



CONVENIO ESPECÍFICO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL ENTRE WILDLIFE CONSERVATION SOCIETY Y EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONIA PERUANA

Conste por el presente documento el Convenio Específico de Cooperación Interinstitucional que suscriben de una parte **WILDLIFE CONSERVATION SOCIETY**, a quien en adelante se le denominará "**WCS**", con RUC N° 20502381211, domiciliada para estos efectos en la Av. Roosevelt 6360-Urbanización San Antonio- distrito de Miraflores, provincia y departamento de Lima, debidamente representada por su Directora, la señora **Mariana Montoya Lizárraga**, identificada con DNI N° 09750027, con facultades inscritas en la partida 11414638 del Registro de Personas Jurídicas de la Zona Registral N° 11414638, y de la otra parte, el **INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONÍA PERUANA**, a quien en adelante se le denominará "**IIAP**", con RUC N° 20171781648, con domicilio legal en la Av. Abelardo Quiñones Km. 2.5, distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas y departamento de Loreto, debidamente representado por su Presidenta Ejecutiva, la señora **Carmen Rosa García Dávila**, identificada con DNI N° 05220064, designada por Resolución Suprema N° 005-2021-MINAM.

WCS y el **IIAP** son denominados de manera conjunta como **LAS PARTES** en los términos y condiciones siguientes:

CLÁUSULA PRIMERA: DE LAS PARTES

WCS es una organización internacional de carácter privado, sin fines de lucro, cuyo objetivo principal es la preservación de vida y tierras silvestres a través de la generación y aplicación de conocimientos científicos, la promoción de la conservación a nivel internacional, educación ambiental y la administración de sistemas de parques urbanos de vida silvestre más grande del mundo. A la fecha, **WCS** gestiona alrededor de 500 proyectos de conservación en más de 60 países y ha establecido más de 130 reservas y parques de vida silvestre alrededor del mundo. Es por esto que se encuentra entre las 4 principales ONGs a nivel mundial dedicadas a la conservación.

El **IIAP**, es un organismo técnico especializado con personería jurídica de derecho público interno, con autonomía económica y administrativa; constituye un pliego presupuestal de conformidad a lo establecido en la Ley N° 23374, Ley del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana.

Su misión es generar y proveer conocimiento científico y tecnológico sobre la diversidad biológica y sociocultural de la Amazonía, en beneficio de su población y decisores técnicos y políticos, de manera adecuada, oportuna y eficiente. Tiene como finalidad



realizar el inventario, la investigación, la evaluación y el control de los recursos naturales; promover su racional aprovechamiento y su industrialización para el desarrollo económico y social de la región; tiene como jurisdicción el ámbito que corresponde geográficamente a la cuenca amazónica peruana.

CLÁUSULA SEGUNDA: ANTECEDENTES

El 12 de abril del 2023, **LAS PARTES** suscribieron un Convenio Marco de Cooperación Interinstitucional (en adelante referido en el presente solo como “Convenio Marco”) con el objeto de establecer relaciones de cooperación técnica y científica entre ambas instituciones dentro de un espíritu de amplia colaboración de interés recíproco en el ámbito de sus competencias y funciones principalmente en temas de monitoreo de poblaciones naturales de peces (pesca, rasgos de vida y genética de poblaciones) pesquería, calidad de agua, manejo integrado de cuencas, humedales, manejo de recursos de fauna, monitoreo de variables ambientales y biológicas, especialmente en ríos, gestión de cuencas, formulación de proyectos de cooperación y el fortalecimiento de capacidades para la conservación de la biodiversidad biológica, entre otros, a fin de promover el desarrollo integral sostenible del poblador amazónico.

El IIAP, dentro de su PEI 2020-2024 ampliado al 2026 y a través de la Dirección de Investigación en Manejo Integral del Bosque y Servicios Ecosistémicos, desarrolla actividades a fin de contribuir con los objetivos estratégicos institucionales de incrementar propuestas técnicas para la conservación y uso sostenible de la diversidad biológica, recursos hidrobiológicos, y bosques andino-amazónicos para uso los órganos de desarrollo.

El presente Convenio Específico se rige bajo el Convenio Marco. De acuerdo con lo previsto en la Cláusula Cuarta del Convenio Marco, las partes asumen el compromiso de definir conjuntamente en áreas y temas de interés común en las cuales se detallarán los objetivos generales y particulares, plazos, presupuestos, modalidad y todo aquello que se considere necesario para su buena ejecución a fin de obtener resultados, logros e impactos.

CLÁUSULA TERCERA: OBJETIVO.

El objeto del presente Convenio Específico (en adelante referido como “Convenio”) es conjugar esfuerzos interinstitucionales para realizar el estudio “ADN ambiental (eDNA) para la identificación de rutas migratorias y áreas de desove prioritarias para la conservación de los grandes peces migradores amazónicos y responder preguntas ecológicas en pro de su manejo a escala de cuenca amazónica”, en base a las acciones presentadas en el Anexo I: PLAN DE TRABAJO, que forma parte del presente Convenio.



CLÁUSULA CUARTA: COMPROMISOS DE LAS PARTES

4.1 De WCS:

- 4.1.1 Efectuar oportunamente los depósitos de los "fondos de encargo" en la cuenta bancaria abierta por el IIAP para la ejecución del proyecto. Esto con el fin de alcanzar el objetivo del presente Convenio.
- 4.1.2 Brindar la información con la que WCS cuente, y que pueda ser de utilidad para el logro de los productos objeto del presente Convenio.
- 4.1.3 Revisar y aprobar, si correspondiere, los informes técnicos y financieros presentados por el IIAP.

4.2 Del IIAP

- 4.2.1 Abrir la cuenta corriente del subproyecto en una entidad bancaria supervisada por la Superintendencia de Banca, Seguros y AFP, y registrar las firmas de los responsables de la citada cuenta, la misma que únicamente debe ser utilizada para cumplir con el objeto del presente Convenio. Los datos de dicha cuenta para efectos de la transferencia le serán informados por parte del IIAP a WCS dentro de los 10 días siguientes a la suscripción del presente Convenio.
- 4.2.2 Remitir a la WCS los reportes técnicos y financieros de acuerdo con el cronograma establecido en el presente Convenio.
- 4.2.3 Asegurar la calidad del trabajo para la realización de las actividades y entrega de los productos, asegurando la participación de su personal especializado en el tema del objetivo del presente Convenio y el plan de trabajo adjunto.
- 4.2.4 Administrar los fondos que WCS le encarga en base a lo estipulado en la CLÁUSULA SEXTA: (Del financiamiento y su administración).
- 4.2.5 Los recursos entregados a el IIAP por WCS serán para realizar lo siguiente:
 - 4.2.5.1 Realizar la toma y análisis de muestras de eDNA en los principales ríos de Perú ubicados en el piedemonte amazónico y en los que se tienen reportes de la presencia de los grandes bagres migradores



amazónicos, *Brachyplatystoma juruense* (Boulenger 1898) o Bagre zebra; *Brachyplatystoma platynema* Boulenger 1898 o Barba chata; *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau 1855) o Bagre dorado; *Brachyplatystoma tigrinum* (Britski 1981); y *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes 1840) o Pirabutón.

4.2.5.2 Establecer un protocolo para la toma y procesamiento de muestras de eDNA tomadas en los diferentes ríos del piedemonte amazónico.

4.2.5.3 Procesar y analizar las muestras de los ríos del piedemonte amazónico peruano y boliviano, tomadas por el equipo del IIAP y de **WCS Bolivia**, respectivamente, usando métodos de qPCR, con el fin de mapear la extensión de los rangos migratorios de las especies de grandes bagres y migradores amazónicos, incluyendo la determinación de sus áreas de desove (su inclusión en criterios de priorización para la conservación.

4.2.5.4 Procesar las muestras de eDNA de los ríos del piedemonte amazónico peruano y boliviano, tomadas por el equipo del IIAP y de WCS Bolivia, respectivamente, para en un futuro, realizar la detección de presencia/ausencia de biodiversidad acuática de diferentes grupos taxonómicos en los ecosistemas muestreados, a partir de métodos de meta barcoding, como un elemento suplementario de las muestras, que son el objetivo directo de este plan.

4.2.5.5 Realizar los reportes técnicos con los resultados obtenidos, incluyendo los datos brutos (bases de datos, fotos y cualquier material de soporte) y financieros necesarios, que deberá ser entregado a **WCS**.

4.2.5.6 El IIAP debe reconocer el apoyo de The Nature Conservancy - TNC - por ser quien contribuye con el financiamiento - y de **WCS** al Proyecto en todos los anuncios, programas y publicaciones relevantes en los medios y obtener el consentimiento previo de TNC y **WCS** para los reconocimientos propuestos. Sin embargo, el IIAP no puede usar el nombre o el logotipo de TNC por ningún otro motivo sin el permiso previo por escrito de TNC.



Sin perjuicio de los compromisos de ambas PARTES y referidos en la presente cláusula, éstas deberán cumplir también con las obligaciones contenidas en el ANEXO 3 a este Contrato, denominado "DISPOSICIONES ESTANDARES".

CLÁUSULA QUINTA: FUNCIONARIOS DE CONTACTO.

Para el desarrollo del presente Convenio, ambas instituciones designan como personal de contacto a:

Por el **IIAP** : Diana Castro Ruiz, jefe del Laboratorio de Biología y Genética Molecular-LBGM.
Por **WCS** : Sandra Ríos, Directora del Paisaje Marañón Ucayali de WCS Perú.

CLÁUSULA SEXTA: DEL FINANCIAMIENTO Y SU ADMINISTRACION.

6.1. Con el fin de alcanzar el objetivo del presente Convenio, **WCS** otorgará al **IIAP**, en calidad "fondos por encargo" la suma total de S/123,401.00 (Ciento veintitrés mil cuatrocientos uno y 00/100 Soles), de acuerdo al presupuesto referido en el Anexo 2: PRESUPUESTO, que forma parte integrante del presente Convenio.

6.2. Los desembolsos se realizarán de la siguiente manera:

- 60%, S/. 74.040.6 (Setenta y cuatro mil cuarenta y 60/100 soles) a la fecha de apertura de la cuenta bancaria donde se depositarán los fondos, hasta el 30 de mayo de 2023.
- 30%, S/. 37.020.30 (Treinta y siete mil veinte y 30/100 Soles) a la entrega de primer informe técnico y aprobación del reporte financiero, hasta el 30 de agosto de 2023.
- 10%, S/. 12,340.10 (Doce mil trescientos cuarenta y 10/100 Soles) a la aprobación del informe técnico final y aprobación del informe financiero final, hasta el 22 de diciembre de 2023.

6.3. Los desembolsos descritos arriba, se realizarán mediante transferencia bancaria a la Cuenta corriente que el **IIAP** abrirá para la ejecución del presente convenio.

6.4. Los gastos en el que el **IIAP** incurra con estos fondos, deben ser documentados de acuerdo con los procedimientos administrativos del **IIAP** y a las disposiciones que están referidas en el Anexo 3: DISPOSICIONES ESTANDARES.



6.5. EL IIAP será el único responsable del pago de cualquier impuesto o gravamen relativo a los desembolsos realizados por WCS.

6.6. El IIAP mantendrá libre e indemne a WCS de cualquier investigación y/o sanción por parte de autoridad competente o judicial por el uso de los fondos por parte de IIAP.

CLÁUSULA SÉPTIMA: REPORTES TÉCNICOS Y FINANCIEROS

7.1 El IIAP, se compromete a entregar los reportes técnicos (Productos) de la siguiente manera:

<u>Producto</u>	<u>Fecha de Entrega</u>	<u>Fecha de Entrega</u>
	<u>Avance.</u>	<u>Final.</u>
Primer reporte técnico: Producto 1-Reporte con los resultados y muestras obtenidas durante de la fase campo.	15 de agosto de 2023	30 de agosto de 2023
Reporte técnico final Producto 2-Documento con todos los resultados obtenidos durante la fase de campo y de análisis de laboratorio, incluyendo los protocolos utilizados, las bases de datos, fotografías y material suplementario pertinente.	15 de diciembre de 2023	30 de diciembre de 2023

7.2 El IIAP, se compromete a entregar los informes financieros, considerando las pautas establecidas en el Anexo 04: INFORMES FINANCIEROS y en los siguientes periodos:

<u>Periodo Cubierto</u>	<u>Fecha de Entrega</u>
Desde la fecha de la firma de este convenio al 15 de agosto de 2023	31 de agosto de 2023
1 de septiembre al 30 de noviembre de 2023	15 de diciembre de 2023

CLÁUSULA OCTAVA: CONDICIONES LABORALES

Este Convenio, no genera derechos a ninguna de LAS PARTES o a sus empleados a recibir beneficios laborales y seguros que reciben los empleados de la otra Parte, se entenderá como exclusivamente vinculado laboralmente con su institución de origen.

CLÁUSULA NOVENA: PROTECCIÓN DE DAÑOS Y PERJUICIOS





- 9.1 Los daños que pudiere sufrir el personal de cada una de las **PARTES**, ocasionados como consecuencia de la ejecución de las actividades del Convenio Específico, será de entera responsabilidad y riesgo de la **PARTE** que sea empleadora de dicho personal.
- 9.2 La pérdida de bienes institucionales o personales originada en la ejecución de las acciones materia de este Convenio, será de entera responsabilidad de cada una de **LAS PARTES**.
- 9.3 En caso de daños o afectaciones de cualquier tipo ocasionadas por responsabilidad del **IIAP** a terceros durante la ejecución de las actividades contempladas en este Convenio, el **IIAP** se obliga a mantener libre e indemne a **WCS** de reclamos y demandas de cualquier tipo en contra de **WCS** y se obliga a indemnizar a **WCS** por los daños y perjuicios respectivos, si es que **WCS** se viere obligada por sentencia o resolución de autoridad competente al pago a terceros de cualquier tipo de indemnización, sanción y/o multa.

CLÁUSULA DÉCIMA: CONFIDENCIALIDAD Y PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES

LAS PARTES se comprometen a preservar la confidencialidad de cualquier documento, información u otro material de propiedad de cada una de las **PARTES**, que le sea comunicado a la otra con carácter de confidencial por la **PARTE** propietaria. Dicha obligación de confidencialidad será como mínimo hasta el final de un periodo de tres (03) años siguientes al término del Convenio Específico.

Las partes, se comprometen a cumplir con lo dispuesto en la Ley de protección de datos personales, su Reglamento y sus modificatorias. Si cualquiera de las partes en la ejecución del presente convenio tiene acceso a información personal de los trabajadores, estudiantes, o de terceras personas, declara obligarse a no realizar ninguna clase de tratamiento, utilización, extracción, recopilación, transferencia o difusión de los datos personales a los que tenga acceso, sin que cuente con autorización expresa de la otra parte.

CLÁUSULA DÉCIMA PRIMERA: VISIBILIDAD Y PROPIEDAD INTELECTUAL

- 11.1 **LAS PARTES** acuerdan que todos los documentos impresos, medios electrónicos y material de divulgación y publicitario desarrollados en el marco del presente Convenio deberán incluir el logo de cada una de **LAS PARTES**. Cada una de las **PARTES** es propietaria de sus propias marcas y logos, por lo que solo podrán ser utilizados por la otra **PARTE** previa autorización por escrito de la **PARTE** propietaria.



- 11.2 La identidad visual de **LAS PARTES**, deberá promoverse en todas las actividades y productos comunicativos desarrollados en el marco del Convenio a través de papelería, banderolas, materiales informativos, publicaciones, presentaciones en computadora, producciones audiovisuales, notas de prensa, páginas web y cualquier otro medio de difusión.
- 11.3 El uso y/o divulgación por una de las **PARTES** de la información, conocimientos y tecnologías generadas en el marco de este Convenio, requerirán autorización expresa de la otra **PARTE**.
- 11.4 Los informes y datos generados en el marco de este Convenio, serán de copropiedad de **LAS PARTES**, quienes reconocerán los derechos de autoría y de todos los involucrados en el desarrollo de los productos entregables.
- 11.5 La información y documentos de cualquier tipo que hubieran sido de titularidad de alguna de las **PARTES**, con anterioridad a este Convenio, y que sean utilizados durante su ejecución, permanecerán bajo en titularidad de **LA PARTE** que sea la propietaria.

CLÁUSULA DÉCIMA SEGUNDA: VIGENCIA Y TERMINACIÓN ANTICIPADA

El presente Convenio entrará en vigencia a partir de la fecha de su suscripción por **LAS PARTES**, hasta el 15 de junio de 2024, pudiendo ser modificado vía Adenda y realizada por acuerdo de **LAS PARTES**.

WCS podrá terminar de forma libre, unilateral y anticipada este Convenio, en caso de incumplimiento del **IIAP** de las obligaciones contenidas en el presente documento. Incumplimiento que a solo criterio de **WCS** no haya sido enmendado oportunamente por el **IIAP**. Para tal efecto notificará por escrito al **IIAP** sobre la referida terminación y la fecha efectiva de la misma.

También podrá terminarse este Convenio de forma libre, anticipada y unilateral por cualquiera de las **PARTES**, en caso de fuerza mayor o caso fortuito comprobados, que no puedan ser superados y que impidan la ejecución del Convenio.

Se realizarán por parte de **WCS** solo los desembolsos de fondos que correspondan a productos efectuados a satisfacción de **WCS** hasta la fecha efectiva de terminación de este Convenio.



CLÁUSULA DÉCIMA TERCERA: CESIÓN.

LAS PARTES no podrán ceder sus derechos ni posición en el presente Convenio, sin previa autorización por escrito de la otra Parte; el incumplimiento dará lugar a la resolución del presente Convenio.

CLÁUSULA DÉCIMA CUARTA: DISPOSICIONES FINALES.

Cualquier asunto no previsto expresamente en el presente Convenio y/o cualquier discrepancia en su aplicación o interpretación, será solucionado o aclarado vía el entendimiento directo de los representantes designados por **LAS PARTES** intervinientes, teniendo en cuenta para ello las reglas de la buena fe y común intención.

De no ser ello posible; la controversia se resolverá mediante arbitraje de acuerdo con el Reglamento de Arbitraje del Centro Nacional e Internacional de Arbitraje de la Cámara de Comercio de Lima, a cuyas normas, administración y decisión se someten las partes en forma incondicional, declarando conocerlas y aceptarlas en su integridad. En señal de conformidad, **LAS PARTES** suscriben el presente Convenio, por duplicado a los (23) del mes de mayo de 2023.

POR WCS

POR EL IIAP

MARIANA MONTOYA LIZÁRRAGA
Directora WCS Perú

CARMEN ROSA GARCÍA DÁVILA
Presidenta Ejecutiva





CONVENIO ESPECÍFICO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL ENTRE WILDLIFE CONSERVATION SOCIETY Y EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONIA PERUANA

ANEXO 1: PLAN DE TRABAJO

ADN ambiental

Introducción

Este documento presenta el plan de trabajo para la ejecución de actividades para la identificación de las rutas migratorias, áreas prioritarias para la conservación de los grandes peces migradores amazónicos y responder preguntas ecológicas en pro de su manejo a escala de cuenca amazónica, a partir de técnicas moleculares de ADN Ambiental (eDNA), y que será llevado a cabo de manera colaborativa entre varias instituciones de Ecuador, Bolivia, Perú y Colombia con presencia en la cuenca amazónica. Estas actividades se establecen en el marco del Memorando de Entendimiento firmado entre The Nature Conservancy y Wildlife Conservation Society, el 1 de septiembre de 2021, con el objetivo de formalizar una colaboración para establecer cooperación entre liderazgo regional, equipos de conservación y programas locales de país con el fin de diseñar, fortalecer e implementar esfuerzos conjuntos para la protección de ecosistemas acuáticos epicontinentales en América Latina, y en el Convenio Marco de Cooperación Interinstitucional firmado el 13 de junio del 2018 entre WCS y el IIAP para la colaboración de interés recíproco en el ámbito de sus competencias y funciones principalmente en temas de monitoreo de poblaciones naturales de peces (pesca, rasgos de vida y genética de poblaciones), pesquerías, calidad de agua, manejo integrado de cuencas, humedales, manejo de recursos de fauna, monitoreo de variables ambientales y biológicas, especialmente en ríos, gestión de cuencas, formulación de proyectos de cooperación y el fortalecimiento de capacidades para la conservación de la biodiversidad biológica, entre otros.

Este plan de trabajo se enmarca dentro de un proyecto mayor, en el que participan el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), el Instituto Nacional de Biodiversidad del Ecuador (INABIO) y el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas (SINCHI), además de los equipos de WCS de Colombia, de Ecuador, de Perú y de Bolivia, quienes buscan colaborar para la toma y análisis de muestras de eDNA en los principales ríos de Bolivia, Ecuador, Perú y Colombia ubicados en el piedemonte amazónico y en los que se tienen reportes de la presencia de los grandes bagres migradores amazónicos.

Este plan de trabajo delinea los medios de colaboración específicos entre **WCS** y el **IIAP**, los métodos para la implementación de las actividades aquí referidas, sus plazos de ejecución y el costo de dichas actividades, y que son de interés para ambas partes.



Objetivos

Principal:

Aunar esfuerzos para el desarrollo de proyectos piloto de ADN ambiental (eDNA) para la identificación de rutas migratorias y áreas de desove prioritarias para la conservación de los grandes peces migradores amazónicos y responder preguntas ecológicas en pro de su manejo a escala de cuenca amazónica.

Específicos

1. Realizar la toma y análisis de muestras de eDNA en los principales ríos de Perú ubicados en el piedemonte amazónico y en los que se tienen reportes de la presencia de los grandes bagres migradores amazónicos, *Brachyplatystoma juruense* (Boulenger 1898) o Bagre zebra; *Brachyplatystoma platynema* Boulenger 1898 o Barba chata; *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau 1855) o Bagre dorado; *Brachyplatystoma tigrinum* (Britski 1981); y *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes 1840) o Pirabutón.
2. Establecer un protocolo para la toma y procesamiento de muestras de eDNA tomadas en los diferentes ríos del piedemonte amazónico.
3. Procesar y analizar las muestras de los ríos del piedemonte amazónico peruano y boliviano, tomadas por el equipo del IIAP y de WCS Bolivia, respectivamente, usando métodos de qPCR, con el fin de mapear la extensión de los rangos migratorios de las especies de grandes bagres y migradores amazónicos, incluyendo la determinación de sus áreas de desove (su inclusión en criterios de priorización para la conservación).
4. Procesar las muestras de eDNA para en un futuro, realizar la detección de presencia/ausencia de biodiversidad acuática de diferentes grupos taxonómicos en los ecosistemas muestreados, a partir de métodos de meta barcoding, como un elemento suplementario de las muestras, que son el objetivo directo de este plan.
5. Buscar recursos de modo conjunto para ampliar las zonas de muestreo y aumentar la resolución temporal de los muestreos en las zonas identificadas como prioritarias y para procesar las muestras procesadas para meta barcoding.

Actividades propuestas y cronograma

Actividades

En el marco de este proyecto se tomarán muestras en diversos puntos de la cuenca amazónica de acuerdo con la estacionalidad de las migraciones de los grandes bagres y su llegada a los ríos de las cuencas occidentales de la Amazonía (Figura 1). Las muestras serán tomadas siguiendo los métodos y el protocolo descritos en el anexo 5.

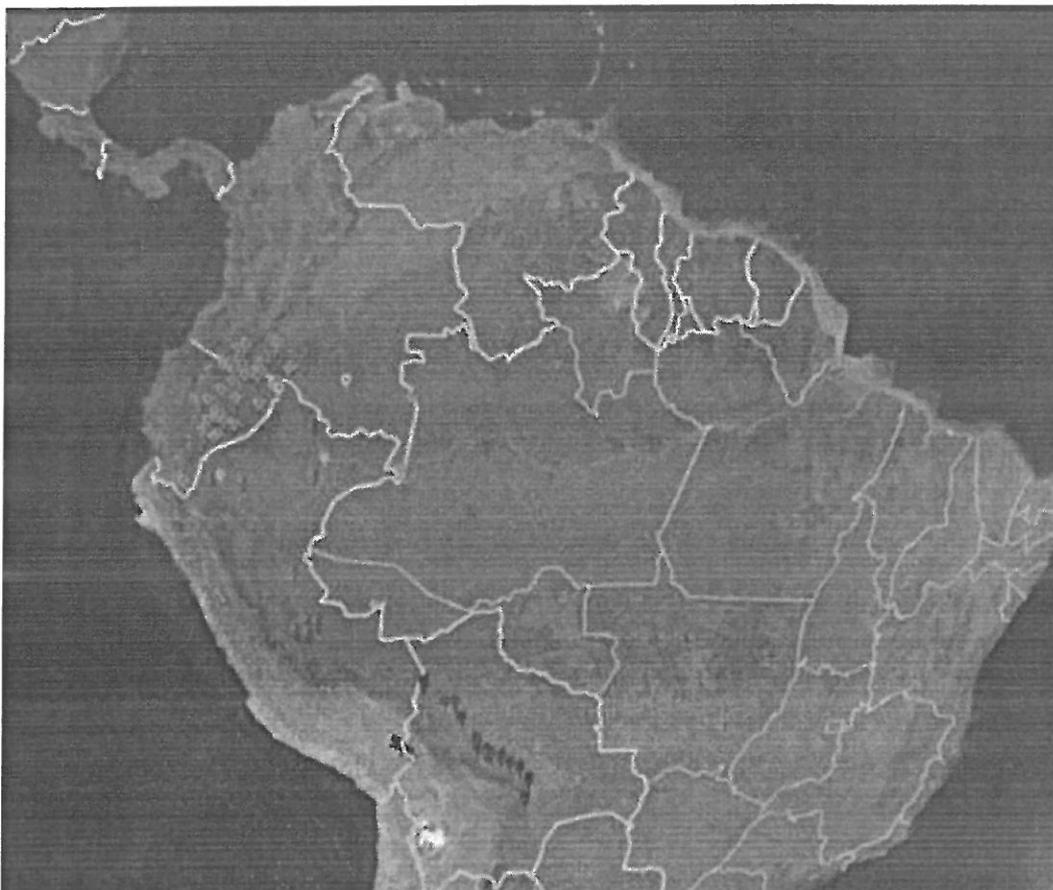


Figura 1. Puntos para la toma de muestras de agua para la extracción de eDNA.

Las muestras serán tomadas y procesadas diversos equipos en cada uno de los países. Específicamente, las muestras de los ríos localizados en territorio Boliviano serán tomadas por el equipo local de WCS, y serán procesadas en Perú, por el equipo del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), que a su vez tomará las muestras de los ríos localizados en territorio peruano; las muestras de los ríos localizados en Ecuador serán tomadas por los equipos locales de WCS y del Instituto Nacional de Biodiversidad del Ecuador (INABIO); quienes además procesarán todas las muestras del país; las muestras de los ríos en territorio colombiano serán tomadas por los equipos locales de WCS (cuena del río Putumayo), y del Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas (SINCHI) (cuena del río Caquetá), quienes a su vez procesarán todas las muestras del país (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de la toma y análisis de las muestras. Los campos señalados con asterisco y color azul corresponden a las actividades que serán cubiertas con los fondos objeto de este convenio.



Cuenca	Toma de muestras	Análisis de muestras
Río Madeira	WCS Bolivia	IIAP*
Ríos Santiago y Morona	WCS Ecuador	INABIO
Río Putumayo	WCS Colombia	SINCHI
Ríos Marañón y Ucayali	IIAP*	IIAP*

Adicionalmente, algunas muestras de cada uno de los países serán procesadas en los laboratorios de la Environmental Protection Agency (EPA) de Estados Unidos, con el fin de corroborar los resultados obtenidos.

A pesar de la multiplicidad de los equipos y los puntos de muestreo, los fondos objeto de esta transferencia entre el IIAP y WCS, se usarán para cubrir las actividades de campo de toma de muestras en las cuencas de los ríos Madeira, Marañón y Ucayali. Adicionalmente, se cubrirán los gastos de las actividades de extracción de eDNA y qPCR llevadas a cabo por el IIAP.

El Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana es una institución de investigación científica y tecnológica concebida para lograr el desarrollo sostenible de la población amazónica, con énfasis en lo rural, especializada en la conservación y uso correcto de los recursos naturales en la región amazónica, y además de una amplia experiencia con la biodiversidad acuática y los recursos pesqueros, cuenta con un avanzado LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR que desde hace un tiempo desarrolla investigaciones de DNA ambiental para la detección de peces. Como un actor importante en la región amazónica, en la que WCS tiene diversas actividades, WCS ha trabajado en múltiples ocasiones con el IIAP como su socio y aliado estratégico, por lo que los fondos destinados a cubrir los gastos de las cuencas Ucayali y Marañón, al igual que los fondos para la fase de laboratorio de análisis de las muestras del Madeira, Ucayali y Marañón, serán transferidos desde WCS al IIAP por medio de un sub-acuerdo, en el marco de un MOU ya existente.

El costo de las actividades de campo en Colombia, Bolivia y Ecuador, al igual que el de la extracción de eDNA y qPCR de las muestras que se procesarán en la EPA, INABIO y SINCHI no son objeto de esta transferencia de fondos. Sin embargo, las muestras tomadas en las cuencas Santiago, Morona y Putumayo, serán procesadas por los equipos de INABIO y SINCHI, quienes tienen un acuerdo de entendimiento con TNC y recibirán fondos para dicha actividad.



Cronograma



Actividades	2023											
	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Creación del grupo de trabajo técnico para determinación de protocolos, métodos y procesos estandarizados para los análisis de ADN												
Compra y preparación de insumos y materiales para la toma y fijación de muestras de eDNA												
Toma de muestras en Sur de Ecuador, Putumayo Colombia y Marañon/Ucayali Perú												
Envío y/o recepción de muestras a laboratorios de análisis												
Primer informe técnico y financiero												
Extracción del material genético de los filtros												
Ejecución de los ensayos moleculares de qPCR y comparación de resultados												
Creación de una guía práctica para la implementación de los protocolos por los científicos y ciudadanos participantes del proyecto												
Informe técnico y financiero final												



ANEXO 2: PRESUPUESTO

Rubro	Campo			Análisis	Total soles
	1	2	3		
Gastos de viaje	3.885	7.102	1.212		12.199
Gastos de muestreo campaña aguas altas	1.100	500	420		2.020
Personal	3.380	8.180	1.780		13.340
Gastos por envío de muestras	0	0	0		0
Otros gastos, total	650	973	338		1.961
Reuniones				950	950
Gastos de extracción del eADN y qPCR				92.931	92.931
Subtotal	9.015	16.755	3.750	93.881	123.401
Total					123.401



ANEXO 3: DISPOSICIONES ESTANDARES

1. UTILIZACIÓN DE FONDOS.

- a. Todos los fondos proporcionados bajo este Convenio Especifico deberán ser utilizados únicamente para los fines aprobados, y para los gastos autorizados en el Anexo 1 "Plan de trabajo y Anexo 2 Presupuesto".
- b. El IIAP es el responsable de asegurarse de que el Proyecto sea administrado de conformidad con los términos de este Convenio Especifico y que ninguno de los fondos autorizados sea desembolsado a ninguna organización o entidad fuera de las que se han señalado específicamente en este documento.
- c. Los fondos otorgados deben ser administrados bajo las normas y procedimientos administrativos del IIAP y las facturas deben ser solicitadas a nombre y con el RUC del IIAP.
- d. El IIAP tiene que recibir una aprobación escrita de WCS antes de realizar cualquier cambio al presupuesto o a los objetivos, metas, metodología o cronograma de ejecución del Proyecto.
- e. Cualquier fondo remanente en poder del IIAP a la terminación o vencimiento del término de este Convenio deberá ser devuelto a WCS.
- f. Los fondos concedidos no deben desembolsarse para llevar a cabo propaganda ni para intentar influir en la legislación o en cualquier elección pública.
- g. Los fondos no deben desembolsarse para realizar pagos que son, o dan la apariencia de ser, un conflicto de intereses. Se define como un conflicto de intereses a la transacción por medio de la cual los intereses personales o económicos de un empleado entran en conflicto, o parecieran entrar en conflicto, con su responsabilidad oficial. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, las transacciones utilizadas como pagos al socio(s) del negocio del director del proyecto, subdirector del proyecto, o miembros de sus familias inmediatas, en concepto de salarios, reembolso de gastos o cualquier otro tipo de compensación, o pagos a organizaciones en las cuales el director del proyecto, subdirector del proyecto o miembro(s) de sus familias inmediatas tengan un interés económico.

2. MONITOREO DEL PROYECTO.

- a. OBLIGACIÓN DE MANTENER REGISTROS. El IIAP deberá archivar todos los registros pertinentes, tanto financieros como técnicos, relacionados a este documento, por un período de tres años siguientes a la terminación o vencimiento de esta Concesión. WCS, sus representantes, y cesionarios se



reservan el derecho de inspeccionar, revisar o auditar cualquier y todos los registros relacionados a este Acuerdo.

- b. VISITAS IN SITU. WCS considera esencial el monitoreo de actividades del proyecto para la ejecución efectiva de la Concesión. WCS, sus representantes y cesionarios, pueden realizar visitas al sitio para revisar el progreso del proyecto y sus resultados. En la medida que sea posible, WCS avisará anticipadamente al Sub-beneficiario de cualquiera de estas visitas.
- c. AUDITORÍA. WCS se reserva el derecho de solicitar una auditoría de gastos del proyecto o de la organización que hayan sido desembolsados bajo este Convenio. El IIAP acuerda reembolsar a WCS, a expensa única del IIAP, la cantidad de cualquier gasto desestimado por los auditores, a través de una excepción de auditoría o de cualquier otro medio apropiado, basada en el hallazgo de que dichos gastos no cumplieron con cualquiera de las disposiciones establecidas en el Convenio Específico y sus Anexos, mismos que constituyen parte integrante del mismo.

3. TITULARIDAD DE LOS DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL.

3.1. (a) Cualquier trabajo creativo desarrollado o adquirido por EL IIAP bajo este Proyecto, incluidos todos los materiales escritos, gráficos, audiovisuales y de cualquier otro tipo, contribuciones, productos de trabajo y elementos de producción que contengan, incluidos datos técnicos y software, ya sea en papel, disco, cinta, archivo digital o cualquier otro medio (el "Trabajo creativo"), será de copropiedad de WCS y EL IIAP.

(b) Además de lo anterior, EL IIAP por la presente afirma que proporcionará expeditamente a WCS, por petición o según se requiera en este Proyecto, todos los Trabajos Creativos y otros datos e información, y todos los derechos necesarios para cumplir con todas las obligaciones de WCS bajo el Convenio Específico.

(c) Excepto cuando se requiera en este Proyecto, o según lo indique, solicite o apruebe WCS, ninguna de las Partes usará el nombre, logotipo o marca del otro en ninguna forma de publicidad sin el consentimiento previo por escrito de la otra Parte. El uso del nombre, logo o marcas de WCS por parte de EL IIAP con su consentimiento, debe reconocer los derechos de WCS en el mismo.

3.2. Publicaciones e Información. Las Publicaciones y otros productos de información o medios (incluyendo cualquier libro, artículo, informe, entrevista con los medios, comunicado de prensa, aviso público, conferencia, presentación pública, publicación



de la página web o blog), marca o nombre de las aplicaciones, productos o servicios, con respecto al Proyecto, debe, salvo que se apruebe lo contrario, contener un reconocimiento al rol de WCS (limitando su responsabilidad). WCS proporcionará a EL IIAP con el texto de reconocimiento requerido y el texto de limitación de responsabilidad. EL IIAP le dará a WCS al menos dos copias de cada publicación aprobada u otro producto de información / medios de inmediato a la publicación.

4. DECLARACIONES.

El IIAP comprende que WCS tiene que cumplir con todas las leyes existentes relacionadas a sus operaciones fuera de los Estados Unidos, incluyendo pero no limitado al cumplimiento de las leyes y regulaciones que prohíben realizar sobornos a cualquier funcionario del gobierno, así como a la legislación anti-terrorismo de los Estados Unidos, que prohíbe tener transacciones con y proveer de material de apoyo o recursos a personas o grupos que están involucrados o apoyan actos de terrorismo. Por este medio El IIAP certifica y declara que:

- a. En la realización de su trabajo de conformidad con este Convenio Específico, El IIAP y sus directores, oficiales, empleados y agentes no han ni harán ningún ofrecimiento, pago, promesa o autorización de pago, directa o indirectamente, por medio de cualquier persona o entidad, de cualquier cantidad de dinero o de cualquier valor a ningún funcionario o empleado del gobierno, o a ningún partido político o candidato para un cargo político, con el fin de persuadir o recompensar cualquier acción favorable o influir en cualquier acto o decisión de dicho funcionario o del gobierno.
- b. El IIAP no está involucrado ni apoya, directa o indirectamente, actos de terrorismo.
- c. El IIAP está implementando, y durante la ejecución de este Acuerdo continuará implementando, un monitoreo y supervisión razonable para asegurar la continuidad de la veracidad de estas declaraciones y certificaciones, y cuando se le solicite, el IIAP proveerá la documentación del monitoreo y supervisión realizada para el cumplimiento de estos esfuerzos.
- d. Al firmar este Convenio Específico, el IIAP certifica que ni el IIAP ni ninguno de sus directores está suspendido, o excluido de participar en esta transacción por ningún departamento o agencia de los EE. UU. o del país cooperante.

No obstante, a cualquier disposición dentro de este Convenio Específico que estipule lo contrario, WCS tiene el derecho de terminar este Convenio Específico



inmediatamente si el IIAP no cumple con las declaraciones y condiciones establecidas en esta Sección.

En caso de falta de estipulación específica sobre algún asunto en el presente Convenio Específico, las partes estarán a las disposiciones aplicables que estén contempladas en el Convenio Marco.

5. **AVISO DE CONDICIONES QUE INTERFIEREN CON EL DESARROLLO**, el IIAP notificará a WCS por escrito dentro de los 10 días siguientes a su acaecimiento, o en el ejercicio de un término razonable, de la ocurrencia y los posibles efectos de cualquier condición que interfiera o que razonablemente pueda interferir con el éxito y el tiempo o desarrollo del Proyecto. Tales condiciones incluyen problemas no previstos previamente, reales o probables, y la insolvencia o quiebra u otro incumplimiento o problema del IIAP. El aviso debe identificar la (s) condición (es), impacto proyectado en la planificación, implementación del programa y consecución de resultados, y los pasos que el IIAP propone tomar para tratar de corregir o mitigar la (s) condición (es).
6. **NO CUMPLIMIENTO**. Si el IIAP materialmente no cumple con ninguno de los términos y condiciones del Proyecto, WCS se reserva el derecho de tomar cualquier medida correctiva de acuerdo con la ley, la equidad o conforme con el presente Convenio, según lo considere apropiado y razonable. Cuando sea posible, se proporcionará un aviso por escrito (incluida una declaración que identifique el (los) término (s), la (s) condición (es) y circunstancias involucradas) y la oportunidad de corregir el incumplimiento antes de que se tomen medidas. Si el IIAP no está de acuerdo con el manejo de WCS del aparente incumplimiento, este puede proceder de conformidad con sección 14 de este anexo, sobre "ARBITRAJE".
7. **TERMINACIÓN**
 - a. El Proyecto y por ende el Convenio Específico pueden terminarse en cualquier momento, en todo o en parte, de la siguiente manera:
 1. Unilateralmente por parte WCS en caso de incumplimiento del IIAP con los términos o condiciones de la Proyecto (incluyendo, sin limitación, el cumplimiento de una representación o certificación inexacta o incompleta en relación con el Proyecto y cualquier incumplimiento de las leyes, regulaciones y políticas aplicables); (ii) de acuerdo con las instrucciones por parte del donante principal de WCS para terminar en todo o parte del Proyecto ; (iii) la terminación o no financiación del donante principal de todo o parte del



Convenio Específico; o (iv) cualquier otra circunstancia que amerite la terminación anticipada del Convenio Específico por parte de WCS, a su sola discreción, notificando por escrito al IIAP con al menos 30 días de anticipación a la fecha efectiva de terminación;

2. Por mutuo consentimiento de las partes expresado por escrito.

En ninguno de los casos antes referidos en los que la terminación se realice unilateralmente por parte de WCS, aplicará el pago de indemnización alguna por parte de WCS al IIAP.

- b. Gastos luego de la Terminación. WCS no estará obligado a pagar por los gastos en que incurra el IIAP luego de la fecha efectiva de terminación de este Convenio. Para esa fecha el IIAP deberá haber cesado el trabajo, cancelado inmediatamente cualquier sub-Concesión u otras obligaciones que pueda haber adquirido, que involucren fondos concedidos proporcionados bajo este Convenio Específico, y deberá haber liquidado todas las obligaciones pendientes y todos los reclamos que surjan de dicha terminación.
- c. Dentro de los cuarenta y cinco (45) días siguientes a la terminación del Convenio Específico de conformidad a esta Sección, el IIAP deberá enviar a WCS un informe técnico final, un informe financiero final, y deberá devolver los fondos concedidos que no fueron desembolsados y que no están comprometidos por cualquier transacción vinculante legalmente. WCS puede tomar todas las acciones necesarias para recuperar dichos fondos concedidos, a expensas de EL IIAP.
8. **CORRECCIONES Y MODIFICACIONES.** Este Convenio Específico no puede ser corregido, complementado o modificado de cualquier forma excepto por medio de un acuerdo escrito entre WCS y el IIAP, debidamente firmado por sus respectivos representantes autorizados.
9. **LIMITACIÓN DE RESPONSABILIDAD.** (a) En caso de que surja una reclamación por daños y perjuicios, o el derecho a cualquier otra forma de reparación (ya sea por el presente acuerdo, indemnidad, negligencia u otro) en relación con este Proyecto, la Parte reclamante tomará todas las medidas necesarias para mitigar los daños o pérdidas, en la medida en que esto se pueda lograr sin costos o inconvenientes irrazonables para dicha Parte. En ningún caso, tal reclamo o reparación incluirá o permitirá la recuperación de daños consecuenciales, incidentales, indirectos, especiales, punitivos o ejemplares.



- (b) En ningún caso la responsabilidad a máxima de WCS frente al IIAP y todas las demás personas y entidades que reclamen a través del IIAP, que surja de o se relacione con el Proyecto, su realización y desarrollo, y los hechos y circunstancias que rodeen a cualquiera de los anteriores, excederán la cantidad total de fondos pagados por el Donante a WCS para los fines de este Proyecto.
- (c) Ni el Donante ni WCS serán responsables de las reclamaciones de terceros por daños y perjuicios derivados de o relacionados con la Proyecto.
10. **INDEMNIDAD.** (a) El IIAP indemnizará y mantendrá indemne a WCS y al Donante (incluidos sus directores, funcionarios, agentes, empleados y otros representantes) de toda responsabilidad, daños, pérdidas, reclamaciones, demandas, fallos, costos y gastos de cualquier naturaleza y tipo (incluido, sin limitación, costos y honorarios de abogados y consultores expertos) que surjan de, manera incidental o de cualquier forma resultante de los actos u omisiones del IIAP, ya sea por negligencia o de otra forma (incluidos sus directores, funcionarios, agentes, empleados y otros representantes, así como a cualquier contratista) en la implementación del Programa; siempre que, sin embargo, esta indemnización no se extienda a reclamaciones o pérdidas causadas por la única negligencia o falta intencional de WCS.
- (b) Sin limitar la generalidad de lo anterior, el IIAP reembolsará a WCS los costos, riesgos, demoras, pérdidas, daños u otras responsabilidades incurridas por WCS como resultado de cualquier falla por parte del IIAP al cumplir completamente y de manera oportuna con cualquiera de los términos y condiciones de este Proyecto , incluido (sin limitación) cualquier incumplimiento de cualquiera de los requisitos del proyecto relativos a la ética y la integridad, el cumplimiento de la ley y la obtención de licencias, permisos y otras aprobaciones.
11. **CESIÓN DE DERECHOS.** El IIAP no podrá ceder, transferir, contratar o entregar sub-concesiones, total o parcialmente, de sus derechos o de la ejecución de sus obligaciones bajo el presente Convenio Específico, sin el consentimiento previo por escrito por parte de WCS.
12. **RELACIÓN DE LAS PARTES.** La relación entre las partes es la relación existente con un Contratista Independiente. Nada dentro de este Convenio Específico deberá ser interpretado como la creación de una relación entre las partes de agencia, sociedad o inversiones conjuntas, ni tampoco hará responsable a algunas de las partes por cualquier deuda u obligación en que incurra la otra parte.



Ninguna de las partes está autorizada para hacer declaraciones en nombre de la otra, o para obligar a la otra parte de cualquier manera.

13. **LEY APLICABLE.** Este Convenio Específico será regido e interpretado de conformidad con las leyes de la República del Perú.
14. **ARBITRAJE.** Es una política del otorgante hacer todos los esfuerzos razonables para resolver todos los problemas o disputas que puedan surgir en virtud del presente Convenio Específico de forma justa y equitativa mediante negociación sin litigio, si es posible. Todas las controversias, derivadas o relacionadas con este Convenio Específico, que no se resuelvan por mutuo acuerdo de las partes serán resueltas de forma definitiva mediante arbitraje de acuerdo con el Reglamento de Arbitraje del Centro Nacional e Internacional de Arbitraje de la Cámara de Comercio de Lima, a cuyas normas, administración y decisión se someten las partes en forma incondicional, declarando conocerlas y aceptarlas en su integridad.
15. **RENUNCIA.** Cualquiera de las Partes puede específicamente renunciar a cualquier incumplimiento de este Convenio Específico de la otra Parte, pero dicha renuncia no deberá ser considerada efectiva a menos que conste por escrito, sea firmada por la Parte que renuncia, y que específicamente se mencione el incumplimiento al que se renuncia. Ninguna renuncia deberá constituir una renuncia continua de incumplimientos similares o distintos. El consentimiento o aprobación de unas de las Partes de cualquier acto realizado por la otra Parte no deberá entenderse como el otorgamiento innecesario del consentimiento o la aprobación de cualquier acto subsecuente por parte de la otra Parte.

ANEXO 4: INFORMES FINANCIEROS

1. El reporte financiero será presentado a través de correo electrónico, siguiendo el modelo proporcionado por WCS. En el reporte deberán presentar detalles de gastos y resultado de interés en los fondos del período reportado.
2. Los reportes financieros deben ser acompañados de copias digitales de los comprobantes de gastos.
3. Deberá ser presentada una explicación y una solicitud de aprobación para cualquier varianza mayor que 10% en la categoría de gastos



ANEXO 5: METODOS Y MATERIALES

Métodos de campo

Diseño del muestreo

La serie de puntos estratégicos para obtención de muestras fue determinada por el grupo de trabajo que incluye investigadores del IIAP, Instituto Sinchi, WCS y TNC para todas las cuencas que serán muestreadas. En total unos 90 filtros deberán ser utilizados para las colectas, incluyendo blancos y muestras pareadas.

El protocolo de campo para obtención de las muestras fue preparado por técnicos de WCS y TNC siguiendo los procedimientos descritos en Mariac et al 2021. Todos los quipos de campo recibirán el protocolo por escrito y una capacitación antes del inicio de las colectas.

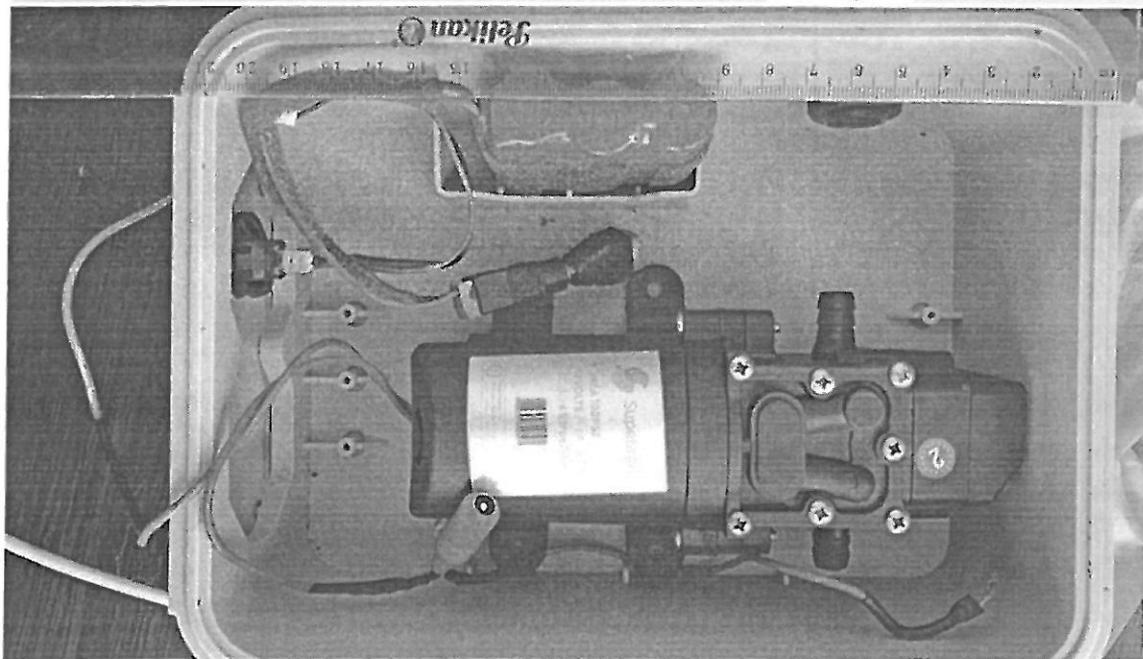
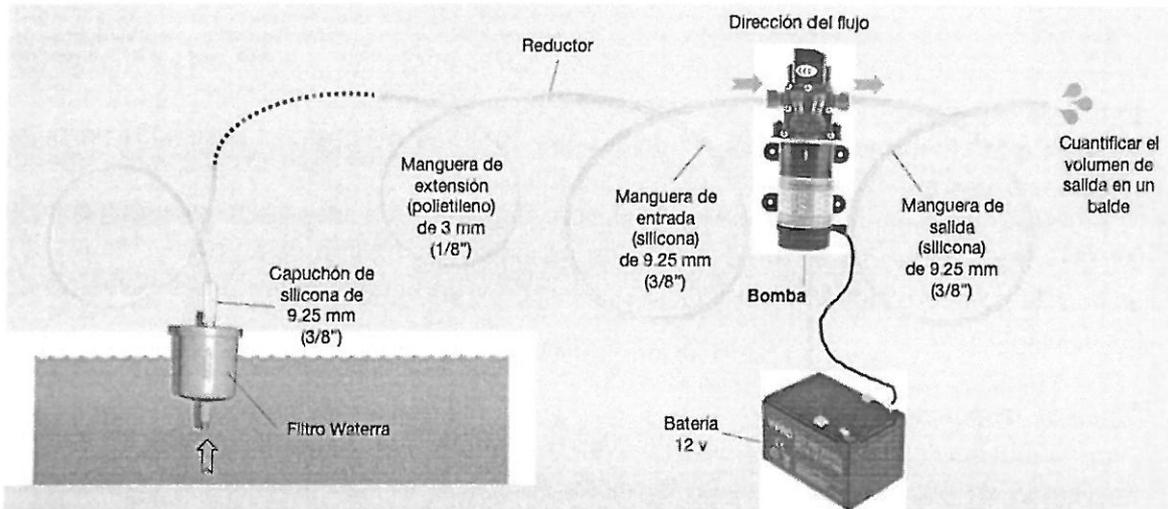
Toma de la muestra

Para el muestreo se utiliza un cartucho Waterra con una porosidad de 0,45 μm y un área de filtrado de 600 cm^2 . Se usa un cartucho por cada sitio de muestreo en el río, pero según sea la colmatación por la cantidad de sedimentos que tenga el agua se pueden usar más filtros.

La toma de muestras de agua será realizada en el punto en el que se puede acceder en cada cuerpo de agua, generalmente en zonas litorales. Se deberá filtrar un total de 20-30 litros por cada cuerpo de agua en un cartucho (o más según sea la colmatación del filtro en algunos casos).

El muestreo se realiza bombeando agua directamente en el cartucho a una velocidad de 1L/min. La filtración concluye cuando el filtro se obstruye. Durante la filtración todos los cartuchos se protegen del sol usando papel aluminio. El volumen final de agua filtrada es muy variable pueden ser 6 – 75 litros dependiendo de cuando se obstruye el filtro dependiendo de la turbidez.

La manguera de succión conectada a la bomba debe ser acoplada a la salida del filtro como indicado en la figura abaxo. Para reducir la velocidad de filtración se utiliza una reducción de diámetro de la manguera con un conector de reducción de 3/8" para 1/8" conforme el diagrama.



En ríos de más de 20m de ancho el muestreo se realiza en 3 puntos, un punto en la mitad del río y los otros dos unos cuantos metros de cada orilla; en caso de no ser posible solo se muestrea una vez en la zona más caudalosa del río.

El cartucho se mantiene en la superficie del cuerpo de agua. Para ríos tributarios, el muestreo se realiza al menos 200 m alejados de su confluencia.

Las colectas de eDNA serán realizadas utilizando un kit de muestreo portátil, de acuerdo con el siguiente esquema abajo.

Alternativa de muestreo



En los casos que convenga, se puede variar el muestreo haciendo un transecto por el cuerpo de agua recogiendo el agua del mismo en un recipiente de 20 a 30 L de boca ancha previamente descontamina

do con lavandina y lavado por 5 veces con el agua del mismo cuerpo de agua. Esto facilita la representación del punto de muestreo. También facilita el filtrado que se haría introduciendo el cartucho en el recipiente y bombeando el agua directamente desde el recipiente.

Conservación de la muestra

Una vez terminado el filtrado (alrededor de 30 litros en la mayoría de los casos) se debe colocar un capuchón azul en la salida del cartucho, asegurarlo con precintos de seguridad plásticos apretando con la pinza para precintos y llenarlo con 80 ml de solución tampón Longmire 1X (Tris-HCl 0.1 M, EDTA 0.1 M, NaCl 0.01 M and N-lauroyl sarcosine 1%, pH 7.5–8), utilizándose una jeringa de 50 ml (ver parte 2 para su preparación). El tampón viene concentrado a 10X, para cada litro de 1X adicionar 100 ml de concentrado y agregar 900 ml de agua pura en una botella esterilizada de vidrio o plástico tipo Nalgene. Alternativamente adicionar al cartucho 8 ml de solución tampón concentrado a 10X y adicionar 72 ml de agua pura. Es preferible diluir el tampón en laboratorio antes de salir a campo en botellas d 1 litro. Cada litro de tampón 1X es lo suficiente para 12 muestras.

Sellar la entrada con el otro capuchón cónico rojo que viene con el cartucho. Una vez cerrado el cartucho se debe agitar por varios minutos para homogeneizar el contenido. Posteriormente, debe registrarse en el cartucho con un marcador tipo permanente el número de la muestra, nombre del cuerpo de agua, la fecha del muestreo y el volumen filtrado. Los mismos datos deber ser anotados en el cuaderno de campo que acompaña el kit de muestreo. Los capuchones de cada cartucho deben ser sellados con precintos de seguridad plásticos, y cada cartucho deberá ser colocado individualmente en una bolsa de cierre hermético (ziplock). El procedimiento de conservado debe realizarse en sombra, y el material deberá ser almacenado en frío, a 4°C, en hielo, en campo y hasta la extracción en el laboratorio.

Los cartuchos se llenan con 80 mL de **buffer de conservación**

Etiquetado de los filtros

Cada filtro debe contener la siguiente información (anotada con un marcador indeleble) tanto en el mismo filtro como en una etiqueta de papel cebolla al interior de la bolsa ziplock.



BO-01-ISIBORO1
RIO ISIBORO- Nombre del sitio
Coordenadas geográficas en grados decimales
28-02-2023
30 L
GM, AE

BO: País (BO: Bolivia; EC: Ecuador; PE: Perú; CO; Colombia)

01: Numero del filtro correlativo.

ISIBORO 1: Código del Sitio del muestreo (adicionar nombre de localidad si cercano)

Rio muestreado: Nombre completo del río en el que se hizo el muestreo

Coordenadas geográficas: Registrar coordenadas con GPS en grados decimales

Fecha: En formato DD-MM-AAAA

Volumen filtrado: 30 L (Anotar el volumen obtenido en litros (l))

Operadores: Anotar las iniciales de los operadores.

Control negativo

El control de campo negativo se realizará filtrando 20 L de agua común de mesa, usada para consumo. Se aplicará el mismo protocolo usado en cada punto. El control negativo se realizará con los mismos insumos aplicados en los muestreos. En cada campaña de campo se debe recolectar por lo menos 1 control de campo negativo.

Toma de datos adicionales

En cada cuerpo de agua deberán tomarse datos fisicoquímicos básicos de: pH, Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$), Resistividad ($\Omega.\text{cm}$), Sólidos Totales Disueltos (ppm), Salinidad (ppt) y Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) si los equipos portátiles están disponibles.

Descontaminación

En la solución de Hipoclorito de sodio al 9% se descontaminan las mangueras, tubos, filtro de aspiración etc. por 10 minutos.

Luego se realizan **3 lavados** con agua comercial.

Las mangueras deberán ser descontaminadas con lavandina después de cada sitio. Las mangueras que van conectadas al filtro serán lavadas con agua de cada cuerpo de agua muestreado y deberán ser bombeados al menos 3 litros de agua del punto de muestreo antes de conectar el filtro para eliminar cualquier resto de hipoclorito de sodio.

Métodos de laboratorio

El procesamiento de las muestras seguirá el protocolo publicado por Mariac et al 2021 para la extracción y purificación del material genético contenido en las muestras.

El protocolo de qPCR seguirá un protocolo estandarizado para la utilización de la técnica, adecuado a los equipamientos específicos utilizados por cada laboratorio. Muestras



pareadas ciegas (blanco ciego) serán utilizadas para verificar y comparar los resultados de los análisis.

Lisis

1. Pese 0.8 gramos de NaCl y 3 gramos de SDS en un tubo Corning de 50 mL
2. Tome aproximadamente 40 mL del cartucho para disolver el SDS y NaCl.
3. Disuelva en baño maría a 60°C por una hora
4. Reinyecte los 40 mL al cartucho a unos 15 ml de la apertura de la válvula
5. Homogenice.
6. Incube a 56°C en agitador (rotary shaker) por 2H30 – 3H30
7. Divida el lisado de la siguiente forma: En 10 tubos Corning 50 mL añada 15 ml en cada uno.

Precipitación de proteínas

1. Añada 7.5 mL de acetato de potasio (K acetate) 3M
2. Mezcle y coloque a -20°C por 30 minutos hasta precipitar proteínas y SDS
3. Centrifugue a más de 5500 g por 30 minutos en rotor oscilante
4. Colecte el supernadante por inversión o pipeteo en un nuevo tubo Corning de 50 ml
5. Coloque a -20°C por una hora

Purificación

1. Añada cloroformo isoamílico (24:1)
2. Mezcle manualmente 50 veces
3. Centrifugue a más de 5200 g por 30 minutos en rotor oscilante
4. Colecte la fase acuosa (aprox. 17mL) con una pipeta desechable
5. Coloque en un nuevo tubo Corning

Precipitación de ADN

1. Añada 1.7 mL (1/10 del volumen del sobrenadante) de acetato de Na
2. Añada 12.5 mL de Isopropanol (almacenado a -20°C)
3. Mezcle por inversión 20 veces
4. Almacene a -20°C por 48H
6. Centrifugue a más de 5500 g por 30 minutos en rotor oscilante
5. Remueva lentamente el sobrenadante por inversión

Colecta y lavado

1. Añada 5 ml de etanol 70% a los pellets de ADN.
2. Centrifugue a máxima velocidad (10000 g) de 15 a 30 minutos hasta que se seque
3. El pellet es resuspendido en 200 – 240 µL de TE
4. Almacene en refrigeración para uso a corto plazo o en congelación para largo plazo.

Material

- Una bomba de agua de 100 PSI con volumen de flujo de 4,5-5,6 l/min, alimentada por una batería de 12 v. En general las bombas son de 7-8 A/h



- Una batería de 12 V con carga mayor que 7 AMP, si se utiliza batería de moto de 7AMP, tener 2 conectadas en paralelo, sino una batería de auto.
- La bomba con baterías debe ser montada en una caja plástica de protección (ver ilustración abajo).
- Cargador rápido de batería (incluido en el kit de campo)
- Una manguera de silicona de 3/8" de diámetro de 1 m conectada en el punto de entrada (succión) de la bomba.
- Una manguera de silicona de 3/8 de diámetro de 1m conectada en el punto de salida de la bomba.
- Una manguera de plástico (Polietileno) flexible de 1/8" 2-3 m que se conecte a la manguera de silicona del punto de succión para extender el alcance del muestreo.
- Conectores de plástico reductor de 3/8" a 1/8" para unir la manguera de polietileno a la de silicona.
- En casos con mucho material vegetal es aconsejable usar un filtro de aspiración (malla de 2mm) para que evitar partículas de gran tamaño saturen el cartucho.
- Guantes de látex estériles sin polvo
- Un galón de hipoclorito de sodio al 9%
- Un cartucho Waterra¹ por cada punto de muestreo al menos.
- Una pinza para cintas plásticas (incluida en el kit de campo)
- Un recipiente de 20 a 30 litros para la recolección del agua en casos en los que no se pueda acceder al cuerpo de agua (ver abajo).
- Un balde de 20 litros graduado para medir el volumen filtrado
- Un cuaderno de notas Rite in the Rain
- 200 mL de tampón Longmire en concentración 10x²

Cabe a WCS Ecuador y Colombia adquirir los demás materiales para el sistema de bombeo, coolers para almacenamiento de las muestras, y otros materiales de campo descritos anteriormente.

Referencias bibliográficas

Mariac C, Duponchelle F, Miranda G, Ramallo C, Wallace R, Tarifa G, et al. (2022) Unveiling biogeographical patterns of the ichthyofauna in the Tuichi basin, a biodiversity hotspot in the Bolivian Amazon, using environmental DNA. PLoS ONE 17(1): e0262357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262357>

¹ Los filtros Waterra específicos para obtención de muestras fueron adquiridos por TNC y distribuidos a los equipos de campo, así como un kit de campo que contiene materiales para el registro de las muestras.

² El fluido preservativo de las muestras fue preparado por el laboratorio del Sinchi en Colombia y distribuido a los distintos equipos locales que harán la colecta de las muestras.