

1 The Biologist (Lima), 2025, vol. 23 (2), XX-XX.

2 DOI: <https://doi.org/10.62430/rtb20252322066>

3 Este artículo es publicado por la revista The Biologist (Lima) de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática,
4 Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los
5 términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio,
6 siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.
7



8

9

10 ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

11 COMPARISON OF OSTEOLOGICAL METHODS APPLIED TO THE FISH

12 *PSECTROGASTER AMAZÔNICA* EIGENMANN & EIGENMANN, 1889

13 (CHARACIFORMES: CHARACIDAE)

14 COMPARACIÓN DE MÉTODOS OSTEOLÓGICOS APLICADOS AL PEZ

15 *PSECTROGASTER AMAZÔNICA* EIGENMANN & EIGENMANN, 1889

16 (CHARACIFORMES: CHARACIDAE)

17 COMPARAÇÃO DE MÉTODOS OSTEOLÓGICOS APLICADOS AO PEIXE

18 *PSECTROGASTER AMAZONICA* EIGENMANN & EIGENMANN, 1889

19 (CHARACIFORMES: CHARACIDAE)

22 Letícia Cavalcante Santiago¹ & Diego Carvalho Viana^{1,2,3*}

23 ¹ Núcleo de Estudos Morfofisiológicos Avançados (NEMO), Universidade Estadual da Região

24 Tocantina do Maranhão (UEMASUL), Imperatriz, Maranhão, Brasil.

25 ² Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão

26 (PPGCA/UEMA), São Luís, Maranhão, Brasil.

27 E-mail: diego_carvalho_@hotmail.com

28

29 *Corresponding author: diego_carvalho_@hotmail.com

30 Santiago & Viana

31 Title: Comparison of osteological methods applied to the fish *Psectrogaster amazonica*

32 Leticia Cavalcante Santiago:  <https://orcid.org/0000-0001-8667-1267>

33 Diego Carvalho Viana:  <https://orcid.org/0000-0002-3302-9892>

34

35 ABSTRACT

36 The fish *Psectrogaster amazonica* Eigenmann & Eigenmann, 1889 (Characiformes: Characidae),
37 known locally as “branquinha” in the Tocantins region of Maranhão, is a freshwater species found
38 in the Tocantins River, Brazil. The main objective of this study was to conduct an osteological
39 analysis using anatomical techniques to better understand biodiversity and enable more detailed
40 investigations. Five osteological methods were tested to assess preservation, practicality, and
41 efficiency: immersion in glycerin, immersion in hydrogen peroxide, dissection, dissection with hot
42 water, and burial. The results indicated that immersion in hydrogen peroxide and dissection with
43 hot water were the most effective methods, facilitating the removal of soft tissues and preserving
44 bone structures. Glycerin preserved the structures well but made dissection more difficult.
45 Hydrogen peroxide, after three days, softened the tissues, allowing for easy removal. Burial, which
46 lasted 60 days, was not effective for bone preservation, although it completely degraded soft
47 tissues. Manual dissection, performed over three hours, proved effective in carefully preserving
48 the structures. Dissection with hot water was the most efficient method, as it quickly softened
49 tissues, facilitating the process. Based on these results, the osteological studies of the branquinha
50 proved relevant for understanding the biodiversity of Amazonian fish. All tested methods and
51 products contributed to the observation of the specimen’s bone structures, with hydrogen peroxide
52 being suitable for bone maceration and dissection with hot water providing clear evidence of
53 anatomical features.

54 **Keywords:** biodiversity – ichthyology – osteocyte

55

56 RESUMEN

57 El pez *Psectrogaster amazônica* Eigenmann & Eigenmann, 1889 (Characiformes: Characidae),
58 conocido localmente como “branquinha” en la región Tocantina de Maranhão, es una especie de
59 agua dulce encontrada en el río Tocantins, Brasil. El objetivo principal de este estudio fue realizar
60 un análisis osteológico utilizando técnicas anatómicas para comprender mejor la biodiversidad y
61 permitir investigaciones más detalladas. Se probaron cinco métodos osteológicos para evaluar la
62 preservación, la practicidad y la eficiencia: inmersión en glicerina, inmersión en peróxido de

63 hidrógeno, disección, disección con agua caliente y enterramiento. Los resultados indicaron que
64 la inmersión en peróxido de hidrógeno y la disección con agua caliente fueron los métodos más
65 eficaces, ya que facilitaron la eliminación de los tejidos blandos y preservaron las estructuras óseas.
66 La glicerina conservó bien las estructuras, pero dificultó la disección. El peróxido de hidrógeno,
67 después de tres días, ablandó los tejidos, permitiendo una fácil eliminación. El enterramiento, que
68 duró 60 días, no fue eficaz para la preservación ósea, aunque degradó completamente los tejidos
69 blandos. La disección manual, realizada en tres horas, resultó eficaz para preservar
70 cuidadosamente las estructuras. La disección con agua caliente fue el método más eficiente, debido
71 a que ablandó rápidamente los tejidos, facilitando el proceso. Con estos resultados, los estudios
72 osteológicos de la branquinha demostraron ser relevantes para la comprensión de la biodiversidad
73 de los peces amazónicos. Todos los métodos y productos probados contribuyeron a la observación
74 de las estructuras óseas del espécimen, siendo el peróxido de hidrógeno adecuado para la
75 maceración ósea y la disección con agua caliente mostró evidencias claras de los accidentes
76 anatómicos.

77 **Palabras clave:** biodiversidad – ictiología – osteocito

78

79 RESUMO

80 O peixe *Psectrogaster amazonica* Eigenmann & Eigenmann, 1889 (Characiformes: Characidae),
81 conhecido como branquinha na região Tocantina do Maranhão, é uma espécie de água doce
82 encontrada no rio Tocantins, Brasil. O estudo teve como principal objetivo realizar uma análise
83 osteológica utilizando técnicas anatômicas para compreender a biodiversidade e possibilitar
84 investigações mais detalhadas. Foram testados cinco métodos osteológicos para avaliar a
85 preservação, praticidade e eficiência: imersão em glicerina, imersão em água oxigenada,
86 dissecação, dissecação com água quente e enterramento. Os resultados indicaram que a imersão
87 em água oxigenada e a dissecação com água quente foram os mais eficazes, facilitando a remoção
88 de tecidos moles e preservando as estruturas ósseas. A glicerina conservou bem as estruturas, mas
89 dificultou a dissecação. A água oxigenada, após três dias, amoleceu os tecidos, permitindo uma
90 fácil remoção. O enterramento, que durou 60 dias, não foi eficaz na preservação óssea, embora
91 tenha degradado completamente os tecidos moles. A dissecação manual, realizada em três horas,
92 mostrou-se eficaz, preservando as estruturas com cuidado. A dissecação com água quente foi o
93 método mais eficiente, amolecendo rapidamente os tecidos, o que facilitou a dissecação. Com

94 esses resultados, os estudos osteológicos da branquinha se mostraram relevantes para a
95 compreensão da biodiversidade dos peixes da região amazônica, com todos os métodos e produtos
96 testando para a observação das estruturas óssea do espécime, utilização da água oxigenada para a
97 maceração de peças ósseas e a dissecação com a ajuda da água quente apresentou evidências dos
98 acidentes anatômicos.

99 **Palavras-chave:** biodiversidade – ictiologia – osteócito

100

101 INTRODUÇÃO

102 O peixe de nome científico *Psectrogaster amazonica* Eigenmann & Eigenmann, 1889
103 (Characiformes: Characidae) e conhecido popularmente como “branquinha” na região Tocantina
104 do Maranhão é uma espécie de água doce que habita o rio Tocantins, no Brasil. Segundo estudos
105 recentes, a pesca é uma das atividades extrativistas tradicionais mais importantes na região
106 amazônica por motivos diversos e complexos. O peixe representa uma das principais fontes de
107 proteína para as comunidades tradicionais, além disso, a pesca tem um grande papel na geração de
108 emprego, sendo a pesca artesanal a forma mais comum existente (Barros *et al.*, 2019).

109 Apesar de ser recurso pesqueiro ainda são poucos os estudos conservacionistas e reprodutivo. Para
110 isso estudos básicos são necessários dentre ele, o estudo osteológico para a compreensão da
111 biodiversidade e propiciar investigações mais complexa. Segundo Venere & Garutti (2011), essa
112 espécie de peixe apresenta particularidades anatômicas em sua estrutura óssea que a distinguem
113 de outras espécies da mesma família. Essas características, como a presença de uma região pós-
114 orbital em sua cabeça e uma série de vértebras pré-caudais alongadas, são únicas e podem auxiliar
115 na identificação e classificação taxonômica da branquinha.

116 Além disso, coleções osteológicas têm grande importância na pesquisa, contribuindo
117 significativamente para avanços em diversas áreas do conhecimento. Estas coleções são
118 referências para análises de identificações de características anatômicas e filogenéticas, assim
119 obtendo estudos morfológicos para o desenvolvimento e entendimento sobre como a ciência
120 funciona, explicando suas estruturas, locomoção, tamanhos, posturas, funções, perfil biológico
121 dentre outros (Almeida Junior *et al.*, 2023). No caso específico dos peixes de pequeno porte como
122 a Branquinha, encontrada no rio Tocantins a análise dos ossos pode fornecer informações valiosas
123 em relação ao seu ambiente e modo de vida, utilizando métodos distintos para visualizar e
124 examinar suas estruturas ósseas. Ao focar nas características osteológicas, é possível inferir

125 aspectos comportamentais e funcionais dos peixes, como a postura e o modo de locomoção
126 focando nas suas estruturas como nadadeiras, o arranjo dos ossos vertebrais e a conformação do
127 crânio podendo fornecer pistas sobre como esses peixes nadam, se alimentam e interagem com seu
128 ambiente para compreender a estrutura anatômica da espécie e complementar possíveis estudos
129 zoológicos (Brejão *et al.*, 2013; Carvalho *et al.*, 2018).

130 Na literatura especializada pode se encontrar diferentes métodos para estudo osteológico, mas que
131 seguem mais ou menos as mesmas etapas: neutralização, remoção dos tecidos superficiais,
132 maceração dos tecidos aderidos aos ossos, cocção e finalização. As maiores divergências
133 existentes entre os métodos ocorrem nas etapas de remoção e maceração, nas quais podem ser
134 utilizados diferentes processos químicos, biológicos ou mecânicos, aplicados isoladamente ou
135 combinados (Netta *et al.*, 2023). Outras técnicas como as que utilizam água oxigenada e glicerina
136 são frequentemente utilizadas em estudos osteológicos, o peróxido de hidrogênio e outros agentes
137 químicos são eficazes na remoção de tecidos moles dos ossos, aumentando a eficiência das técnicas
138 de maceração para estudos anatômicos (Couse & Connor, 2015). Dentre diversas técnicas, a mais
139 utilizada ainda é a formalização devido ao menor custo para execução do procedimento, para
140 manutenção e duração das peças. Entretanto, o formaldeído contém propriedades tóxicas danosas
141 à saúde das pessoas que manuseiam e mantêm contato diário com esse composto químico (Lima
142 *et al.*, 2022).

143 No entanto, a sobrepesca e a degradação do seu habitat natural são ameaças que podem levar à
144 diminuição ou mesmo extinção da espécie (Coelho *et al.*, 2021). As diferentes técnicas utilizadas
145 são fundamentais para a realização de estudos osteológicos em peixes, possibilitando a análise
146 detalhada da anatomia e morfologia óssea, contribuindo para avanços significativos no
147 entendimento do esqueleto dos espécimes (Barbosa *et al.*, 2025; Pereira *et al.*, 2025). O objetivo
148 central desse trabalho é explorar o estudo osteológico da branquinha para ampliar o entendimento
149 sobre as estruturas anatômicas dos peixes na região amazônica, identificando o método mais e
150 ficiais para a observação de sua estrutura óssea.

151

152 MATERIAIS E MÉTODOS

153 Para o estudo osteológico, foram utilizados cinco espécimes de peixes cada método
154 totalizando 25 espécimes. Os espécimes foram adquiridos no mercado municipal, chamado de
155 “Mercadinho” na cidade Imperatriz, Maranhão, Brasil. Os animais possuíam, em média, 13

156 centímetros de comprimento e 5 centímetros de largura. Foram empregados cinco processos
157 distintos para a deterioração: maceração, enterramento, glicerização, dissecação e decomposição
158 em água. Os peixes foram submetidos a procedimentos de limpeza e remoção das vísceras, visando
159 à eliminação de resíduos orgânicos que pudessem interferir no processo de preservação, para assim
160 iniciar o tratamento com cada método escolhido (Gutiérrez-Ramos, 2014; Rodrigues *et al.*, 2020).

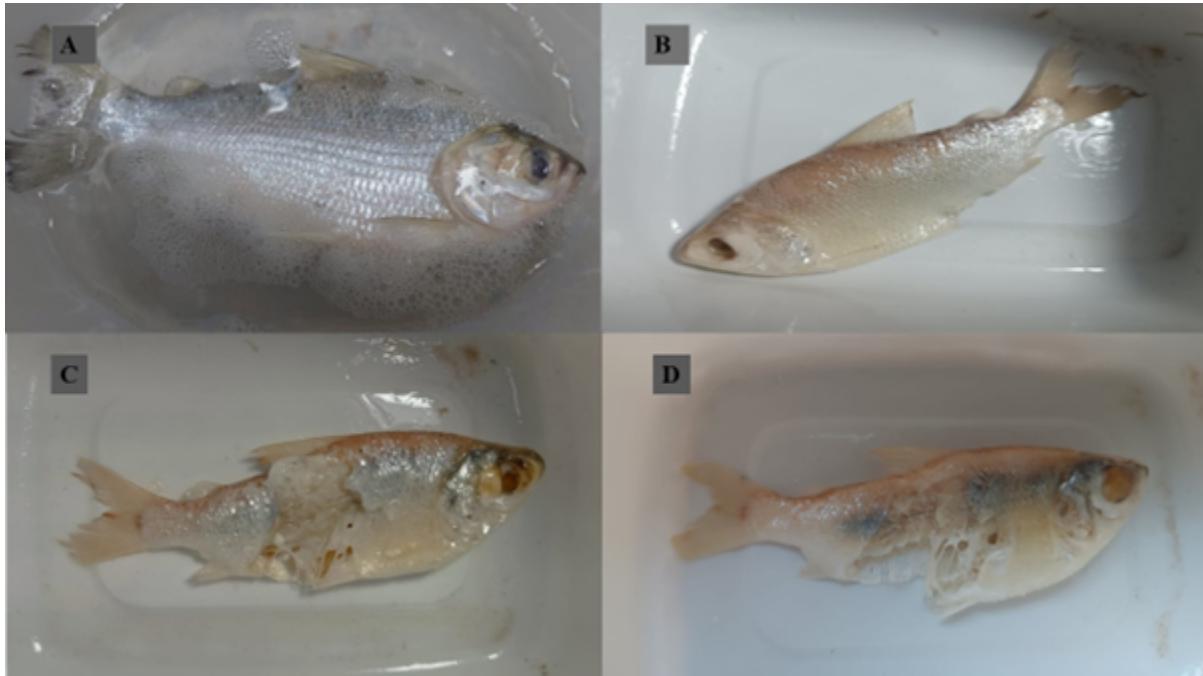
161 A maceração com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um método químico amplamente
162 utilizado para remover tecidos moles dos ossos, pois promove a oxidação das proteínas e lipídeos,
163 facilitando a separação entre partes moles e esqueleto. O enterramento baseia-se na decomposição
164 natural, utilizando microrganismos, minhocas e insetos presentes no solo, semelhante aos
165 processos descritos em protocolos de osteotécnica forense e de coleções zoológicas. A técnica de
166 glicerização segue protocolos clássicos de conservação anatômica, baseados na capacidade
167 higroscópica da glicerina, que desidrata tecidos, inibe crescimento microbiano e preserva
168 morfologia. A dissecação manual, este método segue os princípios clássicos da dissecação
169 anatômica, enfatizados nos livros utilizados para referência, que destacam a importância de
170 preservar a integridade óssea com manipulação cuidadosa. A decomposição em água quente,
171 técnica baseada no uso de calor como agente desnaturante, muito utilizada em osteotécnica,
172 descrita nos livros como método rápido para amolecimento de tecidos (Viana & Barbosa, 2021;
173 Viana & Barbosa, 2022).

174
175 **Aspectos éticos:** Os autores declaram que cumpriram todas as normas nacionais e internacionais
176 de ética e integridade acadêmica.
177

178 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

179 O primeiro processo utilizado foi a maceração óssea. Para isso, os espécimes de peixe foram
180 imersos em uma solução diluída de água oxigenada colocada em recipientes fechados, com a troca
181 do líquido a cada três dias. Este procedimento teve como objetivo promover a deterioração dos
182 tecidos moles, permitindo a visualização completa do esqueleto do peixe ao final do processo.
183 Durante o período de maceração, observações periódicas foram realizadas para monitorar a
184 progressão da deterioração dos tecidos e para que as peças não fossem danificadas. No final do
185 processo, o espécime foi cuidadosamente limpo retirando resíduos de tecidos ou de larvas

186 encontras no local, e seus ossos foram organizados de acordo com sua estrutura natural para
187 permitir uma análise osteológica detalhada (Figura 1).



188

189 **Figura 1.** Processo de maceração óssea com água oxigenada. **A:** Animal inteiro submerso em
190 água oxigenada; **B:** Após 24hrs; **C:** após 48hrs; **D:** após 72hrs. Legenda: Nas figuras C e D, é
191 possível observar a ação da água oxigenada ao longo de um período prolongado, degradando os
192 componentes orgânicos dos tecidos do espécime.

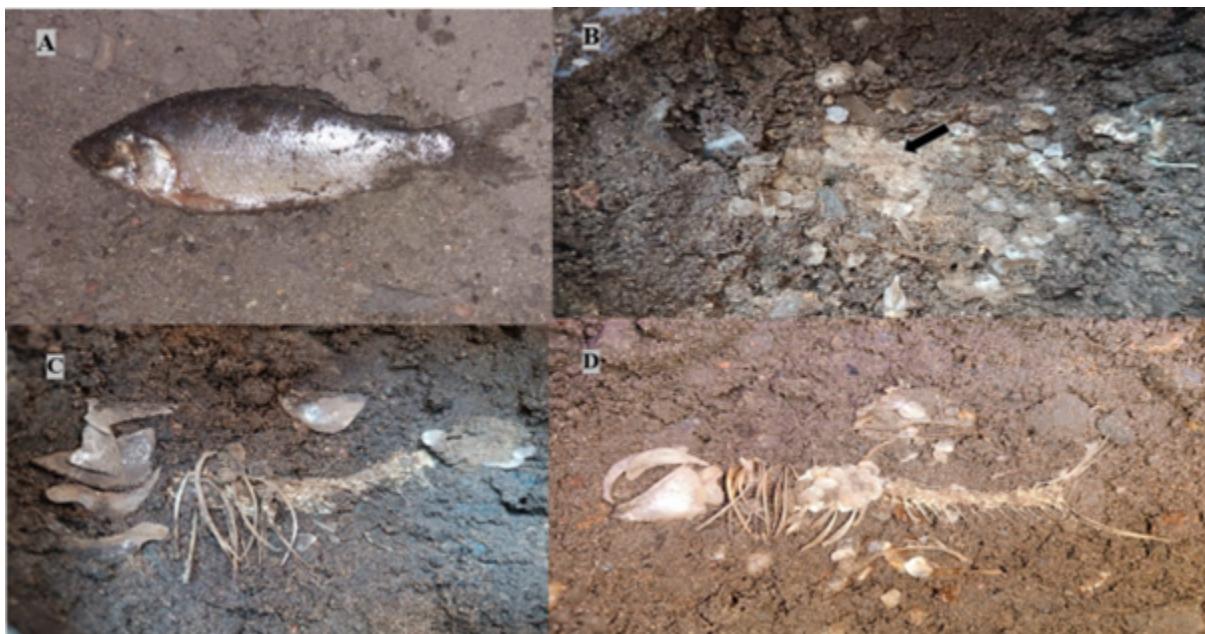
193

194 Alguns espécimes foram submetidos ao processo de enterramento em solo. Esse método envolveu
195 o enterramento dos peixes em solo por um longo período, em uma profundidade de 5 cm. A
196 temperatura ambiente foi mantida constante e a constituição do solo utilizada foi de um solo
197 normal contendo formigas e minhocas. Os espécimes permaneceram enterrados até que ocorresse
198 a deterioração completa de todos os tecidos moles.

199 Durante o período de enterramento, o solo atuou como um meio natural de decomposição,
200 facilitando a ação de microrganismos e outros decompisitores que promoveram a degradação dos
201 tecidos orgânicos. Após o período determinado, os espécimes foram desenterrados
202 cuidadosamente. Em seguida, foram limposmeticulosamente para remover quaisquer resíduos de
203 solo e tecidos remanescentes, resultando na obtenção da estrutura óssea íntegra dos peixes. Os

204 ossos foram então organizados de acordo com sua estrutura natural para permitir uma análise
205 osteológica detalhada (Figura 2).

206



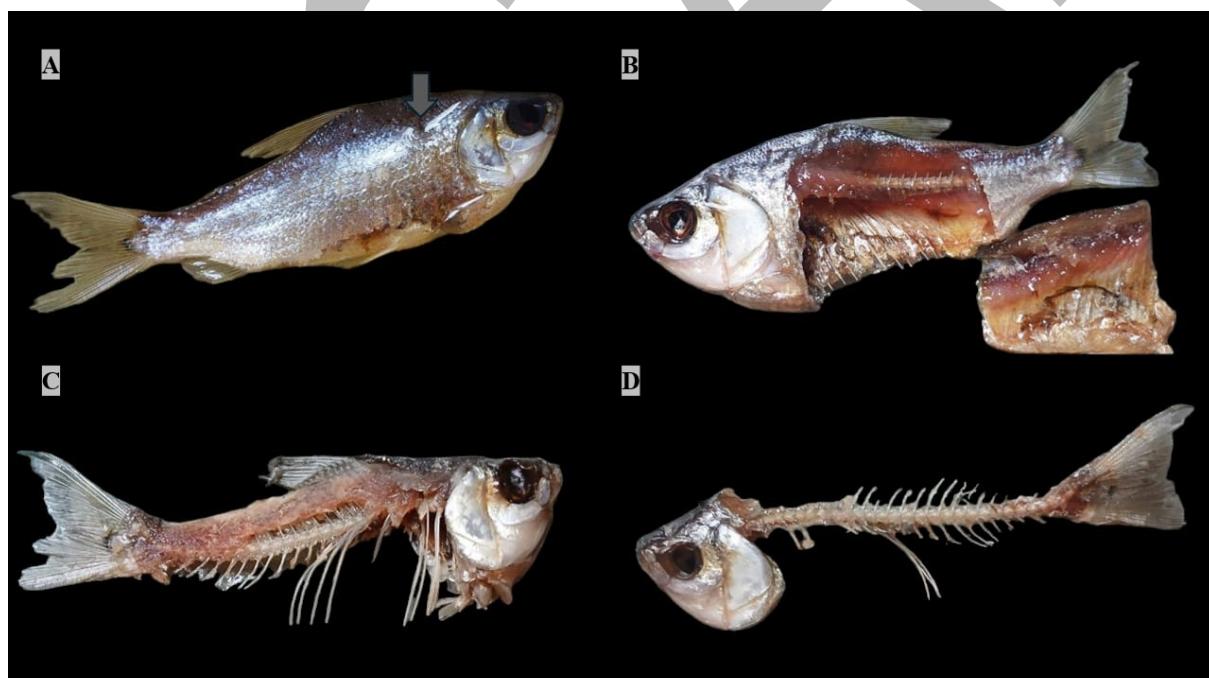
207
208 **Figura 2.** Processo de enterramento de carcaça no solo. **A:** Animal inteiro a ser enterrado; **B:** Após
209 40 dias, desenterramento do peixe mostrando um vislumbre da carcaça (seta); **C:** Animal
210 completamente desenterrado, com a coluna vertebral e costelas visíveis; **D:** Fragmento ósseo do
211 peixe.

212

213 Enquanto outros foram preservados em uma solução de glicerina, nesse método os peixes foram
214 colocados em recipientes fechados, submersos em glicerina pura, com a troca do líquido a cada 20
215 dias. A glicerina tem a capacidade de desidratação celular, atuando contra fungos e bactérias, a
216 técnica de glicerinização proporciona uma melhor preservação das peças anatômicas com diversas
217 vantagens entre elas, a leveza que o organismo adquire no processo de conservação, a morfologia
218 é preservada o mais próximo da forma original e a coloração é mais clara, facilitando a
219 identificação de várias estruturas de difícil visualização. Após a retirada do espécime de dentro do
220 recipiente com a glicerina o animal foi limpo e começou a retirada de tecidos ainda encontrados
221 no espécime, a glicerina atuou com um ótimo método de conservação, conservando cada parte e
222 tecido do espécime, usado a coluna como guia foi se dissecando manualmente o espécime e foi
223 notório que a glicerina ficou conservou o peixe e o tecidos do espécime estava bastante duro

224 durante todo o processo que durou 3hr. Enquanto outros foram preservados em uma solução de
225 glicerina, nesse método, os peixes foram colocados em recipientes internos, submersos em
226 glicerina pura, com a troca do líquido a cada 20 dias.

227 A glicerina tem a capacidade de desidratar células, atuando contra fungos e bactérias. A técnica de
228 glicerinação proporciona uma melhor preservação das peças anatômicas com diversas vantagens.
229 Entre elas, a leveza que o organismo adquire no processo de conservação, a preservação da
230 morfologia ou mais próximo da forma original, e a coloração mais clara, que facilita a identificação
231 de várias estruturas de difícil visualização. Após a retirada do espécime do recipiente com a
232 glicerina, o animal foi limpo e iniciou a retirada de tecidos ainda presentes. A glicerina é um
233 excelente método de conservação, preservando cada parte e tecido dos espécimes. Usando uma
234 coluna vertebral como guia, iniciou a dissecação do espécime retirando os tecidos cuidadosamente,
235 e foi notório que a glicerina conservou o peixe de tal forma que os tecidos ficaram bastante duros
236 durante todo o processo, que durou 3 horas. No final do processo, o espécime foi cuidadosamente
237 limpo, e seus ossos foram organizados de acordo com sua estrutura natural para permitir uma
238 análise osteológica (Figura 3).

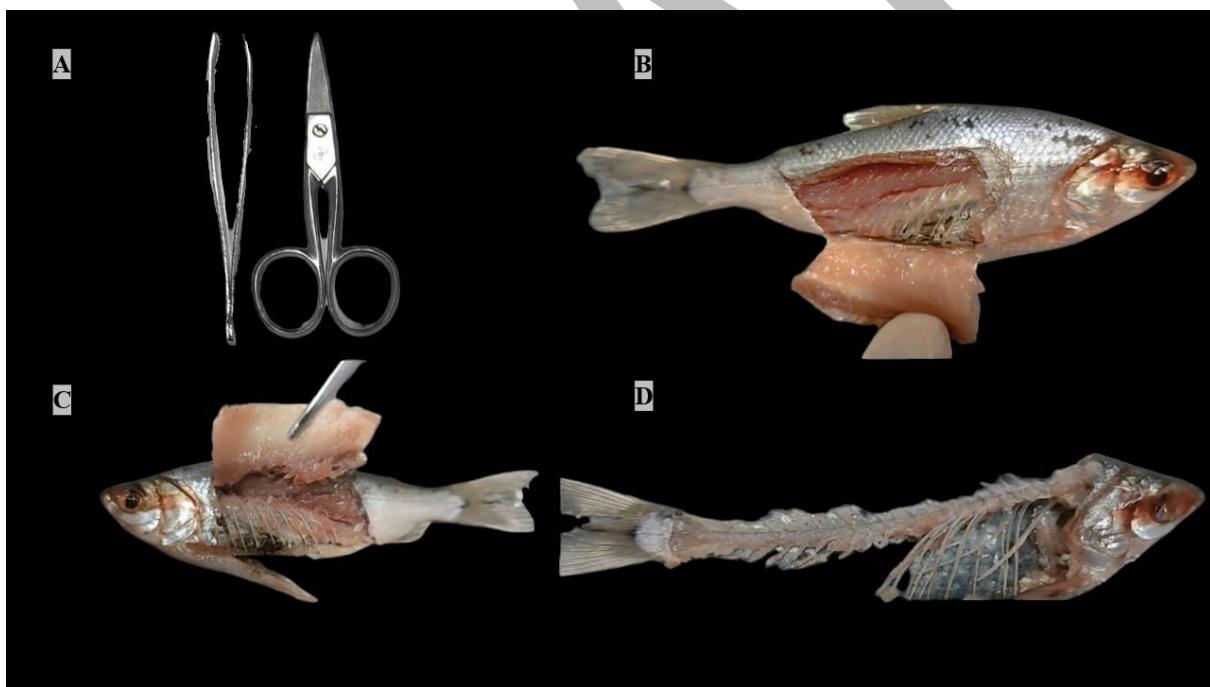


239
240 **Figura 3.** Processo de glicerinação. **A:** Animal inteiro colocado em glicerina pura sendo possível
241 observar os tecidos musculares se decompondo (seta) por meio da mudança de cor das estruturas.
242 **B:** Possível observa a coluna vertebral que foi usada como guia para a dissecação do espécime. **C:**
243 Estrutura óssea do espécime mais detalhadamente. **D:** Peixe totalmente dissecado.

244

245 O método de dissecação as amostras de peixes foram dissecadas utilizando materiais como pinças
246 e tesouras para a remoção cuidadosa de cada tecido, garantindo que nenhuma estrutura óssea fosse
247 danificada durante o processo. Inicialmente, foi realizado um corte vertical partindo do ânus do
248 animal até a região das costelas, proporcionando acesso aos órgãos internos e tecidos que foram
249 limpos externamente para remover qualquer resíduo superficial. Em seguida, cada espécime foi
250 dissecado de maneira meticolosa. Os tecidos foram removidos gradualmente, camada por camada
251 da cauda a cabeça, usando pinças e tesouras. Durante todo o procedimento, foi necessário extremo
252 cuidado para preservar a integridade das estruturas ósseas. Ao final da dissecação, todas as
253 amostras foram submetidas a uma limpeza final para remover qualquer resíduo de tecido
254 remanescente. Os ossos foram então organizados de acordo com sua estrutura natural (Figura 4).

255



256

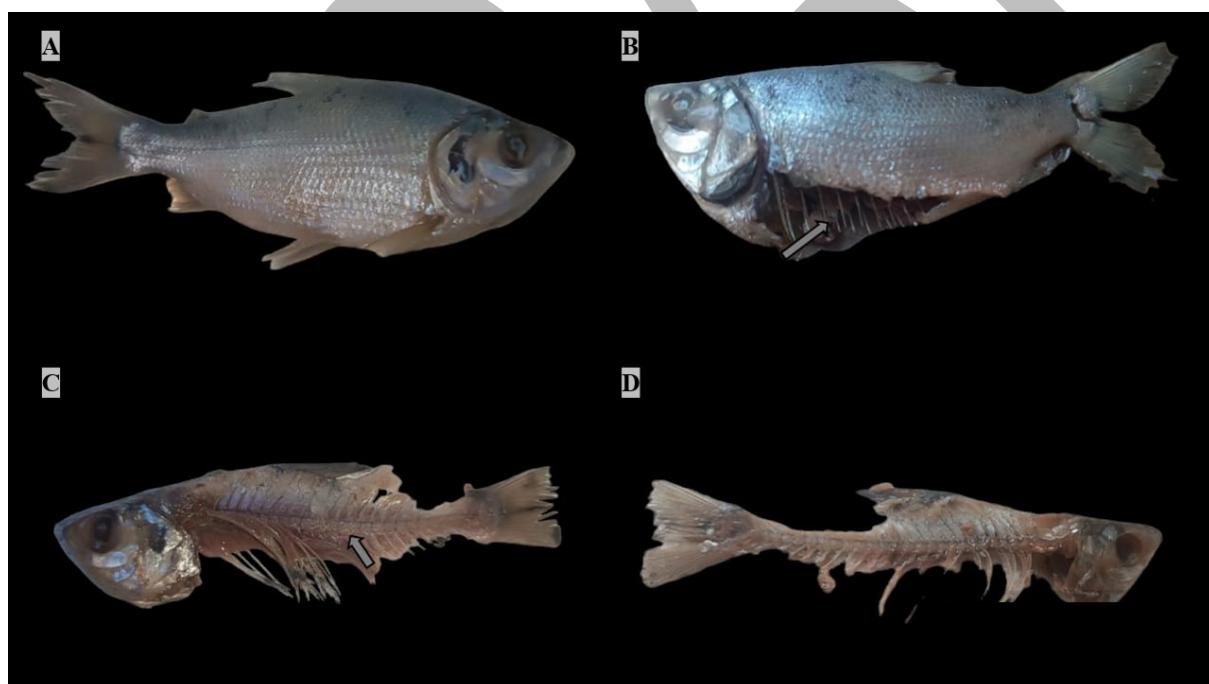
257 **Figura 4.** Processo de dissecação. A: Material usado para dissecar a espécime; B início do
258 processo de dissecação com um corte vertical para a retirada das vísceras e musculatura; C: O
259 tecido do peixe foi retirado cuidadosamente para que restasse apenas sua estrutura óssea; D:
260 Fragmento ósseo do peixe após a dissecação.

261

262 No método de decomposição em água, o espécime foi colocado em água fervente por 3 minutos e,
263 em seguida, retirado para a dissecação detalhada dos tecidos moles. Utilizando materiais como

264 pinças e tesouras, cada tecido e vísceras foram removidos cuidadosamente, garantindo que
265 nenhuma estrutura óssea seja danificada durante o processo. Inicialmente, a água quente facilitou
266 a dissecação, deixando os tecidos frágeis e mais fáceis de serem removidos. Após o tempo de
267 fervura, o peixe foi retirado, já sendo possível visualizar os ossos, como as costelas, devido ao
268 amolecimento e retirada do tecido próximo às costelas durante os 3 minutos de fervura. A partir
269 dessa abertura, inicie-se a dissecação, usando a coluna vertebral como guia para a retirada cuidada
270 de todos os tecidos. Durante a dissecação, os ossos das costelas acabaram se soltando da coluna
271 devido à fragilidade resultante do processo. A dissecação foi realizada da cauda à cabeça, com
272 atenção especial na área da cabeça, que se mostrou extremamente frágil e facilmente quebrável. A
273 remoção dos tecidos foi facilitada pela água quente, que os deixou moles e de fácil retirada. Ao
274 final da dissecação, todas as amostras foram submetidas a uma limpeza final para remover
275 qualquer resíduo de tecido remanescente. Os ossos foram então organizados de acordo com sua
276 estrutura natural (Figura 5).

277



278

279 **Figura 5.** Processo de dissecação com água quente. **A:** Espécime inteiro submerso em água
280 fervente; **B:** Início do processo de dissecação com uma abertura (seta) que ocorreu naturalmente
281 durante os 3 minutos de fervura do espécime; **C:** Remoção cuidadosa dos tecidos do peixe,
282 deixando apenas sua estrutura óssea, utilizando a coluna do peixe como guia (seta); **D:** Fragmento
283 ósseo do peixe após a dissecação.

284 Após o período adequado de tratamento em todos os processos utilizados, os ossos foram
285 cuidadosamente recuperados, preparados e separados de acordo com cada método utilizado. As
286 características anatômicas da estrutura óssea da branquinha foram destacadas, incluindo o número
287 e a forma de cada osso, bem como a relação entre eles. Isso ajudou na identificação de
288 características anatômicas específicas que são importantes para a sobrevivência desta espécie.
289 Cada técnica utilizada será avaliada para encontrar a melhor abordagem para a preservação e
290 análise osteológica do peixe, equilibrando a preservação da integridade óssea, a facilidade do
291 processo, o tempo de processamento e a eficácia na limpeza e organização dos ossos. A
292 preservação da integridade óssea é essencial, pois a melhor técnica deve manter a forma e
293 minimizar danos às estruturas esqueléticas durante a decomposição dos tecidos moles.
294 Além disso, a facilidade do processo é um fator importante. Métodos que são simples e práticos,
295 exigindo menos intervenções e monitoramento, são mais viáveis e o tempo de processamento
296 também é crucial. Técnicas que promovem a decomposição completa dos tecidos moles em um
297 período mais curto são mais eficientes, permitindo que um maior número de amostras seja
298 analisado em menos tempo. A facilidade de limpeza e organização dos ossos após a decomposição
299 é igualmente importante métodos que deixam menos resíduos e facilitam a montagem das
300 estruturas ósseas são preferidos.
301 Com base na eficácia de cada método, os resultados obtidos na deterioração para a análise
302 osteológica mostraram variações significativas na eficiência de cada técnica em preservar a
303 integridade e a estrutura dos ossos, que são notoriamente frágeis. Na maceração ósseas, os
304 espécimes de peixe imersos em solução de água oxigenada apresentaram remoção completa dos
305 tecidos moles após 6 dias de tratamento. A observação periódica revelou uma degradação rápida
306 dos tecidos, destacando-se em relação aos outros métodos utilizados. No entanto, foi necessário
307 monitorar cuidadosamente o processo para evitar a degradação excessiva dos ossos. Foi verificado
308 a produção de um forte odor percebido após 2 dias de início do tratamento, o que exigiu atenção
309 adicional. Ao final do processo, observou-se um clareamento significativo dos ossos. No entanto,
310 algumas estruturas ósseas, especialmente na região craniana, foram danificadas durante o
311 procedimento por terem permanecido por tempo excessivo na água oxigenada, o que impediu uma
312 análise osteológica detalhada dessas partes como foi perceptível.
313 O método de enterro, que durou 60 dias, permitiu a remoção detalhada dos tecidos moles,
314 sobrando somente sua estrutura óssea. A decomposição natural do solo com a carcaça do peixe

315 removeu qualquer resíduo de pele e órgãos durante todo o processo. O procedimento começou
316 com o enterramento do peixe inteiro, sem a remoção de nenhuma parte interna ou externa do
317 espécime. Foi colocado em uma profundidade de 5 centímetros do solo e aguardou-se a
318 deterioração natural durante os 60 dias. Essa dissecação natural garantiu que sobrassem apenas as
319 estruturas ósseas. No entanto, por se tratar de um peixe de pequeno porte, foi perceptível que
320 passou tempo demais enterrado, dificultando a identificação de suas estruturas, principalmente a
321 cauda, nadadeiras e cabeça. Além disso, foram encontradas muitas larvas ao redor dessas estruturas
322 na terra. Por fim, as estruturas ósseas foram separadas, limpas e organizadas para uma análise
323 osteológica detalhada.

324 O método de glicerinização, realizado ao longo de 60 dias, demonstrou-se eficaz na preservação
325 dos tecidos das amostras devido à glicerina ser um excelente agente conservador. Durante esse
326 período, as amostras foram mantidas submersas em glicerina. Após a retirada das amostras da
327 glicerina, iniciou à dissecação dos espécimes, com um foco particular na coluna vertebral usando-
328 a como guia para a retira de tecidos da cauda a cabeça do peixe. Durante a dissecação, foi notório
329 que os tecidos dos espécimes se apresentavam rígidos, o que dificultou o processo e o prolongou
330 o tempo de retirada de cada tecido do peixe. Por último, as estruturas ósseas foram isoladas, limpas
331 e organizadas para uma análise osteológica detalhada (Figura 3). Essa análise permitiu uma
332 observação minuciosa da estrutura óssea do peixe, confirmando a eficácia do método de
333 glicerinização na preservação dos detalhes anatômicos do peixe.

334 O método de dissecação, que durou em média 2 horas, permitiu a remoção detalhada dos tecidos
335 moles. Esses tecidos desempenham várias funções vitais para o peixe, incluindo movimento,
336 digestão e respiração. Entre esses tecidos estão a pele, escamas, músculos e órgãos internos, como
337 intestinos e brânquias. O procedimento começou com um corte vertical a partir do ânus do animal,
338 seguido pela remoção cuidadosa dos tecidos moles, observando-se para evitar a quebra de qualquer
339 osso durante o processo. O corte foi então direcionado para a cauda, usando a coluna vertebral
340 como guia, e por último, para a região craniana. Essa dissecação meticolosa garantiu que todas as
341 estruturas ósseas fossem preservadas completamente, permitindo uma análise osteológica
342 detalhada.

343 O método de utilização da água fervente no processo de dissecação de peixes mostrou-se eficaz na
344 dissecação dos tecidos, facilitando a remoção dos mesmos e proporcionando uma visualização
345 clara das estruturas ósseas. A exposição do espécime à água fervente por 3 minutos foi eficiente

346 no amolecimento dos tecidos moles, facilitando significativamente sua remoção com o uso apenas
347 de pinças e tesouras. Como o amolecimento dos tecidos durante a dissecação, foi reduzido o tempo
348 necessário para o procedimento, que durou 1 hora e 40 minutos, minimizando o risco de danos à
349 estrutura óssea.

350 Este efeito foi observado imediatamente após a retirada do peixe da água fervente, quando já era
351 possível notar uma abertura abaixo das costas do peixe e visualizar a ponta das costas do espécime.
352 O amolecimento dos tecidos facilita a dissecação, permitindo que sejam removidos com maior
353 precisão. Durante o processo de dissecação, foi observado que os ossos das costelas se soltaram
354 da coluna vertebral. Este efeito pode ser atribuído à fragilização dos tecidos conjuntivos devido à
355 exposição à água quente. Embora isso represente um desafio em termos de manutenção da
356 integridade da estrutura óssea durante a dissecação, também demonstra a eficácia da água quente
357 em deteriorar os tecidos. Por fim, as estruturas ósseas foram separadas, limpas e organizadas para
358 uma análise osteológica detalhada. Todos os métodos foram organizados e comparados para
359 determinar o mais eficaz na preservação da estrutura óssea do espécime. Essa análise permitiu
360 identificar as técnicas que oferecem os melhores resultados em termos de integridade e clareza das
361 estruturas ósseas, facilitando estudos futuros e comparações anatômicas (Tabela 1).

362

363 **Tabela 1.** Comparação da integridade óssea entre os métodos com o espécime *Psectrogaster*
364 *amazonica*.

| Métodos | Tempo | Integridade óssea | Facilidade de limpeza | Ossos vertebrais | Ossos da costela | Ossos craniano |
|----------------|---------|-------------------|-----------------------|------------------|------------------|----------------|
| Glicerização | 3horas | alta | alta | 86 | 12 | 1 |
| Enterramento | 60 dias | pequena | alta | 81 | 12 | 1 |
| Água oxigenada | 6 dias | média | alta | 87 | 9 | 1 |
| Dissecação | 3horas | alta | alta | 98 | 16 | 1 |
| Água | 1h 40m | alta | alta | 92 | 15 | 1 |

365

366 A maceração com água oxigenada mostrou-se particularmente eficaz na preservação da
367 integridade dos ossos, por ser rápida. Embora tenha a desvantagem de destruir ossos pequenos,
368 principalmente ossos de crânio, o uso da água oxigenada como alternativo de maceração química
369 apresenta a vantagem da rapidez no preparo do esqueleto (Silveira & Oliveira, 2008). No entanto,
370 é necessário ter atenção especial para não danificar totalmente a estrutura, uma vez que o processo
371 pode corroer rapidamente os tecidos.

372 A decomposição natural do solo com a carcaça do peixe removeu qualquer resíduo de pele e
373 órgãos, permitiu a remoção detalhada dos tecidos moles, sobrando somente sua estrutura óssea.
374 Durante a decomposição da carcaça, os tecidos sofrem alterações bioquímicas: as células sofram
375 autodigestão, os micróbios entéricos fermentam produtos celulares e os tecidos se degradam. Por
376 fim, os fluidos de decomposição são liberados como uma fonte efêmera de nitrogênio (N) e
377 carbono para o ambiente circundante (Keenan & Debruyn, 2019). No entanto, por se tratar de um
378 peixe de pequeno porte, foi notório que o tempo que deve ficar submerso no solo é menor do que
379 o necessário para peixes de grande porte, o que pode dificultar a identificação de suas estruturas,
380 principalmente a cauda, nadadeiras e cabeça, caso permaneça enterrado por um período
381 prolongado.

382 A glicerina demonstrou-se eficaz na preservação dos tecidos das amostras devido à glicerina ser
383 um excelente agente conservador. A glicerinação é uma técnica de conservação de peças
384 anatômicas que pode ser utilizada devido as suas características antifúngicas e bactericidas que
385 protegem as peças sem a necessidade de um conservante (Lima *et al.*, 2022). Foi notório que os
386 tecidos dos espécimes se apresentavam rígidos após o período que ficaram submersos, devido à
387 glicerina, que é ótima para a preservação dos detalhes anatômicos do peixe.

388 A dissecação exige cuidados adicionais para evitar danos e garantir a limpeza completa dos ossos,
389 sendo um processo mais detalhado e que demanda uma atenção especial. A dissecação de animais
390 mortos ainda é o método mais importante e eficiente para estudar e entender a anatomia (Hall *et*
391 *al.*, 2013). Essa dissecação meticolosa garantiu que todas as estruturas ósseas fossem preservadas
392 completamente por se tratar de um método mais prático e fácil.

393 A água quente amoleceu os tecidos do peixe, que facilitou a dissecação, permitindo que sejam
394 removidos com maior precisão. A água quente ajuda a acelerar o processo de quebra dos tecidos,
395 transformando-os em uma consistência gelatinosa, permitindo a separação manual dos ossos
396 (Bittner-Frank *et al.*, 2024). A água quente embora represente um desafio em termos de
397 manutenção da integridade da estrutura óssea durante a dissecação, também demonstra a eficácia
398 em deteriorar os tecidos do espécime.

399 Com esses resultados, os estudos osteológicos da branquinha se mostraram relevantes para a
400 compreensão da biodiversidade dos peixes da região amazônica, com todos os métodos e produtos
401 testando para a observação das estruturas ósseas do espécime, utilização da água oxigenada para a
402 maceração de peças ósseas e a dissecação com a ajuda da água quente apresentou evidências dos

403 acidentes anatômicos. Com base nesses critérios, a imersão em água oxigenada e a dissecação se
404 destacaram como técnicas eficazes para o estudo osteológico dos peixes ao proporcionar tempo de
405 preservação, praticidade e eficiência. No caso específico dos peixes estudados, a imersão em água
406 oxigenada e a dissecação, e dissecação com auxílio da água quente, se destacam como métodos
407 promissores, por preservar a estrutura óssea de maneira adequada.

408

409

410 **Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy):**

411 **LCS** = Leticia Cavalcante Santiago

412 **DCV** = Diego Carvalho Viana

413

414 **Conceptualization:** LCS, DCV

415 **Data curation:** LCS, DCV

416 **Formal Analysis:** LCS, DCV

417 **Funding acquisition:** LCS, DCV

418 **Investigation:** LCS, DCV

419 **Methodology:** LCS, DCV

420 **Project administration:** LCS, DCV

421 **Resources:** LCS, DCV

422 **Software:** LCS, DCV

423 **Supervision:** LCS, DCV

424 **Validation:** LCS, DCV

425 **Visualization:** LCS, DCV

426 **Writing – original draft:** LCS, DCV

427 **Writing – review & editing:** LCS, DCV

428

429 **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 430 Almeida Junior, E., Ferreira, O. E., Souza, O. F., Januario, B. J. M., Neta, A. P. E., & Torres, P. I.
431 (2023). Coleção osteológica de referência da faculdade de medicina da fap-araripina (PE).
432 *Revista OWL*, 1, 240–247.

- 433 Barbosa, L. A., Maciel, M. D. S., Gomes, F. R., Jawad, L., Queiroz, C., & Viana, D. C. (2025).
434 Evaluating morphometric variations in tocantins river fish: implications for conservation.
435 *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 47, e72269.
- 436 Barros, F. B., Porro, N. S. M., Linhares, S. A. A., & Brito, S. C. (2019). A tradição da pesca no
437 Território Sesmaria do Jardim (Maranhão): Conflitos socioambientais e estratégias de
438 mobilização. *Vivência: Revista de Antropologia*, 53, 128-152.
- 439 Bittner-Frank, M., Strassl, A., Unger, E., Hirtler, L., Kainberger, F., Windhager, R., & Benca, E.
440 (2024). Effect of hot water maceration, rehydration, and soft tissue presence on 3D
441 geometry of bone. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, 21, 98-106.
- 442 Brejão, G.L., Gerhard, P., & Zuanon, J. (2013). Functional trophic composition of the ichthyofauna
443 of forest streams in eastern Brazilian Amazon. *Neotropical Ichthyology*, 11, 361–373.
- 444 Carvalho, M.L., Costa Silva, G.J.D., Melo, S., Ashikaga, F.Y., Shimabukuro-Dias, C.K.,
445 Scacchetti, P.C., Devidé, R., Foresti, F., & Oliveira, C. (2018). The non-monotypic status
446 of the neotropical fish genus *Hemiodontichthys* (Siluriformes, Loricariidae) evidenced by
447 genetic approaches. *Mitochondrial DNA Part A*, 7, 1-7.
- 448 Coelho, S.O., Alves, S.F., Lima, B.T., Nascimento, L., Fernandes, V.T., & Oliveira, F.J. (2021).
449 A fauna de peixes do Rio Tocantins, bacia Araguaia-Tocantins: composição, conservação
450 e diversidade. *Acta tecnologia*, 15, 57–80.
- 451 Couse, T., & Connor, M.A. (2015). A comparison of maceration techniques for use in forensic
452 skeletal preparations. *Journal of Forensic Investigation*, 3, 6.
- 453 Gutiérrez-Ramos, J.N. (2014). Taxidermia conceptos: tendencias, retos y desafios. *Sagasteguiana*,
454 2, 59–86.
- 455 Hall, E.R., Savis, R.C., Weller, R., Powney, S., & Williams, S.B. (2013). Fazer dissecações de
456 maneira diferente: uma abordagem de aprendizagem estruturada e assistida por pares para
457 maximizar a aprendizagem em dissecações. *Anatomical Sciences Education*, 6, 56–66.
- 458 Keenan, S. W., & Debruyn, J. M. (2019). Changes to vertebrate tissue stable isotope ($\delta^{15}\text{N}$)
459 composition during decomposition. *Scientific reports*, 9, 1–12.
- 460 Lima, C. P. G., Barbosa, P. L., Melo, A. P. A., Nascimento, S. F. U., Pereira, S. C. A., Brito, S. J.,
461 & Rizzo, H. (2022). Comparação entre diferentes técnicas empregadas na conservação e
462 manutenção de peças anatômicas. *Ciência Animal*, 32, 1–8.

- 463 Netta, B. C. L. J., Macedo, M. R., & Costa, N. A. (2023). Comparação de métodos de osteotécnica:
464 proposta de protocolo detalhado para prática laboratorial apropriada. *Acta Biológica
465 Brasiliensis*, 6, 63–75.
- 466 Oliveira, A. F., Torati, S. L., Borin-Carvalho, A. L., Lima, K. F. L., Demiciano, H. T., Silva, T. J.,
467 Barroso, S. A., & Varela, E. (2023). Fish size correlates to size and morphology of
468 intermuscular bones in Tambaqui *Colossoma macropomum* as shown by dissection and X-
469 ray imaging methods. *Fishes*, 8, 180.
- 470 Pereira, M. C., Souza, R. F. C., Barbosa, L. A., Viana, D. C., Cunha, D. B., & Queiroz, C. (2025).
471 Ichthyofauna of the Middle Tocantins River, Imperatriz, Maranhão, Brazil. *International
472 Journal of Agriculture and Biology*, 33, 1-6.
- 473 Rodrigues, C. A. L., Costa, J. F., Chung, L. B. O., Espínola, N. B. S., Viana, D.C. & Iannacone, J.
474 (2020). Osteologia de *Sciades couma* valenciennes, 1864 (Osteichthyes, Siluriformes;
475 Ariidae). *The Biologist (Lima)*, 18, 29–38.
- 476 Silveira, M. J., & Oliveira, E. F. (2008). A importância das coleções osteológicas para o estudo da
477 biodiversidade. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 3, 1–4.
- 478 Venere, P. C., & Garutti, V. (2011). *Peixes do Cerrado-Parque Estadual da Serra Azul-Rio
479 Araguaia*. RiMa Editora. p. 52–54.
- 480 Viana, D. C., & Barbosa, L. A. (2021). *Técnicas Anatômicas na prática*. Editora CRV.
- 481 Viana, D. C., & Barbosa, L. A. (2022). *Técnicas anatômicas na prática*. Editora CRV.
- 482 Received November 4, 2025.
- 483 Accepted December 13, 2025.