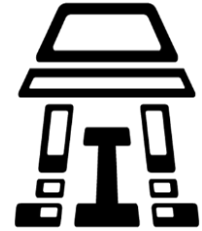




**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

Facultad de Estudios Superiores Iztacala
Carrera Biología



**Estandarización del encapsulado con resina
poliéster de especímenes transparentados de
vertebrados**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

Dannya Shari Pérez Bautista

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Jorge Ricardo Gersenowies Rodríguez



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“Uno de los mayores errores que se comenten es provocar un entusiasmo forzado. Uno no elige sus pasiones; sus pasiones lo eligen a uno”

Jeff Bezos

DEDICADA A:

Mi familia;

María Elena Bautista Pérez, Jesús Pérez Muñoz, Yuma Yoaly Pérez Bautista,
Jaryncy Yukary Pérez Bautista y Herlindo Bautista Vázquez.

Todos mis seres queridos que estuvieron acompañándome y apoyándome en esta
etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres Elena y Jesús por siempre brindarme su apoyo y motivación para poder realizar mi vida profesional, académica y personal de la mejor forma posible, y por ser el mi mayor ejemplo de que todo es posible y las limitantes sólo nos las ponemos nosotros mismos. También agradezco a mis hermanas Jaryncy y Yuma por ser un fuerte pilar en mi vida, llenándome de consejos y apoyo siempre que lo he necesitado, por ser mi ejemplo a seguir, las admiro, gracias hermanas por siempre estar a mi lado. Gracias a mis sobrinos Natalia y Evan por ser una inyección constante de alegría en mi vida y darme cariño siempre que lo necesito, familia, gracias por estar en mi vida y ser mi motor para seguir adelante.

Gracias a Isaías, por ser parte de esta familia, por tu apoyo y conocimiento que siempre compartes generosamente, muchas gracias Josué, por ser una parte especial de mi vida, por darme ánimos, cariño, apoyo y motivación, has sido una parte importante de esta etapa, así como tu familia, muchas gracias a todos.

Agradezco a mi tutor de tesis el Dr. Gersenowies por el apoyo, tiempo, consejos y enseñanzas que me ha brindado a lo largo de mi carrera profesional, así como por la constante ayuda para concluir mi tesis, a mis sinodales el Mtro. José Samuel Meraz Martínez, la Mtra. María de Rosario Fernández Barajas, el Mtro. Romeo Eduardo Loya Zurita y al Mtro. Jorge Ricardo Gersenowies Rosas por el apoyo en mi trabajo de tesis.

Gracias a mis compañeros y amigos del laboratorio Francisco Cuellar, Eduardo Loya y Ariel Olvera por también ser parte importante de esta etapa de mi vida.

Agradezco a mis compañeros y amigos de la carrera por el tiempo, las experiencias, conocimientos, anécdotas y buenos momentos compartidos a lo largo de estos años, tienen un lugar especial en mi corazón.

Agradezco a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, por las herramientas y espacios para poder lograr mi formación profesional.

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
2.1 Introducción.....	2
2.2 Antecedentes.....	5
2.3 Justificación.....	9
2.4 Hipótesis.....	9
3. Objetivo.....	9
4. Materiales y método.....	10
4.1 Ruta crítica.....	10
4.2 Obtención de los organismos.....	11
4.3 Sacrificio de los organismos.....	11
4.4 Preparación previa de los organismos.....	11
4.5 Separación por grupos.....	12
4.6 Procedimiento tradicional.....	12
4.7 Estandarización del encapsulado.....	12
4.7.1 Encapsulado de los especímenes con diafanización....	12
4.7.2 Encapsulado.....	13
4.7.3 Encapsulado de los especímenes sin diafanización.....	13
4.8 Prueba con Luxómetro.....	15
4.9 Elaboración del presupuesto.....	16
4.10 Cuestionario.....	16
5. Resultados y análisis de resultados.....	17
5.1 Resultados para <i>Mus musculus</i>	17
5.1.1 Análisis de opacidad.....	18
5.1.2 Análisis de costos.....	18
5.1.3 Cuestionarios de opinión.....	22
5.2 Resultados para <i>Gallus gallus domesticus</i>	25
5.2.1 Análisis de opacidad.....	26
5.2.2 Análisis de costos.....	26

5.2.3 Cuestionarios de opinión.....	30
6. Discusión.....	33
7. Conclusión.....	43
8. Bibliografía.....	44
Anexos.....	48
Anexo 1: Etiquetas.....	49
Anexo 2: Cuestionario de opinión.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO	PÁGINA
Tabla 1: Prueba de opacidad de los encapsulados de <i>Mus musculus</i>	18
Tabla 2: Presupuesto del material utilizado en el grupo control de <i>Mus musculus</i>	20
Tabla 3: Presupuesto del material utilizado en el grupo experimental de <i>Mus musculus</i>	21
Tabla 4: Presupuestos totales aplicados a ambas técnicas para <i>Mus musculus</i>	22
Tabla 5: Prueba de opacidad de los encapsulados de <i>Gallus gallus domesticus</i>	26
Tabla 6: Presupuesto del material utilizado en el grupo control de <i>Gallus gallus domesticus</i>	28
Tabla 7: Presupuesto del material utilizado en el grupo experimental de <i>Gallus gallus domesticus</i>	29
Tabla 8: Presupuestos totales aplicados a ambas técnicas para <i>Gallus gallus domesticus</i>	30
Tabla 9: Materiales y costos aplicados en el proceso de pulido.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PÁGINA
Figura 1: Esquema general del acomodo de capas de resina poliéster dentro del encapsulado.....	14
Figura 2: Muestra de la vista general de los encapsulados concluidos ya con la presentación del marco de madera.....	14
Figura 3: Esquema del montaje del sistema para medir la opacidad de las preparaciones con el luxómetro.....	15
Figura 4: Fotos de los veinte ratones encapsulados, A) los 10 ratones encapsulados pertenecientes al grupo control, B) Vista lateral derecha, lateral izquierda, dorsal y ventral, C) ratón del grupo control encapsulado con el montaje en marco de madera y etiquetado. D) los 10 ratones obtenidos del grupo experimental encapsulados, E) vista lateral derecha, lateral izquierda, ventral y dorsal, F) ratón del grupo experimental encapsulado con el montaje del marco de madera y etiquetado.....	17
Figura 5: Gráficas de los datos cualitativos para <i>Mus musculus</i> obtenidas a partir del test aplicado a los alumnos de la carrera de biología.....	24
Figura 6: Fotos de los veinte pollos encapsulados. A) Los 10 pollos encapsulados del grupo experimental, B) Vista dorsal, ventral, lateral derecha y lateral izquierda, C) pollo del grupo experimental con el montaje en marco de madera y etiquetado, D) los 10 pollos encapsulados del grupo control, E) vista lateral derecha, lateral izquierda, dorsal y ventral, F) pollo del grupo control encapsulado con montaje del marco de madera y etiquetado.....	25
Figura 7: Gráficas de los datos cualitativos para <i>Gallus gallus domesticus</i> obtenidas a partir del test aplicado a los alumnos de la carrera de biología.....	32
Figura 8: Esquemas de las diferentes aplicaciones de las diferentes capas para el encapsulado para establecer la técnica.	34
Figura 9: Encapsulados de los pilotos realizados para establecer la técnica de encapsulado con resina poliéster, A) pez, B) hámsters, C), musaraña y armadillo, D) pez.....	35
Figura 10: A) y B) Vista ventral y una dorsal de un encapsulado que no tuvo un acabado liso por alguna falla en el proceso de encapsulado, C) y D) corrección de este error por la película de tereftalato empleada en la técnica.....	37
Figura 11: A) Pollo encapsulado del grupo experimental, B) pollo encapsulado del grupo control.....	39
Figura 12: Caballa (<i>Selene vomer</i>) al que se le aplicó la técnica de encapsulado del grupo experimental modificada al agregar una difusión pasiva de resina posterior a la deshidratación.....	40

1. RESUMEN

El presente trabajo tuvo como propósito estandarizar el encapsulado con resina poliéster de uso industrial de especímenes transparentados con doble tinción y evaluar el costo del encapsulado, Se aplicaron dos tratamientos a 20 crías de ratón (*Mus musculus*) y 20 pollitos (*Gallus gallus domesticus*), separados en 4 grupos experimentales. Las preparaciones obtenidas fueron evaluadas con ayuda de una encuesta aplicada a alumnos de la carrera de biología de la Fes-Iztacala, donde se preguntó acerca de la calidad, diferencias entre las preparaciones, aplicación didáctica y científica, entre otros atributos. A demás de la valoración cualitativa de los alumnos, se llevó a cabo una prueba cuantitativa para medir la opacidad de las preparaciones. Finalmente se realizó un presupuesto de la técnica propuesta tanto en costo de materiales como horas laborales empleadas.

Los resultados obtenidos muestran elementos para considerar que la técnica es efectiva y económica, además de ser bien aceptada como material didáctico y científico.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 INTRODUCCIÓN

El proceso de diafanización con tinción esquelética ha sido implementada utilizando diversos vertebrados con la finalidad de realizar descripciones del sistema esquelético (Hill, 1906; Dawson, 1926) a lo largo del siglo XX se han propuesto numerosas modificaciones de la técnica; el método estándar para llevarla a cabo implica una tinción del esqueleto, despigmentación y deshidratación del tejido. Algunos investigadores han aplicado el método de tinción con rojo de alizarina "S", utilizando el hidróxido de potasio (KOH) para la digestión de los tejidos blandos según el método de Mall (1906) (Dawson, 1926; Staples & Schnell, 1964).

Dentro de las tinciones utilizadas, además del rojo de alizarina, también es utilizado el azul de alciano, el cual es específico para teñir cartílago, anteriormente se empleaba el azul de metileno o azul de toluidina, sin embargo el azul de alciano es más específico y es menos probable que se difunda o sufra una oxidación-reducción durante el almacenamiento de los organismos, pues se ha reportado en muestras resguardadas durante mucho tiempo, que fueron preparadas bajo este último método, no muestran signos de decoloración del cartílago; sin embargo, se debe resaltar que la duración de cada paso en el proceso de la tinción debe ajustarse al tamaño del espécimen, obteniéndose resultados superiores a las técnicas que usan azul de toluidina o de metileno (Williams, 1941).

Cabe mencionar que la técnica de transparentación y tinción diferencial para cartílago y hueso ha sido ampliamente utilizada para el estudio del esqueleto, esta técnica permite una visualización clara y detallada del esqueleto (Mengola, Broccia, & Giavini, 2001; Sandoval et al., 2016). Esto es ideal sobre todo en los organismos que están en estadios tempranos de desarrollo, ya que la osificación endocondral o pericondral implica fases cartilaginosas, seguidas de otras con centros de osificación (Whitaker & Dix, 1979; Boardman, Mitala, Carrano, & Iulicci, 1984; Trueman, Jackson, & Trueman, 1999), o partes donde la osificación se concreta, la tinción ayuda a una clara visión de muchas estructuras que, utilizando de forma independiente estos colorantes se perderían, sin embargo, realizar esta tinción

incluso en especímenes adultos donde la osificación del esqueleto se completó, pueden llegar a vislumbrarse algunas estructuras cartilaginosas que a simple vista pasarían inadvertidas.

Normalmente esa técnica culmina con una preservación en glicerina absoluta, la cual ha sido inconveniente para algunos autores, quienes reportan que este modo de preservación puede ocupar una gran cantidad de espacio, así como su deterioro a largo plazo (Peker, Gúlekon, Anil, Tugurt, & Liman, 2003).

Chappard, Alexandre, Camps, Montheard y Riffat (1985) mencionan que la posibilidad de obtener muestras transparentadas encapsuladas no han sido ampliamente investigadas a pesar que muchos autores mencionan que los procedimientos para la preservación por medio del encapsulado han recibido especial interés por su valor en la enseñanza y comercialización en las ciencias biológicas y médicas (Kampmeier & Haviland, 1948; Kampmeier, Haviland, Struhii, & Hershey, 1950; Kampmeier & Hospudar 1951; Larsson, 1975; Grimsrud & Dugstad, 1975; Lataster y Drukker, 1986; Iordanskii, Rudakova, & Zaikov, 1994; Peker et al., 2003) ya que la preservación permanente de material biológico permite que constituyan parte de colecciones tanto científicas como museográficas, aunque las colecciones científicas contienen archivos en un espacio determinado para conservarlos por largo plazo, estos archivos son objetos físicos considerados como materia prima para la generación y validación de conocimiento científico contenido en los artículos y/o libros publicados, protegiendo el conocimiento científico y sus beneficios sociales de una parte de la naturaleza (Cristín & Perrillat, 2011), sin embargo, no todo el público tiene acceso a éste tipo de colecciones, pero las colecciones museográficas son primordiales en el ámbito de la comprensión y difusión del conocimiento, ya que permiten que en un área delimitada se lleve a cabo la transmisión de conocimiento de un curador hacia un receptor, a través de la colección, propiciando el contacto objeto-hombre de forma visual que es apoyado por mensajes diseñados para que el sujeto adquiera el conocimiento detrás de la pieza exhibida, dándole el valor e importancia al impacto de la biodiversidad y los

estudios aplicados en ella en el patrimonio cultural, (Dever y Carrizosa, 2010; Vitaglino, sin año).

El proceso de preservación por encapsulado tiene algunos puntos clave muy delicados como son la deshidratación, impregnación del material con el polímero, la temperatura adecuada a la que se realiza la técnica (según el polímero y el catalizador). Si estos puntos críticos se descuidan pueden presentarse burbujas o manchas blancas en la superficie (Kerns, 1953; Wolfe, 1965; Deonarine, Potts, Deck, & Grossman, 1972).

Los primeros polímeros para realizar estas inclusiones fueron el metacrilatos de metilo y el de etilo, pero a lo largo del tiempo ha habido variaciones en la técnica y los polímeros implicados, actualmente en la mayoría de los procedimientos se utilizan las resinas de poliéster insaturadas en forma de monómero con un catalizador que acelera la polimerización (Hocking, 1953). La resina poliéster ha sido elegida por los morfólogos debido a su capacidad para preservar muestras teñidas sin deterioro (Stone, Frothingham, & Johnson, 1964; Bickley, Hagens, & Townsend, 1981; Chappard et al., 1983; Chappard, Alexandre, Palle, & Riffat, 1985; Bloot, Boekelaar, & Baljet, 1984).

2.2 ANTECEDENTES

Dentro de los trabajos que han utilizado el encapsulado de material biológico podemos mencionar:

- Kerns (1953) realizó encapsulados de algunos tejidos humanos en moldes de vidrio con resina poliéster insaturada, empleando una deshidratación parcial con glicerina al 50% y cambios rápidos de acetona para la deshidratación total de la capa que se encontraba más expuesta, esto tenía como objetivo permitir la difusión de la resina impregnando la muestra, se cubrió con un plástico delgado y se empleó luz ultravioleta para acelerar la polimerización de la resina con el catalizador obteniendo una superficie lisa.
- Hocking (1953) llevó a cabo encapsulados de insectos con resina poliéster, en moldes de vidrio Pyrex de superficie lisa, los insectos se fijaron con una mezcla de alcohol-glicerina, y se sometieron a un baño de resina sin catalizar en una bomba de vacío para vaporizar la mezcla fijadora permitiendo la impregnación con resina. Se procedió a su encapsulado, finalmente se les dio un tratamiento de lijado y pulido, obteniendo encapsulados traslucidos y duraderos.
- Ralph y Hoverd (1968) realizaron encapsulados de material zoológico con resina poliéster, monómero de estireno y catalizador, en moldes de fórmica y vidrio con lo cual el tratamiento de pulido posterior fue menor, su procedimiento se basó básicamente en deshidratar, aclarar, encapsular y pulir. La deshidratación dependió de la condición del material (preservación en seco o en líquido) y se logró utilizando acetona. En el caso de los equinodermos se utilizó horno. El aclarado se realizó colocando a los organismos en monómero de estireno hasta que penetrara completamente, se calentó el molde a 50°C para verter el catalizador y la resina con una duración de 3-5 min, posterior a esto, se permite el endurecimiento a temperatura ambiente cuidando la formación de burbujas, se dejó secar y finalmente se pulió. Encontraron que es esta técnica reduce la formación de burbujas y produce ejemplares de buena calidad.

- Larsson (1975) presentó un método para el encapsulado de pequeños animales y órganos, estos fueron fijados en una solución que permite la conservación de su color natural. Se deshidrataron en una solución de acetato de potasio, glicerol y agua destilada, permanecieron en esta solución de 1-3 semanas en un cuarto a temperatura ambiente para la evaporación del agua. La polimerización del polímero plexit 55 se realizó por irradiación con luz azul actinio, y se le dio un tratamiento posterior al desmolde para su pulido el cual, se llevó a cabo con una fresa de cara plana.
- Grimsrud y Dugstad (1975) propusieron un método de encapsulado simple para rebanadas de cerebro utilizando resina epóxica. Se fijó el cerebro en formaldehído al 10% de 2-3 semanas y se realizaron rebanadas de 1cm de grosor. Se procedió al encapsulado en moldes de poliestireno con resina epóxica y catalizador (100 partes de resina por 30 de catalizador) a una temperatura de 35°C para evitar burbujas y obtener una superficie lisa y de este forma evitar un tratamiento posterior. El método es simple y toma poco tiempo, además de que los autores afirman que se obtienen resultados de buena calidad.
- Mawhinney y Ellis (1983) publicaron una técnica para encapsulado de hueso mineralizado, en la cual se fijaron los tejidos en formalina tamponada al 10% de 2-7 días. Se deshidrataron en cellosolve, se impregnaron los tejidos con resina con mezclas de cellosolve-resina a diferentes concentraciones con intervalos de inmersión de 24 horas. El encapsulado se realizó en moldes de vidrio siliconado y calentado a 56°C durante 48 horas, se retiró el molde y se recortó el exceso de resina con una sierra de cinta y una lijadora. Los autores señalan que el tiempo varía según el tamaño de la muestra y que la deshidratación es un punto crítico para tener éxito con la técnica.
- Chappard et al. (1983) usaron una mezcla de metacrilato de glicol puro anhidro y metacrilato de metilo como medio de encapsulado para biopsias del hueso iliaco, llevándose a cabo a una temperatura de -20°C, elevados posteriormente a 4°C con un máximo de 25°C para la polimerización. El proceso de fijación fue con formalina durante 5 horas, posterior a esto se deshidrataron directamente en

acetona absoluta y el proceso de encapsulado se realizó con resinas metacrílicas purificadas, encontrando que la polimerización se reduce drásticamente a temperaturas bajas.

- Chappard et al. (1985) realizaron un procedimiento de diafanización para obtener especímenes de esqueleto de embrión humano teñido con rojo de alizarina y su encapsulado posterior. Los embriones fueron desollados, eviscerados y fijados en formalina, se tiñeron con rojo de alizarina "S" y se digirieron en KOH al 5%. Posteriormente se deshidrataron en acetona pura y la diafanización se realizó en soluciones de acetona con monómeros de resina poliéster. Finalmente el encapsulado se realizó en resina poliéster en un molde metálico y recibió un tratamiento final de pulido. Los autores indican que este aclarado y encapsulado se puede aplicar a diferentes estudios de anatomía o morfogénesis, y también es aplicable a especímenes de museo que han sido almacenados en formalina por mucho tiempo.

- Lataster y Drukker (1986) llevaron a cabo un método para la preservación y montaje de embriones de pollo a través de un encapsulado realizado con una combinación de metacrilato, poliéster y acrilato. Para ello se llevó a cabo una fijación de los embriones y se encapsularon en technovit (2-hidroxi-etil-metacrilato) catalizado, pero debido a la vulnerabilidad a rayones y humedad del material se llevó a cabo un encapsulado de la placa de technovit en resina poliéster, y se pulieron los lados. Los autores reportan que la baja temperatura de la catalización del technovit (35-38°C) reduce posibles daños en el delicado material biológico como son los embriones de pollo, además el tiempo de polimerización es más rápido, en comparación con la resina poliéster que puede tener una temperatura de hasta 85°C en la polimerización.

- Peker et al. (2003) llevaron a cabo la transparentación y encapsulado en resina poliéster de preparaciones de los patrones de distribución de los nervios de los músculos masticatorios del conejo. Los especímenes fueron teñidos por el método de Sihler y se deshidrataron en acetona absoluta, el aclaramiento se llevó a cabo con soluciones de acetona-poliéster (monómero de poliéster), el

encapsulado se realizó en un molde de vidrio con resina poliéster, y se aplicó el catalizador a temperatura ambiente. Los autores encontraron que las tinciones realizadas se preservaron exitosamente a través del tiempo en la resina poliéster, por el contrario, las que se conservaron en glicerol se desvanecieron después de un tiempo, además el almacenamiento de los encapsulados ocupa menos espacio que las muestras preservadas en glicerina.

2.3 JUSTIFICACIÓN

Dada la importancia e interés de la preservación de material biológico para fines científicos y didácticos que reportan algunos autores, y considerando los diversos estudios presentados donde se muestran una gran diversidad de técnicas para llevar a cabo el proceso de encapsulado con numerosos tipos de resinas, diferentes tejidos u organismos de manera exitosa, sin embargo, estas técnicas pueden llegar a ser complejas, tardías, costosas y la gran mayoría necesitan tener un tratamiento posterior al encapsulado, el cual consiste de un pulido. Además es pertinente señalar que sólo existe un reporte sobre organismos transparentados y teñidos, de ahí que la propuesta del presente trabajo sea estandarizar una técnica para llevar a cabo el encapsulado de organismos transparentados con doble tinción y evaluar el costo de su implementación y de esta forma contribuir al estudio osteológico de la fauna mexicana vía preparaciones de encapsulados potencialmente adecuadas para colecciones científicas y museográficas.

2.4 HIPÓTESIS

La resina de poliéster de uso industrial es adecuada para encapsulado de vertebrados transparentados y con doble tinción.

La preparación previa de especímenes transparentados y con doble tinción afecta la calidad del encapsulado.

3. OBJETIVO

Estandarizar el encapsulado con resina poliéster de uso industrial de especímenes transparentados y con doble tinción.

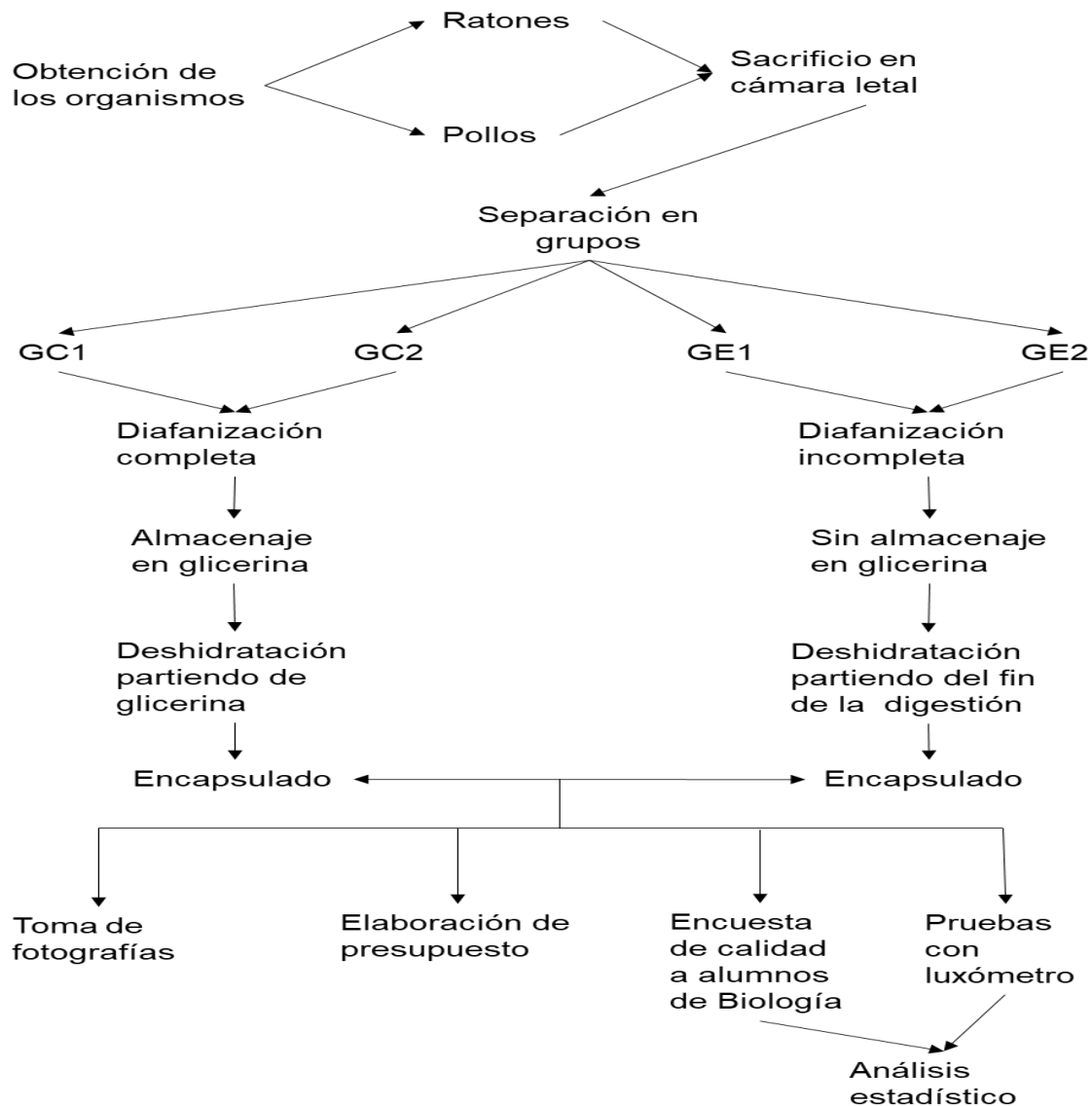
Evaluar el costo del encapsulado de especímenes transparentados y con doble tinción.

4. MATERIALES Y MÉTODO

Debido a la escasez de información que hay sobre el encapsulado de organismos transparentados se pretende estandarizar una técnica a través de la siguiente metodología:

4.1 Ruta crítica

Abajo se muestra esquemáticamente los pasos llevados a cabo en el presente trabajo, estos se detallan más adelante en el texto.



GC1- Ratones, grupo control
GC2- Pollos, grupo control
GE1- Ratones, grupo experimental
GE2- Pollos, grupo experimental

4.2 Obtención de los organismos

Se compraron en un centro de distribución de mascotas 20 crías recién nacidas de ratón y 20 pollitos recién eclosionados con el fin de tener muestras homogéneas. En las crías de ratón se tuvo cuidado en observar la ausencia de pelo y que los ojos estuvieran cerrados. En los pollitos se verificó la presencia de plumón amarillo y el diamante en el pico.

4.3 Sacrificio de los organismos

Los 40 organismos fueron sacrificados en una cámara letal con cloroformo, dejándolos durante 5 minutos. En el caso de los pollos, este procedimiento se realizó en grupos de 3 pollitos según se fueran ocupando en el proceso de preparación, mientras los ratoncitos, se sacrificaron todos en conjunto.

4.4 Preparación previa de los organismos

Los 40 organismos se sometieron a la preparación para la diafanización según la técnica de Gersenowies (J.R. Gersenowies, comunicación personal, 2018) que consiste en los siguientes pasos:

- Desollado y eviscerado de los organismos.
- Fijado en formol al 4% por 24 horas.
- Lavado en agua por 24 horas.
- Deshidratación en trenes de alcohol (40%, 60%, 80%, 90% y 100%) 24 horas por solución.
- Tinción con azul de alciano por 24 horas.
- Rehidratación en trenes de alcohol (100%, 90%, 80%, 60%, 40% y agua) 24 horas por solución.
- Tinción con rojo de alizarina por 24 horas.
- Digestión alcalina con NaOH 4% durante 7 días para los ratones y 12 días para los pollitos.

4.5 Separación por grupos

Los 20 ratones se dividieron en dos grupos uno control que fue sometido al procedimiento tradicional de diafanización con glicerina, y uno experimental en el cual se excluye la diafanización. En el caso de los 20 pollos se realizó el mismo procedimiento separándose en dos grupos, uno que se sometió al procedimiento tradicional y el otro al experimental.

4.6 Procedimiento tradicional

Dos grupos, uno de ratones y otro de pollos fueron diafanizados pasándolos por un tren de glicerina (40%, 60%, 80%, 90% y 100%) 24 horas por solución, y almacenados en glicerina pura.

4.7 Estandarización del encapsulado

De acuerdo con la definición que brinda la secretaría de economía (2015) “La estandarización es el proceso de ajustar o adaptar características en un producto, servicio o procedimiento; con el objetivo de que éstos se asemejen a un tipo, modelo o norma en común”. Con base a la escasa literatura y poca homogeneidad en los métodos aplicados para la elaboración de encapsulados de material biológico y organismos transparentados se hicieron pilotos de encapsulados para ajustar la técnica propuesta en éste trabajo. La técnica final aplicada se explica a continuación.

4.7.1 Encapsulado de los especímenes con diafanización

Estos organismos se sometieron a un procedimiento de deshidratación que consiste en:

- Tren de glicerina inverso (100%, 90%, 80%, 60% y 40%) 24 horas por solución.
- Deshidratación en un tren de alcohol (40%, 60%, 80%, 90% y 100%) 24 horas por solución.
- Inmersión en acetona pura.

4.7.2 Encapsulado

Posterior a esta deshidratación de los organismos se llevó a cabo el encapsulado (Figura 1) el cual consiste en:

- En un molde se aplicó una ligera capa de película separadora para facilitar el desmoldado.
- En la base del molde se colocó una hoja de tereftalato de polietileno el cual previamente fue planchado, con una plancha casera para que tuviera un acabado liso y plano.
- Posteriormente se agregó una pequeña cantidad de resina poliéster con gotas de catalizador en una proporción de 1 gota de catalizador por cada 20ml de resina y se esperó a que esta comenzara a polimerizar.
- En un envase diferente se agregaron $\frac{3}{4}$ partes de resina poliéster, $\frac{1}{4}$ parte de acetona y catalizador (1 gota de catalizador por cada 20ml de resina) y se mezclaron hasta que estuviera homogenizada.
- El organismo a encapsular se colocó en el molde sobre la primera capa de resina poliéster ligeramente endurecida y se le agregó una capa de la mezcla de resina-acetona-catalizador ya homogenizada, lo suficientemente gruesa para cubrir al organismo teniendo cuidado de que no se formaran burbujas.
- Cuando se solidificó de esta capa, se agregó una fina capa de resina poliéster con catalizador, sobre ésta se colocó una hoja de tereftalato de polietileno planchado y aplanado cuidando que no se formaran burbujas, y se dejó secar.
- Finalmente se desmoldó y se retiró el par de hojas de tereftalato de polietileno que se pusieron en la base y en la parte superior del encapsulado.

4.7.3 Encapsulado de los especímenes sin diafanización

Estos organismos se sometieron a un procedimiento de deshidratación que consiste en:

- Deshidratación en un tren de alcohol (40%, 60%, 80%, 90% y 100%) 24 horas por solución.

- Inmersión en acetona pura.

Posterior a la deshidratación se llevó a cabo el proceso de encapsulado (Figura 1) exactamente igual al descrito en el punto anterior (4.7.2).

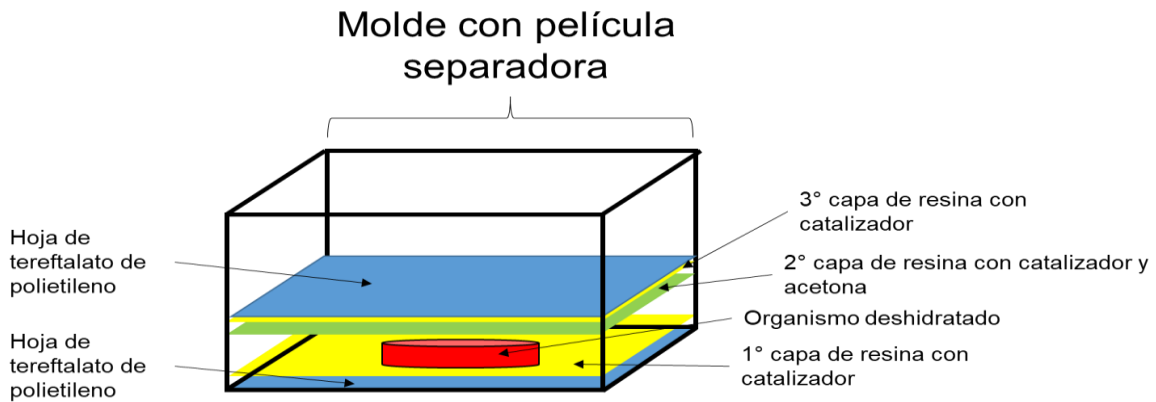


Figura 1. Esquema general del acomodo de capas de resina poliéster dentro del encapsulado.

Para la presentación de los organismos se elaboraron en marcos de madera en donde se colocaron los encapsulados esto permite una visualización de dos caras del encapsulado, así como un etiquetado con los datos de la preparación (Técnica, nombre común, nombre científico, nombre de quien lo elaboró y fecha de la preparación) (Anexo 1).

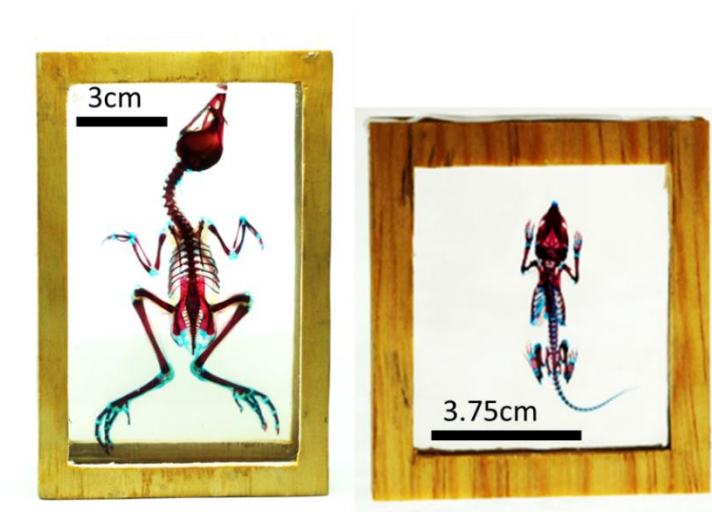


Figura 2. Muestra de la vista general de los encapsulados concluidos ya con la presentación del marco de madera.

Se tomaron fotografías con una cámara Sony Alpha 3500 con una resolución de 20.1 megapíxeles y se comparó la calidad entre los dos diferentes tipos de preparación.

4.8 Prueba con luxómetro

Para obtener una medida cuantitativa que permita determinar si existe una diferencia en la opacidad de las preparaciones entre los dos métodos de encapsulado, se determinó la intensidad de luz que atraviesa el encapsulado, para ello se siguió el siguiente procedimiento, utilizando un luxómetro marca TASI modelo 8721 y una fuente de luz led marca LJ modelo DT-808-149, se midió la intensidad de la luz que atraviesa las muestras (figura 3), se obtuvieron una serie de datos en lux y se midió el grosor de las mismas. Para quitar el efecto del grosor se transformaron los datos utilizando la ecuación $x = \ln\left(\frac{\text{intensidad}}{\text{grosor}}\right)$ los datos se vaciaron en una tabla.

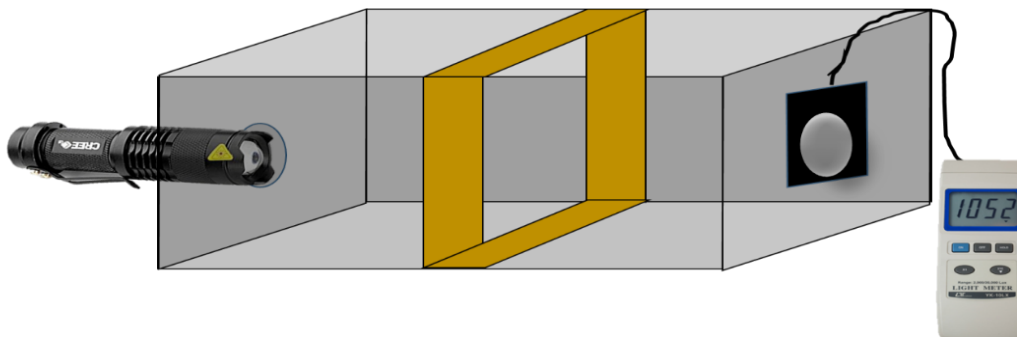


Figura 3. Esquema que muestra la forma en la que se realizó el montaje del sistema para medir la opacidad de las preparaciones con el luxómetro. El cuadro en café en la parte central indica la posición en la que se colocaron las preparaciones para medir la intensidad de luz que pasaba a través de las muestras.

A los datos se les verificó la normalidad con una prueba de Shapiro-Wills contrastando las siguientes hipótesis:

$H_0: p \geq 0.05$ Existe normalidad

$H_a: p < 0.05$ No existe normalidad

Cuando existió normalidad se aplicó una prueba de "t" para muestras independientes, contrastando las siguientes hipótesis:

Ho: $p \geq 0.05$ No hay diferencias en la opacidad

Ha: $p < 0.05$ Hay diferencias en la opacidad

Cuando no existió normalidad se aplicó la prueba de Mann-Whitney, contrastando las siguientes hipótesis:

Ho: $p \geq 0.05$ No hay diferencias en la opacidad

Ha: $p < 0.05$ Hay diferencias en la opacidad

Todas las pruebas estadísticas utilizadas fueron llevadas a cabo por el programa Statistica ver.10.

4.9 Elaboración del presupuesto

Se realizó el presupuesto sobre la técnica de encapsulado tomando en cuenta el costo de todos los materiales implicados en el proceso, desde la adquisición de los organismos, proceso de transparentación, preparación previa para realizar el encapsulado y el encapsulado. Con base al costo total obtenido de los materiales y del tiempo en horas laborales invertidas en el proceso, tomando como parámetro el sueldo del biólogo según el observatorio laboral a la fecha de enero del 2019 se estimó el costo de cada encapsulado.

4.10 Cuestionario

El test constó de seis preguntas con escala tipo Likert de 5 puntos, las cuales tenían como fin valorar la calidad de las preparaciones, y cuatro preguntas para evaluar si se observan diferencias en las preparaciones, la utilidad en actividades de enseñanza-aprendizaje y pedagógicas y el costo estimado para las preparaciones (Anexo 2), éste se aplicó a 175 alumnos de la carrera de biología prestándoles los tipos preparaciones, tanto de ratones como de pollos (un total de 4 preparaciones), dos del grupo control y dos del experimental. Los datos se vaciaron y organizaron en una página Excel para realizar su análisis. Con base a sus respuestas se realizó un análisis de frecuencias para obtener los resultados de la calidad percibida por los alumnos así como explorar si se perciben diferencias entre los dos tipos de preparación.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 Resultados para *Mus musculus*

Se obtuvieron de forma exitosa 20 encapsulados de *Mus musculus* con la técnica estandarizada (figura 4) en 2 posiciones anatómicas (dorso-ventral y lateral).



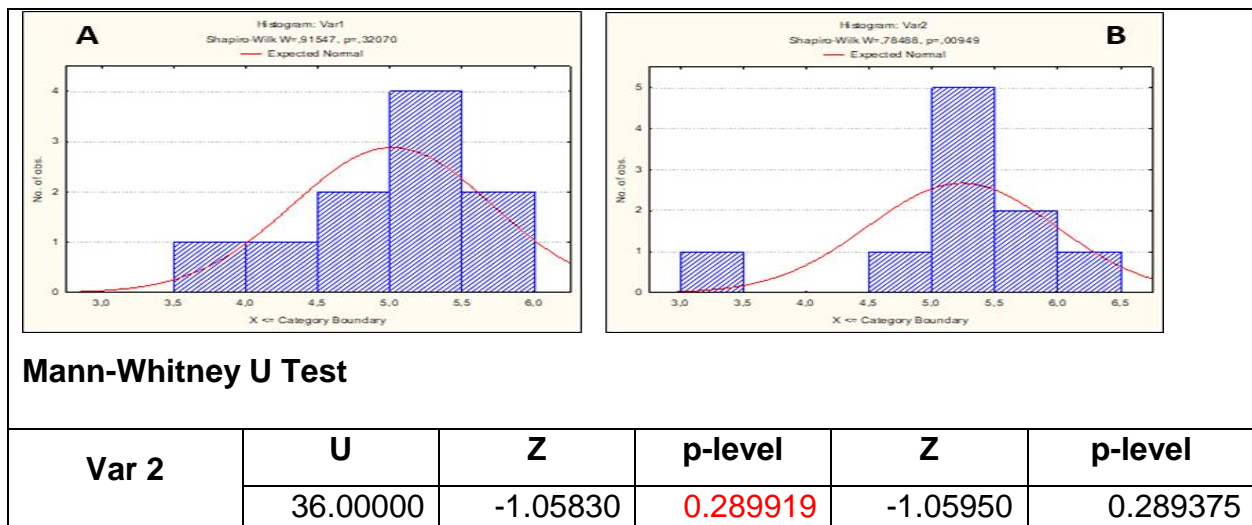
Figura 4. Fotos de los veinte ratones encapsulados, A) los 10 ratones encapsulados pertenecientes al grupo control, B) Vista lateral derecha, lateral izquierda, dorsal y ventral en que se colocaron, se observa los diferentes elementos esqueléticos, C) ratón del grupo control encapsulado con el montaje en marco de madera y etiquetado. D) los 10 ratones obtenidos del grupo experimental encapsulados, E) vista lateral derecha, lateral izquierda, ventral y dorsal en que se colocaron, se observan los diferentes elementos esqueléticos, F) ratón del grupo experimental encapsulado con el montaje del marco de madera y etiquetado. Este último en el etiquetado tiene una pequeña marca roja para identificar la preparación.

5.1.1 Análisis de opacidad

Para las pruebas realizadas con el luxómetro y la fuente de luz led, se le aplicó la prueba de Shapiro-Willis encontrando que no existe una distribución normal, por lo tanto la prueba no-paramétrica aplicada fue la Mann-Whitney (tabla 1), la prueba indica con una $p = 0.289375 > 0.05000$ por lo tanto no existen diferencias significativas entre las muestras respecto a su opacidad.

Tabla 1

Prueba de opacidad de los encapsulados de Mus musculus



Datos obtenidos por la prueba de Mann-Whitney, en color rojo se resalta la p obtenida en la prueba. En la parte superior se muestran las gráficas obtenidas por la prueba de Shapiro-Wills.

5.1.2 Análisis de costos

Con base al costo individual de los materiales obtenidos en mayo del 2018, se calculó el gasto total empleado en el proceso de transparentación y encapsulado de las 20 crías de ratón, (Tabla 2 y 3). Se calculó el precio individual en cuestión de material para cada ratón que fue de 1959.11 pesos, y por otro lado se calculó el tiempo laboral empleado en el proceso (Tabla 4).

El costo del tiempo laboral del encapsulado de ratones se muestra en la tabla 4, detallando los días que se emplearon para cada procedimiento. Esto se evaluó teniendo como referencia el salario mensual promedio de un biólogo (Observatorio

laboral, sin año) que es de 11,538 pesos mensuales, el cual si se dividió entre 28 días laborales del mes, siendo de 412.07 pesos diarios, y si se divide entre 8 horas de jornada, el sueldo por hora es de 51.51 pesos.

El costo para realizar el encapsulado sin tomar en cuenta el proceso de diafanización sería alrededor de 283.31 pesos, considerando cinco horas y media de trabajo.

Si se toma en cuenta el proceso de diafanización según el grupo control, considerando que se necesita transferir el espécimen a glicerina para estudiarlo y después encapsularlo (42 días / 44.5 horas), el costo de las horas laborales empleadas sería de 2292.20 pesos. En el caso de que se desee conservar directamente un organismo en un encapsulado como el grupo experimental, tomando en cuenta el tiempo utilizado en el grupo experimental (32 días/34.5 horas), con las mismas consideraciones aplicadas en el grupo control, el costo de 1777.10 pesos.

La suma del costo de materiales, más las horas laborales nos da en el grupo control un total de 20803.32 pesos por los diez encapsulados, y un costo individual de 2080.33 pesos. Pero si se desea utilizar este proceso de forma individual, implica que el costo del encapsulado aumente a 4151.31 pesos, debido a que el tiempo empleado es el mismo para un ratón que para diez. Por otra parte si hablamos del costo del encapsulado del grupo experimental los costos se reducen a 13872.22 pesos para 20 ratones, 1387.22 pesos para un ratón obtenido de un lote de 10 ratones y 2986.61 pesos para un encapsulado de ratón de forma individual. En ambos casos el costo se eleva casi al doble si el ratón se elabora de forma individual.

Tabla 2

Presupuesto del material utilizado en el grupo control de *Mus musculus*

MÉTODO APLICADO AL GRUPO CONTROL PARA EL PROCESO DE ENCAPSULADO PARA RATONES						
	MATERIAL	CANTIDAD	COSTO	CANTIDAD UTILIZADA	TOTAL	TOTAL POR PROCEDIMIENTO
DIAFANIZACIÓN	Ratones	1	\$15	10	\$150.00	\$9315.84
	Formol	500ml	\$1187.84	50ml	\$118.78	
	Alcohol para la diafanización	1000ml	\$2808.36	1850ml	\$5195.47	
	Azul de alciano	10g	\$3557	0.025g	\$8.89	
	Rojo de alizarina	5g	\$1600	0.025g	\$8.00	
	NaOH	1000g	\$1980	40g	\$79.20	
	Glicerina para diafanización	1000ml	\$2030	1850ml	\$3755.50	
PREPARACIÓN PARA ENCAPSULADO	Glicerina para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2030	1350ml	\$2740.50	\$7674.29
	Alcohol para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2808.36	1350ml	\$3791.29	
	Acetona para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2285	500ml	\$1142.50	
ENCAPSULADO	Resina poliéster	1000g	\$85	1500g	\$127.50	\$1601.00
	Catalizador	20ml	\$14	10ml	\$7.00	
	Acetona para encapsular	1000ml	\$2285	500ml	\$1142.50	
	Tereftalato de polietileno	1000g	\$100	500g	\$50.00	
	Moldes de polietileno	1	\$14	5	\$70.00	
	Película separadora	900ml	\$36	100g	\$4.00	
	Moldes de madera 7.5 x 7.5	1	\$20	10	\$200.00	
	TOTAL				\$18591.13	
	INDIVIDUAL				\$1859.11	

Costo de los materiales empleados en el proceso de encapsulado para 10 ratones por el proceso indirecto en enero del 2019, destacando con diferentes colores las etapas llevadas a cabo para el proceso, en el color amarillo el gasto total empleado en los materiales para los 20 encapsulados, y el costo de los materiales de forma individual de cada encapsulado.

Tabla 3

Presupuesto del material utilizado en el grupo experimental de Mus musculus

MÉTODO APLICADO AL GRUPO EXPERIMENTAL PARA EL PROCESO DE ENCAPSULADO PARA RATONES						
	MATERIAL	CANTIDAD	COSTO	CANTIDAD UTILIZADA	TOTAL	TOTAL POR PROCEDIMIENTO
DIAFANIZACIÓN	Ratones	1	\$15	10	\$150.00	\$5560.34
	Formol	500ml	\$1187.84	50ml	\$118.78	
	Alcohol para la diafanización	1000ml	\$2808.36	1850ml	\$5195.47	
	Azul de alciano	10g	\$3557	0.025g	\$8.89	
	Rojo de alizarina	5g	\$1600	0.025g	\$8.00	
	NaOH	1000g	\$1980	40g	\$79.20	
PREPARACIÓN PARA ENCAPSULADO	Alcohol para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2808.36	1350ml	\$3791.29	\$4933.79
	Acetona para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2285	500ml	\$1142.50	
ENCAPSULADO	Resina poliéster	1000g	\$85	1500g	\$127.50	\$1601.00
	Catalizador	20ml	\$14	10ml	\$7.00	
	Acetona para encapsular	1000ml	\$2285	500ml	\$1142.50	
	Tereftalato de polietileno	1000g	\$100	500g	\$50.00	
	Moldes de polietileno	1	\$14	5	\$70.00	
	Película separadora	900ml	\$36	100ml	\$4.00	
	Moldes de madera 7.5 x 7.5	1	\$20	10	\$200.00	
	TOTAL				\$12095.13	
	INDIVIDUAL				\$1209.51	

Costo de los materiales empleados en el proceso de encapsulado para 10 ratones por el proceso directo en enero del 2019, destacando con diferentes colores las etapas llevadas a cabo para el proceso, en el color amarillo el gasto total empleado en los materiales para los 20 encapsulados, y el costo de los materiales de forma individual de cada encapsulado.

Tabla 4

Presupuestos totales aplicados a ambas técnicas para Mus musculus

	DIAFANIZACIÓN (G. EXPERIMENTAL)	DESHIDRATACIÓN PARA ENCAPSULADO (G. EXPERIMENTAL)	ENCAPSULADO (G. EXPERIMENTAL)	EMPLEADO PARA 10 ENCAPSULADOS DE RATÓN	EMPLEADO PARA UN ENCAPSULADO DE RATÓN
TIEMPO EN DÍAS	21	8	3	32	32
TIEMPO EN HORAS	21	8	5.5	34.5	34.5
COSTO DEL MATERIAL	\$5560.34	\$4933.79	\$1601	\$12095.13	\$1209.51
COSTO POR HORAS LABORALES	\$1081.71	\$412.08	\$283.31	\$1777.10	\$1777.10
TOTAL	\$6642.05	\$5345.87	\$1884.31	\$13872.22	
INDIVIDUALES				\$1387.22	\$2986.61
	DIAFANIZACIÓN (G. CONTROL)	DESHIDRATACIÓN PARA ENCAPSULADO (G. CONTROL)	ENCAPSULADO (G. CONTROL)	PARA 10 ENCAPSULADOS DE RATÓN	PARA UN ENCAPSULADO DE RATÓN
TIEMPO EN DÍAS	27	12	3	42	42
TIEMPO EN HORAS	27	12	5.5	44.5	44.5
COSTO DEL MATERIAL	\$9315.8425	\$7674.29	\$1601	\$18591.13	\$1859.11
COSTO POR HORAS LABORALES	\$1390.77	\$618.12	\$283.31	\$2292.20	\$2292.20
TOTAL	\$10706.61	\$8292.41	\$1884.31	\$20883.32	
INDIVIDUALES				\$2088.33	\$4151.31

Presupuesto estimado para el encapsulado de 20 ratones y costo individual, el tiempo de diafanización, tiempo de la deshidratación del proceso de encapsulado y encapsulado para ambas vías propuestas. Los costos individuales se resaltan en color verde y en amarillo el costo total de los 20 encapsulados.

5.1.3 Cuestionarios de opinión

Los cuestionarios aplicados a los estudiantes de la carrera de biología donde se evalúa la calidad del encapsulado de los ratones (Figura 5) el 87% calificó la preparación como muy buena, de forma general la consideraron de buena calidad ya que un 81% considera que se pueden observar elementos esqueléticos de forma clara, el 81% afirma que tienen buena opacidad, además consideran que éste tipo de preparación tiene una muy buena durabilidad. Por otra parte un 100% de los alumnos lo consideraron útil como material de enseñanza-aprendizaje, y un 86% lo considera útil como material científico.

El 41% de los alumnos mencionaron que pueden observar diferencias entre las preparaciones (figura 5G), se preguntó que observaban de diferencia, en la mayoría de los casos se referían a la posición anatómica, la cual naturalmente varía por el acomodo del espécimen al momento del montaje, también se menciona que visualizan una ligera diferencia en la opacidad de las preparaciones, sin embargo,

las pruebas con el luxómetro dan evidencia a favor de que no existen diferencias significativas en la opacidad de las muestras.

Por otra parte a un 99% de los estudiantes les interesa adquirir el conocimiento para elaborar las preparaciones y el 100% pagarían por adquirir un organismo preservado como el que se les presentó, y le asignaron un precio promedio de 595.37 pesos, un valor bajo si lo comparas con los costos individuales obtenidos.

Con base a los datos vaciados en la hoja Excel y el análisis de frecuencias realizado, se obtuvieron las siguientes gráficas.

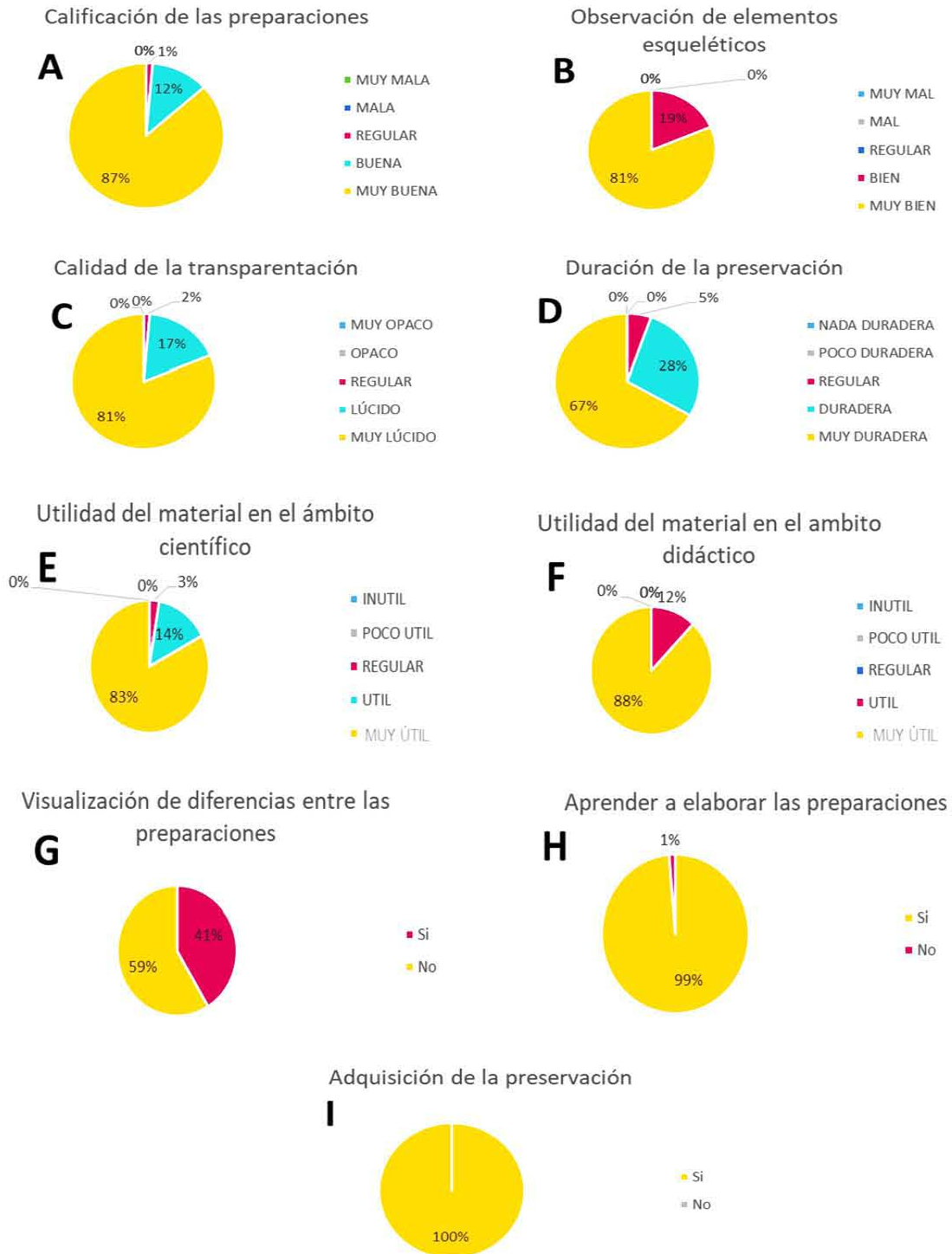


Figura 5. Gráficas de los datos cualitativos para *Mus musculus* obtenidas a partir del test aplicado a los alumnos de la carrera de biología.

5.2 Resultados para *Gallus gallus domesticus*

Se obtuvieron de forma exitosa 20 encapsulados de *Gallus gallus domesticus* con la técnica estandarizada (figura 6) en diferentes posiciones anatómicas.



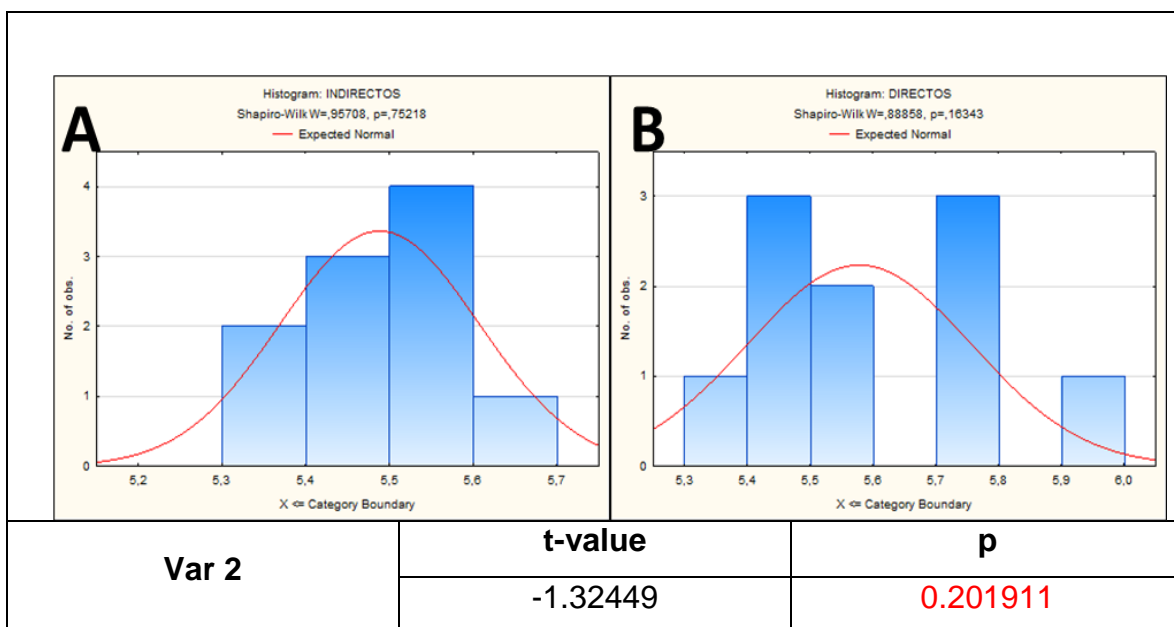
Figura 6. Fotos de los veinte pollos encapsulados. A) Los 10 pollos encapsulados del grupo experimental, B) Vista dorsal, ventral, lateral derecha y lateral izquierda en que se colocaron, se observan los diferentes elementos esqueléticos, C) pollo del grupo experimental con el montaje en marco de madera y etiquetado, D) los 10 pollos encapsulados del grupo control, E) vista lateral derecha, lateral izquierda, dorsal y ventral en la que se colocaron, se observan los diferentes elementos esqueléticos, F) pollo del grupo control encapsulado con montaje del marco de madera y etiquetado. Este último en el etiquetado tiene una pequeña marca roja para identificar la preparación.

5.2.1 Análisis de opacidad

Para las pruebas realizadas con el luxómetro y la fuente de luz led que se aplicó, la prueba de Shapiro-Willis determino que existe una distribución normal, por lo tanto se corrió la prueba “t” para muestras independientes (tabla 5), encontrándose una $p = .0201911 > 0.05000$ por lo tanto no existen diferencias significativas entre las muestras con respecto a su opacidad.

Tabla 5

Prueba de opacidad de los encapsulados de Gallus gallus domesticus



Datos obtenidos por la prueba de “t”, en color rojo se resalta la p obtenida en la prueba. En la parte superior se observan las gráficas obtenidas en la prueba de Shapiro-Wills.

5.2.2 Análisis de costos

Con base al costo individual de los materiales obtenidos en mayo del 2018, se calculó el gasto total empleado en el proceso de transparentación y encapsulado de 20 pollitos, (Tabla 6 y7). Se calculó el precio individual en cuestión de material para cada pollo que fue de 3799.07 pesos y por otro lado se calculó el tiempo laboral empleado en el proceso (Tabla 8).

El costo del tiempo laboral del encapsulado de pollitos se muestra en la tabla 8, detallando los días que se emplearon para cada procedimiento. Esto se evaluó con

el mismo criterio aplicado en los encapsulados de ratón, teniendo en cuenta que el sueldo por hora laboral de un biólogo es de 51.51 pesos.

El costo para realizar el encapsulado sin tomar en cuenta el proceso de diafanización sería alrededor de 334.82 pesos, considerando seis horas y media de trabajo.

Si se toma en cuenta el proceso de diafanización aplicado al grupo control (48 días / 50.5 horas), el costo por horas laborales sería de 2292.20 pesos. En el caso de que se desee conservar directamente en un encapsulado considerando el tiempo empleado en el grupo experimental (38 días/40.5 horas), con las mismas consideraciones para el grupo control, tendría un costo de 2086.16 pesos.

La suma del costo de materiales y más las horas laborales nos da en el grupo control un presupuesto total de 40591.96 pesos por los diez encapsulados, y un costo individual de 4059.20 pesos en el caso que los pollitos fueran llevados al proceso de forma conjunta y evaluando su costo al final del proceso, sin embargo, si se desea hacer este proceso de forma individual el costo aumenta a 6400.33 pesos, debido a que el tiempo empleado es el mismo para un pollo que para diez. Pero si hablamos del costo de los encapsulados del grupo experimental, los costos se reducen a 27084.86 pesos para 20 pollos, 2708.49 pesos para un pollo obtenido de un lote de diez pollos y 4586.03 pesos para un encapsulado de pollo elaborado de forma individual. En ambos casos el costo se eleva aproximadamente en un 50% si el pollito se elabora de forma individual.

Tabla 6

Presupuesto del material utilizado en el grupo control de Gallus gallus domesticus

MÉTODO APLICADO AL GRUPO CONTROL PARA EL PROCESO DE ENCAPSULADO PARA POLLOS						
	MATERIAL	CANTIDAD	COSTO	CANTIDAD UTILIZADA	TOTAL	TOTAL POR PROCEDIMIENTO
DIAFANIZACIÓN	Pollos	1	\$20	10	\$200.00	\$18729.65
	Formol	500ml	\$1187.84	200ml	\$475.14	
	Alcohol para la diafanización	1000ml	\$2808.36	3700ml	\$10390.93	
	Azul de alciano	10g	\$3557	0.05g	\$17.79	
	Rojo de alizarina	5g	\$1600	0.05g	\$16.00	
	NaOH	1000g	\$1980	60g	\$118.80	
	Glicerina para diafanización	1000ml	\$2030	3700ml	\$7511.00	
PREPARACIÓN PARA ENCAPSULADO	Glicerina para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2030	2700ml	\$5481.00	\$15348.57
	Alcohol para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2808.36	2700ml	\$7582.57	
	Acetona para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2285	1000ml	\$2285.00	
	Resina poliéster	1000g	\$85	4000g	\$340.00	\$3912.48
ENCAPSULADO	Catalizador	20ml	\$14	20ml	\$14.00	
	Acetona para encapsular	1000ml	\$2285	1335ml	\$3050.48	
	Tereftalato de polietileno	1000g	\$100	1000g	\$100.00	
	Moldes de vidrio	1	\$20	10	\$200.00	
	Película separadora	900ml	\$36	200ml	\$8.00	
	Moldes de madera 9 x 14	1	\$20	10	\$200.00	
	TOTAL				\$37990.70	
INDIVIDUAL				\$3799.07		

Costo de los materiales empleados en el proceso de encapsulado para 10 pollitos por el proceso indirecto en enero del 2019, destacando con diferentes colores las etapas llevadas a cabo para el proceso, en el color amarillo el gasto total empleado en los materiales para los 20 encapsulados, y el costo de los materiales de forma individual de cada encapsulado.

Tabla 7

Presupuesto del material utilizado en el grupo experimental de Gallus gallus domesticus

MÉTODO APLICADO AL GRUPO EXPERIMENTAL PARA EL PROCESO DE ENCAPSULADO PARA POLLOS						
	MATERIAL	CANTIDAD	COSTO	CANTIDAD UTILIZADA	TOTAL	TOTAL POR PROCEDIMIENTO
DIAFANIZACIÓN	Pollos	1	\$20	10	\$200.00	\$11218.65
	Formol	500ml	\$1187.84	200ml	\$475.14	
	Alcohol para la diafanización	1000ml	\$2808.36	3700ml	\$10390.93	
	Azul de alciano	10g	\$3557	0.05g	\$17.79	
	Rojo de alizarina	5g	\$1600	0.05g	\$16.00	
	NaOH	1000g	\$1980	60g	\$118.80	
PREPARACIÓN PARA ENCAPSULADO	Alcohol para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2808.36	2700ml	\$7582.57	\$9867.57
	Acetona para la preparación del encapsulado	1000ml	\$2285	1000ml	\$2285.00	
ENCAPSULADO	Resina poliéster	1000g	\$85	4000g	\$340.00	\$3912.48
	Catalizador	20ml	\$14	20ml	\$14.00	
	Acetona para encapsular	1000ml	\$2285	1335ml	\$3050.48	
	Tereftalato de polietileno	1000g	\$100	1000g	\$100.00	
	Moldes de vidrio	1	\$20	10	\$200.00	
	Película separadora	900ml	\$36	200ml	\$8.00	
	Moldes de madera 9 x 14	1	\$20	10	\$200.00	
	TOTAL				\$24998.70	
	INDIVIDUAL				\$2499.87	

Costo de los materiales empleados en el proceso de encapsulado para 10 pollitos por el proceso directo en enero del 2019, destacando con diferentes colores las etapas llevadas a cabo para el proceso, en el color amarillo el gasto total empleado en los materiales para los 20 encapsulados, y el costo de los materiales de forma individual de cada encapsulado.

Tabla 8

Presupuestos totales aplicados a ambas técnicas para Gallus gallus domesticus

	DIAFANIZACIÓN (G. EXPERIMENTAL)	PREPARACIÓN DEL ENCAPSULADO (G. EXPERIMENTAL)	ENCAPSULADO (G. EXPERIMENTAL)	EMPLEADO PARA 10 ENCAPSULADOS DE POLLO	EMPLEADO PARA UN ENCAPSULADO DE POLLO
TIEMPO EN DÍAS	26	8	4	38	38
TIEMPO EN HORAS	26	8	6.5	40.5	40.5
COSTO DEL MATERIAL	\$11218.65	\$9867.572	\$3912.475	\$24998.70	\$2499.87
COSTO POR HORAS LABORALES	\$1339.26	\$412.08	\$334.82	\$2086.16	\$2086.16
TOTAL	\$12557.91	\$10279.65	\$4247.29	\$27084.86	
INDIVIDUALES				\$2708.49	\$4586.03
	DIAFANIZACIÓN (G. CONTROL)	PREPARACIÓN DEL ENCAPSULADO (G. CONTROL)	ENCAPSULADO (G. CONTROL)	EMPLEADO PARA 10 ENCAPSULADOS DE POLLO	EMPLEADO PARA UN ENCAPSULADO DE POLLO
TIEMPO EN DÍAS	32	12	4	48	48
TIEMPO EN HORAS	32	12	6.5	50.5	50.5
COSTO DEL MATERIAL	\$18729.65	\$15348.572	\$3912.48	\$37990.7	\$3799.07
COSTO POR HORAS LABORALES	\$1648.32	\$618.12	\$334.82	\$2601.26	\$2601.26
TOTAL	\$20377.97	\$15966.69	\$4247.29	\$40591.96	
INDIVIDUALES				\$4059.20	\$6400.33

Presupuesto estimado para el encapsulado de 20 pollitos y costo individual, el tiempo de diafanización, tiempo de deshidratación del proceso de encapsulado y encapsulado para ambas vías propuestas. Los costos individuales se resaltan en color verde y en amarillo el costo total de los 20 encapsulados.

5.2.3 Cuestionario de opinión

Los cuestionarios aplicados a los estudiantes de la carrera de biología donde se evalúa la calidad del encapsulado de los pollos (Figura 7) el 72% de calificó la preparación como muy buena, de forma general la consideraron de buena calidad ya que un 80% considera que se pueden observar elementos esqueléticos de forma clara, el 60% afirma que tienen buena opacidad, además consideran que éste tipo de preparación tiene una muy buena durabilidad. Por otra parte un 80% de los alumnos lo consideraron útil como material para la enseñanza-aprendizaje, aunque un 26% no lo considera útil como material científico.

El 90% de los alumnos mencionaron que pueden observar diferencias entre las preparaciones (figura 7G), se preguntó que observaban de diferencia, en la mayoría de los casos se referían a la posición anatómica, la cual naturalmente varía por el acomodo del espécimen al momento del montaje, así como una opacidad en el tejido del organismo que se preparó por la técnica aplicada al grupo control, lo cual provoca una intensidad de color menor en las tinciones, y también se menciona que visualizan una ligera diferencia en la opacidad de las preparaciones sin

embargo, los resultados arrojados con la prueba del luxómetro demuestra que no hay diferencias significativas en la opacidad de las muestras.

Por otra parte a un 100% de los estudiantes les interesa adquirir el conocimiento para elaborar las preparaciones y el 90% pagarían por adquirir un organismo preservado como el que se les presentó, y le asignaron un precio promedio de 1289.80 pesos, un valor bajo si lo comparamos con los costos individuales obtenidos.

Con base a los datos vaciados en la hoja Excel y el análisis de frecuencias realizado, se obtuvieron las siguientes gráficas.

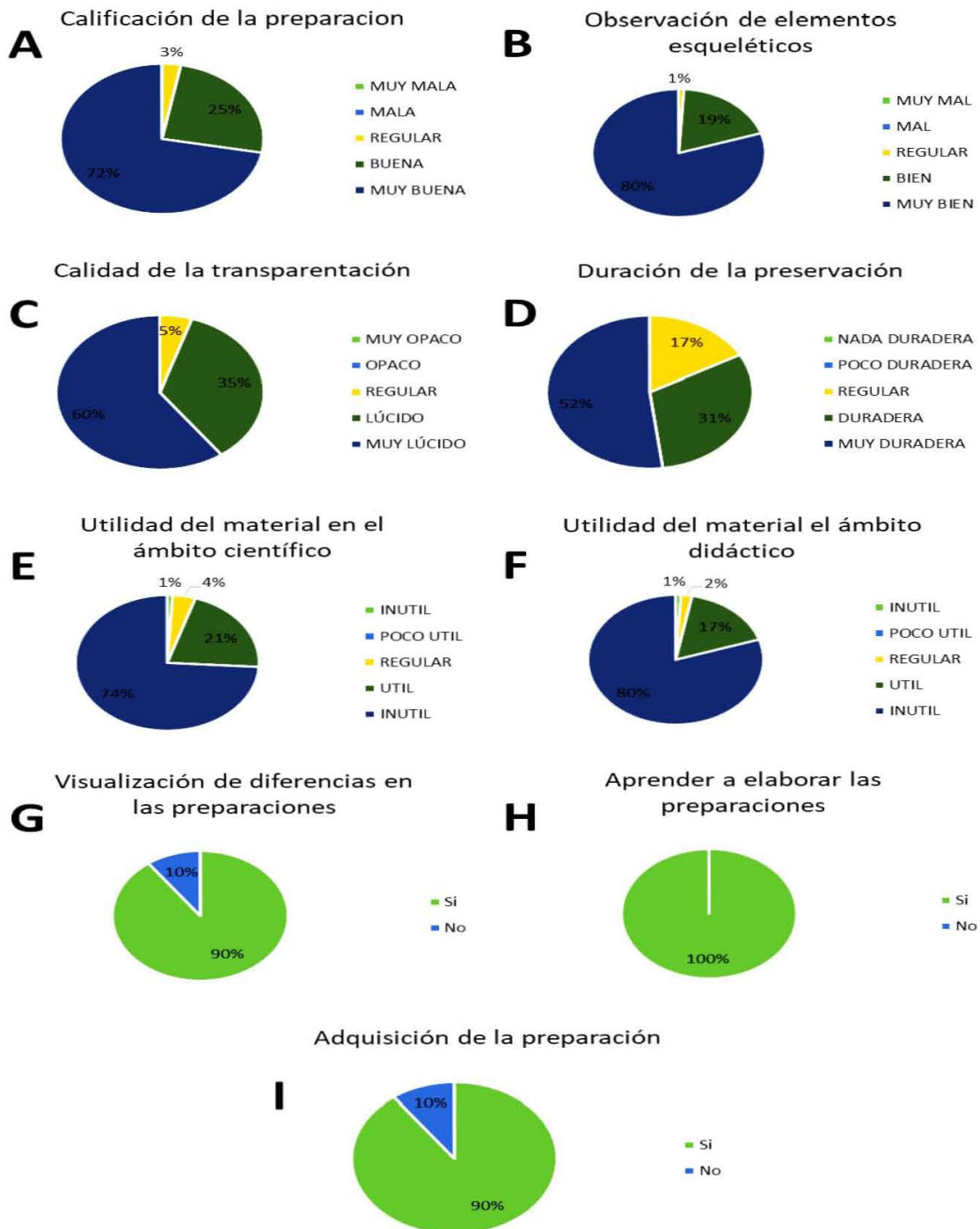


Figura 7. Gráficas de los datos cualitativos para *Gallus gallus domesticus* obtenidas a partir del test aplicado a los alumnos de la carrera de biología.

6. DISCUSIÓN

Previamente al desarrollo final de la técnica se realizaron pruebas piloto para afinar la técnica empleada (Figura 8 y 11) en la cual se variaron, la cantidad de catalizador para no quemar el espécimen, se comenzó con una cantidad de (2 gotas de catalizador/ 10ml de resina) lo cual no fue óptimo, ya que el pez utilizado para la prueba al que se le aplicó esta proporción de catalizador-resina se quemó, además no se colocó una cubierta de tereftalato de polietileno ni una capa de antiadherente en las cara internas del molde de polietileno empleado (indicado por los proveedores para un desmolde fácil) no obteniéndose una superficie lisa, a pesar de que el desmolde no fue complicado, (Figura 9A). Sin embargo en pruebas posteriores se llevó a cabo el uso de otro material, una película de plástico fuerte, resistente y transparente hecho de tereftalato de polietileno (PET), debido a sus características físicas, químicas, eléctricas térmicas y ópticas particulares, es muy flexible respecto a los usos que pueden dársele, ya que puede utilizarse como barrera eléctrica, térmica y física, puede conservar buenas propiedades físicas en un amplio rango de temperatura (-70 a 150°C) (DuPont Teijin Films , sin año), el uso que se le da normalmente a esta capa, aunado a las diferentes resinas, es para cubrir éste tipo de materiales para que no se llenen de polvo, o darle un acabado liso y nivelado a superficies que fueron tratadas con barnices poliéster, debido a la estabilidad, maleabilidad térmica y accesibilidad que tiene, se empleó en las pruebas para establecer la técnica de encapsulado, ya que Kerns (1953) propone utilizar una cubierta plástica delgada permite un acabado liso en los encapsulados que no necesite el pulido.

La película de tereftalato de polietileno se utilizó como cubierta lisa para la capa superior, inicialmente para observar si se podía obtener un acabado liso como lo reporta Kerns (1853), el resultado obtenido fue un acabado completamente liso en la cara donde se colocó, además se le aplicó una capa ligera de película separadora (Figura 8B, 8B y 8C) para facilitar el desmolde y comprobar si ésta película podrá proporcionar un acabado liso, el resultado de éste último paso en el piloto no proporcionó el efecto deseado pudiéndose desmoldar más fácilmente, el acabado

de la base y los laterales no fue la deseada, se realizó una modificación más en la técnica aplicando la película separadora en las caras internas del molde, así como en el fondo del molde, la película separadora se utilizó para adherir la película de tereftalato de polietileno en el fondo y la resina, no se infiltrarse por debajo del papel, además se aplanó la película con una plancha casera entre dos telas delgadas, debido a la presentación de cómo es distribuida, en una lámina enrollada, otro papel se aplicó en la parte superior del molde (figura 8C), con este procedimiento se obtuvo un encapsulado de pez (Figura 9D) con dos caras (superior e inferior) completamente lisas, aunque las laterales no lo eran. Al final se decidió un acabado colocando el encapsulado dentro de un marco de madera que permita la visualización de las dos caras principales, por lo cual el detalle de las caras laterales no es visible en el montaje final.

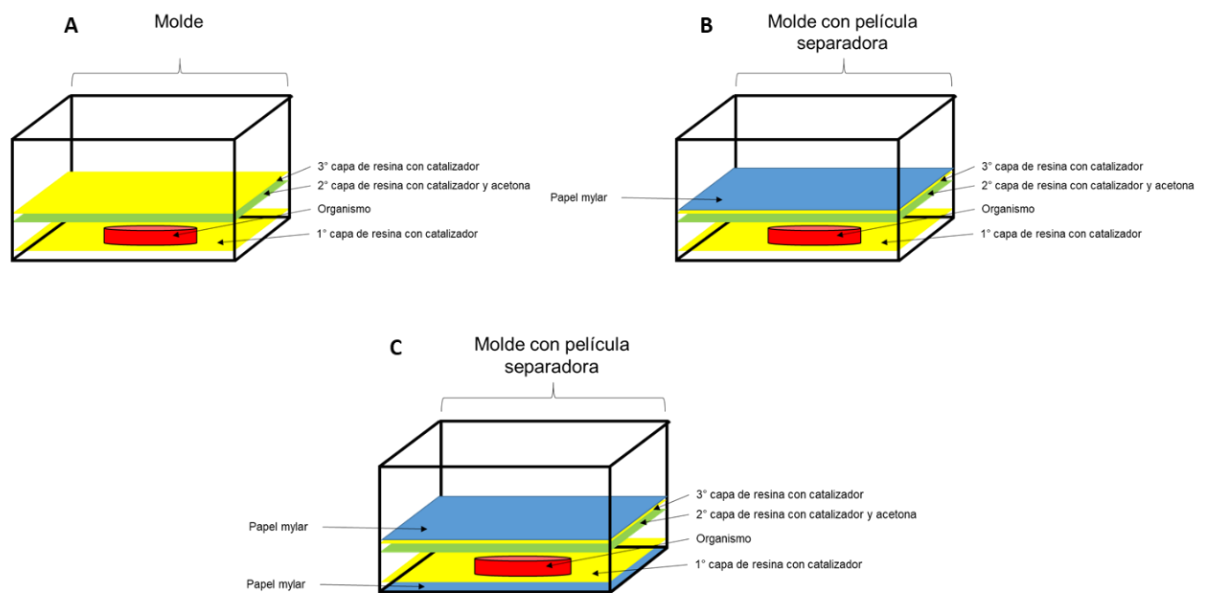


Figura 8. Esquemas de las diferentes aplicaciones de las diferentes capas para el encapsulado para establecer la técnica.

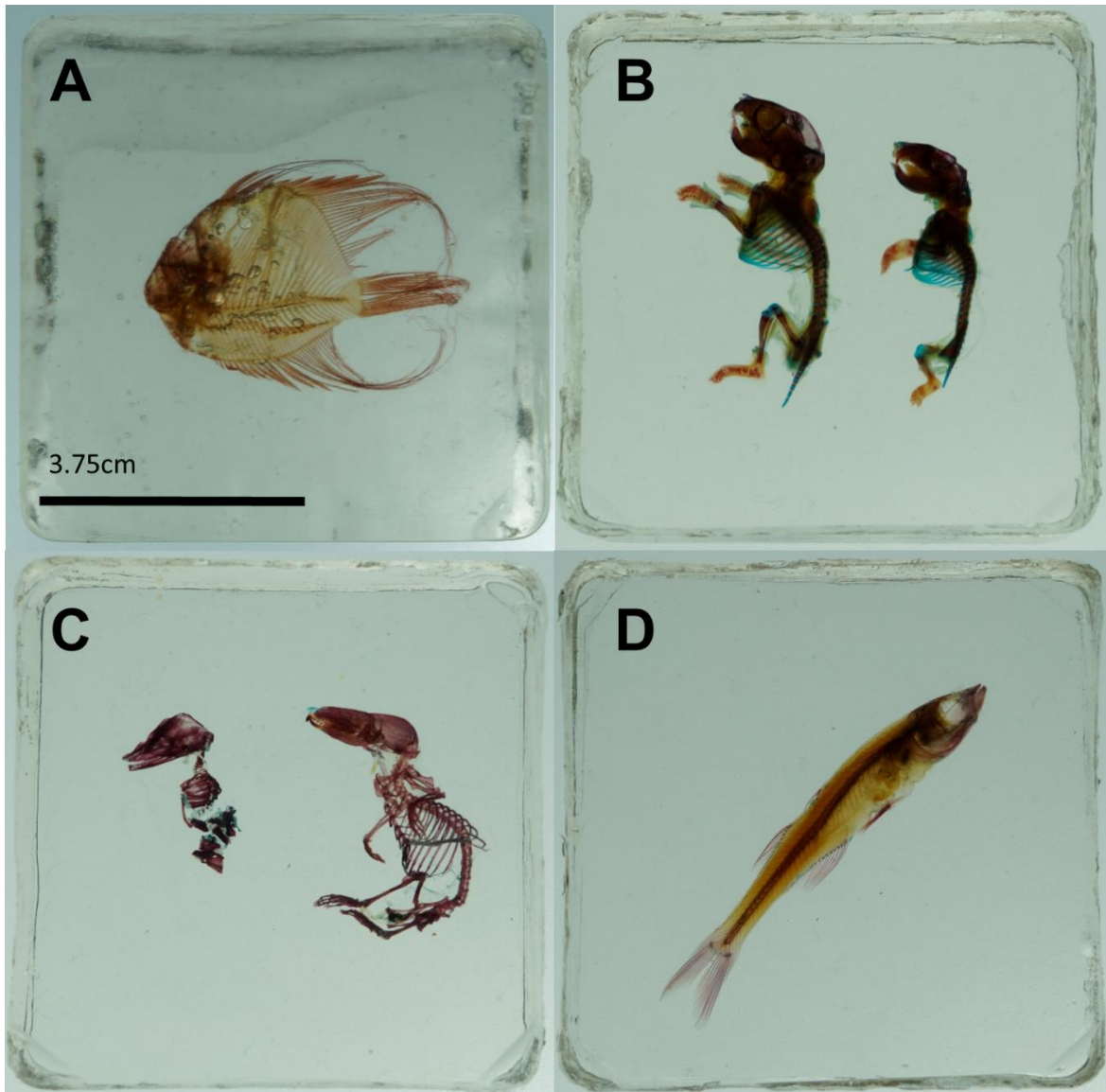


Figura 9. Encapsulados de los pilotos realizados para establecer la técnica de encapsulado con resina poliéster, A) pez que se realizó sin cubierta de tereftalato de polietileno y con más catalizador del empleado en la técnica estandarizada (2 gotas/ 10ml), B) y C) hámster, musaraña y armadillo con cubierta de tereftalato de polietileno superficial y capa antiadherente en las caras internas del molde, D) pez con antiadherente y película de tereftalato de polietileno en la cara superior e inferior. Los organismos de los incisos B, C y D se realizaron con la medida de catalizador establecida para la técnica.

La película de tereftalato de polietileno otorgó algunas ventajas a la técnica de encapsulado, la principal el evitar el proceso de lijado y pulido que comúnmente se reporta (Kerns, 1953; Hocking, 1953; Ralph & Hoverd, 1968; Larsson, 1975; Mawhinney & Ellis, 1983; Chappard et al., 1983; Chappard et al., 1985) el cual implica un mayor gasto de tiempo y dinero, ya que este lijado y pulido necesita

diferentes grosores de lija y pastas de pulido para llevarlo a cabo (Tabla 9), lo cual implica un gasto mínimo de 81.21 pesos, costo que puede aumentar dependiendo del espécimen, si es más grande requiere un mayor número de lijas y pastas para pulir; además si se lleva a cabo de forma manual, el tiempo puede extenderse hasta por varios días dependiendo del tamaño e imperfecciones del encapsulado, que a su vez implica un aumento en la cantidad de horas laborales, por otra parte el método propuesto evita el uso de estos materiales y por tanto el incremento del costo (Grimsrud & Dugstad, 1975; Lataster & Drukker, 1986), otra ventaja que proporcionó el uso de la película de tereftalato de polietileno, fue el poder remover imperfecciones en el encapsulado (siempre y cuando éste aún se mantuviera fresco después del curado a temperatura ambiente aproximadamente entre 21-26°C), se presentaron casos donde la resina no quedaba uniformemente distribuida en la parte inferior o superior del encapsulado, en el fondo del encapsulado se lograba infiltrar resina por debajo de la película de tereftalato de polietileno (Figura 10A y B) lo cual fácilmente se resolvió extrayendo el encapsulado fresco aún y retirando la película de tereftalato de polietileno cuidadosamente dejando de nuevo la superficie lisa (Figura 10C y D), lo cual permitió continuar con el encapsulado evitando la etapa de lijado.

Tabla 9

Materiales y costos aplicados en el proceso de pulido

MATERIAL	CANTIDAD	COSTO
Lija de agua 180	1 hoja	\$10
Lija de agua 400	1 hoja	\$10
Lija de agua 600	1 hoja	\$10
Pasta rosa	1/4kg	\$20.34
Pasta blanca	1/4kg	\$18.87
Franela	1	\$12
Total		\$81.21

Costo de los materiales utilizados en un proceso de pulido común.

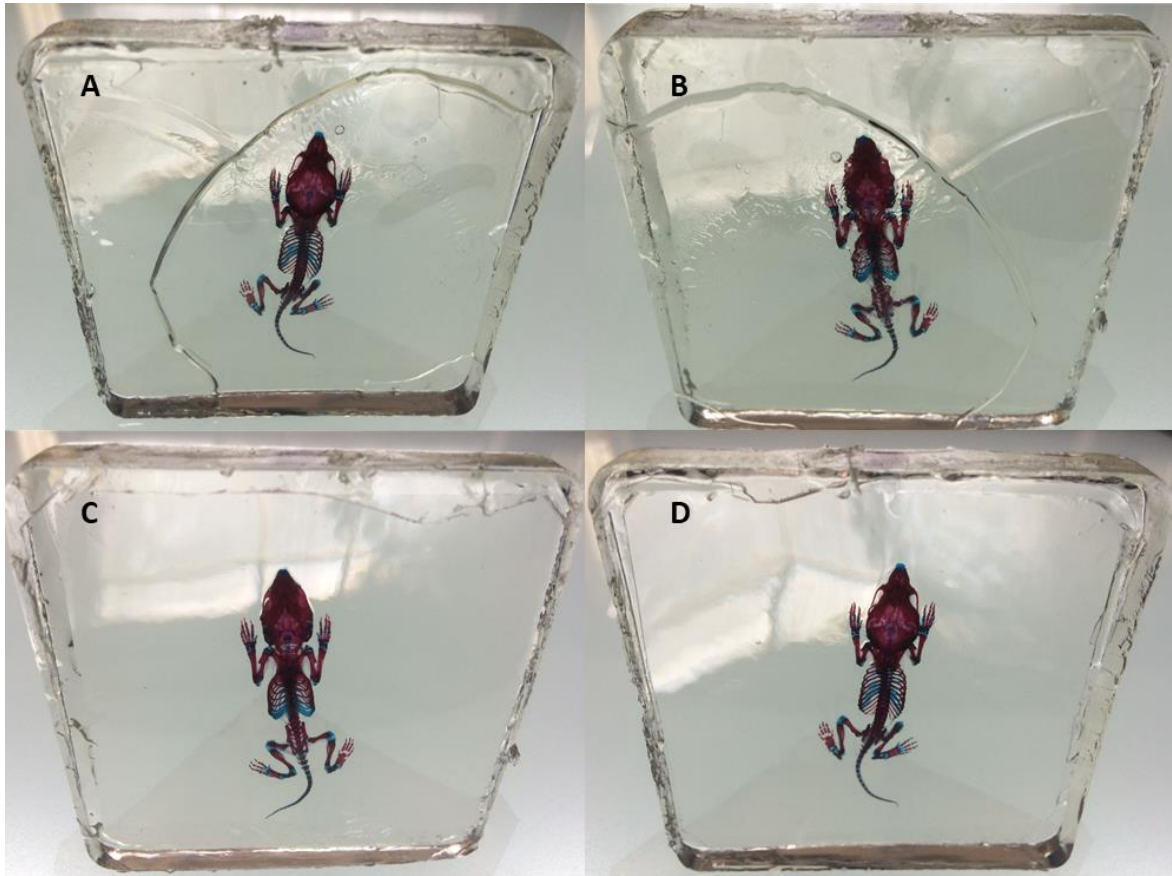


Figura 10. En A y B pueden observarse una vista ventral y una dorsal de un encapsulado que no tuvo un acabado liso por alguna falla en el proceso de encapsulado, en C y D puede apreciarse la corrección de este error por la película de tereftalato empleada en la técnica.

El encapsulado con resina poliéster de uso industrial aplicado a los 20 ratones mostró tener buenos atributos ya que son traslucidos, con buen acabado y no hay una deformación del material biológico como fue reportado por Bloot et al. (1984), quienes señalan que algunos encapsulados con resinas epóxicas que son polimerizadas con calor pueden provocar contracción del material, además según la encuesta de los alumnos calificaron la preparación en un rango de regular a muy bueno esta característica, la mayoría (87%), apoyando el último atributo mencionado. Dentro de los comentarios de los encuestados nunca se menciona una deficiencia en el pulido del encapsulado o su presentación, los comentarios y observaciones se enfocaron a la opacidad de las muestras, ya que un 41% consideran que existen diferencias entre las preparaciones en éste atributo, pero la prueba realizada con el luxómetro y la fuente de luz y el grosor de las preparaciones

(éste último factor puede influir en la opacidad de la preparación) muestran que no hay diferencias significativas entre las muestras.

Sin embargo, en cuanto a los 20 encapsulados elaborados con pollitos, se observó que aunque son traslucidos, con un buen acabado y que no se presentan deformaciones visibles en los organismos, estos fueron en menor proporción calificados como muy buenos (72%), así mismo el 90% señalan encontrar diferencias entre las preparaciones, mencionando que las diferencias se observan en la opacidad de la preparación, esto se testó con la prueba del luxómetro y la fuente de luz, lo cual indicó que no había diferencia estadísticamente significativa entre las preparaciones. También señalaron que en el organismo del grupo control, existe una opacidad en el tejido observándose menos fuerte la tinción provocando una diferencia de la calidad entre el grupo experimental y el control, lo cual explica la disminución del porcentaje de los encuestados que aprueba las preparaciones como muy buenas para el grupo control, ya que la calidad tinción no se señaló (Figura 11).

Lo anterior podría deberse a que los pollos en comparación de las crías de ratón, tienen una mayor cantidad de tejido por el tamaño y la musculatura que presentan, y se puede especular que es posible que al momento de llevar a cabo la deshidratación previa al encapsulado, ésta no se haya logrado completamente quedando residuos de glicerina, ya que la resina al entrar en contacto con la humedad aun contenida en el tejido, el tejido se tornara de un color opaco debido a la reacción que tiene la resina con el agua como algunos autores lo reportan (Deonarine et al., 1972; Kerns, 1953; Wolfe, 1965; Mawhinney y Ellis, 1983).



Figura 11. A) Pollo encapsulado del grupo experimental, B) pollo encapsulado del grupo control.

Por ello se realizó una última prueba con la caballa, un pez de la especie *Selene vomer* de la colección del laboratorio de Anatomía Animal Comparada que fue preparado hace 10 años, de una talla mayor que los pollitos y un mayor tiempo de conservación en glicerina. Este se sometió al proceso de deshidratación, después se sumergió en acetona y a continuación se trasladó a un recipiente con una mezcla de $\frac{3}{4}$ partes de resina por $\frac{1}{4}$ de acetona, para su impregnación por difusión pasiva de resina, desplazando la acetona de los espacios intra y extracelulares (Hernández, 2006), todo el proceso fue a temperatura ambiente y sin permitir la luz solar directa, hasta que este se observó completamente transparente el espécimen. Posteriormente se inició el proceso de encapsulado, teniendo como resultado un *Selene vomer* encapsulado completamente transparente (Figura 12), esto probablemente sea una solución para cuando el espécimen sea de mayor tamaño y/o posea una mayor cantidad de tejido el cual podría opacar la preparación.



Figura 12. Caballa (*Selene vomer*) al que se le aplicó la técnica de encapsulado del grupo experimental modificada al agregar una difusión pasiva de resina posterior a la deshidratación.

Realizar el encapsulado con resina poliéster de uso industrial de organismos transparentados es relativamente barato, tomando en cuenta sólo el dinero invertido desde el proceso de deshidratación hasta el encapsulado con el acabado de marco de madera oscila entre los 6534.79 hasta 19261.05 pesos para diez organismos, dependiendo del tamaño y el método aplicado, (tablas 4 y 8) lo que da un costo individual de 653.48 a 1926.10 pesos por encapsulado, no tomando en cuenta el gasto de material de diafanización, gran peso del costo del encapsulado recae en la acetona y la resina, en el caso de este trabajo se empleó resina de uso industrial

que también es producto nacional, ésta tiene un costo de 85 pesos por Kg, la cual es económica a comparación de otros productos similares de procedencia extranjera, como la resina poliéster de marca Aristocrat usada para encapsular material biológico, tiene un costo de 20 dólares (380.69 pesos por 0.47 litros), otra marca es Composite envisions con un costo de 22.99 dólares por galón (437.60 pesos por 3.79 litros), y la marca CLEAR tiene un costo de 34.63 dólares por 32 onzas (659.16 pesos por 0.95 litros) en enero del 2019, los cuales tienen costos muy elevados para poco producto, además el método propuesto permite ahorrar el gasto implicado en el proceso de lijado y pulido que mencionan otros autores.

Por otra parte, el costo en términos de horas laborales de un encapsulado de cría de ratón o pollito oscila entre \$1777.10 a \$2601.26 (Tablas 4 y 8) dependiendo del organismo y el método que se realice, si tomamos en cuenta los procesos de la técnica aplicada al grupo control tanto de los ratones como los pollitos, por horas laborales más el material utilizado, el costo total va de \$2088.33 a \$4059.20 pesos para 10 ratones o 10 pollitos que se procesen de forma simultánea, ya que al final tanto el costo del material, como las horas laborales se dividen entre los 10 organismos, sin embargo, si se tuviese que elaborar un solo organismo, a pesar de que el costo en material se reduce, el presupuesto en horas laborales se mantiene ya que el tiempo de elaboración para diez es el mismo lo que para uno solo, como se observa en las tablas 4 y 8, si estos se realizan de forma individual aumentaría el costo a \$4151.31 y \$6400.33 respectivamente para un ratón y un pollito.

Comparando estos costos los de Carolina Biological Supply Company (Carolina, sin año) que es un proveedor líder de materiales de enseñanza de ciencias biológicas y de la salud, tienen a la venta esqueletos limpiados, articulados y encapsulados y algunos con una tinción con rojo de alizarina conservados y montados en un frasco con glicerina, los costos estimados están por debajo de los cotizados en Carolina, el costo más parecido al de este proveedor es un esqueleto de murciélago (limpiado y desengrasado) encapsulado con un costo de 275 dólares (5234.47 pesos) o un ratón adulto diafanizado con una tinción simple conservado en glicerina con un costo de 58 dólares (1104.00 pesos) en enero del 2019 (Carolina, sin año) lo cual es el

doble del costo del encapsulado de ratón del grupo control, por lo tanto la técnica propuesta se mantiene por debajo de los costos de Carolina, ya que los costos son bastante elevados a pesar del tipo de producción en masa que tienen. Hay que hacer notar que no se agregaron los impuestos de importación ni el envío.

Este método de preservación de organismos transparentados con doble tinción es una buena opción de almacenamiento y conservación del material biológico a comparación del almacenamiento convencional en glicerina como lo reporta Peker et al. (2003) ya que se puede tener una gran cantidad de ejemplares almacenados en poco espacio, el mantenimiento es barato y simple, así como la exhibición y visualización de los mismos, además de que son valorados por diversos autores en el ámbito didáctico (Kampmeier & Haviland, 1948; Kampmeier et al., 1950; Kampmeier & Hospudar 1951; Larsson, 1975; Grimsrud & Dugstad, 1975; Lataster & Drukker, 1986; Iordanskii et al., 1994; Peker et al., 2003) y por los estudiantes de la carrera de biología en su valor didáctico y científico; además Chappard y sus colaboradores (1985) aseguran que el encapsulado se puede aplicar fácilmente a estudios comparativos y patológicos en anatomía, morfogénesis ósea y zoología. También podría ser útil para los investigadores que quieran preservar especímenes de museo que se han almacenado durante mucho tiempo.

Como propuesta para aumentar el valor científico de los especímenes se debería tener cuidado en el volumen requerido por los organismos antes de ser encapsulados, darles un acomodo con una posición anatómica adecuada y agregar pequeñas acotaciones importantes sobre su morfología, para no perder esta valiosa información que podría dejarse de lado al momento de incluirlo en resina, para que el material siga aprovechándose en estudios posteriores.

Se espera que el bajo costo en tiempo y dinero pueda promover la implementación de esta técnica que no se aplica como un procedimiento estándar.

7. CONCLUSIONES

Se estandarizó y evaluó exitosamente una técnica de encapsulado con resina poliéster para organismos vertebrados transparentados de diferentes tamaños.

La aplicación de la película de tereftalato de polietileno reduce el tiempo, dinero y esfuerzo empleado en dicha técnica.

La preservación previa del organismo en glicerina no afecta el encapsulado con resina poliéster de uso industrial cuando este es de tamaño pequeño y con poco tejido.

La preservación previa del organismo en glicerina afecta el encapsulado con resina poliéster de uso industrial cuando este es de mayor en tamaño y con más cantidad de tejido.

El efecto de la preservación en resina sobre los organismos de mayor tamaño, se contrarresta con una difusión pasiva más duradera de la resina después de la deshidratación.

Se pudo demostrar que no es necesaria la diafanización con glicerina para poder encapsular exitosamente especímenes transparentados, lo cual podría llegar a ser una buena estrategia para el trabajo didáctico y/o de museografía.

8. BIBLIOGRAFÍA

Bickley H.C., Hagens G.V., & Townsend F.M. (1981) Improved method for the preservation of teaching specimens. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 105: 674 /676.

Bloot J., Boekelaar A.B., & Baljet B. (1984) A simple acetylcholinesterase method for staining in to the nervous system in rat fetuses and a procedure for embedding stained fetuses in transparent epoxy resin. *Stain Technol.* 59: 246 /249.

Boardman J.P., Mitala J.J., Carrano R.A., & Iulucci J.D. (1984). Cartilage staining technique for the examination of unskinned fetal rat specimens previously processed with alizarin red S. *Teratology* 30:383–384.

Carolina. (sin año) Recuperado de: <http://www.carolina.com>

Chappard, D., Alexandre, C., Camps, M., Montheard, J. P., & Riffat, G. (1983). Embedding iliac bone biopsies at low temperature using glycol and methyl methacrylates. *Stain technology*, 58(5), 299-308.

Chappard, D., Alexandre, C., Palle, S., & Riffat, G. (1985). Permanent preservation of whole alizarin red S skeletons by clearing and embedding in polyester resins. *Stain technology*, 61(3), 145-149.

Cristín A., & Perrilliat M. C. (2011) Colecciones científicas y protección del patrimonio paleontológico. *Boletín de la sociedad geológica mexicana*, 63(3), 421-427.

Dawson, A. B. (1926). Note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.* 1: 123-124.

Deonarine V., Potts D. G., Deck M. D. F., & Grossman C. B. (1972) Preparation of plastic mounted brain specimens. *Neuroradiology.* 4, 197—201.

Dever R. P., & Carrizosa A. (2010) Manual básico de montaje museográfico. *Museo Nacional de Colombia.* 1-38.

DuPont Teijin Films. (sin año) Mylar polyester film. Recuperado de: http://stenbacka.swg.kotisivustot.fi/wp-content/uploads/sites/3/2016/07/mylar_a_perustiето.pdf

Grimsrud O. K., & Dugstad G. (1975). A Simple Method for Embedding Anatomical Specimens. *Neuroradiology*. 10, 143-145.

Hernández M. O. (2006) Evaluación de la técnica de plastinación aplicada a la preservación de reptiles (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Hill, E. C. (1906). On the Schultze clearing method as used in the Anatomical Laboratory of the Johns Hopkins University. *Johns Hopkins Hosp. Bull.* 181: 111-115.

Hocking, B. (1953). Plastic Embedding of Insects—A Simplified Technique. *The Canadian Entomologist*, 85(1), 14-18.

Iordanskii A.L., Rudakova T.E. & Zaikov G.E. (1994) New concepts in polymer science-Interaction of polymers with bioactive and corrosive media, *VSP*. Utrecht. p. XI.

Kampmeier O. F., & Haviland T. N. (1948). On the mounting of anatomical museum specimens in transparent plastics. *Anat. Rec.*, 100: 201-231.

Kampmeier O. F., Haviland M. M., Struhliia & Hershey J. I. (1950) Plastics: Mounting of Biologic Specimens. *Medical Physics*, 11,719-728.

Kanpneier, O. F., & Hospodar E. W. (1951). Mounting of stained serial slices of the brain as wet specimens in transparent plastic. *Anat. Rec.* 110: 16.

Kerns, J. L. (1953). An improved technique of embedding specimens in transparent plastic. *The Anatomical record*. 117(3), 345-351.

Larsson S. (1975). A new method for the embedding of small animals and organs in plastic. *APMIS*, 83(1), 77-79.

Lataster, L. M. A., & Drukker, J. (1986). Embedding in plastic of early embryonic stages of the chicken for teaching purposes. *Journal of Audiovisual Media in Medicine*, 9(1), 17-21.

Mawhinney W. H., & Ellis H. A. (1983). A technique for plastic embedding of mineralized bone. *Journal of clinical pathology*. 36(10), 1197–1199.

Mengola E., Broccia M.L., & Giavini E. (2001). Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. *Teratology*. 64 (3): 125-133.

[Observatorio laboral, estadísticas de carreras profesionales por área, ingreso mensual promedio en ciencias biológicas]. (sin año). <https://www.observatoriolaboral.gob.mx/static/estudios-publicaciones/Biologia.html>

Peker T., Gülekon N., Anil A., Tugurt H. B., & Liman F. (2003). Clearing and embedding in polyester resin for demonstrating the nerve distribution pattern of skeletal muscles. *Biotechnic & Histochemistry*, 78(3-4), 187-190.

Ralph P. M., & Hoverd W.A. (1968). Plastic Embedding of Zoological Specimens. *Zoology Publications from Victoria University of Wellington*, 45, 1-8.

Sandoval D., Tellez J., García A., Rivera G., Moreno S., & Moreno F. (2016). Técnica de diafanización para describir el desarrollo embrionario del sistema óseo: revisión literaria. *UnivMed*. 57 (4): 488-501.

Secretaría de economía. (2015) ¿Qué es la estandarización?. Recuperado de: <https://www.gob.mx/se/articulos/que-es-la-estandarizacion>

Staples R., & Schnell V.L. (1964). Refinements in rapid clearing technique in the KOH-alizarin red S method for fetal bone. *Stain Technol* 39:61–63.

Stone J.F., Frothingham R.E., & Johnson R.A. (1964) Styrene as a clearing agent. *Stain Technol*. 39: 183.

Trueman D., Jackson S.W., & Trueman B. (1999). An automated technique for double staining rat and rabbit fetal skeletal specimens to differentiate bone and cartilage. *Biotech Histochem*. 74(2):98-104.

Vitaglino C. (sin año) El museo, la museografía y el desafío ante los diversos públicos. Recuperado de: www.museomaritimo.com

Williams, T. W. (1941). Alizarin red S and toluidine blue for differentiating adult and embryonic bone and cartilage. *Stain Technol*. 76: 23-25.

Wolfe K. B. (1965). Embedding specimens in clear, transparent plastic. *Amer. J. med. Techn*. 31, 291—294.

Whitaker J., & Dix K.M. (1979). Double staining technique for rat fetus skeletons in teratological studies. *LabAnim* 13:309–310.

ANEXOS

ANEXO 1

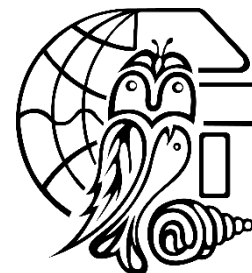
Ejemplo de las etiquetas utilizadas en el presente trabajo, la marca roja indica que se utilizó la técnica indirecta aplicada el grupo control.

	<p>Técnica: Encapsulado con resina poliéster de esqueleto con tinción mixta de azul de alciano y rojo de alizarina</p> <p>Nombre común: Pollo</p> <p>Nombre científico: <i>Gallus gallus domesticus</i></p> <p>Fecha: Agosto del 2018</p> <p>Elaborado por: Dannya Shari Pérez Bautista</p>
	<p>Técnica: Encapsulado con resina poliéster de esqueleto con tinción mixta de azul de alciano y rojo de alizarina</p> <p>Nombre común: Pollo</p> <p>Nombre científico: <i>Gallus gallus domesticus</i></p> <p>Fecha: Agosto del 2018</p> <p>Elaborado por: Dannya Shari Pérez Bautista</p>
	<p>Técnica: Encapsulado con resina poliéster de esqueleto con tinción mixta de azul de alciano y rojo de alizarina</p> <p>Nombre común: Ratón</p> <p>Nombre científico: <i>Mus musculus</i></p> <p>Fecha: Abril del 2018</p> <p>Elaborado por: Dannya Shari Pérez Bautista</p>
	<p>Técnica: Encapsulado con resina poliéster de esqueleto con tinción mixta de azul de alciano y rojo de alizarina</p> <p>Nombre común: Ratón</p> <p>Nombre científico: <i>Mus musculus</i></p> <p>Fecha: Abril del 2018</p> <p>Elaborado por: Dannya Shari Pérez Bautista</p>

ANEXO 2



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA



1.- ¿Cómo clasificarías las preparaciones?

Muy mala 1 2 3 4 5 Muy buena

2.- ¿Cómo consideras que se observan los elementos esqueléticos?

Muy mal 1 2 3 4 5 Muy bien

3.- ¿Cómo consideras la calidad de la diafanización?

Muy opaco 1 2 3 4 5 Muy lúcido

4.- ¿Qué tan duradera consideras que este tipo de preservación?

Nada duradera 1 2 3 4 5 Muy duradera

5.-Desde el punto de vista didáctico consideras que este material es:

Inútil 1 2 3 4 5 Muy útil

6.- Desde el punto de vista científico consideras que este material es:

Inútil 1 2 3 4 5 Muy útil

7.- ¿Puedes diferenciar entre las preparaciones?

Sí No

En caso de ser afirmativa, ¿en qué detalle nota la diferencia?

8.- ¿Te gustaría tener una de éstas preparaciones?

Sí No

9.- ¿Te gustaría aprender a elaborar éstas preparaciones?

Sí No

10.- ¿Cuál es el costo que estimas de la preparación?
