

La estabilidad de especímenes de historia natural en colecciones preservadas en fluidos

Fernando Marte, Caroline Solazzo, David von Endt, David Erhardt, and Charles Tumosa
Smithsonian Center for Materials Research and Education, Suitland, MD 20746 USA

Introducción: las colecciones de historia natural se han formado a través de la recolección sistemática de especímenes a lo largo de los siglos (comenzando a principio del Siglo XVI). El número actual de especímenes es de 1.500 millones, creciendo a un ritmo de 50 millones por año (Peake, 1989). La significancia de estas colecciones es notable y ellas han sido la fuente más importante de información en estudios sobre biodiversidad. Los avances tecnológicos de las últimas décadas han permitido a los investigadores ir más allá en sus estudios taxonómicos para incluir la información química contenida en estas colecciones, tales como el secuenciamiento del ADN. Sin embargo, las técnicas utilizadas en la preservación de estos especímenes han permanecido hasta nuestros días sin mayores cambios. Asegurar condiciones de almacenamiento apropiadas, como así también tratamientos de conservación apropiados, requiere entender los procesos de deterioro que tienen lugar en dichas colecciones.

Materiales y métodos: se tomaron muestras de los líquidos de almacenamiento de especímenes de mamíferos del National Museum of Natural History (Smithsonian Institution, Washington DC). Estos especímenes tipo se encuentran almacenados en una solución al 70% de alcohol etílico y agua. Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y cromatografía gaseosa acoplada con espectrometría de masas (GC-MS) fueron utilizadas para determinar el perfil de amino ácidos y lípidos presentes en las muestras.

Resultados y discusión: trabajos previos (von Endt, 1994) muestran que especímenes de mamíferos están liberando amino ácidos y lípidos dentro de sus fluidos de almacenamiento. Los análisis indican que ácidos grasos saturados e insaturados, con un número de átomos de carbono par, están siendo liberados dentro de los fluidos, donde C16 y C18 representan la mayoría de los lípidos encontrados. El porcentaje relativo de cada ácido graso es típico para estas grasas (Hilditch and Williams, 1964).

Los análisis de amino ácidos muestran que tanto proteínas generales, como estructurales, han sido liberadas por los especímenes. La Figura 1 muestra algunos ejemplos sobre distintos patrones de deterioro en especímenes almacenados en alcohol etílico al 70%. La Figura 2 grafica algunos de los amino ácidos representativos de la proteína colágeno contra aquellos del fluido que contiene al espécimen *Peromyscus leucopus texanus* (ratón de campo) mostrando la similitud entre ambos perfiles. También puede notarse la diferencia en la concentración del amino ácido lisina, este residuo contiene uno de los grupos reactivos involucrados en la formación de enlaces cruzados durante el proceso de fijación del espécimen. Esto también puede contar como posible explicación de los datos colectados durante experimentos de calentamiento de proteínas estructurales en diferentes fluidos de almacenamiento (von Endt, 2000). En ellos muestras de colágeno y queratina fueron calentadas en 70% etanol, 70% etanol + 1% formalina (para simular un exceso de fijativo) y 50% 2-propanol. Los resultados muestran que en general colágeno se libera en el fluido más rápido que en el caso de queratina y que ambas proteínas

pierden peso más rápido en 50% 2-propanol que en 70% etanol y 70% etanol + 1% formalina. En el caso del colágeno la velocidad de pérdida fue mayor en 70% etanol que en 70% etanol + 1% formalina, siendo lo contrario en el caso de keratina que pierde peso más rápido en 70% etanol + 1% formalina que en 70% etanol aunque la diferencia en las pendientes no son tan marcadas como con colágeno. Como von Endt explica, una de las razones puede ser la formación de enlaces cruzados adicionales en colágeno. Como podemos ver en la Tabla 1 la concentración de lisina en colágeno es 4.5% mientras que en keratina es de 1.1%. La Figura 3 muestra el contenido de lisina de varias taxa (von Endt, in press) contra el contenido del mismo amino ácido en colágeno y keratina. Puede notarse en la grafica que la relación de lisina en los especímenes con respecto al contenido en colágeno (usado como control) es menor, esto es de esperarse debido a que parte de este amino ácido reacciona durante la fijación. Cabe destacar que los ácidos nucleicos también sufren la misma reacción.

Conclusión: En el pasado la mayoría de los especímenes de historia natural fueron utilizados en estudios taxonómicos y el principal objetivo fue preservar su morfología. La principal inquietud fue tratar con procesos de deterioro tales como distorsión, encogimiento y decoloración. Hoy en día los investigadores tienen acceso a técnicas que les permiten ir más allá en sus estudios taxonómicos y examinar también la información química de dichos especímenes. Por esta razón el tipo de información a ser preservada es diferente, incluyendo por ejemplo la composición y estructura de proteínas y secuencias de ADN. La expansión del tipo de información que debe ser preservada requiere la reexaminación de las técnicas de preservación hasta ahora utilizadas.

Bibliografía:

Hilditch, T. P., and P. N. Williams. 1964. *The Chemical Constitution of Natural Fats, Fourth Edition*. Chapman and Hall, London, 745 pp.

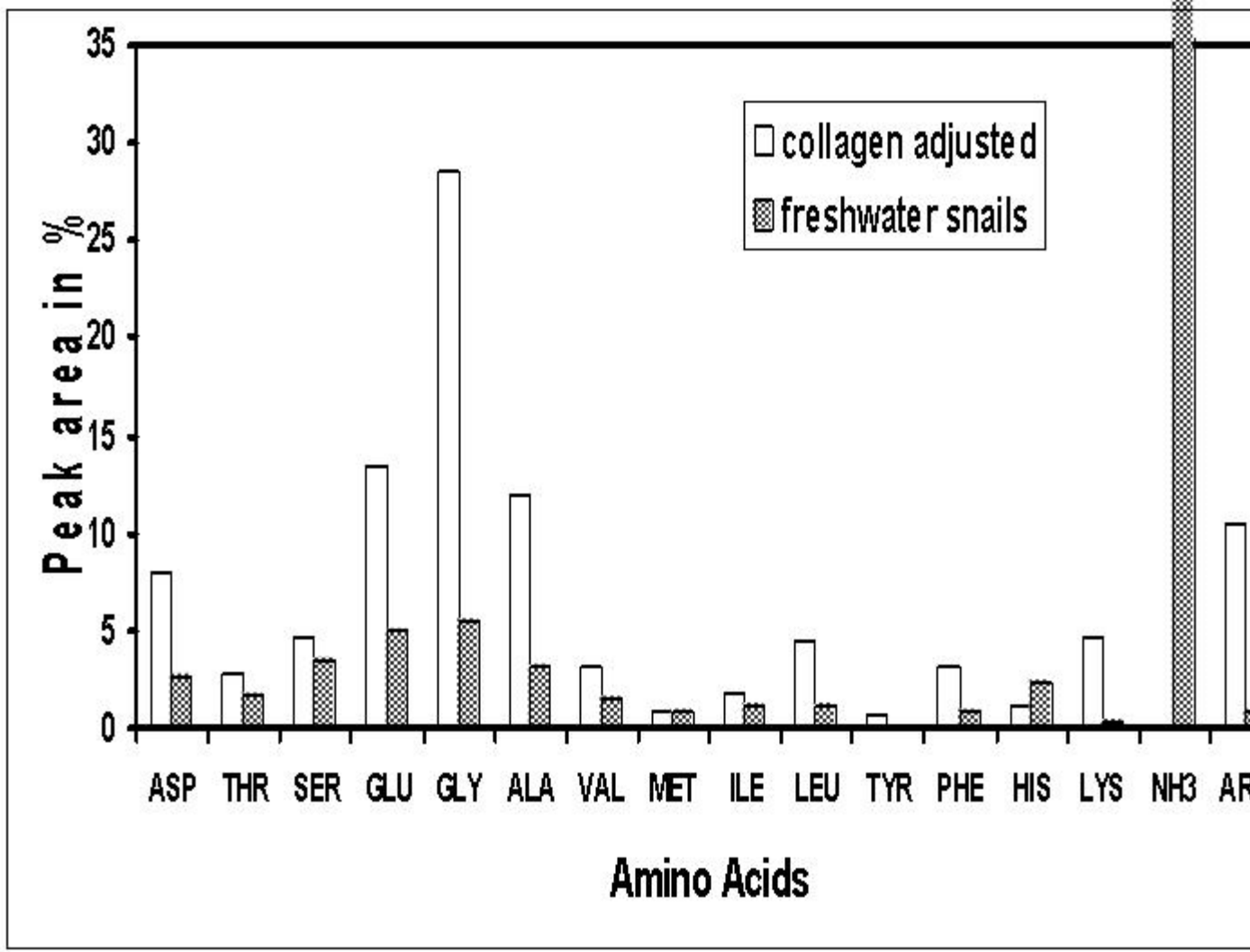
Peake, J. 1989. Spirit Collections costs and benefits. Pp 47-52 in *Conservation of Natural History Specimens: Spirit Collections* (C. V. Horie, ed.). The Manchester Museum and Department of Environmental Biology, The University of Manchester, Manchester, 115 pp.

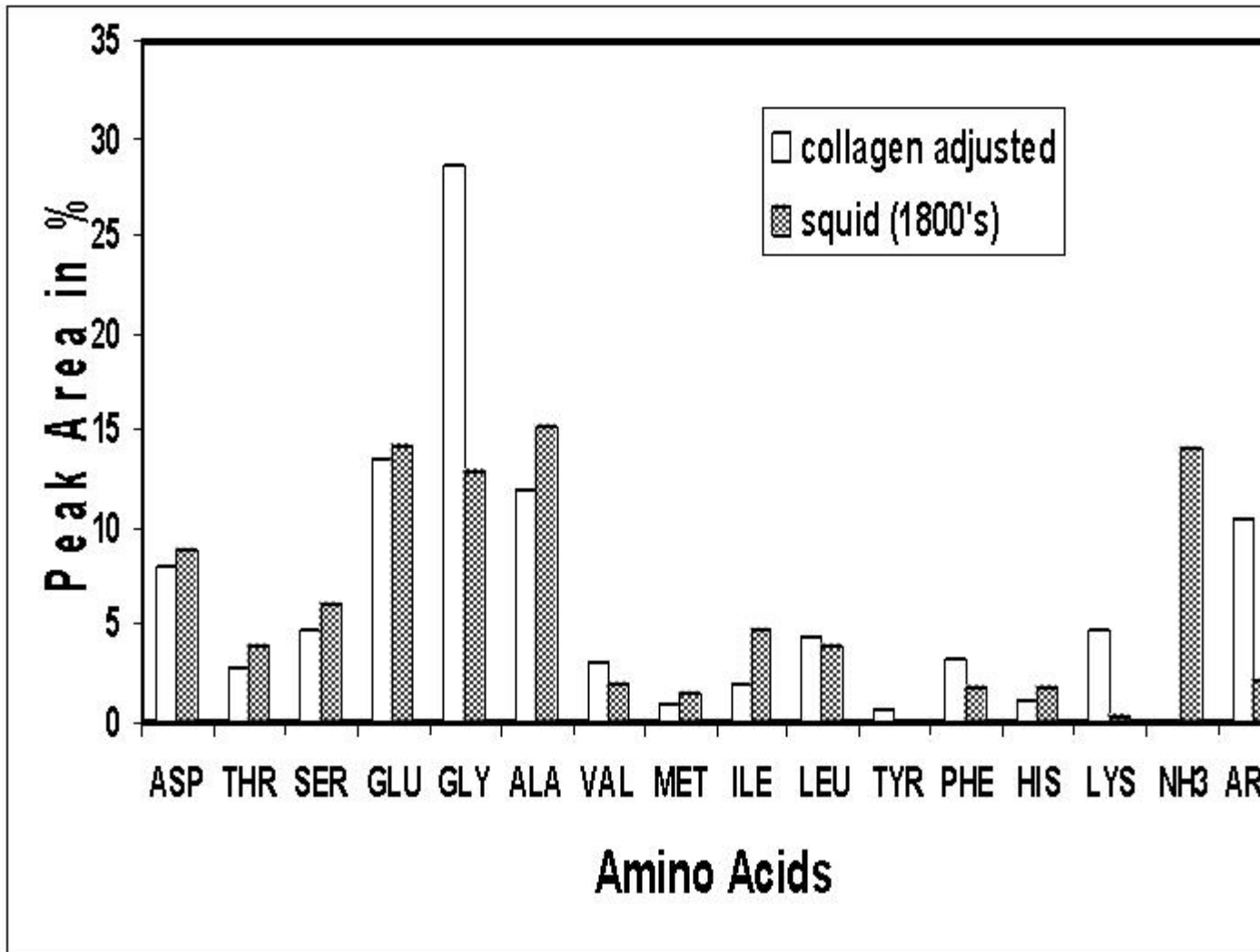
Von Endt, D. W. In press. Spirit Collections: An Analysis of Amino Acids Found in the Storage Fluids from a Variety of Taxa. *Collection Forum*.

Von Endt, D. W. 2000. Staying in shape: The Stability of Structural Proteins in Natural History Museum Storage Fluids. *Polymer Preprints*, 41(2): 1794-1795.

Von Endt, D. W. 1994. Spirit Collections: A preliminary analysis of mammal storage fluids. *Collection Forum*, 10:10-19.

Pie de figuras:





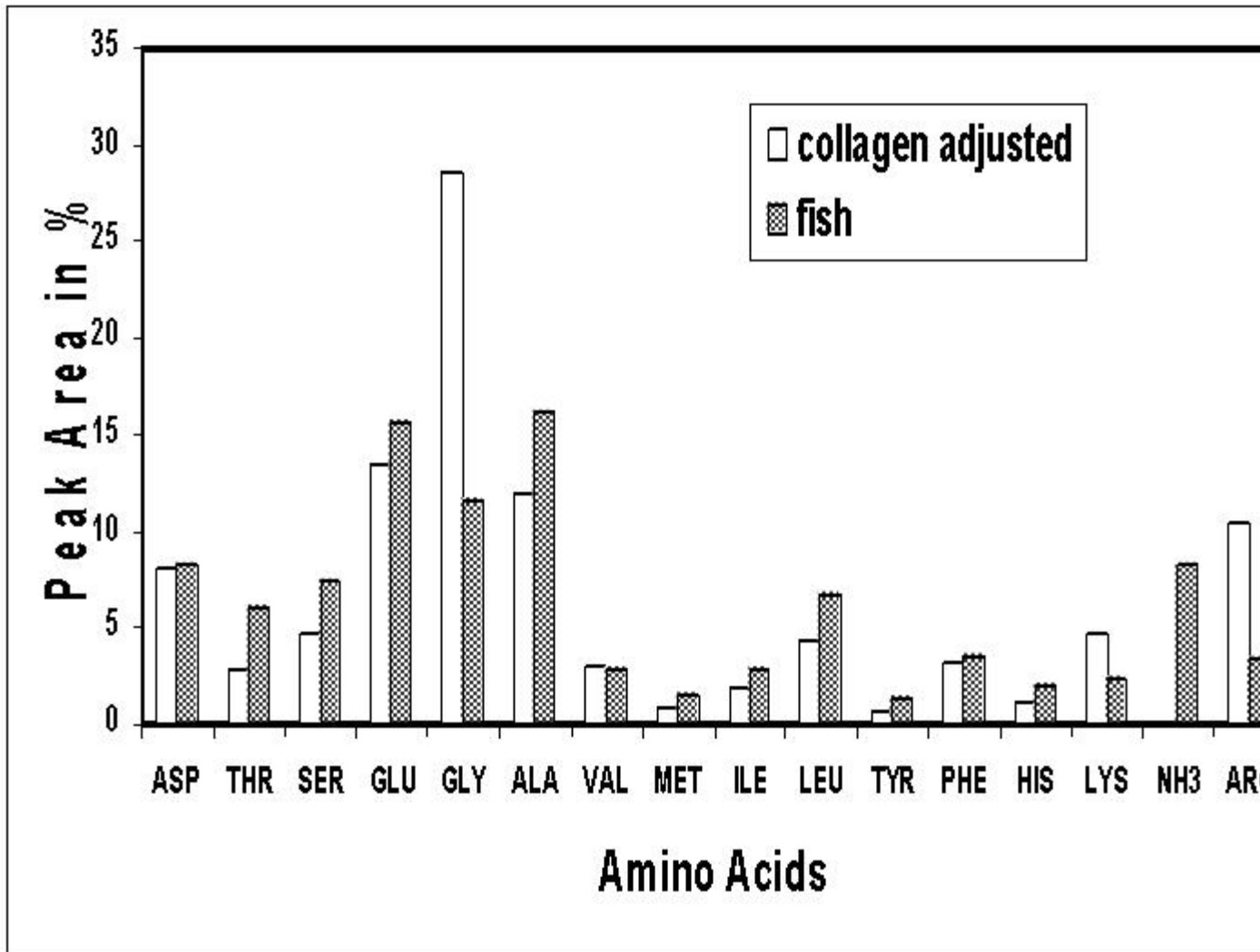


Figura 1: perfil de amino ácidos provenientes de distintos especímenes, almacenados en alcohol etílico al 70%, mostrando diferentes patrones de deterioro.

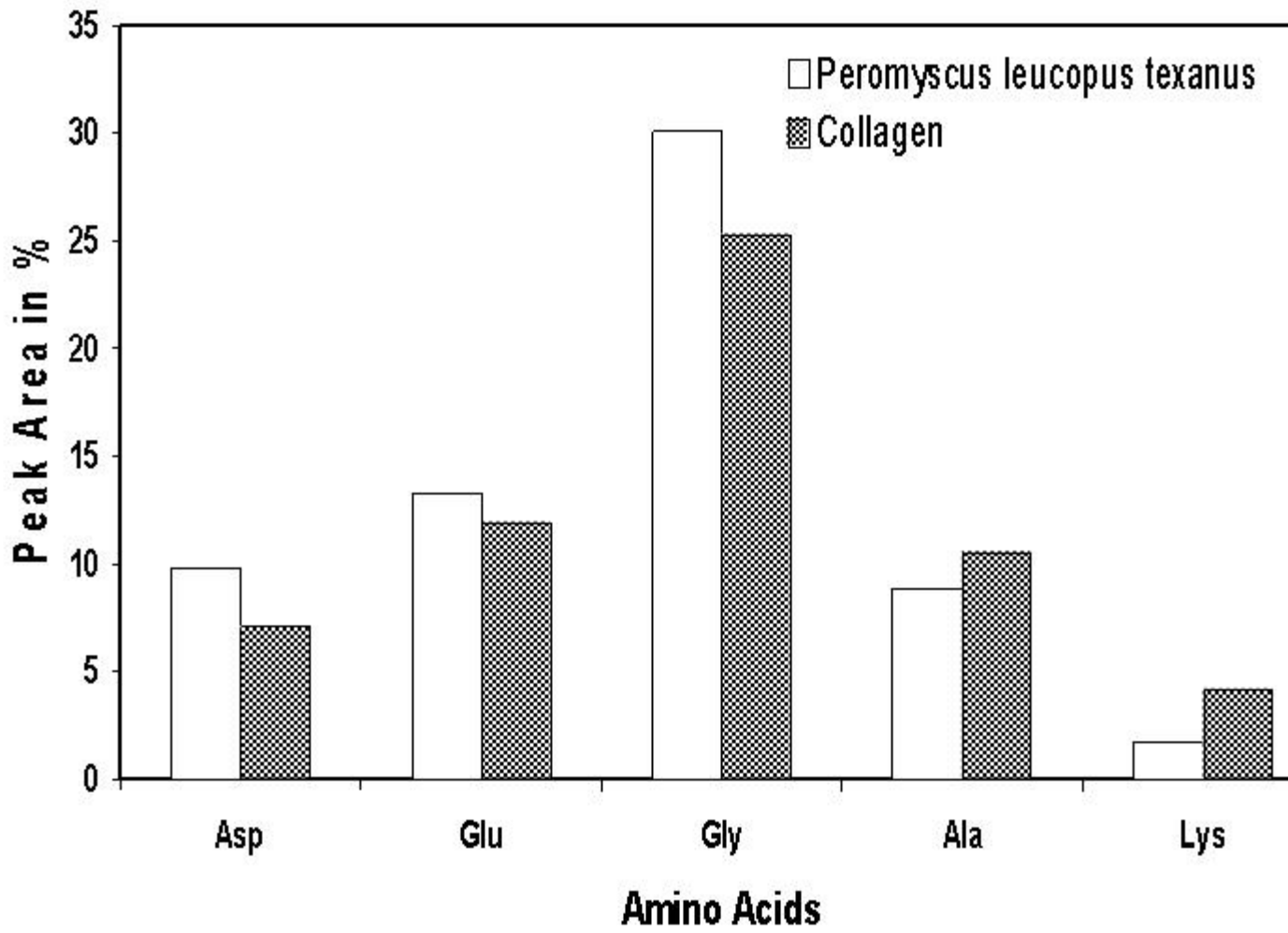


Figura 2: perfil de amino ácidos del espécimen *Peromyscus leucopus texanus* y amino ácidos representativos de la proteína colágeno.

Amino Acids	Collagen adjusted	Wool,Hair adjusted	Horn,Feather adjusted
ASP	8	8	7.5
THR	2.8	7.4	5.7
SER	4.7	9.7	14.5
GLU	13.5	16.6	11.9
GLY	28.6	6.8	13.8
ALA	11.9	4.6	8.8
VAL	3.1	6.3	8.8
MET	0.9	0.6	0.6
ILE	1.9	4.6	4.4
LEU	4.4	9.1	8.8
TYR	0.7	6.3	3.8
PHE	3.2	4.6	3.8
HIS	1.1	3.5	1.3
LYS	4.7	1.1	0.6
ARG	10.4	10.8	5.7
Total	99.9	100	100

Tabla 1: amino ácidos en partes por ciento de las proteínas colágeno, keratina en lana y pelo, y keratina en cuerno y pluma ajustados a los amino ácidos detectados.

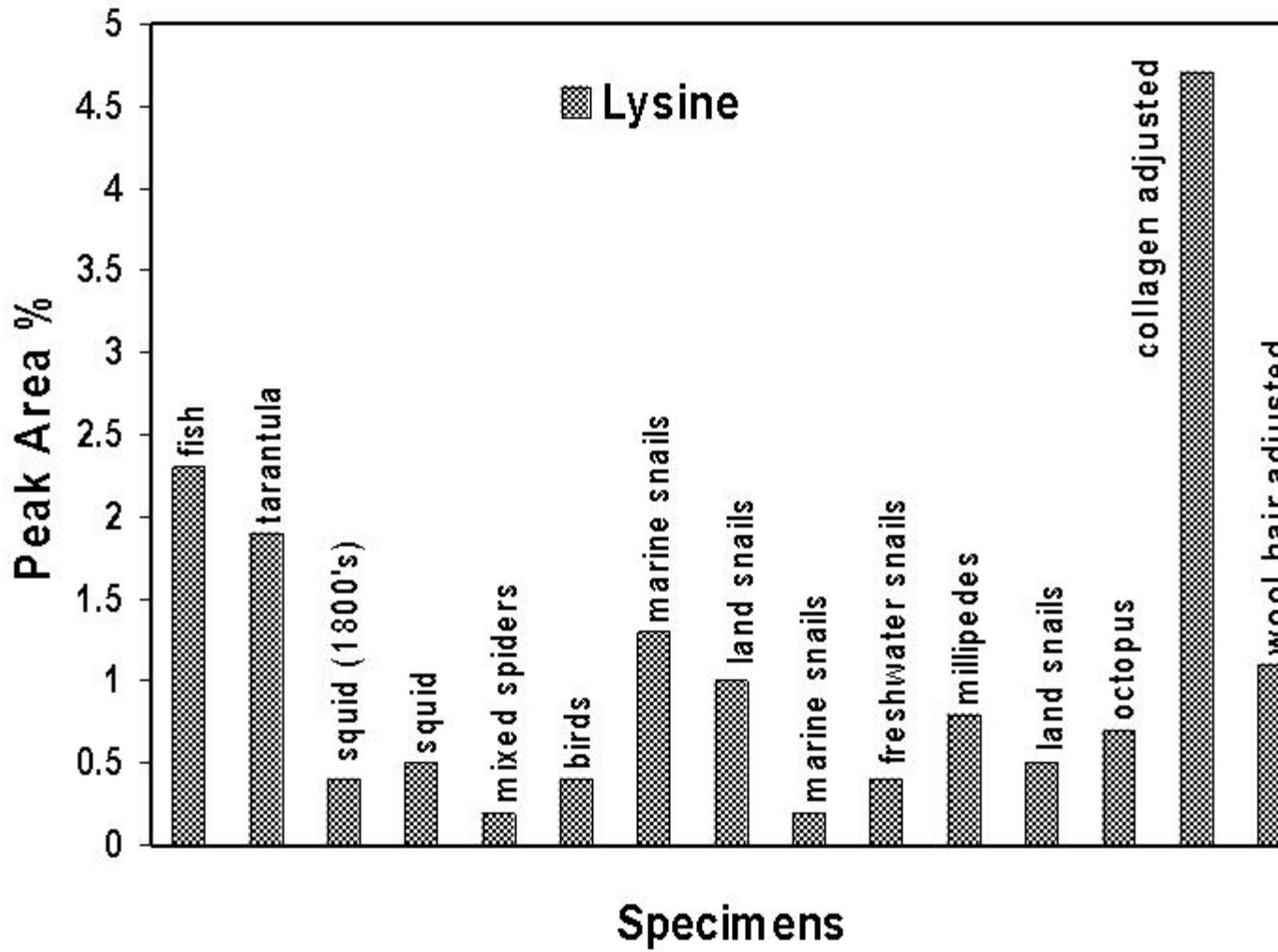


Figura 3: contenido de lisina para diferentes especimenes, almacenados en 70% alcohol etílico, y para colágeno y keratina.