

Aspectos críticos en la colecta de muestras de cítricos para obtener ácidos nucleicos para investigación

Rosalba, Contreras-Maya¹; Ángel, Villegas-Monter^{1*}

¹ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Postgrado Fisiología Vegetal. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C.P. 56264.

* Autor para correspondencia: avillega@colpos.mx

Cómo citar: Contreras-Maya, R., & Villegas-Monter, Ángel. Aspectos críticos en la colecta de muestras de cítricos para obtener ácidos nucleicos para investigación. *Agro-Divulgación*, 5(6). <https://doi.org/10.54767/ad.v5i6.569>

Editores académicos: Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza y Dr. Jorge Cadena Iñiguez.

Publicado en línea: Marzo 2026.

Agro-Divulgación, 5(6). Noviembre-Diciembre. 2025. pp: 53-55.

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International



Problema

Uno de los principales retos en estudios moleculares y de diagnóstico fitosanitario es la obtención de ácidos nucleicos de calidad y cantidad a partir de hojas de plantas de cítricos. La eficiencia y confiabilidad de los análisis posteriores dependen directamente de la colecta, la cual suele subestimarse ante los procedimientos de laboratorio. En plantas de cítricos los factores como la edad fisiológica del tejido, presencia de metabolitos secundarios (polifenoles y polisacáridos), estado fitosanitario de la hoja y las condiciones ambientales (temperatura) al momento del muestreo influyen de manera directa en la integridad y pureza del ADN y RNA. Adicionalmente, practicas inadecuadas durante la colecta (brotes completos que dificultan el traslado), manipulación (utilización de papel para envolver las muestras que, con la transpiración, aumenta la humedad en las bolsas favoreciendo el crecimiento de hongos), conservación y transporte de las hojas pueden favorecer la degradación de ácidos nucleicos y la extracción de metabolitos secundarios, comprometiendo la confiabilidad de los análisis moleculares. Por ello, conocer y estandarizar los criterios de colecta son fundamentales para asegurar resultados reproducibles y confiables.

Solución Planteada

Las muestras se colectaron de cuatro brotes en crecimiento activo (un brote por orientación cardinal) para formar una muestra compuesta; en promedio de 8-10 hojas dependiendo de la especie y edad de la planta (Figura 1A), hojas pequeñas en lima ácida mexicana (*Citrus aurantifolia*), y hojas grandes en lima persa (*C. latifolia*) y naranjo (*C. sinensis*).



Las muestras se etiquetaron con un trozo de papel y escrito con lápiz para evitar el escurrimiento de la tinta, se colocaron dentro de bolsas de polietileno sin papel absorbente (Figura 1B), en una hielera para su traslado al laboratorio, es importante mencionar que se utilizaron botellas de agua congeladas ya que tardan más en descongelarse en comparación con los geles refrigerantes. Al arribo al laboratorio, las muestras llegaron se almacenaron a 4 °C hasta el procesamiento en un periodo no mayor a 72 horas. El primer aspecto a considerar fue la limpieza de las hojas con toallitas de papel interdoblas (Sanitas[®], México) humedecidas con alcohol al 75% por el haz y envés, después se realizó la extracción y picado fino de la nervadura central de las hojas con ayuda de navaja de un solo filo (CORTY[®], México) y sobre un trozo de cristal (Figura 1C), para almacenamiento en microtubos de 2 mL (AXYGEN[®], México) a -20 °C. La lisis celular se realizó con la maceración del tejido en un disruptor (Retsch[®], México) a 30 frecuencias por 20 min; para ello se pesaron 0.25 g de nervadura de la muestra compuesta más 1 mL de buffer salino (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, NaCl 2 M, albúmina bovina 0.05%; Sigma-Aldrich, EE. UU) y 3 balines de acero inoxidable (3/16") en microtubos 2 mL. Posteriormente los tubos con tejido macerado, se centrifugaron por 5 min a 7500 rpm a 4 °C para la recuperación de los balines y se descartó el sobrenadante; después, se volvió a agregar 800 µL de buffer salino, se agitó en vórtex y se volvió a centrifugar durante 5 min a 13500 rpm a 4 °C y se eliminó el sobrenadante. La inhibición de enzimas y precipitación de ácidos nucleicos se realizó empleando la metodología del CTB al 2% (Villegas-Monter *et al.*, 2024).

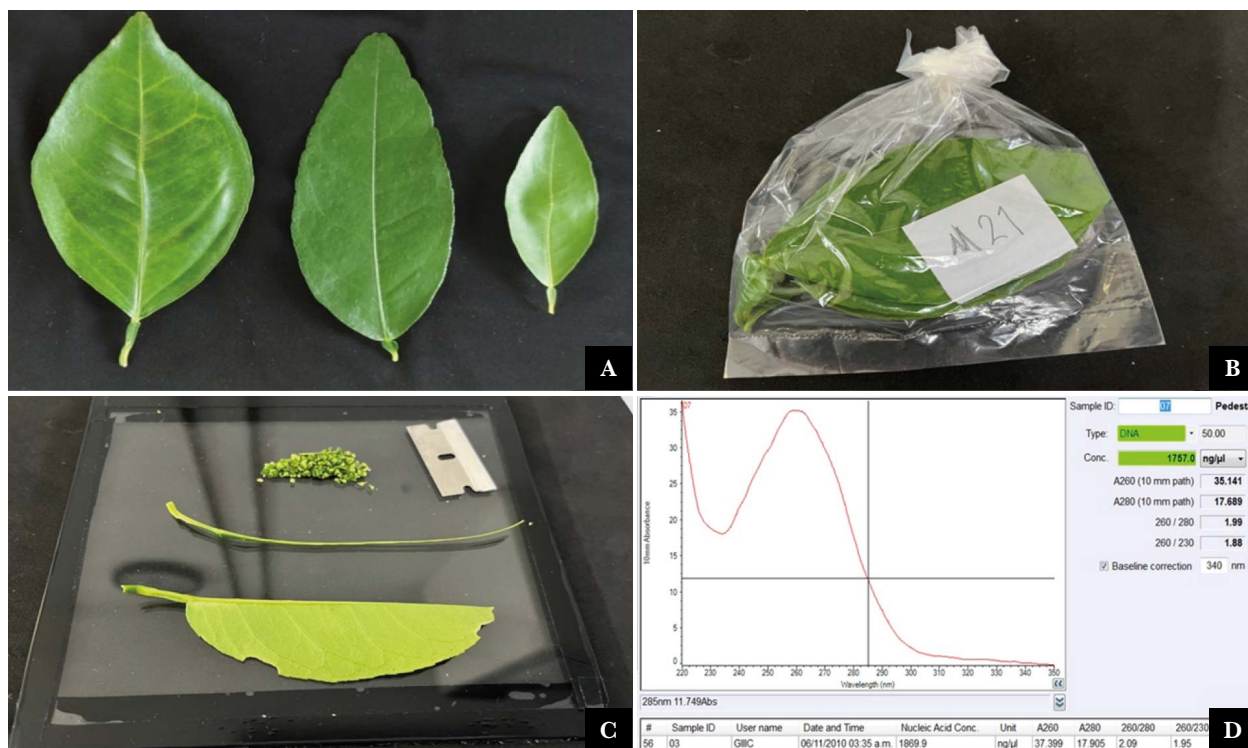


Figura 1. Recolecta de hojas de cítricos para extracción de ácidos nucleicos. A) tamaño de hojas de diferentes especies cítricas, B) etiquetado y embolsado de muestra compuesta, C) extracción y picado de nervaduras de hojas, D) lectura de concentración y calidad de ácidos nucleicos.

La verificación de las calidades y las concentraciones de ácidos nucleicos se realizó con un 1 μ L de muestra en Nano Drop 2000 (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.). Se obtuvieron valores entre 1.8 y 2 en absorbancia (260/280 nm; 260/230 nm) y las concentraciones fueron de 300 hasta 2000 ng μ l⁻¹ (Figura 1D). Por lo anterior muestras compuestas de ocho a 10 hojas de cítricos son suficientes para la extracción de ADN y ARN de calidad, sin necesidad de coleccionar brotes completos. Transportar las muestras en recipientes con botellas de agua congelada garantizan la obtención de ácidos nucleicos de calidad, con resultados precisos y diagnósticos oportunos, para estrategias de manejo eficientes para los productores.

Innovación, impactos e indicadores

Nivel de Innovación	Descripción	Transferido	Impacto		Indicador General de Políticas Públicas	Indicadores Específicos	Subindicador
			Sector	Ámbito			
Procesos	Implementación de mejor método de extracción de ácidos nucleicos.	Académicos y técnicos Gobierno de los Estados Instituciones privadas y de gobierno dedicadas al diagnóstico de patógenos mediante técnicas moleculares.	Primario: Agricultura, Fruticultura Terciario: Servicios que se prestan a los productores de cítricos.	Social Conocimiento	Ciencia y Tecnología Educación	Competitividad Recursos Humanos	Bases para tesis de maestría y doctorado. Transferencias tecnológicas Aplicación de técnicas y conocimientos tecnológicos para el desarrollo social y económico
Servicios	Cambia el concepto de la colecta de muestras de cítricos	Poblaciones en particular					