

Colección Cepario

POLÍTICA DE LA COLECCIÓN BIOLÓGICA

Misión

El Cepario del Laboratorio de Microbiología y Mutagénesis Ambiental (LMMA) de la Escuela de Biología de la UIS tiene como misión soportar la actividad académica en el área de Microbiología. Adicionalmente, el Cepario LMMA-UIS debe potenciar la investigación de los programas de pregrado y posgrado de la Escuela de Biología en Microbiología con énfasis en Taxonomía Microbiana, Geo-Microbiología, Microbiología Ambiental y Biomédicas.

Visión

El Cepario del LMMA de la Escuela de Biología de la UIS tiene como visión generar conocimiento básico que permita el desarrollo de biotecnologías microbianas en las áreas de Geo-Microbiología, Bio-remediación, Industrial y Biomédicas.

Estructura organizacional

La UIS, representada legalmente por su rector Dr. Hernán Porra Díaz, es la titular de la colección. El Dr. Jorge Luis Fuentes Lorenzo, profesor titular del área de Microbiología de la Escuela de Biología, tiene la doble función de director y curador de la colección. El director de la Escuela de Biología es quien administrará los recursos financieros del fondo común que se destinan para el manejo y preservación de la colección. Adicionalmente, los estudiantes vinculados al Grupo de Investigación en Microbiología y Genética (COL0083849) desarrollan funciones de auxiliares curadores apoyando toda actividad de curaduría y preservación de la colección bajo la supervisión del director/curador de la colección.

Breve descripción de la colección: La colección microbiana o Cepario del LMMA de la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander (UIS), tiene su origen en la actividad de recolección de muestras de suelo y subsuelo con fines académicos (salidas de campo) y de investigación del Grupo de Microbiología y Mutagénesis Ambiental (GIMG). A la fecha, esta colección cuenta con 211 especímenes conservados de los siguientes géneros microbianos: *Acidovorax* (1), *Acinetobacter* (1), *Agrobacterium* (3), *Alcaligenes* (1), *Bacillus* (129), *Bosea* (1), *Citrobacter* (1), *Clostridium* (2), *Desulfovibrio* (7), *Desulfotomaculum* (3), *Enterobacter* (6), *Escherichia* (1), *Halomonas* (5), *Lysinibacillus* (1), *Listeria* (1), *Marinobacter* (3), *Microbacterium* (1), *Ochrobactrum* (1), *Pantoea* (2), *Propionibacterium* (8), *Pseudomonas* (16), *Rizobium* (2), *Sporolactobacillus* (2), *Staphylococcus* (7), *Zobellella* (6). Otros 103 especímenes conservados no han sido identificados aún.

Por último, la colección contiene 35 cepas ATCC de diferentes especies tipo bacterianas adquiridas por el LMMA. En total, el 60.5% de los especímenes bacterianos de la colección se encuentran identificados al nivel de género, el 10% al nivel de especie y el 29.5% no ha sido identificado.

Reglamento interno:

Funciones del director del Cepario:

1. Responder por la recolección de especímenes microbianos de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial según lo indicado en Resolución No. 0047 de la ANLA [1]
2. Supervisar el desarrollo de cada uno de los proyectos de investigación y consultas efectuadas bajo la responsabilidad del cepario LMMA-UIS
3. Elaborar el presupuesto anual del cepario oportunamente y rendir informes anuales de las labores realizadas al Director de la Escuela de Biología con copia al Rector de la UIS
4. Promover proyectos de investigación, presentarlos a la Vicerrectoría de Investigación de la UIS o a las entidades financiadoras externas, según las circunstancias lo exijan y ejecutarlos eficientemente
5. Representar a la UIS en conferencias, seminarios, congresos nacionales e internacionales, relacionados con el manejo de colecciones microbianas
6. Responder por la preservación, mantenimiento y organización del cepario
7. Vigilar el cumplimiento del protocolo de manejo en lo referente a las actividades de conservación, curaduría, depósito, uso e intercambio de los especímenes de la colección; así como de la gestión de la información.
8. Laborar el tiempo asignado por la UIS en la función de dirección del cepario según lo exijan las circunstancias.

Funciones del curador del Cepario:

1. Colaborar en la recolección de especímenes microbianos
2. Desarrollo, con el apoyo de auxiliares, de las tareas de preservación, caracterización e identificación de los especímenes de la colección.
3. Garantizar la reactivación y preservación de los especímenes en períodos de tiempo según el método de conservación usado
4. Apoyar con las tareas de divulgación de la información del cepario que será presentada en conferencias, seminarios, congresos nacionales e internacionales

Normas básicas de salud, seguridad ocupacional o bioseguridad:

Toda manipulación y preservación de los especímenes se llevará a cabo en el LMMA de la Escuela de Biología –UIS, por estudiantes auxiliares destinados a tales fines y bajo la supervisión del curador de la colección. El LMMA está clasificado como

laboratorio de riesgo tipo I y II; el cual cumple con lo establecido para la investigación con “microorganismos patógenos o material biológico” y para garantizar “la bioseguridad de las investigaciones” según Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia [2]. Adicionalmente, para la manipulación de especímenes conservados se usarán siempre los elementos de protección personal (EPP) necesario para el trabajo con células vivas con el fin de garantizar que el trabajo desarrollado no constituya un problema de salud pública.

Por otra parte, en lo referente al manejo de residuos, el Laboratorio de Microbiología y Mutagénesis Ambiental cumple con lo establecido en el Plan de Gestión Integral de Residuos (PGIR) de la Universidad Industrial de Santander [3]. Los recipientes de vidrio, plástico y las bolsas rojas usados para descartar materiales, serán debidamente etiquetados (nombre de las sustancias que contienen, concentración de los componentes, fecha de inicio y finalización de la recolección, responsable) y entregados al PGIR. Todos los residuos son entregados al PGIR según indica el “Manual de Gestión Integrado, Procesos de la Universidad Industrial de Santander”, en el inciso 3.2 “Configuración del sistema de gestión Integrado”, en la parte 3.2.8.7 “Programas del Sistema de Gestión Ambiental”. Dicho manual asigna al programa “Plan de Gestión Integral de Residuos PGIR –PGGA.05” la función de “Minimizar la generación de residuos en el origen, maximizar su aprovechamiento y disponer adecuadamente los residuos peligrosos generados en la Universidad”. De acuerdo con esto, el laboratorio de Microbiología y Mutagénesis Ambiental se hace responsable de empaquetar, clasificar y etiquetar los residuos, mientras el PGIR es la entidad encargada de gestionar la disposición final de los mismos.

Estrategia de producción y comunicación del conocimiento educación y divulgación: La investigación de los estudiantes y profesores de la Escuela de Biología, en especial del GIMG, constituye la vía principal para la producción de conocimiento básico de la colección. Esto implica: i) desarrollo de tesis de grado, ii) desarrollo de publicaciones científicas, iii) preparación de manuales de laboratorio, iv) revisiones temáticas; lo cual permitirá además visibilizar y divulgar información detallada de los especímenes de la colección. Como una estrategia adicional de divulgación, la Escuela de Biología ha proyectado a corto plazo la construcción de una página Web para el cepario LMMA-UIS; la cual contendrá toda la información sobre especímenes de la colección y permitirá la interacción en línea con los usuarios interesados en la colección.

Recursos asignados a la colección por parte de la institución: La colección se encuentra preservada a -80°C en una nevera con cerradura modelo ULTF 80 (Arctiko, Alemania). Esta nevera contiene cuatro (4) almacenadores metálicos (racks); cada uno, con capacidad de almacenar 8 cajas plásticas para almacenaje de 96 crioviales. La nevera se encuentra ubicada en un local con acceso restringido de alrededor de 3 m² dentro del LMMA (LL104) de la Escuela de Biología de la UIS.

Dicho local, cuenta con circuitos eléctricos independientes conectados a una planta eléctrica de emergencias; la cual garantiza el permanente funcionamiento de la mencionada nevera en caso de cortes del suministro eléctrico. Adicionalmente, el LMMA cuenta con todo el equipamiento básico para desarrollar los trabajos de identificación molecular primaria (i.e., extracción y almacenamiento de ADN, electroforesis, amplificación de regiones genómicas por PCR, foto-documentación de geles, etc). La Escuela de Biología cuenta con el fondo común No. 6120 donde se presupuestan la compra de materiales y reactivos para la actividad académica del programa de pregrado; cuyo monto a tales fines fue de 44.158.000.00 de pesos colombianos. De dicho fondo, se destinan alrededor de ¿???? pesos colombianos anuales para el manejo y preservación del cepario LMMA-UIS. Por último, y como ya indicamos anteriormente, el profesor titular del área de Microbiología de la Escuela de Biología tiene la doble función de director y curador de la colección. Así, están garantizado los recursos para que un personal capacitado está siempre al tanto del manejo y preservación de la colección.

Protocolo de conservación preventiva

Para la preservación y registro de especímenes microbianos en el cepario LMMA-UIS se tendrán en cuenta lo siguiente:

- a) Que el espécimen derive de actividades académicas y de investigación de la Escuela de Biología cubierta actualmente por el permiso de recolección de especímenes silvestres de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial otorgado por la ANLA según Resolución No. 0047 del 22 de enero del 2015 [1].
- b) Que el espécimen constituya una donación de otras colecciones registradas ante el RNC o de grupo de investigación que cumplan el punto “a”; y que estas presenten un reconocido potencial para el desarrollo de biotecnologías microbianas en las áreas de Geo-Microbiología, Ambiental y Biomédicas.

Para la conservación de aislados microbianos el LMMA usa una combinación de métodos preservación: desecación sobre sustratos inertes (zeolita) y criopreservación. La desecación produce la eliminación de agua de la célula y reducción drástica del metabolismo microbiano. La prevención de la rehidratación se puede lograr con la adición de algún agente protector como el glicerol. Bajo tales condiciones, las células pueden ser preservadas a bajas temperaturas (-80°C) por largos períodos de tiempo [4]. A continuación, se describen los procedimientos usados en el LMMA para el aislamiento y preservación de microorganismos que habitan rocas, carbón, areniscas, agua de surtideros y reservorios de petróleo.

Aislamiento de cepas microbianas de muestras del subsuelo:

- Las muestras de rocas, carbón, areniscas, surtideros y reservorios de petróleo; las cuales fueron tomadas y trasladadas al laboratorio siguiendo las

normas de la APHA [5], son procesas bajo condiciones de esterilidad en una cabina de bioseguridad. Las muestras de rocas y carbón son esterilizadas superficialmente en alcohol al 70% durante una hora y luego pulverizadas en morteros para su uso. Las muestras de areniscas y de aguas de surtideros y reservorios de petróleo, se usan directamente en los cultivos de enriquecimiento.

- Inocular 0.5 g de roca o carbón pulverizada, 2 mL de areniscas o 2 mL de agua de surtideros y de la mezcla agua/petróleo en los medios donde se desarrollarán los cultivos de enriquecimiento, e incubar bajo las condiciones y temperatura de cultivo descrita en cada caso.
- Desarrollar diluciones seriadas a partir de los cultivos para su siembra en placas en el mismo medio y la obtención de colonias separadas en placas. Picar colonias con diferentes características culturales, aislar mediante el método de estrías de agotamiento y sembrar en medio líquido las colonias aisladas.
- Verificar la pureza del cultivo mediante tinción de Gram.
- Conservación de aislados en zeolita y glicerol:
- Inocular 2 mL de cultivo puro en un frasco con 20 mL del medio en que este creció adecuadamente e incubar bajo las condiciones y temperatura de cultivo descrita para su crecimiento.
- Verificar la pureza del cultivo mediante tinción de Gram.
- Inocular 7 mL del cultivo en un frasco que contenga 3 mL de glicerol estéril. Mezclar bien el cultivo con el glicerol.
- Distribuir la mezcla en tubos de microcentrífuga que contienen perlas de zeolita estériles a razón de 0.5 mL por tubo.
- Rotular adecuadamente (código y fecha) y dar entrada a la base de datos de la colección.
- Conservar a -80°C .
- Chequear la viabilidad del cultivo cada tres años.

Protocolo de curaduría

Los procedimientos de curaduría taxonómica de microorganismos a los que hace referencia el presente protocolo son aquellos dirigidos a la caracterización metabólica básica e identificación molecular de los especímenes preservados con el protocolo de conservación preventiva. Estos consisten en métodos de tinción (tinción de Gram, tinción de esporas bacterianas, tinción negativa y tinción de nucleóide bacteriano) y métodos para la caracterización del metabolismo microbiano (relación con el oxígeno, actividad citocromo oxidasa, actividad catalasa, fermentaciones microbianas con producción de gas y ácidos a partir de fuentes de carbono, fermentación ácido-mixta y producción de 2,3-butanediol, fermentación con producción de indol a partir de triptófano, fermentación con producción de sulfuro de hidrógeno a partir de sulfatos, utilización de citrato como fuente de carbono, hidrólisis enzimática de ADN,

almidón y gelatina). Todos estos métodos son descritos en el manual de laboratorio elaborado con fines docentes en el LMMA.

Por su parte, la identificación molecular que implica procesos de secuenciación de ADN del gen ribosomal 16S se solicitan como servicio a otras instituciones externas; generalmente al instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia. Dado que estos trabajos de identificación requieren mayores recursos financieros, estos se desarrollan en su gran mayoría en el marco de proyectos de grados de estudiantes vinculados a proyectos de investigación del director de la colección. Para la identificación taxonómica de microorganismos el LMMA utiliza la clasificación polifásica [6,7]; la cual combina los caracteres fenotípicos clásicos y los genotípicos como el análisis de secuencias del gen ribosomal 16S (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>). Los ensayos mencionados anteriormente, son generalmente suficiente para la identificación taxonómica de los especímenes bacterianos al nivel de género. En la medida que se va completando la información de valor taxonómico al nivel de especie, se procederá a darle entrada en la base de datos digital Access de la colección.

Protocolo para el depósito de material

Para el depósito de muestras en la colección, se deberá cumplir con lo siguiente:

a) Que los estirpes microbianos sean productos de actividad académica o de investigación desarrolladas en grupos de investigación de la Escuela de Biología de la UIS que cuenten con alguno de los permisos siguientes: i) Permiso de recolección de especímenes silvestres de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial según establece el Decreto 1376 del 2013 [8], ii) Permiso de estudio para la recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica con fines de elaboración de estudios ambientales según establece el Decreto 3016 de 2013 [9], iii) Permiso de investigación según establece el Decreto 309 de 2000 [10] y, iv) Contratos de acceso a recursos genéticos (Resolución 1348 de 2014).

b) Que las muestras hayan sido preservadas con los protocolos de conservación descritos en el acápite No. 2 y tengan diligenciado el Anexo I. Formato de Constancia de Depósito (<https://goo.gl/Ti5w5l>). Las estirpes microbianas, que han sido conservados usando otros métodos deben venir acompañadas con toda la información que facilite su cultivo y caracterización; con la finalidad de que estas puedan ser preservadas con los protocolos estándar establecidos en el LMMA a tales fines.

c) Que las estirpes microbianas sean donaciones de otras colecciones registradas ante el RNC o que cumplan el punto “a”; y que estas presenten un reconocido potencial para el desarrollo de biotecnologías microbianas en las áreas de Geo-Microbiología, Ambiental y Biomédicas.

Una vez las estirpes celulares estén preservadas en los crioviales se procederá a dar entrada en la base de datos digital Access de la colección; asignando un número de catálogo y fecha de entrada, rotulando adecuadamente el criovial, anotando el número de crioviales conservados por estirpe microbiano, asignando una posición dentro de la colección a cada criovial y finalmente preservando en la nevera a -80oC. En la mencionada base de datos digital, además se dará entrada a la información de curaduría taxonómica si existe. En el caso que la estirpe cuente con información molecular, y esta se haya depositado en bases de datos públicas de secuencias genéticas, además se anotará el número de “voucher” del depósito. Los ADN de estirpes microbianas extraídos en el marco de actividades académica o de investigación, serán etiquetado con el mismo número de catálogo de la muestra original, pero estos serán preservados en otra nevera y ubicación diferente dentro del LMMA.

Protocolo de uso de material

Los especímenes microbianos preservados en el cepario LMMA-UIS tendrán cuatro (4) tipos de uso principales:

a) Académico: Los especímenes tipos con un valor académico en términos de sus características descriptivas, fisiológicas, taxonómicas, etc; serán usados en actividades docentes (Laboratorios). A tales fines, los profesores interesados solicitaran por escrito al director/curador del cepario se les facilite copias de las estirpes que se requieran. Los auxiliares, bajo la asesoría del curador de la colección, garantizarán la preparación de los cultivos.

b) Investigación: Como indicamos arriba, una fracción importante de los especímenes preservados en el cepario LMMA-UIS tienen su origen en actividades de investigación del GIMG. Estos especímenes, en sí mismo, pueden ser objeto de estudios específicos que amplíen la información base de la colección; así como, generen información de un perfil más aplicado con potencial en el desarrollo de biotecnologías en las áreas de investigación de interés para la colección (ver visión). Por tanto, ellos podrán ser usados en el desarrollo de: i) tesis de grado de estudiantes de pregrado y posgrado y ii) de proyectos de investigación científica.

c) Transferencia, préstamo y canje: Se harán transferencia o préstamos de especímenes de la colección solo si estos especímenes serán usados con fines académicos o de investigación científica no comercial. Se exigirá al solicitante, un compromiso escrito a tal fin. Por su parte, los canjes de especímenes de interés con otras colecciones reconocidas por el RNC se llevarán a cabo considerando el potencial del espécimen para el desarrollo de biotecnologías microbianas en las áreas de Geo-Microbiología, Bio-remediación, Industrial y Biomédicas. Los auxiliares, bajo la asesoría del curador de la colección, garantizarán la preparación de los cultivos. Se

exigirá la elaboración de un comprobante del intercambio de estirpes microbianas firmado por ambas partes.

d) Consultas Virtuales: La información de los especímenes del cepario LMMA-UIS estarán disponible en una página Web; la cual estará construida a corto plazo. Los usuarios del cepario LMMA-UIS podrán acceder a la información de los especímenes microbianos usando las herramientas de la mencionada página web. Esta permitirá hacer solicitudes de acceso a la información, acceder a información de especímenes tipos, descargar información relacionada con especímenes de la colección, aclarar dudas en línea con el curador o auxiliares de la colección, entre otras opciones.

No podrán ser usadas en ninguna de las modalidades anteriores, aquellos especímenes que se encuentra en custodia dentro de la colección. Es decir, no estarán disponible al público para su uso aquellos especímenes que están siendo usados en algún proyecto de investigación del GIMG o cuyos datos están en vías de publicación.

Protocolo de gestión de información

Como se indicó en el acápite anterior, la información de los especímenes del cepario LMMA-UIS estará disponible en una página Web de la colección. Por tanto, copias de la base de datos digital Access de la colección estarán disponibles en la nube y en un disco externo bajo custodia del director de la colección. Dicha base de datos contiene información sobre: a) fechas de depósito, conservación preventiva, curaduría y última conservación, b) ubicación al interior de la colección, c) datos de curaduría o determinación taxonómica, d) origen o georreferenciación, e) publicaciones, entre otras. Cada vez que se requiera, será enviada una copia actualizada de la base de datos digital Access al Registro Único Nacional de Colecciones Biológicas. Adicionalmente, una copia de dicha base de datos será enviada al Sistema de Información sobre Biodiversidad de Colombia (SiB Colombia).

Plan de emergencia

En caso de desastres naturales o incendios, el cepario LMMA-UIS aplicará los planes de emergencia institucionales descritos a tales fines.

Contacto

Jorge Luis Fuentes Lorenzo

jfuentes@uis.edu.co