

Estudio del Potencial Fotoprotector de Especies Bacterianas del Filo Actinomycetota

Carlos Adolfo Pedraza Barrera

Trabajo de Grado para Optar el título de Magíster en Biología

Director

Jorge Luis Fuentes Lorenzo

PhD. en Ciencias Agrícolas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Maestría en Biología

Bucaramanga

2024

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi madre, Luisa, por su apoyo incondicional y amor brindado durante esta etapa de mi vida.

Agradecimientos

A la Universidad Industrial de Santander por brindarme las instalaciones, el programa académico y el apoyo económico para culminar satisfactoriamente con el programa.

A la Escuela de Biología por acogerme como miembro de dicha unidad académica e impulsar mi carrera laboral y académica.

Al Grupo de Investigación en Microbiología y Genética por acogerme como miembro activo y participante de los proyectos de investigación.

Al profesor Jorge Luis por su sabiduría, apoyo, paciencia y guía brindada para el desarrollo de mi vida profesional, académica e investigativa.

A mis amigos y compañeros de laboratorio; Jhon, Flor y Silvia; por su amistad brindada y apoyo en todos estos años.

A mis padres y hermano por siempre creer en mí, apoyarme de forma incondicional y constante motivación.

Agradecemos el financiamiento del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, Ministerio de Educación, Ministerio de Industria, Comercio y Turismo e ICETEX, al Programa *Ecosistema Científico – Colombia científica*, del Fondo *Francisco José de Caldas*, Beca RC-FP44842-212-2018. El Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Colombia apoyó a la Universidad Industrial de Santander a través de permisos de acceso a recursos genéticos y derivados para bioprospección (Contrato N° 270).

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	11
1. Objetivos.....	14
1.1 Objetivo General.....	14
1.2 Objetivos Específicos.....	14
2. Métodos.....	15
2.1 Cepas bacterianas, cultivo y confirmación de identidad.....	15
2.2 Cinética de crecimiento bacteriano	16
2.3 Obtención de extractos bacterianos	18
2.4 Análisis espectrofotométrico de los extractos bacterianos	18
2.5 Determinación de la eficacia fotoprotectora <i>in vitro</i>	19
2.6 Fotoestabilidad de los extractos bacterianos.....	20
2.7 Pruebas de genotoxicidad de los extractos bacterianos	20
2.8 Ensayo de antigenotoxicidad de los extractos bacterianos	22
2.9 Análisis estadístico.....	22
3. Resultados	23
3.1 Identificación de cepas bacterianas.....	23
3.2 Curvas de crecimiento de las cepas bacterianas	25
3.3 Eficacia fotoprotectora y fotoestabilidad de los extractos bacterianos	28
3.4 Antigenotoxicidad de los extractos bacterianos.....	35
4. Discusión.....	39
5. Conclusiones	41

Referencias Bibliográficas 42

Anexos 53

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 <i>Lista de cepas bacterianas utilizadas en el estudio</i>	24
Tabla 2 <i>Lista de índices de crecimiento</i>	28
Tabla 3 <i>Lista de índices de fotoproteccion de los extractos evaluados</i>	34
Tabla 4 <i>Lista de índices de genotoxicidad y antigenotoxicidad de los extractos evaluados</i>	38
Tabla S1 <i>Lista de los extractos bacterianos estudiados</i>	53

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 <i>Cinética de crecimiento de los ecotipos 1 (A) y 2 (B) de C. acnes y de la cepa de M. paraoxydans (C).</i>	25
Figura 2 <i>Espectro de absorbancia UV-VIS de extractos obtenidos a partir de cepas de C. acnes (ecotipo 1). Las barras de error indican el error estándar de la media de al menos tres experimentos independientes (n = 3).</i>	29
Figura 3 <i>Espectro de absorbancia UV-VIS de extractos obtenidos a partir de cepas de C. acnes (ecotipo 2). Las barras de error indican el error estándar de la media de al menos tres experimentos independientes (n = 3).</i>	31
Figura 4 <i>Espectro de absorbancia UV-VIS de extractos obtenidos a partir de cepas de M. paraoxydans. Las barras de error indican el error estándar de la media de al menos tres experimentos independientes (n = 3).</i>	33
Figura 5 <i>Correlación entre la eficacia fotoprotectora UVB ($FPS_{\text{espectrofotométrico}}$) con las concentraciones de los extractos (A) y con las estimaciones del % de IG (B) en las especies de C. acnes.</i>	36
Figura 6 <i>Correlación entre la eficacia fotoprotectora UVB ($FPS_{\text{espectrofotométrico}}$) con las concentraciones de los extractos (A) y con las estimaciones del % de IG (B) en la cepa de M. paraoxydans.</i>	37
Figura S1 <i>Correlación entre el FPS y la concentración de cada extracto</i>	56

Listado de Anexos

	Pág.
Tabla S1 <i>Lista de los extractos bacterianos estudiados</i>	53
Figura S1 <i>Correlación entre el FPS y la concentración de cada extracto</i>	56

Resumen

Título: Estudio del potencial fotoprotector de especies bacterianas del filo Actinomycetota¹

Autor: Carlos Adolfo Pedraza Barrera²

Palabras clave: *Cutibacterium acnes*, *Microbacterium paraoxydans*, ecotipos bacterianos, tasa de crecimiento, luz ultravioleta, fotoprotección, antigenotoxicidad

Descripción: Se conoce que las actinobacterias producen diversos metabolitos secundarios con propiedades protectoras de la piel. El objetivo de este estudio fue investigar las propiedades fotoprotectoras y antigenotóxicas frente a los rayos UVB de extractos obtenidos a partir de cepas de *Cutibacterium acnes* y *Microbacterium paraoxydans*. El crecimiento bacteriano se midió espectrofotométricamente y se calculó la tasa de crecimiento máxima constante (μ) correspondiente a cada cepa. La eficacia fotoprotectora *in vitro* se evaluó mediante índices como el Factor de Protección Solar ($FPS_{\text{espectrofotométrico}}$) y la longitud de onda crítica (λ_c). También se evaluó la antigenotoxicidad UVB mediante el SOS Chromotest. Se utilizó el análisis de correlación para examinar la relación entre el $FPS_{\text{espectrofotométrico}}$, la concentración del extracto y los estimados de Inhibición de la Genotoxicidad (%IG). Entre las cepas estudiadas, nueve mostraron una eficacia de fotoprotección UVB media ($15,0 \leq FPS_{\text{espectrofotométrico}} \leq 29,9$) y una mostró eficacia de fotoprotección UVB baja ($6,0 \leq FPS_{\text{espectrofotométrico}} \leq 14,9$). Todas mostraron fotoprotección de amplio espectro ($\lambda_c > 370$ nm). Se constató dos ecotipos de *C. acnes* con tasas de crecimiento diferentes; pero los metabolitos protectores de sus extractos se produjeron sin influencia de la tasa de crecimiento. La eficacia fotoprotectora dependió de la concentración del extracto y estuvo correlacionada con su antigenotoxicidad. Se demostró que los extractos de *C. acnes* y *M. paraoxydans* pueden ser fuente de ingredientes de protectores solares que reducen la genotoxicidad inducida por los rayos UVB.

1- Trabajo de Grado

2- Facultad Ciencias, Escuela de Biología, Director: Jorge Luis Fuentes Lorenzo. PhD. en Ciencias Agrícolas.

Abstract

Title: Study of the photoprotective potential of bacterial species of the phylum Actinomycetota. ¹

Author: Carlos Adolfo Pedraza Barrera²

Keywords: *Cutibacterium acnes*, *Microbacterium paraoxydans*, bacteria ecotypes; growth rate; ultraviolet light; photoprotection; antigenotoxicity

Description: Actinobacteria are known to produce a variety of secondary metabolites with skin-protective properties. This study aimed to investigate the photoprotective and antigenotoxic properties against UVB of extracts obtained from *Cutibacterium acnes* and *Microbacterium paraoxydans* strains. Bacterial growth was measured spectrophotometrically and the constant maximum growth rate (μ) value to each strain, were calculated. *In vitro* photoprotection efficacy was evaluated using *in vitro* indices such as Sun Protection Factor ($SPF_{\text{spectrophotometric}}$) and critical wavelength (λ_c). UVB-antigenotoxicity was also evaluated using the SOS Chromotest. Correlation analysis was used to examine the relationship between $SPF_{\text{spectrophotometric}}$ and extract concentration and the %GI estimates. Among the studied strains, one showed low ($6.0 \leq SPF_{\text{spectrophotometric}} \leq 14.9$) and eight showed media ($15.0 \leq SPF_{\text{spectrophotometric}} \leq 29.9$) UVB photoprotection efficacy. All of them resulted in broad-spectrum (UVA–UVB) photoprotection ($\lambda_c > 370$ nm). In total, two *C. acnes* ecotypes with different growth rates were evidenced, but the protective metabolites in the extracts were produced without the influence of growth rate. Photoprotective efficacy depended on the extract concentration and was correlated with antigenotoxicity. We demonstrated that *C. acnes* and *M. paraoxydans* extracts can be used as sunscreen ingredients that reduce UVB-induced genotoxicity.

1- Degree Work

2- Faculty of Sciences. School of Biology. Director: Jorge Luis Fuentes Lorenzo. PhD. in Agricultural Sciences

Introducción

La fotoprotección es una estrategia preventiva para proteger la piel humana contra los rayos solares y evitar el cáncer y el fotoenvejecimiento (Islami et al., 2020). Los rayos UV de la luz solar que llegan a la superficie de la Tierra, como los ultravioleta A (320-400 nm) y los ultravioleta B (280-320 nm), causan daños en el ADN (por ejemplo, dímeros de ciclobutano pirimidina), que inician procesos inflamatorios y cáncer de piel (Ganesan & Hanawalt, 2016; Schuch et al., 2017). El uso de protectores solares es una de las estrategias más populares en fotoprotección (Guan et al., 2021). Los protectores solares contienen compuestos que actúan como filtros, absorbiendo o refractando la radiación UV (Jansen et al., 2013). Las propiedades relevantes de los filtros solares inorgánicos (por ejemplo, óxido de zinc y dióxido de titanio) y orgánicos (por ejemplo, derivados de la oxibenzona) utilizados comercialmente, han sido ampliamente revisadas (Yeager & Lim, 2019; Young et al., 2017).

Los microorganismos son una fuente poco explotada de productos naturales con potencial fotoprotector (Gabani & Singh, 2013). Los pigmentos producidos por diferentes clases microbianas han mostrado efectivas propiedades fotoprotectoras (Gao & Garcia-Pichel, 2011), siendo las Actinobacterias un grupo microbiano con alto potencial para este fin (Albarracín et al., 2016; Rasuk et al., 2017; Sánchez-Suárez et al., 2020). Entre la amplia diversidad de Actinobacterias, *Cutibacterium acnes* (basónimo: *Propionibacterium acnes*) (Scholz & Kilian, 2016) es uno de los principales residentes de la piel humana cuya interacción con otros patógenos microbianos (por ejemplo, *Staphylococcus epidermidis*) es esencial para el mantenimiento de una piel sana (Christensen & Brüggemann, 2013). Estas especies bacterianas son fundamentales para prevenir la colonización de otros patógenos nocivos, aunque también pueden actuar como

patógeno oportunista (por ejemplo, filotipo IA1 asociado al acné) en el acné vulgar (Claesen et al., 2020; Dréno et al., 2018). *Cutibacterium acnes* modula la secreción de IL-10 en células de linfocitos T cooperadores (Contassot & French, 2018) y produce enzimas que degradan sustancias derivadas de la piel (Brüggemann, 2005; Patrick & McDowell, 2015), lo que influye positivamente en la viabilidad de monocitos y queratinocitos expuestos a estrés oxidativo (Allhorn et al., 2016; Andersson et al., 2019). El ácido propiónico (o propionato), el principal metabolito de la fermentación de *C. acnes* (Christensen & Brüggemann, 2013), tiene propiedades antimicrobianas (Nakamura et al., 2020), revierte los efectos oxidativos de la radiación ultravioleta (UV) (Souak et al., 2021), inhibe la hiperpigmentación o melanogénesis inducida por radiación UV en la piel de ratón (Kao et al., 2021) y regula las propiedades inmunotolerantes en células B humanas (Tian et al., 2022). Todas estas propiedades demuestran que los metabolitos lipofílicos producidos por *C. acnes* modulan diferentes vías implicadas en el mantenimiento de una piel sana, y estas moléculas podrían utilizarse para la preparación de protectores solares cosméticos polifuncionales útiles para la protección de la piel humana. Por otra parte, la especie *Microbacterium paraoxydans* es otra Actinobacteria inicialmente aislada de sangre de pacientes humanos con Leucemia (Laffineur et al., 2003). Estudios recientes mostraron que esta especie produce pigmentos con potencial fotoprotector; mostrando una estrecha relación entre la producción del pigmento y la radio-resistencia de la especie (Reis-Mansur et al., 2019).

Aunque *C. acnes* y *M. paraoxydans* fueron descritas originalmente como un residente de la piel y sangre humana, respectivamente, estudios más recientes han identificado estas especies en hábitats del subsuelo profundos como mantos de carbón (Guo et al., 2012; B. Liu et al., 2019) y volcanes de lodo (Yakimov et al., 2002; Yang et al., 2012). Se desconoce el papel de *C. acnes* y *M. paraoxydans* en tales hábitats, pero la naturaleza metanogénica de estos hábitats sugiere que *C.*

acnes podría participar en la biodegradación de ligninas en compuestos que son sustratos para la metanogénesis (Tamamura et al., 2016).

Un estudio anterior aisló, caracterizó y conservó cepas específicas de *C. acnes* y de *M. paraoxydans* nativas de hábitats subsuelo profundo en Colombia (Fuentes et al., 2023). El objetivo del presente trabajo fue el siguiente **(i)** establecer las curvas cinéticas de crecimiento de los ecotipos de *C. acnes* y de *M. paraoxydans*, así como, el procedimiento para producir extractos bacterianos, **(ii)** evaluar la capacidad de absorción de radiación UV de los extractos obtenidos a partir de la cepa *C. acnes* mediante índices de eficacia de protección *in vitro* (FPS *in vitro* y λ_c), **(iii)** evaluar la propiedad antigenotoxicidad de estos extractos mediante el SOS Chromotest, y **(iv)** estudiar la correlación entre la eficacia de protección UVB *in vitro* (FPS *in vitro*) y las estimaciones de antigenotoxicidad de estos extractos bacterianos.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Identificar bacterias del filo Actinomycetota con propiedades protectoras frente al daño genotóxico producido por la UVB.

1.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la absorbancia de los extractos bacterianos en el rango espectral UV mediante el método espectrofotométrico.

- Determinar la eficacia fotoprotectora de los extractos como filtros solares usando diferentes métodos *in vitro* de protección solar.

- Evaluar la genotoxicidad de extractos bacterianos usando el ensayo *SOS Chromotest*.

- Estimar el potencial antigenotóxico de los diferentes extractos bacterianos frente a daño inducido al ADN por radiación UVB mediante el ensayo *SOS Chromotest*.

- Relacionar los resultados de la eficacia fotoprotectora con los estimados de inhibición de la genotoxicidad inducida por radiación UVB.

2. Métodos

2.1 Cepas bacterianas, cultivo y confirmación de identidad

Se estudiaron diez cepas bacterianas obtenidas a partir de muestras de minas de carbón y volcanes de lodo, que se conservan en la colección microbiana "Cepario LMMA-UIS (<https://doi.org/10.15472/uq6pal>) (Tabla 1). Las cepas criopreservadas de la colección se activaron cultivándolas en medio líquido RCM (Oxoid, Basingstoke, Hampshire), durante 5-7 días a 37 °C y en condiciones anaeróbicas (5% CO₂) en una incubadora Midi 40 (Thermo Scientific, Waltham, EE. UU.). Su pureza se comprobó mediante tinción de Gram.

Para confirmar su identidad, se realizaron extracciones de ADN de cultivos bacterianos siguiendo la metodología propuesta por Liu (2009), y su calidad y concentración, se comprobaron con un espectrofotómetro. La amplificación del gen 16S rRNA bacteriano se realizó utilizando cebadores universales forward 530F (5'-GTCCCAGCMGCCGCGG-3') y reverse 1490R (5'-GGTT ACCTTGTT ACGACTT-3') (Wani et al., 2006). La mezcla de reacción (25 µL) fue la siguiente: 2,5 µL de tampón 10X, 6,2 µL de dNTP (2 mM), 0,4 µL de cada cebador (100 µM), 0,4 µL de DreamTaq™DNA Polymerase (Fermentas, EE. UU.), 5 µL de ADN molde (5 ng/µL) y 10,1 µL de agua destilada. La amplificación se realizó utilizando un termociclador MasterCycler®Pro-Realplex4 (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). Tras un paso inicial de desnaturalización de 3 minutos a 94 °C, se realizaron 35 ciclos de PCR, cada uno de ellos consistente en 45 s a 94 °C, 1 min a 55 °C y 1 min a 72 °C, finalizando con una extensión a 72 °C durante 5 min. Los productos de la PCR se resolvieron en un gel de agarosa al 0,8% (p/v) que contenía colorante de ADN EZ-Vision (Amresco, Solon, Ohio, EE. UU.), y las imágenes se registraron con un sistema de imágenes DigiGenius (Syngene, Maryland, EE. UU.). Los productos amplificados se purificaron utilizando

PCR Clean-Up Systems (Promega Corp, Wisconsin, EE. UU.) y se secuenciaron utilizando el método de Sanger, el analizador genético Hitachi 3500 de Applied Biosystems (Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, EE. UU.) y los protocolos del fabricante. Cada muestra se secuenció al menos dos veces utilizando amplicones directos e inversos.

Las secuencias parciales de ARNr 16S se alinearon primero para determinar las regiones informativas y descartar los extremos de secuencia con variabilidad errónea utilizando el programa BioEdit V7.2.5 (T. Hall, 1999). Las secuencias editadas se compararon con las almacenadas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov). Se aplicó el algoritmo BLAST (Altschul et al., 1990) para identificar las secuencias de especies más cercanas.

Las asignaciones de secuencias taxonómicas se realizaron utilizando valores de identidad mínimos del 98,7% (Stackebrandt & Ebers, 2006).

2.2 Cinética de crecimiento bacteriano

Se sembraron cultivos puros por triplicado en medio RCM fresco para establecer la cinética de crecimiento de cada cepa bacteriana en condiciones anaerobias, sin agitación a 37°C en una incubadora MLW (Wolfsburgo, Alemania). La densidad óptica de los cultivos a 600 nm (DO_{600}) se midió a intervalos de 24 horas durante 7 días, en una cubeta de cuarzo utilizando un espectrofotómetro Multiskan GO (Thermo Scientific). Los valores medios de DO_{600} para cada tiempo de cultivo evaluado se trazaron utilizando la plataforma R (<http://www.R-project.org>). Además, los valores medios de DO_{600} correspondientes a la fase exponencial de crecimiento de cada cepa se utilizaron para calcular los valores de la tasa de crecimiento máxima o constante (μ) de la siguiente manera:

$$\mu (h^{-1}) = \ln(N_i/N_0) / (t_i - t_0) = \ln N_i - \ln N_0 / t_i - t_0$$

donde N_i y N_0 son el crecimiento celular (DO_{600}) en los tiempos i y cero, respectivamente (Hall et al., 2014).

Por lo tanto, el aumento del número de células es una función exponencial del tiempo. El valor μ promedio se calculó de la siguiente manera:

$$\mu_{max} = \sum_i^n \mu_i/n$$

donde i es la tasa de crecimiento a i -ésimo intervalo a partir de la fase de curva lineal y n es el número de intervalos.

Dado

que:

$$\mu_{max} = \ln 2/g$$

el tiempo de generación (g) fue el siguiente:

$$g = 0,693/\mu_{max}$$

Para cada especie bacteriana, el tiempo de generación medio (g_{ave}) fue el siguiente:

$$g_{ave} = \sum_i^n g_i/n$$

donde g_i es el tiempo de generación en la cepa i , n es el número de cepas. El valor medio de μ en cada cepa y sus errores estándar correspondientes se trazaron utilizando el programa Growthcurver (Sprouffske & Wagner, 2016) en la plataforma R (<http://www.R-project.org>).

2.3 Obtención de extractos bacterianos

Los cultivos microbianos (50 mL) se cultivaron hasta la fase estacionaria en frascos de vidrio durante 7 días. Los cultivos se transfirieron a tubos cónicos de plástico, se trataron con ultrasonidos durante 1 h a 25 °C utilizando un baño ultrasónico E + EP30 H (Elmasonic, Amazon, EE. UU.), y se centrifugaron a 5000 g durante 10 min en una microcentrifugadora modelo 5424R (Eppendorf Ltda, São Paulo, Brasil). Finalmente, los sobrenadantes (~50 mL) se filtraron utilizando filtros Millipore de 0,22 μm (Millipore, Burlington, Massachusetts) y se liofilizaron en viales de vidrio utilizando un liofilizador de bandeja Advantage Plus (Virtis Co., NY, EE. UU.). Los extractos liofilizados se pesaron, se disolvieron en 5 mL de agua destilada (p/v) y se almacenaron en un congelador Thermo Scientific ®Series-86 DEG C (Thermo Scientific). Se determinó la concentración (mg/mL) de cada extracto liofilizado.

2.4 Análisis espectrofotométrico de los extractos bacterianos

Las mediciones de los espectros de absorbancia UV (entre 200 y 400 nm) de las concentraciones de extracto bacteriano (0,003-10,41 mg/mL) se realizaron utilizando la función SkanIt 3.2 de un espectrofotómetro Multiskan GO (Thermo Scientific). Las mediciones de absorbancia de las soluciones (1,5 mL) se realizaron por triplicado en una cubeta de cuarzo (Hellma Analytics, ASchaffenburg, Alemania) con las siguientes especificaciones: grosor del vidrio (1,5 mm), longitud (5 cm), anchura (1 cm), profundidad (1 cm) y capacidad o volumen total (3,5 mL). En todos los casos, el medio RCM preparado a diluciones equivalentes de extracto bacteriano se utilizó como blanco para las mediciones. Los valores medios de absorbancia obtenidos para el rango espectral UV y sus correspondientes errores estándar se trazaron considerando un paso de $\lambda = 10$ nm y utilizando la plataforma R (<http://www.R-project.org>).

2.5 Determinación de la eficacia fotoprotectora *in vitro*

Para cada extracto bacteriano, la eficacia fotoprotectora UVB se estimó utilizando el factor de protección solar (FPS *in vitro*) descrito por Sayre et al. (1979) y simplificado por Mansur et al. (1986) como sigue:

$$FPS_{\text{espectrofotométrico}} = FC * \sum_{290}^{320} EE(\lambda) * I(\lambda) * A(\lambda)$$

donde $EE(\lambda)$ es el espectro de efecto eritematoso a la longitud de onda λ , $I(\lambda)$ es la intensidad solar (irradiancia) a la longitud de onda λ , $A(\lambda)$ es la absorbancia de la solución de extracción determinada por espectrofotometría UV a una longitud de onda (λ), y FC es el factor de corrección (FC = 10). Los valores de $EE(\lambda)$ x I son constantes (Sayre et al., 1979). La eficacia protectora de amplio espectro se determinó calculando la longitud de onda crítica (Diffey, 1994):

$$\lambda C = \int_{290}^{\lambda C} A(\lambda) d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A(\lambda) d\lambda$$

donde $A(\lambda)$ es la absorbancia a la longitud de onda λ , λc es la longitud de onda crítica (nm) y $d\lambda$ es el paso de longitud de onda (1 nm). Los valores de $FPS_{\text{espectrofotométrico}}$ se clasificaron en categorías según las directrices de la Asociación Europea de Cosmética y Perfumería (COLIPA, 2011) de la siguiente manera: sin protección ($0,0 \leq FPS_{in vitro} \leq 5,9$), baja protección ($6,0 \leq FPS_{\text{espectrofotométrico}} \leq 14,9$), protección media ($15,0 \leq FPS_{\text{espectrofotométrico}} \leq 29,9$), protección alta ($30,0 \leq FPS_{\text{espectrofotométrico}} \leq 59,9$) y protección muy alta ($FPS_{\text{espectrofotométrico}} \geq 60,0$). Para la protección de amplio espectro, se consideraron los extractos con valores de eficacia protectora ($FPS_{\text{espectrofotométrico}} \geq 15$, $\lambda c > 370$ nm) de acuerdo con la normativa de la Food and Drug Administration (FDA, 2011; Lionetti & Rigano, 2017).

2.6 Fotoestabilidad de los extractos bacterianos

Para determinar la fotoestabilidad de los extractos bacterianos, estos se irradiaron con diferentes dosis de radiación UVB. En cada caso, se colocó 1 mL de la solución con la mayor concentración del extracto en placas Petri de 9 cm de diámetro para obtener una capa de ~1,1 mm de espesor. La irradiación se realizó en una cámara de irradiación UVA (320-400 nm) / UVB (280-315 nm) BS-02 (Dr. Grobel UV-Elektronik GmbH, Alemania); equipada con un controlador de radiación UV-MAT de la misma casa comercial. Funcionando al 100% de intensidad, las lámparas UVB de la cámara de irradiación tienen una irradiancia de 4 Mw/cm². Las dosis de radiación UVB aplicadas son dosis mínimas de eritema (MDE) en humanos según la escala cutánea de Fitzpatrick (Valbuena et al., 2020). Éstas fueron las siguientes: Tipo I (0,035 J/cm² = 350 J/m²), Tipo II (0,056 J/cm² = 560 J/m²), Tipo III (0,070 J/cm² = 700 J/m²) y Tipo IV (0,084 J/cm² = 840 J/m²). La fotoestabilidad relativa de los extractos se expresó como el porcentaje de eficacia (FE_{UVB}) del FPS_{espectrofotométrico} tras la exposición a la radiación UVB y se calculó como sigue:

$$FE_{UVB} = \frac{FPS_{después\ de\ irradiación}}{FPS_{antes\ de\ irradiación}} * 100$$

(Mejía-Giraldo et al., 2016).

2.7 Pruebas de genotoxicidad de los extractos bacterianos

Antes de estudiar la antigenotoxicidad de los extractos bacterianos, es necesario determinar si son genotóxicos en el modelo de estudio. El ensayo SOS Chromotest (Quillardet et al., 1982) se efectuó utilizando la cepa *Escherichia coli* PQ37 (*F* *thr leu his-4 pyrD thi galE galK o galT lac* Δ *U169 srl300::Tn10 rpoB rpsL rfa trp::Muc + sfiA::Mud(Ap, lac) cts.*), que se cultivó durante la noche en medio Luria-Bertani (Amresco) suplementado con ampicilina (50 µg/mL) y tetraciclina

(17 $\mu\text{g}/\text{mL}$), a 37 °C con agitación (300 rpm) en un incubador MaxQ 4450 (Thermo Scientific). A continuación, el cultivo se diluyó en medio fresco y se cultivó en las condiciones experimentales descritas anteriormente hasta que alcanzó una densidad óptica de 0,4 a 600 nm. El cultivo en fase exponencial se diluyó 10 veces en medio fresco y se dispensó (150 μL) en tubos de microcentrífuga que contenían volúmenes iguales de soluciones con concentraciones dobles de los extractos que se iban a analizar (0,003-10,41 mg/mL). Las suspensiones se incubaron durante 30 min a 8 °C para la incorporación del extracto a la célula, y después durante 2 h a 37 °C para la recuperación celular y la inducción del gen reportero (β -gal). Cada tratamiento se probó por triplicado, y se incluyeron controles negativos (agua destilada) y positivos (2,34 μM de 4-nitro-quinolina-1-óxido-4NQO) para la genotoxicidad. Los ensayos de β -galactosidasa (βG) y fosfatasa alcalina (FA) se realizaron en microplacas Brand de 96 pocillos (Wertheim, Alemania) según lo descrito por Quintero et al. (2017). Las actividades βG y FA se calcularon mediante la siguiente relación: unidades enzimáticas = $(1000 * \text{DO}_{420}) / t$, donde OD 420 es la densidad óptica a $\lambda=420$ nm y t es el tiempo de incubación (min) con el sustrato (o-nitrofenil- β -D-galactopiranosido [ONPG] o p-nitrofenil fosfato disódico [PNPP]). La relación $R = \beta\text{G}/\text{AP}$ refleja la inducción del gen *sulA*, aunque haya una inhibición de la síntesis de proteínas. El criterio de genotoxicidad utilizado fue el factor de inducción SOS (I), que representa la inducción normalizada del gen *sulA* en cada tratamiento; por lo tanto, se consideró una medida indirecta del daño primario del ADN (genotoxicidad) inducido por los tratamientos. Este parámetro se calculó como $I = R_t / R_{nt}$, donde t y nt son células tratadas y no tratadas, respectivamente. Las muestras se clasificaron como no genotóxicas si $I < 1,5$, no concluyentes si I estaba entre 1,5 y 2,0, y genotóxicas si $I > 2,0$; así como, la existencia de una relación clara entre la concentración y el daño genético (Cediel Becerra et al., 2022).

2.8 Ensayo de antigenotoxicidad de los extractos bacterianos

Se realizó un ensayo de antigenotoxicidad utilizando el procedimiento de coincubación (Fuentes et al., 2006). Las células se trataron simultáneamente con los extractos bacterianos y 10 J/m² de radiación UVB y se cultivaron durante 2 h a 37 °C con agitación (300 rpm), utilizando una incubadora Thermomixer (Eppendorf). Cada ensayo incluyó siempre controles negativos (agua destilada) y positivos (10 J/m² de radiación UVB) de genotoxicidad. Se realizaron un mínimo de cuatro experimentos independientes por tratamiento. Las actividades βG y AP se ensayaron como se indica en la sección anterior. La antigenotoxicidad (la capacidad del extracto para proteger contra la genotoxicidad inducida por la radiación UVB) se midió como una reducción significativa del factor de inducción (I) en el tratamiento de coincubación y se expresó como porcentaje de inhibición de la genotoxicidad: $\%IG = 1 - (I_{ct} - I_{nt} / I_{UVB} - I_{nt}) * 100$, donde I_{ct} es el factor de inducción SOS en el procedimiento de coincubación; I_{nt} es el factor de inducción SOS en las células no tratadas, e I_{UVB} es el factor de inducción SOS en las células tratadas con UVB. Los valores negativos de %IG se consideraron cero; por tanto, este parámetro osciló entre un mínimo de 0% y un máximo de 100%. La concentración mínima que produjo una inhibición de la genotoxicidad (CGI) significativa ($p < 0.05$) en las células PQ37, se utilizó para comparar el potencial antigenotóxico de los extractos.

2.9 Análisis estadístico

Se calcularon los valores de DO_{600} , $FPS_{\text{espectrofotométrico}}$, λ_c , FE_{UVB} , I , y %IG y sus correspondientes errores estándar. En todos los casos, los datos superaron las pruebas de Kolmogórov-Smirnov y F-máximo para la normalidad y la homogeneidad de la varianza, respectivamente; por lo tanto, pruebas paramétricas se utilizaron en el análisis a posteriori de los datos. Cuando se obtuvo un valor F significativo en un análisis de varianza unidireccional

(ANOVA), los grupos se compararon posteriormente mediante la prueba de Tukey. Se utilizó el análisis de correlación de Pearson para examinar la relación entre la concentración de los extractos bacterianos, el índice $FPS_{\text{espectrofotométrico}}$ y los valores de %IG. Para todos los análisis estadísticos, se consideró $p < 0,05$. Todos los análisis se realizaron utilizando la plataforma R (<http://www.R-project.org>).

3. Resultados

3.1 Identificación de cepas bacterianas

Las secuencias del gen 16S rRNA microbiano con una cobertura de consulta BLAST del 100% y un valor de identidad superior al 80% se depositaron en la base de datos GeneBank con los números de acceso indicados en la Tabla 1 y se compararon con las secuencias de las especies en el NCBI.

Tabla 1

Lista de cepas bacterianas utilizadas en el estudio

Se indicaron los códigos de la colección de cultivos y de la base de datos de secuencias del NCBI, así como información sobre la identidad de las secuencias.

Origen	Código Colección	Asignación taxonómica (código NCBI)	Tamaño de secuencias (pb)	Secuencia NCBI †	Identidad‡ (%)
Mina de Carbón, Cundinamarca Colombia	UIS0050	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178133.1)	788	CP044255.1	98.90%
	UIS0065	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178134.1)	846	CP044255.1	99.18%
	UIS0066	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178135.1)	898	CP044255.1	99.89%
	UIS0068	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178136.1)	938	CP044255.1	100.0%
	UIS0069	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178137.1)	800	CP044255.1	99.25%
	UIS0070	<i>Microbacterium paraoxydans</i> (MT178143.1)	919	LT629770.1	99.78%
	UIS0209	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178139.1)	859	CP044255.1	98.84%
Volcanes de Lodo, Córdoba Colombia	UIS0210	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178140.1)	957	CP044255.1	98.75%
	UIS0211	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178141.1)	900	CP044255.1	99.67%
	UIS0212	<i>Cutibacterium acnes</i> (MT178142.1)	980	CP044255.1	99.29%

Las asignaciones de secuencias de taxones se realizaron utilizando valores mínimos de identidad del 98,7%. (Stackerbrandt and Ebers 2006).

†: La mejor secuencia genómica completa coincidente encontrada en la base de datos del NCBI.

‡: La identidad se refiere al porcentaje de coincidencias con la secuencia alineada de la base de datos NCBI.

Este análisis demostró que nueve secuencias de cepas bacterianas (MT178133.1-MT178142.1) tenían valores de identidad entre el 98,75% y el 100,0% con la secuencia de *C. acnes* ATCC-6919 (CP044255.1). En resumen, las cepas bacterianas nativas de ambientes subsuperficiales (minas de carbón y volcán de lodo) corresponden a la especie *C. acnes*.

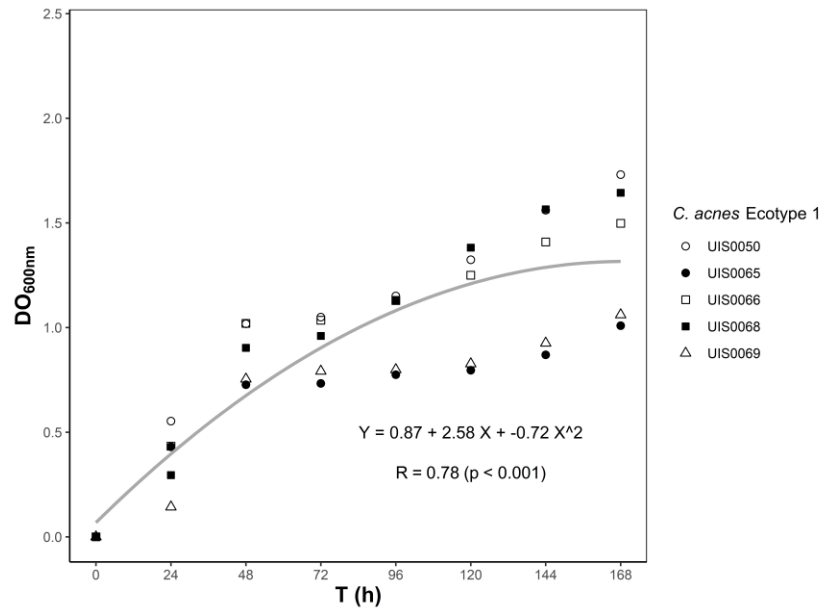
3.2 Curvas de crecimiento de las cepas bacterianas

La cinética de crecimiento de las cepas de *C. acnes* y *M. paraoxydans* se muestra en la Fig. 1. Las curvas de crecimiento de *C. acnes* presentaron un crecimiento bifásico con diferencias de ajuste para las cepas que habitaban en entornos de minas de carbón (UIS0050-UIS0069) y volcanes de lodo (UIS0209-UIS0212). La fase lineal de estas curvas de crecimiento ($Y = a - bx$) nos permitió calcular tasas de crecimiento específicas (μ_{\max}) con valores para las cepas de las minas de carbón entre 0,003 y 0,006/h.

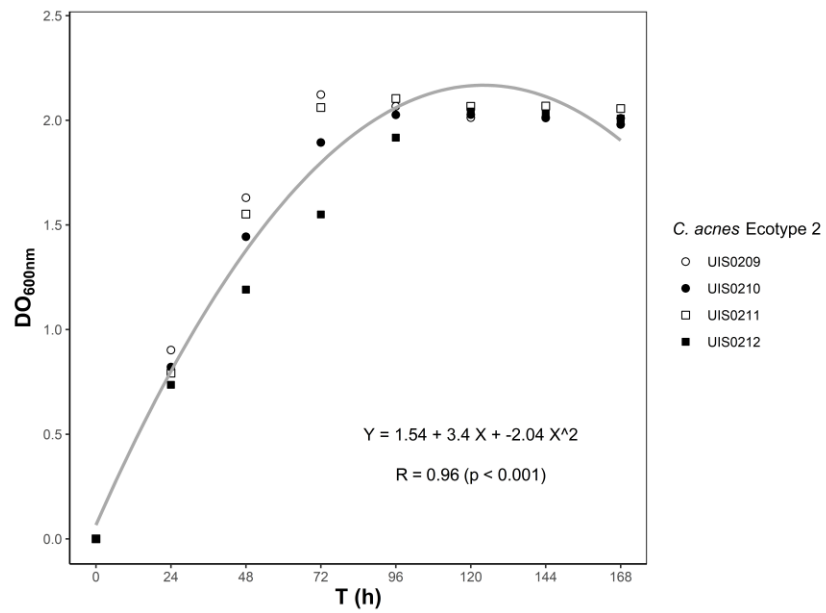
Figura 1

Cinética de crecimiento de los ecotipos 1 (A) y 2 (B) de C. acnes y de la cepa de M. paraoxydans (C)

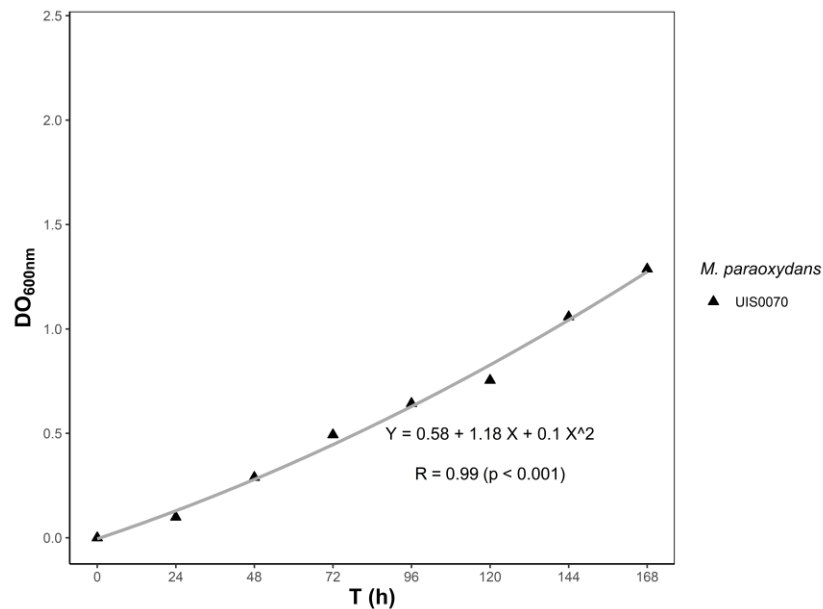
A



B



C



El tiempo de generación (g) de estas cepas bacterianas se situó entre 115 y 231 h, con un valor medio de 178 ± 57 (Tabla 2). Esto indicó una tasa de crecimiento constantemente baja para el *C. acnes* ecotipo 1 que habita en las minas de carbón. En cambio, las tasas de crecimiento (μ_{\max}) para las cepas de volcanes de lodo resultaron con valores entre 0,011 y 0,020/h, lo que fue un orden decimal superior al observado en las cepas de las minas de carbón. Para las cepas *C. acnes* ecotipo 2 de volcanes de lodo, los tiempos de generación (g) oscilaron entre 34 y 63 h, con un valor medio de 48 ± 9 . Este valor fue 3,7 veces mayor que el de las cepas de la mina de carbón. Los valores μ_{\max} de los ecotipos de *C. acnes* fueron prácticamente constantes durante la fase lineal, y sus límites de confianza se muestran en la figura suplementaria S1. Los rendimientos del extracto liofilizado para el ecotipo 1 de *C. acnes* de la mina de carbón se situaron entre 112 y 312 mg/mL; sin embargo, los rendimientos fueron consistentemente menores en el ecotipo 2 de *C. acnes* del volcán de lodo (25-150 mg/mL). Por lo tanto, el rendimiento del extracto en estas cepas de *C. acnes* no estuvo relacionado con sus tasas de crecimiento.

Tabla 2*Lista de índices de crecimiento*

Se indican la tasa máxima de crecimiento (μ_{\max}) con su error estándar (EE) y el tiempo medio de generación (g) de cada cepa bacteriana. También se indican los rendimientos de extracto liofilizado (Y) obtenidos para cada cepa.

Código Colección	Función lineal	R	$\mu_{\max} \pm EE$	g (h)	Y (mg/mL)
UIS0050	$Y = -0.0001x + 0.0191$	0,279	0.005 ± 0.001	138.6	151 ± 90
UIS0065	$Y = -8E-05x + 0.0149$	0,212	0.003 ± 0.002	231.0	185 ± 84
UIS0066	$Y = -0.0002x + 0.0282$	0,370	0.004 ± 0.001	173.2	312 ± 269
UIS0068	$Y = -8E-05x + 0.0149$	0,212	0.006 ± 0.003	115.5	148 ± 40
UIS0069	$Y = -0.0004x + 0.0537$	0,369	0.003 ± 0.002	231.0	112 ± 114
UIS0209	$Y = -0.0002x + 0.0257$	0,641	0.011 ± 0.008	63.0	116 ± 87
UIS0210	$Y = -0.0002x + 0.0265$	0,773	0.017 ± 0.008	40.8	150 ± 100
UIS0211	$Y = -0.0002x + 0.0296$	0,685	0.020 ± 0.011	34.6	73 ± 52
UIS0212	$Y = -0.0002x + 0.0253$	0,916	0.013 ± 0.006	53.3	25 ± 81
UIS0070	$Y = -0.0003x + 0.045$	0,626	0.018 ± 0.003	51.7	27 ± 15

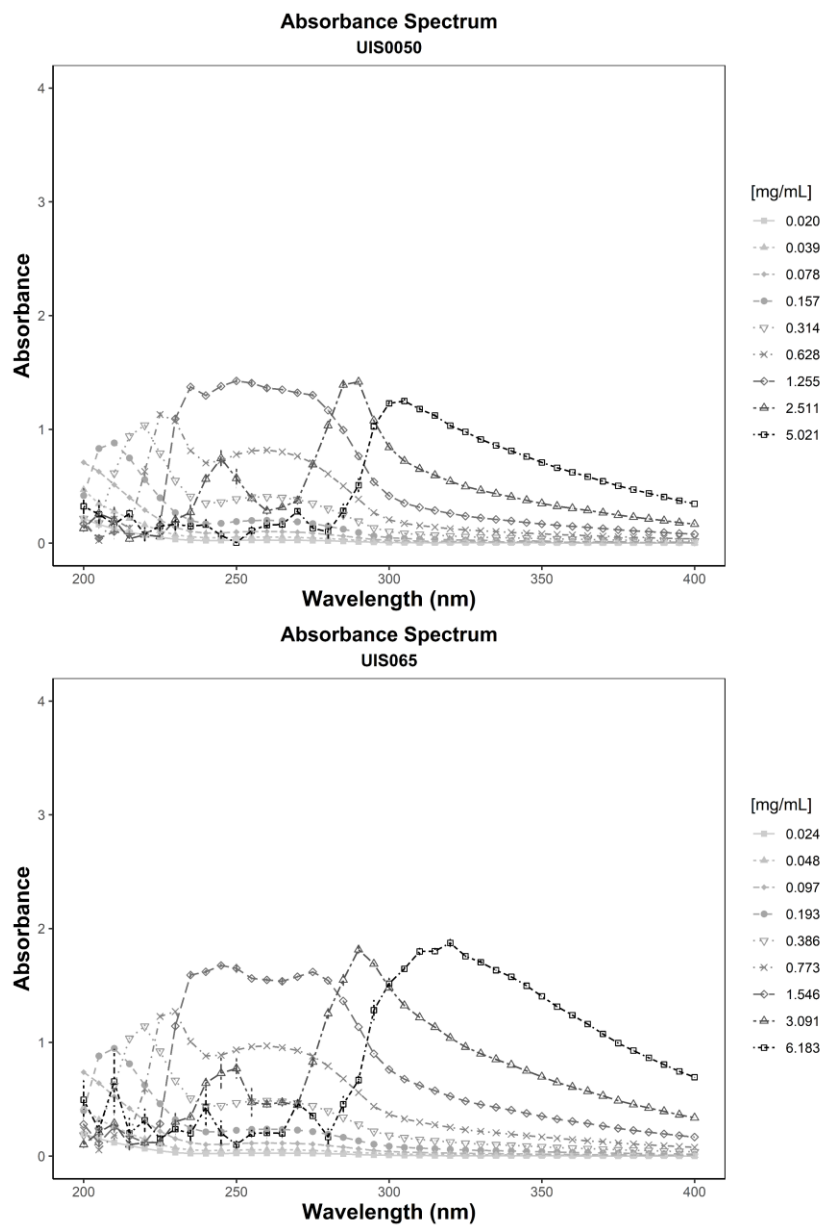
Por su parte, la curva de crecimiento de la especie cepa *M. paraoxydans* fue claramente exponencial con valores de $\mu_{\max} = 0.018 \pm 0.003$ y con un tiempo de generación de aproximadamente 52 h.

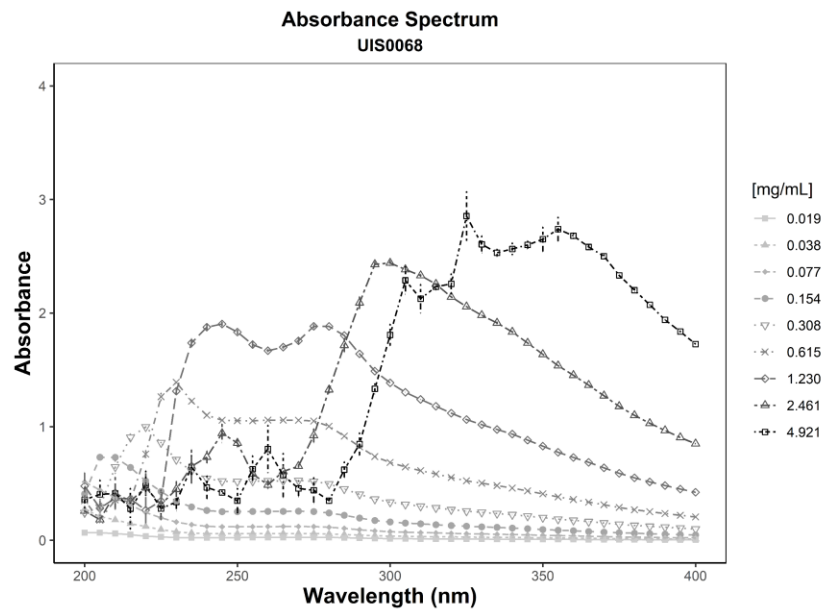
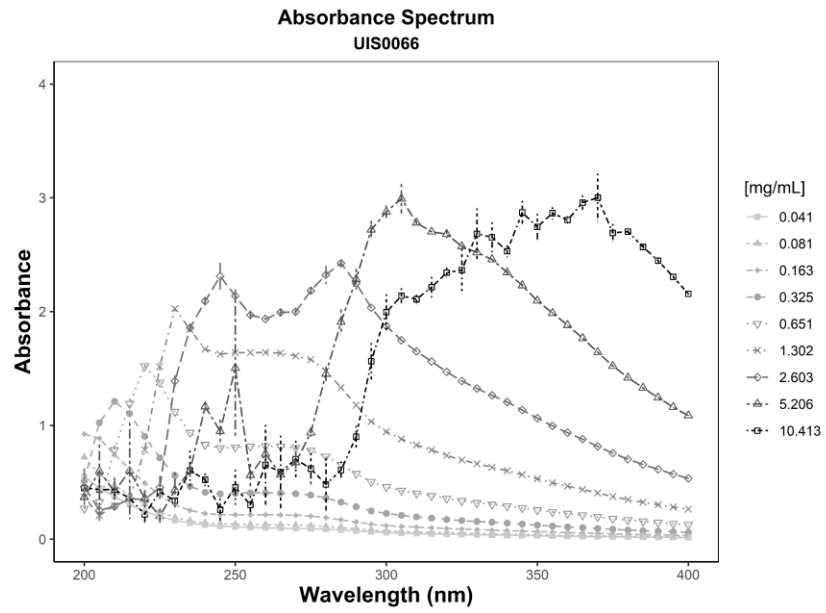
3.3 Eficacia fotoprotectora y fotoestabilidad de los extractos bacterianos

Los espectros de absorbancia UV correspondiente a los extractos de las cepas bacterianas estudiadas, se muestran en las Figuras 2, 3 y 4. En todos los casos, se observaron altos niveles de absorbancia a lo largo del espectro UV con picos de absorbancia prominentes a λ de 240, 280, 290 y 360 nm, que dependen de la concentración de los extractos de las cepas bacterianas y de la especie.

Figura 2

Espectro de absorbancia UV-VIS de extractos obtenidos a partir de cepas de C. acnes (ecotipo 1). Las barras de error indican el error estándar de la media de al menos tres experimentos independientes ($n = 3$).





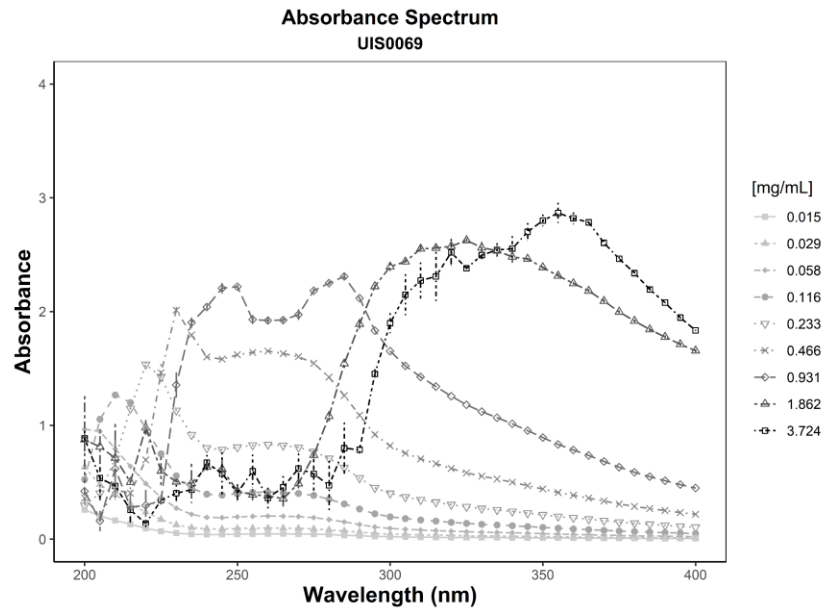
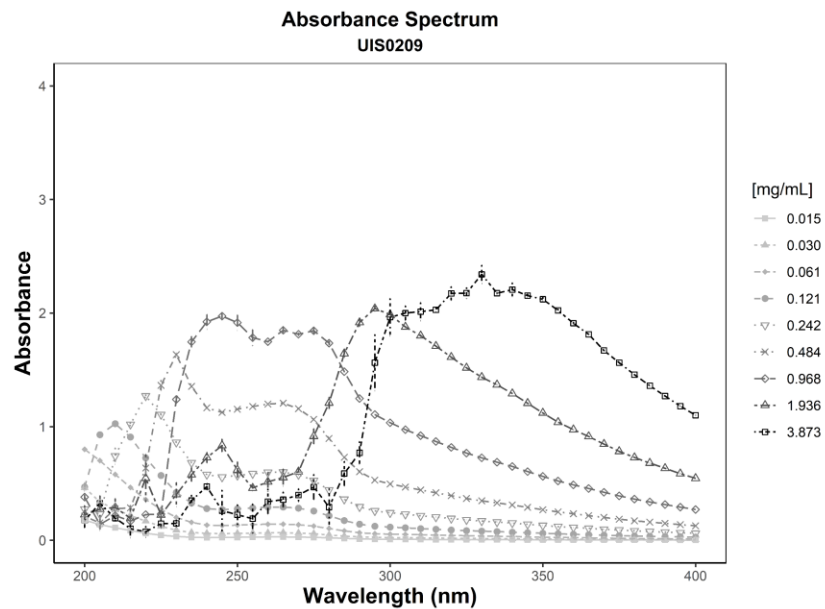
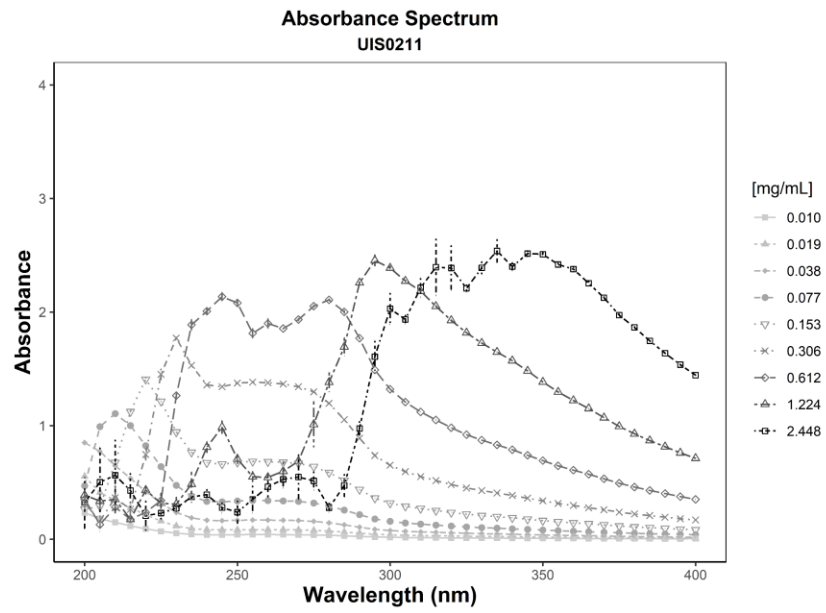
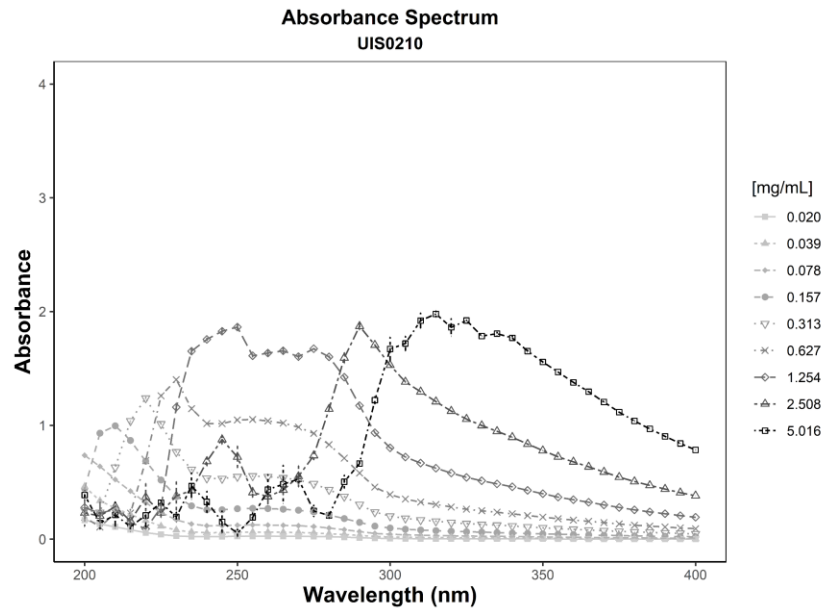
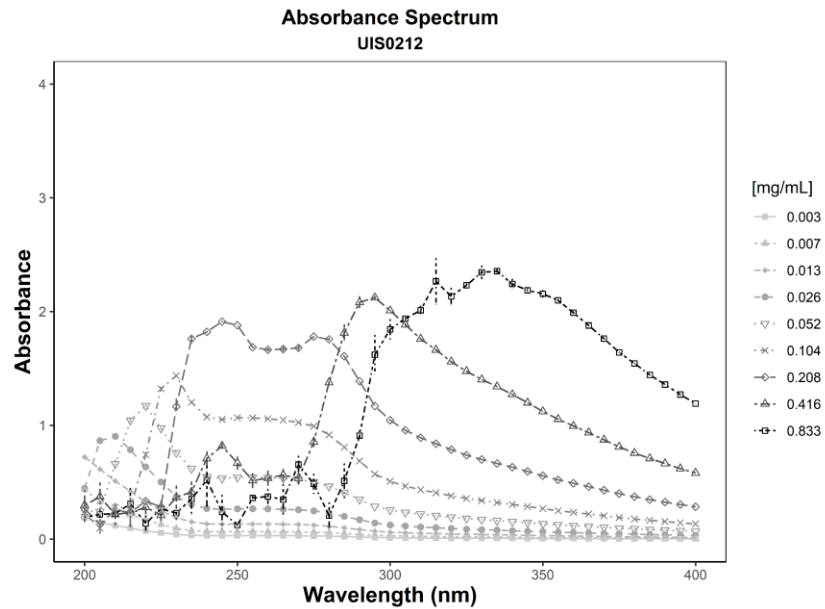


Figura 3

*Espectro de absorbancia UV-VIS de extractos obtenidos a partir de cepas de *C. acnes* (ecotipo 2). Las barras de error indican el error estándar de la media de al menos tres experimentos independientes ($n = 3$)*

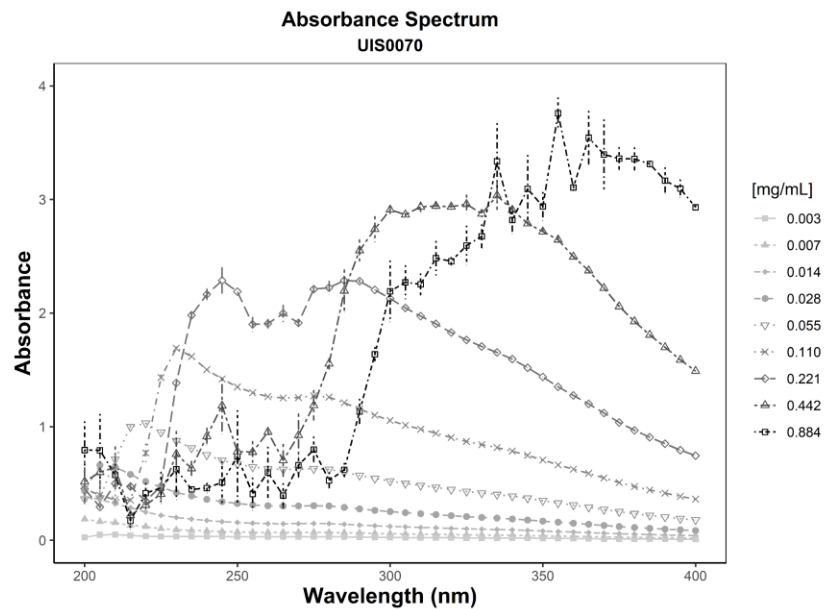




**Figura 4**

Espectro de absorbancia UV-VIS de extractos obtenidos a partir de cepas de M. paraoxydans.

Las barras de error indican el error estándar de la media de al menos tres experimentos independientes ($n = 3$).



Un resumen de los valores del $FPS_{\text{espectrofotométrico}}$ calculados para las concentraciones más altas de cada extracto bacteriano se presentan en la Tabla 3 y los datos en extenso pueden encontrarse en la Tabla suplementaria S1. De acuerdo con las categorías definidas en la sección "Métodos", la eficacia fotoprotectora UVB ($FPS_{\text{espectrofotométrico}}$) fue la siguiente: nueve extractos bacterianos (UIS0065, UIS0066, UIS0068, UIS0069, UIS0070, UIS0209, UIS0210, UIS0211 y UIS0212) resultaron con una protección media ($15.0 \leq FPS_{\text{espectrofotométrico}} \leq 29,9$); un extracto bacteriano (UIS0050) mostró una protección baja ($6,0 \leq FPS_{\text{espectrofotométrico}} \leq 14,9$).

Tabla 3

Lista de índices de fotoprotección de los extractos evaluados

Se muestran la eficacia de la protección UVB ($FPS_{\text{in vitro}}$), la longitud de onda crítica (λ_c) y los valores del porcentaje de eficacia (Eff.) en la concentración más alta del extracto.

Código Colección	Concentración (mg/mL)	FPS in vitro	λ_c	Fotoestabilidad (Eff.)			
				I	II	III	IV
UIS0050	11.07	11.9 ± 0.1	380 ± 0	96	100	100	100
UIS0065	12.24	16.1 ± 0.3	380 ± 0	99	100	100	95
UIS0066	16.47	20.4 ± 1.4	390 ± 0	100	100	100	100
UIS0068	10.97	20.2 ± 0.8	390 ± 0	100	100	100	98
UIS0069	9.78	20.4 ± 0.7	390 ± 0	95	96	95	98
UIS0209	9.93	19.4 ± 1.2	390 ± 0	100	100	100	100
UIS0210	11.07	17.1 ± 0.5	380 ± 0	98	95	100	100
UIS0211	8.50	20.2 ± 1.1	390 ± 0	97	100	100	99
UIS0212	6.89	19.1 ± 0.4	390 ± 0	99	97	100	98
UIS0070	6.94	22.0 ± 2.1	390 ± 0	100	100	98	100

Los valores del $FPS_{\text{espectrofotométrico}}$ mostraron una clara dependencia de la concentración ($R = 0,73$, $p < 0,001$; Figuras 5A y 6A). Los detalles de tales dependencias en cada extracto pueden

encontrarse en la Figura suplementaria S1. A las concentraciones más altas probadas, todos los extractos mostraron una eficacia protectora de amplio espectro ($\lambda_c \geq 370$ nm). A tales concentraciones, la fotoestabilidad de los extractos bacterianos fue consistentemente alta, luego de su exposición a dosis de radiación UVB que producen eritema en los distintos tipos de piel humana.

3.4 Antigenotoxicidad de los extractos bacterianos

Antes de realizar las pruebas de antigenotoxicidad, se comprobó la inocuidad de los extractos bacterianos en el modelo experimental SOS Chromotest. Ninguno de los extractos bacterianos aumentó los valores de I de manera dependiente de la concentración (Tabla suplementaria S1); por lo tanto, estos extractos se consideraron no genotóxicos en el modelo celular *E. coli* PQ37.

Figura 5

Correlación entre la eficacia fotoprotectora UVB ($FPS_{\text{espectrofotométrico}}$) con las concentraciones de los extractos (A) y con las estimaciones del % de IG (B) en las especies de *C. acnes*.

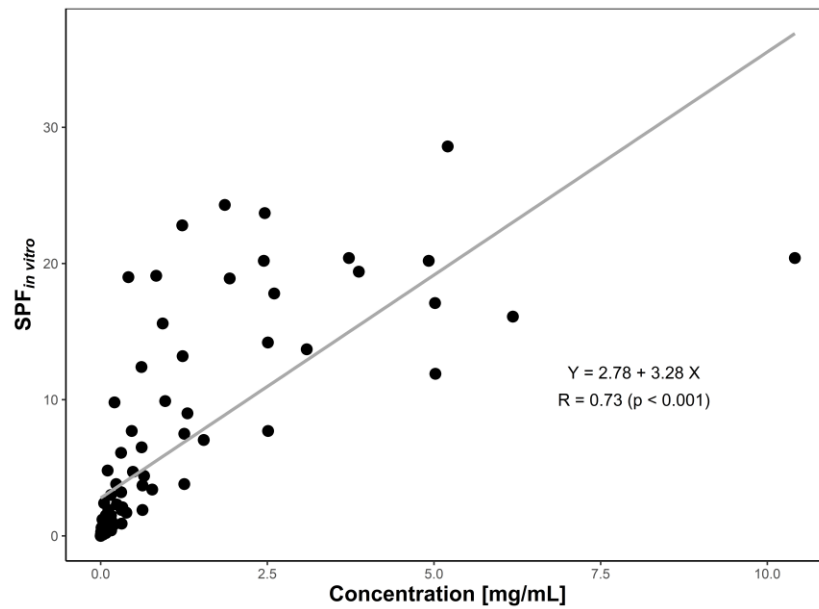
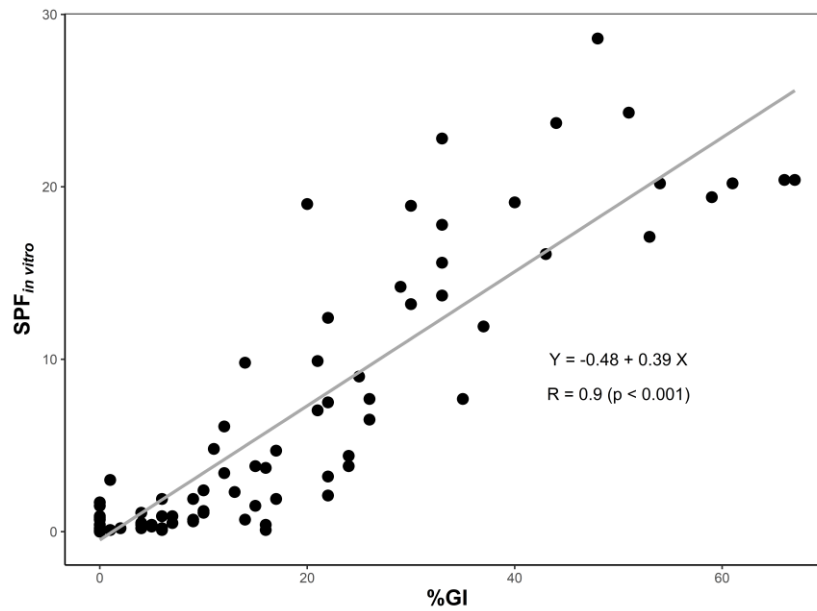
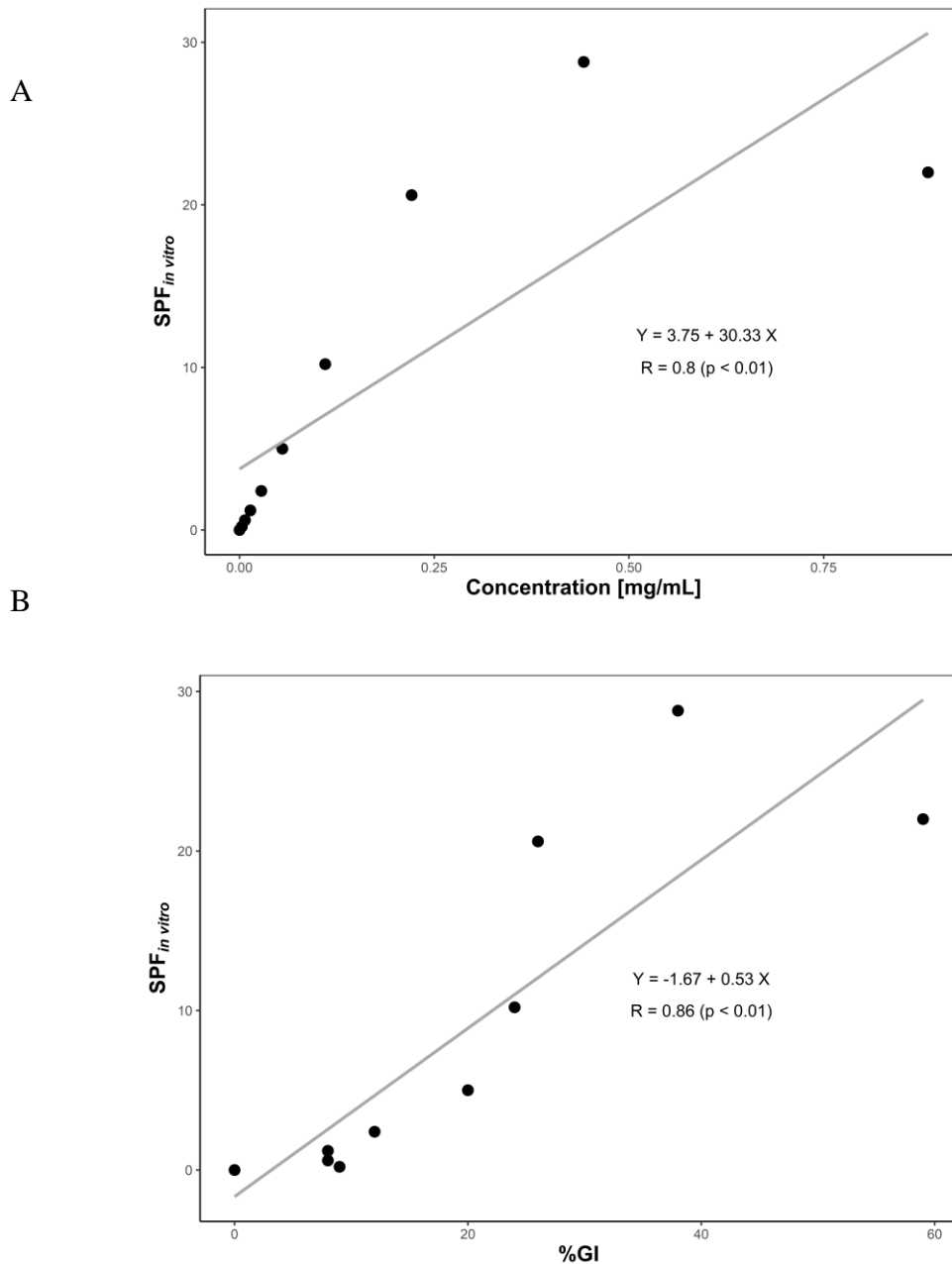
A**B**

Figura 6

Correlación entre la eficacia fotoprotectora UVB ($FPS_{\text{espectrofotométrico}}$) con las concentraciones de los extractos (A) y con las estimaciones del % de IG (B) en la cepa de *M. paraoxydans*.



Todos los extractos bacterianos estudiados resultaron antigenotóxicos frente a la radiación UVB de forma dependiente de la concentración (Tabla suplementaria S1). A las concentraciones

más altas ensayadas, estos extractos mostraron valores de %IG entre 37 y 67%; aunque la antigenotoxicidad fue significativa a concentraciones del extracto (valores CGI) mucho más bajas (Tabla 4). Los valores del $FPS_{\text{espectrofotométricos}}$ y del %IG de los extractos bacterianos, estuvieron altamente correlacionados ($R = 0,90$, $p < 0.001$; Figuras 5B y 6B). Es decir, a mayor eficacia fotoprotectora UVB, menor daño genético. Los detalles de las correlaciones para cada extracto pueden encontrarse en la Figura suplementaria S1.

Tabla 4

Lista de índices de genotoxicidad y antigenotoxicidad de los extractos evaluados

Extractos estudiados con su número de colección (Cepario LMMA-UIS). Para la concentración más alta evaluada (C_h) se muestran los valores de las concentraciones mínimas que producen una inhibición significativa ($p \leq 0.05$) de la síntesis constitutiva de fosfatasa alcalina (CAPSI) y una inhibición de la genotoxicidad UV (CGI) basados en el ensayo *SOS Chromotest*; así como, el índice de antigenotoxicidad (%IG).

No.	Especie (Numero colección)	C_h (mg/mL)	CAPSI (mg/mL)	CGI (mg/mL)	%IG
1	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0050)	11.07	NI	1.38 ± 0	37 ± 2.3
2	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0065)	12.24	NI	0.05 ± 0	43 ± 1.3
3	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0066)	16.47	NI	0.06 ± 0	67 ± 1.2
4	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0068)	10.97	NI	0.04 ± 0	61 ± 3.2
5	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0069)	9.78	NI	0.04 ± 0	66 ± 1.5
6	<i>Microbacterium sp.</i> (UIS0070)	6.94	3.47 ± 0	0.03 ± 0	59 ± 1.6
7	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0209)	9.93	2.48 ± 0	0.04 ± 0	59 ± 2.1
8	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0210)	11.1	11.1 ± 0	0.17 ± 0	53 ± 2.0
9	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0211)	8.5	NI	1.06 ± 0	54 ± 2.1
10	<i>Cutibacterium sp.</i> (UIS0212)	6.89	0.03 ± 0	0.05 ± 0	40 ± 1.3

4. Discusión

El presente trabajo proporciona la primera valoración de las propiedades fotoprotectoras y antigenotóxicas de los extractos de *C. acnes* y de *M. paraoxydans* frente a los UVB. Se demostró que el crecimiento en condiciones anaeróbicas de cepas de estas especies, producen metabolitos útiles para la fotoprotección. Se observaron dos ecotipos de *C. acnes* con diferentes índices de crecimiento en los hábitats de minas de carbón y volcanes de lodo. Tales ecotipos bacterianos pueden ser el resultado de acontecimientos de diferenciación adaptativa frente a la geoquímica específica y la disponibilidad de nutrientes en estos hábitats, como se ha evidenciado previamente en otras especies (Chase et al., 2021). Sin embargo, los extractos liofilizados obtenidos de cultivos en fase estacionaria de estos ecotipos bacterianos mostraron una eficacia fotoprotectora similar (Tabla 4), lo que indica que los metabolitos protectores se produjeron en la fase de crecimiento tardía sin la influencia de la tasa de crecimiento (véanse las Figuras 2 y 3). Esta hipótesis se ve apoyada por el hecho de que la fotoprotección dependió de la concentración del extracto. Las correlaciones entre la eficacia fotoprotectora con la concentración ($R = 0,73$, $P < .001$) y con la antigenotoxicidad ($R = 0,90$, $P < .001$) en los extractos de *C. acnes* (Fig. 4), también indicaron que los metabolitos de fermentación tienen funciones fisiológicas en la protección bacteriana contra la radiación UV de la luz solar.

Existe una amplia bibliografía sobre los compuestos microbianos implicados en la fotoprotección contra la radiación UV, siendo las micosporinas, los aminoácidos similares a las micosporinas y las escitoneminas los compuestos más estudiados (Gabani & Singh, 2013; Gao & Garcia-Pichel, 2011; Rastogi et al., 2015; Řezanka et al., 2004; Sinha & Häder, 2008); sin embargo, otros compuestos menos estudiados (por ejemplo, los carotenoides y la melanina)

también se relacionaron con la radioresistencia microbiana (Gao & Garcia-Pichel, 2011). Por el contrario, se sabe muy poco sobre las propiedades fotoprotectoras de los metabolitos producidos por las bacterias anaerobias estrictas. Souak et al. (2021) revisaron el papel del microbioma de la piel humana en la protección frente a los daños inducidos por los rayos UV. Por ejemplo, el comensal cutáneo *Micrococcus luteus* puede degradar el ácido cis-urocánico en su isoforma trans y reducir así la inmunosupresión inducida por los UVB (Hug et al., 1999). La bacteria de la piel *Staphylococcus epidermidis* produce un compuesto, la 6-N hidroxiaminopurina, que impide selectivamente la proliferación de células tumorales y suprime el crecimiento celular *de novo* inducido por los UV (Nakatsuji et al., 2018). Curiosamente, las cepas de *C. acnes* residentes en la piel humana pueden producir porfirina, que es inhibida por la radiación UVB (Wang et al., 2012); sin embargo, aún está por demostrarse el papel de este marcador biológico en la fotoprotección bacteriana. Las bacterias probióticas también tienen propiedades protectoras contra el daño del ADN inducido por los rayos UV. Por ejemplo, el ácido lipoteicoico del *Lactobacillus rhamnosus* inhibe los tumores cutáneos inducidos por UVB en ratones (Weill et al., 2013). El polisacárido ácido hialurónico producido por *Enterococcus durans* y *Lactiplantibacillus plantarum* protege los queratinocitos humanos contra la radiación UVB (Shaheen et al., 2023). Otras bacterias probióticas como *Lactobacillus fermentum*, *L. johnsonii*, *L. lactis* y *Streptococcus thermophilus* también tienen compuestos metabolitos no identificados con propiedades fotoprotectoras (Ácsová et al., 2022; Guéniche et al., 2010; Park et al., 2022).

Se ha descrito que el grupo de las actinobacterias (por ejemplo, *Streptomyces* sp.) tiene potencial en la fotoprotección por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Sánchez-Suárez et al., 2020). Aquí hemos demostrado por primera vez que los metabolitos de los extractos

de *C. acnes* pueden actuar como una molécula que filtra los rayos UV y que reduce la genotoxicidad inducida por UVB. Aunque es bien sabido que el ácido propiónico es el principal metabolito de la fermentación de *C. acnes* (Christensen & Brüggemann, 2013), en nuestro estudio, este compuesto no mostró propiedades de filtro UV (datos no mostrados). La resistencia a la radiación UVB en otras especies de Actinobacterias (por ejemplo, *Microbacterium* sp.) se relacionó con la fotoprotección por sus pigmentos carotenoides (Reis-Mansur et al., 2019); sin embargo, esta hipótesis aún debe evaluarse más a fondo en el caso de la cepa de *M. paraoxydans* aquí estudiada.

5. Conclusiones

Los extractos de *C. acnes* y *M. paraoxydans* aquí estudiados muestran propiedades fotoprotectoras con la radiación UVB, lo cual está determinado por sus propiedades como filtro solar y su potencial antígenotóxico. Las cepas de *Cutibacterium acnes* y *M. paraoxydans* mostraron una eficacia protectora media, exhibieron una fotoprotección de amplio espectro (UVA-UVB), y resultaron foto-estables a dosis relevante para la fotoprotección en humanos. Los extractos de estas especies bacterianas podrían ser fuentes de ingredientes protectores solares que reducen la genotoxicidad inducida por los UVB.

Referencias Bibliográficas

- Ácsová, A., Hojerová, J., & Martiniaková, S. (2022). Efficacy of postbiotics against free radicals and UV radiation. *Chemical Papers*, 76(4), 2357–2364. <https://doi.org/10.1007/S11696-021-02018-7/METRICS>
- Albarracín, V. H., Gärtner, W., & Farias, M. E. (2016). Forged Under the Sun: Life and Art of Extremophiles from Andean Lakes. *Photochemistry and Photobiology*, 92(1), 14–28. <https://doi.org/10.1111/PHP.12555>
- Allhorn, M., Arve, S., Brüggemann, H., & Lood, R. (2016). A novel enzyme with antioxidant capacity produced by the ubiquitous skin colonizer *Propionibacterium acnes*. *Scientific Reports 2016 6:1*, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep36412>
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Andersson, T., Ertürk Bergdahl, G., Saleh, K., Magnúsdóttir, H., Stødkilde, K., Andersen, C. B. F., Lundqvist, K., Jensen, A., Brüggemann, H., & Lood, R. (2019). Common skin bacteria protect their host from oxidative stress through secreted antioxidant RoxP. *Scientific Reports 2019 9:1*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40471-3>
- Brüggemann, H. (2005). Insights in the pathogenic potential of *Propionibacterium acnes* from its complete genome. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 24(2), 67–72. <https://doi.org/10.1016/J.SDER.2005.03.001>
- Cediel 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.13507>

Chase, A. B., Weihe, C., & Martiny, J. B. H. (2021). Adaptive differentiation and rapid evolution of a soil bacterium along a climate gradient. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(18), e2101254118.

https://doi.org/10.1073/PNAS.2101254118/SUPPL_FILE/PNAS.2101254118.SAPP.PDF

Christensen, G. J. M., & Brüggemann, H. (2013). Bacterial skin commensals and their role as host guardians. *https://Doi.Org/10.3920/BM2012.0062*, 5(2), 201–215.

<https://doi.org/10.3920/BM2012.0062>

Claesen, J., Spagnolo, J. B., Ramos, S. F., Kurita, K. L., Byrd, A. L., Aksenov, A. A., Melnik, A. V., Wong, W. R., Wang, S., Hernandez, R. D., Donia, M. S., Dorrestein, P. C., Kong, H. H., Segre, J. A., Linington, R. G., Fischbach, M. A., & Lemon, K. P. (2020). A cutibacterium acnes antibiotic modulates human skin microbiota composition in hair follicles. *Science Translational Medicine*, 12(570), 5445.

https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.AAY5445/SUPPL_FILE/AAY5445_SM.PDF

COLIPA. (2011). Method for In Vitro Determination of UVA Protection, 2011, COLIPA (European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association). In Vitro Method for the Determination of the UVA Protection Factor and “Critical Wavelength” Values of Sunscreen Products. *Guidelines*, 29.

Contassot, E., & French, L. E. (2018). Propionibacterium acnes Strains Differentially Regulate the Fate of Th17 Responses in the Skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 138(2), 251–253.

<https://doi.org/10.1016/J.JID.2017.09.041>

- Diffey, B. (1994). A method for broad spectrum classification of sunscreens. *International Journal of Cosmetic Science*, 16(2), 47–52. <https://doi.org/10.1111/J.1467-2494.1994.TB00082.X>
- Dréno, B., Pécastaings, S., Corvec, S., Veraldi, S., Khammari, A., & Roques, C. (2018). Cutibacterium acnes (Propionibacterium acnes) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 32, 5–14. <https://doi.org/10.1111/JDV.15043>
- FDA. (2011). Department of health and human services. 21 CFR Parts 201 and 310. [Docket No. FDA–1978–N–0018-0698]. Labeling and effectiveness testing sunscreen drug products for over-the-counter human use. In *Final Rule Fed Regist* (Vol. 76).
- Fuentes, J. L., Suescun-Sepulveda, J. A., García González, M., Díaz Buitrago, J. M., & Cárdenas León, K. M. (2023). Characterization of a Bacterial Culture Collection from Terrestrial Subsurface Habitats in Colombia. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 93(4), 979–993. <https://doi.org/10.1007/S40011-023-01481-4/METRICS>
- Fuentes, J. L., Vernhe, M., Cuetara, E. B., Sánchez-Lamar, A., Santana, J. L., & Llagostera, M. (2006). Tannins from barks of *Pinus caribaea* protect *Escherichia coli* cells against DNA damage induced by γ -rays. *Fitoterapia*, 77(2), 116–120. <https://doi.org/10.1016/J.FITOTE.2005.11.014>
- Gabani, P., & Singh, O. V. (2013). Radiation-resistant extremophiles and their potential in biotechnology and therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(3), 993–1004. <https://doi.org/10.1007/S00253-012-4642-7/METRICS>

- Ganesan, A., & Hanawalt, P. (2016). Photobiological Origins of the Field of Genomic Maintenance. *Photochemistry and Photobiology*, 92(1), 52–60. <https://doi.org/10.1111/PHP.12542>
- Gao, Q., & Garcia-Pichel, F. (2011). Microbial ultraviolet sunscreens. *Nature Reviews Microbiology* 2011 9:11, 9(11), 791–802. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2649>
- Guan, L. L., Lim, H. W., & Mohammad, T. F. (2021). Sunscreens and Photoaging: A Review of Current Literature. *American Journal of Clinical Dermatology*, 22(6), 819–828. <https://doi.org/10.1007/S40257-021-00632-5/TABLES/2>
- Guéniche, A., David, P., Philippe, B., Stephanie, B., Elif, B., & Isabelle, C.-H. (2010). Probiotics for photoprotection. *Dermato-Endocrinology*, 1(5), 275–279. <https://doi.org/10.4161/derm.1.5.9849>
- Guo, H., Liu, R., Yu, Z., Zhang, H., Yun, J., Li, Y., Liu, X., & Pan, J. (2012). Pyrosequencing reveals the dominance of methylotrophic methanogenesis in a coal bed methane reservoir associated with Eastern Ordos Basin in China. *International Journal of Coal Geology*, 93, 56–61. <https://doi.org/10.1016/J.COAL.2012.01.014>
- Hall, B., Acar, H., Nandipati, A., & Barlow, M. (2014). Growth Rates Made Easy. *Molecular Biology and Evolution*, 31(1), 232–238. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MST187>
- Hall, T. (1999). Bioedit : a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser*, 41, 95–98. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571698600931687808>
- Hug, D. H., Dunkerson, D. D., & Hunter, J. K. (1999). The degradation of l-histidine and trans and cis-urocanic acid by bacteria from skin and the role of bacterial cis-urocanic acid isomerase.

Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 50(1), 66–73.

[https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(99\)00072-X](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(99)00072-X)

Islami, F., Sauer, A. G., Miller, K. D., Fedewa, S. A., Minihan, A. K., Geller, A. C., Lichtenfeld, J. L., & Jemal, A. (2020). Cutaneous melanomas attributable to ultraviolet radiation exposure by state. *International Journal of Cancer*, 147(5), 1385–1390. <https://doi.org/10.1002/IJC.32921>

Jansen, R., Osterwalder, U., Wang, S. Q., Burnett, M., & Lim, H. W. (2013). Photoprotection: Part II. Sunscreen: Development, efficacy, and controversies. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 69(6), 867.e1-867.e14. <https://doi.org/10.1016/J.JAAD.2013.08.022>

Kao, H. J., Wang, Y. H., Keshari, S., Yang, J. J., Simbolon, S., Chen, C. C., & Huang, C. M. (2021). Propionic acid produced by *Cutibacterium acnes* fermentation ameliorates ultraviolet B-induced melanin synthesis. *Scientific Reports 2021 11:1*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91386-x>

Laffineur, K., Avesani, V., Cornu, G., Charlier, J., Janssens, M., Wauters, G., & Delmée, M. (2003). Bacteremia due to a novel *Microbacterium* species in a patient with leukemia and description of *Microbacterium paraoxydans* sp. nov. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(5), 2242–2246. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.5.2242-2246.2003/ASSET/C115755C-64C4-4D17-BCC4-100E57EE582D/ASSETS/GRAPHIC/JM0531537001.JPEG>

Lionetti, N., & Rigano, L. (2017). The New Sunscreens among Formulation Strategy, Stability Issues, Changing Norms, Safety and Efficacy Evaluations. *Cosmetics 2017, Vol. 4, Page 15*, 4(2), 15. <https://doi.org/10.3390/COSMETICS4020015>

Liu, B., Yuan, L., Shi, X., Li, Y., Jiang, C., Ren, B., & Sun, Q. (2019). Variations in Microbiota Communities with the Ranks of Coals from Three Permian Mining Areas. *Energy and Fuels*,

33(6),

5243–5252.

https://doi.org/10.1021/ACS.ENERGYFUELS.8B04413/SUPPL_FILE/EF8B04413_SI_001.PDF

Liu, D., & Liu, D. (2009). Purification of nucleic acids from bacteria. . In *Handbook of nucleic acid purification*.

Mansur, J. de S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. d'Ascensão, & Azulay, R. D. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol*, 121–124.

Mejía-Giraldo, J. C., Henao-Zuluaga, K., Gallardo, C., Atehortúa, L., & Puertas-Mejía, M. A. (2016). Novel In Vitro Antioxidant and Photoprotection Capacity of Plants from High Altitude Ecosystems of Colombia. *Photochemistry and Photobiology*, 92(1), 150–157. <https://doi.org/10.1111/PHP.12543>

Nakamura, K., O'Neill, A. M., Williams, M. R., Cau, L., Nakatsuji, T., Horswill, A. R., & Gallo, R. L. (2020). Short chain fatty acids produced by *Cutibacterium acnes* inhibit biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. *Scientific Reports 2020 10:1*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77790-9>

Nakatsuji, T., Chen, T. H., Butcher, A. M., Trzoss, L. L., Nam, S. J., Shirakawa, K. T., Zhou, W., Oh, J., Otto, M., Fenical, W., & Gallo, R. L. (2018). A commensal strain of *Staphylococcus epidermidis* protects against skin neoplasia. *Science Advances*, 4(2). https://doi.org/10.1126/SCIADV.AAO4502/SUPPL_FILE/AAO4502_TABLES3.XLSX

Park, J.-Y., Lee, J. Y., Kim, Y., & Kang, C.-H. (2022). Lactic Acid Bacteria Improve the Photoprotective Effect via MAPK/AP-1/MMP Signaling Pathway on Skin Fibroblasts.

Microorganisms 2022, Vol. 10, Page 2481, 10(12), 2481.

<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10122481>

Patrick, S., & McDowell, A. (2015). Propionibacterium. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1–29. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.GBM00167>

Quillardet, P., Huisman, O., D'Ari, R., & Hofnung, M. (1982). SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in Escherichia coli K-12 to measure genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(19), 5971–5975. <https://doi.org/10.1073/PNAS.79.19.5971>

Quintero Ruiz, N., Córdoba Campo, Y., Stashenko, E. E., & Fuentes, J. L. (2017). Antigenotoxic Effect Against Ultraviolet Radiation-induced DNA Damage of the Essential Oils from Lippia Species. *Photochemistry and Photobiology*, 93(4), 1063–1072. <https://doi.org/10.1111/PHP.12735>

Rastogi, R. P., Madamwar, D., & Incharoensakdi, A. (2015). Sun-screening bioactive compounds mycosporine-like amino acids in naturally occurring cyanobacterial biofilms: role in photoprotection. *Journal of Applied Microbiology*, 119(3), 753–762. <https://doi.org/10.1111/JAM.12879>

Rasuk, M. C., Ferrer, G. M., Kurth, D., Portero, L. R., Farías, M. E., & Albarracín, V. H. (2017). UV-Resistant Actinobacteria from High-Altitude Andean Lakes: Isolation, Characterization and Antagonistic Activities. *Photochemistry and Photobiology*, 93(3), 865–880. <https://doi.org/10.1111/PHP.12759>

Reis-Mansur, M. C. P. P., Cardoso-Rurr, J. S., Silva, J. V. M. A., de Souza, G. R., Cardoso, V. da S., Mansoldo, F. R. P., Pinheiro, Y., Schultz, J., Lopez Balottin, L. B., da Silva, A. J. R., Lage, C., dos Santos, E. P., Rosado, A. S., & Vermelho, A. B. (2019). Carotenoids from UV-

- resistant Antarctic Microbacterium sp. LEMMJ01. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-45840-6>
- Řezanka, T., Temina, M., Tolstikov, A. G., & Dembitsky, V. M. (2004). Natural microbial UV radiation filters — Mycosporine-like amino acids. *Folia Microbiologica*, 49(4), 339–352.
<https://doi.org/10.1007/BF03354663/METRICS>
- Sánchez-Suárez, J., Coy-Barrera, E., Villamil, L., & Díaz, L. (2020). Streptomyces-Derived Metabolites with Potential Photoprotective Properties—A Systematic Literature Review and Meta-Analysis on the Reported Chemodiversity. *Molecules* 2020, Vol. 25, Page 3221, 25(14), 3221. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25143221>
- Sayre, R. M., Agin, P. P., LeVee, G. J., & Marlowe, E. (1979). A COMPARISON OF IN VIVO AND IN VITRO TESTING OF SUNSCREENING FORMULAS. *Photochemistry and Photobiology*, 29(3), 559–566. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.1979.TB07090.X>
- Scholz, C. F. P., & Kilian, M. (2016). The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus propionibacterium to the proposed novel genera acidipropionibacterium gen. nov., cutibacterium gen. nov. and pseudopropionibacterium gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(11), 4422–4432.
<https://doi.org/10.1099/IJSEM.0.001367/CITE/REFWORKS>
- Schuch, A. P., Moreno, N. C., Schuch, N. J., Menck, C. F. M., & Garcia, C. C. M. (2017). Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. *Free Radical Biology and Medicine*, 107, 110–124. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2017.01.029>
- Shaheen, A. E., Gebreel, H. M., Moussa, L. A., Zakaria, A. E., & Nemr, W. A. (2023). Photoprotection Against UV-Induced Skin Damage Using Hyaluronic Acid Produced by

- Lactiplantibacillus plantarum and Enterococcus durans. *Current Microbiology*, 80(8), 1–10.
<https://doi.org/10.1007/S00284-023-03377-Y/FIGURES/5>
- Sinha, R. P., & Häder, D. P. (2008). UV-protectants in cyanobacteria. *Plant Science*, 174(3), 278–289. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2007.12.004>
- Souak, D., Barreau, M., Courtois, A., André, V., Poc, C. D., Feuilloley, M. G. J., & Gault, M. (2021). Challenging Cosmetic Innovation: The Skin Microbiota and Probiotics Protect the Skin from UV-Induced Damage. *Microorganisms 2021*, Vol. 9, Page 936, 9(5), 936.
<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9050936>
- Sprouffske, K., & Wagner, A. (2016). Growthcurver: An R package for obtaining interpretable metrics from microbial growth curves. *BMC Bioinformatics*, 17(1), 1–4.
<https://doi.org/10.1186/S12859-016-1016-7/FIGURES/1>
- Stackebrandt, J., & Ebers, J. (2006). Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiol Tod*, 336, 152–155.
- Tamamura, S., Murakami, T., Aramaki, N., Ueno, A., Badrul, A. A., Haq, S. R., Igarashi, T., & Kaneko, K. (2016). Reaction of lignite with dilute hydrogen peroxide to produce substrates for methanogens at in situ subsurface temperatures. *International Journal of Coal Geology*, 167, 230–237. <https://doi.org/10.1016/J.COAL.2016.10.003>
- Tian, G. X., Peng, K. P., Yu, Y., Liang, C. B., Xie, H. Q., Guo, Y. Y., Zhou, S., Zheng, M. B. W., Zheng, P. Y., & Yang, P. C. (2022). Propionic acid regulates immune tolerant properties in B Cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 26(10), 2766–2776.
<https://doi.org/10.1111/JCMM.17287>
- Valbuena, M. C., Nova Villanueva, J. A., & Sánchez Vanegas, G. (2020). Minimal Erythema Dose: Correlation with Fitzpatrick Skin Type and Concordance Between Methods of

- Erythema Assessment in a Patient Sample in Colombia. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*, 111(5), 390–397. <https://doi.org/10.1016/J.ADENGL.2019.12.010>
- Wang, Y., Zhu, W., Shu, M., Jiang, Y., Gallo, R. L., Liu, Y. T., & Huang, C. M. (2012). The Response of Human Skin Commensal Bacteria as a Reflection of UV Radiation: UV-B Decreases Porphyrin Production. *PLOS ONE*, 7(10), e47798. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0047798>
- Wani, A. A., Surakasi, V. P., Siddharth, J., Raghavan, R. G., Patole, M. S., Ranade, D., & Shouche, Y. S. (2006). Molecular analyses of microbial diversity associated with the Lonar soda lake in India: An impact crater in a basalt area. *Research in Microbiology*, 157(10), 928–937. <https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2006.08.005>
- Weill, F. S., Cela, E. M., Paz, M. L., Ferrari, A., Leoni, J., & Maglio, D. H. G. (2013). Lipoteichoic acid from *Lactobacillus rhamnosus* GG as an oral photoprotective agent against UV-induced carcinogenesis. *British Journal of Nutrition*, 109(3), 457–466. <https://doi.org/10.1017/S0007114512001225>
- Yakimov, M. M., Giuliano, L., Crisafi, E., Chernikova, T. N., Timmis, K. N., & Golyshin, P. N. (2002). Microbial community of a saline mud volcano at San Biagio-Belpasso, Mt. Etna (Italy). *Environmental Microbiology*, 4(5), 249–256. <https://doi.org/10.1046/J.1462-2920.2002.00293.X>
- Yang, H. M., Lou, K., Sun, J., Zhang, T., & Ma, X. L. (2012). Prokaryotic diversity of an active mud volcano in the Usu City of Xinjiang, China. *Journal of Basic Microbiology*, 52(1), 79–85. <https://doi.org/10.1002/JOBM.201100074>

Yeager, D. G., & Lim, H. W. (2019). What's New in Photoprotection: A Review of New Concepts and Controversies. *Dermatologic Clinics*, 37(2), 149–157.

<https://doi.org/10.1016/j.det.2018.11.003>

Young, A. R., Claveau, J., & Rossi, A. B. (2017). Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 76(3),

S100–S109. <https://doi.org/10.1016/J.JAAD.2016.09.038>

Anexos

Tabla S1

Lista de los extractos bacterianos estudiados

Para cada extracto, se muestran los índices siguientes: Eficacia de protección UVB ($FPS_{in vitro}$), longitud de onda crítica (λ_c), factor de inducción SOS (I) y porcentaje de inhibición de la genotoxicidad (%IG).

Código	Conc.	$FPS_{in vitro}$	λ_c	I [†]	%IG
LMMA-UIS	(mg/mL)				
UIS0050	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.04	0.1 ± 0.0	277 ± 12	1.5 ± 0.2	0 ± 0
	0.09	0.1 ± 0.0	277 ± 6	1.4 ± 0.2	0 ± 0
	0.17	0.2 ± 0.0	280 ± 0	1.6 ± 0.2	0 ± 0
	0.35	0.4 ± 0.0	283 ± 6	1.4 ± 0.2	0 ± 0
	0.69	0.9 ± 0.0	300 ± 0	1.5 ± 0.2	0 ± 0
	1.38	1.9 ± 0.0	310 ± 0	1.5 ± 0.4	17 ± 1
	2.77	3.8 ± 0.0	330 ± 0	1.5 ± 0.2	24 ± 2
	5.54	7.7 ± 0.0	360 ± 0	1.3 ± 0.2	35 ± 2
	11.07	11.9 ± 0.0	380 ± 0	1.4 ± 0.1	37 ± 2
UIS0065	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.05	0.1 ± 0.0	280 ± 0	1.0 ± 0.1	0 ± 0
	0.10	0.2 ± 0.0	290 ± 0	1.1 ± 0.2	0 ± 0
	0.19	0.4 ± 0.0	290 ± 0	1.0 ± 0.1	0 ± 0
	0.38	0.8 ± 0.0	303 ± 0	0.9 ± 0.0	0 ± 0
	0.76	1.7 ± 0.0	320 ± 0	0.9 ± 0.2	0 ± 0
	1.53	3.4 ± 0.0	330 ± 0	0.9 ± 0.0	12 ± 0
	3.06	7.0 ± 0.0	343 ± 0	0.8 ± 0.1	21 ± 1
	6.12	13.7 ± 0.0	370 ± 0	0.8 ± 0.1	33 ± 1
	12.24	16.1 ± 0.2	380 ± 0	0.8 ± 0.0	43 ± 1
UIS0066	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.06	0.5 ± 0.0	317 ± 6	1.0 ± 0.1	7 ± 1
	0.13	0.7 ± 0.0	320 ± 0	1.1 ± 0.1	9 ± 0
	0.26	1.1 ± 0.0	327 ± 6	1.1 ± 0.1	10 ± 1
	0.51	2.1 ± 0.0	333 ± 6	1.0 ± 0.1	22 ± 1

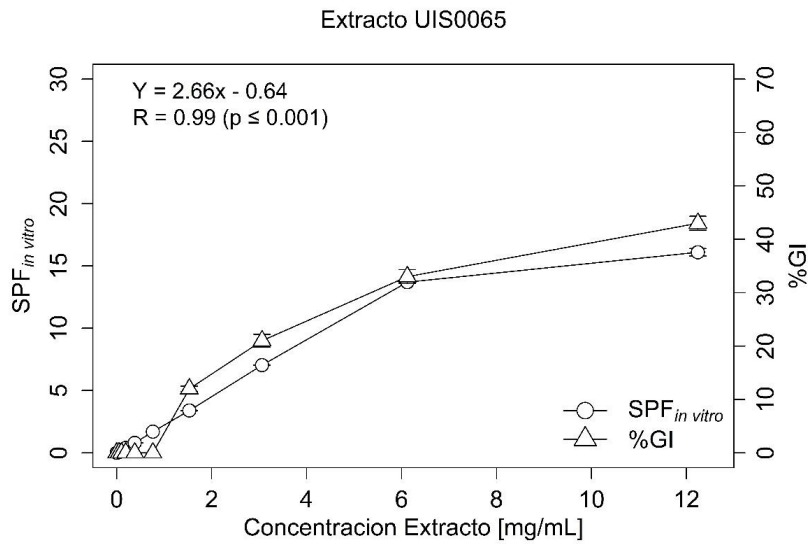
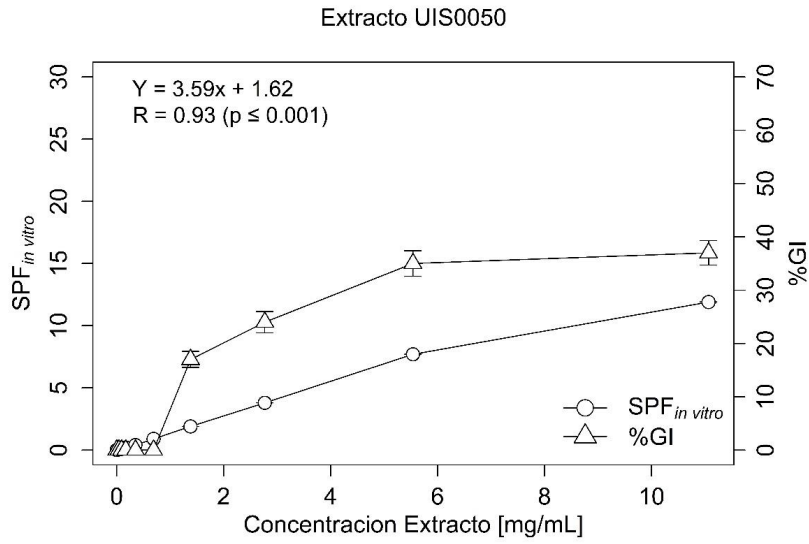
	1.03	4.3 ± 0.0	343 ± 6	1.1 ± 0.1	24 ± 1
	2.06	8.9 ± 0.0	350 ± 0	1.0 ± 0.0	25 ± 1
	4.12	17.8 ± 0.0	360 ± 0	1.0 ± 0.0	33 ± 2
	8.23	28.6 ± 0.4	380 ± 0	1.1 ± 0.0	48 ± 2
	16.47	20.4 ± 1.0	390 ± 0	1.1 ± 0.0	67 ± 1
UIS0068	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.04	0.1 ± 0.0	340 ± 0	1.0 ± 0.0	16 ± 1
	0.09	0.4 ± 0.0	330 ± 0	0.9 ± 0.0	16 ± 1
	0.17	0.7 ± 0.0	330 ± 0	1.0 ± 0.0	14 ± 1
	0.34	1.5 ± 0.0	340 ± 0	1.0 ± 0.0	15 ± 1
	0.69	3.2 ± 0.0	350 ± 0	1.0 ± 0.0	22 ± 1
	1.37	6.5 ± 0.0	360 ± 0	1.0 ± 0.0	26 ± 2
	2.74	13.2 ± 0.0	360 ± 0	1.0 ± 0.0	30 ± 1
	5.49	23.7 ± 0.1	380 ± 0	1.0 ± 0.0	44 ± 1
	10.97	20.2 ± 0.7	390 ± 0	1.3 ± 0.1	61 ± 3
UIS0069	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.04	0.2 ± 0.0	310 ± 0	1.0 ± 0.0	4 ± 0
	0.08	0.4 ± 0.0	307 ± 6	1.1 ± 0.0	5 ± 0
	0.15	0.9 ± 0.0	310 ± 0	1.0 ± 0.0	6 ± 0
	0.31	1.9 ± 0.0	330 ± 0	1.0 ± 0.0	6 ± 1
	0.61	3.8 ± 0.0	340 ± 0	1.0 ± 0.0	15 ± 1
	1.22	7.7 ± 0.0	350 ± 0	1.1 ± 0.0	26 ± 2
	2.44	15.6 ± 0.0	360 ± 0	1.1 ± 0.0	33 ± 2
	4.89	24.3 ± 0.3	390 ± 0	1.2 ± 0.0	51 ± 2
	9.78	20.4 ± 0.7	390 ± 0	1.3 ± 0.0	66 ± 1
UIS0070	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.03	0.2 ± 0.0	360 ± 0	1.0 ± 0.0	9 ± 1
	0.05	0.6 ± 0.0	350 ± 0	1.0 ± 0.0	8 ± 1
	0.11	1.2 ± 0.0	350 ± 0	1.0 ± 0.0	8 ± 1
	0.22	2.4 ± 0.0	360 ± 0	1.0 ± 0.0	12 ± 2
	0.43	5.0 ± 0.0	360 ± 0	1.0 ± 0.0	20 ± 1
	0.87	10.2 ± 0.0	360 ± 0	1.1 ± 0.0	24 ± 1
	1.73	20.6 ± 0.0	370 ± 0	1.2 ± 0.1	26 ± 2
	3.47	28.8 ± 0.1	380 ± 0	1.2 ± 0.0	38 ± 2
	6.94	22.0 ± 0.2	390 ± 0	1.4 ± 0.0	59 ± 2
UIS0209	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.04	0.1 ± 0.0	293 ± 16	1.3 ± 0.2	6 ± 1
	0.08	0.2 ± 0.0	290 ± 0	1.0 ± 0.1	6 ± 1
	0.16	0.5 ± 0.0	300 ± 0	1.2 ± 0.2	4 ± 1
	0.31	1.1 ± 0.0	320 ± 0	1.1 ± 0.1	4 ± 1
	0.62	2.3 ± 0.0	330 ± 0	0.9 ± 0.1	13 ± 1
	1.24	4.7 ± 0.0	340 ± 0	1.0 ± 0.1	17 ± 1
	2.48	9.8 ± 0.0	350 ± 0	1.0 ± 0.1	21 ± 1
	4.96	18.9 ± 0.1	370 ± 0	1.0 ± 0.1	30 ± 2

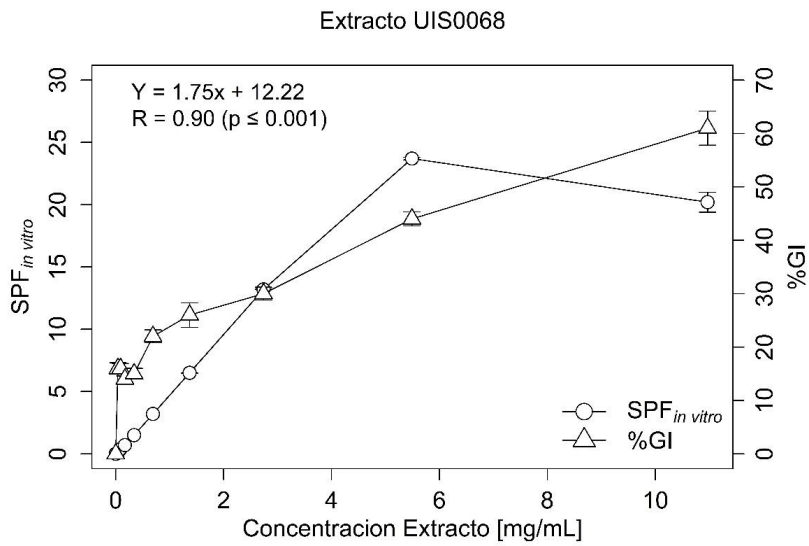
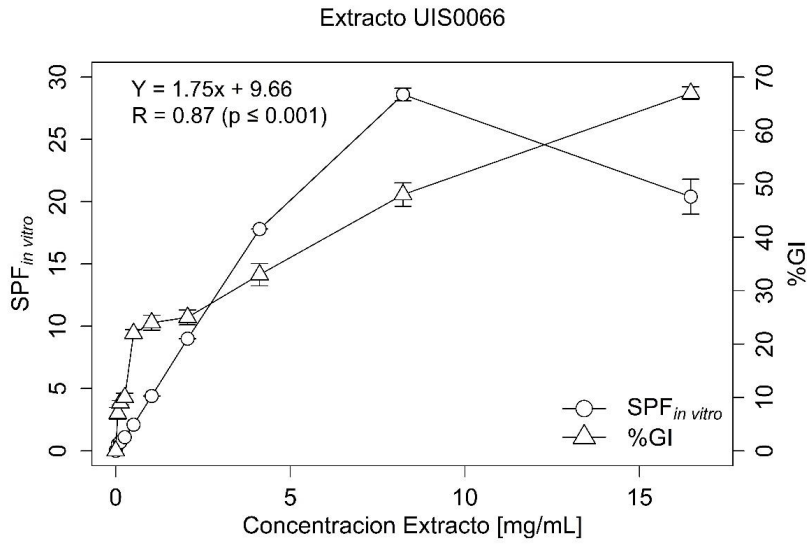
	9.93	19.4 ± 1.0	390 ± 0	1.1 ± 0.1	59 ± 2
UIS0210	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.04	0.0 ± 0.0	280 ± 0	1.4 ± 0.2	1 ± 0
	0.09	0.2 ± 0.0	287 ± 6	1.4 ± 0.3	2 ± 1
	0.17	0.4 ± 0.0	290 ± 0	1.3 ± 0.2	4 ± 1
	0.35	0.9 ± 0.0	310 ± 0	1.4 ± 0.2	7 ± 1
	0.69	1.9 ± 0.0	323 ± 6	1.4 ± 0.3	9 ± 1
	1.38	3.7 ± 0.0	340 ± 0	1.4 ± 0.2	16 ± 1
	2.77	7.5 ± 0.0	350 ± 0	1.4 ± 0.2	22 ± 1
	5.53	14.2 ± 0.0	370 ± 0	1.3 ± 0.2	29 ± 1
	11.07	17.1 ± 0.4	380 ± 0	1.4 ± 0.2	53 ± 2
UIS0211	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.03	0.2 ± 0.0	303 ± 6	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.07	0.4 ± 0.0	303 ± 6	1.2 ± 0.0	0 ± 0
	0.13	0.7 ± 0.0	310 ± 0	1.1 ± 0.0	0 ± 0
	0.27	1.5 ± 0.0	323 ± 6	1.1 ± 0.0	0 ± 0
	0.53	3.0 ± 0.0	340 ± 0	1.1 ± 0.0	1 ± 1
	1.06	6.1 ± 0.0	347 ± 6	1.1 ± 0.0	12 ± 1
	2.13	12.4 ± 0.0	360 ± 0	1.2 ± 0.1	22 ± 2
	4.25	22.8 ± 0.1	380 ± 0	1.3 ± 0.0	33 ± 1
	8.50	20.1 ± 1.0	390 ± 0	1.6 ± 0.0	54 ± 2
UIS0212	0	0.0 ± 0.0	0 ± 0	1.0 ± 0.0	0 ± 0
	0.03	0.1 ± 0.0	300 ± 10	0.9 ± 0.0	0 ± 0
	0.05	0.3 ± 0.0	307 ± 6	1.0 ± 0.0	5 ± 1
	0.11	0.6 ± 0.0	310 ± 0	1.1 ± 0.0	9 ± 1
	0.22	1.2 ± 0.0	323 ± 6	1.0 ± 0.0	10 ± 1
	0.43	2.4 ± 0.0	337 ± 6	1.1 ± 0.0	10 ± 1
	0.86	4.8 ± 0.0	347 ± 6	1.2 ± 0.0	11 ± 1
	1.72	9.8 ± 0.0	360 ± 0	1.2 ± 0.0	14 ± 1
	3.44	18.9 ± 0.1	377 ± 6	1.4 ± 0.0	20 ± 1
	6.89	19.1 ± 0.3	390 ± 0	1.9 ± 0.1	40 ± 1

Los valores $FPS_{in vitro}$ se clasificaron en categorías según las recomendaciones de la Comisión Europea de la siguiente manera: sin protección ($0,0 \leq FPS_{in vitro} \leq 5,9$), protección baja ($6,0 \leq FPS_{in vitro} \leq 14,9$), protección media ($15,0 \leq FPS_{in vitro} \leq 29,9$), protección alta ($30,0 \leq FPS_{in vitro} \leq 59,9$) y protección muy alta ($FPS_{in vitro} \geq 60,0$). Un $\lambda c > 370$ nm define una protección de amplio espectro. †, Los criterios de genotoxicidad fueron los siguientes: No genotóxico ($I < 1,5$), no concluyente ($1,5 \leq I \leq 2,0$) y genotóxico ($I > 2,0$ y existencia de una clara relación concentración-daño genético). El control positivo utilizado en los ensayos de genotoxicidad (4-Nitro-quinolina-1-óxido = 2,34 μM), mostró valores del factor de inducción SOS (I) entre 7,7 - 13,2.

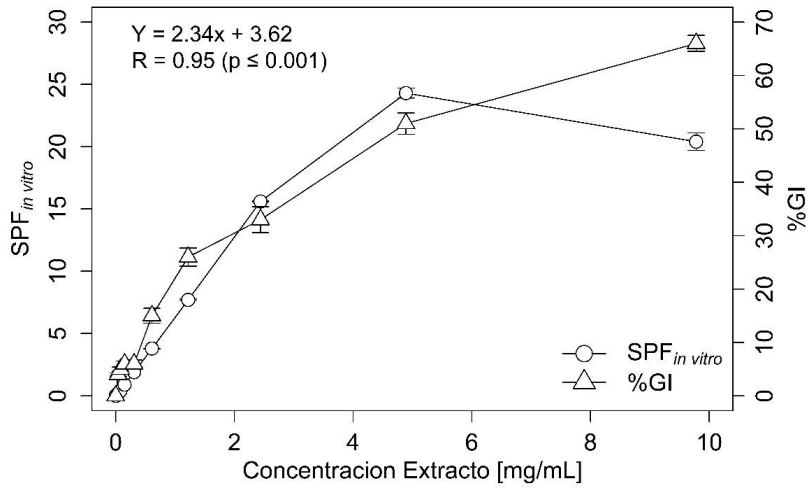
Figura S1

Correlación entre el FPS y la concentración de cada extracto

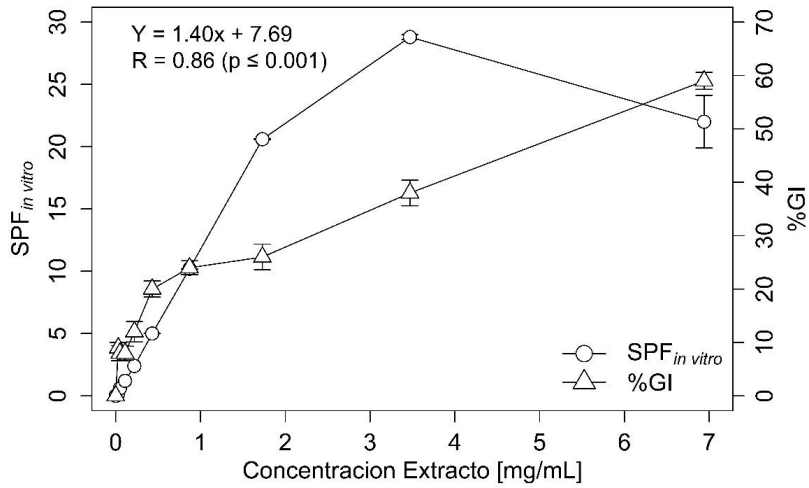




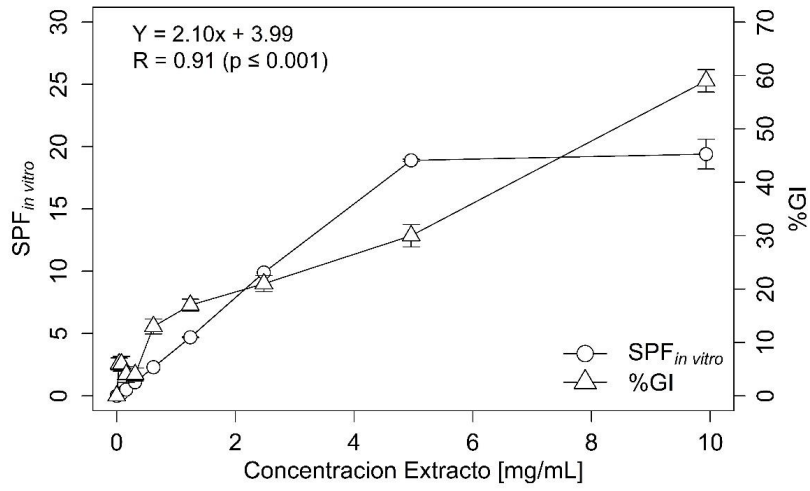
Extracto UIS0069



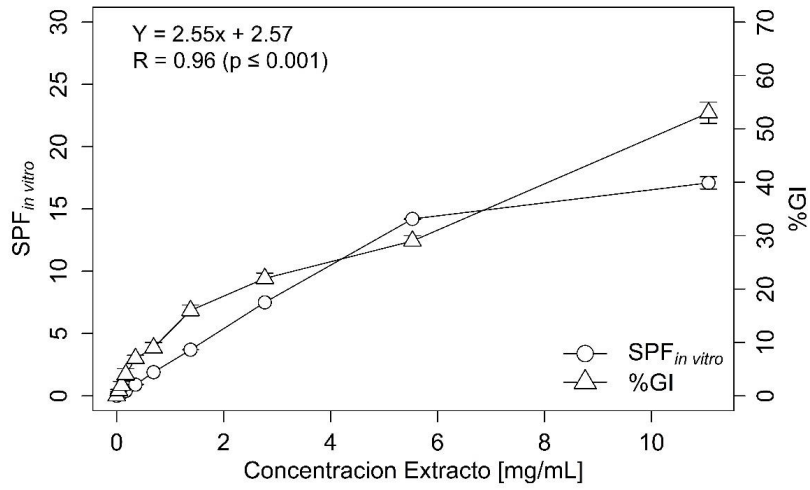
Extracto UIS0070



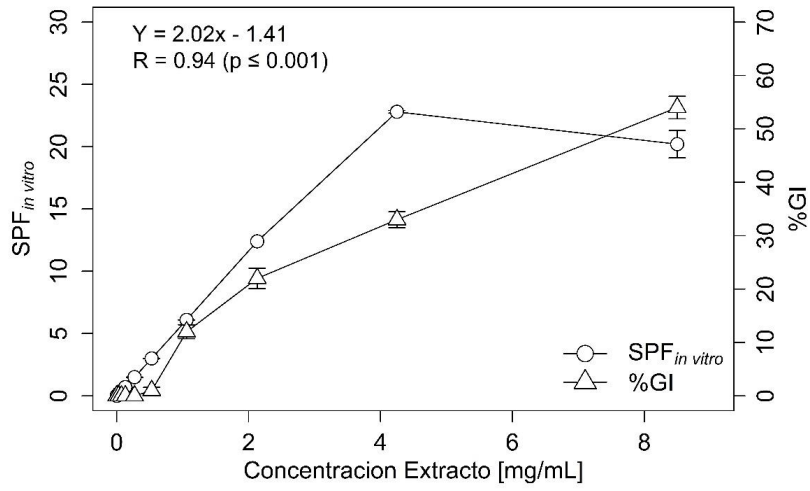
Extracto UIS0209



Extracto UIS0210



Extracto UIS0211



Extracto UIS0212

