



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
INFORME MONOGRÁFICO**



**TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE LA HISTOLOGÍA
DE LOS DINOSAURIOS**

**AUTORES:
RUBIO, ANNER
RUEDA, ANAIS
RUIZ, PAOLA
TUTOR:
NUÑEZ, JOSÉ**

NAGUANAGUA, NOVIEMBRE DE 2021



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
INFORME MONOGRÁFICO



CONSTANCIA DE APROBACION

Los suscritos miembros del jurado designado para examinar el informe monográfico titulado:

TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE LA HISTOLOGÍA
DE LOS DINOSAURIOS

Presentado por los bachilleres:

Rubio, Anner C.I. 26.186.726

Rueda, Anais C.I. 25.939.774

Ruiz, Paola C.I. 26.148.698

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado la misma, y que aunque no nos hacemos responsable de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de presentación.

Fecha 01-11-21

Profesor

Jesús Caicedo

Profesor

Asdrubal Teran

Profesor

Alicia Argüello



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
INFORME MONOGRÁFICO**



**TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE LA HISTOLOGÍA
DE LOS DINOSAURIOS**

Autores: Rubio, Anner
Rueda, Anais
Ruiz, Paola
Año: 2021

Resumen

Los estudios sobre el tejido óseo de individuos actuales y prehistóricos brindan información única acerca de diferentes procesos ocurridos durante la vida de los sujetos. Venezuela presenta una escala temporal geológica de interés para el estudio paleontológico, por tal razón, en este texto se explican las técnicas paleohistológicas cuyo propósito consiste en exponer las técnicas para el estudio de la histología de los dinosaurios, técnicas que han permitido aportar información sobre la diversidad, la edad, el sexo, el tamaño, entre otros aspectos de estas especies. Por tal razón, se describen las técnicas petrográficas e histológicas utilizadas en la paleohistología, destacando la secuencia de pasos y equipos utilizados para tales fines, además se resalta la importancia del correcto uso del material biológico caracterizado por ser escaso y frágil, frente a técnicas destructivas.

Palabras clave: Técnicas histológicas, técnica petrográfica, tejidos blandos, tejido óseo.



**UNIVERSITY OF CARABOBO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
SCHOOL OF BIOMEDICAL SCIENCES
HIGHER TECHNICIAN IN HISTOTECHNOLOGY
A CASE REPORT**



TECHNIQUES FOR THE STUDY OF DINOSAUR HISTOLOGY

Authors: Rubio, Anner
Rueda, Anais
Ruiz, Paola
Year: 2021

Abstract

Studies on the bone tissue of present and prehistoric individuals provide unique information about different processes that occurred during the life of the subjects. Venezuela presents a geological time scale of interest for paleontological study. For this reason, this text explains the paleohistological techniques whose purpose is to expose the techniques for the study of the histology of dinosaurs, techniques that have provided information on the diversity, age, sex, size, among other aspects of these species. For this reason, the petrographic and histological techniques used in paleohistology are described, highlighting the sequence of steps and equipment used for such purposes, also highlighting the importance of the correct use of biological material characterized by being scarce and fragile, compared to destructive techniques.

Key words: Histology techniques, petrographic technique, soft tissues, bony tissue.

ÍNDICE

	pp.
Constancia de aprobación	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Introducción	1
Desarrollo	3
Identificar las muestras utilizadas para el estudio histológico de los dinosaurios	7
Fundamentos de las técnicas utilizadas para el estudio de tejidos provenientes de dinosaurios	8
Técnicas petrográficas e histológicas utilizadas en la paleohistología	11
Conclusiones	13
Recomendaciones	14
Referencias	15
Anexos	21

INTRODUCCIÓN

Chinsamy y Raath¹ definen la paleohistología como la rama de la paleontología que estudia la estructura microscópica de los huesos fósiles. Entendiendo a este como la conservación del hueso en las rocas sedimentarias y su estudio histológico está determinado por el grado de conservación de la textura y microestructura ósea. Al respecto, Bailleul et al.² explican que los tejidos mineralizados como huesos y dientes se ven favorecidos en relación con los tejidos blandos (no mineralizados) para ingresar al proceso de sedimentación de las rocas quedando preservados o fosilizados.

No obstante, autores como Schweitzer et al.³ explican que los componentes orgánicos originales se destruyen por completo durante los procesos de fosilización; sin embargo, se ha demostrado que tejidos, células y fragmentos de moléculas pueden persistir a lo largo del tiempo geológico. Por lo cual, se ha propuesto el uso de las técnicas petrográficas, histológicas e histoquímicas para el estudio de los huesos fósiles con el propósito abordar diversas interrogantes biológicas de los dinosaurios⁴.

A través del estudio histológico de los huesos fósiles, especialmente los huesos largos se han descrito modelos de crecimiento, cambios en la organización del tejido durante la ontogenia, grado de remodelación, correlación entre los estadios ontogenéticos histológicos (crecimiento) y los estadios ontogenéticos biológicos (madurez sexual), dimorfismo sexual, filogenética y adaptaciones, estimación de la edad de los ejemplares y edad al momento de la muerte, entre otros⁵⁻¹⁰.

En consecuencia, la importancia de la presente investigación se fundamenta en la aplicabilidad de las técnicas histológicas para el estudio de la histología de los vertebrados fósiles (dinosaurios), información que contribuye con el conocimiento biológico de estas especies extintas y que sirve de comparación evolutiva con las especies actuales. Si bien es cierto, que es un área muy especializada en la cual el histotecnólogo puede aportar sus habilidades y destrezas, también requiere de la actualización de técnicas complementarias como las petrográficas.

Como parte de la versatilidad y aplicabilidad que tiene la histotecnología, el objetivo general de la presente investigación consiste en Exponer las técnicas para el estudio de la histología de los dinosaurios. Por ende, se plantean los siguientes objetivos específicos, Identificar las muestras utilizadas para el estudio histológico de los dinosaurios, Describir las técnicas petrográficas e histológicas utilizadas en la paleohistología y Explicar los fundamentos de las técnicas.

Mediante una revisión documental, el estudio monográfico se clasifica como exploratorio, descriptivo y explicativo porque aportará una información poco conocida entre los profesionales de la histotecnología, siendo de utilidad para la actualización de estos profesionales y plantear otra perspectiva de la formación académica para ampliar el nicho laboral de estos profesionales. Además, en Venezuela existen diversas instituciones dedicadas al estudio de los huesos fósiles, las cuales han descubierto dos nuevas especies: *Laquintasaura venezuelae* (Barret et al., 2014¹¹) y *Tachiraptor admirabilis* (Langer et al., 2014¹²).

Por último, el conocimiento de la biología de estas especies contribuye con el desarrollo futuro de la sociedad, conocer el pasado a través del estudio histológico ayuda a comprender los cambios evolutivos, ambientales y sociales de las especies actuales. Además, aclara sobre el linaje evolutivo de las especies y plantea nuevas aristas a la investigación científica, la cual puede ser de interés para los histotecnólogos.

DESARROLLO

En el periodo jurásico del mesozoico hace 201 millones de años aproximadamente vivieron en nuestra zona andina venezolana dos espécimen prehistóricos cuya presencia ignoramos hasta finales del 2014, estos no median más de un metro y medio y se alimentaban de maneras distintas, *Lanquitasaura venezuelae* y *Tachiraptor admirabilis* fueron hallados en un principio en un corte de carretera entre La Grita y Seboruco, en la formación La Quinta, no obstante, en la década del ochenta, el hallazgo de fósiles en la formación La Quinta, localizada en Los Andes venezolanos, por parte de paleontólogos franceses, generó la curiosidad de al menos dos investigadores criollos. Pero no fue hasta la década del noventa que científicos venezolanos deciden adentrarse en ese yacimiento fósil del periodo jurásico para confirmar sus dudas sobre la existencia o no de algún dinosaurio en Venezuela. Los Investigadores del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) con el aporte de paleontólogos de diferentes nacionalidades dieron así inicio a su investigación, esto ocurrió unos 20 años antes de publicarse las conclusiones del estudio de estos huesos¹³.

Aunque los fósiles de *Laquintasaura* y el *Tachiraptor* fueron descubiertos en periodos distintos, las conclusiones de los estudios no se conocieron hasta 2014, con apenas un mes de diferencia en la revista científica británica The Royal Society. El 22 de septiembre de 2014 se conoció a través del artículo científico “Un Ornitisquio Paleoequatorial y nuevas limitaciones para la diversificación temprana de los dinosaurios” que se había encontrado en Venezuela una especie única de dinosaurio que llamaron *Laquintasaura*. El equipo investigador estuvo conformado por Paul M. Barrett, del Museo de Historia Natural del Reino Unido; Richard J. Butler, de la Universidad de Birmingham; Roland Mundil, del Centro Berkeley, en Estados Unidos; Torsten M. Scheyer, de la Universidad de Zúrich; Randall B. Irmis, del Museo de Historia Natural de Utah, en Estados Unidos, y Marcelo R. Sánchez-Villagra, venezolano de la Universidad de Zúrich¹³.

El 1 de octubre de 2014, un segundo artículo científico titulado “Nuevo dinosaurio (Theropoda, tallo-Averostra) del Jurásico más antiguo de la formación La Quinta, Los Andes venezolanos” reveló el hallazgo de otro dinosaurio único en el mundo, el

Tachiraptor. El equipo investigador estuvo compuesto por Max C. Langer, de la Universidad de Sao Paulo, Brasil; Ascanio D. Rincón, del IVIC; Jahandar Ramezani, del Instituto de Tecnología de Massachusetts, Estados Unidos; Andrés Solórzano, del IVIC; y Oliver W. M. Rauhut, de la Universidad de Múnich, en Alemania. Hasta ambos hallazgos, paleontólogos sólo habían registrado fósiles de dinosaurios únicamente en zonas bajas de América del Sur y el Norte de América^{14,15}.

En el Laboratorio de Paleontología del IVIC, se conservan los huesos hallados en La Quinta que permitieron la descripción del *Tachiraptor*, de hecho una de las piezas es una tibia, más ancha en los extremos que en el centro, una característica propia de los dinosaurios carnívoros, explicó a *Scientific American* Ascanio Rincón, investigador del IVIC y uno de los autores principales del hallazgo y de la misma manera también encontraron varios fragmentos de la pelvis. Basados en las dimensiones de estos huesos y el ángulo en que se articulaban, pudieron establecer llegar a la conclusión de que se trataba de un depredador de una especie totalmente nueva.¹⁶⁻¹⁷

Una vez establecida que la edad del *Tachiraptor*, a través de la técnica que permite aproximarse, con el uso de radiación, a la antigüedad de los cristales de circón presentes en los fósiles, los investigadores concluyeron que fue un sobreviviente de tiempos turbulentos, pues superó la extinción masiva que se cree que ocurrió en la transición entre el Triásico y el Jurásico, lo que hace a la especie particularmente valiosa. Se le sitúa en la base del grupo llamado Averostrá, que incluye a la mayoría de los dinosaurios carnívoros del Jurásico y el Cretácico. "Ayudará a entender cómo estos reptiles aparecieron y se extendieron por toda Pangea hace 200 millones de años", señaló a *Scientific American* el investigador Max Cardoso Langer, del Laboratorio de Paleontología de la Universidad de Sao Paulo, autor principal del hallazgo, finalmente, la exploración de las tierras rojas del Jurásico en Venezuela, que comenzó hace décadas, ha permitido a los investigadores recolectar muestras fosilizadas de araucarias en La Guajira venezolana, un tipo de vegetación que parece indicar que hace 200 millones de años era un territorio similar a un bosque tropical, contrario a lo que había creído¹⁸.

Otros hallazgos hechos en La Quinta, donde se han recolectado más de media tonelada de rocas con fósiles, que incluyen partes de cinco o seis especies de cocodrilos, tortugas y peces, parecen confirmar esa presunción. El paisaje que habitaban el *Tachiraptor* y *Laquintasaura* probablemente estaba surcado por ríos, con plantas exuberantes, muy distinto a la aridez con la que se solía asociar a Pangea Central¹⁸.

Venezuela presenta una escala temporal geológica de interés para el estudio paleontológico, la diversidad de grupos taxonómicos hasta ahora reconocidos en el registro fósil venezolano¹⁹, requieren de un análisis con diversas técnicas dentro de las cuales la paleohistología aporta información sobre las estructuras microscópicas para responder diversas interrogantes. Por ejemplo, un estudio de la histología de las costillas cervicales de sauropoda reveló que se trata de un tejido óseo primario constituidas por fibras de colágeno mineralizadas, es decir, tendones osificados²⁰.

Otro estudio sobre la anatomía y osteohistología del dinosaurio *Eotrachodon Orientalis*, sugiere que este dinosaurio estaba creciendo activamente en el momento de la muerte, por lo tanto, la evidencia plantea que este dinosaurio tenía el potencial de convertirse en un animal más grande²¹. Es decir, que la histología aportó información sobre el crecimiento de esta especie, siendo relevante para clasificar a los especímenes según su edad y evitar una subestimación.

Por ejemplo, Gallina²² a través de la paleohistología logró realizar una descripción histológica del *Titanosaurio Bonitasaura salgadoi* en Argentina. Mientras que en Venezuela, Chávez et al.²³ analizaron la estructura de los osteodermos fósiles de *Glyptodon Clavipes* (*Glyptodontidae*) y *Holmesina* sp. (*Pampatheriidae*) recolectados en un yacimiento paleontológico del estado Falcón, Venezuela. Dentro de las técnicas utilizadas se destacan el uso de la luz polarizada y la microscopía electrónica de barrido, concluyendo que a nivel histológico del escudo escapular y pélvico, las diferencias podrían contribuir con una caracterización taxonómica más precisa de los restos fósiles.

No obstante, desde 1992 Chinsamy y Raath¹ describieron un protocolo utilizado para el estudio de los huesos fósiles (técnica petrográfica), complementando con las técnicas histológicas de la parafina y microscopia electrónica. En los últimos años, se han planteado el estudio del tejido blando y la incorporación de la histoquímica e inmunofluorescencia, así como técnicas moleculares^{2,3}, por tal razón, se exploran y describen esas técnicas desde la praxis de la histotecnología.

IDENTIFICAR LAS MUESTRAS UTILIZADAS PARA EL ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LOS DINOSAURIOS

Los hallazgos de huesos fósiles representan la base de los estudios paleontológicos, siendo el esqueleto craneal y postcraneal objeto de diversos análisis ostemorfológicos. Para tales fines, el material a utilizar debe ser mínimo por tratarse de un análisis destructivo durante su procesamiento, pero debe incluir el periostio y el endostio. En relación con el esqueleto craneal es un área reciente, encontrándose hallazgos de interés a nivel de las inserciones de los músculos craneales y biomecánica^{2,24}.

A diferencia de lo anterior, el esqueleto postcraneal se ha utilizado como estándar (el fémur u otro hueso largo) para el estudio comparativo del crecimiento en dinosaurios, donde se conserva la corteza más gruesa a nivel histológico y más antigua a nivel cronológico, con un registro completo del crecimiento²⁵. Además es un indicador de maduración biológica (sexual, somática y esquelética) con base en su histología (patrones de vascularización, grado de remodelación secundaria, presencia de marcas de crecimiento, densidad de osteonas primarias, entre otras)²⁵⁻²⁷, cuya descripción no es objeto de estudio.

FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EL ESTUDIO DE TEJIDOS PROVENIENTES DE DINOSAURIOS

A continuación se explican los fundamentos de estas técnicas y se plantean algunas sugerencias propuestas en la literatura para minimizar la formación de artefactos y la pérdida del material frágil. En primer lugar la perforación del tejido con una broca de diamante se debe a su fragilidad y a su dureza (cortical más gruesa), el término cortar realmente se refiere a moler el hueso con una chuchilla de acero cuyo borde está cubierta con pequeñas partículas de diamante, por ende se obtienen núcleos²⁸.

Este procedimiento es mínimamente invasivo y se obtienen núcleos (perforación del hueso) para su incrustación en resina epoxica. La incrustación se hace para endurecer la muestra y evitar su desmoronamiento durante los siguientes pasos, se utiliza una resina de fraguado lento para que pueda penetrar todos los espacios y esto se hace en una cámara al vacío para evitar la formación de burbujas²⁹. Posterior al secado, las muestras incrustadas se cortan con una máquina de precisión de baja velocidad, diseñada para piezas delicadas para obtener secciones transversales; no obstante, todo depende del espesor obtenido³⁰.

Para pegar las muestras al portaobjetos se requiere moler y pulir las secciones, esto se hace con polvo de molienda (granos de carburo de silicio) y luego se pegan al portaobjeto con resina. El pulido se puede hacer con una pulidora o a mano como ocurre en la mayoría de los casos, haciendo una presión uniforme sobre la muestra contra un vidrio que posee los granos (se comienza con granos gruesos para acelerar el proceso hasta llegar a granos finos), se agrega agua para facilitar el proceso y eliminar las imperfecciones, cuyo resultado será una superficie homogénea (lisa)³¹.

Lo anterior, sirve para pulir un lado de la muestra y facilitar el pegado a un soporte (portaobjeto), este debe ser previamente limpiado con fosfato trisódico y luego etanol. Tanto el portaobjeto como la muestra deben estar secas antes de pegarse, igualmente se debe evitar las burbujas durante el pegado y dejar secar durante 24 horas. Es importante aclarar que cualquier resina que aporte dureza y no interfiera con las propiedades ópticas de

la muestra se puede utilizar, siendo necesario seguir las indicaciones del fabricante al momento de mezclar la resina y el agente endurecedor, su uso requiere de campana de extracción por la generación de vapores²⁴.

Por último, se requieren secciones delgadas (20-100 μm , espesor óptimo³²), secciones muy gruesas requieren repetir los pasos anteriores y esto se realiza moliendo y puliendo la superficie para su posterior montaje. Se debe tener cuidado de no adicionar mucha resina porque ralentiza el proceso de pulido. El uso del microscopio de luz polarizada se fundamenta en las propiedades ópticas (birrefringente) de la muestra porque puede rotar el plano de la luz polarizada, estas son ondas de luz que están vibrando en un plano específico, por lo cual la muestra cambia su dirección^{33,34}.

También posee un campo claro al cual se le adicionan filtros que modifican la luz. Lo denomina microscopio petrográfico o metalúrgico por su uso inicial en el estudio de minerales, sin embargo su aplicación se ha extendido al campo de la biología, medicina, química y muchas otras disciplinas, es por ello, que comparada con las otras técnicas de incremento de contraste, el uso de la luz polarizada es la más efectiva en el estudio de muestras ricas en materiales birrefringentes, puesto que mejora de manera incomparable la calidad de la imagen, debe señalarse, que la luz proveniente de una fuente estándar de iluminación vibra y se propaga en todas las direcciones, pero al pasar por un filtro polarizador las ondas y su campo eléctrico oscilan todos en un mismo plano. El polarizador es un dispositivo que solo deja pasar la luz que vibra en un plano determinado denominado eje de polarización³⁵.

Este microscopio está equipado con:

- Polarizadores: Un primer filtro polarizador colocado entre la fuente de luz y el condensador que se puede rotar 360° y un analizador o segundo polarizador, colocado por encima del objetivo, entre su lente posterior y el tubo de observación o cámara fotográfica. También puede rotarse 90° o 360°. Los polarizadores antiguos conocido como nicoles estaban conformados por un sistema de prismas de calcita descrito por W. Nicol. En los

microscopios actuales el polarizador está constituido por una lámina polaroid, que consiste en una película de un polímero transparente (revestida de cristales minúsculos de sulfato de iodoquinina orientados en la misma dirección) interpuesta entre dos placas de vidrio^{35,36}.

- Condensador polarizador: Debe estar libre de desperfectos en sus componentes ópticos³⁵.
- Platina circular: Con capacidad de rotar 360° para facilitar la orientación del eje óptico con el campo de visión. Puede contener un vernier para medir los ángulos de rotación. El espécimen debe rotarse y colocarse en una posición diagonal en la cual los elementos anisotrópicos se observarán más brillantes (birrefringentes)^{35,36}.
- Objetivos polarizadores: Diferentes a los objetivos comunes, estos deben estar libres de desperfectos y tener capacidad polarizadora. Son ensamblados de manera que se evita en lo posible el daño de las lentes ya que cualquier daño por mínimo que sea compromete el rendimiento del objetivo. Poseen la inscripción P, PO, o Pol^{35,36}.
- Ocular con una cruz visible en el campo visual: Para marcar el centro del campo visual^{35,36}.
- Lente de Bertrand: Situada inmediatamente debajo del ocular, es removible y sirve para ver la interferencia con la finalidad de ajustar la iluminación de una manera precisa (ver anexo 1)^{35,36}.

En relación con el uso de las técnicas de la parafina e histoquímica requiere de un proceso de desmineralización, esto afecta el estudio de las osteonas, pero permite determinar la presencia de ciertos componentes orgánicos constituyentes del hueso, como ocurre con los glicosaminoglucanos para estudios comparativos con especies actuales; no obstante, es un área de investigación nueva que ha tomado mayor interés en los últimos cinco años².

TÉCNICAS PETROGRÁFICAS E HISTOLÓGICAS UTILIZADAS EN LA PALEOHISTOLOGÍA

En relación con la técnica petrográfica, se requieren de una serie de equipos e instrumentos para obtener secciones delgadas, dentro de estos tenemos láminas portaobjetos de vidrio o plexiglás esmerilado, cubreobjeto, pinza, resina epoxica, polvo de carburo de silicio con diferentes tamaños (60-1000), taladro con broca de diamante, cortadora y pulidora³⁷. Chinsamy y Raath¹ describieron un protocolo que ha sido utilizado desde entonces, solo con ciertas modificaciones en cuanto al uso de los equipos e instrumentos para minimizar la presencia de artefactos y apoyando con los avances de la tecnología.

Los primeros pasos, consisten en la medición, registro de los datos del hueso, fotografiado y selección del material a utilizar como se describió en el objetivo anterior. El hueso se perfora con una broca de diamante para obtener núcleos (diámetro aproximado entre 13-16 mm), el núcleo se incrusta en resina epoxi (se deja secar por 24 horas, en cámara de vacío), posteriormente se cortan perpendicularmente al eje longitudinal del hueso con una cortadora^{31,38}.

Las secciones obtenidas, se muelen y pulen para su fijación con resina a la lámina portaobjeto, se deja secar en cámara de vacío. Posteriormente las muestras se devastan y se pulen hasta obtener secciones delgadas entre 20-100 μm ²⁹⁻³⁹. Una vez lista la muestra se realiza el montaje con una resina y se cubre con un vidrio para su observación al microscopio de luz polarizada. En el anexo 2, se esquematizan estos pasos para una mejor comprensión de la secuencia a seguir, mientras que su explicación o fundamentación se abordó en el objetivo anterior.

En relación con la técnica histológica, la muestra se desmineraliza con EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético) 500 mM, posteriormente se deshidratación con una batería secuencial de alcoholes desde 70% hasta 100% durante una hora cada uno, adicionalmente se utilizan dos etanoles al 100% para garantizar la eliminación de las moléculas de agua. El siguiente paso consiste en incubar los huesos durante 30 minutos en xileno para limpiar el

tejido y eliminar el alcohol. Las muestras se infiltran en parafina para la obtención del bloque, este se corta con un micrótopo de rotación tipo Minot con un espesor de 5 μm para su estudio histológico³. Estos disponen de una cuchilla fija y un sujeta-muestras móvil.

El nombre del micrótopo de rotación se da porque el sujeta-muestras es accionado mediante un volante. El movimiento de rotación del volante se transforma en un movimiento recto. Normalmente el sujeta-muestras de estos micrótopos se mueve en dirección hacia abajo. Las muestras preparadas se acumulan sobre la cuchilla. La ventaja de estos microtomos es que la alta masa del volante iguala las diferentes durezas en la misma prueba, lo que resulta en un corte uniforme. Los micrótopos de rotación permiten preparar muestras entre 1 y 60 μm (ver anexo 3)⁴⁰.

Las coloraciones utilizadas han sido azul de toluidina al 1% para una tinción rápida general (las estructuras adoptan diversas tonalidades) y azul alcian para glicosaminoglucanos (mucopolisacparidos ácidos), los cuales se tiñen de azul³⁷. Otra técnica utilizada se basa en la microscopia electrónica de barrido, donde las muestras se someten previamente a un proceso de recubrimiento metálico con oro y paladio²³, siendo una alternativa para estudios comparativo de estructuras externa como las placas del escudo escapular y pélvico.

CONCLUSIONES

La intención de los autores en la presente investigación, se fundamentó en la necesidad de conocer las modificaciones de las técnicas histológicas para el estudio de otras especies, en este particular para el estudio de la histología de los fósiles de dinosaurios. Dentro de estas encontramos la petrografía para el estudio del material duro (huesos y dientes fosilizados), por su proceso de mineralización requieren de técnicas especiales para la obtención de los preparados histológicos. Mientras que las técnicas clásicas de microtomía e histoquímica se han utilizado para el estudio del material blando presente en los restos fósiles.

En ambos casos, el uso del microscopio de luz polarizada y la microscopia electrónica de barrido han permitido conocer la morfología microscópica de estas especies, por ejemplo a nivel histológico del escudo escapular y pélvico estas diferencias podrían contribuir con una caracterización taxonómica más precisa de los restos fósiles, incluso se ha podido determinar edad, sexo y madurez, el proceso de fosilización ha conservado de tal manera los detalles morfológicos aun después de miles de años. En consecuencia, son técnicas especiales que requieren el desarrollo y habilidades para trabajar con un material frágil.

Por último, los fundamentos generales siguen siendo los mismos del procesamiento de tejidos con fines clínicos, no obstante, cambian las secuencias de pasos según el tipo de material, así como coloraciones utilizadas. La paleohistología, es un área de constante innovación para dar respuesta a las necesidades de los investigadores en cuanto al estudio de la biología de los dinosaurios, con el propósito de aportar información nueva que pueda ir develando características morfológicas tanto macro como microscópicas de estas especies extintas, para comprender las características de las especies actuales.

RECOMENDACIONES

Es importante la enseñanza de estas técnicas, así como la capacitación de los estudiantes y egresados en otras áreas distintas al procesamiento de biopsias con fines clínicos, porque la aplicabilidad de las técnicas básicas a otras áreas de las ciencias, permitirá ampliar el campo laboral de los profesionales de la histotecnología como ha ocurrido con la microtecnia vegetal, la anatomía comparada.

Además, los autores coinciden con las recomendaciones de Bailleul et al.² en las cual plantean la necesidad de revisar las técnicas y conocimientos actuales para innovar y aportar información adicional sobre la biología de los dinosaurios, por ejemplo explorar las técnicas histológicas básicas y especializada sobre el material fósil para ampliar la información, como ha ocurrido con estudios en momias.

REFERENCIAS

1. Chinsamy A, Raath M. Preparation of fossil bone for histological examination. *Paleontology African*. 1992; 29:39-44.
2. Bailleul A, O'Connor J, Schweitzer M. Dinosaur paleohistology: Review, trends and new avenues of investigation. *PeerJ*. 2016; 7:7764. Doi: 10.7717/peerj.7764
3. Schweitzer M, Zheng W, Zanno L, Werning S, Sugiyama T. Chemistry supports the identification of gender-specific reproductive tissue in *Tyrannosaurus rex*. *Scientific Reports*. 2016; 6:23099. Doi: 10.1038/srep23099
4. Prondvai E, Stein K, Ösi A, Sander M. Life history of *Rhamphorhynchus* inferred from bone histology and the diversity of pterosaurian growth strategies. *PLoS One*. 2012; 7(2):e31392. Doi: 10.1371/journal.pone.0031392
5. Ösi A, Prondvai E, Butler R, Weishampel D. Phylogeny, histology and inferred body size evolution in a new rhabdodontid dinosaur from the Late Cretaceous of Hungary. *PLoS One*. 2012; 7(9):e44318. Doi: 10.1371/journal.pone.0044318
6. Griebeler E, Klein N, Sander M. Aging, maturation and growth of sauropodomorph dinosaurs as deduced from growth curves using long bone histological data: An assessment of methodological constraints and solutions. *PLoS One*. 2013;8(6):e67012. Doi: 10.1371/journal.pone.0067012
7. Saitta E. Evidence for sexual dimorphism in the plated dinosaur *Stegosaurus mjosi* (Ornithischia, Sregosauria) from the Morrison Formation (upper Jurassic) of Western USA. *PLoS One*. 2015; 10(4):e0123503. Doi: 10.1371/journal.pone.0123503

8. Wilson J, Woodruff D, Gardner J, Flora H, Horner J, Organ C. Vertebral adaptations to large body size in theropod dinosaur. *PLoS One*. 2016;11(7):e0158962. Doi: 10.1371/journal.pone.0158962
9. Woodward H, Tremanine K, Williams S, Zanno L, Horner J, Myhrvold N. Growing up *Tyrannosaurus rex*: Osteohistology refutes the pygmy “*Nanotyrannus*” and supports ontogenetic niche partitioning in juvenile *Tyrannosaurus*. *Sciences Advances*. 2020; 6(1):eaax6250. Doi: 10.1126/sciadv.aax6250
10. Canoville A, Schweitzer M, Zanno L. Identifying medullary bone in extinct avemetatarsalians: Challenges, implications and perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 2020; 375:20190133. Doi: 10.1098/rstb.2019.0133
11. Barrett P, Butler R, Mundil R, Scheyer T, Irmis R, Sánchez M. A paleoequatorial ornithishian and new constraints on early dinosaur diversification. *Proceeding of the Royal Society B*. 2014; 281:20141147. Doi: 10.1098/rspb.2014.1147
12. Langer M, Rincón A, Ramezani J, Solórzano A, Rauhut O. New dinosaur (Theropoda, stemAverostra) from the earliest Jurassic of the La Quinta formation, Venezuelan Andes. *Royal Society Open Science*. 2014; 1:140184. Doi: 10.1098/rsos.140184
13. La revista Royal Society Open Science publica el descubrimiento del *Tachiraptor* en Venezuela [Internet]. MSC Noticias. 2020 [cited 2021 Oct 31]. Available from: <https://www.mscnoticias.com.ve/2020/10/la-revista-royal-society-open-science-publica-el-descubrimiento-del-tachiraptor-en-Venezuela>
14. Max C. Langer, Ascanio D. Rincón, Jahandar Ramezani, Andrés Solórzano and Oliver W. M. Rauhut. New dinosaur (Theropoda, stem-Averostra) from the earliest

- Jurassic of the La Quinta formation, Venezuelan Andes. Royal society op [Internet]. 10 de enero de 2014. Doi: 10.1098/rsos.140184
15. Burkley L. Geochronology of the Central Venezuelan Andes, United States: PhD thesis, Case Western Reserve University. 1976.
 16. Dzik J. A beaked herbivorous archosaur with dinosaur affinities from the early Late Triassic of Poland. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 2003; 23(3):556–74.
 17. Barrett P, Butler R, Mundil R, Scheyer T, Irmis R, Sánchez-Villagra M. A palaeoequatorial ornithischian and new constraints on early dinosaur diversification. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2014; 281(1791):20141147
 18. Núñez M. Fósil hallado en Venezuela cuenta el pasado de los dinosaurios carnívoros [Internet]. *Scientific American - Español*. [cited 2021 Oct 31]. Available from: <https://www.scientificamerican.com/espanol/noticias/fosil-hallado-en-venezuela-cuenta-el-pasado-de-los-dinosaurios-carnivoros>
 19. Sánchez M. Venezuela paleontológica, evolución de la biodiversidad en el pasado geológico. Zürich: Universität Zürich. 2012.
 20. Klein N, Christian A, Sander P. Histology shows that elongated neck ribs in sauropod dinosaurs are ossified tendons. *Biology Letters*. 2012; 8(6):1032-1035. Doi: 10.1098/rsbl.2012.0778
 21. Prieto A, Erickson G, Ebersole J. Anatomy and osteohistology of the basal hadrosaurid dinosaur *Eotrachodon* from the uppermost Santonian (Cretaceous) of southern Appalachia. *PeerJ*. 2016; 4:e1872. Doi: 10.7717/peerj.1872

22. Gallina P. Histología ósea del titanosaurio *Bonitasaura salgadoi* (Dinosauria: Sauropoda) del cretácico superior de Patagonia. *Ameghiniana*. 2012; 49(3):289-302.
23. Chávez E, Alfonso I, Finol H, Barrios C, Boada C, Carrillo J. Histología y ultraestructura de los osteodermos fósiles de *Glyptodon clavipes* y *Holmensina* sp. (Xenarthra:Cingulata). *Interciencia*. 2008; 33(8):617-619.
24. Horner J, Goodwin M. Extreme cranial ontogeny in the upper cretaceous dinosaur *Pachycephalosaurus*. *PLoS One*. 2009; 4(10):e7626. Doi: 10.1371/journal.pone.0007626
25. Cerda I, Chinsamy A, Pol D, Apaldetti C, Otero A, Powell J, Martínez R. Novel insight into the origin of the growth dynamics of sauropod dinosaur. *PLoS One*. 2017; 12(6):e0179707. Doi: 10.1371/journal.pone.0179707
26. Fleischle C, Wintrich T, Sander P. Quantitative histological models suggest endothermy in plesiosaurs. *PeerJ*. 2018;6:e4955. Doi: 10.7717/peerj.4955
27. Wiersma K, Canoville A, Siber H, Sander M. Testing hypothesis of skeletal unity using bone histology: The case of the sauropod remains from the Howe-Stephens and Howe Scott quarries (Morrison Formation, Wyoming, USA). *Paleontologia Electronica*. 2021; 24(1):a10. Doi: 10.26879/766
28. Hübner T. Bone histology in *Dysalotosaurus lettowvorbecki* (Ornithischia: Iguanodontia) – variation, growth, and implications. *PLoS One*. 2012; 7(1):e29958. Doi: 10.1371/journal.pone.0029958
29. Stein M, Hayashi S, Sander M. Long bone histology and growth patterns in ankylosaurs: Implications for life history and evolution. *PLoS One*. 2013; 8(7):e68590. Doi: 10.1371/journal.pone.0068590

30. Bramble K, LeBlanc A, Lamoureux D, Wosik M, Currie P. Histological evidence for a dynamic dental battery in hadrosaurid dinosaurs. *Scientific Reports*. 2017; 7:15787. Doi: 10.1038/s41598-017-16056-3

31. Chen J, LeBlanc A, Jin L, Huang T, Reisz R. Tooth development, histology, and enamel microstructure in *Changchunsaurus parvus*: Implications for dental evolution in ornithomimid dinosaurs. *PLoS One*. 2018; 13(11):e0205206. Doi: 10.1371/journal.pone.0205206

32. D'Emic M, O'Conner P, Pacucci T, Gavras J, Mardakhayava E, Lund E. Evolution of high tooth replacement rates in theropod dinosaurs. *PLoS One*. 2019; 14(11):e0224734. Doi: 10.1371/journal.pone.0224734

33. Spiesz E, Kaminsky W, Zysset P. A quantitative collagen fibers orientation assessment using birefringence measurements: Calibration and application to human osteons. *Journal of Structural Biology*. 2011; 176(3):302-306. Doi: 10.1016/j.jsb.2011.09.009

34. Kulkarni RR. Polarizing and Light Microscopic Analysis of Mineralized Components and Stromal Elements in Fibrous Ossifying Lesions. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2014;

35. Microscopía [Internet]. www.medic.ula.ve. Available from: http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos/microscopweb/MONOWEB/capitulo6_8.htm

36. Narváez Armas. D. J. (2014). Texto Electrónico complementario para el estudio del TEMA No 2 EL MICROSCOPIO del Programa Teórico de la asignatura Histología. *Medici.ula*. <http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos/microscopweb/MONOWEB/inicio.htm>

37. Cubo J, Woodward H, Wolff E, Horner J. First reported cases of biomechanically adaptive bone modeling in non-avian dinosaurs. *PLoS One*. 2015; 10(7):e0131131.doi: 10.1371/journal.pone.0131131
38. Stein K, Sander M. Histological core drilling: a less destructive method for studying bone histology. In: Brown M, Kane J, Parker W. (Editors). *Methods in fossil preparation: proceedings of the first annual fossil preparation and collections symposium*. 2009.
39. Cerda I, Casal G, Martínez R, Ibiricu L. Histological evidence for a supraspinous ligament in sauropod dinosaurs. *Royal Society Open Science*. 2015; 2(10):150369. Doi: 10.1098/rsos.150369
40. Pardell X. *Tecnología Médica - Apuntes de Electromedicina* Xavier Pardell [Internet]. www.pardell.es [cited 2021 Oct 31]. Available from: <https://www.pardell.es>

ANEXOS

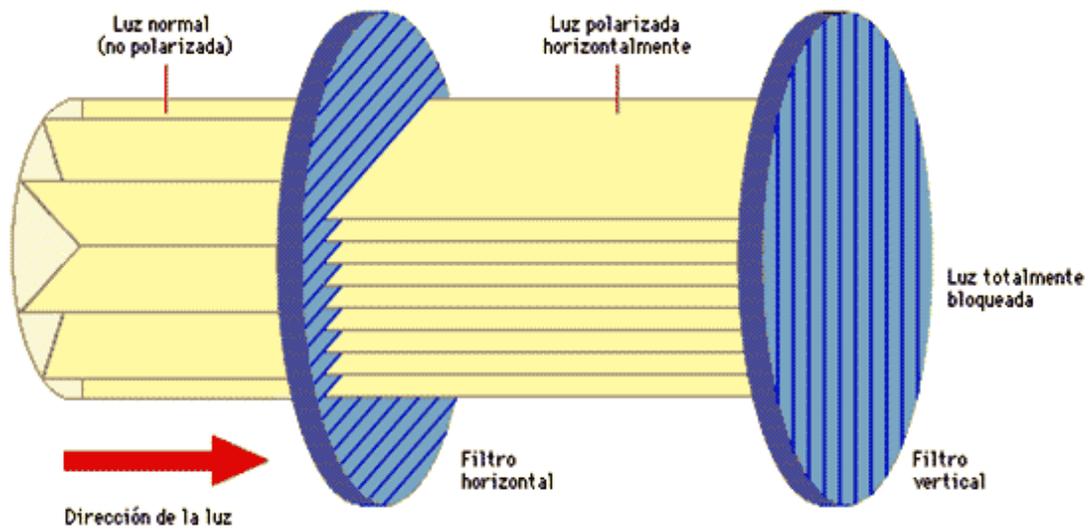


Figura 1. Esquema que muestra el efecto de filtros polarizadores en un rayo de luz.

Fuente: Tomada de Multimedia Encarta Luz Polarizada



Figura 2. Pasos de la técnica petrográfica para la obtención de secciones delgadas de hueso fósil.

Fuente: Elaboración propia, con información de Chinsamy y Raath¹.

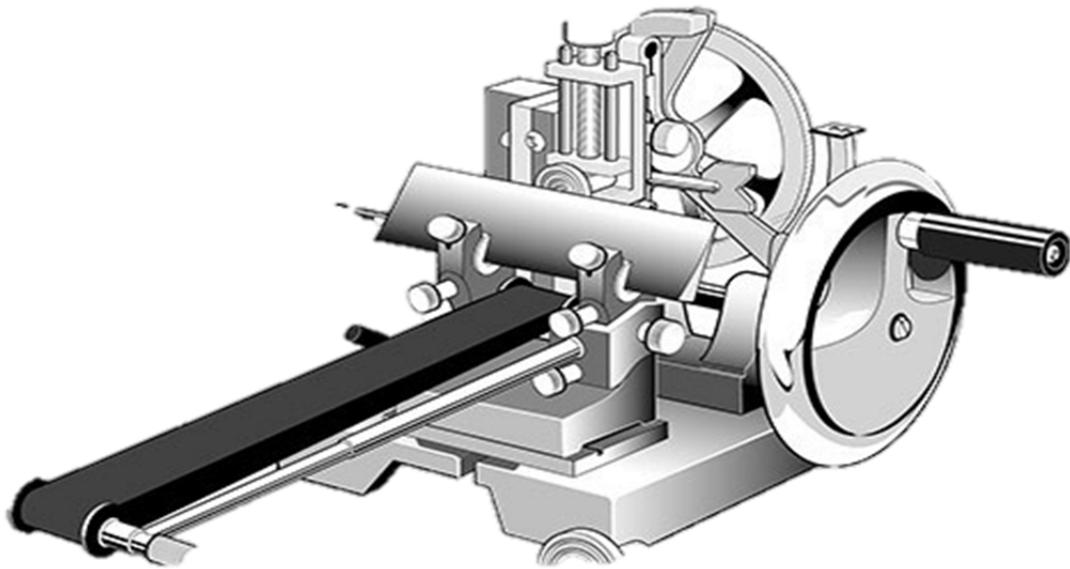


Figura 3. Micrótopo de rotación de precisión tipo Minot.

Fuente: PCE Instruments.