

## COLECCIONES BIOLÓGICAS IAvH

### PROTOCOLO PARA DEPÓSITO DE MUESTRAS COLECCIÓN DE TEJIDOS (PALMIRA, VALLE DEL CAUCA)

La colección de tejidos del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH-CT) tiene como objetivo almacenar en condiciones óptimas muestras de tejidos de especies colombianas como referencia para el estudio de la biodiversidad desde una perspectiva genética y evolutiva con fines no comerciales. Por esto las muestras que se ingresan a IAvH-CT deben cumplir con una serie de condiciones técnicas y científicas.

Como parte de las colecciones biológicas del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, IAvH-CT recomienda que las muestras estén preferiblemente asociadas a un espécimen depositado en una colección especializada en el taxón. La IAvH-CT es una colección de referencia para estudiar diferentes aspectos de la diversidad genética de las especies colombianas y la existencia de estos ejemplares permite la confirmación de la identificación taxonómica, la realización de análisis morfológicos detallados, la evaluación de variación geográfica, sexual, ontogénica o adaptativa en caracteres fenotípicos, la implementación de métodos de taxonomía integrativa o la obtención de otro tipo de información asociada a especímenes de museo.

La IAvH-CT puede suministrar tubos para la colecta de tejido animal, siempre y cuando haya disponibilidad del material y el colector se comprometa a cumplir con todas las condiciones de este protocolo y marcar los tubos de la manera indicada en el anexo 1. En cuanto a la información asociada a las muestras, un archivo de hoja de cálculo con los campos presentados en el anexo 2 puede ser suministrado por el curador a solicitud del colector. Para proyectos de cooperación entre el Instituto Humboldt y otras instituciones que requieran depositar la información asociada en la Infraestructura Institucional de Datos, deben usar el formato suministrado por ellos, ya que este permite unificar información de IAvH-CT con la de las otras colecciones biológicas.



## CONDICIONES PARA EL INGRESO DE MUESTRAS EN LA COLECCIÓN DE TEJIDOS DEL INSTITUTO HUMBOLDT (IAvH-CT)

1. Las muestras deben haber sido colectadas y preservadas correctamente. A) deben provenir de una parte del organismo que rinda ADN de buena calidad y en suficiente cantidad, B) deben ser tomadas con instrumentos limpios y esterilizados (i.e., con fuego y cloro), C) no deben presentar indicios de descomposición, de contaminación con microorganismos o de herbivoría en el caso de plantas, E) las muestras deben estar correctamente rotuladas y almacenadas en el reactivo o material apropiado (i.e., nitrógeno líquido, etanol al 95 %, buffer especial o sílica), F) no deben haber sido expuestas a sustancias de fijación del tejido que impidan o dificulten la obtención de ADN (i.e., formol).
2. Las muestras deben tener la información básica asociada: geografía, taxonomía y del evento de colecta. El anexo 2 indica y describe los campos de información obligatorios y deseables que deben acompañar una muestra de tejido a ser depositada en IAvH-CT. Esta información es la que usualmente se toma de los ejemplares, pero cuando se colectan tejidos debe indicarse además el tipo de tejido (e.g., músculo, corazón, foliar, sangre, extremidad, apéndice) y la sustancia, material o procedimiento que se usó para colectar la muestra (e.g., buffer indicando el nombre, sílica, secado, crioconservación en nitrógeno líquido).
3. Las muestras deben ser tomadas en cantidad suficiente para garantizar la obtención de ADN. La mayoría de protocolos de extracción de ADN usan alrededor de 0.05 gr de tejido para obtener alrededor de 100  $\mu$ l de ADN. Por lo tanto la cantidad de tejido debe ser superior a 0.05 gr y de preferencia estar por encima de 0.2 gr. Cantidades menores de tejido se pueden ingresar considerando casos como los de artrópodos que por las limitantes biológicas de su tamaño no se puede obtener la cantidad indicada.
4. Las muestras que se vayan a ingresar a IAvH-CT deben estar asociadas a un “registro del espécimen”. De preferencia este registro debe ser un espécimen depositado en una colección especializada en el taxón (i.e., voucher, lote, exicado, planta en jardín botánico, espécimen vivo en zoológico). Sin embargo en casos especiales como los vertebrados de gran talla o especies críticamente amenazadas, en donde se haga un muestreo no letal, la muestra debe estar vinculada a un “voucher digital” que puede fungir como registro del espécimen. Este voucher digital pueden ser archivos de una o varias fotografías o de un video siguiendo un protocolo preciso de documentación gráfica y deben ser archivados en un repositorio público y estable. En el voucher digital deben observarse caracteres diagnósticos de la especie que permitan diferenciarla de otras semejantes. Además, cada ejemplar debe haber sido marcado en campo o presentar señas particulares (e.g., patrón de manchas en algunos felinos) y dicha marca debe ser visible en la fotografía o debe poder corroborarse de alguna manera. En principio IAvH-CT se abstendrá de aceptar muestras de tejido que no presenten ningún tipo de respaldo para el fenotipo del taxón (i.e., registro del espécimen). No obstante, IAvH-CT contempla aceptar muestras sin registro del espécimen en casos muy especiales en donde haya evidencia indirecta obtenida por investigadores reconocidos y con amplia experiencia en campo o en colecciones científicas (e.g., pelos de mamíferos de gran talla, asociados a rastros frescos de la especie en el mismo sitio y congruencia del registro con otros aspectos de la historia natural del taxón).



### CAUSAS DE RECHAZO DE MUESTRAS EN LA COLECCIÓN DE TEJIDOS DEL INSTITUTO HUMBOLDT (IAvH-CT)

1. Que las muestras no cuenten con el permiso de recolección de especímenes silvestres de la diversidad biológica en Colombia u otra documentación que acredite su procedencia legal.
2. Que las muestras no cumplan alguna de las condiciones de la sección anterior.
3. Que las muestras no hayan sido transportadas en condiciones apropiadas y que por lo tanto lleguen a IAvH-CT en un estado inadecuado (*i.e.*, muestras con evidencia de contaminación o deterioro, o con los rótulos de los tubos o sobres borrados o irreconocibles).
4. Que las muestras sean réplicas de otras ya existentes en la colección o sean de un taxón para el cual ya se cuenta con numerosas muestras.

### MODALIDADES DE DEPÓSITO DE MUESTRAS EN LA COLECCIÓN DE TEJIDOS DEL INSTITUTO HUMBOLDT (IAvH-CT)

Como parte de los servicios de IAvH-CT a investigadores de la biodiversidad colombiana con fines no comerciales, se brinda el almacenamiento de muestras bajo tres modalidades. La modalidad es definida entre el depositante de la muestra y el curador de IAvH-CT, pero es necesario anotar que una vez una muestra es curada, catalogada e ingresada a IAvH-CT se convierte en parte de dicha colección y por lo tanto su información se hará pública en el SiB-Colombia y su uso se regirá por los protocolos de IAvH-CT. El investigador que deposite muestras en IAvH-CT puede indicarla como la evidencia de beneficio mutuo que es necesaria cuando se solicitan préstamos de esta colección (ver <http://humboldt.org.co/servicios/colecciones-biologicas/tejidos>). La modalidad de depósito se hace explícita en un documento entregado por el curador al depositante una vez las muestras sean curadas e ingresadas a IAvH-CT. Las modalidades son:

*Donación:* Las muestras pueden ser usadas sin restricción y el acceso a ellas será determinado según el protocolo de préstamo de IAvH-CT.

*Custodia con notificación:* Se notificará a la dirección de correo electrónico indicada por el depositante cada vez que se estudie una solicitud de préstamo de una de esas muestras para que conozca en qué estudio serán incluidas. Únicamente en casos en donde el depositante responda en los 5 días hábiles posteriores a la notificación manifestando un conflicto de intereses válido y serio sobre el acceso a las muestras el curador puede reconsiderar su préstamo. Las notificaciones se mantendrán durante 5 años, después las muestras cambiarán su estatus a donación.



*Custodia con exclusividad:* El depositante tendrá acceso exclusivo a las muestras hasta por 5 años desde el momento en que las muestras ingresan a la colección. Esto no exige al depositante de seguir el protocolo de préstamo una vez quiera acceder dichas muestras, pero le garantiza que durante el periodo de la exclusividad dichas muestras no serán prestadas a otro investigador. Una vez se cumpla el tiempo de la exclusividad las muestras pasarán a custodia con notificación por un año luego del cual quedarán como donaciones. En casos muy especiales en donde se expliquen claramente las razones la exclusividad puede ser extendida por un año más si el depositante hace la solicitud tres meses antes de que se cumpla el periodo de exclusividad inicial.

El contacto de IAvH-CT es el siguiente:

Enrique Arbeláez-Cortés Ph. D.  
Curador Colección de Tejidos  
Instituto de Investigación en Recursos Biológicos Alexander von Humboldt  
Km. 17 Recta Cali-Palmira (CIAT), Valle del Cauca, Colombia  
Telefono +57 2 4450174  
E-mail: [colecciontejidos@humboldt.org.co](mailto:colecciontejidos@humboldt.org.co)



Anexo 1: Indicaciones para marcar un criotubo al coleccionar una muestra de tejido animal a ser depositada en la colección de tejidos del Instituto de Investigación en Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Colombia (IAvH-CT).

- 1) Marcar el tubo (ver Figura 1)
  - a) Poner el número de colector (o de colecta o de catálogo de campo) en el borde superior (con la tapa a la derecha) del espacio de etiquetado, usando una aguja enmangada o la punta de unas tijeras de disección.
  - b) Marcar nuevamente el número de colector sobre la parte transparente del tubo, usando una aguja enmangada o la punta de unas tijeras de disección.
  - c) Sobre esas dos marcas escribir el mismo código con un marcador permanente
  - d) Algunos tubos permiten marcar el borde de la tapa. Si este es el caso póngala también allí, el mismo número de colector que puso en el tubo.
  - e) Poner el nombre del taxón hasta el nivel mínimo que se pueda identificar con certeza (especie, género o familia) solo con marcador en el espacio de etiquetado abajo del número de colector
  - f) Poner el tipo o tipos de tejido (e.g., Musculo = M, Corazón= C, Hígado = H, Sangre= S.) abajo del taxón.
  - g) **No usar el último tercio de la etiqueta**, ya que ese espacio es para incluir información en la colección de tejidos. **Por favor dejar esa parte en blanco!**

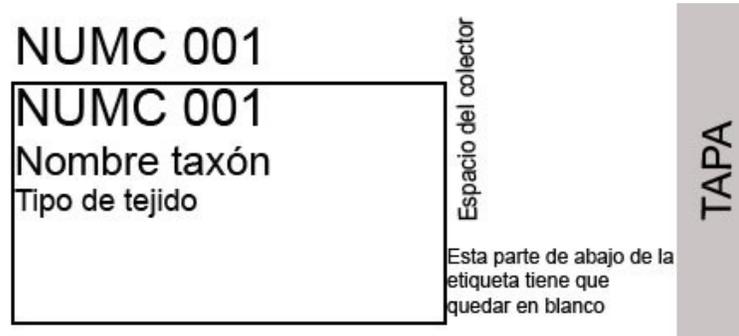


Figura 1: Bosquejo explicativo de como marcar un criotubo para toma de muestras de la colección de tejidos del IAvH. La tapa indica la dirección en que se debe marcar. El recuadro indica la etiqueta que trae el tubo. Note que el número de colector (NUMC001) debe estar marcado adentro y afuera de la etiqueta con una aguja enmangada. Afuera del recuadro se indica el espacio que puede usar el colector.

- 2) Poner la muestra de tejido en el tubo partida en 3 - 5 pedazos. El tamaño de un pedazo para vertebrados es el de un cubo de más o menos 0.5 cm de lado o aproximadamente el tamaño de un borrador de un lápiz.
- 3) Completar con alcohol (75 % - 95%), o buffer, hasta arriba de la marca de 2 mL (la más alta)
- 4) Tapar bien el tubo y cerciorarse que no se borró la información si usó alcohol.
- 5) Si usó alcohol, cambiarlo después de tres horas por alcohol nuevo teniendo cuidado de no tirar la muestra y de no regar alcohol que borre las marcas del tubo.

**NOTA. Casi todos los marcadores se borran con alcohol!** Por esa razón el número de colector debe estar marcado con una aguja enmangada o con la punta de unas tijeras de disección.



Anexo 2: Campos de información asociada a una muestra para ser depositada en la colección de tejidos del Instituto de Investigación en Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Colombia (IAvH-CT). Se indica la descripción en cada uno y un ejemplo. En negrilla se indican los campos que son obligatorios los demás campos son deseables pero se pueden omitir únicamente si la información no existe o no aplica.

Campos para el colector	Descripción de los campos	Ejemplo
Preparador	Nombre de la persona que taxidermizó el espécimen, aplica para algunos grupos como Aves y Mamíferos.	<i>Umaña Ana M.</i>
Tipo de preparación	Tipo de preparación del ejemplar, por ejemplo: completo, en seco, fijado en alcohol. No se refiere a la muestra de tejido.	<i>Piel</i>
Número de Museo	Número asignado al ejemplar en una colección biológica especializada en el taxón. Puede entregarse después de las muestras, si y solo si, al momento de la entrega de las muestras estas tienen información taxonómica al menos hasta el nivel de familia y ya se remitieron los ejemplares a una colección biológica que debe ser indicada.	<i>IAvH-A 11452</i>
Modalidad de Custodia	1. Donación. 2. Custodia con notificación, 3. Custodia con exclusividad:	<i>Custodia con notificación</i>
<b>Institución del Colector</b>	Es la institución del colector. En el caso de convenios entre IAvH con otras instituciones se indica como IAVH – NOMBREInstitucion.	<i>Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt</i>
Nombre del Proyecto	Es el nombre y número de convenio o de proyecto en el marco del cual se obtuvieron las muestras. O un nombre del grupo o iniciativa de investigación en el marco del cual se hizo la colecta.	<i>GEMA</i>
<b>País</b>	Refiere al País donde se colectó la muestra.	<i>Colombia</i>
<b>Departamento</b>	Refiere al departamento (Ente geográfico administrativo de primer orden) donde se colectó la muestra.	<i>Caquetá</i>
<b>Municipio</b>	Refiere al municipio (Ente geográfico administrativo de segundo orden) donde se colectó la muestra.	<i>Solano</i>
<b>Localidad</b>	Es el nombre o la descripción detallada del lugar en donde se colectó la muestra. Generalmente involucra varios entes geográficos menores (e.g., Vereda, Estación de Policía, Finca, Corregimiento, Parque Nacional Natural) o accidentes geográficos (e.g., Quebrada, Caño, Alto). También puede haber indicaciones de distancias a lugares más conocidos por fuentes como mapas o gaceteros, por ejemplo 20 km NE de "LUGAR", o Km 20 por carretera desde "LUGAR" hacia el NE. En los casos en que la localidad no está indicada se debe llenar el campo diciendo "Sin datos de localidad" y referir al ente geográfico conocido inmediatamente superior.	<i>PNN Serranía de Chiribiquete Río Cuñará</i>



<b>Fecha Inicial</b>	Fecha de la colecta del ejemplar. Se indica como "inicial" porque en algunos casos por el uso de trampas para algunos organismos como insectos durante varios días el momento de la colecta no es preciso. Pero en el caso de organismos como las aves y plantas que si es conocido la fecha de colecta se indica en este lugar	02/11/2000
<b>Fecha final</b>	Fecha final en que se tuvo la trampa. Ver campo Fecha inicial. Si se trata de una sola fecha repetirla en este espacio.	02/11/2000
<b>Latitud (grados, minutos, segundos)</b>	Es la latitud indicada en Grados, Minutos y Segundos	0°31'3"N
<b>Longitud (grados, minutos, segundos)</b>	Es la longitud indicada en Grados, Minutos y Segundos	72°38'28"W
<b>Latitud (grados decimales)</b>	Es la latitud en grados decimales. <u>Nota:</u> en Colombia los valores decimales de Latitud pueden ser positivos o negativos dependiendo de si es una localidad al norte (+) o al sur (-) del Ecuador.	0,5175
<b>Longitud (grados decimales)</b>	Es la longitud en grados decimales. <u>Nota:</u> en Colombia todos los valores decimales de longitud son negativos.	-72,6411
Elevación mínima	Elevación en metros sobre el nivel del mar de la localidad de la colecta. Refiera a mínima en caso de que la localidad o transecto de la colecta haya un desnivel amplio.	640
Elevación máxima	Elevación máxima de la localidad, ver campo Elevación Mínima	640
<b>Detalles sobre la localidad</b>	Se debe indicar de qué manera se obtuvieron las coordenadas geográficas de la localidad, es decir si fue usando un GPS sobre el terreno (indicar marca y modelo) o usando un gacetero impreso o electrónico (indicar cuál) o usando un mapa de la zona bien sea del IGAC o de <i>Google earth</i> (indicar cuál). Cualquier tipo de comentario sobre el sitio geográfico en donde se hizo la colecta puede ser incluido en este espacio (tipo de hábitat o paisaje, datum y proyección geográfica usados en la fuente de la georreferencia). Puede hacerlo tanto el colector como el curador en casos en donde se realice una modificación razonable y justificada. Del mismo modo se puede indicar la fuente del valor de la elevación.	<i>Datos de georreferencia obtenidos con GPS</i>
Detalles sobre el evento de colecta	Cualquier tipo de comentario sobre el sitio geográfico en donde se hizo la colecta. En particular cuando hay colectores auxiliares en este campo es donde se indican después de anotar "Otros colectores:"	<i>Otros colectores: Socorro Sierra, Mauricio Álvarez</i>
<b>Apellido(s) del Colector</b>	Apellido(s) del Colector	<i>Umaña</i>
<b>Nombre del colector</b>	Nombre del colector	<i>Ana</i>



Segunda Inicial del Colector	Inicial del segundo nombre del colector (solo si aplica)	M.
<b>Método de Colecta</b>	El modo en que se hizo la colecta. En vertebrados voladores por ejemplo red o escopeta, en plantas si se usó una metodología particular, en artrópodos los tipos de trampas o el uso de jamas.	Red de niebla
<b>Número de Campo o Colector</b>	Es el número asignado por el colector al ejemplar y a la muestra de tejido. Se recomienda usar códigos de máximo 8 caracteres (combinando letras y números, las letras de preferencia deben ser la iniciales del colector o del nombre del proyecto). <u>Este número tiene que ser el mismo que lleva el voucher o espécimen colectado en la etiqueta y que también será el que se consigne en los catálogos o libreta de campo y posteriormente en bases de datos públicas.</u> Este código permite rastrear una muestra hasta el evento de colecta y también hasta el espécimen en una colección. <u>Es sumamente importante. Se recomienda marcarlo usando una aguja o la punta de unas tijeras en el caso de colectas de tejidos animales en tubos de plástico. Y con marcador indeleble al agua sobre los sobres de papel para muestras de plantas.</u>	MAR 1169
<b>Colección de depósito del ejemplar</b>	Colección biológica en donde se depositó, o se va a depositar, el ejemplar al que se le tomó la muestra de tejido.	Colección ornitológica IAvH
<b>Reino</b>	Categoría taxonómica obligatoria y más inclusiva del ejemplar al que se le tomó el tejido. Se corrobora con <i>Catalogue of Life on Line</i>	Animalia
<b>Phylum</b>	Categoría taxonómica obligatoria del ejemplar al que se le tomó el tejido. Se corrobora con <i>Catalogue of Life on Line</i>	Chordata
<b>Clase</b>	Categoría taxonómica obligatoria del ejemplar al que se le tomó el tejido. Se corrobora con <i>Catalogue of Life on Line</i>	Aves
<b>Orden</b>	Categoría taxonómica obligatoria del ejemplar al que se le tomó el tejido. Se corrobora con <i>Catalogue of Life on Line</i>	Passeriformes
<b>Familia</b>	Categoría taxonómica obligatoria del el ejemplar al que se le tomó el tejido. Se corrobora con <i>Catalogue of Life on Line</i> . <u>Esta es la categoría mínima de identificación con que se recibe una muestra de tejido vegetal o de invertebrados en IAvH-CT si y solo si el ejemplar ya fue enviado a una colección biológica que también debe ser indicada.</u> Se consideraran excepciones justificadas.	Turdidae
<b>Género (*)</b>	Categoría taxonómica. Se corrobora con <i>Catalogue of Life on Line</i> . <u>* Esta es la categoría mínima de identificación con que se recibe una muestra de tejido de vertebrados en IAvH-CT si y solo si el ejemplar ya fue enviado a una colección biológica que también debe ser indicada.</u>	Turdus



Especie	Categoría Taxonómica. Refiere únicamente al epíteto específico, este campo no incluye el Género por el diseño que tiene la base de datos. Se corrobora con <i>Catalogue of Life on Line</i> usando el binomio completo.	<i>leucomelas</i>
Nombre común	Nombre con que es conocida la especie en la zona donde se colectó.	<i>Mirla</i>
Apellido(s) del identificador	Apellido(s) de la persona que realizó la identificación taxonómica del ejemplar del que procede la muestra.	<i>Alvarez</i>
Nombre del identificador	Nombre de la persona que realizó la identificación taxonómica del ejemplar del que procede la muestra.	<i>Mauricio</i>
Segunda inicial del identificador	Inicial del segundo nombre (si aplica) de la persona que realizó la identificación taxonómica del ejemplar del que procede la muestra.	
Fecha de Identificación	Fecha en que el determinador realizó la identificación	<i>02/11/2000</i>
<b>Tipo de tejido</b>	Se refiere a la naturaleza del tejido, e indica si es foliar (en plantas) musculo, hígado, corazón o sangre en vertebrados, pata o antena en artrópodos, pie o manto en bivalvos, etc.	<i>Corazón, Hígado y Músculo (CHM)</i>
<b>Colectado en</b>	Indica la sustancia o material en el que se colectó el tejido, por ejemplo: nitrógeno líquido, sílica, alcohol, buffer "NOMBRE", seco.	<i>Buffer de colecta</i>

