
Recomendaciones para la colecta de ejemplares botánicos para los herbarios de la red PBUCH

Nicolás García¹, Federico Luebert^{1,2} & Rosa A. Scherson¹

¹ Herbario EIF, Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile

² Herbario AGUCH, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile

Versión 1.2, 24 Noviembre 2021

1. Preparación previa al trabajo de campo

1.1. Materiales esenciales

- Prensa de madera o metal de 40 × 30 cm aprox.
- Cartones corrugados de 40 × 30 cm
- Papel de diario
- Tijeras de podar
- Libreta de campo
- Lápiz tinta y grafito
- Bolsas plásticas
- Cuerdas o correas
- Plumones
- GPS
- Pilas

1.2. Materiales específicos u opcionales

- Cuchillo o cortaplumas
- Pala

- Papel secante
- Etiquetas de terreno (con número de colector o algún identificador de la muestra)
- Pinzas
- Lupa de mano
- Bisturí
- Altímetro
- Espátula (para briófitas)
- Machete (para cactáceas o plantas muy grandes)
- Podadora de altura (para ramas altas de árboles)
- Desmalezador manual o cuchillo grueso (para geófitas)
- Guantes (para no pincharse or irritarse)
- Estufa chica, calefactor eléctrico o quemadores a gas (para secado en terreno)
- Metal corrugado (para secado en terreno con estufa)
- Lona (para secado en terreno con estufa)
- Clips para lona (para secado en terreno con estufa)
- Planchas de espuma (para plantas muy voluminosas)
- Sílica-gel con indicador de humedad naranja (para muestras para ADN)
- Sobres de papel (para muestras para ADN, semillas, frutos o briófitas)
- Bolsas Ziploc, idealmente con doble cierre (para muestras para ADN)
- FAA¹ (para morfología, opcionalmente alcohol 70 %)
- Frascos con tapa hermética (para muestras en FAA)
- Sacos (para almacenar ejemplares secos en terrenos largos)

2. Trabajo de campo

2.1. Procedimiento de colecta

Especímenes de herbarios en general La técnica a utilizar para colectar una muestra de herbario varía un poco dependiendo de las características de la planta a colectar. Algunos materiales necesarios en todos los casos son las bolsas de plástico para individualizar cada ejemplar colectado, la libreta de campo y lápiz para tomar apuntes. Es fundamental no fiarse de la memoria y anotar en la libreta cada ejemplar que se colecte y todos los datos especificados más abajo en el punto 2.3. Otra recomendación general, es procurar que los ejemplares colectados tengan alguna estructura reproductiva (flores y/o frutos) para facilitar su determinación taxonómica; aunque en casos en que toda la población de alguna especie se encuentre en estado vegetativo, se recomienda colectar una muestra representativa para dejar el registro de su presencia en aquella localidad e intentar regresar en otra fecha donde sea más probable encontrarla en estado reproductivo para asegurar su identificación (si es que hay dudas al respecto).

Para especies leñosas, tales como árboles o arbustos, se recomienda colectar una rama representativa usando una tijera podadora. En casos en que se quiera colectar una rama de un árbol a una altura mayor a 2 m, se recomienda usar la podadora de altura. Para especies herbáceas, es importante colectarlas incluyendo las raíces, ya que características del sistema radical (por ejemplo, si son pivotantes, presencia de rizomas, tubérculos, estolones, etc.) son fundamentales para determinar ciertos grupos al nivel de especie (por ejemplo, *Oxalis*, Poaceae, Cyperaceae). Entonces, para colectar hierbas se recomienda usar una pala, desmalezador o cuchillo grueso para extraerlas incluyendo las raíces o estructuras subterráneas.

El destino final de las muestras que colectemos será su montaje permanente sobre un cartón de herbario para ser incorporada en alguna colección. Por ende, al momento de la colecta es importante tener en mente el tamaño del cartón, que, por ejemplo, en el herbario EIF son de 42 cm de largo por 29 cm de ancho. En casos en que los ejemplares excedan estas dimensiones, o las dimensiones de las hojas de diario, se pueden doblar o cortar y eventualmente pueden ser luego montados en más de un cartón. Por otro lado, en casos en que los individuos sean muy pequeños (e.g., <10 cm), hay que procurar colectar varios ejemplares para que luego el cartón no se vea tan vacío o colocarlos dentro de un sobre pegado al cartón. En general, también se recomienda colectar duplicados de cada accesión, tantos como se prefiera, para depositarlos en diferentes herbarios y así asegurar su sobrevivencia en caso de incendio (o guerra, véase por ejemplo la historia del herbario del museo botánico de Berlín en Hiepko, 1987).

¹9/10 Alcohol 70 %, 1/20 Ácido acético glacial 100 %, 1/20 Formalina 36 %

Cactáceas Debido a que las Cactáceas son en general muy voluminosas y contienen mucha agua, requieren de un tratamiento especial tanto en la colecta como en el secado. Por su volumen, se hace prácticamente imposible coleccionar y prensar partes completas de las plantas. La mayoría de las muestras de herbario de cactáceas incluyen por lo tanto cortes longitudinales de las costillas para preservar las distancias entre areolas y la estructura de las espinas, así como cortes transversales del tallo donde se observe la distribución y número de costillas (Figura 1A). Para ello es recomendable utilizar un machete para extraer un trozo de tallo, especialmente para las cactáceas más grandes. Luego se utiliza un cuchillo o una cortapluma para hacer los cortes longitudinales y transversales. Aquí es recomendable usar guantes para no pincharse. Adicionalmente las flores y los frutos pueden cortarse longitudinalmente por la mitad para que no ocupen tanto espacio y se pueda observar su estructura interna.

Geófitas Las plantas geófitas son aquellas que tienen estructuras subterráneas, las cuales pueden ser reservantes (bulbos, cormos, tubérculos, raíces tuberosas) o no (rizomas, estolones). Tal como se recomendó arriba para las plantas herbáceas en general, es importante coleccionar estas estructuras subterráneas y las raíces para la correcta determinación de estas especies, para lo cual se debe usar una pala, desmalezadora o cuchillo grueso. Con el fin de facilitar el prensado y secado de bulbos, cormos y tubérculos, se recomienda realizar al menos un corte longitudinal a través de estas estructuras antes de colocarlos en la prensa (Figura 1B).

Briófitas Las briófitas son plantas terrestres que carecen de un sistema vascular y están conformadas por tres grupos principales: musgos, hepáticas y antocerotes. Las briófitas en general se coleccionan utilizando una espátula para separar la planta del sustrato y las muestras se colocan dentro de sobres de papel debidamente rotulados con el número de colecta o con una etiqueta de terreno. Las briófitas no se prensan, ya que al aplastarlas se perderían alguna características celulares que suelen ser importantes para su determinación taxonómica; en cambio, se dejan los sobres de papel abiertos para que se sequen a temperatura ambiente o cerca de una fuente de calor (Figura 1C).

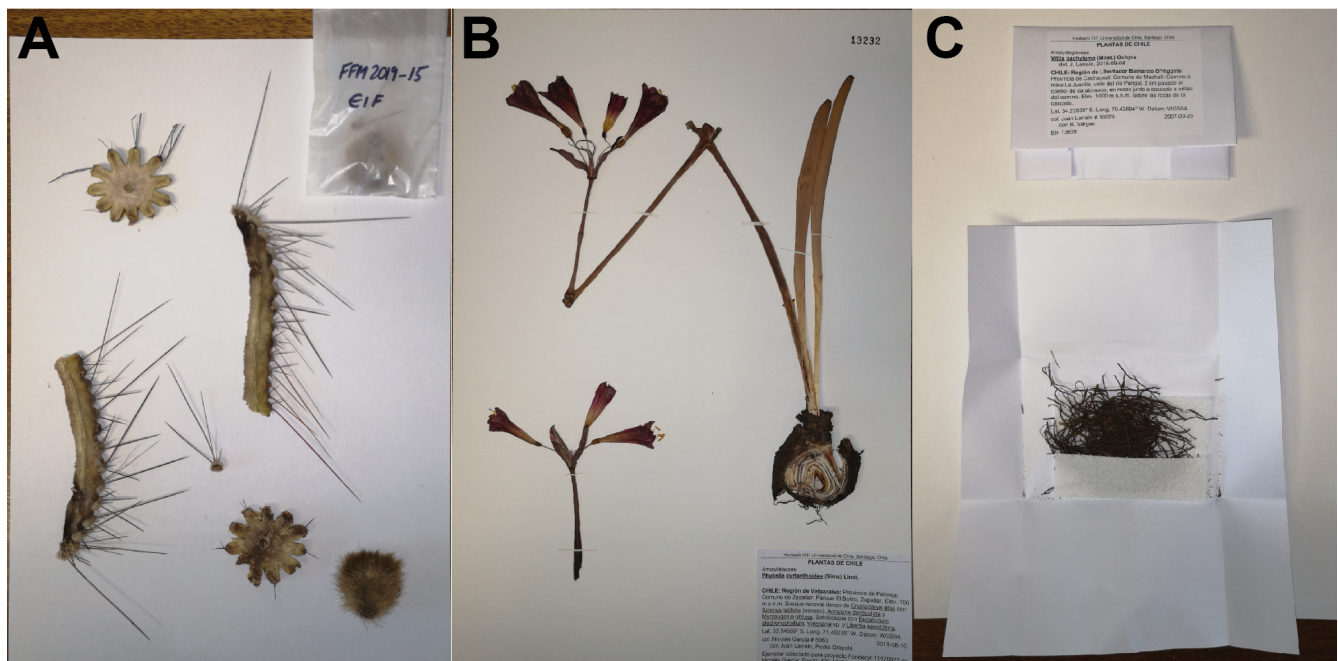


Figura 1: Ejemplos de ejemplares de Cactáceas (A), Geófitas (B) y Briófitas (C).

Muestras para ADN El método más utilizado para recolectar muestras que sirvan para extraer ADN es preservando hojas o partes fotosintéticas en gel de sílice o sílica-gel (Chase e Hills, 1991). En caso de no existir tales estructuras, se pueden recolectar sépalos, pétalos, brácteas florales o tallos herbáceos, tomando el cuidado para que éstas no queden contaminadas con polen ajeno que podría encontrarse sobre las flores. En casos especiales también se puede obtener ADN de raíces, espinas o semillas (e.g., Fehlberg, Allen y Church, 2013).

La colecta en sílica-gel permite extraer rápidamente la humedad de los tejidos, lo que minimiza la degradación del ADN.

El procedimiento consiste en obtener el equivalente a un mínimo de 4 cm² de hojas (idealmente más), guardarlas en un sobre de papel en los que se registran datos de la colecta (e.g., especie, colector, número de colecta y fecha) y almacenar estos sobres en una bolsa Ziploc con sílica-gel y herméticamente cerrada para que la humedad ambiente no entre en ella (Figura 2). Debido a que el sílica-gel extrae la humedad del ambiente, se pueden guardar varios sobres de papel, debidamente identificados, en una sola bolsa, pero es recomendable que el sílica-gel entre en contacto directo con los sobres de papel. No se recomienda incluir muestras de diferentes individuos en un mismo sobre.



Figura 2: Ejemplo colecta de material en sílica-gel con indicador naranja. El sobre de papel al interior de la bolsa está en contacto con el sílica-gel y tiene escritos los datos de colecta

Una vez que el sílica-gel se ha saturado, lo que se ve en el cambio de color del indicador, este tiene que ser cambiado. La rapidez con que se satura el sílica-gel depende de la relación entre la cantidad de sílica-gel y material vegetal que hay en la bolsa, y de la cantidad de agua que hay en los tejidos de la muestra. La regla general es mientras más sílica-gel, mejor.

Muestras para Morfología Para la realización de estudios morfológicos, especialmente de microscopía, es ideal que los órganos vegetales conserven su estructura tridimensional y las células no se contraigan. Para ello es necesario fijar el material. Los métodos más utilizados para fijar tejidos vegetales son el uso de FAA o de alcohol al 70 %, pero existen otras soluciones fijadoras (Johansen, 1940).

El procedimiento consiste en depositar el material en un frasco hermético y llenarlo con FAA hasta que el material quede completamente sumergido. Dado que el alcohol, en el que se basan la mayoría de las soluciones fijadoras, se evapora rápidamente, es importante que el frasco, ya sea de vidrio o de plástico, sea completamente hermético. El tamaño de este depende del tamaño del material, por lo que es recomendable llevar frascos de distinto tamaño, desde 50 a 1000 ml. En caso de utilizar FAA, este se puede reemplazar por alcohol al 70 % después de al menos dos semanas. Para la identificación del material dentro del frasco se puede utilizar una etiqueta de papel con los datos básicos de la colecta (e.g., especie, colector, número de colecta y fecha) escritos con lápiz grafito e introducirlo en el frasco junto con el material. El lápiz grafito no se desvanece con el alcohol. Otros métodos como la utilización de etiquetas auto-adhesivas y el uso de lápiz pasta o tinta son sensibles a los efectos del alcohol (la etiqueta puede desprenderse y la tinta desvanecerse). No se recomienda incluir muestras de diferentes individuos en un mismo frasco.

2.2. Prensado

Sin secado en terreno El prensado debe realizarse con cuidado para obtener buenos ejemplares de herbario. El prensado del material inmediatamente después de ser colectado resulta en los mejores especímenes. Las muestras que pierden vigor previo al prensado, generalmente van a producir ejemplares de calidad inferior. Las plantas deben ser dispuestas cuidadosamente cuando se colocan en la prensa para maximizar la preservación de los caracteres diagnósticos. Por ende, idealmente las hojas, flores y frutos deben desplegarse para que no se superpongan y puedan ser observadas desde diferentes perspectivas. El número de colección debe ser escrito claramente en la parte exterior del papel periódico que contiene a cada espécimen o llevar adentro una etiqueta de terreno con el identificador correspondiente.

El procedimiento básico del prensado consiste en la construcción de la pila de prensado. En primer lugar, cada accesión debe ser ubicada en una hoja de diario (Figura 3A). Cada hoja de diario con su respectiva planta se coloca entre dos cartones corrugados y se van apilando varias muestras siguiendo la secuencia cartón-diario-cartón-diario-cartón-diario... cartón, hasta que no queden más muestras por procesar (Figura 3B). Alternativamente, se pueden colocar láminas de papel secante entre las hojas de diario y los cartones para acelerar el proceso de secado. Una vez lista, la pila de prensado se coloca entre dos prensas de madera y todo el paquete se aprieta mediante una o dos cuerdas, correas, pulpos, etc (Figura 3C). La prensa debe mantenerse apretada el mayor tiempo posible; esto previene que el material vegetal se contraiga o arrugue y genera especímenes que son más fáciles de montar de manera segura sobre un cartón de herbario. Los conos, estróbilos, frutos muy grandes y trozos de corteza pueden secarse aparte en una bolsa de papel para que no pierdan su volumen al ser aplastados.



Figura 3: Proceso de prensado en terreno. A. El ejemplar recién colectado se dispone en una hoja de diario. B. Pila de prensado que consiste de ejemplares en diario separadas por cartones. C. Prensa apretada con cuerda.

Las muestras en la prensa deben ser deshidratadas efectivamente previo a su almacenaje y montaje. Mientras más rápido se sequen las muestras, se obtendrán mejores especímenes y una mejor preservación de los colores de la planta (hojas, flores) y de su ADN. Lo ideal es poner la prensa en una estufa de secado entre 35-45° C o en alguno de los sistemas de secado en terreno referidos en el siguiente punto. Si ninguna de estas opciones estuvieran disponibles, es importante colocar la prensa de costado en un lugar ventilado, seco, cálido o asoleado para que las muestras vegetales se deshidraten lo más rápido posible. También es importante cambiar el papel periódico y los cartones cada uno o dos días, dependiendo de la humedad ambiental y de la succulencia de las plantas colectadas, para evitar la proliferación de hongos y pudrición de las muestras.

Con secado en terreno Existen diversos procedimientos de secado en terreno. Todos tienen ventajas y desventajas. El más simple es la construcción de un túnel de lona cerrado con clips, en un extremo del cual se coloca un calefactor eléctrico y en el otro la prensa con las muestras en papel de diario, cartones y metal corrugado (Figura 4). Al encenderse el calefactor, el aire caliente toma velocidad a través del túnel y pasa a través de la prensa. El metal corrugado contribuye al secado tanto al calentarse como al permitir la ventilación de las muestras. La desventaja de este método es que depende de la disponibilidad de corriente eléctrica. Un método muy similar fue descrito por Eggli y Leuenberger (1996).

Otros métodos de secado pueden consultarse en Baker, Mohlenbrock y Pinkava (1985), Fish (1999) y las referencias



Figura 4: *Aspecto de un túnel de sacado en terreno. El calefactor se encuentra en un extremo (A), próximo a una toma de corriente. La prensa con las plantas, los cartones y el metal corrugado se encuentran en el otro extremo (B). El calor se desplaza desde el calefactor a las plantas a través del tunel.*

ahí citadas. Dado que se trata de material altamente inflamable, debe ponerse especial atención al riesgo de incendio que pueda dañar las muestras y el entorno, independientemente del método que utilice para secar.

2.3. Información a anotar en libreta de campo para cada ejemplar colectado

- Lugar de colecta
- Coordenadas GPS en formato grados decimales (DwC)
- Altitud (m)
- Fecha exacta de colecta
- Colector(es)
- Número de colecta
- Observaciones sobre el hábitat (vegetación, tipo de sustrato, posición topográfica)
- Observaciones sobre la planta (especialmente forma de vida, altura y color de las flores, que son caracteres que no se ven en el ejemplar de herbario)

3. Procesamiento de especímenes después del trabajo de campo

3.1. Secado y prensado

Las plantas que llegan del campo, si es que no están totalmente secas, deben terminar de secarse. Esto se realiza con una estufa u horno con temperatura controlada al interior de la que se colocan las prensas. La temperatura puede variar entre 35 y 45°C para asegurar el secado y, al mismo tiempo, no carbonizar las muestras. El tiempo de secado es de al menos 3 días, pero este puede ser mayor en caso de plantas suculentas.

3.2. Ingreso de datos en una tabla

Los datos contenidos en la libreta de campo deben ingresarse en una planilla de cálculo con los campos correspondientes a los datos de la sección 2.3. Idealmente, esta tabla debería estar estructurada en formato Darwin Core (DwC), especialmente en los campos de coordenadas geográficas (grados decimales) y fecha (AAAA-MM-DD). La creación de esta tabla permitirá automatizar la confección de etiquetas y agilizar el proceso de ingreso de datos a la base de datos de los herbarios.

3.3. Confección de etiquetas

Las etiquetas deben contener toda la información registrada en la libreta de campo, e idealmente ser creadas a partir de los datos ingresados en la tabla, además de datos adicionales de la especie (familia) y de la localidad (país, divisiones administrativas). Las etiquetas generalmente se colocan en la esquina inferior derecha del ejemplar de herbario (Figura 5). No existen dimensiones estándar para las etiquetas, estas deben ser lo suficientemente grandes para contener toda la información y suficientemente pequeñas para no ocupar toda la cartulina donde se montará la muestra. Como orientación se recomienda una etiqueta de 12 cm de ancho y 10 cm de largo.

Bibliografía

- Baker, Marc A., Mark W. Mohlenbrock y Donald J. Pinkava (1985). «A comparison of two new methods of preparing cacti and other stem succulents for standard herbarium mounting». En: *Taxon* 34.1, págs. 118-120. DOI: 10.2307/1221573.
- British Columbia Ministry of Forests (1996). «Techniques and procedures for collecting, preserving, processing, and storing botanical specimens». En: *Research Branch, British Columbia Ministry of forests, Victoria, Working Paper* 18/1996, págs. 1-44.
- Chase, Mark W. y Harold H. Hills (1991). «Silica gel: An ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies». En: *Taxon* 40.2, págs. 215-220. DOI: 10.2307/1222975.
- Eggli, Urs y Beat Ernst Leuenberger (1996). «A quick and easy method of drying plant specimens, including succulents, for the herbarium». En: *Taxon* 45.2, págs. 259-261. DOI: 10.2307/1224665.
- Fehlberg, Shannon D., Jessica M. Allen y Kathleen Church (2013). «A novel method of genomic DNA extraction for Cactaceae». En: *Applications in Plant Sciences* 1.3. DOI: 10.3732/apps.1200013.
- Fish, Lyn (1999). «Preparing herbarium specimens». En: *Strelitzia* 7, págs. 1-57.
- Hiepko, Paul (1987). «The collections of the Botanical Museum Berlin-Dahlem (B) and their history». En: *Englera* 7, págs. 219-252.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. New York: McGraw Hill.

Enlaces relacionados

<http://www.ib.unam.mx/m/docs/flatpages/botanica/herbario/servicios/triptico.pdf>
<http://www.chilebosque.cl/herbario.html>
https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_prep_ejemp_bot_1_ago_2012_1_.pdf
<http://www.uacj.mx/ICB/UEB/Documents/Publicaciones/9%20Herborizacion.pdf>
<https://www.floridamuseum.ufl.edu/herbarium/voucher.htm>
<https://www.floridamuseum.ufl.edu/herbarium/methods/mountingguide.htm>
<http://www.mobot.org/MOBOT/molib/fieldtechbook/welcome.shtml>
<https://www.rbge.org.uk/media/4584/preparation-care-and-art-of-herbarium-specimens-revised-6-nov-2017.pdf>
<https://www.rbge.org.uk/science-and-conservation/herbarium/specimen-preparation-care/preparation-of-specimens/>



Figura 5: Ejemplar de herbario montado mostrando la etiqueta en la esquina inferior derecha. Holotipo de *Haplopappus mieresii* P. Medina & Nic. García.