PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

MUSEO DE ZOOLOGÍA

SECCIÓN MASTOZOOLOGÍA

REGISTRO DE DATOS, PREPARACIÓN Y PRESERVACIÓN DE ESPECÍMENES MASTOZOOLÓGICOS

PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN EN CAMPO

M. ALEJANDRA CAMACHO

Septiembre, 2025

Contenido

1. Documentos legales 4
1.1. Permiso de investigación 4
1.2. Patente de funcionamiento para medios de conservación y manejo ex-situ de vida silvestre 6
1.3. Guía de movilización 6
1.4. Permiso de Exportación 7
2. Preparativos para una salida de campo 8
2.1. Materiales que provee el QCAZ-M 8
2.2. Etiquetas de campo 8
2.2.1. Los números personales de colector 8
2.3.2. Los números de campo QK-M 9
3. Recolección de Especímenes 12
3.1. Métodos de captura y eutanasia 12
3.2. Registro de datos 12
3.2.1. Cuaderno de campo del colector 13
3.2.2. El catálogo de campo QCAZ-M 13
3.2.3. ¿Cómo llenar los campos de la hoja de catálogo QCAZ-M? 15
4. Preparación de especímenes testigo 19
4.1. Especímenes secos – Pieles 19
4.1.1. Registro de datos 19
4.1.2. Preparación 19
4.1.3. Relleno 24
4.1.4. Etiquetamiento 25
4.1.5. Montaje 26
4.1.6. Secado 28
4.2. Especímenes en alcohol – Enteros en Fluido 28
4.2.1. Registro de datos y preparación 28
4.1.2. Fijación 29
4.1.3. Preservación 31
4.1.4. Transporte 31
4.3. Recolección de tejidos 31

4.3.1. Extracción de muestras 31
4.3.2. Etiquetamiento 32
4.3.3. Preservación 33
4.3.4. Transporte 33
4.4 Fotografías 33
Literatura citada 34

1. Documentos legales

Con base en la normativa vigente del Ministerio de Ambiente y Energía del Ecuador y en las Políticas de la Sección de Mastozoología del Museo de Zoología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCAZ-M), los científicos nacionales y extranjeros interesados en realizar un proyecto de investigación en cualquier área del territorio nacional continental deberán contar con los siguientes documentos.

1.1. Permiso de investigación

Los investigadores nacionales y extranjeros que deseen colaborar con la Sección de Mastozoología del Museo de Zoología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCAZ-M) y realizar actividades de recolección de especímenes de fauna silvestre deberán seguir estrictamente el procedimiento establecido por el Ministerio de Ambiente y Energía, a través del Sistema Único de Información Ambiental (SUIA).

1.1.1. Registro en el sistema

El investigador principal debe registrarse en la plataforma del SUIA (https://biodiversidad.ambiente.gob.ec/biodiversidad-web/inicio/index.html). En caso de no contar con un usuario, deberá crear una cuenta con sus datos personales e institucionales.

1.1.2 Llenado de la propuesta de recolección en línea

El investigador deberá completar la Propuesta de Recolección directamente en el sistema. Esta sección corresponde al perfil técnico del proyecto y debe incluir obligatoriamente:

- Título del proyecto.
- Área de estudio: provincia(s), cantón(es), parroquia(s), coordenadas UTM y altitud.
- Justificación y duración estimada de la investigación.
- Objetivos generales y específicos.
- Metodología, detallando:
    - Tipos de manipulación.
    - Protocolos específicos por grupos biológicos.
    - Técnicas de observación.
    - Tipos de marcas, si aplican.
    - Métodos de recolección, manejo y transporte de especímenes.
    - Lista de materiales y equipos.
    - Justificación de número de especies y especímenes.
    - Sitios de muestreo (coordenadas UTM).
    - Manejo y condiciones del hábitat.
- Resultados esperados y métodos de análisis.
- Impactos ambientales potenciales y medidas de mitigación.
- Equipo técnico: nombres completos, roles, instituciones y responsabilidades.

- Cronograma de actividades, con fechas clave y entregables.
- Información de financiamiento y auspicios, en caso de corresponder.

1.2.3 Envío y revisión de la propuesta

Una vez completada, la propuesta deberá enviarse a través del SUIA. El sistema notificará al investigador sobre la aprobación o requerimientos de corrección por parte del Ministerio de Ambiente y Energía.

1.2.4 Pago de tasa administrativa

El investigador debe cancelar la tasa establecida de USD 20,00 a través del BanEcuador (cuenta N.° 3001480604, sublínea 190499) y registrar el comprobante de pago en el sistema.

1.2.5 Recepción de la autorización

Tras el registro del pago, el sistema emitirá la Autorización de Investigación Científica. El documento podrá ser descargado directamente desde el SUIA.

1.2.6 Consideraciones adicionales

Se recomienda guardar el número de trámite otorgado luego enviar la propuesto. Esto permite la trazabilidad de documentos previo a la autorización o rechazo de la propuesta

Todos los documentos y propuestas deben presentarse en idioma español.

El tiempo de revisión del MAATE puede tomar entre 30 y 120 días, por lo que se recomienda planificar las solicitudes con la debida anticipación.

Es responsabilidad del investigador cumplir con la entrega de informes parciales y finales, así como copias digitales de publicaciones, fotografías, grabaciones u otros productos generados durante la investigación, según los términos del permiso.

Cualquier incumplimiento en la información presentada o en los compromisos adquiridos puede conllevar a la anulación del permiso, la negación de futuras solicitudes y sanciones conforme a la legislación ecuatoriana.

1.2. Patente de funcionamiento para medios de conservación y manejo ex-situ de vida silvestre

La *Patente de funcionamiento para medios de conservación y manejo ex-situ de vida silvestre* es un documento legal otorgado por el Ministerio del Ambiente y Energía del Ecuador a la Sección de Mastozoología del Museo de Zoología de la PUCE que le faculta la tenencia y manejo ex situ de vida Silvestre, de acuerdo al Texto Unificado de Legislación secundaria de medio ambiente - Art(s). 121, 122, 123, 124, 125.[1]

Todo investigador o consultor, nacional o extranjero, que trabaje o esté colaborando en proyectos que involucren la recolección de especímenes que luego serán depositados de forma permanente en el QCAZ-M deberá tener UNA COPIA de la Patente del año corriente.

1.3. Guía de movilización

Tras concluir la fase de campo del estudio, en caso de haberse recolectado especímenes, los investigadores deberán obtener una Guía de Movilización que autorice el transporte de los ejemplares a ser depositados en la colección permanente del QCAZ-M.

El Investigador Principal deberá ingresar a la plataforma del **SUIA** (https://biodiversidad.ambiente.gob.ec/biodiversidad-web/inicio/index.html) y acceder al sistema **SIB-EC** con su cuenta. En el menú de servicios deberá seleccionar la opción *"Guías de movilización"* y crear una nueva solicitud.

El sistema desplegará los permisos de investigación vigentes asociados a la Sección de Mamíferos del QCAZ. El investigador deberá seleccionar el permiso que le facultó la recolección de los especímenes a movilizar y completar el formulario con la siguiente información:

- Datos del responsable de las muestras o especímenes a transportar (nombre(s) y número(s) de cédula).
- Origen y destino de los especímenes.
- Fecha de inicio y fin de la movilización.
- Detalles del material biológico a movilizar (especie, tipo número de muestras).

Una vez ingresados todos los datos, el sistema generará un documento descargable. Es obligatorio portar esta guía durante el traslado ya que podrá ser solicitada por las autoridades ambientales en cualquier momento.

El trámite no tiene costo y su validez se limita al período indicado en la solicitud.

---

[1] **Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente, Libro IV, Título II, artículos 121 a 125.** Ministerio del Ambiente del Ecuador. https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/05/TULSMA.pdf

Importante: Los especímenes recolectados bajo un Permiso de Investigación que ingresen al Museo sin la respectiva Guía de Movilización **no podrán ser aceptados** en la colección permanente del QCAZ-M.

1.4. Permiso de Exportación

Todas las muestras de especímenes faunísticos colectadas en el marco de una investigación o consultoría son propiedad de la República del Ecuador. Como custodio autorizado, el QCAZ-M puede gestionar la exportación de dichas muestras, de acuerdo con lo estipulado en su Patente de Funcionamiento.

Antes de ser exportados, todos los especímenes y sus respectivas muestras de tejidos deben ser previamente ingresados a la colección permanente, con el fin de generar y registrar en la base de datos un Recibo de Préstamo. Este documento descargable contiene la información de los ejemplares que serán prestados temporal o permanentemente y constituye el insumo principal para solicitar el Permiso de Exportación, en caso de que los ejemplares salgan del país por vía aérea.

Un Permiso de Exportación es la autorización oficial que habilita la salida legal de especímenes y muestras del territorio ecuatoriano, garantizando además su ingreso al país receptor. Este permiso es emitido por el Curador del QCAZ-M, quien valida que los ejemplares cumplen con todos los requisitos legales y de conservación para su movilización internacional.

Requisitos para la generación del Permiso de Exportación:

- Carta de solicitud donde se especifiquen los objetivos de la exportación.
- Nombre de la persona responsable de la importación en la institución extranjera, acompañado de su número de pasaporte o documento de identificación.
- País de destino, nombre y dirección completa de la institución receptora.
- Número y fecha del vuelo.
- Descripción de los taxones, cantidad de ejemplares y número de contenedores.

El Permiso de Exportación es además requisito para obtener el Certificado Zoosanitario Internacional emitido por Agrocalidad, entidad encargada de garantizar que los especímenes se trasladan libres de plagas o enfermedades que puedan afectar a la fauna o a la salud pública. La obtención de este certificado es responsabilidad de la persona que transporta los especímenes y puede implicar el pago de tasas administrativas. La duración estimada del trámite es de uno a tres días hábiles.

De acuerdo con la legislación vigente, ninguna muestra exportada con fines de investigación podrá ser utilizada con fines comerciales ni en actividades de bioprospección.

2. Preparativos para una salida de campo

2.1. Materiales que provee el QCAZ-M

El QCAZ-M podrá facilitar al colector principal y a su grupo de colaboradores ciertos materiales y equipos de recolección, siempre que se encuentren disponibles. No obstante, cada proyecto de investigación deberá contar con su propio presupuesto para la adquisición de materiales y equipos de campo, ya que el museo no provee la totalidad de los insumos necesarios.

Material en calidad de préstamo (retornable):
Pesolas®, calibradores, equipo de disección, carpas, trampas, redes de neblina, equipos de grabación de ultrasonidos y dispositivos GPS. Todo material prestado debe ser devuelto en las mismas condiciones en que fue entregado.

> *Nota:* Las trampas y redes de neblina del QCAZ-M no podrán ser prestadas en su totalidad debido a su desgaste y fragilidad. Su uso se priorizará para investigadores y colaboradores directos del museo.

Material no retornable (consumible):
Alcohol al 75%, alcohol al 96%, formol al 10%, algodón, etiquetas de campo QK-M, catálogos de colección y tubos Eppendorf.

Material no provisto por el QCAZ-M:
El museo no suministra materiales perecibles para cebos, cámaras fotográficas, envases herméticos para transporte de muestras, equipo de protección personal, medicamentos ni material fungible (como baterías, hilo, alfileres, agujas o planchas de montaje). Estos insumos deberán ser adquiridos con el presupuesto del proyecto y canalizados a través de la institución financista.

2.2. Etiquetas de campo

2.2.1. Los números personales de colector

Los números personales de colector corresponden a la serie numérica ordenada establecida por cada investigador. Estos números suelen llevar un prefijo conformado por letras que, por lo general, corresponden a las iniciales del nombre del colector (por ejemplo: DTS-1234, SB-1234). En caso de no utilizar las iniciales, podrá asignarse un prefijo que abrevie el nombre de la expedición o de la localidad de recolección.

Los especímenes identificados únicamente con números personales de colector serán aquellos que se depositen en el QCAZ-M como resultado de investigaciones o expediciones independientes al museo, cuyos responsables decidan entregar los ejemplares a la colección, pasando el QCAZ-M a ser custodio legal de los mismos.

En todos los casos, no se aceptará ningún espécimen que no cuente con su respectiva etiqueta de campo debidamente asociada.

2.3.2. Los números de campo QK-M

Los números QK-M corresponden a una secuencia de numeración impresa en material de archivo, donada en 2004 al QCAZ-M por el Natural Science Research Laboratory de Texas Tech University (TTU). Estos números se entregan al colector principal antes de cada salida de campo y deben ser utilizados exclusivamente en actividades de campo.

La principal razón para mantener esta numeración estandarizada es evitar confusiones con los números personales de cada colector, garantizando así la existencia de un único catálogo de colecta consecutivo. Dicho catálogo debe completarse de forma detallada y ser entregado al Administrador de Colecciones al finalizar la fase de campo.

El uso de números de campo QK-M no excluye que los colectores mantengan sus propios números personales con acrónimos individuales (p. ej., DTS-1234; SB-1234). Sin embargo, es obligatorio que cada número personal se asocie al número QK-M correspondiente del espécimen y que esta relación quede registrada en el cuaderno de campo personal. Una copia de dicho cuaderno deberá ser depositada en el QCAZ-M. Se recomienda, además, que cada espécimen posea una sola etiqueta de campo para evitar duplicidad de información.

La serie de números QK-M consiste en diferentes tipos de etiquetas asociadas a cada número, diseñadas para etiquetar los distintos tipos de preparaciones y material asociado. Esto incluye:

- *Etiquetas plásticas para especímenes preservados en fluido*: pequeñas etiquetas de plástico (1×1 cm), impresas con láser, que incluyen el número QK y un código de barras (Figura 1). Cada etiqueta debe perforarse una vez y sujetarse al ejemplar con hilo blanco de algodón 100%. Estas etiquetas se emplean únicamente en ejemplares preservados en fluido y no deben ser retiradas bajo ninguna circunstancia. Desde 2024 estas etiquetas ya no están disponibles; en su lugar se emplean etiquetas de papel plastificado (Polypaper®), con el número QK escrito a mano.



Figura 1. Etiqueta plástica de para ejemplares que se almacenarán permanentemente en fluido

- *Etiquetas de papel para especímenes preservados en seco:* Se trata de una tira compuesta por tres etiquetas de papel resistente, asignada a un único ejemplar. La distribución es la siguiente:

  Etiqueta "piel": corresponde a la primera etiqueta de la tira. Debe perforarse dos veces y atarse al ejemplar con hilo blanco 100% de algodón (Figura 2A). Se utiliza exclusivamente para identificar a los ejemplares preservados en seco como piel. Esta etiqueta no podrá ser retirada bajo ninguna circunstancia.

  Etiqueta "cráneo": corresponde a la segunda etiqueta de la tira. Debe sujetarse firmemente al cráneo extraído de la piel, el cual será transportado en alcohol al museo para su limpieza en el dermestario (Figura 2B).

  Etiqueta "esqueleto": corresponde a la tercera etiqueta de la tira. Debe atarse al cuerpo (post-extracción de piel y cráneo), también transportado en alcohol al museo para su limpieza en el dermestario (Figura 2C).

Durante el proceso de limpieza en el dermestario, las etiquetas de cráneo y esqueleto (Figuras 2B y 2C) pueden perderse o ser retiradas como parte del procedimiento final. Por ello, es indispensable mantener un control estricto de dermestario (ver sección correspondiente) y registrar previamente el número QCAZ directamente en el cráneo y esqueleto post-craneal. Posteriormente, las etiquetas deberán ser eliminadas de forma definitiva para evitar su reutilización indebida

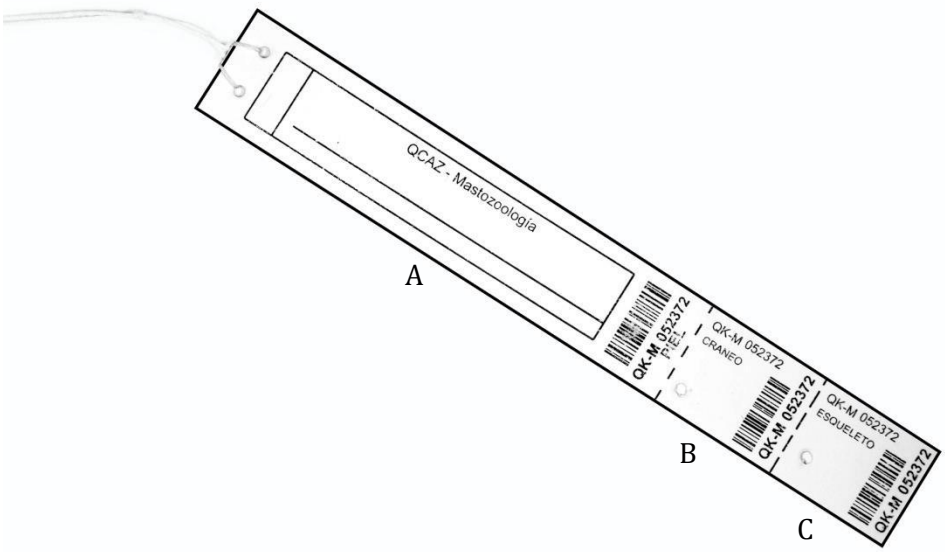


Figura 2. Tira de etiquetas para ejemplares que se almacenarán permanentemente en seco. A. Etiqueta para pieles; B. Etiqueta para cráneos; C: Etiqueta para esqueleto post-craneal.

- *Autoadhesivos para muestras de tejido:* Cada número de la serie QK-M tiene asociado una serie de autoadhesivos que identificarán las muestras de tejido que se obtengan del ejemplar (Figura 3). Consisten en dos autoadhesivos para muestras de músculos (muscle), dos para muestras de hígado (liver) y dos con la inscripción "Otro/Other" en donde se anotará con letra legible el tipo de muestra o tejido que se almacenará, por ejemplo: ala (wing); ectoparásitos (ectoparasites); endoparásitos (endoparasites); embrión (embryo); lengua (tongue); testículos (testes); pelo (hair). Adicionalmente debe anotarse el medio de preservación de la muestra. Estas etiquetas ya no están disponibles desde 2024. En su lugar se colocarán etiquetas de papel plastificado (Polypaper®) con el número QK escrito a mano.



Figura 3. Autoadhesivos para identificar las copias de muestras de tejidos obtenidas de los ejemplares.

- *Hojas en blanco del catálogo de colección:* Cada número de la serie QK-M viene asociado a una hoja de catálogo en blanco en donde se deben llenar todos los datos de colección. Estas hojas deben mantenerse y completarse guardando orden, pulcritud y exactitud y deberán entregarse al Administrador de Colecciones tan pronto como termine la fase de campo (ver sección El catálogo de campo QCAZ-M)

Al colector principal de un equipo de trabajo se le asignará la cantidad adecuada de números QK-M, dependiendo de la duración y objetivos de la salida de campo. Los números se encuentran previamente agrupados en grupos de 50. El colector principal es el responsable de

mantener el orden del catálogo de colección y garantizar que los números de campo se utilicen adecuadamente. No se deben dejar números sin utilizar ni tomarlos al azar de la serie asignada.

¿Qué hacer con los números QK-M que sobran?

En caso de sobrar números QK-M, se los almacenará en orden. Estos serán entregados al Administrador de Colecciones tan pronto como acabe la fase de campo. Los números restantes podrán ser reasignados a otro colector.

¿Qué hacer si los números QK-M son insuficientes?

En caso de que los números QK-M asignados sean insuficientes para las colectas de una salida de campo, los colectores podrán asignar a los ejemplares números personales de campo, siguiendo su propio orden secuencial y usar el catálogo de campo con estos números.

3. Recolección de Especímenes

Si bien los especímenes que se recolectan como parte de una investigación científica o de un trabajo de consultoría son la evidencia de la presencia de una especie en un determinado lugar y tiempo y constituyen la herramienta esencial para la integridad del conocimiento biológico, si no tienen información asociada virtualmente son inútiles y carecen de valor científico.

3.1. Métodos de captura y eutanasia

Antes de iniciar un trabajo de campo, se recomienda a los investigadores familiarizarse con los lineamientos éticos y procedimientos para el estudio y manejo de mamíferos silvestres en el Ecuador (Erazo et al. 2022)[2] y los lineamientos de captura, manejo y eutanasia aprobados por la Sociedad Americana de Mastozoología (ASM) para el uso de mamíferos en investigación (Sikes & Mammalogists, 2016)[3].

3.2. Registro de datos

La toma de datos debe ser precisa, detallada y organizada, por lo que se recomienda mantener dos registros permanentes en material resistente: las notas de campo personales del recolector y el catálogo de campo estándar de la Sección de Mamíferos del QCAZ.

En ambos casos, se debe anotar toda la información correspondiente al espécimen. El papel debe ser resistente al agua (se recomienda los cuadernos y papel de campo de la marca *Rite in the Rain*) y se debe escribir con marcadores indelebles resistentes a la luz y agua (se recomienda la marca Edding 1880©).

[2] Disponible en : https://aem.mamiferosdelecuador.com/images/pdf/Codigo/Erazo_et_al_2021-Codigo_de_etica_manejo_mamiferos_Ecuador.pdf
[3] Disponible en: http://www.mammalsociety.org/uploads/committee_files/CurrentGuidelines.pdf

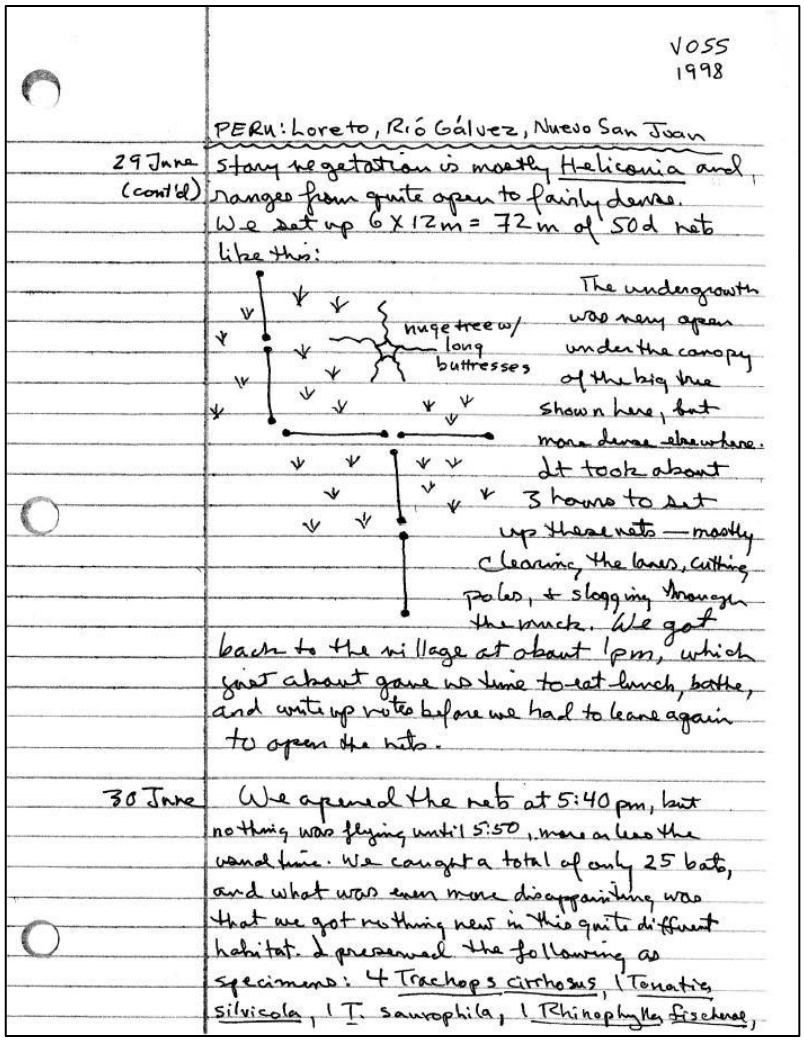
3.2.1. Cuaderno de campo del colector

El cuaderno de campo del recolector o las notas de campo personales son un registro continuo de las actividades en el campo, a manera de diario o bitácora, que incluye información relevante sobre los aspectos particulares de la expedición, así como de datos ecológicos, geográficos o temporales que complementen la información estándar de los especímenes colectados.

Cada página de este registro debe incluir: Nombre del investigador, siglas de los números de campo de colector (si tuviera), fecha y localidad. Las entradas deberán ser diarias, a manera de narrativa. La redacción debe ser clara y legible y se recomienda colocar gráficos o esquemas, por ejemplo, de los transectos de recolección (Figura 4). Se recomienda que en la información de la localidad o área de estudio se incluyan detalles como distancia a vías, ríos y poblados, además de las coordenadas que ofrece el GPS. Asimismo, la descripción de hábitats, paisajes, tipos de formación vegetal acompañados de gráficos de mapas.

Estos datos son importantes para preservar la organización de la información y la recuperación rápida de los datos de campo.

Este registro es propiedad del recolector, sin embargo, una copia deberá ser depositada en el QCAZ-M.


VOSS
1998

PERU: Loreto, Río Gálvez, Nuevo San Juan

29 June (cont'd) Stony vegetation is mostly Heliconia and ranges from quite open to fairly dense. We set up 6 X 12m = 72m of 50d net like this:

huge tree w/ long buttresses

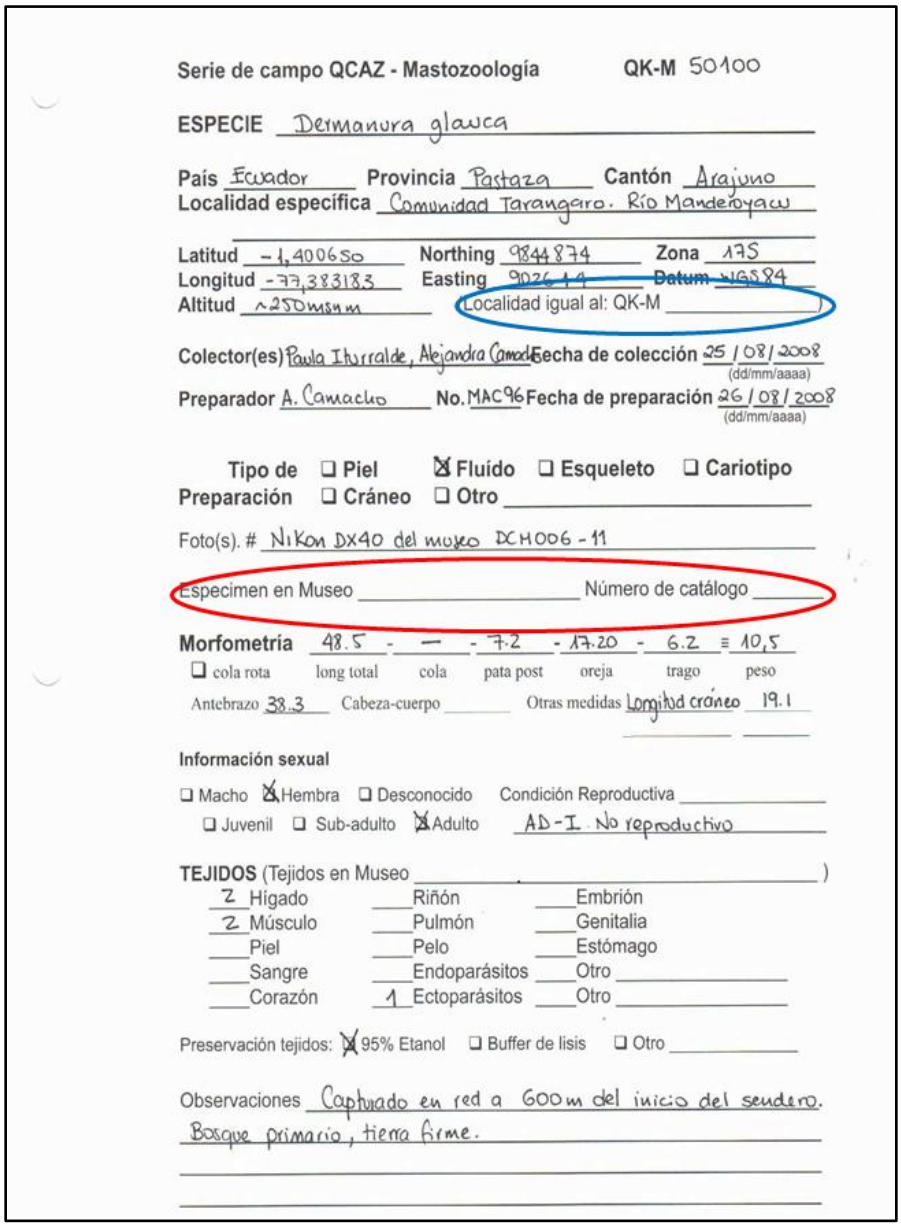
The undergrowth was very open under the canopy of the big trees shown here, but more dense elsewhere. It took about 3 hours to set up these nets — mostly clearing the lanes, cutting poles, + slogging through the muck. We got back to the village at about 1pm, which just about gave us time to eat lunch, bathe, and write up notes before we had to leave again to open the nets.

30 June We opened the net at 5:40 pm, but nothing was flying until 5:50, more or less the usual time. We caught a total of only 25 bats, and what was even more disappointing was that we got nothing new in this quite different habitat. I preserved the following as specimens: 4 Trachops cirrhosus, 1 Tonatia silvicola, 1 T. sawophila, 1 Rhinophylla fischerae,

Figura 4. Ejemplo de una hoja del Cuaderno de campo del Colector. Tomado de Simmons y Voss (2009).

3.2.2. El catálogo de campo QCAZ-M

A diferencia del cuaderno o notas de campo del recolector, el catálogo de campo es un registro que enlista los individuos recolectados que se prepararon como testigo (*voucher*). En el caso de la Sección de Mastozoología del QCAZ, el catálogo de campo tiene un formato estandarizado, cuyos campos deben ser llenados en su totalidad (Figura 5).



Serie de campo QCAZ - Mastozoología QK-M 50100

ESPECIE Dermanura glauca

País Ecuador Provincia Pastaza Cantón Arajuno
Localidad específica Comunidad Tarangaro. Río Manderoyacu

Latitud -1,400650 Northing 9844874 Zona 17S
Longitud -77,383183 Easting 9026149 Datum WGS84
Altitud ~250msnm (Localidad igual al: QK-M)

Colector(es) Paula Iturralde, Alejandra Camach Fecha de colección 25/08/2008 (dd/mm/aaaa)
Preparador A. Camacho No. MAC96 Fecha de preparación 26/08/2008 (dd/mm/aaaa)

Tipo de Preparación ☐ Piel ☒ Fluído ☐ Esqueleto ☐ Cariotipo ☐ Cráneo ☐ Otro

Foto(s). # Nikon DX40 del museo DCH006 - 11

Especimen en Museo Número de catálogo

Morfometría 48.5 - — - 7.2 - 17.20 - 6.2 ≡ 10,5
☐ cola rota | long total | cola | pata post | oreja | trago | peso

Antebrazo 38.3 Cabeza-cuerpo Otras medidas Longitud cráneo 19.1

Información sexual

☐ Macho ☒ Hembra ☐ Desconocido Condición Reproductiva
☐ Juvenil ☐ Sub-adulto ☒ Adulto AD-I No reproductivo

TEJIDOS (Tejidos en Museo)

2 Hígado	Riñón	Embrión
2 Músculo	Pulmón	Genitalia
Piel	Pelo	Estómago
Sangre	Endoparásitos	Otro
Corazón	1 Ectoparásitos	Otro

Preservación tejidos: ☒ 95% Etanol ☐ Buffer de lisis ☐ Otro

Observaciones Capturado en red a 600m del inicio del sendero. Bosque primario, tierra firme.

Figura 5. Ejemplo de una hoja del catálogo de campo de la Sección de Mastozoología del QCAZ. Los campos vacíos, señalados por un círculo rojo son datos que se llenan en museo tras la asignación de número permanente QCAZ. El campo "(Localidad igual al QK-M)", señalado con un círculo azul, se llena en campo cuando el sitio de recolección es exactamente igual al de otro registro, en cuyo caso se indica el número QK-M donde se anotó la información por primera vez y se dejan en blanco los campos de localidad.

El investigador principal recibirá del Administrador de Colecciones una carpeta con hojas de catálogo en blanco y sueltas. Es responsabilidad del recolector mantener la correcta secuencia de las hojas, evitar su pérdida y cuidar su presentación. Se debe tener en cuenta que el catálogo será revisado por otros científicos, por lo tanto, los datos deben ser claros, legibles, sin abreviaturas y escritos con marcadores indelebles resistentes a la luz y al agua (se recomienda la marca Edding 1880©), a excepción de la identificación taxonómica preliminar, que debe ser

escrita con lápiz, para permitir futuras correcciones. Estas hojas serán entregadas al Administrador de Colecciones para su archivo permanente; además, se pide que nada se escriba en el borde izquierdo de las hojas para permitir que los catálogos se encuadernen.

3.2.3. ¿Cómo llenar los campos de la hoja de catálogo QCAZ-M?

A continuación, se detalla la forma correcta de llenar los campos de las hojas del catálogo de campo QCAZ-M

Serie de campo: Consiste en un número QK-M de la serie asignada al investigador principal del proyecto o expedición. Se deberá escribir únicamente el número que sigue al prefijo. En este campo, otros sistemas o números pueden provocar confusión, por lo que se recomienda solo usar esta serie de número en estas hojas.

Identificación taxonómica – Campo Especie: En este campo se debe incluir el nombre científico de la especie a la que pertenece el individuo recolectado. Si el animal no puede ser identificado, se debe colocar el nombre del Género o del siguiente taxón identificable (ej: "*Carollia* sp." o "*Vespertilionidae* ind."). No debe dejarse este campo vació y debe ser llenado con lápiz para permitir correcciones.

Información geográfica: Incluye una serie de campos que deben ser llenados con el mayor detalle posible. Se recomienda que previo a la salida de campo se identifiquen los nombres de la provincia, cantón y poblados cercanos a la localidad de colección. Asimismo, el campo de Localidad específica debe ser llenado con la mayor cantidad de detalles. Con la ayuda del GPS se deben llenar los datos de las coordenadas geográficas y de la altitud.

El campo "(Localidad igual al QK-M___)" deberá ser llenado en una o varias hojas del catálogo de campo únicamente si los especímenes han sido recolectados exactamente en el mismo lugar que el primer espécimen en el que se registró una localidad específica.

Colectores: En este campo se debe colocar el nombre completo del colector o colectores principales. Debido a que este catálogo puede ser leído en el futuro por otros científicos, no se deben poner abreviaturas.

Preparador: En este campo se debe colocar el nombre completo de la persona responsable de la preparación del espécimen *voucher*. Debido a que este catálogo puede ser leído en el futuro por otros científicos, no se deben poner abreviaturas.

No. de Preparador: En este campo se debe colocar el número de campo personal del colector en caso de que tuviera.

Fecha de colección: En este campo se debe señalar el día en el que el animal fue recolectado. Los individuos capturados el mismo día o noche deben llevar la misma fecha de colección, incluso si algunos de ellos se mantienen vivos por varios días antes de su preparación. Esto es importante porque contribuye al conocimiento de cuáles y cuántos individuos y especies se capturaron ese día o noche, con fines de estudios ecológicos, como curvas de acumulación.

Fecha de preparación: En este campo se debe señalar el día en el que el animal fue preparado.

Tipo de preparación: Este campo permite registrar la forma en la que el *voucher* será preservado. Las opciones que se deben señalar incluyen: Fluido (animal entero fijado en formalina y almacenado en alcohol); Piel (Piel seca); Cráneo (cráneo removido y retenido en alcohol para limpieza posterior); Esqueleto (esqueleto post-craneal removido y retenido en alcohol para limpieza posterior); Cariotipo (muestra de cariotipo preparada). Se puede elegir más de una opción si el caso lo amerita.

Foto: En este campo se debe poner el nombre del archivo de las fotografías tomadas del individuo. Se recomienda señalar el nombre del fotógrafo. Tras la expedición y al mismo tiempo que se depositan los ejemplares en la colección permanente, se deben asociar las fotografías a los números QCAZ y ser entregadas al Curador o Administrador de Colecciones para que sean archivadas apropiadamente.

Número de catálogo: Este campo debe ser llenado en el Museo de Zoología por el Administrador de Colecciones una vez que los ejemplares sean asignados con números únicos QCAZ. Este campo no deberá ser llenado en campo bajo ninguna circunstancia.

Medidas: Las medidas estándar para micromamíferos que se toman en campo incluyen cuatro medidas en roedores y marsupiales y seis en murciélagos además del peso corporal:

- *Longitud total* (TL): Es la distancia, medida dorsalmente, entre la punta del hocico y la punta de la última vértebra caudal (de haber cola) o entre la punta del hocico y el ano, en especies que carecen de cola. Se recomienda colocar el animal sobre una superficie plana y gentilmente presionar el cuerpo y estirar la cola hasta extenderla complemente para tomar la medida con la regla o el calibrador.
- *Longitud de la cola* (T): Es la medida desde la base u origen en la pelvis hasta la punta de la última vértebra caudal.
- *Longitud de la pata posterior* (HF): Se trata de la distancia desde el borde anterior de la base del calcar o el final del calcáneo a la punta del dígito más largo. No se incluyen garras ni pelos.
- *Longitud de la oreja* (E): Es la distancia entre el borde inferior del meato auditivo externo hasta la punta de la pinna, con cuidado de no estirar el tejido al momento de tomar la medida.
- *Trago* (Tr): Se toma únicamente en murciélagos. Es la distancia desde la base del lóbulo hasta el extremo del trago. En las etiquetas y cuaderno de recolector se acostumbra poner la medida del trago encerrada en un paréntesis inmediatamente después y sin separación de la medida de la oreja.
- *Longitud del Antebrazo* (AB): Se toma únicamente en murciélagos. Es la distancia desde el codo a la muñeca. Esta medida siempre debe hacerse con el ala del murciélago doblada.
- *Peso* (W): Se trata de la masa corporal del espécimen completo y se registra siempre en gramos.

En las etiquetas de campo y en el cuaderno de campo del colector (en caso de que también lleve la lista de los individuos) se deben anotar las medidas de manera lineal separadas por comas (,) seguidas del peso, separado por el signo ≡. Las medidas y el peso se toman siempre en milímetros y gramos, respectivamente.

Roedores y Marsupiales: TL, T, HF, E ≡ W **Murciélagos:** TL, T, HF, E(Tr), AB ≡ W

La hoja del catálogo de campo incluye además el campo de la medida Cabeza-Cuerpo, que es la distancia de la punta del hocico a la base de la cola, dorsalmente. Además, se incluye el campo, "Otras medidas" para anotar datos extras. Se sugiere que en este último campo se tome la medida de la longitud de cráneo y de la tibia.

Sexo: Como regla general, las hembras de mamíferos se distinguen por la presencia de una vulva o apertura vaginal, mientras que la presencia de testículos y de un pene distingue a los machos (Kunz et al. 1996). Sin embargo, la visibilidad de las características sexuales dimórficas depende de la edad y condición reproductiva.

En el caso de murciélagos, los machos de la mayoría de familias poseen un pene pendular que es notorio incluso en juveniles, mientras que la mayoría de las hembras poseen una abertura urogenital (vulva) y una abertura rectal separadas. En el caso de murciélagos de la familia Emballonuridae, los machos poseen un pene no pendular que puede estar tapado por una capa de piel y pelo, mientras que las hembras presentan labios desarrollados cubiertos por pelo que pueden ser confundidos con la genitalia de los machos. En el caso de la familia Noctilionidae y algunos filostómidos, las hembras tienen labios elongados que superficialmente pueden confundirse con un pene.

Cuando el pene y los testículos son conspicuos e identificables, son una fuente confiable de identificación. Los testículos, sin embargo, no son visibles externamente en todos los mamíferos. Los testículos no escrotales son comunes en murciégalos e insectívoros. Adicionalmente, los testículos pueden ser escrotales durante la época de apareamiento y luego retraerse (testículos inguinales). El escroto, si está presente, está localizado en la parte posterior del pene; excepto en marsupiales y lagomorfos, donde es prepeniano.

Adicionalmente, el área perineal entre el ano y el clítoris en roedores hembras es poco peluda y de menor distancia que el área perineal de los machos.

En el catálogo de campo se debe señalar con una X en el casillero correspondiente o en "Desconocido" si el sexo no puede determinarse con facilidad.

Condición Reproductiva: Además del sexo es importante registrar la Condición Reproductiva en el campo respectivo. En micromamíferos machos, especialmente en murciélagos, la presencia o ausencia de testículos denota si el animal está en etapa reproductiva o no, en cuyo caso se registra como "Adulto Reproductivo" o "Adulto no Reproductivo", respectivamente. En el caso de hembras, es necesario examinar preñez por palpación, aunque puede ser poco preciso en etapas tempranas. En caso de encontrar preñez se registra en catálogo como "Gestante". Si los fetos son removidos de la madre, estos deben llevar sus propios números de

campo y se deben cruzar referencias con el número de campo de la madre. Deben registrarse las medidas estándar que se puedan en los fetos, especialmente la medida Cabeza-Cola. Además de la preñez debe registrarse si la hembra está o ha salido recientemente, de un periodo de lactancia. Esto se logra examinando las glándulas mamarias. Las hembras nulíparas poseen pezones pequeños cubiertos por pelaje. Las hembras que están dando de lactar o que recientemente dieron de lactar poseen pezones alargados rodeados de una areola desnuda. Las hembras que en ese momento están en periodo de lactancia pueden arrojar una gota de leche si se presiona delicadamente el pezón. En estos casos, se completa el campo con la palabra "Lactante". En las etiquetas se debe marcar la condición reproductiva como: **ADI** (adulto no reproductivo); **ADII** (adulto reproductivo).

Edad: Este campo deberá llenarse escogiendo una de las siguientes opciones.

- *Feto:* Se señalará está categoría de edad para un individuo no nacido que fue removido de la madre y que será catalogado con un número de campo propio.
- *Juvenil:* Individuo lactante capturado junto a su madre o en su refugio. En el caso de murciélagos, es usualmente no volador. Cada juvenil debe ser catalogado con un número propio de campo que luego se referencia con el de la madre si es que se conoce. En las etiquetas se debe marcar esta edad con la abreviatura **JUV**.
- *Subadulto:* Es un individuo joven que no alcanza el tamaño adulto todavía, pero puede o no ser sexualmente maduro o tener pelaje adulto**.** En el caso de murciélagos, la forma de determinar subadultos es examinando la completa fusión de las epífisis de los dedos. En adultos, cada articulación de los metacarpos con las falanges y de la articulación de las interfalanges están completamente fusionadas y se observan como un nudo ensanchado (Kunz et al., 1996). En juveniles y subadultos, las articulaciones poseen placas de cartílago que, al verse el ala a contraluz, los huesos parecen no estar completamente fusionados. Esto ocurre porque las placas cartilaginosas que unen los huesos son menos densas que las de los huesos completamente fusionados. En general, la determinación de este estado depende de observar características como tamaño del cuerpo, osificación de los huesos largos, reemplazo dental, desgaste dental y cambio de coloración del pelaje (Kunz et al., 1996). En las etiquetas se debe marcar esta edad con la abreviatura **SUB**.
- *Adulto:* Son individuos con tamaño, dentición y pelaje maduros.

Tejidos y preservación de tejidos: En esta sección se debe señalar la cantidad de muestras de cada tipo de tejido que han sido extraídas del espécimen. Además, se debe marcar con una X el líquido preservante de dichos tejidos.

Observaciones: En este campo se debe anotar cualquier dato que sea de interés para la identificación del espécimen, así como las circunstancias de la captura, detalles del ecosistema, etc.

4. Preparación de especímenes testigo

Tradicionalmente, los especímenes testigo (*voucher*) de micromamíferos se preparan como pieles, esqueletos secos y en fluido. Cada técnica posee ventajas y desventajas. Las pieles permiten preservar el color y patrón del pelaje; sin embargo, se pierden irreversiblemente características anatómicas importantes del rostro y las orejas. Por lo general, la preservación en piel incluye también la preservación del esqueleto, cuya ventaja es tener acceso a características de la morfología del esqueleto que podrían ser relevantes.

Los especímenes en fluido, preservados en alcohol al 75 %, tienen la ventaja de preservar todas las características morfológicas y permiten, con facilidad, extraer los cráneos si es necesario.

La preparación de los especímenes depende del uso que se le dará a los mismos y queda al criterio del colector su preparación; sin embargo, se recomienda preservar los especímenes en fluido, especialmente si solo existe un individuo de la especie que se preparará como testigo, a menos que el preservar el color del pelaje sea crítico para la identificación o tenga un patrón diferente al descrito para la especie. Si, por el contrario, varios individuos de una misma especie son recolectados en la misma localidad, se recomienda usar varias técnicas de preservación.

4.1. Especímenes secos – Pieles

4.1.1. Registro de datos

En este tipo de preparación los órganos, la musculatura y gran parte del esqueleto son removidos del individuo, dejando únicamente la piel que es rellenada con algodón. Previa a la preparación del espécimen, éste debe ser sacrificado, medido y pesado y todos los datos de colección deben ser registrados en el catálogo de campo y cuaderno del colector.

Una vez tomados los datos se deben alistar las etiquetas, tanto la de la piel como las etiquetas para el cráneo y el esqueleto post-craneal. Estas últimas deben atarse correctamente porque se mantendrán en el espécimen mientras es limpiado en el dermestario.

4.1.2. Preparación

Este proceso debe hacerse de manera rápida, por lo que se recomienda tener el equipo de disección disponible además de la porción de algodón, de preferencia sintético, que se utilizará para el relleno. Con una pinza se debe enrollar un pedazo de algodón uniforme y similar al tamaño del espécimen. En el caso de murciélagos, este rollo se hace a partir de un triángulo de algodón cuya punta irá en la cabeza y el resto rellenará la cavidad abdominal.

Para empezar la disección se debe hacer una primera incisión con tijeras de precisión muy afiladas. Este corte se hace delante del área genital, separando la piel de la pared muscular, con cuidado de no perforar la pared abdominal (Figura 6, figuras tomadas de Caire y Louks, 2010). Si existe un sangrado que moleste la separación de la piel y el músculo, se debe secar papel secante. En lo posible evitar el uso de harina de maíz o maicena porque los gránulos se adhieren al pelaje y a las alas, alterando el resultado final.



Figura 6. Incisión inicial para preparación de una piel de roedor.

Con los dedos, separar la piel de la musculatura hacia abajo hasta exponer la región genital. El pene en los machos y la abertura vaginal en las hembras debe quedar en la piel (Figura 7).



Figura 7. Separación de la piel y la musculatura de la pared abdominal.

Seguir pelando, sin jalar la piel, hasta exponer la cola, misma que debe pelarse hasta su punta (Figura 8). En algunos casos, como en roedores y marsupiales, la cola puede ser muy difícil de pelar, por lo que se recomienda usar fórceps.



Figura 8. Preparación del área de la cola durante la elaboración de una piel de roedor.

Una vez libre la cola debe seguirse pelando hasta llegar a las patas. Se debe hacer un corte sobre la rodilla, dejando la tibia intacta. Este es un buen momento para obtener una muestra de tejido ya que las patas pueden tener una cantidad importante de músculo. Con la piel aislada de las patas separar cuidadosamente la piel del resto del cuerpo.

En el caso de murciélagos, se debe separar la piel hasta llegar a las alas tras alcanzar los hombros. En este punto se puede decidir por dos tipos de preparación de las alas: mantener en ambas alas todos los huesos (Figura 9) o mantener los huesos solo en una de las alas y preservar únicamente la membrana de la otra (Figura 10).

En el primer caso, se empieza por un ala separando la piel de la musculatura del brazo hasta llegar al húmero, donde se hace un corte justo debajo del hombro, así, gran parte del húmero, antebrazo y todos los huesos de la mano permanecen en la piel. Se repite en la otra ala.



Figura 9. Piel seca de murciélago preparada manteniendo en ambas alas todos los huesos.

En el segundo caso, se procede con el proceso previamente señalado para una de las alas y se pela y separa la piel y la membrana alar de todos los huesos de la otra. Esto permite guardar esta porción del esqueleto (Figura 10 y Figura 11).



Figura 10. Piel seca de murciélago preparada con una de las alas extendidas, sin esqueleto.



Figura 11. Modo adecuado de doblar el ala extendida previo al almacenamiento.

Una vez que el cuerpo queda descubierto y la piel está al nivel del cuello, es buen momento para sacar una muestra de hígado. Para esto se debe hacer un corte a nivel del abdomen por debajo la caja torácica a través de la pared abdominal. Si hubiese mucho sangrado, controlar con papel absorbente.

Gentilmente seguir pelando sobre el cuello y la cabeza. Una vez que se llega a la zona de las orejas se debe hacer un corte muy cuidadoso del canal auditivo lo más próximo al cráneo; de esta manera, las orejas (que no se ven en ese momento) quedan separadas. Cuando las orejas están libres, seguir pelando con cuidado hasta llegar a los bordes posteriores de los ojos que se distinguen por una capa de tejido transparente. Tirando muy delicadamente la piel, cortar esta membrana justo por encima del ojo con cuidado de no cortar los párpados (Figura 12).



Figura 12. Preparación del área del rostro durante la elaboración de una piel de roedor.

Seguir separando la piel con los dedos hasta llegar a la boca y separar delicadamente la piel del hocico dando finalmente un corte pequeño en el cartílago nasal para separarla completamente (Figura 13).



Figura 13. Preparación del área del hocico durante la elaboración de una piel de roedor.

Antes de continuar con el relleno de la piel, etiquetar el cráneo y resto del cuerpo con las etiquetas correspondientes. Posteriormente, enrollar los cuerpos con hilo para que mantengan su forma y almacenarlos en una funda hermética dentro de un contenedor con alcohol para su transporte al museo.

4.1.3. Relleno

Previo a este proceso es necesario revisar cuidadosamente la piel en busca de restos de carne, grasa o el material usado como absorbente, que pudiera quedar adherido. Voltear la piel y jalar cuidadosamente las orejas y hoja nasal (en filostómidos). Examinar el pelaje en busca de restos de sangre o material absorbente. Es mejor no utilizar cepillos para remover residuos. Colocar la piel en una superficie plana y delicadamente introducir el rollo de algodón que se preparó previamente ayudado por las pinzas. Iniciar rellenando la cabeza y luego el resto del cuerpo cuidando de no estirar la piel y de mantener la forma original (Figura 14).



Figura 14. Proceso de relleno durante la elaboración de una piel de roedor.

Es importante mantener, en lo posible, las dimensiones y simetría del animal. Si faltare relleno añadir en el área abdominal. En el caso de mamíferos no voladores, es necesario, en este punto, acomodar pequeños trozos de alambre galvanizado cubierto de algodón para dar soporte a las patas y cola (Figura 15). En el caso de murciélagos no se coloca ningún soporte.

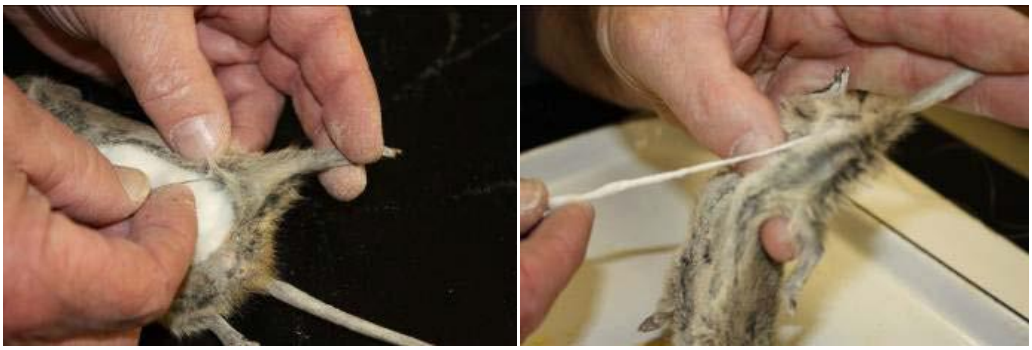


Figura 15. Soporte de patas y cola con trozos de alambre durante la elaboración de una piel de roedor.

Una vez terminado el relleno se continúa con el cerrado de la piel cosiendo la incisión con suturas muy pequeñas que queden escondidas en el pelaje. En la zona genital se debe tener cuidado que en los machos el pene quede hacia fuera. Finalmente, se debe cerrar el hocico con tres puntadas (utilizando la aguja más fina disponibles), a manera de triángulo.



Figura 16. Suturas delicadas para cerrar la incisión durante la elaboración de una piel de roedor.

4.1.4. Etiquetamiento

Las etiquetas para pieles que maneja el QCAZ-M mantienen un formato estandarizado. La cara frontal de la etiqueta tiene impreso el número QK-M de campo y posee dos espacios en blanco claramente demarcados. En uno, el mayor, se debe escribir CON LÁPIZ la identificación preliminar del ejemplar. El espacio más reducido se deja en blanco para anotar, en el museo, el número QCAZ (Figura 17).



Figura 17. Cara frontal de una etiqueta estándar QK-M para pieles.

El reverso de la etiqueta está en blanco y debe ser completado con la siguiente información: Localidad de colección, fecha de colección, medidas, sexo, edad y nombre completo del colector o colectores, tal como muestra la Figura 18. Estos datos deben ser escritos con marcador indeleble, a diferencia, de la identificación taxonómica preliminar y con letra legible.

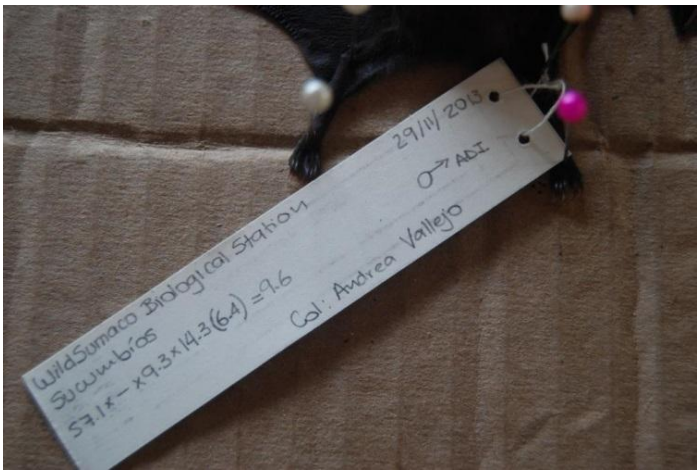


Figura 18. Cara dorsal de una etiqueta estándar QK-M para pieles.

En todos los casos, y por convención (Caire & Loucks, 2010; Simmons & Voss, 2009), las etiquetas deben atarse en la pata derecha en todos los especímenes. Esto reducirá el riesgo de que, una vez almacenados en los cajones, las etiquetas de los especímenes se enreden. La etiqueta debe proyectarse hacia la cara dorsal del espécimen y debe dejarse un centímetro de hilo entre el espécimen y la etiqueta para permitir su manipulación sin comprometer la muestra.

En el caso de los murciélagos, la etiqueta no debe atarse alrededor del tobillo porque podría comprometer al calcáneo. Para este grupo, los hilos de la etiqueta deben atravesarse por la membrana del ala y de la cola y atarse entre el tobillo y la rodilla. Esto se puede hacer utilizando una aguja.

4.1.5. Montaje

Este proceso se debe hacer en superficies óptimas, preferiblemente de cartón que no sea demasiado flexible lo que permita la inserción y mantenimiento de alfileres. Se recomienda que los alfileres sean los comunes de costura por su longitud y fácil manipulación por la cabeza redonda de plástico. Los alfileres entomológicos se doblan fácilmente y los que tienen cabezas planas de metal son muy cortos.

En el caso de roedores y marsupiales se recomienda colocar los alfileres como se muestra en la Figura 19.

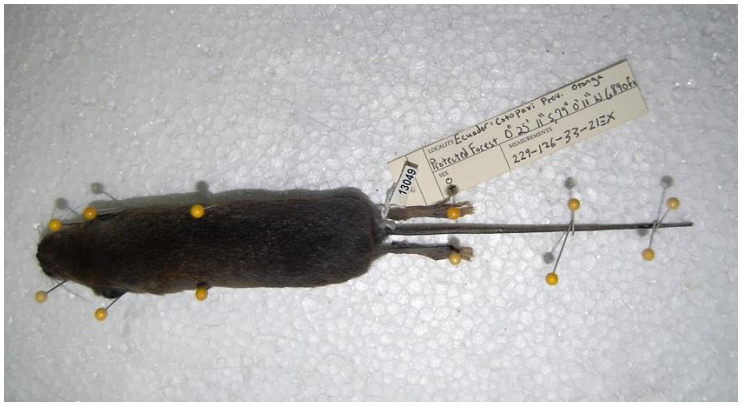


Figura 19. Lugar recomendado para colocar los alfileres necesarios durante el montaje y fijación de una piel de micromamífero no volador previo al secado.

En el caso de murciélagos se recomienda colocar los alfileres como se muestra en la Figura 20 en el caso de la preparación con ambas alas recogidas, montando ambas alas a la vez para asegurar que las alas queden simétricas. Caso contrario, como muestra la Figura 21 en el caso de la preparación con una de las alas extendidas.

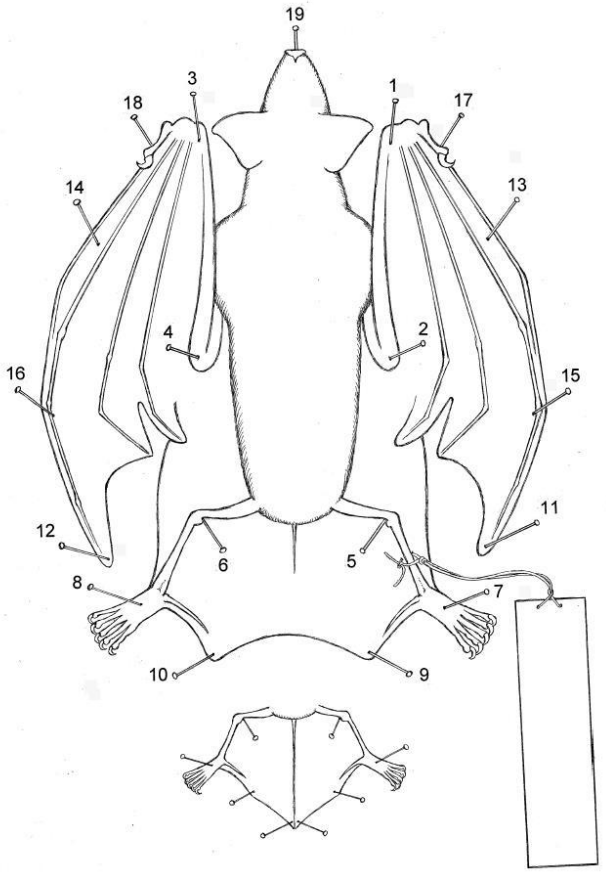


Figura 20. Diagrama del lugar recomendado para colocar los alfileres necesarios durante el montaje y fijación de una piel de murciélago previo al secado. Tomado de Simmons y Voss (2009)



Figura 21. Diagrama del lugar recomendado para colocar los alfileres necesarios durante el montaje y fijación de una piel de murciélago con un ala extendida, sin huesos.

En el caso del montaje de murciélagos, los dedos deben quedar arreglados de tal manera que los huesos sean completamente visibles y permitan su medida desde el lado posterior. En el caso de especies de murciélagos con uropatagios grandes, se lo debe estirar separando las patas y permitiendo que los calcáneos queden bien extendidos. Si tiene cola, extender la cola y sostener con dos alfileres cruzados.

4.1.6. Secado

Una vez montada, la piel debe mantenerse con los alfileres hasta que esté completamente seca. En localidades húmedas esto puede tardar varios días, lo que significa que las pieles pueden estar expuestas a la infestación de hongos u otros parásitos. Se recomienda cubrir las pieles con malla o tela de tul y mantener en un lugar caliente y seco, como una caja dentro de un vehículo expuesto al sol. No se recomienda exponer las pieles directamente al sol porque podría cambiar el color del pelaje.

4.2. Especímenes en alcohol – Enteros en Fluido

4.2.1. Registro de datos y preparación

Este debe ser el método de preferencia para la preparación de especímenes. La preservación de los ejemplares en fluido maximiza su uso, los cráneos pueden ser fácilmente removidos y su preparación en más simple y rápida.

Una vez que el ejemplar fue sacrificado se debe proceder al registro de las medidas y cualquier otra información relevante, tanto en el catálogo de campo como en el cuaderno del colector.

A continuación, la etiqueta específica para preservación en alcohol debe ser atada. En todos los casos, y por convención las etiquetas deben atarse en la pata derecha en todos los especímenes (Caire & Loucks, 2010; Simmons & Voss, 2009). En el caso de los murciélagos, la etiqueta no debe atarse alrededor del tobillo porque podría comprometer al calcáneo. Para este grupo, los

hilos de la etiqueta deben atravesarse por la membrana del ala y de la cola y atarse entre el tobillo y la rodilla o alrededor del fémur. Esto se puede hacer utilizando una aguja.

La etiqueta debe proyectar hacia la cara dorsal del espécimen y debe dejarse un centímetro de hilo entre el espécimen y la etiqueta para permitir la manipulación de ésta (Figura 22).



Figura 22. Espécimen preservado como Entero en Fluido con la etiqueta atada en la pata derecha.

Una vez etiquetado el ejemplar se debe colocar una esfera de algodón en la boca de manera que se fije abierta. A continuación, se debe colocar al espécimen en la posición correcta para la preservación, esto es, con las alas dobladas y pegadas a los lados del cuerpo, las patas deben estirarse hacia atrás de manera que queden separadas del abdomen y la cabeza debe acomodarse de manera que el cuello extendido deje bien descubierta la zona de la garganta.

Tras este proceso, que no debe tomar más que unos pocos minutos, se deben extraer muestras de tejidos. Esto debe hacerse a la mayor brevedad posible porque tras la muerte del animal, la tasa de decaimiento celular aumenta (Wong et al., 2012). Se recomienda por lo menos tomar dos muestras de tejido de músculo y dos muestras de tejido de hígado. Para tomar estas muestras se realiza un corte en la cavidad abdominal que exponga los músculos pectorales y el hígado. Este corte, además, permitirá la entrada del líquido fijativo y del líquido preservante.

4.1.2. Fijación

Fijación con formalina

La formalina es un químico que se produce cuando el gas formaldehído se bombea a través del agua y es soluble hasta una concentración del 37% (formaldehído "puro"). La denominada formalina al 10 % es, así, formaldehído acuoso al 3,7%. Este material se utilizó ampliamente como reemplazo del alcohol como fijativo para las preparaciones anatómicas porque se difunde más rápidamente a través de los tejidos, tiene propiedades antimicrobianas, forma enlaces cruzados (reticulaciones) entre proteínas lo que inmoviliza su estructura y "fija" los tejidos, aunque no necesariamente los preserva a largo plazo y puede ser más económico (Timm et al. 2021). La formalina fija tejidos o células desnaturalizando las proteínas, lo que hace que los

ácidos nucleicos se fragmenten debido a un pH ácido (pH 3.0 – 4,6 en una solución de 1:9 de formaldehido en agua).

El carácter ácido de la formalina puede, a largo plazo, decalcificar los huesos en vertebrados, por lo que se recomienda fijar los especímenes con una solución de formalina que integre un *buffer* o amortiguador para acercar el pH a 7 (Timm et al. 2021).

Es de tener en cuenta que la fijación con formalina altera los tejidos y las estructuras intracelulares, además que es un reconocido agente carcinógeno, por lo que en la Sección de Mamíferos del Museo de Zoología de la PUCE no alentamos su uso. Sin embargo, si se desea fijar al ejemplar, Simmons (2014) recomienda usar como amortiguador una combinación de dos sales: 4 g de fosfato de sodio ácido monohidratado y 6,5 g de fosfato disódico anhidro por litro de una solución de 1 parte de formaldehído en 9 partes de agua (1:9), para lograr un pH de aproximadamente 7,0.

Los tejidos fijados en formalina con amortiguador son algo más utilizables para el análisis molecular durante un período de tiempo más largo que los tejidos fijados con formalina que no han sido amortiguados.

La fijación de ejemplar se logra sumergiendo al espécimen, tras la extracción de tejidos, en la solución de formalina con amortiguador. La cantidad de tiempo requerida para fijar un animal depende de varios factores. En primer lugar, a mayor tamaño, más demorará la fijación, por lo que se recomienda ir revisando el ejemplar hasta que esté listo. Segundo, más rápida será la fijación si el ejemplar tiene la cavidad abdominal abierta, incisión que debió hacerse para extraer tejido. En tercer lugar, el proceso de fijación será más eficaz si se inyecta formalina en la cavidad torácica, garganta y grandes músculos (por ejemplo, patas y antebrazos). Desde este paso de la fijación es necesario usar guantes resistentes para proteger la piel y una mascarilla para proteger las vías respiratorias, debido a que el formol es altamente tóxico. Es preferible utilizar jeringas de vidrio, pero debido a que son difíciles de conseguir, se pueden usar jeringas plásticas por pocas ocasiones y reemplazarlas frecuentemente, ya que las jeringas plásticas son afectadas por el formol. Asimismo, se deben tener suficientes reemplazos de las agujas debido a que se vuelven romas. El fijativo debe inyectarse delicadamente y no en mayores cantidades, preferiblemente con varios pinchazos cortos.

Finalmente, es importante que antes de sumergir el espécimen en formol, se humedezca el pelaje con agua jabonosa para eliminar el aire alojado entre el pelo de manera que el formol tome contacto más rápido y equitativamente con la piel para su fijación. El agua jabonosa rompe la tensión superficial y "moja mejor" el espécimen eliminando eficazmente el aire. Tras humedecer el espécimen, se remueve el exceso de agua y se sumerge en la formalina.

El espécimen debe quedar inmerso en formol por varios días. Para un mamífero pequeño (<100 g), tres o cuatro días son suficientes. Mamíferos grandes deben quedarse alrededor de una semana. Para determinar si un espécimen está correctamente fijado, el abdomen debe sentirse firme al tacto.

En caso de tratarse de una salida de varios días, se debe tener control del día en que los ejemplares son sumergidos en formol para revisarlos y removerlos a tiempo. Si son muchos los especímenes en un contenedor con formol, su dilución evitará la fijación eficaz de las muestras. Por precaución es mejor tener varios contenedores con líquido de fijación.

Fijación con alcohol

La fijación de especímenes con etanol al 75% proporciona resultados óptimos cuando se aplica cuidadosamente mediante inyecciones intramusculares. Esta concentración se prefiere al 95% porque el etanol más concentrado no se difunde adecuadamente a través de los tejidos. No obstante, el uso de etanol al 75% implica que la humedad de las muestras puede diluir el fijador con mayor facilidad. Para contrarrestar este efecto, es indispensable realizar inyecciones meticulosas de la solución al 75% en los principales grupos musculares, asegurando así una adecuada penetración y eficacia del fijador (Timm et al. 2021). Este procedimiento constituye el método de referencia en la Sección de Mamíferos del Museo de Zoología de la PUCE.

4.1.3. Preservación

Una vez fijado el ejemplar, este debe colocarse en una solución de etanol para su preservación. El etanol conserva las muestras principalmente por deshidratación de los tejidos, a diferencia de la formalina, que actúa degradando y reticulando proteínas. A mayor concentración de etanol, mayor es el efecto deshidratante, lo cual puede limitar su penetración en los tejidos. Por esta razón, tras la fijación, se recomienda mantener la preservación en una solución de etanol al 75%.

Si el ejemplar fue fijado con etanol al 75% mediante inyecciones intramusculares, basta con sumergirlo directamente en la misma concentración de etanol. Si el ejemplar fue fijado en formalina tamponada, debe enjuagarse cuidadosamente (sin empaparlo en exceso) con agua corriente para eliminar residuos del fijador antes de transferirlo al etanol.

4.1.4. Transporte

Si no se pueden transportar los ejemplares en alcohol hacia el museo, lo mejor es envolver cada uno en gasa previamente empapada en etanol al 75 % y trasladarlos sellados en fundas plásticas a las que se les ha quitado todo el aire.

4.3. Recolección de tejidos

4.3.1. Extracción de muestras

La colección y preservación apropiadas de tejidos es fundamental para aislar ADN nuclear y mitocondrial, ARN y otros materiales para estudios citológicos y genómicos dado que son susceptibles a rápida degradación tras su colección de ejemplares vivos o post-mortem (Wong et al., 2012). Se recomienda que los tejidos seas obtenidos de animales vivos o recientemente sacrificados siempre que sea posible y deben tomarse varias muestras o copias.

A pesar de que todos los tejidos suaves pueden proveer ADN genómico de buena calidad (alto peso molecular), el hígado es la mejor opción. Otros tejidos como cerebro, riñón, vaso, corazón también proporcionan buena calidad de ADN, pero son órganos típicamente pequeños, cuando se trata de micromamíferos. Tejidos suaves como vaso, páncreas, pulmones y glándulas son generalmente susceptibles a una degradación rápida debido a altos niveles de nucleasas, por lo que tejidos más duros (músculos, riñón, corazón) son preferibles. A pesar de que el tejido muscular proporciona grandes cantidades de muestra, los rendimientos de ADN de alto peso molecular son pequeños debido a la naturaleza resistente de las fibras musculares (Wong et al., 2012).

Idealmente, los tejidos deben extraerse del espécimen lo antes posible y preservarse por separado a temperaturas de ultracongelación (por ejemplo, en nitrógeno líquido), lo que asegura la mejor conservación para estudios moleculares. Cuando este recurso no está disponible, se recomienda la preservación en etanol, preferiblemente al 75 %, ya que garantiza una adecuada penetración en los tejidos y evita algunos problemas asociados a concentraciones más altas. Sin embargo, en el QCAZ los tejidos también se almacenan en etanol al 96 %, aunque hay que tomar cuenta que este grado de concentración puede contener trazas de agentes desnaturalizantes añadidos durante su fabricación (como benceno, ácido clorhídrico u otros compuestos aprobados), los cuales podrían comprometer la integridad del ADN (Simmons 2014). En todos los casos, la preservación mejora notablemente cuando los tejidos se fragmentan en porciones pequeñas, lo que incrementa la superficie de contacto y facilita la penetración del etanol.

Es necesario desinfectar el equipo de disección entre la toma de muestras para evitar la contaminación. Esto se logra limpiando las tijeras y pinzas de precisión con alcohol y luego esterilizando con una llama.

Se recomienda utilizar criotubos de plástico (1,8 – 2 ml) con tapa de rosca para la recolección y el posterior almacenamiento en nitrógeno líquido o en ultracongelación. Se debe evitar el uso de tubos con tapa a presión porque los cambios de temperatura pueden provocar que se abran. Se recomienda enrollar la tapa con lámina de parafina para incrementar el aislamiento y sello de la tapa.

Para animales grandes y vivos, la sangre es una buena fuente de ADN de alto peso molecular. Las muestras de sangre pueden obtenerse con jeringas de insulina o microtubos capilares. Asimismo, se puede utilizar papel filtro para la toma de muestras muy pequeñas de sangre que son secadas y almacenadas en fundas plásticas. Este tipo de muestras son ideales para analizar la presencia de parásitos.

4.3.2. Etiquetamiento

El juego de etiquetas de campo con el que cuenta el Museo QCAZ incluye un set de autoadhesivos para crio-tubos. Cada uno tiene escrito el número de campo QK-M, el tipo de tejido y un código de barras (Figura 3). Es necesario, sin embargo, escribir con marcador de tinta indeleble el tipo de tejido en caso de etiquetas tipo “OTHER”. Todas las muestras tomadas

del mismo animal deberán tener el mismo número de campo y de museo. De no haber el set de autoadhesivos o ya no estar disponibles, se recomienda etiquetar los tubos y las tapas previo a la toma de las muestras con marcador de tinta indeleble.

4.3.3. Preservación

La mejor forma de preservar tejidos que fueron obtenidos tan pronto el animal fue sacrificado es congelarlos en nitrógeno líquido debido a que se detienen todos los procesos químicos y biológicos que conducen a la degradación celular. Sin embargo, esto depende en gran parte de las condiciones de la salida de campo, del presupuesto y de la disponibilidad de materiales.

El Museo QCAZ-M cuenta con un tanque portátil de nitrógeno líquido con capacidad de 10 litros. Si éste va a ser usado, es importante planear con anticipación y asegurarse de que el volumen de gas será suficiente para mantener las muestras congeladas hasta que sean depositadas en el museo. Se recomienda que se use este método si la salida no durará más de 15 días debido a que tras este tiempo, la totalidad de gas se habrá evaporado.

En estudios de menor presupuesto o mayor tiempo en campo el método recomendado es la preservación directa de las muestras en etanol (75 o 96%). Idealmente, los tejidos deben llegar al museo y el alcohol debe ser drenado e inmediatamente ser transferidos a ultracongeladores (-80 °C) lo antes posible para evitar mayores daños. Si esto no fuera posible y el tejido no va a ser congelado inmediatamente, se debe mantener el tejido en etanol a temperatura ambiente. Se recomienda la adición de un volumen de etanol al menos tres veces mayor al volumen de tejido (Wong et al., 2012).

4.3.4. Transporte

Todo tejido recolectado debe guardarse en envases que prevengan el daño de los rayos UV, la exposición a la luz, la contaminación y la entrada de otros productos químicos, incluyendo el nitrógeno líquido. Cada paquete debe permitir suficiente espacio para la expansión del tejido durante la congelación y reducir al mínimo el aire en caso de que el envase sean bolsas plásticas, con el fin de prevenir la sequedad y la degradación.

4.4 Fotografías

Los colectores son responsables de documentar sus colectas también con fotografías digitales. Si este es el caso, se debe registrar en el catálogo de campo y cuaderno personal del colector el nombre de archivo de las fotografías según el modelo de equipo fotográfico que es utilizado.

Tras la salida de campo y un proceso de edición y organización de los registros fotográficos, se deben entregar estos registros al Administrador de Colección para su asociación a los especímenes en la base de datos.

Literatura citada

Caire, W., & Loucks, L. (2010). Mammal specimen preservation and preparation policies and guidelines. Policies and Guidelines. University of Central Oklahoma. Natural Histpry Museum (UCONHM).

Erazo, S., M. A. Camacho, G. Zapata Ríos, J. A. Salas, P. Rosero R., R. Cisneros-Vidal y S. Martín-Solano. (2022). Lineamientos éticos y procedimientos para el estudio y manejo de mamíferos silvestres en el Ecuador. Versión 1. Quito: Asociación Ecuatoriana de Mastozoología y Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica del Ecuador.

Kunz, T. H., Wemmer, C., & Hayssen, V. (1996). Sex, Age and Reproductive Condition of Mammals. In D. E. Wilson, F. R. Cole, J. D. Nichols, R. Rudran, & M. S. Foster (Eds.), Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Mammals (pp. 409). Washington: Smithsonian Institution Press.

Sikes, R. S., & Mammalogists, A. C. U. C. o. t. A. S. o. (2016). 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. Journal of Mammalogy, 97(3), 663-688.

Simmons, J. E. 2014. Fluid preservation: a comprehensive reference. Rowman & Littlefield Publishers. Lanham, Maryland.

Simmons, N. B., & Voss, R. S. (2009). Collection, preparation, and fixation of specimens and tissues. In T. H. K. a. S. Parsons (Ed.), Ecological and behavioral methods for the study of bats. (2nd Edition ed., pp. 849-867). Baltimore: The Johns Hopkins University Press.

Timm, R. M., McLaren, S. B., & Genoways, H. H. (2021). Innovations that changed Mammalogy: fluid preparation of research specimens. Journal of Mammalogy, 102(1), 1-4.

Wong, P. B., Wiley, E. O., Johnson, W. E., Ryder, O. A., O'Brien, S. J., Haussler, D., . . . Mastromonaco, G. (2012). Tissue sampling methods and standards for vertebrate genomics. GigaScience, 1(1), 8.