

Eficacia comparativa de cuatro protocolos para la extracción de ADN en *Cordia alliodora*: Evaluación de pureza, rendimiento y costo.

Comparative efficacy of four protocols for DNA extraction in *Cordia alliodora*: Evaluation of purity, yield and cost.

Eficácia comparativa de quatro protocolos para extração de ADN em *Cordia alliodora*: avaliação da pureza, rendimento e custo.

Carranza-Patiño, Mercedes
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

mcarranza@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-0917-0415>



Rivera-Gamarra, Anais Elizabeth
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

ariverag@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0002-1224-4638>



Herrera-Feijoo, Robinson J.
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

rherreraf2@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0003-3205-2350>



Coello-Cevallos, Wilson José
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

wcoelloc@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0002-3064-239X>



Mendoza-León, Antonio Francisco
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

amendoza@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0001-5103-0152>



 DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v5/n2/600>

Como citar:

Carranza-Patiño, M., Rivera-Gamarra, A. E., Herrera-Feijoo, R. J., Coello-Cevallos, W. J., & Mendoza-León, A. F. (2024). Eficacia comparativa de cuatro protocolos para la extracción de ADN en *Cordia alliodora*: Evaluación de pureza, rendimiento y costo. *Código Científico Revista De Investigación*, 5(2), 1587–1601. <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v5/n2/600>.

Recibido: 28/10/2024

Aceptado: 21/11/2024

Publicado: 31/12/2024

Resumen

La obtención de ADN de alta calidad es crucial para el estudio genético y la conservación de *Cordia alliodora*. Este estudio evaluó la eficacia de cuatro protocolos de extracción de ADN: Doyle y Doyle (1990), CTAB, Dellaporta et al. (1983), y PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, utilizando un diseño completamente aleatorizado con hojas en estado intermedio de madurez. La cantidad y calidad del ADN se cuantificaron mediante técnicas de imagenología. El protocolo CTAB obtuvo el mejor rendimiento, con 46,25 ng/μl de ADN y alta pureza, siendo eficaz en la eliminación de polifenoles y taninos. A pesar de ser menos costoso, el método de Dellaporta et al. (1983) mostró menores niveles de pureza y rendimiento. Por lo tanto, el protocolo CTAB se recomienda como la mejor opción para la extracción de ADN de alta calidad en *C. alliodora*.

Palabras clave: conservación, inhibidores, protocolo, cuantificación, rendimiento.

Abstract

Obtaining high quality DNA is crucial for the genetic study and conservation of *Cordia alliodora*. This study evaluated the efficacy of four DNA extraction protocols: Doyle and Doyle (1990), CTAB, Dellaporta et al. (1983), and PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, using a completely randomized design with leaves at intermediate maturity. DNA quantity and quality were quantified by imaging techniques. The CTAB protocol obtained the best yield, with 46.25 ng/μl of DNA and high purity, being effective in removing polyphenols and tannins. Despite being less expensive, the method of Dellaporta et al. (1983) showed lower levels of purity and yield. Therefore, the CTAB protocol is recommended as the best option for high quality DNA extraction in *C. alliodora*.

Keywords: conservation, inhibitors, protocol, quantification, yield.

Resumo

A obtenção de DNA de alta qualidade é crucial para o estudo genético e a conservação de *Cordia alliodora*. Este estudo avaliou a eficácia de quatro protocolos de extração de ADN: Doyle e Doyle (1990), CTAB, Dellaporta et al. (1983) e PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, utilizando um delineamento inteiramente casualizado com folhas de maturidade intermédia. A quantidade e a qualidade do ADN foram quantificadas por técnicas de imagem. O protocolo CTAB obteve o melhor rendimento, com 46,25 ng/μl de ADN e elevada pureza, e foi eficaz na remoção de polifenóis e taninos. Apesar de ser menos dispendioso, o método de Dellaporta et al. (1983) apresentou níveis de pureza e rendimento inferiores. Assim, o protocolo CTAB é recomendado como a melhor opção para a extração de ADN de alta qualidade em *C. alliodora*.

Palavras-chave: conservação, inibidores, protocolo, quantificação, rendimento.

Introducción

Cordia alliodora es una especie arbórea de rápido crecimiento y alta calidad maderable, nativa de los trópicos de América. Su relevancia ecológica y económica radica en su uso en programas de reforestación y agroforestería, así como en su capacidad para actuar como sumidero de carbono y refugio para fauna local (Cañadas-López et al., 2023). Estos factores la convierten en una especie clave para la mitigación del cambio climático y la conservación de la biodiversidad en áreas tropicales (Andrade et al., 2023).

La extracción de ADN de alta calidad en *C. alliodora* enfrenta complicaciones debido a la presencia de metabolitos secundarios como polifenoles y taninos, que afectan la pureza y el rendimiento del ADN obtenido (Marulanda et al., 2011). Estos compuestos interfieren con los procesos de extracción al unirse al ADN o a las enzimas involucradas. El resultado de este proceso es una menor calidad del material genético disponible para estudios genéticos avanzados, como la diversidad genética y la conservación (Delgado-Paredes et al., 2021). Es crucial optimizar las técnicas de extracción para mejorar la calidad y cantidad del ADN, especialmente en investigaciones que buscan la caracterización genética de esta especie (Evallo et al., 2022).

La capacidad de realizar extracciones de ADN precisas y eficaces es un componente crucial para la investigación genética moderna (Lara et al., 2021). En especies vegetales con altos niveles de inhibidores químicos, como *C. alliodora*, la optimización del método de extracción garantiza la integridad del ADN obtenido. La mejora del método de extracción permite que los análisis genéticos subsecuentes, como la secuenciación o los estudios de variabilidad genética, sean más confiables y precisos (Gautam, 2022; Nath et al., 2022). La obtención de ADN de alta calidad no solo mejora la precisión de los resultados genéticos, sino que también facilita la identificación de marcadores importantes para la conservación y mejoramiento de la especie (Yuan et al., 2019).

Diversos métodos han sido propuestos para superar estos problemas, siendo los protocolos basados en CTAB eficaces en la eliminación de inhibidores en plantas que contienen compuestos secundarios en altos niveles (Wanere et al., 2023). El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia de cuatro protocolos de extracción de ADN en *Cordia alliodora*, comparando su rendimiento en términos de pureza, cantidad de ADN obtenido y costos asociados, para identificar el método más eficiente y adecuado para esta especie.

Metodología

Localización de la investigación

El estudio se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el km 75 de la vía Quevedo – El Empalme, en la provincia de Los Ríos, Ecuador. Las coordenadas geográficas de la zona son 1°04'49" de latitud sur y 79°32'42" de longitud oeste, a una altitud de 66 m s.n.m.

Tratamientos

Se evaluaron cuatro protocolos de extracción de ADN en *Cordia alliodora* como tratamientos experimentales: Doyle y Doyle (1990), CTAB modificado por Betancurt-Olvera et al. (2018), Dellaporta et al. (1983) y PureLink® Plant Total DNA Purification Kit (Invitrogen). Estos tratamientos se aplicaron a hojas jóvenes y adultas de la especie, siguiendo un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro repeticiones por tratamiento, permitiendo una comparación rigurosa en términos de pureza, rendimiento y costos.

Manejo del experimento

Se utilizaron procedimientos estandarizados para la recolección del material vegetal y la extracción de ADN. Las hojas en estado intermedio de madurez de *Cordia alliodora* se recolectaron bajo condiciones controladas, siendo identificadas y transportadas en bolsas de papel dentro de una hielera para preservar su integridad. Posteriormente, se lavaron con agua

destilada para eliminar cualquier residuo superficial y se almacenaron a -40°C hasta su procesamiento lo que minimizó la degradación enzimática o contaminación microbiana.

La extracción de ADN se llevó a cabo bajo condiciones controladas en el laboratorio, siguiendo protocolos establecidos para asegurar la pureza y el rendimiento del ADN. Se evaluaron los costos asociados a cada método, incluyendo los reactivos y materiales utilizados, junto con un análisis del rendimiento en términos de cantidad y calidad del ADN obtenido. Finalmente, se realizó una comparación costo-eficiencia para identificar el método que proporcionara el mejor equilibrio entre costos y efectividad en la obtención de ADN de alta calidad.

Variables evaluadas

Cantidad de ADN

La cantidad de ADN extraído se cuantificó mediante técnica de imagenología donde las imágenes de geles de agarosa se utilizaron con el software GelAnalyzer. Las bandas de ADN obtenidas fueron comparadas con un marcador molecular de 100 pb, lo que permitió estimar con precisión la concentración de ADN en cada muestra (Wittmeier y Hummel, 2022).

Calidad del ADN

La calidad del ADN se evaluó mediante una escala cualitativa en gel de agarosa al 1%, clasificando las muestras en tres categorías: malo, regular y bueno, basándose en la intensidad y definición de las bandas observadas (Bawane et al., 2024).

Costos por tratamiento

Se analizaron los costos totales de cada protocolo de extracción, considerando los gastos en reactivos, materiales y eficiencia en la extracción de ADN, con el fin de determinar el equilibrio entre costo-eficiencia de cada tratamiento (Jangra y Ghosh, 2022; Marcos-Merino et al., 2020).

Análisis estadístico

Se aplicó un Análisis de Varianza (ADEVA) para evaluar si existían diferencias significativas entre los tratamientos empleados en la extracción de ADN. Este análisis permitió comparar los protocolos en términos de rendimiento y pureza del ADN obtenido. Para comparaciones posteriores entre tratamientos, se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$), procesado mediante el software InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, 2017). El análisis estadístico se complementó con la evaluación de costos, integrando estos datos en un análisis de costo-eficiencia para identificar el tratamiento que más equilibró la relación entre rendimiento y costo.

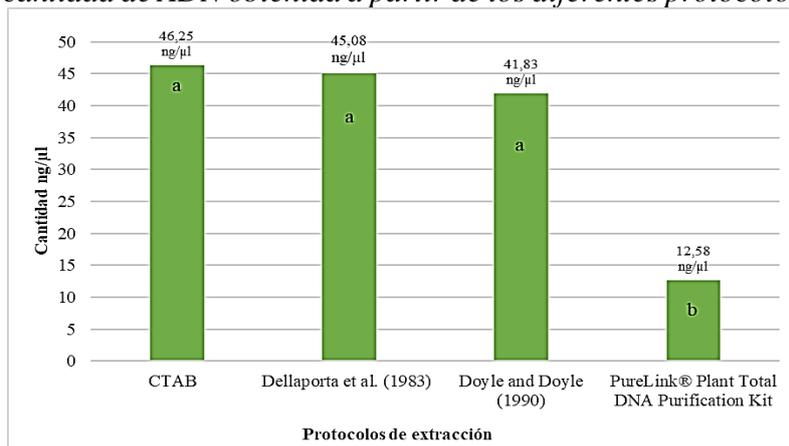
Resultados

1.1. Cantidad de ADN

El protocolo CTAB modificado por Betancurt-Olvera et al. (2018) mostró el mayor rendimiento de ADN en *C. alliodora*, con una media de 46,25 ng/ μ l, aunque fue estadísticamente igual al de Dellaporta et al (1983) y al de Doyle y Doyle (1990). En contraste, el protocolo PureLink® obtuvo el menor rendimiento, lo cual fue significativamente inferior al de los demás métodos Figura 1. Estos resultados destacan al protocolo CTAB como la opción más eficiente en términos de cantidad de ADN extraído, mientras que PureLink® se caracteriza por su bajo rendimiento en este parámetro.

Figura 1

Promedio de la cantidad de ADN obtenida a partir de los diferentes protocolos en *C. alliodora*.



Nota: Las medias con letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas entre ellas, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Autores (2024).

1.2. Calidad de ADN

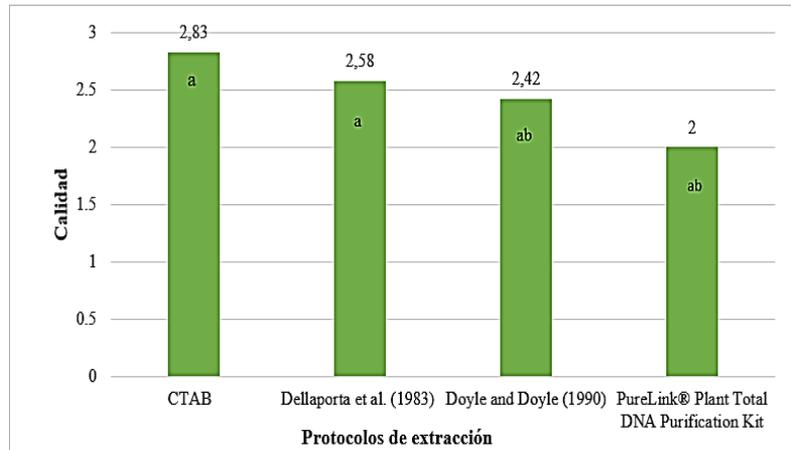
La calidad del ADN se evaluó utilizando una escala cualitativa basada en la observación de las bandas obtenidas en gel de agarosa. Aunque no se realizaron mediciones espectrofotométricas, la correlación entre los resultados observados y la escala de pureza utilizada permitió garantizar la integridad del ADN extraído. El protocolo CTAB modificado por Betancurt-Olvera et al. (2018) demostró la mayor calidad, con un promedio de 2,83 en la escala cualitativa, posicionándose como el método más efectivo en este aspecto (letra "a").

La figura 2 se compara los valores promedio de calidad del ADN obtenidos mediante cuatro protocolos de extracción. Estos resultados respaldan la superioridad del protocolo CTAB en la obtención de ADN de alta calidad, destacándolo como la mejor opción para aplicaciones que requieren material genético puro y consistente. Aunque los demás protocolos presentan niveles aceptables de calidad, sus ligeras limitaciones podrían restringir su aplicabilidad en estudios que demanden ADN de máxima pureza. El protocolo CTAB presentó la mayor calidad de ADN, lo que lo posiciona como el más efectivo en este parámetro. Dellaporta et al. (1983) también mostró una alta calidad promedio con resultados estadísticamente similares a CTAB. El protocolo Doyle and Doyle (1990) tuvo un promedio ligeramente inferior considerado estadísticamente intermedio, mientras que el PureLink® Plant

Total DNA Purification Kit presentó la menor calidad. Estos resultados confirman la superioridad del protocolo CTAB en términos de calidad del ADN, mientras que los otros métodos, aunque eficaces, presentan variaciones que podrían limitar su aplicabilidad en contextos que requieren ADN de máxima pureza.

Figura 2

Promedio de la calidad de ADN obtenida a partir de los diferentes protocolos en *C. alliodora*.



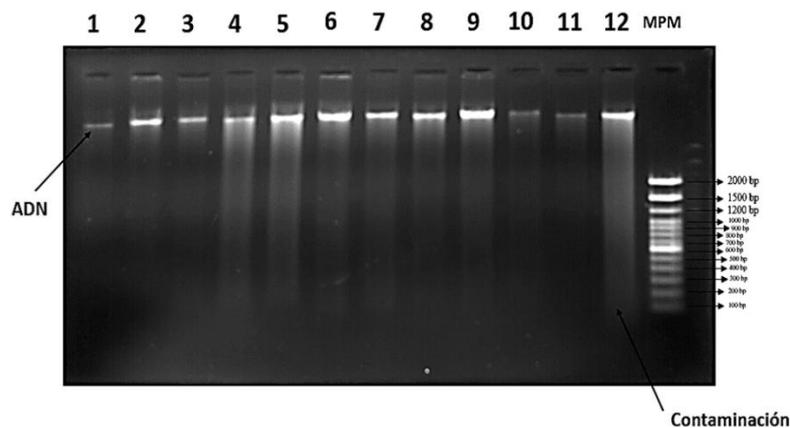
Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). Autores (2024).

1.3. Validez de protocolos

El protocolo de Doyle and Doyle (1990) fue eficaz para extraer ADN en *Cordia alliodora*, con una cantidad adecuada, aunque con algunos contaminantes proteicos, lo que lo hace más apropiado para estudios a gran escala, donde se prioriza la simplicidad y el manejo de grandes volúmenes (Figura 3).

Figura 3

Extracción de ADN por medio del protocolo de Doyle and Doyle (1990) laboratorio de Biología Molecular campus La María, UTEQ, 2024.

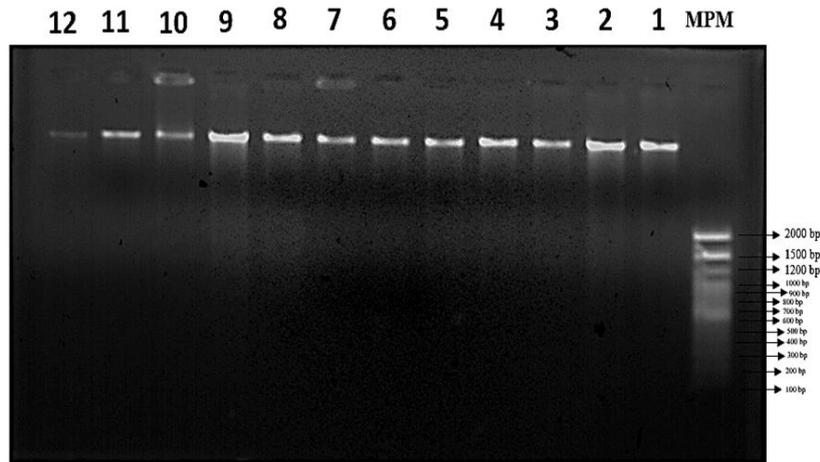


Nota: La imagen muestra un gel de agarosa al 1% con ADN extraído de distintas muestras. Autores (2024).

El método CTAB modificado por Betancurt-Olvera et al. (2018), aunque más eficiente en la eliminación de contaminantes como polisacáridos y polifenoles, requiere un manejo meticuloso y tiempos de procesamiento prolongados, lo que limita su aplicabilidad en estudios con muchas muestras (Figura 4).

Figura 4

Extracción de ADN por medio del protocolo de CTAB modificado por Betancurt-Olvera et al. (2018) laboratorio de Biología Molecular campus La María, UTEQ, 2024.

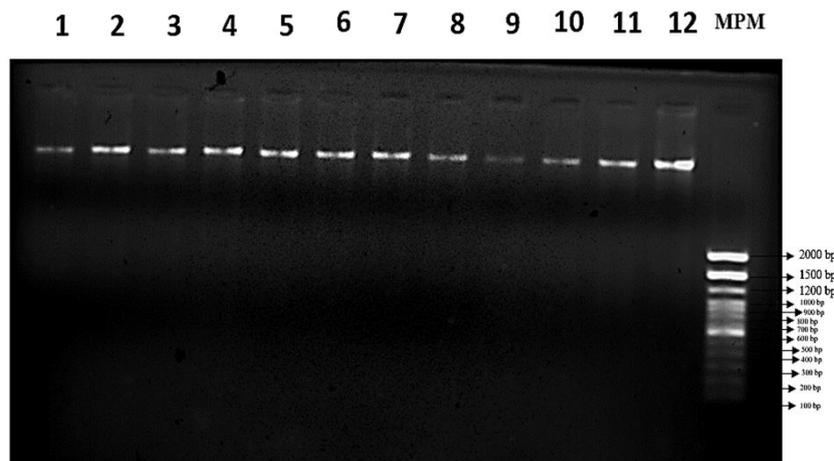


Nota: La imagen muestra un gel de agarosa al 1% con ADN extraído de distintas muestras. Autores (2024).

El protocolo de Dellaporta et al. (1983) resultó en una cantidad significativa de ADN, pero con menor pureza debido a la dificultad para eliminar contaminantes secundarios, siendo más adecuado para estudios preliminares que requieren rapidez (Figura 5).

Figura 5

Extracción de ADN por medio del protocolo de Dellaporta et al. (1983) laboratorio de Biología Molecular campus La María, UTEQ, 2024.

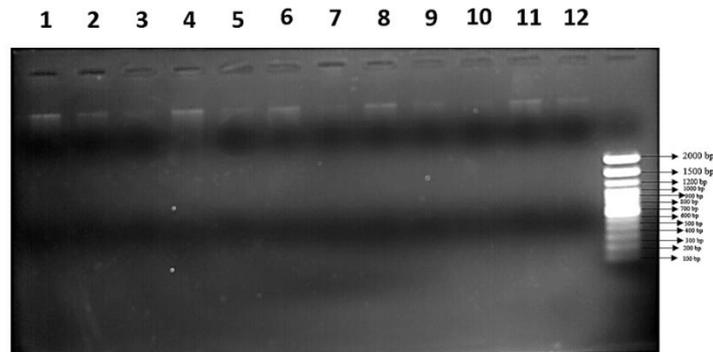


Nota: La imagen muestra un gel de agarosa al 1% con ADN extraído de distintas muestras. Autores (2024).

Por otro lado, el PureLink® Plant Total DNA Purification Kit destacó por su pureza y estandarización, pero su costo elevado lo convierte en una opción limitada para proyectos que involucran grandes volúmenes de muestras (Figura 6).

Figura 6

Extracción de ADN por medio del protocolo de PureLink® Plant Total DNA Purification Kit laboratorio de Biología Molecular campus La María, UTEQ, 2024.



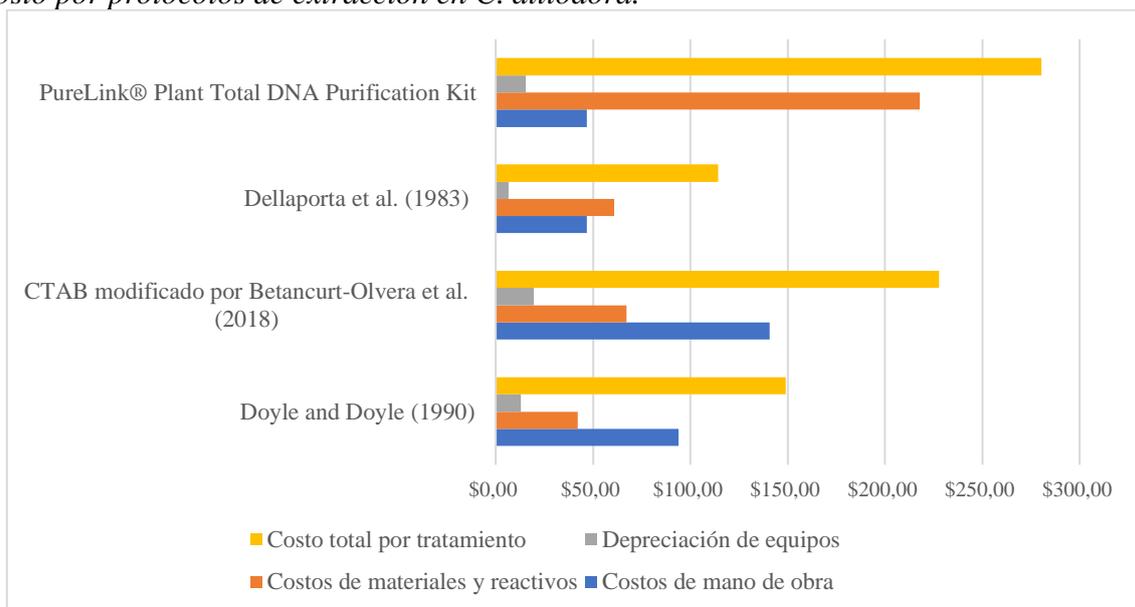
Nota: La imagen muestra un gel de agarosa al 1% con ADN extraído de distintas muestras. Autores (2024).

1.4. Determinación de costos

El protocolo de Dellaporta et al. (1983) se destacó por ser el más económico con \$ 148,96, lo hace adecuado para estudios preliminares o en laboratorios con presupuestos limitados. Sin embargo, la menor pureza del ADN limita su uso en aplicaciones avanzadas, ya que los contaminantes pueden afectar el rendimiento en técnicas como PCR y secuenciación (Siddique et al., 2022; Xie et al., 2023). Si bien el protocolo CTAB modificado por Betancurt-Olvera et al. (2018) tiene un costo más alto con un valor de \$227,71 ofrece un mejor balance entre costo, rendimiento y calidad, lo cual es crucial para investigaciones que requieren ADN de alta pureza (Mavrodiev et al., 2021). La elección del protocolo debe basarse en los requisitos específicos del estudio y el presupuesto disponible (Figura 7).

Figura 7

Costo por protocolos de extracción en *C. alliodora*.



Nota: Autores (2024).

Discusión**Calidad del ADN**

El protocolo CTAB modificado no solo mostró superioridad en calidad del ADN, sino que también se ha demostrado en estudios previos que su aplicabilidad abarca una amplia gama de especies con composiciones químicas complejas. Investigaciones como las de Aboul-Maaty y Oraby (2019); Carey et al. (2023) han destacado que el uso de polivinilpirrolidona (PVP) y β -mercaptoetanol en combinación con CTAB mejora significativamente la pureza del ADN al neutralizar inhibidores como los polifenoles y polisacáridos, lo cual es clave en especies vegetales complejas (Aboul-Maaty & Oraby, 2019; Carey et al., 2023).

A pesar de esta ventaja, es importante considerar que estudios como los de Moghazee et al. (2024) sugieren que la efectividad del CTAB puede variar entre especies dependiendo de los niveles específicos de metabolitos secundarios presentes en los tejidos. Comparado con métodos como PureLink®, el CTAB demostró ser más eficiente para manejar inhibidores,

mientras que PureLink®, a pesar de ofrecer una alta estandarización, mostró limitaciones en la calidad del ADN obtenido (Moghazee et al., 2024).

Cantidad de ADN

En términos de rendimiento, los resultados obtenidos para *C. alliodora* están en línea con estudios previos que han resaltado la capacidad del CTAB para extraer altas cantidades de ADN. Vilanova et al. (2020) introdujeron el protocolo SILEX como una alternativa para maximizar el rendimiento en especies con características químicas similares, aunque con un enfoque más complejo y menos accesible económicamente (Vilanova et al., 2020).

Además, investigaciones recientes han enfatizado que el ajuste de variables como la concentración de NaCl y la duración de la incubación pueden aumentar tanto la pureza como la cantidad de ADN, lo que confirma la robustez del protocolo CTAB en especies vegetales exigentes (Guillardín & MacKay, 2023; Li et al., 2020). Estas optimizaciones permiten que el CTAB sea particularmente eficaz para aplicaciones avanzadas como la amplificación por PCR y la secuenciación (Guillardín & MacKay, 2023).

Validez de los Protocolos

Aunque el protocolo de Doyle y Doyle (1990) es eficaz para estudios preliminares debido a su simplicidad y bajo costo, presenta limitaciones importantes en pureza, lo que puede afectar estudios genéticos avanzados. Estas observaciones coinciden con las de Inglis et al. (2018), quienes encontraron que la adición de un paso de prelavado con soluciones de sorbitol puede mejorar significativamente la pureza del ADN obtenido en protocolos económicos (Inglis et al., 2018).

El protocolo PureLink®, si bien adecuado para estudios especializados, muestra un menor rendimiento en aplicaciones que requieren grandes volúmenes de ADN, lo que limita su aplicabilidad en estudios a gran escala.

Análisis Económico

El protocolo CTAB modificado destaca no solo por su efectividad, sino también por su viabilidad económica en comparación con métodos comerciales como PureLink®. Fu et al. (2017) y Mavrodiev et al. (2021) han resaltado que ajustes como la regeneración de columnas y el uso de reactivos más accesibles pueden reducir significativamente los costos sin comprometer la calidad del ADN obtenido (Fu et al., 2017; Mavrodiev et al., 2021).

Por otro lado, el costo elevado de PureLink® puede ser justificable únicamente en proyectos con presupuestos amplios, como lo sugieren Arseneau et al. (2017), quienes también destacan que la efectividad de los métodos basados en CTAB ajustados puede ser igual o superior a la de los kits comerciales, con costos significativamente menores (Arseneau et al., 2017).

La comparación con estudios previos consolida al protocolo CTAB modificado como una solución robusta, económica y adaptable para la extracción de ADN en especies vegetales complejas. Sus ventajas en calidad, cantidad y costo lo posicionan como la opción preferida para estudios moleculares avanzados, superando las limitaciones de métodos comerciales en términos de aplicabilidad y accesibilidad.

Conclusión

El protocolo CTAB modificado por Betancurt-Olvera et al. (2018) proporcionó el mayor rendimiento de ADN en *Cordia alliodora*, alcanzando hasta 46,25 ng/μl, gracias a su capacidad para manejar la complejidad del tejido vegetal. Aunque no hubo diferencias significativas entre los protocolos evaluados, CTAB destacó por su equilibrio entre cantidad y calidad de ADN, garantizando alta pureza esencial para estudios genómicos. El uso de una mínima cantidad de RNasa preservó la integridad del ADN, mientras que métodos con mayores dosis mostraron una ligera degradación.

El protocolo de Dellaporta fue el más económico, siendo adecuado para laboratorios con presupuestos limitados o que necesitan procesar grandes volúmenes. Aunque más costoso, CTAB modificado por Betancurt-Olvera et al. (2018) sigue siendo ideal para la obtención de ADN altamente puro en estudios avanzados.

Referencias bibliográficas

- Aboul-Maaty, N., & Oraby, H. A. S. (2019). Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1).
- Aboul-Maaty, N., y Oraby, H. (2019). Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0066-1>
- Ambawat, S., Singh, S., Satyavathi, C. T., Meena, R., Meena, R. C., y Khandelwal, V. (2020). Development of a high quality, rapid, efficient and economical DNA extraction protocol from climate resilient pearl millet crop without liquid nitrogen. *International Journal of Environment and Climate Change*, 10(12), 85-94.
- Andrade, H. J., Segura, M. A., y Suárez, J. C. (2023). Growth and carbon sequestration in biomass of *Cordia alliodora* in Andean agroforestry systems with coffee. *Agroforestry Systems*, 97(8), 1435-1446.
- Bawane, H., Kadam, K., Mahale, V., y Kulkarni, R. (2024). Comprehensive assessment of 12 commercial DNA-binding dyes as alternatives to ethidium bromide for agarose gel electrophoresis. *Electrophoresis*, 45(5-6), 442-450.
- Betancurt-Olvera, M., Perez-Lainez, M. D., Nieto-Angel, R., Barrientos-Priego, A. F., García-Mateos, M. del R., y Corona-Torres, T. (2018). Comparación de seis métodos de extracción de ADN en Tejocote (*Crataegus mexicana* Moc. & Sessé). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(1), 75-79. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.1.75-79>
- Bhau, B. S., Gogoi, G., Baruah, D., et al. (2015). Development of an effective and efficient DNA isolation method for *Cinnamomum* species. *Food Chemistry*, 188, 264-270.
- Cañadas-López, Á., Gamboa-Trujillo, P., Buitrón-Garrido, S., Medina-Torres, B., Vargas-Hernández, J. J., y Wehenkel, C. (2023). Thinning Levels of Laurel natural regeneration to establish Traditional Agroforestry Systems, Ecuadorian Amazon Upper Basin. *Forests*, 14(4), 667.
- Carey, S. J., Becklund, L. E., Fabre, P. P., y Schenk, J. J. (2023). Optimizing the lysis step in CTAB DNA extractions of silica-dried and herbarium leaf tissues. *Applications in Plant Sciences*, e11522.
- Carey, S., Becklund, L., Fabre, P. P., & Schenk, J. J. (2023). Optimizing the lysis step in CTAB DNA extractions of silica-dried and herbarium leaf tissues. *Applications in Plant Sciences*, 11.
- Delgado-Paredes, G., Delgado-Rojas, P., y Rojas-Idrogo, C. (2021). Peruvian Medicinal Plants and Cosmopolitan Plants with Potential use in the Treatment of Respiratory Diseases and COVID-19. *Int. J. Plant Anim. Environ. Sci*, 11, 295-321.
- Evallo, E., Taguam, J. D., Bengoa, J., Maghirang, R., y Balendres, M. A. (2022). First report of *Colletotrichum tropicale* on dragon fruit and the response of three *Selenicereus* species to anthracnose. *International Journal of Pest Management*, 1-8.

- Fu, Z., Song, J., & Jameson, P. (2017). A rapid and cost effective protocol for plant genomic DNA isolation using regenerated silica columns in combination with CTAB extraction. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(9), 1682-1688.
- Gautam, A. (2022). DNA and RNA Isolation Techniques for Non-experts. *Springer*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-94230-4>
- Guillardín, L., y MacKay, J. J. (2023). Comparing DNA isolation methods for forest trees: quality, plastic footprint, and time-efficiency. *Plant Methods*, 19(1), 111. <https://doi.org/10.1186/s13007-023-01086-y>
- Inglis, P. W., Pappas, M. de C. R., Resende, L. V., y Grattapaglia, D. (2018). Fast and inexpensive protocols for consistent extraction of high quality DNA and RNA from challenging plant and fungal samples for high-throughput SNP genotyping and sequencing applications. *PLoS ONE*, 13(10), e0206085.
- Inglis, P., Pappas, M., Resende, L. V., & Grattapaglia, D. (2018). Fast and inexpensive protocols for consistent extraction of high quality DNA and RNA from challenging plant and fungal samples for high-throughput SNP genotyping and sequencing applications. *PLoS ONE*, 13.
- Jangra, S., y Ghosh, A. (2022). Rapid and zero-cost DNA extraction from soft-bodied insects for routine PCR-based applications. *PLoS ONE*, 17(7), e0271312.
- Kuo, P., Henderson, I. R., y Lambing, C. (2022). CTAB DNA extraction and genotyping-by-sequencing to map meiotic crossovers in plants. En *Plant Gametogenesis: Methods and Protocols* (pp. 43-53). *Springer*.
- Lara, S. D. M. Y., Valencia, A. L. C., Cabezas, K. D. A., y Jurado, H. R. O. (2021). Estudio fenológico de las especies forestales *Cedrela odorata* L (Meliaceae) y *Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Oken (Boraginaceae) en el municipio de Tumaco, Colombia. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 17(2), 55-70.
- Li, Z., Parris, S., y Sasaki, C. A. (2020). A simple plant high-molecular-weight DNA extraction method suitable for single-molecule technologies. *Plant Methods*, 16(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00579-4>
- Marcos-Merino, J. M., Gallego, R. E., y Ochoa de Alda, J. A. G. (2020). Valor subjetivo y emociones hacia el uso de Química en una práctica activa interdisciplinar. *Educación química*, 31(4), 101-111.
- Marulanda, M. L., López, A. M., Uribe, M., y Ospina, C. M. (2011). Caracterización de la Variabilidad Genética de Progenies de *Cordia alliodora* (R. & P.) Oken. *Colombia Forestal*, 14(2), 119. <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2011.2.a01>