

## GUÍA DE RECOLECCIÓN DE TEJIDOS VEGETALES

### PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN

**Rocio Cortés-B., Ph.D.**

La extracción de ADN en plantas requiere simplemente que una porción de hoja se deshidrate en un lapso corto de tiempo (~ 24 horas) sin necesidad de usar calor. No es conveniente dejar el tejido secándose al aire libre, o entre hojas de papel, ya que la deshidratación se demorará, y mientras tanto, en el tejido pueden proliferar hongos endófitos, u hongos que se encontraban en las superficies del tejido al momento de la colección, que no necesariamente se pueden observar a simple vista.

La alcoholización de los especímenes botánicos, que es una técnica de colección muy usada en nuestro medio, impide que estos tejidos sean óptimos para la extracción de ADN debido a la degradación que sufren las moléculas. Aunque es posible en muchos casos extraer ADN de material de herbario previamente alcoholizado, no siempre es así, y además se deben utilizar técnicas especiales diseñadas para material problemático, que normalmente incluyen reactivos altamente tóxicos (e.g. mercaptoetanol). Aunque muchas variables afectan la posibilidad de extraer ADN de especímenes de herbario previamente alcoholizado, la evidencia actual parece indicar que un factor crucial es la edad del espécimen. Así que entre más recientemente se haya colectado el espécimen, existen más probabilidades de extraer ADN de los tejidos alcoholizados.

A continuación se describe una técnica que permite extraer ADN de buena calidad de los tejidos de las plantas, sin necesidad de invertir mucho tiempo, ni de utilizar materiales costosos.

1. Cuando se colecta un tejido para la extracción de ADN es indispensable recolectar un espécimen botánico (voucher) el cuál se debe depositar en un Herbario. De lo contrario, no se podrá tener certeza de identidad de la especie en cuestión. Además, es necesario incluir una foto del espécimen en cada secuencia que se sube a *Boldsystems*, con el objeto de que sirva de referencia en la identificación de la especie con la técnica de códigos de barra de ADN (Foto 1).

Specimen Page | BOLDSYSTEMS - Google Chrome  
 www.boldsystems.org/index.php/MAS\_DataRetrieval\_OpenSpecimenNew?selectedrecordid=3681541

### Specimen - Barcoding plants of the Herbario Forestal -Universidad Distrital-[UDBC]

UDBC-BSDATA-051

Herbario Forestal UDBC  
 rpscortes@udistrital.edu.co

Creative Commons Attribution Non-Commercial  
 ShareAlike (CC BY-NC-SA)

Herbario Forestal UDBC Universidad Distrital  
 Francisco Jose de Caldas

#### Specimen Details

Sample ID: UDBC-BSDATA-051	Voucher Status:
Process ID: UDBC051-13	Tissue Descriptor:
Project: UDBC	Sex:
Institution Storing: Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas, Herbario Forestal	Reproduction:
Field ID: UDBC-BSDATA-SPA-191	Life Stage:
Museum ID: 22122	Extra Info:
Collection Code: UDBC	Associated Taxa:
Reference Links:	Associated Specimens:
Note:	

#### Taxonomy

Phylum: Magnoliophyta	Identification: Psychotria Aubletiana (Steyerm.)
Class: Magnoliopsida	Species:
Order: Gentianales	Bank:
Family: Rubiaceae	Identifier: Rocio Cortes
Subfamily: Rubroideae	Identification Method: Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas, Herbario Forestal
Genus: Psychotria	Identifier Institution: rpscortes@udistrital.edu.co
Species: Psychotria Aubletiana	Taxonomy Note:

#### Collection Data

Country: Colombia	Collector: S. Angel, R. Cortes, M. Reina, A. Avila, J. Martinez
Province/State: Santander	Date Collected: 15-Abr-2008
Region/County: Eneida	Time Collected:
Sector: Reserva Cachal	Site Code:
Exact Site: Las Lajas	Habitat:
Loc/Lon: 6.00222, -72.1223	Sampling Protocol:
Elevation: 2060 m	Coord. Source:
Depth Accuracy:	Coord. Accuracy:
Collection Event ID:	
Collection Notes:	

#### Map

Mapa

Google

#### Tags

Comments

Herbarium Specimen

Process ID: UDBC051-13  
 Identified by: Rocio Cortes  
 Collected in: Colombia, Santander  
 by: S. Angel, R. Cortes, M. Reina, A. Avila, J. Martinez  
 Institution Storing: Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas, Herbario Forestal  
 Field ID: UDBC-BSDATA-SPA-191  
 Museum ID: 22122

Edit Specimen Show Delta View

#### Recent Activities

#### Illustrative Barcode

0 443  
 444 595

#### Nucleotide Sequence

```
TAAATACCTCCCTGATAGGAAACAAGAGAGCTGATCTCTTTGGACAGCTCCGAGTACCTCCCAACCTGGATTCGGCCGAGAGAGCTGGGGCCCGAGCTGGCCGAGTCTTCTACTGATGAGCAACTGTATGAGAGGATGACTTACACTCTGTATGCTTACAAAGGGGATGCTTACACATCGAGCTCCGCGAGAGAGAGTCAATTAATGCTTATGATGAGTACCTAGACCTTTTGAAGAGGTTCTGTTACTAACATGTTTCTTATTATGAGTATGATATTTGGGTTCAAGCCCTGGCCGCTCTCGCTGGGAAGTTTACGAATCCCATCTGTTATGTTAAACCTTCAAGGCCCGCCCTCATGGCATTCAAGTCGAGAGGATAAATGAACAAGTATGCTGCCCTTTTGGGATGATCTATTAACCTAAATAGGCTTATGCTAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGCTTCTGGTGGACTGATTTTACCAAGATGATGAAAAGCTGAACTCCCAACCATTTATGCTGTGGAGAGACGCTTTCATTA
```

#### Amino Acid Sequence

```
NMLPLNTFKRLISLLAFTVDPQVPEEAGAAVAASSTGTTTAVTDGLTSLDRYGRVYIEFVPGQESQIAYVAYPLDLFEEGVSVNHFTSIVGVYFGLKALRALRLIEDLRIPYAVVYTFQPPHIGQVERDLKLVYGRFFLRCTKPKLGLSANKYGRVAVYVCLRGLDFTKEDENVNSQFVHMDRFTX
```

#### Sequence Metadata

Genbank Accession	N/A
Translation Matrix	Standard Code
Last Updated	2013-09-20
Sequence Runsite	Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas, Herbario Forestal

Modify Sequence:

Clear Sequence Edit Sequence

#### Tags

Comments

Sequencing Date: 2013-09-09  
 Trace Direction: F  
 Forward Primer: rbclA-F  
 Reverse Primer: rbclA-F634  
 Sequence Primer: rbclA-F  
 Status: med qual  
 Trace Runsite: Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas, Herbario Forestal

Activar Windows  
 Ir a Configuración de PC para a

Foto 1

2. Seleccione una porción de hoja joven o madura (no sobre-madura), que no presente hepáticas, musgos, etc. en la superficie, ni se encuentre afectada por hongos, virus, agallas, etc. (Foto 2). Si no es posible encontrar una porción de hoja con estas características, seleccione pequeñas porciones de hojas diferentes del mismo individuo. Corte la hoja con tijeras que sean exclusivas para este fin, que debe limpiar con alcohol entre muestra y muestra. Una inmersión rápida en alcohol es suficiente (Foto 3). Es deseable cortar el tejido en flecos para aumentar la superficie de secado (Foto 4) y facilitar la manipulación de tejido en el laboratorio (Foto 5). La cantidad necesaria es de aproximadamente 10 cm<sup>2</sup> en total (Foto 6).



Foto 2



Foto 3



Foto 4



Foto 5



Foto 6

3. Tome un sobre de papel filtro (Foto 7) y anote las siglas del colector y el número de colección del voucher. Introduzca el tejido foliar en el sobre de papel filtro y cierre el sobre. Los sobres de papel filtro se pueden hacer con filtros redondos para café (Foto 8), los cuales se parten por la mitad y se sella un borde con colbón, obteniendo dos sobres por filtro.

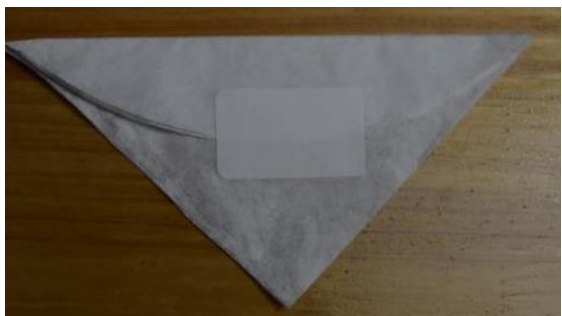


Foto 7



Foto 8

4. Introduzca el sobre de papel filtro en una bolsa de cierre zip que contenga sílica gel deshidratada, y cierre bien la bolsa (Foto 9). Tenga cuidado de no respirar cerca de la bolsa ya que la sílica gel puede causar irritación de las mucosas, y es peligroso inhalar partículas por las vías respiratorias.



Foto 9

5. Siga este procedimiento hasta llenar la bolsa. Cuando llegue al campamento, saque los sobres de la bolsa y póngalos en un recipiente plástico de cierre hermético, que contenga una buena cantidad de sílica gel deshidratada (Foto 10). Este procedimiento permitirá que en 24 horas aproximadamente, los tejidos se deshidraten. Si nota que la sílica gel se decolora, y se vuelve violeta o lila, quiere decir que la sílica gel se saturó (Foto 11) y debe cambiarla por sílica deshidratada (Foto 12), la cual tiene color azul oscuro. La sílica gel se puede secar poniéndola en una paila al fuego (Foto 13). Sin embargo, para verterla en la paila y retornarla a la bolsa debe usar **tapabocas** ya que fácilmente podría inhalar una partícula pequeña.



Foto 10



Foto 11



Foto 12





Foto 13

6. El kit de campo para la colección de tejidos para la extracción de ADN se puede ver en la Foto 14 y consiste en una bolsa grande que incluye dos bolsas de cierre zip, una con la sílica, y otra con los sobres, además del alcohol, las tijeras y un esfero. En el caso de coleccionar muchas muestras durante el día, se deberán llevar varias bolsas con sílica gel.



Foto 14