.2 Caracterización de la radioresistencia UV-B de *Serratia marcescens*.

El presente estudio aporta nuevos datos sobre la resistencia de la especie *S. marcescens* a la radiación UVB. Los valores de D_{90} y $D_{99,99}$ en cepas pigmentadas y no pigmentadas de *S. marcescens*, fueron muy similares. De igual manera, la correlación entre la concentración de pigmento y la radio-resistencia de estas cepas fue negativa, débil y no significativa. Esto demostró de manera inequívoca, que el pigmento prodigiosina producido por esta especie bacteriana, no determina su resistencia a la radiación UVB.

Comparando con cepas de especies de la misma familia (ej: *E. coli*), *S. marcescens* resultó mucho más sensible a la radiación ultravioleta. Los resultados sugieren que *S. marcescens* tiene una capacidad limitada para la reparación del daño en el ADN producido por este agente. Un estudio previo (de Ondarza, 2017) mostró que la supervivencia de las células en *S. marcescens* a la exposición del ozono depende mayormente de su defensa antioxidante (ej: enzimas catalasa), más que de la producción del pigmento prodigiosina. En *E. coli* la radio-resistencia a exposiciones de radiación UVB, depende tanto de su defensa primaria antioxidante como de los mecanismos de reparación del daño en ADN (Ghosh et al., 2025). Nuestros hallazgos, concuerdan con estudios que indican que la presencia de pigmentos no necesariamente determina la radio-resistencia; sino que los mecanismos de reparación por escisión de nucleótidos son determinantes (Joux et al., 1999). Por el contrario, nuestros resultados contrastan con lo observado por (Borić et al., 2011), quienes indicaron que la prodigiosina aumentaba la supervivencia de las células pigmentadas del género *Vibrio* expuestas a la radiación UVC; posiblemente, actuando como filtro UV. Aunque en estudio previo (Cediél-Becerra et al., 2022), nosotros constatamos que la prodigiosina tiene propiedades de filtro UV, incluso antigenotóxica, los resultados aquí encontrados, inequívocamente demuestran

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

que tal efecto no es relevante para la supervivencia de *S. marcescens* a exposiciones prolongadas a radiación ultravioleta.

Existen diferentes estudios en la literatura, centrados en aspectos relevantes de la producción y caracterización del pigmento prodigiosina en la especie *S. marcescens*; así como, en sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antitumorales y citotóxicas (Cediel-Becerra et al., 2022; Darshan & Manonmani, 2015; Patel et al., 2020). Por ejemplo, se conoce que la síntesis de este pigmento ocurre de manera óptima alrededor de los 28°C y a un pH neutro (Chauhan et al., 2017; de Araújo et al., 2010). Otros estudios intentan descifrar la función o papel de este pigmento en la especie *S. marcescens*. Por ejemplo, estudios recientes (Rafiq et al., 2025; Yip et al., 2021) han propuesto que este pigmento funciona como un agente antimicrobiano frente a bacterias y hongos que compiten por su hábitat, proporcionando una ventaja competitiva para el acceso a nutrientes en hábitats con alta presión biológica. En este mismo sentido, (Cediel-Becerra et al., 2022) comparando la producción del pigmento en cepas de *S. marcescens* aisladas de zonas con diferente irradiancia solar y temperatura, sugirieron que la prodigiosina posiblemente es requerida por esta especie para adaptarse competitivamente en ambientes cálidos ($\geq 28^{\circ}\text{C}$) y de alta irradiancia. Así, la síntesis de prodigiosina podría interpretarse como una respuesta fisiológica asociada a la adaptación ecológica frente a condiciones ambientales propias de zonas de baja altitud (mayor temperatura, radiación solar y presión biológica), y no como un mecanismo de protección directa frente al daño inducido por la radiación ultravioleta.

6. CONCLUSIONES

1. La crio-preservación en glicerol a -80°C resultó efectiva para cepas de especies del género *Serratia* tras periodos prolongados (~ 6 años) de almacenamiento.
2. Las cepas de *S. marcescens* resultaron altamente sensibles a la exposición con radiación UVB ($D_{90} = 169 - 252 \text{ J/m}^2$. $D_{99,99} = 193 - 279 \text{ J/m}^2$). Estos valores no mostraron significativas diferencias en cepas pigmentadas y no pigmentadas de *S. marcescens*; por tanto, la producción de prodigiosina en esta especie no determina su radio-resistencia.

Referencias Bibliográficas

Borić, M., Danevčič, T., & Stopar, D. (2011). Prodigiosin from *Vibrio* sp. DSM 14379: A new UV-protective pigment. *Microbial Ecology*, 62(3), 528–536. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9870-0>

Cediél-Becerra, J. D. D., Suescún-Sepúlveda, J. A., & Fuentes, J. L. (2022). Prodigiosin production and photoprotective/antigenotoxic properties in *Serratia marcescens* indigenous strains from Eastern Cordillera of Colombia. *Photochemistry and Photobiology*, 98(1), 254–261. <https://doi.org/10.1111/php.13573>

Chauhan, R., Choudhuri, A., & Abraham, J. (2017). Evaluation of antimicrobial, cytotoxicity, and dyeing properties of prodigiosin produced by *Serratia marcescens* strain JAR8. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(8), 279–284. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i8.18514>

Croux, C., & Dehon, C. (2010). Influence functions of the Spearman and Kendall correlation measures. *Statistical Methods & Applications*, 19(4), 497–515. <https://doi.org/10.1007/s10260-010-0142-z>

Darshan, N., & Manonmani, H. K. (2015). Prodigiosin and its potential applications. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5393–5407. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1702-1>

de Araújo, H. W. C., Fukushima, K., & Campos Takaki, G. M. (2010). Prodigiosin production by *Serratia marcescens* UCP 1549 using renewable resources as a low-cost substrate. *Molecules*, 15(10), 6931–6940. <https://doi.org/10.3390/molecules15106931>

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Ghosh, S., Narzary, J., & Orman, M. A. (2025). UV-B-induced DNA repair mechanisms and their effects on mutagenesis and culturability in *Escherichia coli*. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.11.14.623584>

Goosen, N., & Moolenaar, G. F. (2008). Repair of UV damage in bacteria. *DNA Repair*, 7(3), 353–379. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2007.09.002>

Huang, X., Gan, L., He, Z., Jiang, G., & He, T. (2024). Bacterial pigments as a promising alternative to synthetic colorants: From fundamentals to applications. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(11), 2153–2165. <https://doi.org/10.4014/jmb.2407.07030>

Hubálek, Z. (2003). Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*, 46(3), 205–229. [https://doi.org/10.1016/s0011-2240\(03\)00046-4](https://doi.org/10.1016/s0011-2240(03)00046-4)

Joux, F., Jeffrey, W. H., Lebaron, P., & Mitchell, D. L. (1999). Marine bacterial isolates display diverse responses to UV-B radiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(9), 3820–3827. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.9.3820-3827.1999>

Liu, X., Wang, Y., Sun, S., Zhu, C., Xu, W., Park, Y., & Zhou, H. (2013). Mutant breeding of *Serratia marcescens* strain for enhancing prodigiosin production and application to textiles. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 43(3), 271–284. <https://doi.org/10.1080/10826068.2012.746423>

Ondarza, J. de. (2017). Ozone sensitivity and catalase activity in pigmented and non-pigmented strains of *Serratia marcescens*. *The Open Microbiology Journal*, 11(1), 12–22. <https://doi.org/10.2174/1874285801711010012>

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Patel, N., Dwivedi, M., Jadeja, S., & Begum, R. (2020). Antibacterial activity of marine bacterial pigments obtained from Arabian Sea water samples. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, *14*(1), 517–526.

Prada-Medina, C. A., Aristizabal-Tessmer, E. T., Quintero-Ruiz, N., Serment-Guerrero, J., & Fuentes, J. L. (2016). Survival and SOS response induction in ultraviolet B irradiated *Escherichia coli* cells with defective repair mechanisms. *International Journal of Radiation Biology*, *92*(6), 321–328. <https://doi.org/10.3109/09553002.2016.1144948>

Rafiq, M., Ul Huda, N., Hassan, N., Ali, H., Tawab, A., Bashir, R., Iqbal, N., et al. (2025). Microbial prodigiosin shows broad-spectrum bioactivity confirmed by experimental and computational analyses. *Frontiers in Microbiology*, *16*, 1676959. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1676959>

R Core Team. (2013). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>

Severin, B. F., Suidan, M. T., & Engelbrecht, R. S. (1983). Kinetic modeling of U.V. disinfection of water. *Water Research*, *17*(11), 1669–1678. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(83\)90027-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(83)90027-1).

Tutrina, A., & Zhurilov, P. (2024). Efficacy assessment of different cryoprotectants for preserving the viability of Enterobacterales strains at –20 °C. *Scientific Reports*, *14*(1), 20843. DOI: [10.1038/s41598-024-71529-6](https://doi.org/10.1038/s41598-024-71529-6)

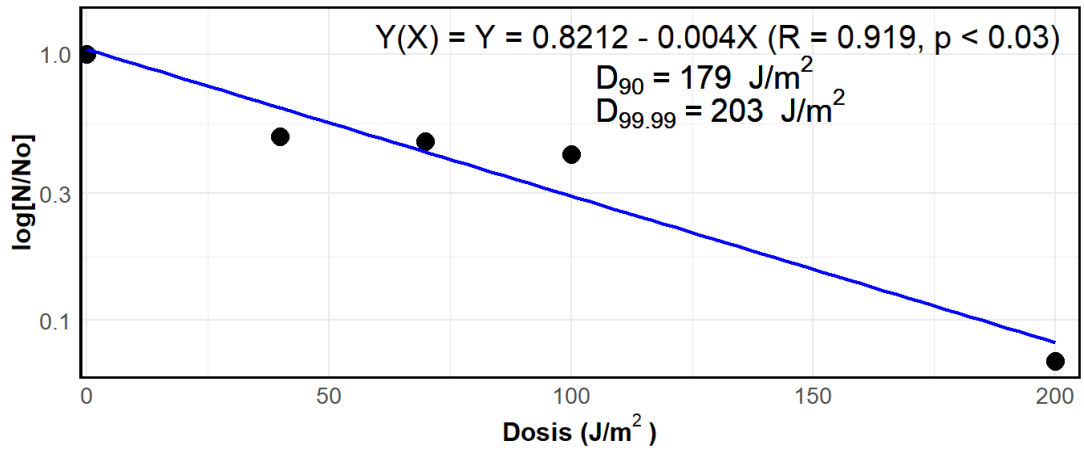
Yip, C.-H., Mahalingam, S., Wan, K.-L., & Nathan, S. (2021). Prodigiosin inhibits bacterial growth and virulence factors as a potential physiological response to interspecies

VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

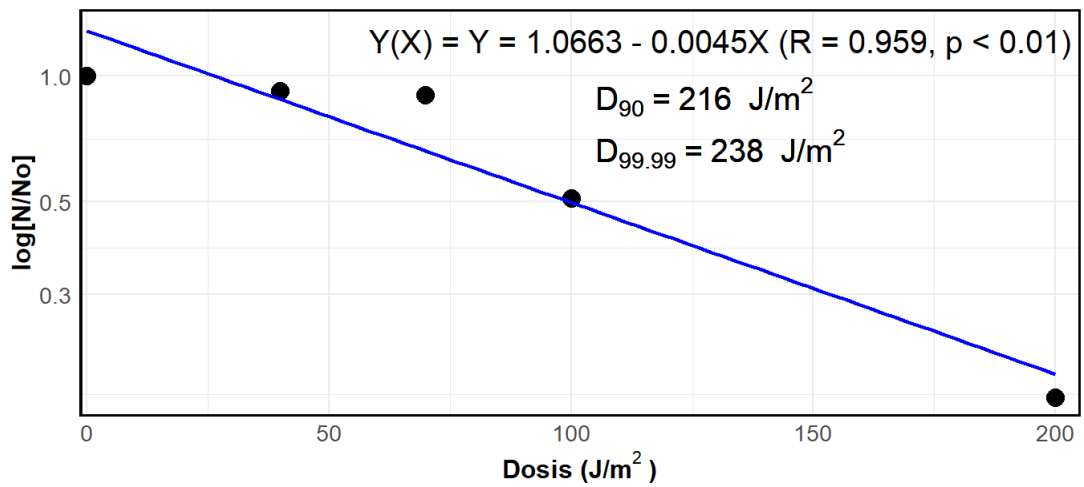
competition. *PLOS ONE*, 16(6), e0253445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253445>

Apéndices

Apéndice A. Curva de radioresistencia de UIS-0502 cepa pigmentada.

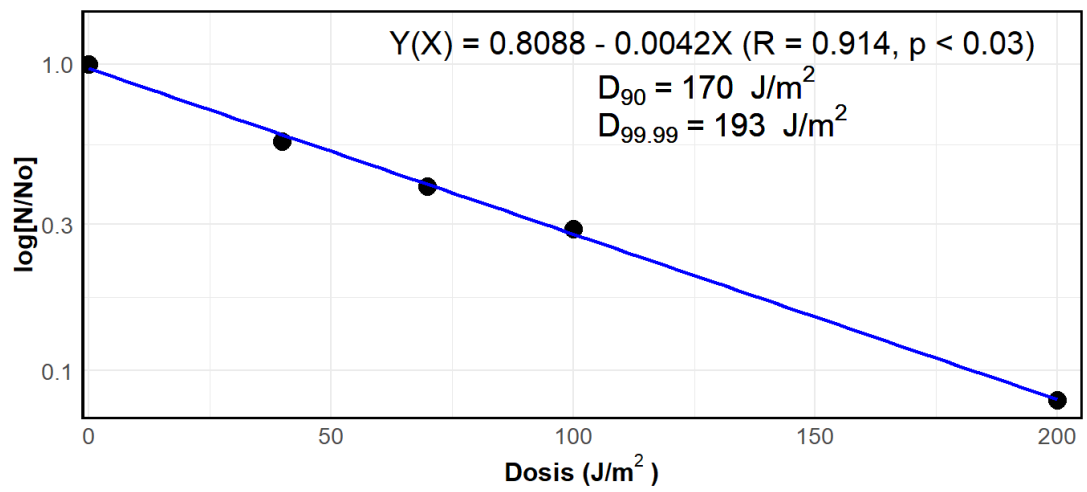


Apéndice B. Curva de radioresistencia de UIS-0696 cepa pigmentada.

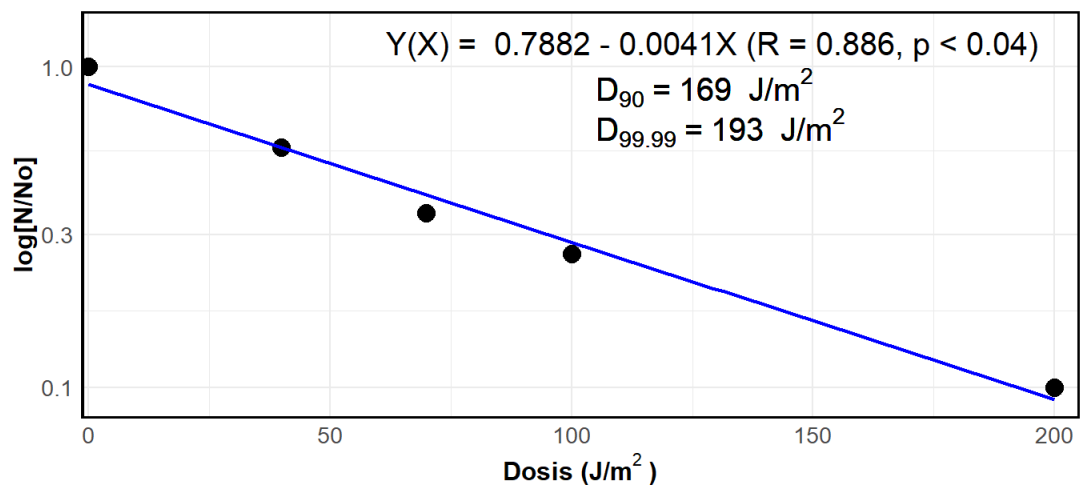


VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Apéndice C. Curva de radioresistencia de UIS-0814 cepa pigmentada.

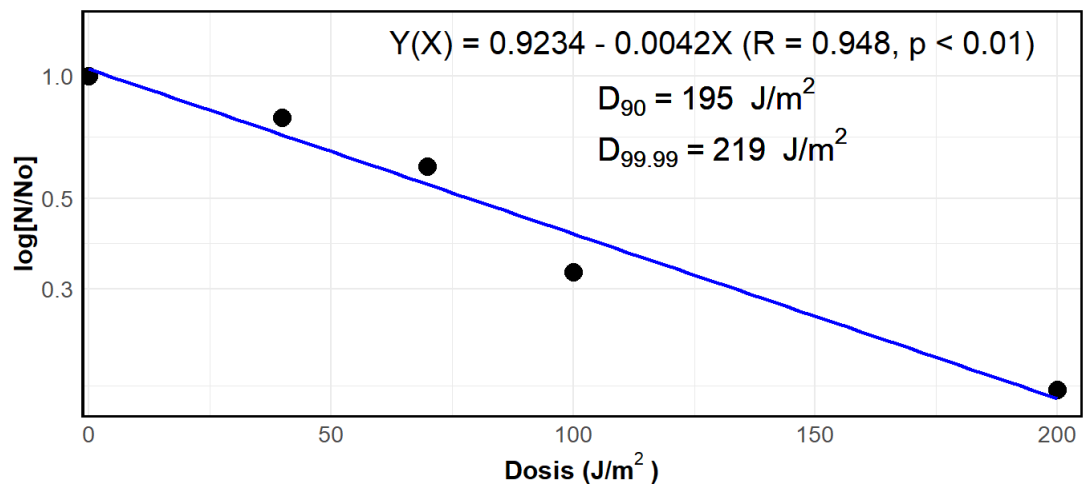


Apéndice D. Curva de radioresistencia de UIS-0923 cepa pigmentada.

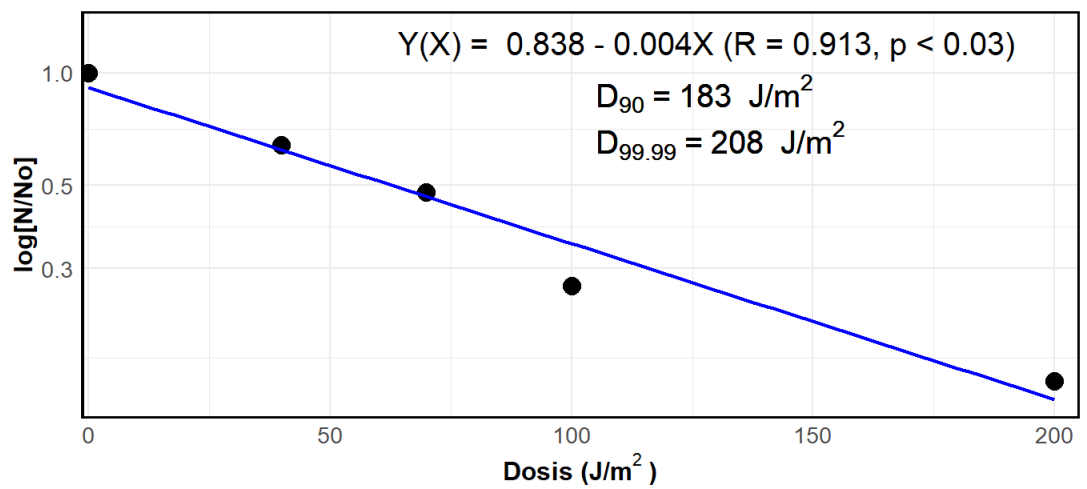


VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Apéndice E. *Curva de radioresistencia de UIS-0940 cepa pigmentada.*

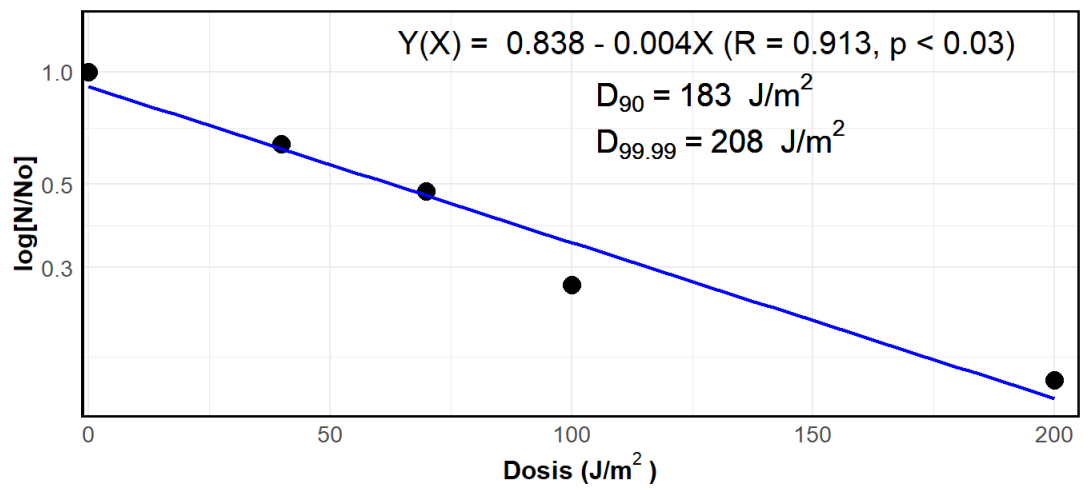


Apéndice F. *Curva de radioresistencia de UIS-1123 cepa no pigmentada.*

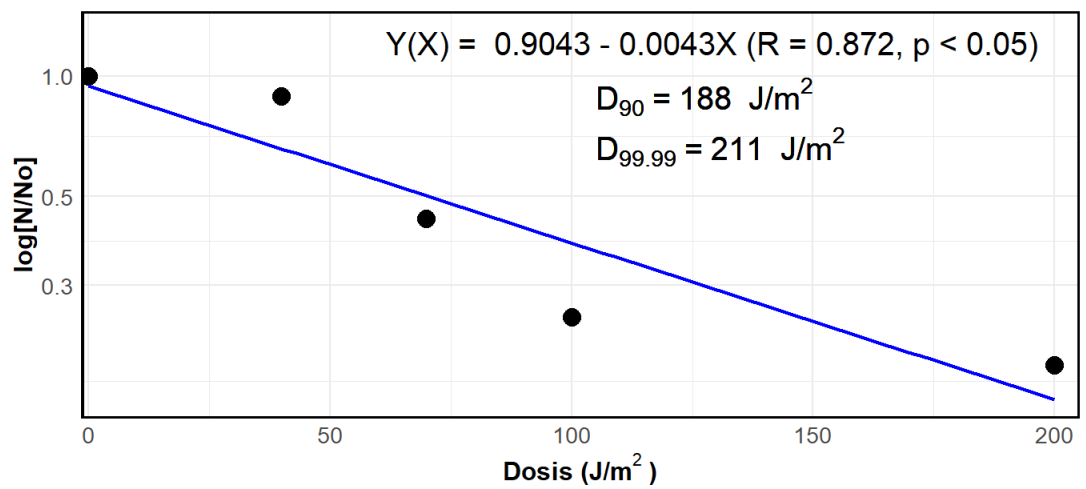


VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Apéndice G. *Curva de radioresistencia de UIS-1132 cepa no pigmentada.*

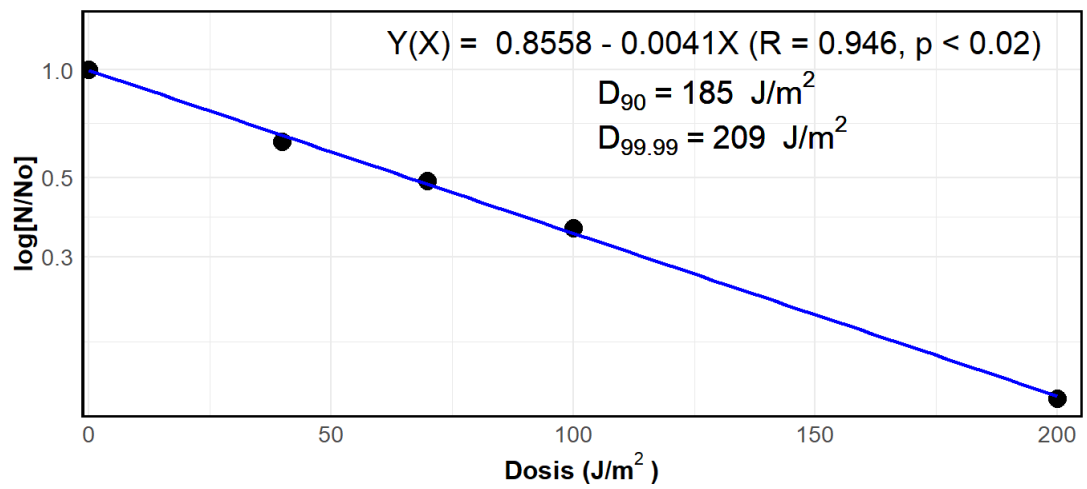


Apéndice H. *Curva de radioresistencia de UIS-1199 cepa no pigmentada.*

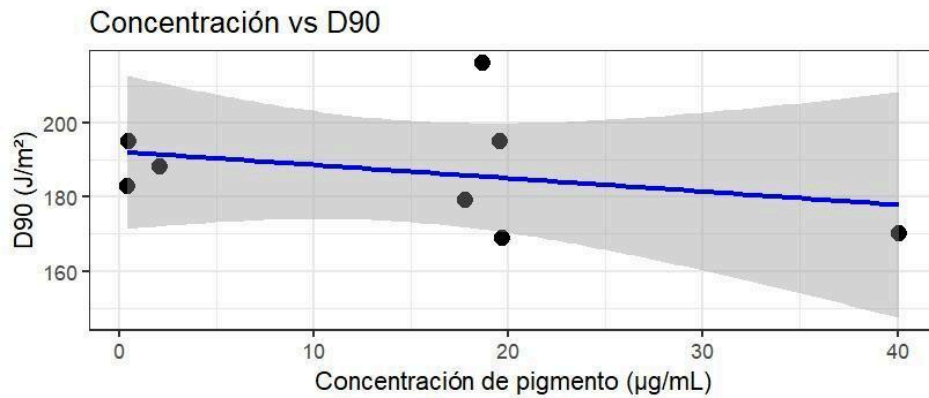


VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Apéndice I. Curva de radioresistencia de UIS-1200 cepa no pigmentada.



Apéndice J. Diagrama de dispersión de la relación entre la concentración de pigmento ($\mu\text{g/mL}$) y el valor D_{90} (J/m^2).



VIABILIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE LA RADIORESISTENCIA UV

Apéndice K. *Diagrama de dispersión de la relación entre la concentración de pigmento ($\mu\text{g}/\text{mL}$) y el valor $D_{99.99}$ (J/m^2).*

