



***CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN FUNCIONAL IN SILICO DE LA
PITIRIACITRINA COMO FOTOPROTECTOR NATURAL CON POTENCIAL
APLICACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL***

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ, 30 DE ABRIL DE 2026



***CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN FUNCIONAL IN SILICO DE LA
PITIRIACITRINA COMO FOTOPROTECTOR NATURAL CON POTENCIAL
APLICACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL***

CAROLINA OSORIO LÓPEZ

ANDRÉS CAMILO GONZÁLEZ GÓMEZ

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ, 30 DE ABRIL DE 2026



***CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN FUNCIONAL IN SILICO DE LA
PITIRIACITRINA COMO FOTOPROTECTOR NATURAL CON POTENCIAL
APLICACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL***

APROBADA: _____

JURADOS: _____

ASESOR: ANDRÉS CAMILO GONZÁLEZ GÓMEZ

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ, 30 DE ABRIL DE 2026

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, en primer lugar, a Dios, por sostenerme en cada paso de este camino, por darme la fortaleza necesaria para continuar aún en los momentos en que la vida parecía desbordarme y por permitirme llegar hasta este instante que tanto soñé, pero que no representa el límite, sino el inicio de todo lo bueno que está por venir.

A mis padres, Diana Yaneth López Sepúlveda y Oscar Osorio Bedoya, quienes, a pesar de no haber tenido la oportunidad de culminar sus estudios, me enseñaron con su esfuerzo, sacrificio y ejemplo, el verdadero valor de la perseverancia, incluso en medio de las dificultades nunca dejaron de apoyarme y de creer en mí. Sobre todo, a mi madre, de manera muy especial, porque aún no conoce la magnitud de este momento ni sabe que estoy próxima a graduarme; uno de mis mayores anhelos es que este trabajo sea laureado para poder dedicarle este triunfo como una forma de agradecerle silenciosamente todo lo que sembró en mi vida. Los amo profundamente y este logro también es de ustedes.

A mi hermano Santiago, quien partió de este mundo muy pronto, pero cuya presencia sigue viva en mi corazón. Fuiste y sigues siendo una de las personas más importantes en mi vida; tu ausencia ha marcado profundamente mi existencia y desde tu partida, muchas veces me he cuestionado el sentido de continuar, sin embargo, también te has convertido en una de mis más grandes motivaciones para seguir adelante. Este logro lleva tu nombre en mi alma, porque donde quiera que estés, deseo que sientas el orgullo inmenso que hoy te dedica tu hermana.

Finalmente, esto lo dedico a mi niña interior, a esa versión de mí que soñó sin saber cuán difícil sería el camino, pero que aun así nunca dejó de creer. Gracias por resistir, por seguir

soñando y por convertirte en la mujer que hoy hace realidad aquello que alguna vez parecía tan lejano. Gracias a mi yo del pasado, por cada decisión que me trajo hasta este punto, porque con cada elección aprendí, crecí y viví experiencias que me han venido formando como la persona y la profesional que soy y seré.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, al Universo, a mis padres, a mi familia y a Milena, por creer en mí, por su apoyo constante y por ser uno de los motores que me impulsó a seguir adelante incluso en los momentos más difíciles; por sostenerme con su amor, sus palabras y su presencia cuando más lo necesité.

A Sneyder, mi compañero de vida desde hace catorce años, por su amor incondicional, su paciencia infinita y por demostrarme en cada pequeño gesto que el amor se construye en la presencia constante, en el apoyo silencioso y en la permanencia genuina. Gracias por sostener lo que parecía insostenible, gracias por creer, por no soltarme, por quedarte donde nadie más lo habría hecho y por caminar a mi lado en cada etapa de este proceso.

A mi asesor de tesis, profe Andrés, gracias por confiar en mí, en mi idea; gracias por ver más allá, gracias por su guía, por su paciencia y, sobretodo, gracias por sus valiosos aportes, que hicieron posible la consolidación de este trabajo tan bonito y necesario.

A Yonsy Esmedy, por su apoyo constante; su ayuda ha sido fundamental en este camino y siempre la llevaré con gratitud. Gracias por su sabiduría, por abrirme las puertas de su hogar y brindarme no solo un techo y seguridad, sino también la calidez, consejo, alimento, respaldo y cuidado en momentos cruciales.

A mi universidad y a cada uno de mis docentes, quienes con su conocimiento, entrega y ejemplo despertaron en mí una profunda vocación por mi profesión, motivándome a formarme con excelencia y compromiso.

A mis amigos y compañeros, por compartir este camino entre risas, lágrimas, noches de estudio, tensiones antes de cada parcial y memorias que permanecerán siempre conmigo. Gracias a todas y cada una de las personas que se fueron cruzando en mi camino, porque de alguna u otra forma influyeron, ya fuera para ayudarme a tomar una decisión, para motivarme, inspirarme, hacerme reír, reflexionar, replantear, valorar o simplemente para enseñarme.

GRACIAS, GRACIAS, GRACIAS.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	14
INTRODUCCIÓN	16
1. ANTECEDENTES	19
1.1. Evolución del conocimiento sobre el estrés por UV-B en plantas	19
1.1.1. Estudios pioneros sobre daño fisiológico.....	20
1.1.2. El descubrimiento del fotorreceptor UVR8 y la revolución molecular	20
1.1.3. Estudios sobre la dinámica de flavonoides bajo estrés combinado.....	21
1.1.4. Investigaciones sobre el metabolito fúngico pitiriacitrina	22
1.2. Identificación de la brecha de conocimiento y justificación del estudio.....	24
2. MARCO REFERENCIAL.....	26
2.1. Fundamentos teóricos de la fotoprotección vegetal	26
2.1.1. Teoría de estrés oxidativo y respuesta antioxidante en plantas.....	26
2.1.2. Modelo de percepción y señalización específica de UV-B: el fotorreceptor UVR8	27
2.1.3. Teoría de la dualidad funcional de flavonoides	28
2.1.4. Producción heteróloga en <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	29

2.2.	Fundamentos teóricos de las herramientas bioinformáticas.....	30
2.2.1.	Acoplamiento molecular (Docking).....	30
2.2.2.	Modelado por homología	31
2.2.3.	Análisis de Balances de Flujos (FBA)	31
2.3.	<i>Arabidopsis thaliana</i> como modelo biológico y relevancia agronómica contextual	31
2.3.1.	<i>Arabidopsis thaliana</i> como organismo modelo en investigación vegetal	31
2.3.2.	Conservación evolutiva y funcional de UVR8: de <i>Arabidopsis</i> a cultivos de interés agronómico.....	33
2.3.3.	Relevancia agronómica para Colombia: radiación UV-B y cultivos estratégicos	36
2.3.4.	Estrategias para mitigar el estrés por UV-B en agricultura.....	38
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	39
3.1.	Enfoque, tipo y diseño de la investigación.....	39
3.2.	Universo, población y muestra.....	40
3.3.	Hipótesis, variables, e indicadores	43
3.3.1.	Hipótesis de trabajo	43
3.3.2.	Variables e indicadores	43
3.4.	Técnicas y procedimientos	44

3.4.1.	Configuración del entorno computacional y control de reproducibilidad.....	44
3.4.2.	Evaluación quimioinformática y predicción ADMET	45
3.4.3.	Preparación de estructuras moleculares para acoplamiento	46
3.4.4.	Acoplamiento molecular (docking).....	46
3.4.5.	Diseño in silico del plásmido recombinante (pYES2-PITI).....	47
3.4.6.	Modelado metabólico y análisis de balance de flujos (FBA).....	47
4.	RESULTADOS.....	48
4.1.	Perfil ADMET y predicción de retención cuticular	48
4.2.	Análisis de acoplamiento molecular (docking) y estabilización del fotorreceptor UVR8 51	
4.3.	Validación topológica y ensamblaje <i>in silico</i> de vector recombinante	53
4.4.	Evaluación del rendimiento teórico y viabilidad metabólica	55
5.	DISCUSIÓN	57
5.1.	Limitaciones de estudio y proyecciones futuras.....	61
6.	CONCLUSIONES	63
7.	REFERENCIAS.....	64
8.	ANEXOS	75

8.1. Declaración de uso de IA75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura tridimensional de UVR8 de <i>Arabidopsis thaliana</i> (PDB: 4D9S).	21
Figura 2. Estructura tridimensional de la Pitiriacitrina. Fuente: Imagen tomada de PubChem (NCBI), compuesto Pityriacitrin (CID 56649540).	23
Figura 3. Análisis ADMET de la pitiriacitrina.	49
Figura 4. Representación tridimensional del complejo UVR8-pitiriacitrina.	53
Figura 5. Mapas topológicos comparativos generados <i>in silico</i> para la estrategia de producción heteróloga.	54
Figura 6. Análisis de trade-off entre la formación de biomasa y a síntesis de pitiriacitrina.	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variables e indicadores.	43
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas calculadas <i>in silico</i> para la pitiriacitrina y compuestos de referencia.	50
Tabla 3. Energías de afinidad termodinámica.	51
Tabla 4. Comparativa de flujos metabólicos en <i>S. cerevisiae</i> bajo escenarios de crecimiento máximo (Fase logarítmica) y producción máxima (Fase de inducción).	55



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

***CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN FUNCIONAL IN SILICO DE LA
PITIRIACITRINA COMO FOTOPROTECTOR NATURAL CON POTENCIAL
APLICACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL***

RESUMEN

La radiación ultravioleta B (UV-B, 280-315 nm) constituye un factor de estrés abiótico relevante para los cultivos en regiones tropicales y de alta montaña, donde alcanza niveles extremadamente peligrosos. El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar *in silico* el potencial del alcaloide fúngico pitiriacitrina como agente fotoprotector vegetal. Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas mediante quimioinformática (RDKit), se realizó acoplamiento molecular entre la pitiriacitrina y el fotorreceptor UVR8 de *Arabidopsis thaliana* (PDB ID: 4D9S) utilizando AutoDock Vina, y se diseñó un vector recombinante con análisis de balance de flujos metabólicos en *Saccharomyces cerevisiae* mediante COBRApy. Los resultados mostraron que la

pitiriacitrina presenta un perfil fisicoquímico favorable para retención cuticular (LogP 4.86, TPSA 44.47 Å², MW 283.33 Da). El acoplamiento molecular reveló una energía libre de unión de -9.615 kcal/mol, con interacciones de apilamiento π - π establecidas entre el compuesto y los residuos cromóforos Trp233 y Trp285 del receptor. El análisis de balance de flujos predijo una producción teórica de 2.22 mmol/gDW/h durante la fase de inducción. Se concluye que la pitiriacitrina constituye un candidato prometedor para el desarrollo de biofotoprotectores de origen natural, con un mecanismo dual que combinaría filtración física de la radiación y modulación de la señalización primaria de estrés UV-B.

Palabras clave: pitiriacitrina; fotoprotección; UVR8; acoplamiento molecular; *Saccharomyces cerevisiae*.

Carolina Osorio López

Andrés Camilo González – Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

30 de Abril de 2026

INTRODUCCIÓN

La radiación ultravioleta B (UV-B, 280-315 nm) es un componente inherente de la luz solar que, si bien actúa como señal ambiental, también puede resultar estresante para las plantas al alcanzar altas intensidades, especialmente en el contexto del cambio climático y las fluctuaciones en la columna de ozono (1). El estrés por UV-B provoca daños directos en macromoléculas como el ADN mediante la formación de dímeros de pirimidina (CPDs, por sus siglas en inglés Cyclobutane Pyrimidine Dimers) y en el aparato fotosintético, particularmente en el fotosistema II (PSII) y en la enzima ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco) (2,3). De manera indirecta, la radiación UV-B induce la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés Reactive Oxygen Species) que pueden causar estrés oxidativo, peroxidación lipídica y disfunción celular, lo cual termina afectando negativamente el crecimiento y la productividad de los cultivos (1,4,5).

Para contrarrestar estos efectos, las plantas han desarrollado sofisticados mecanismos de aclimatación y defensa, entre los cuales se destaca la acumulación de compuestos fenólicos tales como los flavonoides y los ácidos hidroxicinámicos, que actúan como “filtros solares” en las capas epidérmicas, atenuando la penetración de la radiación UV (6,7). Estos compuestos absorben eficientemente en el rango UV-B (280-315 nm) y UV-A (315-400 nm), disipando la energía absorbida en forma de calor sin generar intermediarios reactivos (8). Aun así, el papel de estos metabolitos no es estático, investigaciones recientes demuestran que bajo condiciones de estrés combinado (por ejemplo, UV-B y baja temperatura), las plantas de *Arabidopsis thaliana* modifican no solo la cantidad sino también la composición de sus flavonoides, incrementando la proporción de derivados de quercetina (que tiene mayor capacidad antioxidante) frente a los de

kaempferol (9). Este cambio se acompaña de una relocalización de estos compuestos hacia el mesófilo, lo que sugiere una transición funcional desde un rol predominante como filtro UV hacia un rol clave como antioxidante en los tejidos fotosintéticos (9,10). Esta plasticidad metabólica es regulada finamente, siendo el fotorreceptor UV RESISTANCE LOCUS 8 (UVR8) el principal sensor de UV-B que inicia una cascada de señalización que involucra al factor de transcripción ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5), modulando la expresión de genes de fotoprotección y reparación del daño (11,12).

Paralelamente, el mundo microbiano ofrece una fuente de moléculas con propiedades fotoprotectoras únicas, como es el caso de la levadura lipofílica *Malassezia furfur*, que hace parte de la microbiota cutánea humana, esta produce una familia de alcaloides indólicos derivados del triptófano, entre los que se destaca la pitiriacitrina (13). Este compuesto ha despertado interés por su capacidad de absorber radiación en un amplio espectro (UVA y UVB), su fotoestabilidad y su demostrada eficacia protegiendo células de levadura, bacterias e incluso piel humana del daño inducido por UV, sin mostrar efectos tóxicos significativos en las concentraciones evaluadas (13,14,15).

La convergencia de estos conocimientos abre una pregunta biotecnológica de gran interés y es si una planta superior podría ser capaz de incorporar un metabolito fúngico exógeno como la pitiriacitrina para fortalecer su propia estrategia de defensa contra el estrés UV. Se conoce que las plantas poseen mecanismos documentados para la absorción y translocación de metabolitos secundarios exógenos a través de la cutícula y los tejidos vasculares, tal como se ha demostrado para giberelinas fúngicas, sideróforos bacterianos y diversos elicitores biológicos (16). Considerando las propiedades fisicoquímicas de la pitiriacitrina, particularmente su lipofilicidad

(LogP $\approx$ 4.86), bajo peso molecular (283.33 Da) y su naturaleza bisindólica, se plantea la hipótesis de que este alcaloide podría ejercer una función fotoprotectora dual en el sistema vegetal: (i) como un filtro físico complementario, puesto que dada su elevada lipofilidad y su reducido tamaño molecular favorecerían su partición en la matriz lipídica de la cutícula, acumulándose en tejidos superficiales y reduciendo la carga de radiación UV-B que incide sobre las células diana; y (ii) como un posible modulador exógeno de la maquinaria de señalización de estrés, interactuando con el fotorreceptor UVR8, dada su naturaleza indólica que recuerda a los cromóforos de triptófano involucrados en la percepción de UV-B (Trp233 y Trp285) lo que sugiere la posibilidad de que interactúe con ellos mediante apilamiento π - π , modulando así la estabilidad del dímero y la respuesta temprana a estrés. (11,12,17). Esta hipótesis de modulación molecular representa un enfoque novedoso en la fotoprotección vegetal, puesto que la mayoría de los estudios previos se han centrado en compuestos que actúan como antioxidantes *downstream* de la señalización y no como moduladores directos del receptor primario UVR8 (18).

La relevancia agronómica de esta investigación se fundamenta en la conservación evolutiva del fotorreceptor UVR8 a través del reino vegetal. Estudios filogenéticos y de complementación funcional han demostrado que ortólogos de UVR8 presentes en cultivos de importancia económica, incluyendo tomate (*Solanum lycopersicum*), arroz (*Oryza sativa*), trigo (*Triticum aestivum*) y diversas brasicáceas, conservan los residuos de triptófano críticos para la fotorrecepción y la capacidad de señalización *downstream* (19). Esta conservación sugiere que los hallazgos obtenidos con el modelo *Arabidopsis thaliana* podrían ser extrapolables a sistemas agrícolas reales, fundamentalmente en regiones tropicales y de alta montaña donde la radiación UV-B es intensa. En Colombia, el Atlas de Radiación Solar, elaborado por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) y la Unidad de Planeación Minero

Energética (UPME), evidencia que amplias zonas del territorio nacional reciben niveles significativos de radiación UV, lo que resalta la relevancia agronómica de comprender y mitigar el estrés por UV-B en los cultivos de interés económico (20). Esta situación es concretamente crítica para cultivos estratégicos como café, flores, frutas y hortalizas que se desarrollan en zonas altoandinas colombianas (1500-3000 msnm), donde la radiación UV-B puede ser hasta un 40% mayor que a nivel del mar (21,22).

Con base en lo anterior, el objetivo general de este trabajo es caracterizar *in silico* el potencial de la pitiriacitrina como agente fotoprotector en plantas, mediante la evaluación de sus propiedades fisicoquímicas de absorción de radiación y retención cuticular, así como el estudio de su interacción molecular con el fotorreceptor UVR8. Para dar cumplimiento a este propósito, se plantean los siguientes objetivos específicos: (i) evaluar las propiedades fisicoquímicas y el perfil ADMET de la pitiriacitrina para predecir su capacidad de retención en la cutícula foliar; (ii) analizar, a través de acoplamiento molecular, la interacción entre la pitiriacitrina y el fotorreceptor UVR8 de *Arabidopsis thaliana*; y (iii) diseñar *in silico* un vector recombinante y evaluar la viabilidad metabólica de la producción heteróloga de pitiriacitrina en *Saccharomyces cerevisiae*, sentando las bases para futuras validaciones experimentales y aplicaciones biotecnológicas.

1. ANTECEDENTES

1.1. Evolución del conocimiento sobre el estrés por UV-B en plantas

La investigación sobre los efectos de la radiación ultravioleta-B en plantas ha experimentado una evolución significativa en las últimas tres décadas, transitando desde estudios

descriptivos del daño fisiológico hasta la caracterización molecular de los mecanismos de percepción y señalización.

1.1.1. Estudios pioneros sobre daño fisiológico

Los primeros trabajos sistemáticos se centraron en documentar los efectos deletéreos de la radiación UV-B sobre procesos fisiológicos fundamentales, Kataria y colaboradores (2014) realizaron una revisión exhaustiva que consolidó el conocimiento sobre el impacto del UV-B en el aparato fotosintético, demostrando que el fotosistema II (PSII) constituye el blanco principal de daño, particularmente la proteína D1 del centro de reacción, cuya tasa de degradación excede la capacidad de reparación bajo estrés severo (2). Complementariamente, Gil y colaboradores (2015) caracterizaron los mecanismos de daño al ADN inducidos por UV-B, estableciendo que los dímeros de ciclobutano pirimidina (CPDs) representan aproximadamente el 75% de las lesiones fotoinducidas, mientras que los fotoproductos 6-4 pirimidina-pirimidona (6-4 PPs) constituyen el 25% restante (3). Estos estudios, aunque fundamentales, se limitaron a describir el daño sin abordar los mecanismos moleculares de percepción.

1.1.2. El descubrimiento del fotorreceptor UVR8 y la revolución molecular

Un hito transformador en el campo fue el descubrimiento y caracterización estructural del fotorreceptor UV RESISTANCE LOCUS 8 (UVR8), el estudio seminal de Rizzini y colaboradores (2011) demostró que UVR8 utiliza residuos de triptófano intrínsecos como cromóforos para percibir UV-B, un mecanismo sin precedentes en fotorreceptores vegetales (23). Jenkins (2014) dilucidó posteriormente la estructura de UVR8, revelando una arquitectura tipo propela β de siete aspas, un homodímero en ausencia de UV-B, y es estabilizado por puentes

salinos entre argininas y aspartatos/glutamatos de subunidades opuestas (17). La absorción de fotones UV-B por Trp233 y Trp285 induce la transferencia electrónica acoplada a protones (PCET), neutralizando los puentes salinos y provocando la disociación del dímero en monómeros activos (24).

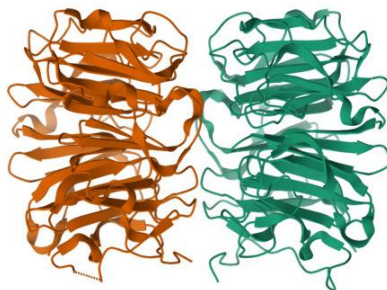


Figura 1. Estructura tridimensional de UVR8 de *Arabidopsis thaliana* (PDB: 4D9S).

Nota: Se observan las dos subunidades organizadas en forma de hélice β , característica del estado inactivo previo a la exposición a radiación UV-B. **Fuente:** Tomado de RCSB Protein Data Bank.

En una revisión posterior, Jenkins (2017) integró el conocimiento acumulado sobre la vía de señalización UVR8-COP1-HY5, estableciendo que la monomerización de UVR-8 permite su interacción con CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC 1 (COP1), una ubiquitina ligasa E3 que, en este contexto, actúa como regulador positivo de la respuesta fotomorfogénica (6), esta interacción estabiliza al factor de transcripción ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5), que regula la expresión de genes involucrados en la biosíntesis de flavonoides y enzimas de reparación del ADN.

1.1.3. Estudios sobre la dinámica de flavonoides bajo estrés combinado

Un avance conceptual significativo provino de investigaciones que examinaron la respuesta a la radiación UV-B en condiciones de estrés combinado simulando de manera más fiel las

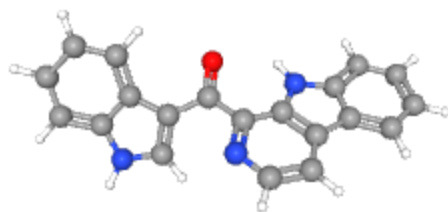
condiciones reales de campo, tal como en el trabajo de Nichelmann y Pescheck (2021) con *Arabidopsis thaliana*, siendo esta cultivada durante un año completo en condiciones de campo se demostró que la temperatura y la radiación UV-B interactúan sinérgicamente para modular la composición y localización de flavonoides (9). Este estudio empleó cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas (UHPLC-MS) y microscopía confocal de fluorescencia, metodologías que permitieron cuantificar con precisión los cambios en la relación quercetina/kaempferol (Q/K) y visualizar la relocalización subcelular de estos compuestos. Los principales hallazgos revelaron que bajo estrés combinado de frío y UV-B, la quercetina se acumula hasta 20 veces más y se relocaliza de la epidermis al mesófilo, cambiando su función de filtro UV a antioxidante, mientras que los ácido hidroxicinámicos dependen principalmente de la temperatura.

La limitación principal de este estudio, señalada por los propios autores, es haberse restringido a un único ecotipo de *Arabidopsis* (*Landsberg erecta*) y a una sola localidad geográfica, lo que restringe la extrapolación de los hallazgos a otras especies y condiciones ambientales. Complementariamente, estudios previos como el de Agati y colaboradores (2013) habían anticipado esta dualidad funcional de los flavonoides, proponiendo que los derivados dihidroxilados (como quercetina) poseen mayor capacidad antioxidante que los monohidroxilados (como kaempferol) debido a la presencia de un grupo catecol en el anillo B (10).

1.1.4. Investigaciones sobre el metabolito fúngico pitiriacitrina

En un ámbito paralelo, la investigación sobre la pitiriacitrina ha seguido una trayectoria independiente, centrada inicialmente en sus aplicaciones dermatológicas. Mayser y colaboradores (2002) aislaron y caracterizaron estructuralmente este alcaloide indólico a partir de cultivos de

Malassezia furfur suplementados con triptófano, determinando su fórmula molecular ($C_{20}H_{13}N_3O$) y su espectro de absorción UV ($\lambda_{\max}$ a 212, 289, 315 y 389 nm) (13). La caracterización estructural se realizó mediante resonancia nuclear (RMN) y espectrometría de



masas de alta resolución, estableciendo inequívocamente su naturaleza bisindólica.

Figura 2. Estructura tridimensional de la Pitiriacitrina.

Fuente: Imagen tomada de PubChem (NCBI), compuesto Pityriacitrin (CID 56649540).

Machowinski y colaboradores (2006) extendieron estos hallazgos demostrando la capacidad fotoprotectora de la pitiriacitrina en sistemas biológicos, utilizando ensayos de viabilidad celular en *Candida albicans* y bacterias de la microbiota cutánea (*Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*), demostraron que la presencia de la pitiriacitrina durante la irradiación UVB reducía la mortalidad celular del 96% a niveles casi indetectables (14). Una limitación metodológica de este estudio fue la ausencia de controles que descartaran efectos de filtración inespecífica por otros componentes del medio de cultivo.

Posteriormente, Gambichler y colaboradores (2007) realizaron el primer (y hasta la fecha único) estudio *in vivo* en humanos, cuantificando mediante colorimetría el factor de protección solar (SPF) de una formulación tópica con pitiriacitrina al 5% (15). El SPF determinado fue aproximadamente 1, valor que, aunque es bajo comparado con protectores solares comerciales

(SPF ≥ 15), debe interpretarse en el contexto de que la pitiriacitrina no fue formulada con potenciadores de penetración ni combinada con otros filtros UV. Los autores concluyeron que la ausencia de reacciones adversas y la absorción en amplio espectro respaldan su potencial como coadyuvante en fotoprotección.

1.2. Identificación de la brecha de conocimiento y justificación del estudio

El análisis crítico de los antecedentes revela una convergencia no explorada entre dos campos de investigación que, por el momento han avanzado de manera independiente: por un lado, los mecanismos de fotoprotección vegetal mediados por el receptor UVR8 y la biosíntesis de flavonoides; y por otro, las propiedades fotoprotectoras atribuidas a la pitiriacitrina de origen fúngico. Aunque ambos comparten como eje central la respuesta frente a la radiación ultravioleta, no se han identificado estudios que integren estas perspectivas en un mismo marco experimental o conceptual.

En primer lugar, a pesar de que la estructura molecular del bolsillo de unión del receptor UVR8 ha sido ampliamente caracterizada, persiste un vacío importante en relación con la posible interacción de moduladores químicos exógenos con este sensor primario. Hasta la fecha, no existen investigaciones que evalúen si compuestos bioactivos de origen microbiano son capaces de interactuar con UVR8 y modular su actividad, lo que limita la comprensión de nuevas estrategias de fotoprotección a nivel molecular.

Paralelamente, el potencial biotecnológico y agronómico de la pitiriacitrina permanece prácticamente inexplorado. Los estudios disponibles se han concentrado exclusivamente en el ámbito dermatológico humano, especialmente por sus propiedades fotoprotectores frente a la

radiación UV, sin considerar su posible aplicación en sistemas vegetales expuestos a estrés por UV-B. Esta ausencia de evidencia representa una oportunidad de investigación relevante, especialmente en el contexto de cultivos sometidos a condiciones ambientales cada vez más extremas.

En adición, las estrategias actuales de fotoprotección vegetal se han orientado principalmente hacia el uso de barreras físicas, como mallas o películas plásticas (lo cual genera una creciente preocupación por la contaminación asociada al uso extensivo de plásticos en agroecosistemas y la generación de microplásticos), o hacia la inducción de defensas exógenas mediante elicitores biológicos, pero no se ha explorado de manera suficiente la posibilidad de desarrollar un mecanismo dual que combine la filtración física de la radiación con la modulación molecular del sensor UVR8, estrategia que podría potenciar la respuesta adaptativa de las plantas frente al estrés lumínico.

En este sentido, el presente estudio se justifica por su carácter innovador al proponer la evaluación de la pitiriacitrina como una alternativa biotecnológica para la fotoprotección vegetal, integrando por primera vez la perspectiva de la protección física de la radiación UV-B con la posible modulación de mecanismos moleculares asociados al receptor UVR8, sentando las bases para el diseño de biofotoprotectores biodegradables y aplicables por aspersión que respondan simultáneamente a las demandas de productividad agrícola y sostenibilidad ambiental.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. Fundamentos teóricos de la fotoprotección vegetal

2.1.1. *Teoría de estrés oxidativo y respuesta antioxidante en plantas*

El marco conceptual que sustenta esta investigación se fundamenta en la teoría del estrés oxidativo, que postula que el desbalance entra la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad de detoxificación celular conduce al daño macromolecular y disfunción fisiológica (4). En el contexto específico de la radiación UV-B, las ROS se generan través de múltiples mecanismos.

- Fotólisis del agua en el fotosistema II (PSII): La radiación UV-B daña el complejo de evolución de oxígeno (OEC), provocando la liberación de radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) (2).
- Cadena transportadora de electrones: La fotoinhibición del PSII incrementa la fuga de electrones hacia el oxígeno molecular, generando radical superóxido ($\text{O}_2\bullet^-$) que es dismutado a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por la superóxido dismutasa (SOD) (11).
- Activación de NADPH oxidasas: Enzimas como RBOH (Respiratory Burst Oxidase Homolog) son activadas por señales de estrés, produciendo ROS como moléculas señalizadoras (25).

El concepto de “umbral de estrés oxidativo”, propuesto por Foyer y Noctor (2015), establece que las ROS actúan como señales beneficiosas a bajas concentraciones, pero se vuelven citotóxicas cuando exceden la capacidad antioxidante celular (26).

2.1.2. Modelo de percepción y señalización específica de UV-B: el fotorreceptor UVR8

El fotorreceptor UVR8 representa un paradigma único en fotobiología vegetal por su mecanismo de fotorrecepción basado en aminoácidos intrínsecos sin requerir cromóforos exógenos (6,17). UVR8 es una proteína de 440 aminoácidos que existe como homodímero en condiciones de oscuridad y se monomeriza tras la absorción de fotones UV-B por residuos de triptófano específicos (17). Para los propósitos de este estudio, la actividad de UVR8 se operacionaliza a través de su estado conformacional (dimérico = inactivo; monomérico = activo) y su capacidad de interacción con COP1. La estabilización del dímero por un ligando exógeno se evalúa mediante la energía libre de unión (ΔG , kcal/mol) calculada por acoplamiento molecular.

Mecanismo molecular de activación

1. Estado basal (dímero inactivo): En ausencia de UV-B, UVR8 forma un homodímero estabilizado por puentes salinos entre Arg286 y Arg338 de una subunidad, Asp96 y Asp107 de la subunidad opuesta (17).
2. Fotorrecepción: La absorción de fotones UV-B (280-315 nm) por Trp233 y Trp285 induce una transferencia electrónica acoplada a protones (PCET) que neutraliza las cargas de los puentes salinos (17).
3. Monomerización: La ruptura de los puentes salinos provoca la disociación del dímero en monómeros, exponiendo la región C-terminal (C27) que contiene el dominio de interacción con COP1 (6).
4. Señalización *downstream*: El monómero UVR8 interactúa con COP1 a través de la región C27, secuestrando a COP1 de su función como represor de la fotomorfogénesis y estabilizando al factor de transcripción HY5 (6,11).

5. Respuesta transcripcional: HY5 se une a elementos de respuesta a luz (LREs) en los promotores de genes como CHS (chalcona sintasa), FLS (flavonol sintasa) y fotoliasas, induciendo la biosíntesis de flavonoides y la reparación del ADN (11).

2.1.3. Teoría de la dualidad funcional de flavonoides

Los flavonoides constituyen una clase de metabolitos secundarios cuya función en fotoprotección ha evolucionado conceptualmente desde un modelo estático de “filtro solar” hacia un modelo dinámico de “plasticidad funcional”. Estos son compuestos fenólicos de 15 carbonos (estructura $C_6-C_3-C_6$) que absorben radiación UV y poseen capacidad antioxidante (7,9). En este estudio, la función de los flavonoides se operacionaliza a través de su capacidad de filtro UV que es cuantificada por la absorbancia epidérmica medida *in vivo* y correlacionada con la concentración de flavonoides totales (nmol cm^{-2}), y su capacidad antioxidante que es determinada por la relación quercetina/kaempferol (Q/K), donde valores elevados indican predominio de la función antioxidante sobre la de filtro UV (9).

El trabajo de Nichelmann y Pescheck (2021) proporcionó evidencia empírica para un modelo de dos fases en la respuesta de flavonoides al estrés UV-B:

- Fase 1 (estrés moderado): Predominio de la función de filtro UV. Los flavonoides (principalmente kaempferol) se acumulan en la epidermis, donde su alta absortividad molar en el rango UV-B reduce la penetración de radiación hacia tejidos fotosintéticos.
- Fase 2 (estrés severo o combinado): Transición hacia la función antioxidante. La relación Q/K aumenta significativamente y la quercetina se relocaliza hacia el

mesófilo, donde su capacidad de donar electrones (debido al grupo catecol en el anillo B) neutraliza las ROS generadas por fotoinhibición.

Este modelo se sustenta en principios fisicoquímicos, mientras que la capacidad de absorción UV de los flavonoides se satura a concentraciones relativamente bajas ($\sim 150 \text{ nmol cm}^{-2}$ de fenoles totales), la capacidad antioxidante de la quercetina continúa aumentando linealmente con la concentración y es especialmente efectiva cuando el compuesto está localizado cerca de las fuentes de ROS, como los cloroplastos del mesófilo (7,9).

2.1.4. Producción heteróloga en *Saccharomyces cerevisiae*

La producción heteróloga se refiere a la expresión de genes provenientes de un organismo donante en un hospedero diferente, utilizando vectores de expresión y estrategias de ingeniería metabólica (27). Para este estudio, la producción heteróloga se operacionaliza a partir del diseño del sistema de expresión y de su desempeño teórico. El primero, se representa mediante el plásmido pYES2-PITI (7300pb) que incorpora el casete TAM bajo el control del promotor inducible GAL1, mientras que el segundo, se evalúa a través del rendimiento teórico de producción, calculado mediante Análisis de Balance de Flujos (FBA) expresado en mmol de pitiriacitrina por gramo de peso seco por hora (mmol/gDW/h) como medida cuantitativa de la producción esperada del metabolito.

Componentes del sistema de expresión

1. Hospedero: *Saccharomyces cerevisiae*, un microorganismo GRAS (Generally Recognized As Safe) con maquinaria eucariota para modificaciones postraduccionales (27).

2. Vector de expresión: Serie pYES, caracterizada por incorporar el promotor inducible GAL1, el cual permite separar temporalmente la fase de crecimiento celular (utilizando glucosa como fuente de carbono) de la fase de producción (inducida posteriormente mediante galactosa) (28), favoreciendo un control regulado de la expresión génica. También contiene el marcador auxotrófico URA3, utilizado para la selección de transformantes en cepas auxótrofas para uracilo. Este vector se caracteriza por el origen de replicación 2μ , responsable de conferir un alto número de copias episomales (estimado entre 40 y 60 copias por célula) (29), lo que favorece una mayor expresión del gen de interés.
3. Casete biosintético TAM: Secuencia codificante de la enzima triptófano aminotransferasa, optimizada por codones para *S. cerevisiae*, que cataliza la conversión de L-triptófano a precursores alcaloides indólicos.

2.2. Fundamentos teóricos de las herramientas bioinformáticas

2.2.1. Acoplamiento molecular (*Docking*)

Esta es una metodología computacional que predice la orientación preferencial y la afinidad de unión de un ligando a una proteína receptora, basándose en principios de complementariedad estérica y electrostática (30). Dentro del presente trabajo, esta variable se aborda mediante la implementación del algoritmo AutoDock Vina v1.2.3, empleando como parámetros de búsqueda una grid box de $25 \times 5 \times 25 \text{ \AA}^3$, centrada en el centroide Trp233 y Trp285. La afinidad de interacción se evaluará a través de la energía libre de unión (ΔG , kcal/mol), considerando que valores más negativos reflejan una mayor afinidad entre el ligando y

el receptor. También se establecerá como criterio de significancia una interacción favorable cuando el valor de ΔG sea ≤ -7.5 kcal/mol (30).

2.2.2. Modelado por homología

Esta es una técnica computacional que predice la estructura tridimensional de una proteína a partir de su secuencia de aminoácidos, utilizando como molde la estructura experimental de proteínas homólogas (31). En el marco de esta investigación se utiliza directamente la estructura cristalográfica de UVR8 (PDB ID. 4D9S, resolución 1.95 Å), por lo que no se requiere modelado *ab initio*.

2.2.3. Análisis de Balances de Flujos (FBA)

Este es un método matemático para simular el flujo de metabolitos a través de una red metabólica en estado estacionario, basado en la matriz estequiométrica de reacciones y restricciones termodinámicas (32). El análisis de balance de flujos se realiza a través de la plataforma COBRApy v.0.29.0, seleccionada para la simulación y evaluación de comportamiento metabólico del sistema heterólogo. La función objetivo se establece de acuerdo con la fase fisiológica analizada, buscando la maximización de biomasa durante la fase logarítmica de crecimiento o la maximización de secreción de pitiriacitrina durante la fase de inducción.

2.3. *Arabidopsis thaliana* como modelo biológico y relevancia agronómica contextual

2.3.1. *Arabidopsis thaliana* como organismo modelo en investigación vegetal

La selección de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. como sistema biológico de referencia para este estudio *in silico* no es arbitraria, sino que responde a una serie de características que la

han consolidado como el organismo modelo por excelencia en biología vegetal molecular (33).

Arabidopsis thaliana fue el primer genoma vegetal secuenciado en su totalidad, un hito alcanzado en el año 2000 por la Iniciativa del Genoma de Arabidopsis (AGI) (34). Su genoma nuclear tiene un tamaño aproximado de 135 megabases (Mb) organizadas en cinco cromosomas, y contiene aproximadamente 27000 genes codificantes y de alta calidad, junto con anotaciones funcionales exhaustivas disponibles en bases de datos como TAIR (The Arabidopsis Information Resource) y Araport, permite la identificación precisa de genes ortólogos en otras especies y facilita el modelado estructural de proteínas como UVR8 (35,36).

Para los propósitos específicos de este estudio, se cuenta con la estructura tridimensional del fotorreceptor UVR8 de *Arabidopsis*, resuelta experimentalmente mediante cristalografía de rayos X a una resolución 1.95 Å (PDB ID. 4D9S) (17). Esta alta resolución permite realizar estudios de acoplamiento molecular con un nivel de precisión atómica que no sería posible con modelos teóricos de otras especies cuyas estructuras no han sido determinadas experimentalmente. Además *A. thaliana* cuenta con una comunidad científica internacional altamente colaborativa que mantiene recursos compartidos como TAIR, el Arabidopsis Biological Resource Center (ABRC) y el consorcio 1001 Genomes, que ha secuenciado más de 1100 ecotipos naturales de todo el mundo. Esta infraestructura de investigación abierta garantiza la reproducibilidad y comparabilidad de los resultados obtenidos en este estudio con la vasta literatura existente (37).

En adición, los mecanismos moleculares descubiertos en *Arabidopsis* (incluyendo la percepción de la luz, la señalización hormonal, las respuestas a estrés abiótico y el metabolismo secundario) están altamente conservados en plantas superiores, incluyendo cultivos de

importancia económica (38). Esta transferibilidad de conocimiento desde *Arabidopsis* hacia especies cultivadas está bien documentada y constituye uno de los principios fundamentales de la investigación traslacional en biotecnología vegetal.

2.3.2. Conservación evolutiva y funcional de UVR8: de *Arabidopsis* a cultivos de interés agronómico

La relevancia traslacional de esta investigación depende críticamente de la demostración de que los hallazgos obtenidos con AtUVR8 son extrapolables a los ortólogos presentes en cultivos de importancia económica. La evidencia acumulada en la última década respalda firmemente esta extrapolación. Fernández y colaboradores (2016) realizaron un análisis filogenético comprehensivo que demostró que genes homólogos a AtUVR8 están presentes en todo el espectro del reino vegetal, desde algas verdes (*Chlamydomonas reinhardtii*) hasta angiospermas (39). El análisis de 54 secuencias de UVR8 de especies representativas reveló que los dominios funcionales críticos presentan una conservación de secuencia superior al 80%:

- Trp233 y Trp285 están conservados en el 100% de las secuencias analizadas, incluyendo todos los cultivos de interés agronómico.
- Arg286 y Arg338 muestran una conservación >95%.
- La secuencia consenso VPEFG (posiciones 409-413 en AtUVR8) está conservada en todas las angiospermas analizadas (39).

Esta conservación absoluta de los residuos críticos para la fotorrecepción y la señalización sugiere que el mecanismo molecular de UVR8 ha permanecido esencialmente inalterado durante más de 450 millones de años de evolución vegetal (40). Y aunque la conservación de secuencia

no garantiza *per se* la conservación funcional, estudios de complementación heteróloga han demostrado inequívocamente que ortólogos de UVR8 de diversas especies pueden sustituir funcionalmente a AtUVR8 en *Arabidopsis*.

Tomate (Solanum lycopersicum)

Dong y colaboradores (2021) expresaron el ortólogo SlUVR8 bajo el control del promotor nativo de AtUVR8 en el mutante nulo **uvr8-1** de *Arabidopsis*. Las líneas transgénicas recuperaron completamente todas las respuestas a UV-B evaluadas como la inhibición de crecimiento de hipocótilo, expresión de genes diana (HY5, CHS, FLS1), acumulación de antocianinas y flavonoides, y tolerancia al estrés por UV-B (41). Mediante ensayos de co-inmunoprecipitación y doble híbrido de levadura, los autores demostraron además que SlUVR8 interactúa físicamente con la proteína COP1 de *Arabidopsis* con una afinidad comparable a la interacción AtUVR8-AtCOP1 (41).

Arroz (Oryza sativa)

El genoma del arroz contiene dos copias del gen UVR8 (OsUVR8a y OsUVR8b), resultado de una duplicación específica de monocotiledóneas. Chen y colaboradores (2024) generaron mutantes de pérdida de función para ambos genes mediante CRISPR/Cas9 y demostraron que OsUVR8b es el ortólogo funcional predominante, mientras que OsUVR8a parece haber sufrido subfuncionalización (42). Las plantas de arroz deficientes en OsUVR8 mostraron una reducción significativa en la acumulación de flavonoides y una mayor sensibilidad al daño por UV-B, fenotipos que fueron rescatados por la expresión de AtUVR8, demostrando la intercambiabilidad funcional entre especies tan divergentes como una dicotiledónea (*Arabidopsis*) y una monocotiledónea (arroz) (42).

Otras especies validadas

Como se menciona anteriormente, la conservación funcional del fotorreceptor UVR8 ha sido ampliamente documentada en diversos linajes fotosintéticos, desde algas hasta angiospermas, lo que evidencia su papel central en la percepción de la radiación UV-B y en la activación de respuestas fotoprotectoras. En *Chlamydomonas reinhardtii*, CrUVR8 presenta la capacidad de monomerizar en respuesta a la radiación UV-B, interactúa con COP1 y es capaz de complementar el mutante *uvr8* de *Arabidopsis*, demostrando que los mecanismos básicos de percepción ya existían en ancestros comunes (39,43).

En plantas angiospermas, la complementación funcional es recurrente, el gen MdUVR8 del manzano (*Malus domestica*) rescata el mutante *uvr8* y regula la elongación del hipocótilo junto con la expresión de HY5 (39,44). En chopo (*Populus euphratica*), PeUVR8 no solo complementa el mutante, sino que también aumenta la acumulación de antocianinas (39,45). El maíz (*Zea mays*) presenta ZmUVR8, que restaura los niveles de HY5, CHS y flavonoides (46). En la gramínea modelo *Brachypodium distachyon*, BdUVR8 complementa el mutante *uvr8* y regula la expresión de CHS y la producción de flavonoides (47). El crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*) expresa CmUVR8, que presenta el mismo plegamiento tridimensional, rescata a ausencia de UVR8 en *Arabidopsis* e induce flavonoides (48).

En organismos no vasculares como la hepática *Marchantia polymorpha* (MpUVR8) y el musgo *Physcomitrella patens* (PpUVR8), los fotorreceptores funcionan como dímeros que monomerizan con UV-B, se acumulan en el núcleo y activan respuestas de protección (49,50,51). En quinoa (*Chenopodium quinoa*) se han identificado dos ortólogos tipo UVR8 (CqRCC1_20 y

CqRCC1_23), los cuales conservan los triptófanos críticos para la percepción de UV-B y el dominio de interacción con COP1 (motivo V-P) (52).

En conjunto, la evidencia funcional desde algas hasta angiospermas y plantas basales demuestra que UVR8 es un fotorreceptor altamente conservado, central en la protección frente a UV-B mediante la inducción de flavonoides, antocianinas y la regulación de factores como HY5, por lo tanto esta conservación en todos los ortólogos de UVR8 analizados tiene una implicación directa para este trabajo, el bolsillo de unión donde la pitiriacitrina podría interactuar (según las predicciones de acoplamiento molecular) es estructuralmente idéntico en *Arabidopsis* y en los cultivos de interés. Por lo tanto, si la pitiriacitrina demuestra afinidad por AtUVR8 *in silico*, es altamente probable que también pueda interactuar con los ortólogos de tomate, arroz, café, flores y otros cultivos estratégicos para Colombia.

2.3.3. Relevancia agronómica para Colombia: radiación UV-B y cultivos estratégicos

Colombia, por su ubicación geográfica ecuatorial (entre latitud 4° Sur y 12° Norte) y su compleja topografía andina, presenta condiciones de radiación ultravioleta que representan un factor de estrés abiótico significativo para la agricultura, puesto que la incidencia solar es más perpendicular durante todo el año. De acuerdo con el Atlas de Radiación Solar, Ultravioleta y Ozono de Colombia, elaborado conjuntamente por la UPME y el IDEAM, el país recibe una alta disponibilidad de energía solar durante todo el año, con una distribución espacial fuertemente influenciada por la altitud, la nubosidad y la posición latitudinal (53).

Los niveles máximos de radiación UV se concentran principalmente en la región Andina y zonas altas de montaña, donde la elevación incrementa significativamente la irradiancia

incidente. El IDEAM señala que la radiación UV en superficie aumenta aproximadamente un 10% por cada 1000 msnm, lo que genera condiciones de exposición sobre todo elevadas en áreas agrícolas ubicadas entre 1800 y 3000 msnm, como ocurre en gran parte de Antioquia, el Eje Cafetero, Boyacá, Cundinamarca, Nariño y Cauca. En estas regiones, el índice UV (UVI) frecuentemente alcanza valores de 11+, clasificados como extremadamente altos, e incluso pueden presentarse valores superiores en días despejados y a gran altitud (53,54).

Este patrón espacial destaca gran relevancia para la agricultura colombiana puesto que varios cultivos estratégicos del país se desarrollan precisamente en estas franjas altitudinales, zonas de mayor radiación UV-B. Por ejemplo, en el Eje Cafetero (Caldas, Quindío, Risaralda) que se encuentra a altitudes entre 1200-1800 msnm donde el UVI promedio es de 9-10, estudios recientes han demostrado que la radiación UV-B reduce la eficiencia fotosintética del café en hasta un 25% y afecta negativamente la calidad del grano (5).

Colombia es el segundo exportador mundial de flores frescas, con más de 8000 hectáreas cultivadas principalmente en la Sabana de Bogotá (2600 msnm), cultivos como la rosa (*Rosa* spp.), clavel (*Dianthus caryophyllus*) y crisantemo (*Chrysanthemum* spp.) están expuestos crónicamente a niveles UVI >11, lo que puede causar fotoinhibición, reducción de crecimiento y pérdida de calidad ornamental (22,55). Cultivos como lechuga (*Lactuca sativa*), espinaca (*Spinacia oleracea*), fresa (*Fragaria x ananassa*) y uchuva (*Physalis peruviana*) se producen en zonas altoandinas (2000-2800 msnm) y han mostrado respuestas de estrés a UV-B que incluyen acumulación de compuestos fenólicos protectores, pero con un costo metabólico que reduce el rendimiento (56).

Otro ejemplar es el arroz (*Oryza sativa*), que, aunque se cultiva en zonas bajas (0-500 msnm) de los Llanos Orientales y la Costa Caribe, la alta radiación incidente en estas regiones ecuatoriales (UVI 10-12) combinada con el estrés hídrico y térmico hace que el UV-B sea un factor limitante significativo, pues el arroz es sensible a este durante las etapas de plántula y floración (42). En consecuencia, la radiación UV-B constituye un componente ambiental constante dentro de los agroecosistemas y es un factor determinante en la fisiología, productividad y adaptación de los cultivos.

2.3.4. Estrategias para mitigar el estrés por UV-B en agricultura

La radiación UV-B puede causar daño al ADN, a las proteínas y a la maquinaria fotosintética, pero también actúa como una señal ambiental que induce respuestas de defensa en las plantas. Por ello, la mitigación del estrés por UV-B en la agricultura combina enfoques físicos, químicos, y genéticos, aunque los trabajos revisados provienen de distintos contextos globales, muchos de ellos son especialmente relevantes para regiones tropicales como Colombia, donde la alta irradiancia natural exige estrategias adaptadas.

En el manejo del ambiente de luz y las prácticas agronómicas, se incluye el uso de sombreado, policultivos y sistemas agroforestales, así como películas o plásticos filtrantes, los cuales reducen la carga de UV-B sobre cultivos sensibles como el café y modulan el espectro de radiación incidente (5,57). Otra estrategia física es la aspersión foliar de partículas de minerales reflectantes como suspensiones de cuarzo que han demostrado disminuir el daño por UV-A/UV-B en soya, con recuperación de biomasa y número de vainas (58). En horticultura protegida, el uso controlado de lámparas de UV-B en dosis bajas se emplea como herramienta de manejo sanitario y de calidad de producto.

Dentro de las medidas tecnológicas y genéticas se destacan el uso dirigido de UV-B suplementario para inducir defensas y reducir plagas y enfermedades; la nanotecnología mediante nanopartículas de TiO₂, Ag o Si, que aumentan antioxidantes y flavonoides (59); y el mejoramiento genético o edición génica que incluye la sobreexpresión de fotoliasas CPD, factores de transcripción MYB y genes de la ruta de los fenilpropanoides (1). Todas estas son aproximaciones que permiten no solo mitigar el daño sino también aprovechar la señal UV-B para mejorar la resiliencia de los cultivos.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque, tipo y diseño de la investigación

El presente estudio se enmarca en un enfoque cuantitativo, de tipo descriptivo-correlacional predictivo, con un diseño observacional transversal basado en modelado molecular y simulaciones computacionales (*in silico*). Esta clasificación se fundamenta en los criterios establecidos por Hernández Sampieri y Mendoza (2018) para investigaciones no experimentales que utilizan modelos teóricos y simulaciones para predecir fenómenos biológicos (60).

El estudio es descriptivo porque caracteriza las propiedades fisicoquímicas de la pitiriacitrina (LogP, TPSA, etc.) y experimental de enfoque *in silico*. Es correlacional predictivo porque establece una asociación hipotética entre la estructura molecular del ligando y su afinidad de unión al fotorreceptor UVR8, utilizando el acoplamiento molecular como técnica para predecir dicha interacción. El diseño es transversal ya que todas las mediciones y simulaciones se realizan en un único momento temporal sobre las estructuras moleculares disponibles (61).

La elección de una aproximación *in silico* se justifica por tres razones fundamentales: (i) permite evaluar la viabilidad de la hipótesis de interacción molecular antes de invertir recursos en síntesis química y ensayos biológicos costosos; (ii) proporciona información a nivel atómico sobre el mecanismo de unión que sería difícil o imposible de obtener exclusivamente mediante experimentación *in vitro*; y (iii) se alinea con los principios de las 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento) en investigación con organismos vivos (62).

3.2. Universo, población y muestra

El universo de estudio está constituido por moléculas de origen natural (metabolitos secundarios de plantas, hongos y microorganismos) con potencial aplicación fotoprotectora en sistemas vegetales caracterizadas por poseer anillos aromáticos conjugados capaces de absorber radiación UV (200-400nm).

. La población específica se restringe a los alcaloides indólicos derivados del triptófano producidos por levaduras del género *Malassezia*, de los cuales se han caracterizado estructuralmente al menos cinco compuestos: pitiriacitrina, malassezina, pityrialactona, pityriarubina y pityriazina (13).

Criterios de inclusión

- Molécula con peso molecular <500 Da (para favorecer la permeabilidad pasiva a través de la cutícula vegetal)
- Presencia de núcleo indólico o bisindólico con capacidad de absorción UV documentada experimentalmente.

- Disponibilidad de datos espectroscópicos (UV-Vis) que confirmen absorción en UVA/UVB.
- Estructura química completamente elucidada y depositada en bases de datos públicas (PubChem, ChemSpider).

Criterios de exclusión

- Moléculas con toxicidad documentada en células vegetales o animales.
- Compuestos con inestabilidad fotoquímica conocida (fotodegradación rápida).
- Moléculas para las que no existía una ruta biosintética caracterizada que permita su producción heteróloga.

Dado el carácter exploratorio y predictivo del estudio, se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia seleccionando la pitiriacitrina ($C_{20}H_{13}N_3O$, PubChem CID: 10091987) como unidad de análisis principal al ser un alcaloide indólico producido por la levadura *Malassezia furfur*, caracterizado por su absorción en las regiones UVA y UVB del espectro electromagnético (λ_{max} a 212, 289, 315 y 389 nm) (13). Su estructura bisindólica sugiere un potencial de interacción por apilamiento π - π con residuos aromáticos de proteínas como los triptófanos del fotorreceptor UVR8 (17). Además existe una ruta biosintética plausible a partir del L-triptófano, lo que hace factible su producción heteróloga en *S. cerevisiae* (63).

Para la validación de los parámetros fisicoquímicos y la interpretación de los resultados de acoplamiento molecular se incluyeron dos compuestos endógenos de *A. thaliana* con función fotoprotectora establecida:

- Quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$, PubChem CID: 5280343) Dihidroxi flavonol que actúa como filtro UV y antioxidante en la epidermis y mesófilo foliar (9).
- Ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$, PubChem CID: 54670067) Antioxidante hidrosoluble que neutraliza ROS generadas por estrés UV-B (4).

Nota: Estos compuestos no fueron sometidos a acoplamiento molecular con UVR8, sino que sirvieron como referencia para contextualizar el perfil fisicoquímico de la pitiriacitrina y validar la capacidad predictiva de los algoritmos empleados.

El fotorreceptor UV RESISTANCES LOCUS 8 (UVR8, PDB ID: 4D9S) de *A. thaliana* fue seleccionado como diana molecular para los estudios de acoplamiento puesto que es el sensor primario de UV-B en plantas y su activación desencadena la cascada de señalización que conduce a la fotoprotección (6,11). La estructura cristalográfica de este dímero es de alta resolución (1.95Å) lo que garantiza un modelo de alta calidad para estudios de docking (17). Además, los residuos críticos para la fotorrecepción (Trp233, Trp285) y la interfaz dimérica están conservados en ortólogos de cultivos de interés agronómico, lo que otorga validez externa a los hallazgos (39,41,47).

La estructura 4D9S corresponde al dímero de UVR8 en su conformación basal (no fotoactivada) que es precisamente el estado que se hipotetiza podría ser estabilizado por la pitiriacitrina, se utilizó la cadena A como receptor para el acoplamiento y el bolsillo de unión se definió centrado en el centroide geométrico de los residuos Trp233 y Trp285 de dicha cadena.

3.3. Hipótesis, variables, e indicadores

3.3.1. Hipótesis de trabajo

Con base en el marco referencial y los antecedente revisados, se plantea que la pitiriacitrina puede actuar como agente fotoprotector dual en plantas:

- Como filtro físico: La pitiriacitrina presenta propiedades fisicoquímicas que le permiten absorber radiación ultravioleta en el rango UVA/UVB y acumularse en tejidos superficiales vegetales, reduciendo así las dosis de radiación que alcanza los tejidos fotosintéticos.
- Como modulador molecular: La pitiriacitrina por su estructura de alcaloide indólico puede interactuar con el fotorreceptor UVR8 de *Arabidopsis thaliana* en la interfaz dimérica donde residen los triptófanos cromóforos (Trp233 y Trp285), modulando su conformación y/o actividad.

La confirmación de cualquiera de esas hipótesis guiará el diseño experimental posterior, incluyendo la producción heteróloga de compuesto en *Saccharomyces cerevisiae* y su validación en sistemas vegetales.

3.3.2. Variables e indicadores

Tabla 1. Variables e indicadores.

Variable	Tipo	Definición operacional	Indicadores
Propiedades fisicoquímicas	Independiente	Parámetros moleculares calculados mediante quimioinformática	Peso molecular (Da), LogP, TPSA, ($\text{\AA}^2$), HBD, HBA

Capacidad de absorción UV	Independiente	Análisis <i>in silico</i> de estructura electrónica	Longitudes de onda de máxima absorción (nm), coeficiente de extinción molar
Energía de unión ligando-receptor	Independiente	Resultado del acoplamiento molecular (docking)	ΔG de unión (kcal/mol), RMSD de la pose (Å)
Estabilidad del complejo	Independiente	Simulaciones de dinámica molecular (proyección futura)	RMSD a lo largo de la trayectoria (Å), energía de interacción
Productividad del cultivo (proyección)	Dependiente	Rendimiento del metabolito en cultivo de levadura	Concentración de pitiriacitrina (mg/L), tasa específica de producción
Viabilidad celular (proyección)	Control	Crecimiento basa de la cepa recombinante	Tasa específica de crecimiento (h^{-1}), densidad óptica (OD ₆₀₀)

* *Abreviaturas*: MW: Peso molecular; LogP: Coeficiente de partición octanol-agua; TPSA: Área de superficie polar topológica; HBD/HBA: Donadores/Aceptores de puentes de hidrógeno; RotBonds: Enlaces rotables; RMSD: Root Mean Square Deviation; ΔG : Energía libre de Gibbs de unión; FBA: Flux Balance Analysis; OD₆₀₀: Densidad óptica a 600 nm.

3.4. Técnicas y procedimientos

3.4.1. Configuración del entorno computacional y control de reproducibilidad

Todos los análisis se ejecutaron en un entorno virtual aislado y estandarizado utilizando Conda (Anaconda, Inc.), herramienta ampliamente adoptada para garantizar la reproducibilidad de flujos de trabajo bioinformáticos al permitir la captura explícita de todas las dependencias del sistema. El *pipeline* se desarrolló en Python versión 3.10.12. Las dependencias principales

incluyeron: (i) librerías de cómputo numérico: numpy v1.26.0 (64) y pandas v2.1.0 (65); (ii) librerías de visualización científica: matplotlib v3.8.0 (66) y seaborn v0.13.0 (67). La especificación completa del entorno fue exportada para garantizar la reproducibilidad total de análisis. Los scripts desarrollados para este estudio fueron estructurados bajo paradigmas de programación funcional y fueron ejecutados en una estación de trabajo con sistema operativo Windows 11/Linux por medio de una interfaz de línea de comandos (CLI).

3.4.2. Evaluación quimioinformática y predicción ADMET

Con el fin de predecir el comportamiento de movilidad sistémica y la capacidad de retención cuticular en modelos vegetales se implementó un flujo de trabajo en RDKit v2023.09.1 (68) para la caracterización de las propiedades fisicoquímicas de la pitiriacitrina y de los compuestos de referencia (quercetina y ácido ascórbico). Las estructuras se codificaron mediante notación lineal SMILES y a partir de estas estructuras el algoritmo calculó los parámetros moleculares críticos para entender la permeabilidad pasiva y la afinidad por las ceras epicuticulares. Los descriptores calculados incluyeron: (i) peso molecular (MW); (ii) coeficiente de partición octanol-agua (LogP); (iii) área de superficie polar topológica (TPSA); y (iv) conteo de donadores y aceptores de puentes de hidrógeno (HBD/HBA).

Los límites establecidos fueron: MW <500 Da, LogP entre 1 y 5, TPSA $\leq 120 \text{ \AA}^2$ y HBD ≤ 3 ; aunque estos umbrales se fundamentan primordialmente en parámetros fisicoquímicos ampliamente utilizados para estimar la permeabilidad y la partición molecular, originalmente propuestos en la regla de Lipinski (69), en este estudio se reinterpretan en función de la penetración cuticular vegetal, dado que la difusión de moléculas a través de la cutícula foliar depende principalmente de tamaño molecular, la polaridad y la afinidad por matrices lipídicas. Es

este sentido, una lipofilicidad moderada y una superficie polar reducida favorecen la retención y difusión a través de la matriz cerosa de la cutícula vegetal (70).

3.4.3. Preparación de estructuras moleculares para acoplamiento

Se descargó la estructura cristalográfica del receptor UVR8 desde el Protein Data Bank (PDB ID:4D9S). El procesamiento de la proteína y la conversión al formato PDBQT se realizó siguiendo el protocolo estándar, con remoción de moléculas de agua y adición de hidrógenos polares y cargas parciales empleando herramientas de la suite AutoDockTools y Biopython v1.81 (71). Para la preparación del ligando se generó su conformación tridimensional de mínima energía mediante RDKit utilizando el campo de fuerzas MMFF94. La conversión al formato PDBQT se realizó con OpenBabel v3.1.1 (72).

3.4.4. Acoplamiento molecular (docking)

Las simulaciones de acoplamiento molecular se ejecutaron con AutoDock Vina v1.2.3 (73). El espacio de búsqueda se definió mediante un algoritmo de centrado automático que calculó el centroide geométrico exacto de los residuos Trp233 y Trp285 (claves en la fotodisociación del dímero UVR8) identificados como los cromóforos endógenos responsables de la percepción de UV-B, cuya perturbación desencadena la monomerización del fotorreceptor (17,24) estableciendo una *Grid box* de dimensiones 25x25x25 Å³. La exhaustividad de análisis se fijó en 16 para garantizar una exploración conformacional rigurosa, este valor ofrece un balance adecuado entre precisión en la exploración conformacional y tiempo computacional de acuerdo con las recomendaciones para estudios de cribado virtual con AutoDock Vina (73). De las poses generadas, se seleccionó la conformación con la energía libre de unión más negativa (ΔG , en

kcal/mol). Las interacciones moleculares se analizaron mediante visualización con PyMOL v2.5.0 (74).

3.4.5. *Diseño in silico del plásmido recombinante (pYES2-PITI)*

Como paso prospectivo para la producción heteróloga del compuesto, se diseñó conceptualmente el vector pYES2-PITI, partiendo del plásmido episomal pYES2 (5.9kb), que posee un origen de replicación 2μ que le confiere un alto número de copias (40-60 por célula haploide) (29), operando bajo un sistema de selección auxotrófica clásico URA3 (28). El inserto (aproximadamente 1.5kb) corresponde a una secuencia codificante optimizada de la enzima triptófano aminotransferasa (TAM), enzima clave en la ruta de síntesis de alcaloides indólicos. La optimización de codones se realizó *in silico* para adaptar la secuencia al uso codónico preferencial de *S. cerevisiae*, siguiendo las estrategias establecidas para la expresión heteróloga de genes vegetales y fúngicos (27).

El gen se clonó virtualmente bajo el control del promotor inducible por galactosa GAL1 y el terminador CYC1, flanqueado por sitios de restricción para su inserción en el sitio múltiple de clonación del vector. Para visualizar el plásmido recombinante final (7.3 kb) y compararlo estructuralmente con el vector vacío fue utilizado un algoritmo propio de geometría cartesiana usando matplotlib y numpy, de tal manera fue posible mapear con precisión espacial los distintos polígonos curvos y elementos regulatorios, siguiendo los estándares recomendados.

3.4.6. *Modelado metabólico y análisis de balance de flujos (FBA)*

Se implementó un análisis de balance de flujos utilizando el entorno COBRApy v0.29.0 (75) para evaluar la factibilidad metabólica de la producción de pitiriacitrina en *S. cerevisiae*. Se

construyó una red metabólica estequiométrica simplificada que incorpora: (i) las vías de metabolismo central de carbono (glucólisis, ciclo de los ácido tricarboxílicos, respiración); (ii) la ruta del ácido shikímico para la producción de L-triptófano endógeno; (iii) la demanda basal de ATP para mantenimiento celular; y (iv) la ruta heteróloga que condensa dos moléculas de L-triptófano para formar el esqueleto bisindólico de la pitiriacitrina. Se plantearon dos escenarios de optimización:

- Fase logarítmica: Maximización del flujo hacia la reacción de biomasa (v_{biomasa}).
- Fase de inducción: Maximización del flujo de secreción del metabolito ($v_{\text{EX_pit}}$).

Los flujos se calcularon bajo el principio de estado estacionario ($S \cdot v = 0$) (32,76), limitando la captación de glucosa a 10 mmol/gDW/h, siendo este un valor representativo de condiciones de cultivo en lote en medio rico con glucosa como fuente de carbono, acorde con estudios previos de FBA en *S. cerevisiae* (77); y resolviendo mediante el optimizador de GLPK. Los resultados se emplearon para determinar el rendimiento teórico del carbono y predecir la posible competencia metabólica entre la producción de compuesto y el crecimiento celular.

4. RESULTADOS

4.1. Perfil ADMET y predicción de retención cuticular

El análisis del espacio químico reveló diferencias sustanciales entre la pitiriacitrina y los antioxidantes de control en cuanto a su viabilidad como principio activo para formulaciones de aplicación foliar (Figura 3. y Tabla 2.) Mediante el mapeo de la lipofilicidad (LogP) frente a la superficie polar topológica (TPSA), se observa que la pitiriacitrina se ubica de manera óptima

dentro del área teórica de retención cuticular, definida por los criterios de viabilidad empleados ($MW < 500Da$, $1 \leq \text{LogP} \leq 5$, $\text{TPSA} \leq 120 \text{ \AA}^2$, $\text{HBD} \leq 3$).

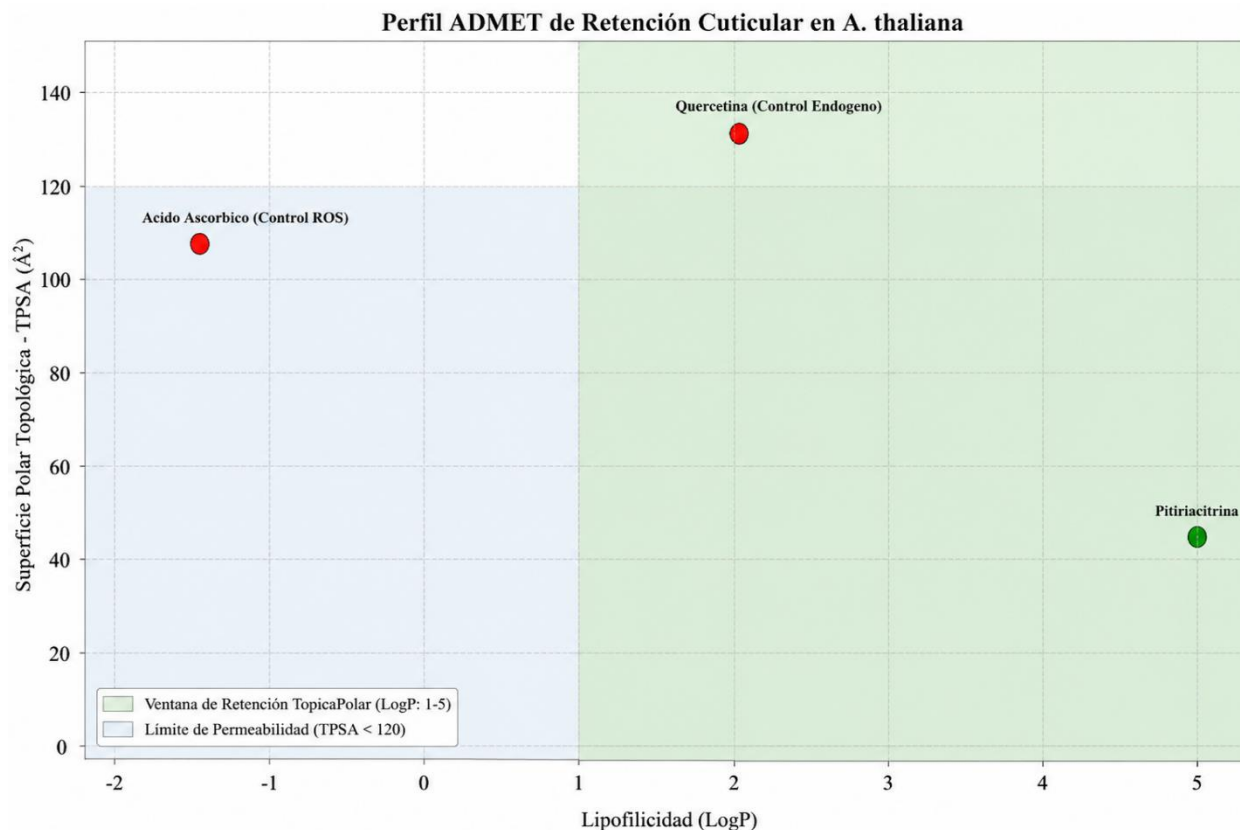


Figura 3. Análisis ADMET de la pitiriacitrina.

Nota: Perfil ADMET de retención cuticular en *A. thaliana* para pitiriacitrina y compuestos de referencia, representado en función de la lipofilicidad (LogP) y la superficie polar topológica (TPSA). La región sombreada indica la ventana de viabilidad para aplicación foliar. Fuente: elaboración propia mediante análisis en RDKit v2023.09.1

En concreto, la pitiriacitrina presenta una marcada naturaleza lipofílica ($\text{LogP}=4.86$) combinada con una baja superficie polar ($\text{TPSA} = 44.47 \text{ \AA}^2$) así como un número reducido de donadores de enlaces de hidrógeno ($\text{HBD} = 2$). Desde una perspectiva termodinámica, estas propiedades predicen una fuerte afinidad por la matriz lipídica de las ceras epicuticulares lo cual favorecería el anclaje persistente del compuesto en la epidermis foliar. De este modo la molécula

podría actuar como escudo protector contra la radiación UV-B con baja probabilidad de ser removida por factores ambientales (como la lluvia o el viento) o translocada hacia el interior celular.

Tabla 2. *Propiedades fisicoquímicas calculadas in silico para la pitiriacitrina y compuestos de referencia.*

Metabolito	MW (Da)	LogP	TPSA (Å ²)	HBA	HBD	RotBonds	Viabilidad de aplicación foliar
Pitiriacitrina	283.33	4.86	44.47	3	2	1	Viable
Quercetina (Control endógeno)	302.24	1.99	131.36	7	5	1	No viable
Ácido ascórbico (Control ROS)	176.12	-1.41	107.22	6	4	2	No viable

* *Abreviaturas:* MW: Peso molecular; LogP: Coeficiente de partición octanol-agua; TPSA: Área de superficie polar topológica; HBD/HBA: Donadores/Aceptores de puentes de hidrógeno; RotBonds: Enlaces rotables. **Nota:** Los criterios de viabilidad para aplicación foliar (alta retención cuticular y permeabilidad pasiva) se definieron como MW <500Da, $1 \leq \text{LogP} \leq 5$, $\text{TPSA} \leq 120 \text{ Å}^2$, $\text{HBD} \leq 3$

Los resultados obtenidos con los compuestos de control validan la consistencia del modelo predictivo. El ácido ascórbico presenta un perfil marcadamente hidrofílico (LogP = -1.41), lo que impediría su interacción efectiva con la cutícula en condiciones *in vivo*. Por su parte, la quercetina, a pesar de poseer cierta lipofilidad (Log = 1.99) excede ampliamente el umbral de permeabilidad pasiva debido a su elevada polaridad (TPSA = 131.36 Å²) y a su alto número de donadores de hidrógeno (HBD = 5). Ambos controles son clasificados como “no viables” para

retención cuticular según los criterios ya establecidos. Por consiguiente, el perfilado computacional posiciona a la pitiriacitrina como un candidato estructuralmente idóneo para estrategias de fotoprotección de aplicación exógena en superficies vegetales, respaldado por su equilibrio lipofílico-polar y su bajo potencial de movilidad sistémica.

4.2. Análisis de acoplamiento molecular (docking) y estabilización del fotorreceptor UVR8

Para evaluar si la pitiriacitrina puede actuar no solo como un filtro físico externo, sino también como un potencial estabilizador bioquímico a nivel del fotorreceptor UVR8, se realizó un acoplamiento molecular entre el compuesto y la interfaz dimérica de esta proteína. Los resultados de la simulación confirmaron una afinidad termodinámica excepcionalmente alta por el bolsillo de unión del dímero. Como se detalla en la Tabla 3., la conformación energéticamente más favorable (Pose 1) presentó una energía libre de unión (ΔG) de -9.615 kcal/mol, un valor que indica una interacción no covalente altamente estable y espontánea. Las poses alternativas (2 a 5) mostraron energías ligeramente superiores (desde -9.487 hasta -9.131 kcal/mol), con valores de RMSD (root mean square derivation) que oscilan entre 1.787 y 6.796 Å, lo que refuerza la singularidad y consistencia de la Pose 1 como el mínimo global de energía en la superficie de exploración.

Tabla 3. Energías de afinidad termodinámica.

Pose conformacional	Afinidad		
	termodinámica (ΔG), kcal/mol)	RMSD lower bound (Å)	RMSD upper bound (Å)
1	-9.615	0.000	0.000
2	-9.487	2.706	4.575

3	-9.452	1.787	6.796
4	-9.370	2.649	6.348
5	-9.131	2.249	6.500

* **Nota:** Calculadas para las mejores conformaciones (poses) del complejo UVR8-pitiriacitrina. Simulaciones realizadas mediante AutoDock Vina con una exhaustividad (exhaustiveness) de 16. La pose 1 representa el mínimo global de energía y fue seleccionada para el modelado visual de interacciones.

Desde el punto de vista estructural (Figura 2.), el modelo tridimensional revela que la pitiriacitrina se aloja con elevada precisión geométrica en el bolsillo hidrofóbico central que mantiene unidas las dos subunidades de UVR8. Funcionalmente, el compuesto parece actuar como una “grapa molecular”. Su denso núcleo bisindólico facilita la formación de fuertes interacciones de apilamiento π - π con residuos críticos de triptófano (específicamente Trp233 y Trp285), que son precisamente los cromóforos endógenos responsables de desencadenar la separación de dímero tras la absorción de radiación UV-B. Además, el análisis de la cavidad evidencia la participación adicional de Trp283 en interacciones de apilamiento, así como la formación de puentes de hidrógeno direccionales que anclan firmemente el ligando al esqueleto proteico.

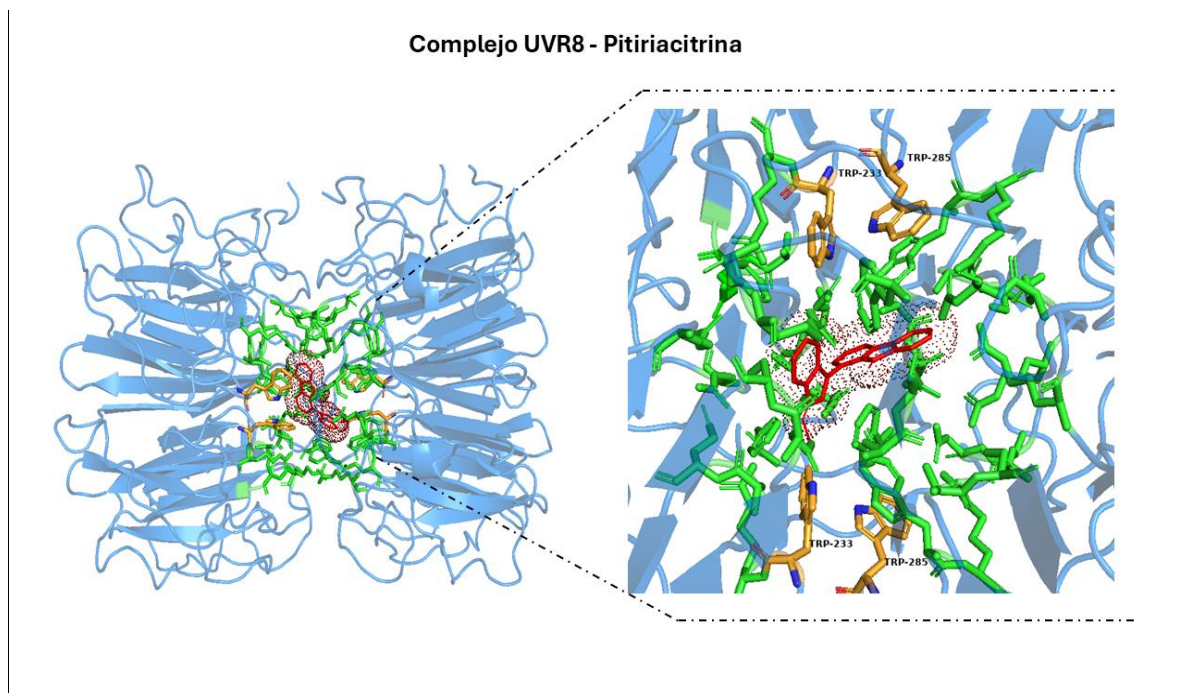


Figura 4. Representación tridimensional del complejo UVR8-pitiriacitrina.

Nota. Izquierda: Vista global del fotorreceptor dimérico (azul). Derecha: Ampliación del bolsillo de interacción (verde) donde se aloja el ligando (rojo), destacando su proximidad espacial con los residuos fotosensores clave Trp233, Trp283 y Trp285 (naranja). Las interacciones de apilamiento π - π y los puentes de hidrógeno se representan con líneas discontinuas. *Fuente:* Elaboración propia mediante docking molecular en AutoDock Vina y visualización PyMOL.

En conjunto, estos datos espaciales y termodinámicos respaldan un mecanismo de fotoprotección dual. La fracción de pitiriacitrina que logre penetrar en el tejido foliar tendría el potencial de inmovilizar el dímero de UVR8, impidiendo físicamente su fotodisociación y, en consecuencia, bloqueando la cascada de estrés oxidativo desde el primer eslabón de señalización.

4.3. Validación topológica y ensamblaje *in silico* de vector recombinante

La ejecución del *pipeline* de clonamiento virtual culminó con la validación estructural del vector recombinante pYES2-PITI, diseñado específicamente para la producción heteróloga de la ruta biosintética de pitiriacitrina en *Saccharomyces cerevisiae*. Mediante el mapeo topológico comparativo de los plásmidos (Figura 3.), se confirmó visual y matemáticamente el éxito del ensamblaje direccional, respaldado por un balance estequiométrico preciso de nucleótidos, la

arquitectura final del plásmido recombinante (7300 pb) corresponde exactamente a la suma del esqueleto del vector comercial pYES2 (5800 pb), tras la sustitución del sitio múltiple de clonamiento (MCS, ~50 pb), más la integración direccional del casete de biosíntesis indólica TAM (1500 pb), resultando en un incremento neto de 1500 pb.

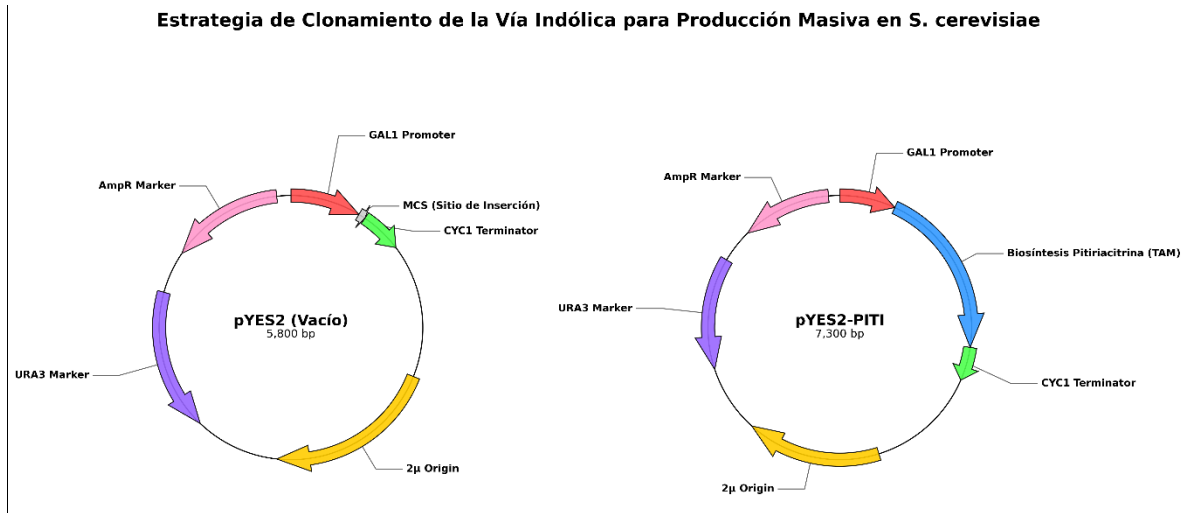


Figura 5. Mapas topológicos comparativos generados *in silico* para la estrategia de producción heteróloga.

Nota: *Izquierda:* Vector episomal comercial pYES2 (5800pb) en su estado vacío, mostrando el sitio múltiple de clonamiento (MCS, gris) bajo el control del promotor GAL1 y el terminador CYC1. *Derecha:* Plásmido recombinante pYES2-PITI (7300pb) tras la simulación de ensamblaje, evidenciando la inserción direccional y en marco del casete de biosíntesis indólica (TAM, azul) en sustitución del MCS. Los marcadores de selección (AmpR, URA3) y el origen de replicación (2μ) se indican según la leyenda original. *Fuente:* Elaboración propia mediante el diseño *in silico* en *matplotlib* y análisis complementario en *Python*.

Un aspecto crítico que destaca este mapeo es la perfecta alineación del inserto biosintético justo en el espacio que ocupaba el MCS (localizado entre las coordenadas ~500 y ~2000 pb en el mapa circular del vector vacío), quedando flanqueado de manera exacta por el promotor inducible GAL1 en el extremo 5' y el terminador CYC1 en el extremo 3'. Esta configuración es vital, ya que garantiza teóricamente un control transcripcional estricto, minimizando el riesgo de

expresión “por goteo” (*leaky expression*) que pudiera resultar tóxica durante las fases de crecimiento y expansión celular previas a la inducción.

Desde el punto de vista práctico, este plano genético *in silico* confirma la ausencia de impedimentos estéricos, desfases en el marco de lectura abierto (ORF) o señales crípticas de terminación prematura, en consecuencia, el diseño proporciona una base robusta para proceder con la síntesis física del ADN, la transformación de *S. cerevisiae* y la posterior validación experimental de la producción del metabolito.

4.4. Evaluación del rendimiento teórico y viabilidad metabólica

Para validar si el chasis de *Saccharomyces cerevisiae* es capaz de sostener la síntesis de pitiriacitrina sin comprometer su viabilidad, se realizaron simulaciones de análisis de balance de flujos. Los resultados, resumidos en la Tabla 4, revelan una competencia directa por los recursos de carbono entre la formación de biomasa y síntesis del alcaloide, un fenómeno conocido como “compromiso metabólico” o trade-off.

Tabla 4. Comparativa de flujos metabólicos en *S. cerevisiae* bajo escenarios de crecimiento máximo (Fase logarítmica) y producción máxima (Fase de inducción).

Parámetro metabólico	Escenario 1:	Escenario 2:
	Fase Log (Máx. Crecimiento)	Fase Inducción (Máx. Producción)
Tasa de crecimiento (h ⁻¹)	0.47	0.02
Producción de pitiriacitrina (mmol/gDW/h)	0.00	2.22
Consumo de glucosa (mmol/gDW/h)	10.00	10.00

Flujo vía Ácido shikímico
(precursor de Triptófano)

Basal

Elevado

* Simulaciones calculadas con una tasa de captación de glucosa fija de 10mmol/gDW/h. El Escenario 2 simula la activación total de la vía heteróloga (casete TAM) bajo el control del promotor inducible GAL1.

En el escenario de crecimiento máximo (Fase logarítmica), el modelo predice una tasa de crecimiento óptima de $0,47 \text{ h}^{-1}$, destinando la totalidad del flujo de glucosa al mantenimiento y a la replicación celular, sin producción detectable del metabolito. Sin embargo, al activar virtualmente la vía heteróloga (Fase de Inducción), el sistema es capaz de alcanzar un rendimiento teórico de $2,22 \text{ mmol/gDW/h}$ de pitiriacitrina. Como se aprecia en el perfil de intercambio metabólico (Figura 4.), alcanzar esta producción máxima requiere un desvío masivo de precursores, específicamente L-triptófano proveniente de la ruta del ácido shikímico, así como un elevado consumo de ATP.

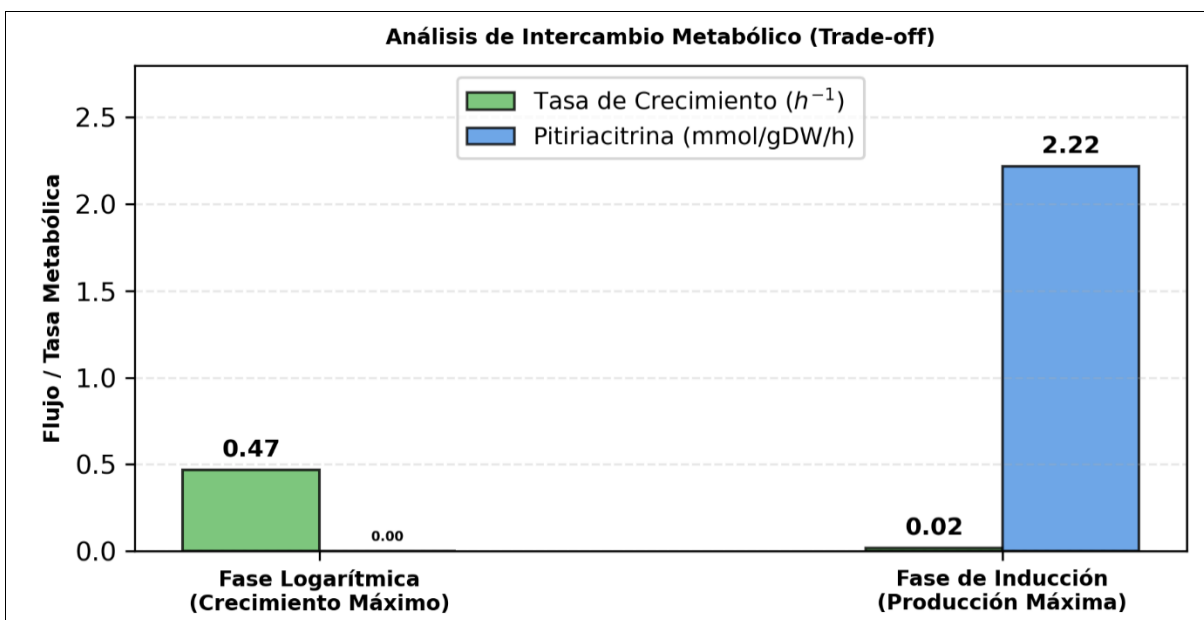


Figura 6. Análisis de trade-off entre la formación de biomasa y la síntesis de pitiriacitrina.

Nota. Las barras comparan cómo la prioridad metabólica de la levadura cambia drásticamente a activarse la vía heteróloga (Escenario 2), respaldando la necesidad de un control transcripcional inducible para evitar el colapso del sistema. **Fuente:** Elaboración propia a partir de los datos derivados de la Tabla 4.

El marcado descenso en la tasa de crecimiento (de 0.47 a 0.02 h⁻¹) durante la fase de inducción, lejos de representar una deficiencia en el sistema, constituye la validación *in silico* de la significativa carga metabólica impuesta por la ruta sintética. Desde una perspectiva científica, este comportamiento es fundamental por dos razones críticas:

- Funcionalidad y competitividad metabólica: Los datos confirman que la ruta de biosíntesis de la pitiriacitrina es cinéticamente competitiva demostrando una capacidad robusta para secuestrar el flujo de carbono del metabolismo central y redirigirlo hacia la síntesis del alcaloide.
- Justificación termodinámica del diseño: El compromiso metabólico observado respalda matemáticamente la implementación del promotor inducible GAL1 en el diseño genético. Si el flujo hacia el producto no afectara el crecimiento, un promotor constitutivo sería suficiente. No obstante, dada la severidad del trade-off, la separación temporal de las fases de crecimiento y síntesis surge como la única estrategia viable para optimizar la biomasa y prevenir el colapso prematuro del cultivo antes de iniciar la biofabricación masiva.

5. DISCUSIÓN

Los hallazgos del presente estudio proporcionan evidencia computacional que respalda, por primera vez, un posible mecanismo dual de fotoprotección para la pitiriacitrina en el contexto vegetal, integrando propiedades fisicoquímicas favorables para la retención cuticular con una alta afinidad termodinámica por el fotorreceptor UVR8 de *Arabidopsis thaliana*. Este enfoque se

aparta sustancialmente de las estrategias convencionales de mejoramiento genético para la resistencia a UV-B, las cuales se han centrado tradicionalmente en la sobreexpresión de enzimas reparadoras del ADN, como las fotoliasas de CPD (1), o en la modulación de factores de transcripción y rutas metabólicas endógenas (4,78).

En primer lugar, el perfil fisicoquímico de la pitiriacitrina reveló un coeficiente de partición octanol-agua (LogP) de 4.86, un área de superficie polar topológica (TPSA) de $44.47 \text{ \AA}^2$ y un peso molecular de 283.33 Da, valores que cumplen holgadamente los criterios establecidos para la viabilidad de retención en matrices lipídicas (79). Esta combinación de propiedades contrasta notablemente con las de compuestos fotoprotectores endógenos de las plantas, como la quercetina (LogP 1.99, TPSA $131.36 \text{ \AA}^2$) y el ácido ascórbico (LogP -1.41, TPSA $107.22 \text{ \AA}^2$), los cuales presentan una marcada hidrofiliidad que limitaría su persistencia en la cutícula foliar tras la aplicación exógena. En este sentido, la pitiriacitrina exhibe una lipofiliidad comparable a la de algunos fungicidas y elicitores de origen fúngico que han demostrado una alta retención en superficies vegetales (16), lo que sugiere que este alcaloide podría actuar como un filtro físico estable, reduciendo la carga de radiación UV-B que incide sobre los tejidos subyacentes. Este mecanismo de protección pasiva sería particularmente relevante en cultivos de zonas altoandinas colombianas donde el UVI frecuentemente supera el valor de 11, clasificado como extremadamente peligroso según los estándares de la Organización Mundial de la Salud (53,54).

Más allá de su potencial como barrera física, el hallazgo más significativo de esta investigación radica en la predicción de una interacción molecular favorable entre la pitiriacitrina y el fotorreceptor UVR8. La energía libre de unión (ΔG) de -9.615 kcal/mol obtenida para el complejo UVR8-pitiriacitrina supera los umbrales típicos considerados para interacciones

ligando-proteína de alta afinidad (30), y es sustancialmente más negativa que las energías reportadas para la unión de flavonoides endógenos a proteínas diana en rutas de señalización vegetal (10). El análisis estructural reveló que el compuesto se aloja en la interfaz dimérica del receptor, estableciendo interacciones de apilamiento π - π con los residuos Trp233 y Trp285, precisamente los cromóforos responsables de la fotorrecepción de UV-B (17,24). Este hallazgo sugiere un mecanismo de acción novedoso: la pitiriacitrina podría estabilizar la conformación dimérica inactiva de UVR8, impidiendo su disociación y, consecuentemente, atenuando la cascada de señalización de estrés que se activaría en condiciones de alta radiación.

La relevancia de esta interacción propuesta debe contextualizarse dentro del conocimiento actual sobre la conservación funcional de UVR8 en el reino vegetal, puesto que estudios filogenéticos y de complementación heteróloga han demostrado que los ortólogos de UVR8 presentes en cultivos de importancia agronómica, incluyendo tomate (*Solanum lycopersicum*), arroz (*Oryza sativa*) y maíz (*Zea mays*), conservan los residuos de triptófano críticos para la fotorrecepción y la capacidad de interacción con COP1 (19,39). En particular, se ha demostrado que la sobreexpresión de SIUVR8 en tomate aumenta la tolerancia a UV-B mediante la acumulación de antocianinas y la inducción de genes como HY5 y CHS (80), mientras que, en arroz, la pérdida de función de OsUVR8b reduce significativamente la acumulación de flavonoides y aumenta la sensibilidad al daño por radiación (42). Esta conservación evolutiva sugiere que los hallazgos obtenidos con AtUVR8 podrían ser extrapolables a sistemas agrícolas reales, abriendo la posibilidad de desarrollar formulaciones basadas en pitiriacitrina para la protección de cultivos estratégicos en regiones tropicales y de alta montaña.

Por otra parte, el diseño *in silico* de vector recombinante pYES2-PITI y el análisis de balance de flujos metabólicos (FBA) realizado constituyen un avance fundamental hacia la producción sostenible de este metabolito. La predicción de una tasa de producción teórica de 2.22 mmol/gDW/h durante la fase de inducción, junto con la drástica reducción de la tasa de crecimiento (de 0.47 h^{-1} a 0.02 h^{-1}), confirma que la ruta biosintética de la pitiriacitrina impone una carga metabólica significativa sobre el hospedero. Este trade-off entre crecimiento y producción es un fenómeno bien documentado en la ingeniería metabólica de levaduras para la síntesis de productos de alto valor (27,81), y justifica plenamente el uso de un promotor inducible como GAL1, que permite separar temporalmente la fase de expansión celular de la fase de producción (28). Estrategias similares han sido empleadas exitosamente para la producción heteróloga de alcaloides indólicos y otros metabolitos secundarios complejos en *S. cerevisiae* (82,83), lo que valida la viabilidad técnica del enfoque propuesto.

Al comparar estos resultados con las estrategias actuales para mitigar el estrés por UV-B en la agricultura, se identifican varias ventajas potenciales del enfoque basado en pitiriacitrina. Las prácticas convencionales incluyen el uso de mallas de sombreo, películas plásticas filtrantes y la aspersión de partículas minerales reflectantes (57,58); sin embargo, estas estrategias físicas no abordan los mecanismos moleculares subyacentes al daño por radiación y pueden generar residuos plásticos con impacto ambiental negativo. Por otra parte, las estrategias genéticas como la sobreexpresión de CPD fotoliasa (1,84) o la modulación de factores de transcripción como HY5 y MYB (85), han demostrado eficacia en condiciones controladas de laboratorio, pero su implementación en campo enfrenta barreras regulatorias significativas y una aceptación social limitada en muchos países (86). En este contexto, la aplicación exógena de un compuesto natural como la pitiriacitrina, producido mediante fermentación microbiana, podría ofrecer una

alternativa más rápida de implementar y potencialmente más aceptable desde la perspectiva de la percepción pública, siempre que se demuestre su biodegradabilidad y ausencia de efectos ecotoxicológicos adversos.

5.1.Limitaciones de estudio y proyecciones futuras

Aun así, es necesario reconocer las limitaciones inherentes al enfoque computacional empleado. En primer lugar, las predicciones de propiedades fisicoquímicas, aunque basadas en algoritmos validados y ampliamente utilizados en quimioinformática (87), no sustituyen a los ensayos experimentales de permeación cuticular en modelos vegetales, la retención efectiva de la pitiriacitrina en la cutícula foliar dependerá de factores adicionales no capturados por los descriptores moleculares estáticos, como la interacción con las ceras epicuticulares específicas de cada especie, el pH de la superficie foliar y las condiciones ambientales de humedad y temperatura (61).

En segundo lugar, los resultados de acoplamiento molecular, si bien indican una alta afinidad termodinámica, se basan en un modelo de docking estático que no incorpora la dinámica conformacional del complejo proteína-ligando a lo largo del tiempo. Las situaciones de dinámica molecular (MD) serían necesarias para evaluar la estabilidad de complejo UVR8-pitiriactrina en condiciones fisiológicas y para explorar posibles cambios conformacionales inducidos por el ligando que podrían afectar su actividad moduladora (32).

En tercer lugar, el análisis de balance de flujos se realizó bajo supuestos de estado estacionario que no capturan completamente las dinámicas transitorias del cultivo, como los efectos de la acumulación de metabolitos tóxicos, las limitaciones de oxígeno en cultivos de alta

densidad o las respuestas regulatorias finas de la célula hospedera (88). Estrategias más avanzadas, como el análisis de balance de flujos dinámico (dFBA) acoplado a modelos cinéticos, podrían proporcionar una imagen más precisa de la evolución temporal de los flujos metabólicos durante la transición entre fases (6).

A pesar de estas limitaciones, las implicaciones teóricas y prácticas de esta investigación son significativas; desde una perspectiva teórica, el estudio introduce el concepto de “fotoprotección dual mediada por metabolito exógeno” en el cual un compuesto aplicado externamente podría combinar una función de filtro físico con una función de modulación de la señalización de estrés. Este concepto amplía el marco actual de la fotobiología vegetal, que ha tendido a tratar estos mecanismos de manera separada (9,21). Además, la predicción de una interacción directa de la pitiriacitrina con los residuos de triptófano cromóforos de UVR8 sugiere que los alcaloides bisindólicos podrían constituir una clase de ligandos naturales con potencial para modular fotorreceptores, un área de investigación que permanece prácticamente inexplorada.

Desde una perspectiva práctica, los resultados proporcionan una justificación sólida para iniciativas experimentales orientadas a la validación de la pitiriacitrina como biofotoprotector. Los cultivos de interés para Colombia, particularmente el café (*Coffea arabica*) en el Eje Cafetero, las flores (*Rosa* spp, *Dianthus caryophyllus*) en la Sabana de Bogotá y frutales altoandinos como la uchuva (*Physalis peruviana*), se desarrollan en zonas donde el UVI es ≥ 11 (5,54). Estudios previos han documentado que la radiación UV-B reduce la eficiencia fotosintética del café hasta en un 25% y afecta negativamente la calidad del grano (5), mientras que en flores ornamentales causa fotoinhibición y pérdida de calidad comercial (55). La implementación de una formulación basada en pitiriacitrina, producida mediante fermentación

controlada en *S. cerevisiae*, podría ofrecer a los agricultores una herramienta de manejo del estrés abiótico complementaria a las prácticas existentes, con un perfil de seguridad ambiental potencialmente favorable por su origen natural y su probable biodegradabilidad.

En síntesis, los hallazgos de este estudio *in silico* posicionan a la pitiriacitrina como un candidato prometedor para el desarrollo de nuevas estrategias de fotoprotección vegetal basadas en un mecanismo dual que integra propiedades de retención cuticular con una posible modulación del fotorreceptor primario de UV-B. Las limitaciones inherentes al enfoque computacional subrayan la necesidad de validación experimental, pero la solidez de las predicciones fisicoquímicas y de acoplamiento molecular proporciona una base racional sólida para dichos esfuerzos. De esta manera los resultados presentados abren una vía de investigación que conecta la química de productos naturales, la ingeniería metabólica microbiana y la fisiología del estrés vegetal, con potenciales aplicaciones en la agricultura de zonas tropicales y de alta montaña, donde la radiación UV-B constituye un factor ambiental determinante para la productividad de los cultivos.

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten afirmar que la pitiriacitrina constituye un candidato prometedor para el desarrollo de estrategias de fotoprotección vegetal basadas en un mecanismo dual. El primer objetivo se cumplió al demostrar que este alcaloide presenta un perfil fisicoquímico (LogP 4.86, TPSA 44.47 Å², MW 283.33 Da) compatible con una alta retención en la cutícula foliar, a diferencia de compuestos endógenos como la quercetina y el ácido ascórbico, clasificados como no viables para dicho propósito.

Respecto al segundo objetivo, el acoplamiento molecular reveló una energía libre de unión de -9.615 kcal/mol entra la pitiriacitrina y el fotorreceptor UVR8, con el compuesto alojándose en la interfaz dimérica y estableciendo interacciones de apilamiento π - π con los residuos cromóforos Trp233 y Trp285. Este hallazgo sugiere que el alcaloide podría estabilizar la conformación inactiva del dímero, atenuando la cascada de señalización de estrés por UV-B.

El tercer objetivo se alcanzó mediante el diseño del vector pYES2-PITI (7300 pb) y el análisis de balance de flujos, que predijo una tasa de producción de 2.22 mmol/gDW/h durante la fase de inducción, con una reducción esperada de la tasa de crecimiento (de 0.47 h⁻¹ a 0.02 h⁻¹), lo que valida el uso del promotor inducible GAL1 para separar el crecimiento de la producción.

Los aportes originales de esta tesis son tres: (i) introduce el concepto de fotoprotección dual mediada por un metabolito exógeno fúngico; (ii) propone que los alcaloides bisindólicos pueden modular fotorreceptores, un área inexplorada; (iii) establece un flujo de trabajo computacional reproducible para la evaluación de metabolitos con potencial fotoprotector.

Esta investigación representa un enfoque innovador que, de ser validado experimentalmente, podría contribuir a la seguridad alimentaria y a la sostenibilidad ambiental mediante la reducción de uso de plásticos y la oferta de alternativas biodegradables de origen natural; en este sentido, se recomienda avanzar hacia la validación experimental a través de ensayos de permeación cuticular, simulaciones de dinámica molecular, optimización de la cepa de levadura y pruebas agronómicas en cultivos modelo y de interés comercial para Colombia.

7. REFERENCIAS

1. Mmbando S. The recent possible strategies for breeding ultraviolet-B-resistant crops. *Heliyon*. 2024; 10(6): p. e27806.
2. Kataria S, Jajoo A, Guruprasad KN. Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2014; 137: p. 55-66.
3. Gill SS, Anjum NA, Gill R, Jha M, Tuteja N. DNA damage and repair in plants under ultraviolet and ionizing radiations. *ScientificWorldJournal*. 2015; 2015(1).
4. Shi C, Liu H. How plants protect themselves from ultraviolet-B radiation stress. *Plant physiology*. 2021; 187(3): p. 1096-1103.
5. Bernado WdP , Reis Santos A, Moura Vale E, Pireda S, Zanelato Correia L, Rodrigues De Souza A, et al. UV-B reduction and excess: Management strategies regarding Coffea sp. crop. *Scientia Horticulturae*. 2024; 323: p. 112499.
6. Jenkins GI. Photomorphogenic responses to ultraviolet-B light. *Plant, Cell & Environment*. 2017; 40(11): p. 2544-2557.
7. Emiliani J, D'Andrea L, Falcone Ferreyra ML, Mauli3n E, Rodriguez E, Rodriguez Concepci3n M, et al. A role for β,β -xanthophylls in Arabidopsis UV-B photoprotection. *Journal of Experimental Botany*. 2018; 69(20): p. 4921-4933.
8. Falcone Ferreyra ML, Rius SP, Casati P. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant*. 2012; 3(222).
9. Nichelmann L, Pescheck F. Solar UV-B effects on composition and UV screening efficiency of foliar phenolics in Arabidopsis thaliana are augmented by temperature. *Physiologia Plantarum*. 2021; 173(3): p. 762-774.

10. Agati G, Brunetti C, Di Ferdinando M, Ferrini F, Pollastri , Tattini M. Functional roles of flavonoids in photoprotection: New evidence, lessons from the past. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013; 72: p. 35-45.
11. Chen , Dong , Huang X. Plant responses to UV-B radiation: signaling, acclimation and stress tolerance. *Stress Biology*. 2022; 2(51).
12. Gomez MS. Respuestas de las plantas frente a la radiación UV-B: reparación del daño al ADN, regulación de la expresión génica y de la progresión del ciclo celular. Tesis doctoral.
13. Mayser P, Schäfer , Krämer HJ, Irlinger B, Steglich W. Pityriacitrin -an ultraviolet- absorbing indole alkaloid from the yeast *Malassezia furfur*. *Archives of Dermatological Research*. 2002; 294: p. 131-134.
14. Machowinski A, Krämer HJ, Hort W, Mayser P. Pityriacitrin - a potent UV filter produced by *Malassezia furfur* and its effect on human skin microflora. *Mycoses*. 2006; 49(5): p. 388-392.
15. Gambichler T, Krämer H, Boms S, Skrygan M, Tomi NS, Mayser P. Quantification of ultraviolet protective effects of pityriacitrin in humans. *Archives of Dermatological Research*. 2007; 299: p. 517-520.
16. Xiao C, Zhou G, He T. Transport of secondary metabolites in plants: Mechanistic insights and transporter engineering for crop improvement. *Plant Communications*. 2025; 6(12): p. 101536.
17. Jenkins GI. Structure and function of the UV-B photoreceptor UVR8. *Current Opinion in Structural Biology*. 2014; 29: p. 52-57.
18. Hideg É, Jansen MAK, Strid Å. UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? 2013; 18(2): p. 107-115.

19. Tossi VE, Regalado JJ, Iannicelli J, Laino LE, Burrieza HP, Escandón AS, et al. Beyond Arabidopsis: Differential UV-B Response Mediated by UVR8 in Diverse Species. *Frontiers in Plant Science*. 2019; 10(780).
20. Vanhaelewyn L, Van Der Straeten D, De Coninck B, Vandenbussche F. Ultraviolet radiation from a plant perspective: The plant-microorganism context. *Frontiers in Plant Science*. 2020; 11: p. 597642.
21. Fischer , Parra Coronado A, Balaguera López HE. Altitude as a determinant of fruit quality with emphasis on the Andean tropics of Colombia. A review. *Agronomía Colombiana*. 2022; 40(2): p. 212-227.
22. Alemu ST, Gebre H. Impact of Ultraviolet-B radiation based on altitude on photosynthetic efficiency, growth performance and crop yield: a review. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*. 2020; 3(2): p. 285-296.
23. Rizzini L, Favory JJ, Cloix C, Faggionato D, O'Hara A, Kaiserli E, et al. Perception of UV-B by the Arabidopsis UVR8 protein. *Science*. 2011; 332(6025): p. 103-6.
24. Christie JM, Arvai AS, Baxter KJ, Heilmann M, Pratt AJ, O'Hara A, et al. Plant UVR8 photoreceptor senses UV-B by tryptophan-mediated disruption of cross-dimer salt bridges. *Science*. 2012; 335(6075, 2012): p. 1492–1496.
25. Hu CH, Wang PQ, Zhang PP, Nie XM, Li BB, Tai L, et al. NADPH Oxidases: The Vital Performers and Center Hubs during Plant Growth and Signaling. *Cells*. ; 9(2): p. 437.
26. Foyer CH, Noctor G. Stress-triggered redox signalling: What's in pROSpect? *Plant, Cell & Environment*. 2015; 39(5): p. 951-964.

-
27. Zhao M, Ma J, Zhang L, Qi H. Engineering strategies for enhanced heterologous protein production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Cell Factories*. 2024; 23(32).
28. Thermo Fisher Scientific. Thermo Fisher Scientific. [Online]. Acceso 5 de Marzo de 2026. Disponible en: https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets%2FMSG%2Fbrochures%2F710_021524_pyes_bro.pdf.
29. Gopalakrishnan R, Kannan K, Gunasekaran R, Ramachandran P, Ganapathy , Pitchiah S. A comparative review of vector insertion techniques in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Microbiological Methods*. 2026; 241: p. 107378.
30. Ma Z, Ajibade A, Zou X. Docking strategies for predicting protein-ligand interactions and their application to structure-based drug design. *Communications in Information and Systems*. 2024; 24(3): p. 199-30.
31. Pawar SV, Kwaku Banini WS, Shamsuddeen MM, Jumah TA, Dolling NNO, Tiamiyu A, et al. Prostruc: an open-source tool for 3D structure prediction using homology modeling. *Frontiers in Chemistry*. 2024; 12: p. 1509407.
32. Raman K, Chandra N. Flux balance analysis of biological systems: applications and challenges. *Briefings in bioinformatics*. 2009; 10(4): p. 435-449.
33. Koornneef M, Meinke D. The development of *Arabidopsis* as a model plant. *The Plant Journal*. 2010; 61(6): p. 909-921.
34. The *Arabidopsis* Genome Initiative. *Arabidopsis* Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*. 2000; 408: p. 796-815.

-
35. Lamesch P, Berardini TZ, Li D, Swarbreck D, Wilks C, Sasidharan R, et al. The Arabidopsis Information Resource (TAIR): improved gene annotation and new tools. *Nucleic Acids Research*. 2012; 40(D1): p. D120-D1210.
 36. Van Bel M, Silvestri F, Weitz EM, Kreft L, Botzki A, Coppens F, et al. PLAZA 5.0: extending the scope and power of comparative and functional genomics in plants. *Nucleic Acids Research*. 2022; 50(D1): p. D1468–D1474.
 37. The 1001 Genomes Consortium. 1,135 Genomes Reveal the Global Pattern of Polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell*. 2016; 166(2): p. 481-491.
 38. Provart NJ, Alonso J, Assmann SM, Bergmann D, Brady SM, Brkljacic J, et al. 50 years of *Arabidopsis* research: highlights and future directions. *The New phytologist*. 2015; 209(3): p. 921-944.
 39. Fernández MB, Tossi V, Lamattina L, Cassia R. A comprehensive phylogeny reveals functional conservation of the UV-B photoreceptor UVR8 from green algae to higher plants. *Frontiers in plant science*. 2016; 7: p. 1698.
 40. Han X, Chang , Zhang Z, Chen H, He H, Zhong B, et al. Origin and Evolution of Core Components Responsible for Monitoring Light Environment Changes during Plant Terrestrialization. *Molecular plant*. 2019; 12(6): p. 847-862.
 41. Dong H, Liu X, Zhang , Guo H, Liu Y, Chen H, et al. Expression of Tomato UVR8 in *Arabidopsis* reveals conserved photoreceptor function. *Plant Science*. 2021;(303): p. 110766.
 42. Chen YL, Zhong YB, Leung DW, Yan XY, Ouyang MN, Ye YZ, et al. OsUVR8b, rather than OsUVR8a, plays a predominant role in rice UVR8-mediated UV-B response. *Physiologia plantarum*. 2024; 176(4): p. e14471.

-
43. Tilbrook K, Dubois M, Crocco CD, Yin R, Chappuis R, Alloreant G, et al. UV-B Perception and Acclimation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell*. 2016; 28(4): p. 966-983.
 44. Zhao C, Mao K, You CX, Zhao XY, Wang SH, Li YY, et al. Molecular cloning and functional analysis of a UV-B photoreceptor gene, MdUVR8 (UV Resistance Locus 8), from apple. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*. 2016; 247: p. 115-126.
 45. Mao K, Wang L, Li YY, Wu R. Molecular Cloning and Functional Analysis of UV RESISTANCE LOCUS 8 (PeUVR8) from *Populus euphratica*. *PLoS ONE*. 2015; 10(7): p. e0132390.
 46. Fernández MB, Lamattina L, Cassia R. Functional analysis of the UVR8 photoreceptor from the monocotyledonous *Zea mays*. *Plant Growth Regulation*. 2020;; p. 307-318.
 47. Chen H, Yin Y, Niu J, Kwak JM, Du M. Analysis of *Brachypodium distachyon* UVR8 reveals conservation in UV-B receptors. *Plant biology*. 2023; 25(5): p. 750-756.
 48. Yang Y, Yang X, Jang Z, Chen Z, Ruo X, Jin W, et al. UV RESISTANCE LOCUS 8 From *Chrysanthemum morifolium* Ramat (CmUVR8) Plays Important Roles in UV-B Signal Transduction and UV-B-Induced Accumulation of Flavonoids. *Frontiers in Plant Science*. 2018; 9(955).
 49. Soriano G, Cloix C, Heilmann M, Núñez Olivera E, Martínez Abaigar J, Jenkins GI. Evolutionary conservation of structure and function of the UVR8 photoreceptor from the liverwort *Marchantia polymorpha* and the moss *Physcomitrella patens*. *The New phytologist*. 2017; 217(1): p. 151-162.
 50. Clayton WA, Albert NW, Thrimawithana AH, McGhie TK, Deroles SC, Schwinn KE, et al. UVR8-mediated induction of flavonoid biosynthesis for UVB tolerance is conserved between

- the liverwort *Marchantia polymorpha* and flowering plants. *The Plant journal : for cell and molecular biology*. 2018; 96(3): p. 503-517.
51. Liang Y, Podolec R, Chappuis R, Defossez E, Glauser G, Rötzer J, et al. Conservation and divergence of UVR8-COP1/SPA-HY5 signaling in UV-B responses of *Marchantia polymorpha*. *bioRxiv*. 2025.
52. Paredes Malca JC, Fuentes Apaza MM, Valderrama Valencia MRE, Bardales Álvarez R, Condori Mamani E, Condori Pacsi SJ. In Silico Characterization of the RCC1 Family and the UVR8 Gene in *Chenopodium quinoa* Willd. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26(23): p. 11657.
53. Unidad de Planeación Minero Energética (UPME); Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). Atlas de radiación solar, ultravioleta y ozono de Colombia Bogotá; 2017.
54. World Health Organization. Global solar UV index: a practical guide. [Online].; 2002.. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9241590076>.
55. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible; Asocolflores. Guía ambiental para cultivos de flores y especies ornamentales con enfoque de economía circular. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, Bogotá. ISBN 978-628-7598-29-4.
56. Palencia P, Martinez FM, Medina M'inguez JJJ, López Medina J. Eficiencia del rendimiento de la fresa y su correlación con la temperatura y la radiación solar. *Horticultura Brasileira*. 2013; 31(1): p. 93-99.
57. Terán F, Vives Peris V, Gómez Cadenas A, Pérez Clemente RM. Facing climate change: plant stress mitigation strategies in agriculture. *Physiologia plantarum*. 2024; 176(4): p. e14484.

-
58. Abreu AL, Gratao PL, Rodríguez CAV, Sousa Junior GS. A Novel Mineral Composition Increases Soybean Crop Yield by Mitigating Stress Induced by Ultraviolet-A and -B Radiation. *Agronomy*. 2022; 13(1): p. 138.
 59. Soni S, Jha AB, Dubey RS, Sharma P. Application of nanoparticles for enhanced UV-B stress tolerance in plants. *Plant Nano Biology*. 2022; 2: p. 100014.
 60. Hernández Sampieri R, Mendoza CP. Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. 7th ed. Ciudad de México: Mc Graw Hill Education; 2018.
 61. Leach AR. Molecular modelling: principles and applications. 2nd ed. Harlow: Pearson Education; 2001.
 62. Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique London: Methuen; 1959.
 63. Li H, Chen T, Zhang Z, Jiang Q, Yuwen W, Qu L, et al. Engineering yeast expression platforms: Advanced strategies for heterologous protein production and glycosylation modification. *Chemical Engineering Journal*. 2025; 526: p. 171510.
 64. Harris CR, Millman KJ, van der Walt SJ, Gommers R, Virtanen P, Cournapeau D, et al. Array programming with NumPy. *Nature*. 2020; 585: p. 357-362.
 65. McKinney W. Data Structures for Statistical Computing in Python. *SciPy 2010*. 2010.
 66. Hunter D. Matplotlib: A 2D Graphics Environment. *Computing in Science & Engineering*. 2007; 9(3): p. 90-95.
 67. Waskom ML. seaborn: statistical data visualization. *The Journal Open Source Software*. 2021.

-
68. Landrum G. RDKit: A software suite for cheminformatics, computational chemistry, and predictive modeling. [Online]. Acceso 20 de Enero de 2026. Disponible en: https://www.rdkit.org/RDKit_Overview.pdf.
69. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997; 23(1-3): p. 3-25.
70. Fernández V, Bahamonde HA, Peguero Pina JJ, Gil Pelegrín E, Sancho Knapik D, Gil L, et al. Physico-chemical properties of plant cuticles and their functional and ecological significance. *Journal of Experimental Botany*. 2017; 68(19): p. 5293-5306.
71. Cock PJA, Antao T, Chang JT, Chapman BA, Cox CJ, Dalke A, et al. Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics*. 2009; 25(11): p. 1422-1423.
72. O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison GR. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of cheminformatics*. 2011; 3(33).
73. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*. 2010; 31(2): p. 455-461.
74. Schrödinger. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.5.0 Schrödinger, LLC. Sistema de gráficos moleculares.
75. Ebrahim A, Lerman JA, Palsson BO, Hyduke DR. COBRApy: CONstraints-Based Reconstruction and Analysis for Python. *BMC systems biology*. 2013; 7(74).

-
76. Orth JD, Thiele I, Palsson BØ. What is flux balance analysis? *Nature Biotechnology*. 2010; 28: p. 245-248.
77. Nookaew I, Jewett MC, Meechai A, Thammarongtham C, Laoteng K, Cheevadhanarak S, et al. The genome-scale metabolic model iIN800 of *Saccharomyces cerevisiae* and its validation: a scaffold to query lipid metabolism. *BMC Systems Biology*. 2018; 2(71).
78. Hidema J, Kumagai T. Sensitivity of Rice to Ultraviolet-B Radiation. *Annals of Botany*. 2006; 97(6): p. 933-942.
79. Vijaykumar V, Saikiran M, Bharathy VR, Ubaidulla U. Formulation Challenges in Dermal Drug Delivery Systems: A Comprehensive Review of Physicochemical Properties and Advanced Delivery Strategies. *International Journal of Drug Delivery Technology*. 2024; 14(04): p. 1124-1129.
80. Li H, Li Y, Deng H, Sun X, Wang A, Tang X, et al. Tomato UV-B receptor SlUVR8 mediates plant acclimation to UV-B radiation and enhances fruit chloroplast development via regulating SlGLK2. *Scientific Reports*. 2018; 8(1): p. 6097.
81. Shi S, Chen Y, Nielsen J. Metabolic Engineering of Yeast. *Annual Review of Biophysics*. 2025; 54: p. 101-120.
82. Mistry V, Gopal GJ, Sharma A. Catharanthus roseus Monoterpenoid Indole Alkaloid Pathway Engineering in Yeast. En Ramawat, KG, Mérillon J, editores. *Plant Specialized Metabolites.*: Springer, Cham.; 2025. p. 841-858.
83. Planells Cárcel , Valera García E, Quintas G, Martínez JL, Muñiz Calvo S, Guillamón JM. Metabolic Engineering of a Serotonin Overproducing *Saccharomyces cerevisiae* Strain. *Microbial Biotechnology*. 2025; 18(4): p. e70140.

84. Mmbando GS, Teranishi M, Hidema J. Transgenic rice *Oryza glaberrima* with higher CPD photolyase activity alleviates UVB-caused growth inhibition. 2021; 12(1): p. 435-448.
85. Zhang F, Huang J, Guo H, Yang C, Li Y, Shen S, et al. OsRLCK160 contributes to flavonoid accumulation and UV-B tolerance by regulating OsbZIP48 in rice. *Science China Life Sciences*. 2022; 65(7): p. 1380-1394.
86. Mmbando GS. The legal aspect of the current use of genetically modified organisms in Kenya, Tanzania, and Uganda. *GM Crops & Food*. 2023; 14(1): p. 1-12.
87. Gu Y, Yu Z, Wang Y, Chen L, Lou C, Yang C, et al. admetSAR3.0: a comprehensive platform for exploration, prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Nucleic Acids Research*. 2024; 52(W1): p. W432-W438.
88. Troitiño D, Moimenta AR, Henriques D, Contreras Ruíz A, Minebois R, Barrio E, et al. Decoding yeast metabolism under batch fermentation with a multi-phase dynamic genome-scale model. 4 de Diciembre de 2024.

8. ANEXOS

8.1. Declaración de uso de IA

Durante la elaboración de este trabajo se utilizaron herramientas basadas en inteligencia artificial generativa, específicamente Gemini y DeepSeek, como apoyo en procesos de organización de ideas, estructuración de contenido, y ajuste preliminar de scripts ejecutados en entorno Linux para análisis bioinformáticos e *in silico*. Todo el contenido generado mediante estas herramientas fue sometido a revisión crítica, corrección y validación por parte de la autora, quien asume plena responsabilidad sobre el contenido, las interpretaciones, las ideas y las conclusiones

presentadas en este trabajo de grado. En ningún momento el uso de IA reemplazó el juicio crítico, la capacidad de análisis ni el sustento científico requerido para el desarrollo de la investigación. La propiedad intelectual del presente trabajo pertenece en su totalidad a la autora.