

Prevalencia de metabolitos secundarios diana clústeres cancerígenos en la secuencia DNA circular de *Aspergillus salvadorensis*¹ a Aflatoxinas.

Dr. ANTONIO VASQUEZ HIDALGO, PhD

Profesor de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador

ORCID. ID <https://orcid.org/0000-0001-5643-8317>

Correspondence: Antonio Vásquez, antonio.vasquez@ues.edu.sv

Resumen

Objetivo. Determinar la prevalencia de genes precursores clústeres de cáncer en la especie *A. salvadorensis*, utilizando la base de datos secuenciada por MACROGEN INC Kore del Sur por el método la secuenciación de DNA circular por Illumina del método Metagenome Shotgun Sequencing (NGS) diseño de 67M spots, 9.9G bases y 4.3Gb. Utilizó el siguiente método: MetaPhlan4, en donde se recopiló toda la información genética que puedan tener los microorganismos identificados a través de una base de datos validada y para los genes que no están en la base de datos se tradujo en secuencias de proteínas y se comparan con una base de datos de proteínas como UniRef90, aunque no identifican moléculas anticancerígenas solamente los genes precursores esto se hace por métodos de laboratorio como HPLC o ELISA. La investigación es un diseño descriptivo de corte transversal con un nivel alfa 0.005%. llevándose a cabo en los laboratorios de microbiología de la Facultad de Medicina y en MACROGEN INC de Korea del Sur. Se utilizaron programas de bioinformática BLAST, CLUSTAL, GENBANK, M11, UGENE, T-COFFEE incluyendo PHYTON. No se utilizarán sujetos humanos en la investigación. Los lotes de semillas fueron sometidos a un análisis de luz ultravioleta (UV), Este método cualitativo de laboratorio, simple y rápido sirvió como una primera aproximación para identificar la posible presencia de Aflatoxinas que luego se confirmó con el análisis de genes en la secuenciación. El análisis se centró en la búsqueda de genes clave dentro del clúster de aflatoxinas, como aflC, aflD, aflR y aflS. Conclusiones. En nuestro estudio la prevalencia en la cadena DNA circular positiva a aflatoxinas fue negativa y si es negativa la prevalencia seria de cero. El uso de luz ultravioleta para determinar aflatoxinas es sugestivo para encontrar en cantidades suficientes presentes en las semillas, posible se utilice como para identificar contaminantes a hongos. De las especies más comunes del género *Aspergillus* que producen aflatoxinas, están: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. ochraceus*, *A. wentii* en condiciones óptimas de temperatura y humedad. La especie *A. salvadorensis* no tiene capacidad para producir aflatoxinas en dosis toxica y no presenta aflatoxinas cancerígenas según reporte de Macrogen Inc “gene family UniRef90_M2YIY2: Dothistromin biosynthesis regulatory protein aflR, UniRef90_O42716: Aflatoxin cluster transcriptional coactivator aflS genes related to aflatoxin were not detected”.

Palabras clave: *Aspergillus sp.*, aflatoxinas, luz ultravioleta, bioinformática.

¹ Aceptado en depósito secuenciación GenBank BioProjects PRJNA1306032, PRJNA1303219

Introducción

La producción de aflatoxinas en los hongos mencionados a nivel mundial está regulada por un conjunto de genes, que se encuentran en una región cromosómica conocida como la "aflatoxin biosynthetic gene cluster" (AF cluster). En términos generales, los estudios de este tipo se enfocan en identificar la presencia de estos genes en el ADN de muestras de *Aspergillus*. La palabra aflatox del sufijo y prefijo de a = *Aspergillus*, fla = *flavus* y toxina = veneno. Las aflatoxinas son metabolitos secundarios que corresponden químicamente a bis dihidro-furanocumarinas. Se descubrieron en Gran Bretaña en 1960 ⁽¹⁾. Las micotoxinas sustancias nocivas, son principalmente generadas por dos tipos de hongos filamentosos: *Aspergillus* y *Penicillium*. De las Especies descritas como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, y *Aspergillus oryzae* son reconocidas por producir estas toxinas ⁽²⁾. Estos hongos suelen contaminar alimentos comunes, especialmente cereales y granos almacenados. Para producir micotoxinas de manera óptima, se necesitan condiciones específicas, como son: una temperatura ambiente de 25 °C y una humedad relativa del 95 %. Al momento se han identificado dieciocho tipos de estas micotoxinas, destacándose la B1, B2, G1, G2, M1 y M. 2 de estas la aflatoxina B1 (AFB1) es el metabolito tóxico más significativo de este grupo E ^(3,4), contamina con frecuencia alimentos almacenados en regiones tropicales y subtropicales, como el maíz, maní y el arroz. Se sabe que estas micotoxinas son potentes cancerígenos alimentarios y están directamente implicadas en el desarrollo del carcinoma hepatocelular. La contaminación por aflatoxinas (AF) en los cultivos representa pérdidas económicas de millones de dólares a nivel global. La FAO ha estimado que hasta el 25% de todos los cultivos del mundo están afectados por AF, siendo los cereales, las oleaginosas y las especias los más impactados ⁽⁵⁾. Cuando el alimento para animales contiene niveles de aflatoxinas que oscilan entre 60 y 800 mg por kilogramo, esto tiene graves repercusiones en la producción animal. Se observa una disminución en la producción, así como síntomas como diarrea, vómitos y abortos en ganado vacuno y bovinos. Además, la presencia de estas toxinas puede anular la efectividad de las vacunas en el ganado, complicando aún más la salud y el manejo de los animales. ⁽⁶⁾ Los clústeres genéticos cancerígenos en biología molecular se refieren a grupos de genes que están involucrados en procesos que podrían contribuir al desarrollo de cáncer si su expresión o función se ve alterada. Estos genes están asociados tanto con la genómica nuclear como con la mitocondrial. Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre clústeres de genes relacionados con el cáncer se centran en genomas nucleares lineales (ADN nuclear) y circulares (mitocondrias). Los posibles clusters serían aflA y aflJ: Codifican una serie de enzimas responsables de la transformación de los precursores iniciales de aflatoxinas, denominados aflB, aflC, aflD, aflE, aflG, aflI: Estos genes codifican otras enzimas involucradas en los pasos subsecuentes de la biosíntesis de aflatoxinas, como la conversión de los precursores en compuestos intermedios que finalmente dan lugar a las aflatoxinas AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, entre otros. ^(7,8) Antecedentes. En el seno de artículos bibliográficos hay mucha información sobre las aflatoxinas del género *Aspergillus* en cereales, pero no se ha descrito sobre *Caesalpinia coriaria* su presencia si tiene metabolitos cancerígenos. Observándose que en la zona norte de Morazán y Chalatenango el ganado es alimentado con esta semilla en los piensos o se alimentan de las semillas caídas del árbol en el suelo donde pastan, así como esta en zonas de terreno en tierra

árida o son utilizados como cerca de división en los terrenos baldíos por los agricultores contaminando regularmente la tierra con las esporas del hongo. Justificación. Se hace necesario su investigación para evaluar, recomendar y prevenir a los agricultores de la zona, sobre la utilización de *Caesalpinia coriaria* como pienso en la alimentación del ganado, así como en hacer campañas de prevención a nivel nacional porque puede haber reacción cruzada del animal al humano como un modo de transmisión indirecta en la salud humana.

Material y métodos

Este estudio se enfoca en la detección de posibles aflatoxinas en lotes de semillas de *Caesalpinia coriaria*, provenientes de la zona norte de Morazán en El Salvador por medio de la secuenciación de DNA circular o lineal, que es utilizado para la alimentación del ganado vacuno directa o indirectamente proveniente del árbol o suelo. La investigación empleará un diseño descriptivo de corte transversal, llevándose a cabo entre febrero y septiembre en los laboratorios de microbiología de la Facultad de Medicina. Los lotes de semillas de *Caesalpinia coriaria* fueron sometidos a un análisis de luz ultravioleta (UV), es un método cualitativo de laboratorio, simple y rápido sirvió como una primera aproximación para identificar la posible presencia de aflatoxinas. Para una confirmación se utilizaron herramientas bioinformáticas BLAST, CLUSTAL, GENBANK, M11, UGENE, T-COFFEE incluyendo PHYTON. Específicamente, se analizó la secuencia de ADN circular del género *Aspergillus salvadorensis*, obtenida de la base de datos de Corea del Sur generada en la plataforma Illumina (NGS: Next-Generation Sequencing) que está registrada ya en GenBank como bioproject PRJNA1303219 y PRJNA1306032. La secuenciación del ADN circular de *Aspergillus salvadorensis* es una técnica biotecnológica utilizada para obtener la secuencia genética completa del hongo. El análisis se centró en la búsqueda de genes clave dentro del clúster de aflatoxinas, como aflC, aflD, aflR y aflS. Para esto, se consultaron bases de datos genéticas como GenBank, Gen Aspergillus. Ética de la Investigación. No se llevaron a cabo pruebas en individuos humanos, solamente se utilizó la secuenciación DNA del *Aspergillus salvadorensis* se hizo el estudio de posibles clústeres identificados como precursores de cáncer. Los procedimientos de extracción de las semillas se realizaron según protocolo establecido. En el procedimiento estadístico, se utilizaron paquetes de bioinformáticos relevantes como BLAST, CLUSTAL, GENBANK, M11, UGENE, T-COFFEE incluyendo PHYTON para el análisis de secuencia de DNA si hay precursores de aflatoxina. El estudio para identificar la capacidad de otras especies del género *Aspergillus* para producir aflatoxinas, ejemplificado con *Aspergillus salvadorensis*, requiere un riguroso proceso de preparación biológica y secuenciación genómica. Preparación y Extracción de ADN Fúngico. El proceso comienza con el aislamiento y cultivo del hongo, en este caso, *A. salvadorensis*, el cual se cultiva en Agar Sabouraud bajo condiciones óptimas para su crecimiento. Tras obtener una muestra de células fúngicas, se procede a la extracción del ADN genómico mediante un protocolo estándar. Para garantizar la precisión de la secuenciación, el ADN extraído debe ser de alta calidad, lo que significa que debe estar libre de contaminantes como ARN, proteínas o compuestos fenólicos. Proceso de Secuenciación Genómica (NGS). El ADN puro se somete a una serie de pasos preparatorios para la secuenciación de nueva generación (NGS): Fragmentación: El ADN genómico se divide en fragmentos de tamaño adecuado para la plataforma de secuenciación. Esto se logra utilizando enzimas de restricción o mediante técnicas de ultrasonido.

Si el análisis incluye ADN circular (como plásmidos o ADN mitocondrial), este material debe ser amplificado previamente. Construcción de la Librería: A partir de los fragmentos, se construye la librería de secuenciación. Este paso esencial implica la adición de adaptadores y secuencias iniciales (como los usados en plataformas Illumina o PacBio) para facilitar que los fragmentos de ADN se anclen al sistema de secuenciación. La librería se ajusta a las especificaciones técnicas de la plataforma NGS elegida (ya sea Illumina, PacBio u Oxford Nanopore). Secuenciación: Una vez que la librería está lista, los fragmentos de ADN se cargan y se analizan en una plataforma de secuenciación, como Illumina o PacBio, lo que genera los datos brutos de la secuencia genómica. Estos datos de alta calidad son el punto de partida para el posterior análisis bioinformático que determinará si el hongo posee los genes del clúster de aflatoxinas. El análisis genómico del hongo *Aspergillus salvadorensis* se realiza en una serie de pasos secuenciales, desde la lectura del ADN hasta la identificación de la prevalencia de genes de interés. Secuenciación, Ensamblaje y Anotación del Genoma. Tras la preparación de la muestra, se lleva a cabo la secuenciación, donde los fragmentos de ADN se leen y se convierten en grandes volúmenes de datos de nucleótidos (A, T, C, G) ^(9,10). A continuación, se procede al ensamblaje de la secuencia. En este paso crítico, herramientas bioinformáticas como SPAdes, Velvet o Canu alinean las lecturas cortas y las unen en secuencias continuas más largas. Este proceso reconstruye el genoma completo del hongo o elementos circulares como plásmidos y mitocondrias. Finalmente, la anotación de la secuencia ensamblada identifica sus características funcionales, como la ubicación de genes, secuencias regulatorias y la organización general del genoma. Esto se realiza con software especializado como Prokka o AUGUSTUS. Este proceso integral es esencial para comprender la genética de *A. salvadorensis* y sus posibles usos en biotecnología y medicina. Cálculo de la Prevalencia de Secuencias de ADN. Una vez que se ha identificado la presencia o ausencia de una secuencia de ADN de interés (como el clúster de aflatoxinas) en cada muestra analizada (aislado), se calcula su prevalencia o frecuencia dentro de la población de organismos estudiada. La fórmula para el cálculo de la prevalencia en una secuencia de ADN es: $\text{Prevalencia} = (\text{Número total de aislados analizados} / \text{Número de aislados con la secuencia de ADN de interés}) \times 100\%$. Metodología de Análisis Genético (MACROGEN INC.). MACROGEN INC. utiliza una metodología robusta para analizar la información genética de los microorganismos en una muestra, aumentando la confiabilidad de la predicción de funciones e identifican los microorganismos presentes utilizando herramientas de metagenómica como MetaPhlan4 en forma de datos crudos. Se recopila toda la información genética conocida de los microorganismos identificados a partir de bases de datos validadas. Validación a Nivel de Proteína: Para los genes que no se encuentran en la base de datos de ADN, se traducen a secuencias de proteínas y se comparan con una base de datos de proteínas como UniRef90. Predicción Funcional Integral: Se predice la función de los genes nuevos, incluso aquellos no identificados solo por su secuencia de ADN, basándose en la similitud con proteínas conocidas. Validación Cruzada: La confiabilidad de los resultados se aumenta mediante una validación cruzada a nivel de proteína con una base de datos de genes validada.

Resultados

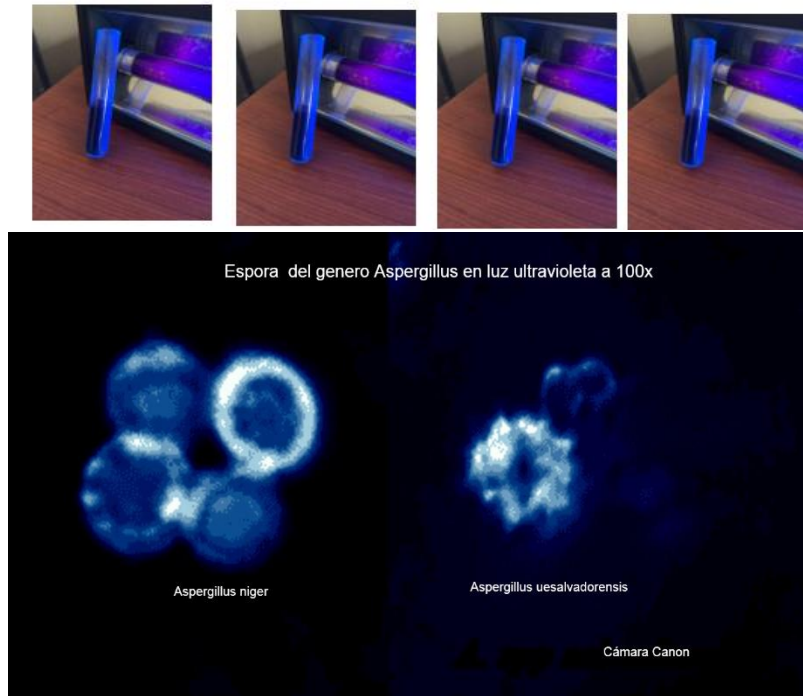


Foto1. Exposición de luz ultravioleta de semillas nacascal. 2025

Del resultado de luz ultravioleta del lote de semillas de nacascal, en la Foto 1, se tiene que presentan unas en menor o mayor reflejo de presencia supuesta de aflatoxinas positivas previamente maceradas con acetona a diferentes tiempos. no presentan datos significativos. La principal coincidencia de metabolitos cancerígenos entre *Aspergillus niger* y *Aspergillus salvadorensis* probablemente incluye aflatoxinas, aunque ambas especies no son los productores más comunes de estas. Otros metabolitos relevantes incluyen ochratoxinas, fumonisinas y patulina. La prevalencia de clústeres de metabolitos cancerígenos en la secuencia de ADN circular de *Aspergillus salvadorensis* sugiere que su impacto en animales podría ser mayor que en humanos, ya que los humanos, a través de su dieta, no consumen directamente las semillas de *Caesalpinia coriaria*. Sin embargo, podría haber contaminación cruzada entre el animal que consume la semilla contaminada y el ser humano, cuando consume carne o leche contaminada con aflatoxinas. Aunque *Aspergillus salvadorensis* no es una de las especies más conocidas por producir aflatoxinas, se sabe que algunas cepas pueden sintetizarlas bajo ciertas condiciones. Los genes que podrían estar involucrados en esta producción incluyen: Genes relacionados con la biosíntesis de aflatoxinas: aflR: Es un regulador clave que activa la expresión de los genes involucrados en la biosíntesis de aflatoxinas. aflD y aflM: Codifican enzimas críticas para la conversión de intermediarios en la ruta biosintética de las aflatoxinas. aflJ: Codifica una oxidoreductasa involucrada en las etapas finales de la biosíntesis de aflatoxinas. Genes de la biosíntesis de ochratoxinas: La ochratoxina A (OTA) es una micotoxina nefrotóxica y carcinogénica, producida en algunas especies de *Aspergillus*, incluidas cepas de *A. salvadorensis*. otaP: Codifica para la enzima ochratoxina A poliquetida sintasa, clave para la biosíntesis de OTA. ochA y ochB: Genes que participan en la conversión de precursores en ochratoxina A. Genes de la biosíntesis de

fumonisinias: Aunque las fumonisinias son más comúnmente producidas por especies de *Fusarium*, algunas cepas de *Aspergillus* también pueden producirlas. Los genes involucrados son: FumA, FumB, FumC: Codifican enzimas que participan en la biosíntesis de fumonisinias, especialmente en la modificación estructural de la toxina. Genes de la biosíntesis de patulina: La patulina es otra micotoxina con efectos genotóxicos que puede contribuir al riesgo de cáncer. patA: Codifica una enzima clave en la biosíntesis de patulina. patB y patC: Otros genes implicados en la modificación de precursores en la ruta biosintética de patulina. Reguladores generales de la biosíntesis de micotoxinas: LaeA y VeA son reguladores maestros que controlan la producción de metabolitos secundarios, incluidas aflatoxinas y ochratoxinas. LaeA regula la biosíntesis de varias toxinas, mientras que VeA participa en el ciclo celular, el desarrollo y la producción de toxinas, influyendo en la biosíntesis de aflatoxinas y otras micotoxinas. Genes relacionados con la resistencia al estrés y la producción de metabolitos secundarios: Los hongos producen metabolitos secundarios como respuesta a condiciones de estrés (nutricional, ambiental, etc.). Algunos genes relevantes incluyen: nmrA: Un regulador que puede afectar la producción de varios metabolitos secundarios. brlA: Regula la formación de esporas y puede estar involucrado en la producción de toxinas^(11,12). Aunque la información sobre *Aspergillus saluadorensis* es más limitada en comparación con otras especies del género *Aspergillus*, los genes mencionados y sus rutas biosintéticas representan posibles candidatos para la producción de micotoxinas cancerígenas en esta especie. Sin embargo, se requieren más estudios específicos para confirmar la presencia y actividad de estos genes en *A. saluadorensis*. Al utilizar el programa PHYTON identifica los codones precursores de ORFs a aflatoxinas, se determina porque están formados por tripletas de bases nitrogenadas (A, T, C, G) que codifican para los diferentes aminoácidos. ATG es el codón de inicio (para metionina). TAA, TAG, TGA son codones de parada. En nuestro caso se obtuvo, utilizando BLAST Y PHYTON: algunos de los ORFs encontrados fueron: ATGATCAAATAA: Un ORF que comienza con ATG y termina con TAA. ATGCATGCAGGAGACTCTGTGAAAGTGCATTGTATATGTAGTTCGAAAATTATTCCGGGTTACC TCTATCTCCTAA: Un ORF largo, que comienza con ATG y termina con TAA. ATGCAGGAGACTCTGTGA: Otro ORF que termina con el codón de parada TGA fueron para identificar metabolitos precursores de aflatoxinas, son: ATGATCAAATAA, ATGCATGCAGGAGACTCTGTGAAAGTGCATTGTATATGTAGTTCGAAAATTATTCCGGGTTACC TCTATCTCCTAA, ATGCAGGAGACTCTGTGA, ATGTAG, ATGCCTGGATTCTAA, ATGTTGACCT GGCCTGCAAAAATGACAGGGAAAGCTACCTTAGATGCTTTGATGTGGTAA, ATGACAGGGAA AGCTACCTTAGATGCTTTGATGTGGTAA, ATGCTTTGA, ATGTGGTAA, ATGTGGGAAATGTTCT CATAG, ATGTTCTCATAG. Si comparamos programas como PHYTON y otros métodos indirectos como luz ultravioleta, nos pueden dar falsos positivos en encontrar aflatoxinas cancerígenas, por lo que el método de programación para el estudio de clusters de MACROGEN utiliza métodos avanzados como MetaPhlAn4 y se comparan con una base de datos de proteínas como UniRef90. Los programas bioinformáticos MetaPhlAn4 y UniRef90 no detectan las aflatoxinas cancerígenas como son moléculas químicas le corresponde a métodos de laboratorio como HPLC o ELISA. En cambio, su función es identificar los componentes genéticos de los hongos productores en una muestra, permitiendo inferir el riesgo de contaminación. El método MetaPhlAn4, esta herramienta determina la presencia y abundancia de los hongos potenciales con riesgo a la salud humana en analizar las

secuencias de ADN y las compara con bases de datos de genes marcadores para identificar especies clave, como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. La simple detección de estos hongos ya indica un riesgo potencial, ya que son los organismos capaces de generar la micotoxina. En cambio, UniRef90 se enfoca en determinar que vías las utiliza. Las aflatoxinas se producen mediante una vía metabólica específica controlada por genes (como *AFLR* y *AFLS*) para buscar las proteínas/enzimas que codifican estos genes. Si las secuencias de la muestra coinciden con estas proteínas de la ruta de biosíntesis, se confirma que el *Aspergillus* detectado no es solo una cepa cualquiera, sino una cepa toxigénica con la capacidad genética para producir la toxina cancerígena. En conjunto, MetaPhlAn4 identifica el organismo de riesgo y UniRef90 confirma si dicho organismo posee la *maquinaria molecular* para fabricar las aflatoxinas, proporcionando una evaluación profunda del riesgo en la muestra. Según el informe de MACROGEN, no se encontraron genes relacionados con la producción de aflatoxinas en *Aspergillus salvadorensis*, y se indicó que los genes asociados a la biosíntesis de aflatoxinas, como *aflR* y *aflS*, no fueron detectados en este análisis: "The analysis results indicated that gene family UniRef90_M2YIY2: Dothistromin biosynthesis regulatory protein *aflR*, UniRef90_O42716: Aflatoxin cluster transcriptional coactivator *aflS* genes related to aflatoxin were not detected" ⁽¹³⁾. Por lo tanto, la prevalencia es cero, no hay genes productores específicos de aflatoxinas que comprometan la salud humana.

Discusión

El *Aspergillus* puede proliferar en ambientes húmedos y mal ventilados es necesario una limpieza periódica y el mantenimiento de filtros de aire, conductos y humidificadores contribuyen a reducir la presencia de esporas de *Aspergillus* en espacios cerrados. Asimismo, controlar los niveles de humedad y reducir el exceso de humedad ayuda a prevenir su crecimiento. En el ámbito agrícola, es importante aplicar prácticas seguras durante el cultivo, almacenamiento y procesamiento de los productos. Esto implica vigilar y regular los niveles de humedad, así como asegurar condiciones de almacenamiento adecuadas para evitar la contaminación por *Aspergillus*. Establecer y hacer cumplir controles de calidad de manera constante puede disminuir significativamente la presencia de micotoxinas en los alimentos, lo que a su vez reduce el riesgo de desarrollar cáncer. Informar a la población sobre los riesgos potenciales y fomentar prácticas preventivas puede contribuir a disminuir los casos de cáncer relacionados con este hongo. Es importante que los profesionales de la salud instruyan a sus pacientes —en especial a aquellos con sistemas inmunológicos debilitados o afecciones respiratorias— sobre la necesidad de evitar entornos que favorezcan la proliferación de *Aspergillus*. ⁽¹⁴⁾ En nuestro caso no se detectaron genes predisponentes a cáncer pulmonar o gástrico. Algunos *Aspergillus* de la especie *flavus* está demostrado tiene aflatoxinas del tipo *aflR* (aflatoxinas, *otap*, *ochA*, *ochB* (ochratoxinas), *patA*, *patB*, *patC* (patulina), *aflD*, *aflM* (aflatoxinas), *fumA*, *fumB*, *fumC* (fumonisinas), *LaeA*, *VeA* (regulación general de toxinas) que si son productoras cancerígenas en el humano. En resumen, los hongos del género *Aspergillus* que están más implicados en la producción de aflatoxinas cancerígenas son el *Aspergillus flavus*, el *Aspergillus parasiticus*, y en menor medida, el *Aspergillus nomius*. El *A. flavus* es la especie que contamina los alimentos con más frecuencia. Estas especies toxigénicas son capaces de generar varios tipos de estas micotoxinas, entre las que destacan la B1, B2, G1 y G2. De todas ellas, la Aflatoxina B1 (AFB1) es la más preocupante.

Esto se debe a que es la más potente y ha sido clasificada como un carcinógeno de Grupo 1 (definitivamente cancerígeno para humanos) por la IARC, ya que está fuertemente relacionada con el desarrollo de cáncer de hígado. Ambas especies de hongos son capaces de producir una variedad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales pueden ser tóxicos o cancerígenos. Los metabolitos cancerígenos comunes entre estas especies están principalmente relacionados con las micotoxinas, compuestos tóxicos producidos por hongos que afectan negativamente la salud humana y animal. Los metabolitos más relevantes en cuanto a su potencial cancerígeno que podrían coincidir entre *A. neoniger* y *A. salvadorensis* son los siguientes: Aflatoxinas: Estas son un grupo de compuestos tóxicos y cancerígenos producidos por algunas especies de *Aspergillus*, particularmente *A. flavus* y *A. parasiticus*. Aunque *A. neoniger* y *A. salvadorensis* no son los principales productores de aflatoxinas, en condiciones adecuadas podrían generarlas en cantidades bajas. Las aflatoxinas son conocidos carcinógenos, especialmente vinculados con el cáncer hepático. Ochratoxinas: La ochratoxina A (OTA) es otro metabolito secundario que presenta efectos tóxicos y cancerígenos, y se ha asociado con daño renal. La IARC la clasifica como un posible carcinógeno humano (Grupo 2B). *A. salvadorensis* podría producir ochratoxinas bajo ciertas condiciones, y *A. neoniger* también ha sido reportado como productor de esta micotoxina, aunque no de manera tan frecuente como otras especies de *Aspergillus*. Fumonisinias: Generalmente asociadas con especies como *Fusarium*, algunas cepas de *Aspergillus* también pueden producir fumonisinas. Estas micotoxinas tienen efectos neurotóxicos y hepatotóxicos, y se consideran carcinógenas, particularmente en relación con el cáncer esofágico. Aunque *A. neoniger* y *A. salvadorensis* no son conocidos como grandes productores de fumonisinas, podrían generarlas en pequeñas cantidades dependiendo de las condiciones ambientales. En resumen, aunque no se destacan como los principales productores de estos metabolitos, ambas especies de *Aspergillus* pueden compartir la capacidad de producir varios metabolitos cancerígenos en condiciones ambientales específicas.⁴ Patulina. La patulina es otra micotoxina que ha sido reportada en algunas especies de *Aspergillus*. Aunque no se clasifica como un carcinógeno directo, se ha observado que puede tener efectos genotóxicos en modelos animales, lo que podría incrementar el riesgo de cáncer a largo plazo. En cuanto a los genes involucrados en la biosíntesis de aflatoxinas, especies como *Aspergillus salvadorensis* poseen una serie de genes tales como aflR, aflM, aflK, aflP, VeA, aflD, aflJ, aflQ, LaeA y AflS. Estos genes constituyen una red compleja de reguladores y biosintetizadores; sin embargo, *A. salvadorensis* no cuenta con los mecanismos necesarios para sintetizar aflatoxinas, a diferencia de otras especies del género *Aspergillus*, las cuales sí son capaces de producir aflatoxinas, compuestos altamente carcinógenos y peligrosos para la salud humana y animal. (15,16) La expresión de estos genes puede verse influenciada por factores ambientales como la temperatura, la humedad y la disponibilidad de nutrientes, los cuales son determinantes clave en la producción de aflatoxinas en estos hongos. El género *Aspergillus* incluye varias especies conocidas por su capacidad de generar aflatoxinas, que son micotoxinas potentes y carcinógenas. Las aflatoxinas se producen principalmente bajo condiciones de estrés, tales como altas temperaturas, humedad elevada y condiciones de crecimiento deficientes. A continuación, se presenta una lista de las especies de *Aspergillus* más reconocidas por su capacidad para producir aflatoxinas: *Aspergillus flavus*: Esta es probablemente la especie más conocida y estudiada en relación con la producción de aflatoxinas. Produce principalmente aflatoxinas B1 y B2, que son comunes en granos como maíz y

cacahuets (maní), entre otros productos agrícolas. Condiciones óptimas: *A. flavus* genera aflatoxinas en condiciones de alta temperatura (30-37°C) y humedad. *Aspergillus parasiticus*: Otra especie clave en la producción de aflatoxinas, especialmente aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. Las aflatoxinas G1 y G2 son menos comunes y se encuentran principalmente en *A. parasiticus*. Condiciones óptimas: Al igual que *A. flavus*, *A. parasiticus* produce aflatoxinas bajo temperaturas cálidas y alta humedad. *Aspergillus nomius*: Esta especie también está asociada con la producción de aflatoxinas, aunque en menor medida que *A. flavus* y *A. parasiticus*.^(17,18,19,20) En resumen, aunque *Aspergillus salvadorensis* no posee los genes necesarios para producir aflatoxinas, otras especies de *Aspergillus* como *A. flavus* y *A. parasiticus* son conocidas por su habilidad de generar estas toxinas peligrosas en condiciones específicas de estrés ambiental. *Aspergillus nomius* es una especie menos común, pero relevante, ya que también tiene la capacidad de producir aflatoxinas, especialmente aflatoxinas B1 y B2. Se encuentra principalmente en frutos secos, como pistachos y almendras. Condiciones óptimas: Al igual que otras especies del género *Aspergillus*, *A. nomius* prospera en condiciones cálidas y húmedas. *Aspergillus tamaritii*, aunque menos frecuente, también tiene la capacidad de producir aflatoxinas B1 y B2. Se encuentra sobre todo en cereales y semillas. Condiciones óptimas: Esta especie, como muchas otras del género, crece mejor en ambientes cálidos y húmedos. *Aspergillus pseudotamaritii* es otra especie que puede producir aflatoxinas B1 y B2, aunque no tan comúnmente como *A. flavus* o *A. parasiticus*. Se ha encontrado en productos alimenticios como cereales y semillas. *Aspergillus salvadorensis*, aunque no es una de las especies más reconocidas por su producción de aflatoxinas, algunos estudios sugieren que puede sintetizar aflatoxinas B1 y B2 bajo ciertas condiciones de estrés. Esta especie ha sido poco investigada en cuanto a su capacidad para producir micotoxinas, pero su potencial para generar aflatoxinas depende de factores ambientales específicos, lo que la hace menos predecible que otras especies más comunes. *Aspergillus ochraceus*, más conocido por la producción de ochratoxinas, también tiene la capacidad de producir aflatoxinas en algunas cepas bajo ciertas condiciones, aunque las aflatoxinas no son su principal metabolito secundario. *Aspergillus wentii*, aunque es una especie menos común, algunas cepas de *A. wentii* también pueden producir aflatoxinas B1 y B2. La producción de aflatoxinas ocurre típicamente en condiciones de temperaturas cálidas (entre 25-37°C) y alta humedad. La presencia de materia orgánica en descomposición, como granos, frutos secos y otros alimentos, también favorece la colonización de estos hongos y la producción de las toxinas. En cuanto a los genes precursores de cáncer, aunque *Aspergillus salvadorensis* no es una de las especies más comúnmente asociadas con la producción de aflatoxinas, su capacidad para sintetizarlas indica que los genes involucrados en la ruta de biosíntesis podrían ser similares a los presentes en *A. flavus* y *A. parasiticus*. Los genes involucrados directamente en la biosíntesis de aflatoxinas en *Aspergillus* incluyen: aflR es el principal regulador positivo de la biosíntesis de aflatoxinas. Su función es actuar como un factor de transcripción que activa la expresión de varios otros genes en la vía biosintética. Este gen es fundamental para la producción de aflatoxinas, ya que, sin su presencia, la síntesis de estas toxinas no ocurre. aflD su función: Codifica una poliquetida sintasa (PKS), una enzima esencial en las primeras etapas de la biosíntesis de aflatoxinas. Esta enzima es responsable de formar el intermediario aflatoxicol, un precursor crítico en la producción de las aflatoxinas. Su función es clave para transformar los precursores en el primer compuesto importante en la ruta biosintética. aflM su función: Codifica una CYP450 monooxigenasa, que participa en la modificación de los compuestos

intermedios durante la biosíntesis de aflatoxinas. Este gen es esencial para la hidroxilación de los precursores, un paso fundamental para convertirlos en aflatoxinas en su forma final. aflJ su función: Codifica una enzima oxidorreductasa que participa en las etapas finales de la biosíntesis de aflatoxinas, transformando los intermediarios en aflatoxinas. aflK su función: Codifica una transferasa, una enzima que facilita la conversión de los precursores en aflatoxinas. Su rol es crucial en la finalización de la síntesis de aflatoxinas a partir de los compuestos intermedios generados por otros genes. aflQ su función: aflQ actúa como un regulador positivo en la vía biosintética de las aflatoxinas. Aunque no forma parte directa de la ruta biosintética, modula la expresión de otros genes clave en la producción de aflatoxinas, ayudando a regular la biosíntesis en su conjunto. aflP. Función: Codifica una enzima aciltransferasa que participa en la conversión de los precursores en la estructura final de las aflatoxinas^(21,22). Esta enzima facilita las modificaciones químicas de los precursores, permitiendo su transformación en aflatoxinas funcionales. Otros genes reguladores involucrados en la producción de aflatoxinas están la biosíntesis de aflatoxinas también está regulada por varios factores de transcripción y genes que modulan la expresión general de la biosíntesis de metabolitos secundarios en *Aspergillus*: LaeA su función: LaeA es un regulador global que controla la producción de metabolitos secundarios, incluidas las aflatoxinas. Este gen activa la expresión de los genes encargados de la biosíntesis de aflatoxinas, formando parte de un sistema de regulación global. Importancia: Regula la producción de aflatoxinas en respuesta a factores ambientales, como la disponibilidad de nutrientes. VeA su función: Similar a LaeA, VeA también es un regulador maestro de la biosíntesis de metabolitos secundarios. Está implicado en la regulación de la producción de aflatoxinas al controlar la expresión de genes como aflR y otros relacionados con la biosíntesis. Importancia: VeA se activa bajo condiciones específicas de luz y temperatura, lo que influye en la producción de aflatoxinas. AflS su función: AflS actúa como un regulador negativo, inhibiendo la producción de aflatoxinas al bloquear la actividad de AflR. Importancia: La presencia de AflS es crucial en la regulación de la biosíntesis de aflatoxinas, ya que impide su producción en condiciones desfavorables, funcionando como un modulador negativo en la ruta biosintética.^(23,24,25,26,27,28,29).

Conclusiones.

El uso de luz ultravioleta para determinar aflatoxinas es sugestivo para encontrar en cantidades suficientes presentes en las semillas, posible se utilice como para identificar contaminantes a hongos. Algunos de los metabolitos más relevantes que podrían ser comunes entre *A. neoniger* y *A. salvadorensis* en términos de potencial cancerígeno son las Aflatoxinas. No son los principales, pero pueden producirse en cantidades bajas si la produce en consecuencia, así como sus genes presentes. Entre los Genes de aflatoxinas podrían estar involucrados como precursores de cáncer están los del tipo aflR. De la especie a la exposición de Luz Ultravioleta se tiene una fluorescencia verde-amarillenta brillante o tenue a violeta, dependiendo de la cantidad de toxina presente en ellas. De las especies más comunes del género *Aspergillus* que producen aflatoxinas, están: *A. flavus*, *A. pararasiticus*, *A. nomius*, *A. ochraceus*, *A. wentii* y *A. salvadorensis* en condiciones óptimas de temperatura y humedad. De la especie *uesalvadorensis* no se encontraron los genes aflA, aflB, aflC, aflD, aflE, aflG y aflJ, responsables de la conversión de precursores en aflatoxinas como AFB1 y AFG1, por lo tanto, se

concluye que no es cancerígena, porque citando “The analysis results indicated that gene family UniRef90_M2YIY2: Dothistromin biosynthesis regulatory protein aflR, UniRef90_O42716: Aflatoxin cluster transcriptional coactivator aflS genes related to aflatoxin were not detected. “.

Agradecimientos. A las autoridades de la Universidad de El Salvador y a la Facultad de Medicina en su apoyo moral en uso de los laboratorios del departamento de Microbiología y tiempo disponible. A MACROGEN INC equipo B1 quien identifico cluster cancerígenos si tenía el *Aspergillus* de muestra enviada desde El Salvador. Master Willian Merino experto en biología molecular.

Conflicto de intereses. No hay conflicto de intereses con ninguna persona o medio.

Referencias Bibliográficas

1. Shank RC, Wyatt RD. The Isolation of Aflatoxins from Cultures of *Aspergillus flavus*. *Mycologia*. 1961;53(4):511-6.
2. Bolet M, Socarrás MM. Micotoxinas y cáncer. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 2005;24(1):1-4.
3. Carbajal M. Transformación de la aflatoxina b1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto afb1-AND. *Rev Espec Cienc Químico-Biol*. 2013;16(2):109-20. doi: 10.1016/S1405-888X(13)72082-5.
4. Yu J, Bhatnagar D, Cleveland TE. Genes of the aflatoxin pathway in *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *Fungal Genet Biol*. 2004;41(2):221-31.
5. Jallow A, et al. Worldwide aflatoxin contamination of agricultural products and foods: From occurrence to control. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2021;20(5):5434-63. doi: 10.1111/1541-4337.12734.
6. Rojas J, et al. Cuantificación de aflatoxinas carcinogénicas en alimentos no procesados y su implicación para el consumo en Lima, Perú. *Nutr Hosp*. 2021;38(1):146-52.
7. Mollay C, Kimanya M, Kassim N, Stoltzfus R. Main complementary food ingredients contributing to aflatoxin exposure to infants and young children in Kongwa, Tanzania. *Food Control*. 2022;135(108709):1-9. doi: 10.1016/j.foodcont.2021.108709.
8. Yu J, et al. Genes de vías agrupadas en la biosíntesis de aflatoxinas. 2004. doi: 10.1128/AEM.70.3.1253-1262.2004.
9. Vásquez A. Phenotypic and Genotypic Characterization of *Aspergillus uesalvadorensis* in an Organic Strain Discovered at the University of El Salvador 2006 - 2024. *Plant*. 2025;13(1):11. doi: 10.11648/j.plant.20251301.11.
10. Illumina. Método de secuenciación Iseq100. 2025. Disponible en: <https://support-docs.illumina.com/es-LA/IN/iSeq100/Content/IN/Sequencing.htm>.
11. Guerrero E, et al. Determinación de la presencia de Aflatoxina B1 en masa de maíz (*Zea mays* L) de molinos artesanales del municipio de Suchitoto, departamento de Cuscatlán, El Salvador [Tesis de grado]. El Salvador: Universidad de El Salvador; 2024. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14492/28260>.
12. Adhikari BN, Bandyopadhyay R, Cotty PJ. Degeneration of aflatoxin gene clusters in *Aspergillus flavus* from Africa and North America. *AMB Express*. 2016;6(1):1-16. doi: 10.1186/s13568-016-0228-6.
13. MACROGEN INC. Korea del Sur laboratoios
14. 46. Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002. Productos y servicios. Control de Aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación, México D.F.15 de octubre de 2002. Recuperado de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/188ssa12.html>

15. D'Antonino Faroni LR. Los granos y su calidad. En Arias C, editor. Manual de Manejo Poscosecha de Granos a Nivel Rural. Chile: Oficina Regional de la FAO para América Latina y El Caribe; 1993. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/x5027s/x5027S01.htm#I.%20Los%20granos%20y%20su%20calidad>.
16. Centre for Food Safety. Ochratoxin A in food (Risk Assessment Studies Report No. 23). Hong Kong; 2006.
17. Chalco D, et al. Riesgo toxicológico de aflatoxinas presentes en mani y nueces comercializadas en los mercados de la ciudad Cuenca [Tesis]. Cuenca: Universidad de Cuenca; 2014. Disponible en: <https://rest-dspace.ucuenca.edu.ec/server/api/core/bitstreams/dfdd6ac9-8d75-4c68-8542-8d6eb86398f9/content>.
18. Chang PK. The aflatoxin biosynthesis gene cluster: A model for fungal secondary metabolism. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2003;61(2):83-93.
19. Cruz A, Martínez R, Hernández Rauda R. Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz Prevalencia de contaminación. San Salvador, El Salvador: Universidad Doctor Andrés Bello; 2014.
20. Cuero RG, Hernández I, Cárdenas H, Osorio E, Onyiah LC. Aflatoxin in Colombia. En Zuber MS, Lillehoj EB, Renfro BL, editores. Aflatoxin in Maize: A Proceedings of the Workshop. México D.F.: The International Maize and Wheat Improvement Center; 1987. p. 308-11.
21. Kanehisa M, Sato Y. Mapeador KEGG para inferir funciones celulares a partir de secuencias de proteínas. *Protein Sci*. 2020;29:28-35.
22. Khaldi N, et al. SMURF: Mapeo genómico de grupos de metabolitos secundarios de hongos. 2025. Disponible en: https://www-jcvi-org.translate.google.com/publications/smurf-genomic-mapping-fungal-secondary-metabolite-clusters?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=tc.
23. Chang PK. The aflatoxin biosynthesis gene cluster: A model for fungal secondary metabolism. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2003;61(2):83-93.
24. Yu J, Bhatnagar D, Cleveland TE. Genes of the aflatoxin pathway in *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *Fungal Genet Biol*. 2004;41(2):221-31.
25. Yu JH, Keller NP. Molecular Genetics of Aflatoxin Biosynthesis. *Annu Rev Phytopathol*. 2005;43(1):17-36.
26. Cáceres I, Khoury AA, Khoury RE, Lorber S, Oswald IP, Khoury AE, et al. Aflatoxin Biosynthesis and Genetic Regulation: A Review. *Toxins*. 2020;12(3):150. doi: 10.3390/toxins12030150.
27. Keller NP, Hohn TM. Metabolic pathway gene clusters in filamentous fungi. *Fungal Genet Biol*. 1997;21(1):17-29.
28. Durán C, Yu J, Chang PK, Cary J, Han S, Cleveland TE. Gene expression of *Aspergillus flavus* in response to environmental factors associated with aflatoxin production. *J Food Prot*. 2007;70(1):77-84.
29. Varga J, et al. *Aspergillus* species and their mycotoxins. En: Molecular biology of the *Aspergilli*. Springer; 2011. p. 183-210

Programas de bioinformáticos utilizados:

BLAST. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

CLUSTAL. <https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/msa/clustalo?styp=protein>

GENBANK. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

[translate.google.com/genbank/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=tc](https://www-jcvi-org.translate.google.com/genbank/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=tc)

UGENE <https://ugene.net/>

MEG11. <https://www.megasoftware.net/>

PHYTON. <https://www.programiz.com/python-programming/online-compiler/>

T-Coffee. <https://tcoffee.crg.eu/apps/tcoffee/do:regular>

