

CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA - CIBUQ

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN LAS COLECCIONES BIOLÓGICAS

Debido a la colección institucional que posee el CIBUQ registrada ante el Ministerio del Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible, considerando que la función de la Universidad del Quindío con relación a dichas colecciones es de ser entidad depositaria y por tanto, responsable de su conservación; igualmente, teniendo en cuenta la legislación existente en el país sobre el manejo de colecciones biológicas (Resolución 1115 de 2000, Decisión 391 Régimen Común sobre Acceso a los Recursos Genéticos de julio de 1996 y Convenio sobre diversidad biológica de junio de 1992) y las nuevas funciones dadas a las autoridades ambientales regionales (Decreto 309 de 2000 y Resolución 068 de enero de 2002) se establece el siguiente manual de procedimientos para las colecciones biológicas existentes en el CIBUQ, con miras a propiciar el cumplimiento de la ley y a fijar un derrotero para el adecuado uso y conservación de las mismas.

COLECCIONES BIOLÓGICAS.

Colección biológica: Es el conjunto de especímenes de la diversidad biológica que constituyen patrimonio de la Nación y que se encuentran bajo custodia de una persona jurídica, tales como herbarios, museos de historia natural, bancos de germoplasma, genotecas y ceparios; preservados bajo estándares de curaduría especializada para cada uno de los grupos depositados en ella, los cuales deben estar debidamente catalogados, mantenidos y organizados taxonómicamente, de conformidad con lo establecido en el plan de manejo respectivo (Resolución 1115 de 2000).

COLECCIÓN DE HONGOS MACROMICETES Y LIQUENES

Tomando en cuenta la importancia que tienen los hongos macroscópicos y microscópicos así como los líquenes dentro de los ecosistemas, y a los pocos estudios que se han realizado en nuestro país al respecto, resulta muy importante establecer las pautas a seguir, para dar inicio a su estudio y así lograr una adecuada calidad científica en las recolecciones, descripciones, preservación, identificación y cultivo de los especímenes; así como un adecuado manejo de las colecciones que se conservan en las diferentes instituciones del país.

Es de gran importancia resaltar que existen muchas formas de recolectar, procesar y describir los especímenes, principalmente en el campo, esto dependiendo de los grupos de hongos con los que se está trabajando; a continuación se presenta una metodología general para macrohongos, microhongos y líquenes.

COLECCIÓN DE ESPECÍMENES.

Se dan instrucciones generales para la colección de especímenes de diferentes grupos, considerando para que las colecciones tenga valor científico, deben ir acompañadas de notas de campo y en lo posible con una fotografía de buena calidad, ya que la clasificación taxonómica se basa en características macroscópicas que puedan perderse cuando el material se seca y herboriza.

1. Recolección.

Muestreo por transectos, Muestreo por parcelas, cuerpos fructíferos, sustrato, estadios de descomposición, curva de rarefacción, estimadores de diversidad de Chao 1 y Chao 2, Índices de similitud modificados de Jaccard y Sorensen.

En el sitio de muestreo se utilizarán dos estrategias de muestreo diferentes:

1. Muestreo por transectos: Se establecerán cinco transectos de 25 m de largo cada uno, los cuales estarán separados uno del otro por 10 m de distancia

2. Muestreo por parcelas: Se establecerán cinco parcelas de 5 m de lado (25 m² cada una), las cuales estarán ubicadas al menos a 10 m de distancia una de la otra⁴.

Tanto en los transectos como en las parcelas se seguirá la siguiente metodología de colecta:

1. Se colectaran todos los cuerpos fructíferos encontrados, especificando el sustrato en el cual se encontró creciendo: madera en descomposición, madera viva, suelo, hojarasca, hojas vivas, frutos u otros. En el caso de madera en descomposición se consideraran tres estadios de descomposición (I, II y III).
2. Los cuerpos fructíferos serán llevados al laboratorio e identificados, de acuerdo a sus caracteres morfológicos, entre los principales grupos de hongos, y cuando sea posible serán identificados a nivel de género o especie.
3. Tanto para los transectos, las parcelas y el set de datos completo se construirá una curva de rarefacción para comparar la riqueza de especies obtenida con cada metodología de muestreo.
4. Se calcularán los estimadores de diversidad de Chao 1 y Chao 2, los cuales son los más recomendados para grupos megadiversos como los hongos.
5. Se calcularan los Índices de similitud modificados de Jaccard y Sorensen para comparar las especies obtenidas con ambas metodologías y el estimador de cobertura basado en incidencia (ICE) para determinar la eficiencia del muestreo.
6. Un análisis de correlación de componentes principales será realizado con el fin de determinar la preferencia de sustratos de los Macromicetes encontrados⁴.

Selección de especímenes: deben ser de 3 a 5 ejemplares de diferente tamaño y grado de desarrollo, ya que un solo “individuo” de cada especie es insuficiente para fines científicos (excepto en las especies con cuerpos solitarios y de mediano y gran tamaño). Hay que descartar ejemplares incompletos, viejos o en vías de pudrición o decolorados por lluvias¹.

2. Materiales básicos:

- ❖ Canasta
- ❖ Navaja o espátula.
- ❖ Piseta con agua destilada
- ❖ Brochas y/o pinceles
- ❖ Cajas de plástico con separación
- ❖ Bolsas de papel
- ❖ Papel de aluminio o encerado
- ❖ GPS
- ❖ Cámara fotográfica
- ❖ Guía de campo
- ❖ Libreta o bitácora de campo.
- ❖ Pluma o lápiz
- ❖ Plumón permanente
- ❖ Gotero
- ❖ KOH al 5 %
- ❖ Reglas de calibración
- ❖ Termómetro de suelo
- ❖ Deshidratador manual

Resulta indispensable llevar a cabo el siguiente procedimiento para que las colecciones tengan valor científico:

- ❖ Tomar nota del sustrato y cuando sea posible anotar datos sobre la vegetación que rodea el espécimen.
- ❖ Tomar fotografías de los especímenes.
- ❖ Utilizar una cuchilla o puñal para remover el hongo. Es necesario introducir la cuchilla unos cuantos centímetros hacia abajo de la base del hongo para no cortar el estípite y la volva, cuando este está presente.
- ❖ Remover el hongo con una porción pequeña de sustrato en su base.
- ❖ Recolectar especímenes tanto jóvenes como maduros, y en la mayor cantidad posible.

- ❖ Los especímenes se recolectarán individualmente, con la ayuda de cuchillo, navaja, cuidando de recolectarlos con una porción del sustrato al cual el hongo esté adherido (suelo, follaje, troncos o ramas caídas de plantas en descomposición o, más raramente, una pequeña parte viva del árbol).
- ❖ El material se acondicionará en bolsa de papel o, cuando sea muy frágil, en cajas de cartulina o en depósitos de película fotográfica.
- ❖ Para cada muestra recolectada se rellenarán formularios con los detalles morfológicos, color, olor, textura y, siempre que sea posible, el registro fotográfico y/o el dibujo.
- ❖ Las especies con potencialidades lignocelulolíticas y comestibles, cuando sea posible, se aislarán en medio de cultivo específico para cada grupo.
- ❖ El secado del material se realizará en hornillo de gas, con temperatura alrededor de 50°-60° C o, cuando el material sea muy frágil, se secarán en depósitos plásticos conteniendo gel de sílice con indicador de humedad.
- ❖ El material seco se acondicionará en cajas de cartulina. Se incorporará a los herbarios de las instituciones participantes del proyecto y, posteriormente, se remitirá para ser identificado por especialistas¹.

En general cuando se colecta hongos como parte de la colección que vaya a ser depositada en un herbario, tenga en cuenta las siguientes recomendaciones:

- ❖ Si el hongo está creciendo en suelo, introduzca el cuchillo o navaja profundamente alrededor y retírelo incluyendo parte del sustrato, el exceso de éste puede ser eliminado una vez se tenga la colección.
- ❖ Si el hongo se encuentra sobre madera debe anotarse si ésta es viva o muerta.
- ❖ Si el hongo se encuentra sobre la corteza incluya parte de ella en la colección.
- ❖ En todos los casos trate de coleccionar especímenes jóvenes y adultos, ya que varios estados del desarrollo pueden ser importantes en la determinación

final de la especie. En algunos casos, es necesario hacer colecciones periódicas para tener varios estados de desarrollo de un hongo.

- ❖ Evite coleccionar o destruir el material que no va a ser estudiado.
- ❖ Una vez colectados los hongos debe ser manipulados cuidadosamente ya que se pueden perder estructuras básicas para su determinación.
- ❖ Para su transporte envuelva en papel parafinado, para evitar que los hongos se deshidraten y aquellos que tienen píleo o estructuras víscidas o pegajosas se adhieran al papel. Nunca utilizar bolsas plásticas.
- ❖ Las colecciones deben trasladarse, siempre en una canasta, al lugar de trabajo lo más rápido posible, con el fin de evitar daños o cambios morfológicos en las colecciones, que pueden interferir en la determinación de éstas. Una vez en el lugar de trabajo, descríbalas en el menor tiempo posible con el fin de evitar daños o cambios que puedan interferir en su determinación².

3. Descripción macroscópica de las colecciones

Las características macroscópicas que deben observarse en cada uno de los especímenes colectados dependen del grupo a que pertenecen y describir cada una de las estructuras con el máximo de detalles posibles es indispensable. Se citaran ciertas generalidades para realizar una descripción macroscópica. Se presenta una lista de características que deben tenerse en cuenta especificando en algunos casos, los grupos en que son más utilizados ².

4. Mapa esporico o esporada

La esporada se hace colocando el píleo entero (cuando existen suficientes especímenes) o una porción de éste (cuando existe uno o dos especímenes únicamente) con el himenio (lamelas, poros, dientes, venaciones, etc.) hacia abajo sobre un papel blanco o de otro color dependiendo del color del himenio. El papel blanco con el píleo se protege con papel cera o con una caja de petri invertida y se deja reposar por algunas horas hasta que las esporas sean depositadas. Se anota el color de las esporas en masa cuando están frescas y luego cuando la esporada

está seca. Si el cuerpo fructífero no es pileado, la esporada se lleva a cabo colocando la superficie fértil del espécimen en contacto sobre un papel blanco, se protege con papel cera y se deja reposar por algunos minutos u horas, hasta que las esporas sean depositadas ¹.

5. Descripción macroscópica

La descripción de las características macroscópicas se lleva a cabo únicamente con los especímenes frescos o recién recolectados, también puede hacerse con los especímenes secos. En las descripciones se menciona el color de estos cuando frescos y secos. . Es muy importante también tomar 2 o 3 fotografías con excelente calidad de los especímenes antes de describirlos, esto si no se tomaron fotografías directamente en el campo.

Muchos de los cuerpos fructíferos de los hongos que se recolectan puede ser divididos en tres partes (**píleo, himenio y estípite**); sin embargo algunas de esas partes podría no estar presente, o bien tratarse de un cuerpo fructífero totalmente diferente, esto dependiendo del grupo de hongos que se haya recolectado. En este caso, la descripción se hace anotando todas las características de las partes presentes, o bien describiendo cuidadosamente todas las características observables a simple vista y con lupa¹.

Generalmente, el orden para realizar una descripción macroscópica es la siguiente:

2.1. Píleo

Es la parte superior o sombrero de un ascocarpo o basidiocarpo.

2.1. a. Tamaño:

Se mide el diámetro cuando es circular, o la longitud y ancho cuando no lo es, con una regla graduada en mm o cm. Es recomendable cortar el espécimen longitudinalmente para facilitar la medición. Cuando la colección está formada por

más de dos especímenes, se establece un intervalo tomando en cuenta del más pequeño al más grande.

2.1. b. Forma:

Se anota la forma del píleo tanto en cuerpos fructíferos jóvenes como maduros. Es recomendable tomar en cuenta todas las formas presentes y establecer ámbitos.

Entre estas formas podemos encontrar: convexos, campanulados, cónicos, planos, parabólicos, cóncavos, elevados, infundibuliformes, depresados, mamilados, umbonados, umbilicados, etc.

En Poriales hay que tener en cuenta además de la forma, la manera en que el hongo estás adherido al sustrato.

2.1. c. Color:

El color del píleo se anota tomando en cuenta especímenes jóvenes y maduros, ya que algunos pueden cambiar con la edad. Es muy importante anotar el color del disco o zona central del píleo, o cualquier otra observación de color en otra parte del píleo cuando ésta sea diferente, y además es importante anotar el color del margen. También es importante describir si existe algún cambio de color cuando el hongo es manipulado. Todos los colores descritos deben ir respaldados por un código standard de colores.

2.1. d. Margen:

El margen del píleo de un hongo puede variar dependiendo del grado de expansión que éste haya alcanzado. Es recomendable cortar longitudinalmente el cuerpo fructífero para describir el tipo de margen, el cual puede ser: incurvado, decurvado, enrollado, plano, elevado, etc. Si el píleo es observado desde arriba, es decir con una vista superior sin haber sido cortado, este puede ser: entero, erodado, rimoso, apendiculado, etc. La textura del margen del píleo es otra característica que se debe anotar, la cual podría ser, entre otras, estriada, tuberculada-estriada, plicada-estriada, traslúcida-estriada, surcada, etc.

2.1. e. Superficie:

La textura y ornamentación de la superficie a menudo varían con la edad, con las condiciones ambientales, etc., por ello es muy importante describir la superficie del píleo en todos los especímenes que integren una colección, la cual puede ser, fibrilosa, escamosa, escuarrosa, pruinosa, tomentosa, velutinosa, glabra o lisa, areolada, pubescente, entre otras.

2.1.f. Contexto:

El contexto es el tejido carnoso interno y estéril que forma parte del píleo o del cuerpo fructífero en general, para lo cual se debe anotar consistencia y color.

La textura del margen del píleo es otra característica que se debe anotar, la cual podría ser, entre otras, estriada, tuberculada-estriada, plicada-estriada, traslúcida-estriada, surcada, etc.

2.1. e. Superficie:

La textura y ornamentación de la superficie a menudo varían con la edad, con las condiciones ambientales, etc., por ello es muy importante describir la superficie del píleo en todos los especímenes que integren una colección, la cual puede ser, fibrilosa, escamosa, escuarrosa, pruinosa, tomentosa, velutinosa, glabra o lisa, areolada, pubescente, entre otras.

2.2. Himenio o Superficie fértil

Es la superficie ya sea lisa, porosa, lamelada, dentada, verrucosa, reticulada, con venaciones, etc.; que generalmente está cubierta por estructuras reproductivas microscópicas tales como esporangios, ascos, basidios, conidios, los cistidios y las paráfisis son estériles cistidios, paráfisis, esporas, etc¹.

Cuando el himenio está constituido por lamelas, se debe anotar lo siguiente:

2.2. a. Tipo de unión:

Varía con la edad del espécimen, puede ser: libre, decurrente, subdecurrente, adnadas, anexas, sinuadas, emarginadas, etc¹.

2.2. b. Color:

Anotar el color y los cambios de color, si son observados, tanto en especímenes jóvenes como maduros¹.

2.2. c. Espaciamiento:

Se refiere al espacio entre una lamela y la siguiente, las cuales pueden ser: distantes, subdistantes, próximas, apiñadas, etc¹.

2.2. c. Grosor:

Anotar sí las lamelas son angostas, anchas, moderadamente angostas o anchas, etc. Es importante medir el ancho de las lamelas en cm o mm².

2.2. d. Margen:

Observar y anotar si el margen de la lamela es liso, con ranuras, dentado, erodado, serrado, serrulado o marginado (el margen tiene color diferente al resto de la lamela, en este caso se debe anotar el color)².

2.2.e. Lamélulas:

Lamelas muy pequeñas que no alcanzan a unirse al estípite o al punto de unión al sustrato en los casos en que no hay estípite. En este caso se anota el número de series observadas.

Si el himenio está constituido por poros, se debe tomar en cuenta lo siguiente: si es redondeado (con poros circulares), radialmente elongado (con poros alargados), daedaloide (con poros distribuidos en forma de laberinto), irregular (con poros redondos, radialmente elongados adaedaloides), angular (con poros cuyo contorno no es redondeado, sino en forma de angulo). También el número de poros por milímetro y el color¹.

2.3. Estípite

Es el pie que sostiene el píleo de un basidiocarpo, o de un ascocarpo, para lo cual se debe anotar:

2.3. a. Tamaño:

- a. Longitud (se mide en mm o cm de la base al ápice)¹.
- b. Ancho (generalmente se mide hacia el ápice, es recomendable cortar el espécimen longitudinalmente)¹.

2.3. b. Forma:

El estípite puede ser: igual o uniforme, bulboso, abruptamente bulboso, clavado, subclavado, con forma de tapón, radicado, etc¹.

2.3. c. Posición:

Se debe anotar sí el estípite es: central, lateral o excéntrico¹.

2.3.d. Color:

Anotar color y cambios de color tanto en especímenes jóvenes como maduros².

2.3. e. Superficie:

Puede ser húmeda, seca, o víscida. Las mismas características anotadas antes para la superficie del píleo se pueden utilizar para la superficie del estípite¹.

2.3. f. Contexto:

El tejido interno del estípite puede ser sólido, semi-relleno ó vacío¹.

2.3.g. Otras características:

- a. Micelio en la base del estípite (Anotar color y abundancia).

b. Prolongación del estípite en el sustrato.

c. Presencia de rizomorfos (semejantes a pequeñas raíces que corren en el sustrato, se debe anotar el color y la abundancia) ².

2.4. Anillo

El anillo son remanentes de un velo parcial que cubre el hongo en estadíos tempranos del desarrollo. Cuando este está presente, se debe describir la posición, si es movable o fijo y el color².

2.5. Volva

La volva son remanentes del velo universal que recubre todo el hongo en estadíos muy tempranos de desarrollo. Cuando se encuentre presente, se debe describir si tiene forma de saco, u otras formas descriptibles. Además si es membranosa, frágil, formando como parches o zonaciones en la base del estípite².

2.6. Hábito de crecimiento

Es la apariencia general externa y característica, o manera de crecer de un hongo. Anotar si crece en forma solitaria, esparcido, agrupado o formando racimos².

2.7. Sustrato

El micelio de los hongos crece y fructifica sobre una gran variedad de sustratos. De acuerdo con el sustrato utilizado los hongos poder ser terrícolas cuando crecen sobre el suelo, coprófilos si están creciendo sobre excrementos, lignícolas, los que crecen sobre madera; fungícola, cuando crecen sobre otros hongos; entogeno, si están creciendo sobre insectos; pirófilos, si crecen en el suelo quemado².

2.8. a. Terrestre: sobre suelo.

2.8. b. Coprófilo: sobre estiércol.

2.8. c. Lignícola: sobre madera

2.8. d. Fungícola: sobre otros hongos.

También pueden encontrarse hongos creciendo de forma parasítica sobre otros seres vivos².

6. Pruebas macroquímicas

Observar y anotar de acuerdo con los diferentes grupos de hongos, el color o cambios de color al agregar reactivos químicos en la superficie del píleo, contexto, superficie fértil, superficie y contexto del estípite, o bien en la superficie o contexto de hongos con otras formas de cuerpo fructífero. Observar y chequear aproximadamente entre 15 y 20 minutos. Los reactivos a utilizar pueden ser uno o varios de los siguientes¹:

- Sulfato ferroso acuoso al 10%
- Hidróxido de Sodio acuoso al 10%
- Hidróxido de Amonio acuoso al 10%
- Fenol acuoso al 2%
- Formaldehído acuoso al 40%
- Ácido sulfúrico, hidróclórico, nítrico, etc.

7. Preservación

Una vez hayan tomado las fotografías, descrita las colecciones, obtenido la esporada y realizado pruebas macroquímicas, se hace necesario preservar los especímenes. A excepción de algunos Phallales que pueden preservarse en medio líquido (FAA: formol, ácido acético, alcohol,) los demás Macromicetes deben secarse debidamente etiquetados, con aire caliente, para lo cual es recomendable utilizar una fuente de calor cuya temperatura no exceda los 60°C temperaturas más altas podrían cocinar los cuerpos fructíferos y hacerlo inservibles.

La fuente de calor puede ser el sol. Un calentador eléctrico, bombillos, un fogón de petróleo o estufa. De cualquier manera, el calor deber ir desde abajo, circular alrededor del espécimen y escapar por la parte superior. El secado debe ser lento y el tiempo puede ir desde pocos minutos hasta varias horas, dependiendo del tipo

de hongo y, en muchos casos, del sustrato en que estén, por ejemplo, para los hongos muy grandes y carnosos y leñosos, el tiempo de secado puede ser hasta de 24 horas.

Es recomendable cortar longitudinalmente basidiocarpos de cada una de las colecciones para facilitar el secado y la realización de cortes para el estudio microscópico. Los hongos nunca deben secarse o preservarse entre hojas de papel periódico o prensas para las plantas.

Cuando los especímenes se han secado totalmente, estos se colocan en bolsas plásticas tomándolos (con su respectiva etiqueta) directamente del deshidratador para no dar oportunidad de que absorban humedad. En regiones muy húmedas se recomienda agregar una pequeña cantidad de desecante (**Sílica gel**) dentro de las bolsitas plásticas y así proteger la colección de la humedad y del crecimiento de mohos².

Cada colección debe acompañarse de una etiqueta de referencia que debe incluir:

- Predeterminación (género o especie, si se conocen)
- Localidad (si es posible coordenadas geográficas)
- Fecha
- Datos del sustrato (cuando sea Posible)
- Colector y numero de colección

8. Identificación

La identificación de los especímenes generalmente se lleva a cabo en dos pasos; uno es la identificación provisional que se le da a los especímenes en el campo, o bien en el laboratorio y es revisada macroscópicamente por los curadores.

Otra es la identificación que se lleva a cabo con el estudio de las estructuras microscópicas y el uso de claves taxonómicas, lo cual puede llevar desde horas hasta días; dependiendo de la disponibilidad de literatura y otras colecciones disponibles, además del estudio del material que hacen nuestros expertos tanto

nacionales como internacionales. También por comparación con muestras de herbario cuando el material es estéril¹.

El estudio microscópico incluye cortes longitudinales, radiales y tangenciales de las diferentes partes del hongo, así como la prueba con diferentes reactivos químicos como KOH al 3%, Amonio, reactivo de Melzer, entre otros; y de tinciones como Rojo Congo, Azul de Algodón, Azul de Crezil, Floxina, etc. Se debe estudiar entre otras cosas las hifas (tipo, grosor color), forma y tamaño de las esporas¹.

9. Mantenimiento de la colección

Todos los especímenes de macrohongos que ingresan a las colecciones deben estar debidamente preservados y con una identificación, al menos provisional.

Es importante aclarar, que para macrohongos, una recolección significa, una bolsa (cuando viene del campo) o una caja (cuando ya está en el Herbario) que contiene de uno a varios individuos pertenecientes a una misma especie, recolectados en una determinada fecha y lugar, y con sus respectivas notas descriptivas. Además para macrohongos, cada recolección es un testigo, con datos de lugar y descripción totalmente aparte.

Cada recolección, dependiendo del tamaño, se coloca en cajas de cartón con tapa, cuyos tamaños son principalmente (largo x alto x ancho en cm) de **9 x 5.5 x 3; 12 x 9.5 x 4; 15 x 9.5 x 5; 17.5 x 11 x 5; 19 x 14 x 5; 20 x 15 x 6.5; 23x 16.5 x 5.5**; aunque en casos especiales, puede necesitarse un tamaño adicional más grande. Las recolecciones se pueden colocar directamente sobre la caja, envueltas en papel libre de ácido (**A-F TISSUE PAPER - UNBUFF**), o bien pasar las a bolsas con cierre y colocarlos dentro de las cajas. Los tamaños de las bolsas con cierre (largo x ancho en cm) son **3 x 4; 3 x 5; 4 x 6; 5 x 8**; y de (largo x ancho en mm) **165 x 155; 170 x 200; y 270 x 285**.

Cuando los datos de los especímenes se encuentren en la base de datos, se obtienen las etiquetas tanto pequeñas (que se colocan dentro de la caja) como las grandes (que se pegan sobre la tapa de la caja).

Las etiquetas grandes deben ser hechas sobre papel bond con 5 - 6 cm de alto y 9 - 10 cm de ancho; con información de fecha, sitio de recolecta, recolector, número de colector, persona que identifica, especie, identificación (preferiblemente que incluya hasta el nivel de orden), coordenadas, altitud, y código de barras ó número consecutivo de herbario. Se debe utilizar tinta indeleble. Las etiquetas pequeñas serán hechas sobre el mismo material y tinta que las etiquetas grandes, y con un tamaño aproximado de **1.5 - 2cm de alto x 2.5 - 3cm** de ancho; donde se incluye el nivel taxonómico, fecha y sitio de recolecta y número de recolector.

Los especímenes, por el momento, se colocan clasificados por órdenes y rotulados en la parte externa de los anaqueles, las familias están anotadas en la parte interna de las puertas, y en cada espacio interno están los géneros y las respectivas especies (cuando las hay). Los gabinetes son de metal, de 60 cm de alto, 30 cm de ancho y 30 cm de fondo.

Los especímenes son revisados periódicamente, para evitar problemas de absorción de humedad, así como problemas de contaminación por otros hongos, insectos, etc. Además se realizan al menos 4 procesos de fumigación por año, dependiendo del tipo de sustancia utilizada, pueden ser menos al año³.

10 .Bases de datos

Las descripciones morfológicas de los especímenes realizadas en el campo, son ingresadas en un capturador de datos. Estos datos ingresados al capturador, serán más adelante accesados por medio de la base de datos institucional, la cual brinda información sobre las identificaciones y datos de sitios.

Las identificaciones y datos de sitios y fechas de recolecta son ingresadas por el técnico a la base de datos institucional, la cual genera etiquetas, que luego son colocadas sobre las cajas de cartón que contienen los especímenes.

Las imágenes tomadas en el campo ó en el laboratorio, son seleccionadas según enfoque, nitidez y representatividad, para ingresarlas a la Base de Datos de Imágenes institucional¹.

11. Envío de especímenes

La salida del material, depende de la aprobación de los permisos de exportación de exportación, según las necesidades y posible uso de las colecciones¹.

A. Préstamo de especímenes

Los especímenes podrán ser enviados en calidad de préstamo ó donación para fines de identificación u algún otro tipo de estudio taxonómico. El número de colecciones que salgan de la institución tendrá que ser aprobada por el encargado, de manera que no se dañe la colección, pero que tampoco limite el trabajo del especialista.

El período de tiempo que el especialista tendrá los especímenes, es de seis meses o resultará de un acuerdo entre el encargado y el especialista, sin embargo en caso de vencimiento del préstamo, el especialista podrá solicitar una extensión del mismo, mediante una nota escrita o comunicación directa con el encargado¹.

b. Donación de especímenes

Es tradicional entre algunos taxónomos, que su trabajo de identificación sea recompensado con la donación de algunos especímenes de interés para ellos. En nuestro caso, es posible, que aunque el taxónomo no lo indique, podamos donarle algunos especímenes, retribuyendo y reconociendo de alguna manera la ayuda brindada. Por lo tanto, será criterio del encargado, la cantidad y calidad de especímenes que serán donados, de manera que no se dañen las colecciones de la institución.

El especialista o institución que recibe la donación, deberá devolver la fórmula de donación de especímenes a la institución, directamente a la Curadora, especificando el estado general de dichos especímenes y con la firma de la persona que recibe la donación¹.

12. Bibliografía

1. INBIO, (2009). Documento borrador referencia protocolo de manejo de colecciones de hongos.
2. Cepero María, C., Restrepo, S., Franco, A. Cárdenas, M, y Vargas, N. (2012). Biología de Hongos, (1^{ra} ed.) Bogotá Colombia.

Portales:

3. INBIO. Recuperado el 01 de Marzo de 2015 de: <http://www.inbio.ac.cr/>
4. Halling, R.E. and G. M Mueller. 2006. Macrofungi of Costa Rica recuperado el 05 de marzo de 2015 Disponible en: <http://www.nybg.org/bsci/res/hall/costaric.html>.

CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA - CIBUQ

COLECCIÓN DE LIQUENES

Los líquenes son seres enigmáticos y complejos cuyos cuerpos vegetativos (talos) son el resultado de asociaciones simbióticas cíclicas entre, al menos, un hongo heterótrofo (micobionte) y un socio fotosintético (fotobionte), unicelular o cenobial, que es el que sintetiza los azúcares necesarios para el metabolismo, liberando oxígeno en el proceso. Los fotobiontes pueden ser cianobacterias de color verdeazulado —procariotas— y/o algas verdes unicelulares —eucariotas—. Los mico-biontes más comunes son hongos ascomicetos. De este estrecho contacto físico, interacción mutualista, se originan talos liquénicos estables con morfología, anatomía, fisiología, genética y ecología específicas, los cuales, en realidad, no son más que individuos complejos resultantes de la integración de los simbiontes (holo-biontes), que es obligada para los participantes³.

Importante resaltar que existen muchas formas de recolectar, procesar y describir los especímenes, principalmente en el campo, esto dependiendo de los grupos de con los que se está trabajando; a continuación se presenta una metodología general para la recolecta y colección de líquenes.

1. COLECTA DE ESPECÍMENES

Muestrear todos los árboles, arbustos e incluso rocas en una área de 10m a cada lado de un transecto de 50 m, trazado sobre un sendero dentro del bosque. Usualmente no es necesario muestrear nuevamente el mismo sitio, ya que la comunidad de líquenes es muy estable. En consecuencia, escoger distintos senderos cada año para muestrear. Hacer la mayor cantidad de estos transectos en la medida que el tiempo lo permita, y preferiblemente muestrear cada tipo de vegetación¹.

Resulta indispensable llevar a cabo el siguiente procedimiento para que las colecciones tengan valor científico:

- 1.1. Recolectar los especímenes sobre una amplia variedad de sustratos (árboles, troncos caídos, rocas, musgo, suelo, hojas, etc.); ésta actividad se lleva a cabo con una cuchilla o puñal, tratando de cortar parte del sustrato si el espécimen está muy adherido, como ocurre en los talos crustáceos o leprosos. en algunos casos los talos foliosos y fruticosos se desprende con facilidad del sustrato
- 1.2. Para recolectar los que viven sobre rocas se necesita un cincel y un mazo, mientras que una podadora es útil para cortar ramas pequeñas. Una lupa 10x es esencial para observar algunas de las características morfológicas más importantes.
- 1.3. Registramos los datos ecológicos básicos para cada espécimen, tal como tipo del sustrato, especie del hospedero (si sabemos el nombre científico o vulgar de la planta donde recolectamos el liquen), y exposición o índice de luz (en cinco categorías: si el espécimen es recolectado en un lugar totalmente sombreado le asignamos 1; si está semi-expuesto le asignamos 3 y si lo encontramos en un sitio completamente expuesto a la luz le asignamos 5).
- 1.4. tomar fotografías de cada una de las colecciones puede hacerse en campo, en el laboratorio o lugar de trabajo.
- 1.5. Las muestras recolectadas se almacenan en bolsas de papel (¡nunca de plástico!) y ser transportadas en una canasta o maleta sin que se presione. Una vez en el lugar de trabajo, describir el tipo de talo.
- 1.6. Durante la recolecta se deben tomar además los siguientes datos:**

Localidad: país, provincia, cantón, área de conservación, área protegida, área privada sendero, coordenadas geográficas.

Hábitat: Descripción breve del tipo de bosque, orillas de camino, áreas de pastoreo, iluminación.

Sustrato: suelo, roca, corteza (en lo posible el nombre científico y/o vulgar del árbol), hojas (en lo posible el nombre científico y/o vulgar del árbol, arbusto, hierba, liana, etc.).

Altitud: Sobre el nivel del mar.

Fecha: Cuando se realizó la colección; especificar día, mes y año.

Recolector y número de colección: Nombre y apellido del recolector o recolectores, y el número de colección.

- 1.7. Para la deshidratación se recomienda sacar los especímenes de las bolsas y dejarlos encima. No hay necesidad de usar deshidratadores u hornos, como ocurre en los cuerpos fructíferos de Basidiomycota, ya que los talos de los líquenes son más pequeños¹.

2. Materiales básicos:

- ❖ Navaja cuchillo
- ❖ Lupa
- ❖ Bolsas de papel
- ❖ Libreta de campo
- ❖ Fichas y láminas guías de las formas de cada estructura
- ❖ Cámara fotográfica

3. Descripción macroscópica

Hacer una descripción macroscópica de acuerdo con las características o los talos, definiendo si son microlíquenes o macrolíquenes².

4. Microlíquenes

- ❖ Líquenes leprosos con apariencia polvorienta
- ❖ Líquenes crustáceos fuertemente unido al sustrato, con apariencia areolada a lobada.
- ❖ Líquenes gelatinosos, presentan apariencia mucilaginosa.

5. Macrolíquenes

- ❖ Líquenes foliosos con apariencia de hoja, unidos al sustrato por medio de rizinas.
- ❖ Líquenes fruticosos con forma de arbustos ramificados en mayor o menor grado.

6. Preservación

- ❖ Los especímenes recolectados se deben secar al aire libre o con un deshidratador de alimentos a temperaturas no mayores de 40 grados centígrados.
- ❖ Los líquenes crustáceos deben ser prensados en una prensa de las mismas que se utilizan para plantas vasculares
- ❖ A cada espécimen es recomendable hacerle una descripción breve (color, tamaño, presencia de estructuras morfológicas, forma, etc.) junto con los datos de campo.
- ❖ Se guarda cada espécimen en un sobre de periódico y se marca con el número de colección correspondiente al recolector².

7. Revisión

- ❖ Los especímenes traídos del campo se revisan para ver si están bien secos y si no tienen ningún nivel de contaminación
- ❖ Cada espécimen es guardado en un sobre de papel bond de aproximadamente 16 cm de largo x 11 cm de ancho y estos sobres llevan dentro una cartulina barnizable número 16 de 14.3 cm de largo x 9.5 cm de ancho.
- ❖ Los líquenes crustáceos son pegados con cola blanca sobre esta cartulina y se mantienen fuera hasta que el espécimen pegue bien y luego son guardados nuevamente dentro del sobre.
- ❖ Todos los sobres deben tener por fuera la información correspondiente al recolector, número de colecta, sustrato e índice de luz, asignado a cada espécimen³.

8. identificación

Al igual que en el grupo de los macrohongos, la identificación de los especímenes generalmente se lleva a cabo en dos pasos:

Uno es la identificación provisional que se le da a los especímenes en el campo, o bien cuando llega a la institución respectiva y es revisada por el Curador en el estereoscopio, observando las estructuras macroscópicas (**color del talo, tamaño, forma, cuerpos fructíferos, presencia o ausencia de soledios e isidios, color de la superficie inferior y superior, presencia o ausencia decilios, rizinas, cifelas, pseudocifelas, máculas, etc.**). Otra es la identificación final que se lleva a cabo con el estudio de las estructuras microscópicas y el uso de claves taxonómicas¹.

El estudio microscópico incluye cortes verticales del talo y de los cuerpos fructíferos, los cuales pueden ser teñidos con:

- ❖ Lactofenol Azul o Azul de Algodón para observar mejor sus componentes.
- ❖ El estudio microscópico también es llevado a cabo por los expertos preferiblemente para una buena identificación.

Los líquenes poseen una serie de componentes químicos que nos ayudan a determinar grupos complejos de especies. Estas se estudian sistemáticamente utilizando métodos sencillos o complejos que permiten detectarlas en el tejido cortical del talo o en las paredes celulares.

La quimiotaxonomía en líquenes se ha enfocado en el uso taxonómico de los datos de metabolitos a nivel de especie. Dentro de los compuestos se encuentran los llamados ácidos liquénicos y otros tipos de sustancias¹.

Las sustancias liquénicas nunca ocurren en grandes cantidades, por lo cual su detección e identificación involucran técnicas especiales, como lo son:

- ❖ **Tests de coloración:** orientado exclusivamente a detectar macroscópicamente la presencia de grupos de compuestos químicos, evidenciando cambios de color (en el talo, corteza y médula). Los cambios de coloración se consideran positivos e indican la presencia de un grupo de compuestos determinados; se considera negativo si no hay cambio de color.
- ❖ **Test C:** se emplea como reactivo una solución acuosa saturada de hipoclorito de calcio. Como sustituto se usa un blanqueador líquido comercial con cloro activo.
- ❖ **Test K:** se usa como reactivo una solución acuosa de hidróxido de potasio. Esta solución se prepara al 10-25% y es más estable que el test C.
- ❖ **Test KC:** es una mezcla de hipoclorito de calcio con hidróxido de potasio. Primero se aplica K e inmediatamente C¹.

9. Mantenimiento de la colección

Todos los especímenes que ingresan a la colección deben estar debidamente preservados, montados en los sobres de papel bond y con una identificación, al menos provisional, se colocan en un congelador a -4 grados centígrados por una semana, como parte de la cuarentena. Luego de esto pasan a formar parte de la colección general. Aquí serán guardados en anaqueles de 1 m con 58.5 cm de largo x 69 cm de ancho.

Los especímenes en la colección deben estar ordenados por orden alfabético.

Cuando los datos de los especímenes se encuentren en la base de datos, se obtienen las etiquetas grandes (Ver Mantenimiento de la Colección. Macrohongos)¹.

El inventario basado en parcelas tiende a generar grandes cantidades de especímenes, por lo tanto se requiere de una política para recibir las muestras para evitar que el herbario se sature de colecciones redundantes (tanto en tiempo de procesamiento como en espacio físico). En general se recomienda retener de 2 a 3 muestras buenas por sitio de cada taxón. Especies comunes, así como aquellas pobremente representadas, deben montarse mediante pequeños fragmentos que se incluyen como adiciones en otras

muestras del mismo microhábitat. La base de datos debe tener la capacidad de recuperar tales adiciones³.

10. Bases de datos

La información de los especímenes recolectados se digita en una base de datos de las recolectas e imágenes de líquenes sigue los mismos parámetros que lo anotado para Macrohongos ¹. (Ver Base de datos de Macrohongos.)

11. Envío de material

El sistema de envío de material, como donación ó préstamo, rige de la misma manera que la especificada para el grupo de macrohongos¹

12. Bibliografía

1. NBIO, (2009). Documento borrador referencia protocolo de manejo de colecciones de hongos.
2. Cepero María, C., Restrepo, S., Franco, A. Cárdenas, M, .y Vargas, N. (2012). Biología de Hongos, (1ra ed.) Bogotá Colombia.

Portales:

3. INBIO. Recuperado el 01 de Marzo de 2015 de: <http://www.inbio.ac.cr/>

