



ARTÍCULO

Caracterización de ADN de *Leucocoryne* sp de zonas áridas: variaciones por tejidos y especies.

Jorge González Campos¹ ; José Andrés Hernández Cartes², Ma Yaojia⁴, Andrés Quintana Garrido³, Rodrigo Córdova Molina³, Ronald Vidal Toro³, Tamara Vera Castro¹

¹ Instituto Forestal, sede Biobío. Concepción, Chile. jgonzalez@infor.cl

² Instituto Forestal, sede Diaguítas. La Serena, Chile. jhernandez@infor.cl

³ Subgerencia de Medio Ambiente y Comunidades, Chilquinta Transmisión S.A. aquintag@chilquintatx.cl

⁴ Gerencia General, Chilquinta Transmisión S.A. mayaojia@chilquinta.cl

DOI: <https://doi.org/10.52904/0718-4646.2025.646>

Recibido: 31.07.2025; Aceptado: 21.10.2025.

RESUMEN

El estudio explora la extracción de ADN de alto peso molecular desde tejidos de cinco especies de *Leucocoryne*, un género endémico de Chile. Utilizando el método basado en fluorescencia, se evaluó la cantidad y calidad del ADN extraído de flores, hojas, raíces, tallos y bulbos. Los resultados destacan que las flores y los bulbos presentan las mayores concentraciones, aunque con variabilidad significativa entre especies y tejidos. La calidad del ADN fue más consistente en hojas y bulbos, mientras que los tallos presentaron las peores condiciones para aplicaciones de secuenciación de lecturas largas. Este trabajo ofrece una base valiosa para futuros estudios genómicos en *Leucocoryne* y en otras plantas de características similares.

Palabras clave: *Leucocoryne*, Extracción de ADN, Especies endémicas, Desierto Florido, Secuenciación.

SUMMARY

This study investigates the extraction of high molecular weight DNA from various tissues of five species of the *Leucocoryne* genus, a group of endemic Chilean plants. Using fluorescence method, the quantity and quality of DNA extracted from flowers, leaves, roots, stems, and bulbs were evaluated. Results reveal that flowers and bulbs exhibit the highest DNA concentrations, albeit with significant variability among species and tissues. DNA quality was more consistent in leaves and bulbs, whereas stems showed the poorest conditions for long-read sequencing applications. This work provides a valuable foundation for future genomic studies on *Leucocoryne* and other plants with similar characteristics.

Key words: *Leucocoryne*, DNA Extraction, Endemic Species, Blooming Desert, Sequencing

INTRODUCCIÓN

La información molecular ha revolucionado la toma de decisiones en los campos de la biotecnología, biología celular, genética, microbiología y biología molecular (Milavec *et al.*, 2021). Específicamente en la biología vegetal, los avances en secuenciación de lecturas largas de ácidos nucleicos tales como PACBIO (www.pacb.com) puede generar lecturas de hasta 25 Kbp y Oxford Nanopore Technologies (www.nanoporetech.com), con sorprendentes 4,2 Mbp (Russo *et al.*, 2022). Esto junto con el desarrollo de robustos algoritmos bioinformáticos han logrado una considerable disminución de los costos, dando lugar a un aumento progresivo en la secuenciación y ensamble de genomas completos de especies modelos y no modelos en todo el mundo (Espinosa *et al.*, 2024).



En las áreas de conservación de recursos vegetales, la información molecular permite en la actualidad monitorear la estructura y diversidad genética de las poblaciones. Las variantes estructurales (SVs, por sus siglas en *inglés*), representan un nuevo tipo de variación genética que explora los cambios en la estructura del ADN, y como estos pueden influir directamente en la función del genoma, y en la diversidad fenotípica (Saxena *et al.*, 2014). Varios autores sostienen que las SVs poseen mayores polimorfismos incluso que variaciones nucleotídicas como los SNPs. Accediendo a la comprensión de preguntas evolutivas complejas (Saxena *et al.*, 2014; Yuan *et al.*, 2021; Jin *et al.*, 2023)

Sin embargo, un paso crucial previo a cualquier proyecto de secuenciación, independientemente de la plataforma utilizada, es la obtención de ADN de alto peso molecular (Milavec *et al.*, 2021). Específicamente, la secuenciación de lecturas largas que deben cumplir con dos criterios importantes: (i) pureza y cantidad de ADN; y (ii) integridad del ADN (Russo *et al.*, 2022).

En plantas, este proceso puede convertirse en un desafío, debido a la pared celular. Su composición basada predominantemente en polisacáridos, como la celulosa, hemicelulosa y pectinas, hacen que la pared celular sea rígida y difícil de romper (Cosgrove 2024). Acceder a los organelos (núcleo, cloroplastos y ribosomas), donde se encuentran los ácidos nucleicos, requiere una destrucción mecánica, la cual muchas veces se traduce en una degradación del ADN (Russo *et al.*, 2022).

Un grupo de plantas desafiantes, son aquellas presentes en las zonas áridas y semi áridas, como las cactáceas y geófitas, dado las altas concentraciones de polisacáridos y metabolitos secundarios propias de estas especies, los protocolos tradicionales han fallado en la extracción debido a los mucílagos presentes en los tejidos lo que aumenta la viscosidad impidiendo los pasos de purificación (Mondragon-Jacobo *et al.*, 2000).

En Chile, un género de plantas endémicas presentes en el fenómeno del desierto florido es *Leucocoryne*, las 14 especies pertenecientes se distribuyen desde el desierto de Atacama hasta el sur húmedo de Chile (Rodríguez *et al.*, 2018). Presentan una alta variabilidad fenotípica atribuido a su autoincompatibilidad (Mansur *et al.*, 2004) y su capacidad para producir híbridos (Salas y Mansur, 2004).

La variabilidad genética interespecífica ha sido evaluada mediante métodos citológicos (Jara – Arancio., 2012, Sassone *et al.*, 2018). Estudio para dilucidar incertidumbres taxonómicas y reconstruir arboles filogenéticos también han sido conducidos amplificando las regiones ITS y *trnG*, *rbcl* y *matK* (Jara – Arancio *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2016; Contreras *et al.*, 2020). Estudios genómicos y transcriptómicos de estas especies son escasos, a la fecha de este artículo no se reportan genomas en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).

En este artículo, se analiza y compara las concentraciones y calidades de ADN extraído a partir de tejidos de diferentes órganos (flor, bulbo, hojas, raíces y tallo) en especies del género *Leucocoryne*, evaluándose su factibilidad para posteriores estudios de secuenciación. Este es un aporte primario para la aplicación de propuestas de genómica para el género *Leucocoryne*.

MATERIAL Y MÉTODO

Muestreo del Material

El material vegetal (bulbos) se recolectó en la región de Coquimbo y Atacama (**Figura 1**) y se trasladó al laboratorio de la sede Diaguitas del Instituto Forestal en La Serena para su conservación y almacenamiento. Transcurrido 6 meses desde su colecta, los bulbos fueron establecidos en maceteros con tierra de hojas para su emergencia e identificación taxonómica de las especies.



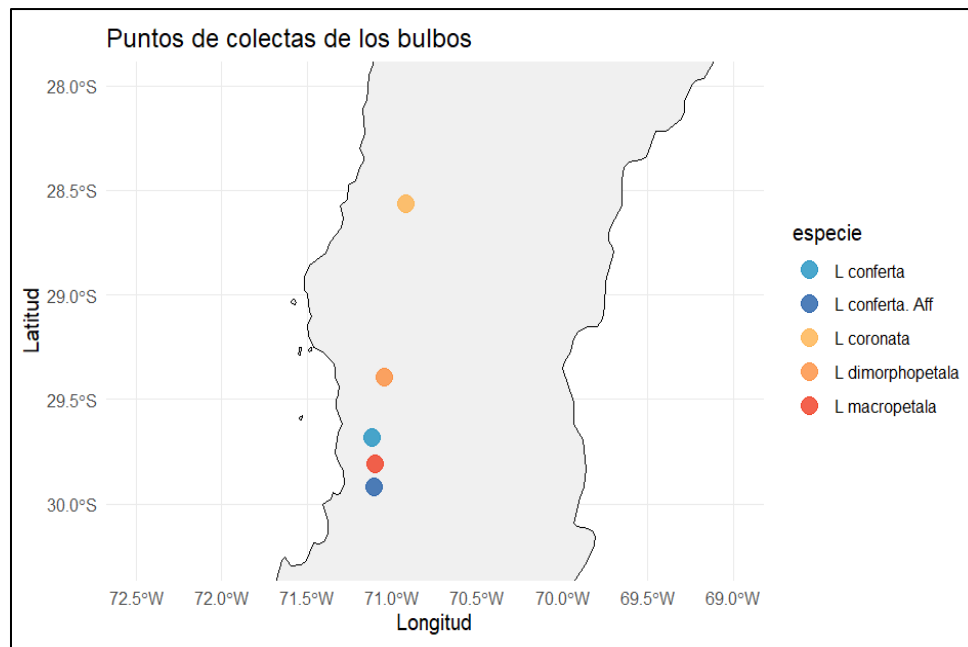


Figura 1. Puntos de colecta de bulbos de especies de *Leucocoryne* en las regiones de Coquimbo y Atacama.

Manejo y Almacenamiento del Material Vegetal

El material se lavó mediante enjuagues sucesivos a grifo abierto utilizando detergentes comerciales y después enjuagado con agua destilada. Una vez higienizado, el material fue almacenado en ultrafreezer a -80°C . La extracción de ADN se realizó en el Laboratorio de Genómica Forestal de la sede Biobío del Instituto Forestal, en la ciudad de Concepción. Para este efecto, usando tijeras y pinzas estériles, se extrajo porciones de tejido de aproximadamente 150 mg de cada órgano, las que fueron molidas en mortero de porcelana usando nitrógeno líquido. Las muestras procesadas fueron transferidas a tubos eppendorf de 2 ml.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó mediante el kit comercial "DNeasy Plant mini kit" (QIAGEN®), basado en la purificación de ácidos nucleicos mediante el uso de soluciones de lavado y membranas (o columnas) de origen inorgánico junto a periodos de centrifugación. Todas las extracciones se llevaron a cabo bajo cabina de flujo laminar para evitar contaminación.

El kit utilizado contempló el uso de ARNasa, buffers AP1 y AP2 junto a periodos de incubación en termobloque a 65°C por 20 minutos y hielo por 5 minutos respectivamente. La eliminación de contaminantes se realizó mediante el uso de columnas inorgánicas junto con los buffers P3, AW1 y AW2. Luego de varios ciclos de centrifugación, el ADN quedó retenido en la matriz inorgánica, mientras que los contaminantes fueron descartados en forma de solución acuosa. Se agregó buffer AE y se dejó incubar por 5 minutos a temperatura ambiente (dependiendo del objetivo de la extracción, se adicionó 50 μl o 100 μl). Proceso que se realiza por duplicado.

Cuantificación de ADN

Se utilizó un fluorímetro Thermo Scientific™ Qubit®, el cual permite detectar fluorocromos que se intercalan de forma específica a las moléculas objetivo (ADN, ARN, proteínas). El kit utilizado para la cuantificación de ADN fue Qubit dsDNA HS (*high sensitivity*) Assay Kit, con volumen de trabajo de:

- Solución de trabajo: 190 - 198 µL.
- ADN: 2 - 10 µL.

Cualificación de ADN

La integridad del ADN fue determinada mediante el uso de electroforesis en gel de agarosa bajo las siguientes condiciones; concentración de agarosa del 1,2%, voltaje de 120V y un tiempo de corrida de 20 minutos. Marcador molecular (DL15.000 DNA Marker).

Se generó un índice de calidad (QC) que integra, para cada muestra, los resultados de cuantificación y cualificación, junto con la verificación de las bibliotecas genómicas, incluyendo tamaño, ausencia de dímeros, concentración/molaridad, análisis realizado por la empresa CD Genomics (New York, USA) mediante prestación de servicios.

Análisis de Datos

Los análisis de datos y la visualización se realizaron utilizando el software R versión 4.3.2. Se llevaron a cabo cálculos de medias y desviaciones estándar para diferentes grupos de datos, así como comparaciones entre diversos tejidos y especies. Dado que solo se cuenta con 3 a 4 muestras por tejido y por especie, se aplicó un test de Kruskal Wallis ($\alpha = 0,05$) para determinar las diferencias en las medianas de los valores de concentración obtenidos, ya que las pruebas paramétricas como la ANOVA carecen de potencia estadística para esta cantidad de muestras.

RESULTADOS

Cantidad de ADN

Los resultados de las cuantificaciones de ADN obtenidos se resumen en el **Cuadro 1**. En general, el tejido con la mayor concentración de ADN (ng/µL) fue la flor, destacándose las especies *L. coronata* con $88,4 \pm 10,16$ ng/µL y *L. appendiculata* con $64,3 \pm 16,63$ ng/µL. En contraste, *L. ixioide*s presentó la menor concentración en este tejido, con $55,25 \pm 18,60$ ng/µL.

En el caso de los bulbos, *L. coronata* registró la concentración más alta con $76,24 \pm 30,22$ ng/µL, seguida por *L. appendiculata* con $45,03 \pm 27,92$ ng/µL. Las demás especies mostraron valores inferiores, destacando *L. macropetala* con $45,43 \pm 20,36$ ng/µL.

Las hojas presentaron concentraciones moderadas, con *L. ixioide*s alcanzando $61,33 \pm 18,16$ ng/µL y *L. dimorphopetala* $60,70 \pm 13,86$ ng/µL. Finalmente, las raíces y tallos mostraron las concentraciones más bajas, con *L. macropetala* registrando $24,83 \pm 15,01$ ng/µL en raíces y $4,00 \pm 3,57$ ng/µL en tallos.

El análisis de Kruskal-Wallis para las concentraciones de ADN mostró que en bulbos ($\chi^2 = 3,8485$; $p=0,427$), hojas ($\chi^2 = 1$; $p=0,910$), raíces ($\chi^2 = 3,4941$; $p=0,479$) y tallos ($\chi^2 = 8,2017$; $p=0,084$) no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las especies. Sin embargo, en flores ($\chi^2 = 9,5625$; $p=0,05$) sí se observaron diferencias, lo que sugiere variaciones en la concentración de ADN entre especies en este tejido.

Cuadro 1. Concentración de ADN (media $\pm$ desviación estándar y mediana) obtenida mediante fluorescencia (Qubit 4) para diferentes tejidos de cinco especies del género *Leucocoryne*. Var: Variación porcentual.

Fuente	Especie	Concentración de ADN	
		Media $\pm$ SD	Mediana
Flor	<i>L. appendiculata</i>	64.30 $\pm$ 16.63	66.20 ^a
	<i>L. coronata</i>	88.40 $\pm$ 10.16	88.65 ^b
	<i>L. dimorphopetala</i>	80.00 $\pm$ 9.10	76.10 ^{ab}
	<i>L. ixioides</i>	55.25 $\pm$ 18.60	55.25 ^a
	<i>L. macropetala</i>	62.13 $\pm$ 15.98	69.50 ^a
Bulbo	<i>L. appendiculata</i>	45.03 $\pm$ 27.92	46.60 ^a
	<i>L. coronata</i>	76.24 $\pm$ 30.22	86.80 ^a
	<i>L. dimorphopetala</i>	33.87 $\pm$ 13.81	36.30 ^a
	<i>L. ixioides</i>	27.60 $\pm$ 8.12	25.00 ^a
	<i>L. macropetala</i>	45.43 $\pm$ 20.36	42.50 ^a
Hoja	<i>L. appendiculata</i>	47.20 $\pm$ 45.11	47.20 ^a
	<i>L. coronata</i>	54.42 $\pm$ 23.69	47.40 ^a
	<i>L. dimorphopetala</i>	60.70 $\pm$ 13.86	68.40 ^a
	<i>L. ixioides</i>	61.33 $\pm$ 18.16	70.80 ^a
	<i>L. macropetala</i>	50.13 $\pm$ 18.87	40.10 ^a
Raíz	<i>L. appendiculata</i>	9.40 $\pm$ 4.62	8.50 ^a
	<i>L. coronata</i>	18.68 $\pm$ 12.33	16.80 ^a
	<i>L. dimorphopetala</i>	18.00 $\pm$ 7.21	18.00 ^a
	<i>L. ixioides</i>	12.57 $\pm$ 5.38	13.20 ^a
	<i>L. macropetala</i>	24.83 $\pm$ 15.01	21.60 ^a
Tallo	<i>L. appendiculata</i>	38.60 $\pm$ 27.24	40.04 ^b
	<i>L. coronata</i>	21.68 $\pm$ 13.52	16.80 ^b
	<i>L. dimorphopetala</i>	27.00 $\pm$ 13.44	21.00 ^b
	<i>L. ixioides</i>	8.35 $\pm$ 2.62	8.35 ^{ab}
	<i>L. macropetala</i>	4.00 $\pm$ 3.57	3.20 ^a

Letras distintas indican diferencias significativas entre especies dentro del mismo tejido, determinadas mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,05$).

Calidad e Integridad de ADN

La calidad del ADN determinada mediante electroforesis reveló variaciones significativas entre los tejidos analizados (**Figura 2**). A priori las flores presentaron las mayores concentraciones de ADN, sin embargo, en términos de calidad, este exhibió una evidente degradación.

El ADN extraído desde bulbos presenta una evidente variabilidad en el peso molecular, especies como *L. appendiculata*, *L. ixioides* y *L. macropetala* mostraron ADN con alto peso molecular en la mayoría de las muestras. Mientras que las especies como *L. coronata* y *L. dimorphopetala*, presentan una elevada degradación.

El ADN extraído desde las hojas presentó alto peso molecular y menor degradación en las mayorías de las especies. Solo un ejemplar de la especie *L. coronata* y uno de la especie *L. ixioides*, presentaron una degradación notoria.

En las raíces, el ADN también mostró una calidad aceptable en la mayoría de los casos, considerando que el ADN de este tipo de tejidos a menudo resulta altamente contaminado. Algunas excepciones se observaron en *L. coronata*, *L. appendiculata* y *L. dimorphopetala*, las cuales muestra degradación y/o cantidad insuficiente de ADN.



Finalmente, el ADN extraído desde tallo presentó consistentemente la peor calidad para todas las especies, exhibiendo una degradación severa y bajo peso molecular

En el **Cuadro 2**, se muestra la calidad del ADN extraído en función del índice QC, utilizado para determinar si las muestras cumplen los estándares para secuenciación de lecturas largas de ácidos nucleicos. Para facilitar la visualización se clasificó la calidad en tres categorías: Óptima (a), Riesgo (b) y No apta (c).

En general, los tejidos de hoja y bulbo muestran resultados predominantemente óptimos en la mayoría de las especies, lo que sugiere una mayor estabilidad del ADN en estos tejidos para la secuenciación. Por otra parte, los tejidos de tallo presentan consistentemente una calidad de ADN deficiente, con la mayoría de las muestras clasificadas como "No aptas", independiente de la especie. Los resultados para los tejidos flores y raíces tienden a ser más variables, con muestras en todas las calidades.

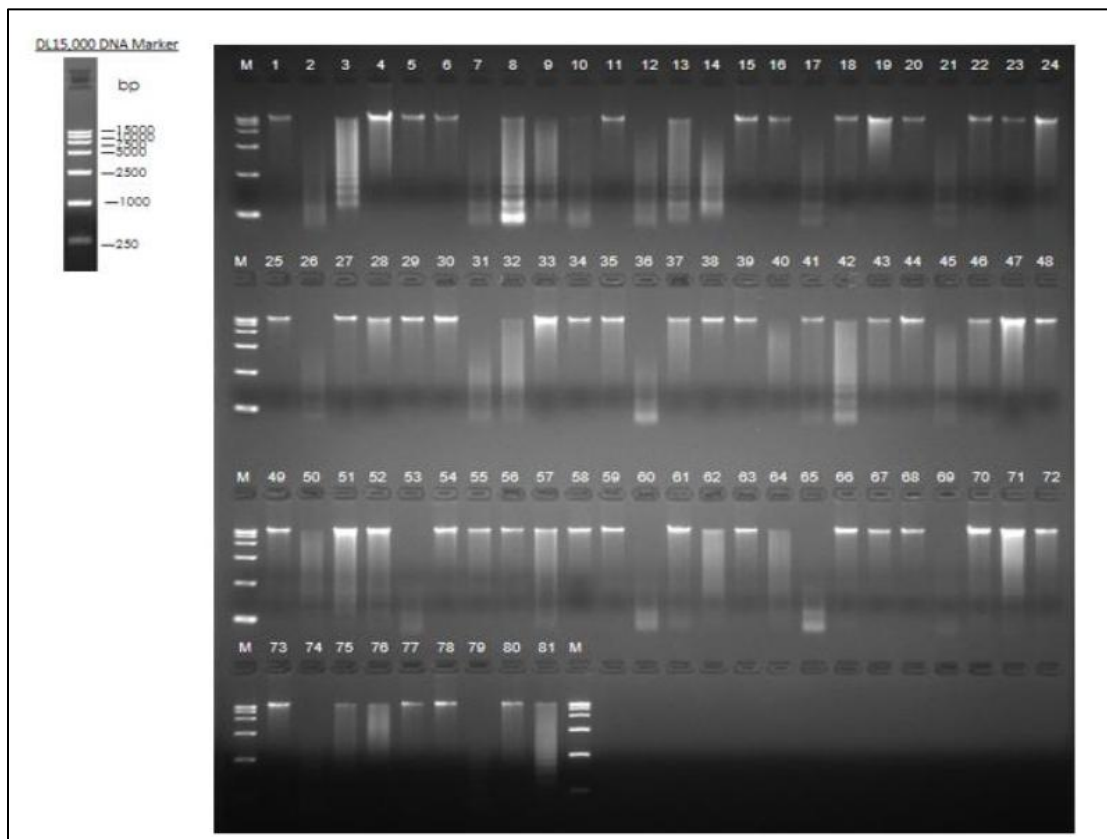


Figura 2. Control de calidad del ADN de diferentes tejidos de *Leucocoryne* spp. Los pocillos numerados corresponden a muestras de ADN obtenidas de diferentes especies, tejidos y ejemplares (Codificación disponible en **Anexo 1**). M: marcador molecular. (CD Genomics, New York, Estados Unidos)

Cuadro 2. Calidad del ADN extraído desde diferentes tejidos de cinco especies de *Leucocoryne* según análisis de integridad y cantidad del ADN. Los números representan los identificadores individuales de las muestras procesadas.

Especie	Individuo	Hoja	Raíz	Tallo	Flor	Bulbo
<i>Leucocoryne coronata</i>	1	1 ^(a)	5 ^(a)	2 ^(c)	4 ^(b)	3 ^(c)
	2	6 ^(a)	10 ^(a)	7 ^(c)	9 ^(c)	8 ^(c)
	3	11 ^(a)	15 ^(a)	12 ^(c)	14 ^(c)	13 ^(c)
	4	31 ^(a)	35 ^(a)	32 ^(c)	34 ^(b)	33 ^(c)
	5	36 ^(b)	39 ^(a)	37 ^(c)	---	38 ^(b)
<i>Leucocoryne appendiculata</i>	1	16 ^(a)	20 ^(c)	17 ^(c)	19 ^(b)	18 ^(a)
	2	21 ^(a)	25 ^(b)	22 ^(c)	24 ^(a)	23 ^(a)
	3	26 ^(a)	30 ^(a)	27 ^(c)	29 ^(b)	28 ^(a)
<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	1	40 ^(a)	44 ^(b)	41 ^(c)	43 ^(c)	42 ^(b)
	2	45 ^(a)	49 ^(a)	46 ^(c)	48 ^(b)	47 ^(b)
	3	50 ^(a)	---	51 ^(c)	53 ^(c)	52 ^(c)
<i>Leucocoryne ixioides</i>	1	55 ^(a)	59 ^(a)	56	58 ^(c)	57 ^(a)
	2	60 ^(a)	64 ^(a)	61 ^(c)	63 ^(c)	62 ^(a)
	3	65 ^(c)	68 ^(a)	66 ^(c)	---	67 ^(a)
<i>Leucocoryne macropetala</i>	1	69 ^(a)	73 ^(a)	70 ^(c)	72 ^(c)	71 ^(a)
	2	74 ^(a)	78 ^(a)	75 ^(c)	77 ^(c)	76 ^(c)
	3	79 ^(a)	83 ^(a)	80 ^(c)	82 ^(c)	81 ^(a)

Calidad del ADN: (a) óptimo; (b) riesgo; (c) No apto;
---: No evaluado.

DISCUSIÓN

El género *Leucocoryne*, presenta una complejidad tanto morfológica como citogenética, que le ha permitido evolucionar en variedad de condiciones edafoclimáticas (De la Cuadra *et al.*, 2016; Glade-Vargas *et al.*, 2021). Las variaciones citogenéticas observadas en ciertas poblaciones incluyen la existencia de híbridos naturales con combinaciones intermedias de cromosomas ($2n = 14$) como *L. coquimbensis* var. *alba* (Araneda *et al.*, 2004). En cuanto al contenido total de ADN, Sassone *et al.* (2018) estudiaron varias especies de la tribu *Leucocoryneae*, concluyendo que existe una variación significativa de algunas especies, oscilando entre 18,72 y 121,84 picogramos (pg) de ADN. Concretamente el género *Leucocoryne* se reportó un tamaño de $28,9 \pm 0,8$ pg, siendo una de las mayores en comparación con otros géneros de la tribu. En genomas con una plasticidad elevada, es común el alto contenido de ADN repetitivo, siendo un desafío para el ensamble de secuencias, y reafirma la necesidad de trabajar con plataformas de secuenciación de lecturas largas, pero estas tecnologías requieren al menos 1ng/μl de ADN de alta calidad (Russo *et al.*, 2022; Espinosa *et al.*, 2024).

Al observar los resultados del presente estudio, una tendencia clara se presenta en las especies *L. appendiculata* y *L. coronata*, las cuales mostraron consistentemente las mayores concentraciones de ADN extraído en casi todos los tejidos analizados (Cuadro 1). Una posible explicación podría estar relacionada con las características genómicas de estas especies, como el tamaño del genoma, la composición del ADN repetitivo y la organización estructural de los cromosomas.

En cuanto a la extracción de ADN en especies del género *Leucocoryne*, diversos autores han reportado protocolos a partir de hojas frescas, utilizando el método CTAB con modificaciones para mejorar la calidad del ADN (Contreras *et al.*, 2018, 2020). El método descrito por Doyle & Doyle (1987) también aplicado a hojas frescas, permite la realización de estudios filogenéticos entre los géneros de la tribu *Leucocoryneae* (Souza *et al.*, 2016). Sin embargo, estos métodos a menudo generan un ADN oxidado, inadecuado para aplicaciones de lectura larga (Russo *et al.*, 2022). Jara-Arancio *et al.*, (2014) utilizaron el método basado en columnas de DNeasy Plant Kit (Qiagen). Este kit se caracteriza por su rapidez y la obtención de ADN una alta pureza, libre de contaminantes e inhibidores de enzimas, además de no usar extracción orgánica,



sin precipitación con etanol (Qiagen, 2024), sin embargo, también se reporta que existe riesgo de pérdida de ADN durante los lavados con columnas (Russo *et al.*, 2022). Este es el único trabajo donde se ha utilizado el mismo protocolo de este artículo, no reportando la cantidad y/o calidad del ADN obtenido para comparar.

Es importante aclarar, que la relación entre concentración y calidad del ADN no siempre es directamente proporcional, por ejemplo, nuestros resultados posicionan a *L. coronata* como una de las especies con mayor concentración, sin embargo, al momento de medir la calidad presenta una alta degradación en la mayoría de los tejidos. Una revisión por tejidos muestra que las flores presentan las mayores concentraciones, asimismo también muestran una alta degradación, posiblemente atribuible a metabolitos en el tejido que puedan afectar la estabilidad del ADN. Por lo mismo, los trabajos de genómica funcional en este tipo de tejidos requieren de una optimización del protocolo. En el caso de los bulbos, lo observado es una alta variabilidad entre las especies, este tejido es naturalmente desafiante debido a la alta concentración de polisacáridos o fenoles, particularmente, para las especies *L. coronata* y *L. dimorphopetala* se requieren modificaciones que ayuden a mejorar la pureza del ADN. Las hojas por su parte se posicionan como el mejor tejido para obtener un ADN de alto peso molecular y con una integridad óptima para posteriores estudios de secuenciación en la mayoría de las especies. Un tejido cuyos resultados sorprendieron, fueron las raíces, si bien se sabe que en ellas existen una gran cantidad de células nuevas propias del crecimiento radicular, a menudo este tipo de tejidos presenta una alta contaminación, aquí también se observó para *L. coronata*, *L. appendiculata* y *L. dimorphopetala*. Sin embargo, la calidad del ADN los posiciona como candidatos para estudios posteriores de secuenciación. Por último, los tallos como era de esperar presentan consistentemente la peor calidad, mostrando una severa degradación en la mayoría de las especies. Todos los tejidos estaban congelados a -80 °C previo a la extracción, el descongelamiento del tejido también puede contribuir a la fragmentación (Zerpa-Catanho *et al.*, 2021).

La optimización de protocolos para extracción de ADN puede incluir el uso de tampones con agentes quelantes para reducir la interferencia de polisacáridos y fenoles. El uso de PVPP (polivinilpirrolidona) para tejidos ricos en metabolitos secundarios y/o el uso de β -mercaptoetanol para prevenir la oxidación y proteger la integridad del ADN (Contreras *et al.*, 2018).

El análisis efectuado permite establecer directrices claras para obtener ADN de alta calidad en *Leucocoryne*, maximizando la utilidad de las muestras para estudios moleculares y de conservación genética. Los resultados invitan a adaptar protocolos de extracción en función del tipo de tejido.

CONCLUSIONES

Para estudios genómicos en el género *Leucocoryne*, se recomienda priorizar la extracción de ADN desde hojas, especialmente en especies donde la calidad en bulbos y raíces es inconsistente. Para estudios de genómica funcional existe la necesidad de desarrollar protocolos de extracción específicos para especies que consistentemente presentan menores rendimientos, especialmente en tejidos más complejos como los tallos y raíces.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue desarrollada gracias a la Dirección de la Subgerencia de Medio Ambiente y Comunidades de Chilquinta Transmisión, como parte de su programa ESG, y a la Estrategia de Adaptación al Cambio Climático y Biodiversidad de proyectos energéticos sostenibles, en conjunto con el Programa de Restauración de Ecosistemas de Alto Valor Ecológico, iniciativa financiada por el Ministerio de Agricultura de Chile (MINAGRI), orientada a promover la conservación de la biodiversidad y la recuperación ecológica integral.



REFERENCIAS

- Araneda, L., Salas, P. & Mansur, L. (2004). Chromosome numbers in the Chilean endemic genus *Leucocoryne* (Huilli). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(1), 77–80. <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.1.0077>
- Contreras, R., Aguayo, F., Guerra, A., Tapia, F. & Porcile, V. (2018). Genetic characterization of centennial olive trees from northern Chile: The case of extra virgin olive oil from Huasco in the process of designation of origin. *Chilean journal of agricultural & animal sciences* 34:126 - 139. <https://doi.org/10.4067/s0719-38902018005000402>
- Contreras, R., Van den Brink, L., Sepúlveda, B., Aguayo, F. & Porcile, V. (2020). Phylogenetic relationships of plant species from the flowering desert of the Atacama Region. *Bol. Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 19 (3): 300-313.
- Cosgrove, D.J. (2024). Structure and growth of plant cell walls. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(5): 340-358. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00691-y>
- De la Cuadra, C., Vidal, A.K., Lefimil, S. & Mansur, L. (2016). Temperature effect on seed germination in the genus *Leucocoryne* (Amaryllidaceae). *HortScience*, 51(4): 412-415. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.51.4.412>
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. (1987). A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1): 11-15.
- Espinosa, E., Bautista, R., Larrosa, R. & Plata, O. (2024). Advancements in long-read genome sequencing technologies and algorithms. *Genomics*, 110842. Contents lists available at ScienceDirect *Genomics* journal homepage: www.elsevier.com/locate/ygeno <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2024.110842>
- Glade-Vargas, N.S., Rojas, C., Jara-Arancio, P., Vidal, P., Arroyo, M.T.K. & Hinojosa, L.F. (2021). Biogeography of *Argylia* D. Don (Bignoniaceae): Diversification, Andean Uplift and Niche Conservatism. *Front. Plant Sci.* 12:724057. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.724057>
- Jara-Arancio, P., Jara-Seguel, P., Palma-Rojas, C., Arancio, G. & Moreno, R. (2012). Karyological study in fifteen *Leucocoryne* taxa (Alliaceae). *Biología* 67(2): 289-295. <https://doi.org/10.2478/s11756-012-0001-5>
- Jara-Arancio, P., Arroyo, M., Guerrero, P., Hinojosa, L., Arancio, G. & Méndez, M. (2014). Phylogenetic perspectives on biome shifts in *Leucocoryne* (Alliaceae) in relation to climatic niche evolution in western South America. *Journal of Biogeography*, N° 41. Pp: 328-338. <https://doi.org/10.1111/jbi.12186>
- Jin, S., Han, Z., Hu, Y., Si, Z., Dai, F., He, L., Cheng, Y. et al. (2023). Structural variation (SV)-based pan-genome and GWAS reveal the impacts of SVs on the speciation and diversification of allotetraploid cottons. *Molecular Plant*. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2023.02.004>
- Mansur, L., Gonzalez, M., Rojas, I. & Salas, P. (2004). Self-incompatibility in the Chilean Endemic Genus *Leucocoryne* Lindley. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(6): 836–838. <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.6.0836>
- Milavec, M., Cleveland, M.H., Bae, K., Wielgosz, R.I., Vonsky, M. & Huggett, J.F. (2021). Metrological framework to support accurate, reliable, and reproducible nucleic acid measurements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 414(2): 791–806. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03712-x>
- Mondragon-Jacobo, C., Doudareva, N. & Bordelon, B.P. (2000). DNA extraction from several cacti. *Hort. Science*, 35(6): 1124–1126. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.6.1124>
- QIAGEN. (2024). DNeasy® Plant Handbook: DNeasy Plant Mini Kit, DNeasy Plant Maxi Kit, DNeasy 96 Plant Kit. Para la purificación de ADN celular total de células y tejidos vegetales o hongos. En: <https://www.qiagen.com>
- Rodríguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V.L., Fuentes, N. et al. (2018). Catálogo de las plantas vasculares de Chile. *Gayana Botánica* 75(1): 1-430. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432018000100001>

- Russo, A., Mayjonade, B., Frei, D., Potente, G., Kellenberger, R.T., Frachon, L., Copetti, D. *et al.* (2022). Low-Input High-Molecular-Weight DNA Extraction for Long-Read Sequencing from Plants of Diverse Families. *Frontiers in Plant Science*, 13:883897. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.883897>
- Salas, P. & Mansur, L. (2004). Gene Flow between parents with different ploidy levels in a natural population of *Leucocoryne* Lindley. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(6): 836-838. <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.6.0833>
- Sassone, A.B., López, A., Hojsgaard, D.H. & Giussani, L.M. (2018). A novel indicator of karyotype evolution in the tribe *Leucocoryneae* (*Allioideae*, *Amaryllidaceae*). *Journal of Plant Research*, 131(2): 211-223. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0987-4>
- Saxena, R.K., Edwards, D. & Varshney, R.K. (2014). Structural variations in plant genomes. *Briefings in Functional Genomics*, 13(4): 296-307. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elu016>
- Souza, G., Crosa, O., Speranza, P. & Guerra, M. (2016). Phylogenetic relations in tribe *Leucocoryneae* (*Amaryllidaceae*, *Allioideae*) and the validation of *Zoellnerallium* based on DNA sequences and cytomolecular data. *Botanical Journal of the Linnean Society*, N° 182. Pp: 811-824. <https://doi.org/10.1111/boj.12484>
- Yuan, Y., Bayer, P.E., Batley, J. & Edwards, D. (2021). Current status of structural variation studies in plants. *Plant Biotechnology Journal*, 19(10): 2153-2163. <https://doi.org/10.1111/pbi.13646>
- Zerpa-Catanho, D., Zhang, X., Song, J., Hernandez, A.G. & Ming, R. (2021). Ultra-long DNA molecule isolation from plant nuclei for ultra-long read genome sequencing. *STAR Protocols*, 2(1):100343. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100343>

Anexo 1

Identificación de muestras y correspondencia con los pocillos de electroforesis en gel. Cada ID representa un espécimen de *Leucocoryne* spp. indicando el tejido específico analizado.

ID	Especie	Tejido
1	<i>Leucocoryne coronata</i>	hoja
2	<i>Leucocoryne coronata</i>	tallo
3	<i>Leucocoryne coronata</i>	bulbo
4	<i>Leucocoryne coronata</i>	flor
5	<i>Leucocoryne coronata</i>	raíz
6	<i>Leucocoryne coronata</i>	hoja
7	<i>Leucocoryne coronata</i>	tallo
8	<i>Leucocoryne coronata</i>	bulbo
9	<i>Leucocoryne coronata</i>	flor
10	<i>Leucocoryne coronata</i>	raíz
11	<i>Leucocoryne coronata</i>	hoja
12	<i>Leucocoryne coronata</i>	tallo
13	<i>Leucocoryne coronata</i>	bulbo
14	<i>Leucocoryne coronata</i>	flor
15	<i>Leucocoryne coronata</i>	raíz
16	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	hoja
17	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	tallo
18	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	bulbo
19	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	flor
20	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	raíz
21	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	tallo
22	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	bulbo
23	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	flor
24	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	raíz
25	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	hoja
26	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	tallo
27	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	bulbo
28	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	flor
29	<i>Leucocoryne appendiculata</i>	raíz
30	<i>Leucocoryne coronata</i>	hoja
31	<i>Leucocoryne coronata</i>	tallo
32	<i>Leucocoryne coronata</i>	bulbo
33	<i>Leucocoryne coronata</i>	flor
34	<i>Leucocoryne coronata</i>	raíz
35	<i>Leucocoryne coronata</i>	hoja
36	<i>Leucocoryne coronata</i>	tallo
37	<i>Leucocoryne coronata</i>	bulbo
38	<i>Leucocoryne coronata</i>	raíz
39	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	hoja
40	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	tallo
41	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	bulbo

ID	Especie	Tejido
42	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	flor
43	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	raíz
44	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	hoja
45	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	tallo
46	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	bulbo
47	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	flor
48	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	raíz
49	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	hoja
50	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	tallo
51	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	bulbo
52	<i>Leucocoryne dimorphopetala</i>	flor
53	<i>Leucocoryne xiioides</i>	hoja
54	<i>Leucocoryne xiioides</i>	tallo
55	<i>Leucocoryne xiioides</i>	bulbo
56	<i>Leucocoryne xiioides</i>	flor
57	<i>Leucocoryne xiioides</i>	raíz
58	<i>Leucocoryne xiioides</i>	hoja
59	<i>Leucocoryne xiioides</i>	tallo
60	<i>Leucocoryne xiioides</i>	bulbo
61	<i>Leucocoryne xiioides</i>	flor
62	<i>Leucocoryne xiioides</i>	raíz
63	<i>Leucocoryne xiioides</i>	hoja
64	<i>Leucocoryne xiioides</i>	tallo
65	<i>Leucocoryne xiioides</i>	bulbo
66	<i>Leucocoryne xiioides</i>	raíz
67	<i>Leucocoryne macropetala</i>	hoja
68	<i>Leucocoryne macropetala</i>	tallo
69	<i>Leucocoryne macropetala</i>	bulbo
70	<i>Leucocoryne macropetala</i>	flor
71	<i>Leucocoryne macropetala</i>	raíz
72	<i>Leucocoryne macropetala</i>	hoja
73	<i>Leucocoryne macropetala</i>	tallo
74	<i>Leucocoryne macropetala</i>	bulbo
75	<i>Leucocoryne macropetala</i>	flor
76	<i>Leucocoryne macropetala</i>	raíz
77	<i>Leucocoryne macropetala</i>	hoja
78	<i>Leucocoryne macropetala</i>	tallo
79	<i>Leucocoryne macropetala</i>	bulbo
80	<i>Leucocoryne macropetala</i>	flor
81	<i>Leucocoryne macropetala</i>	raíz