

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://](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es)  
6 [creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es)] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio,  
7 siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.



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  
18 COMPARAÇÃO DE MÉTODOS OSTEOLÓGICOS APLICADOS AO PEIXE

19 *PSECTROGASTER AMAZONICA* EIGENMANN & EIGENMANN, 1889

20 (CHARACIFORMES: CHARACIDAE)

21  
22 Leticia Cavalcante Santiago <sup>1</sup> & Diego Carvalho Viana <sup>1,2,3\*</sup>

23 <sup>1</sup> Núcleo de Estudos Morfofisiológicos Avançados (NEMO), Universidade Estadual da Região  
24 Tocantina do Maranhão (UEMASUL), Imperatriz, Maranhão, Brasil.


25 <sup>2</sup> 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](mailto:diego_carvalho_@hotmail.com)

28  
29 \*Corresponding author: [diego\\_carvalho\\_@hotmail.com](mailto:diego_carvalho_@hotmail.com)

30 Santiago & Viana

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

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

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

## ABSTRACT

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

**Keywords:** biodiversity – ichthyology – osteocyte

## RESUMEN

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

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

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

## RESUMO

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

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

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

## INTRODUÇÃO

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

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

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

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

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

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

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

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

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

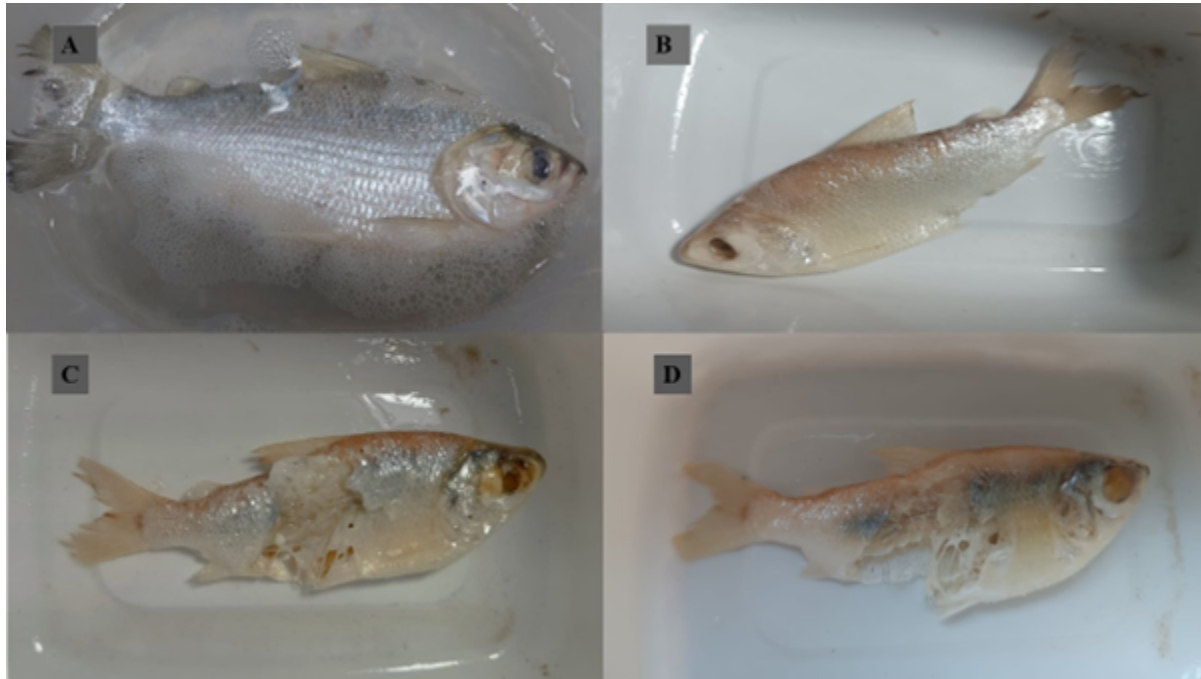
A maceração com peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é um método químico amplamente utilizado para remover tecidos moles dos ossos, pois promove a oxidação das proteínas e lipídeos, facilitando a separação entre partes moles e esqueleto. O enterramento baseia-se na decomposição natural, utilizando microrganismos,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

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

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

186 encontra 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 decompositores que promoveram a degradação dos  
201 tecidos orgânicos. Após o período determinado, os espécimes foram desenterrados  
202 cuidadosamente. Em seguida, foram limpos meticulosamente para remover quaisquer resíduos de  
203 solo e tecidos remanescentes, resultando na obtenção da estrutura óssea íntegra dos peixes. Os



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



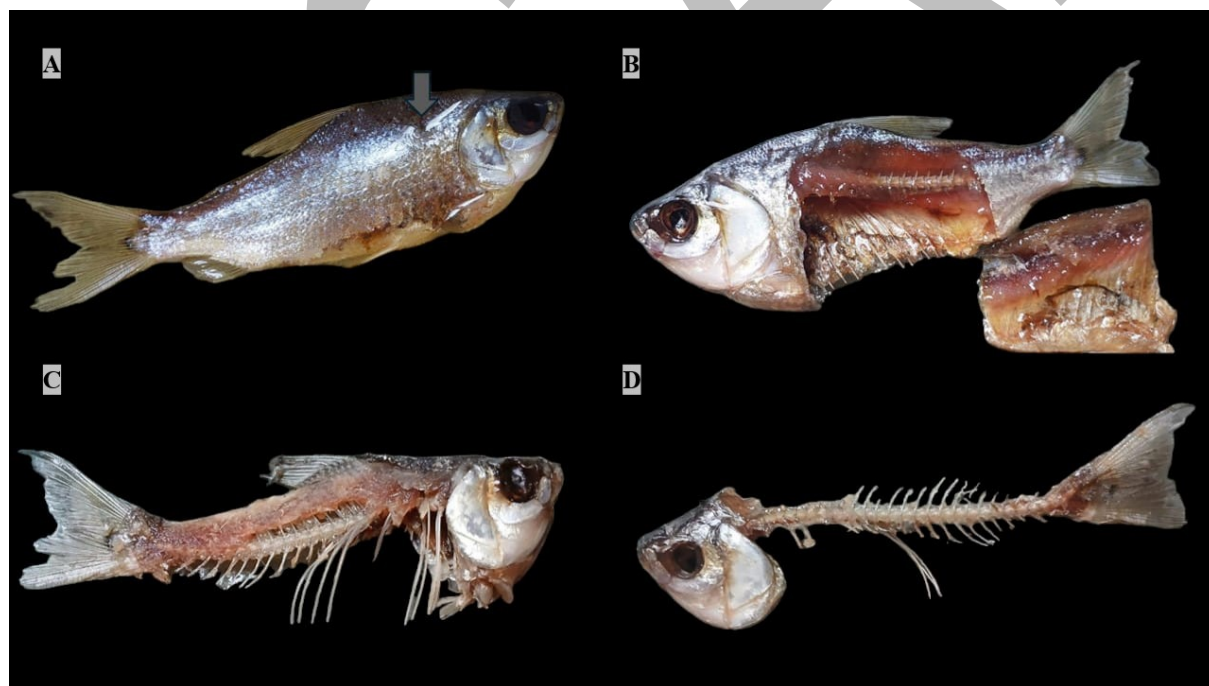
**Figura 2.** Processo de enterramento de carcaça no solo. **A:** Animal inteiro a ser enterrado; **B:** Após 40 dias, desenterramento do peixe mostrando um vislumbre da carcaça (seta); **C:** Animal completamente desenterrado, com a coluna vertebral e costelas visíveis; **D:** Fragmento ósseo do peixe.

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



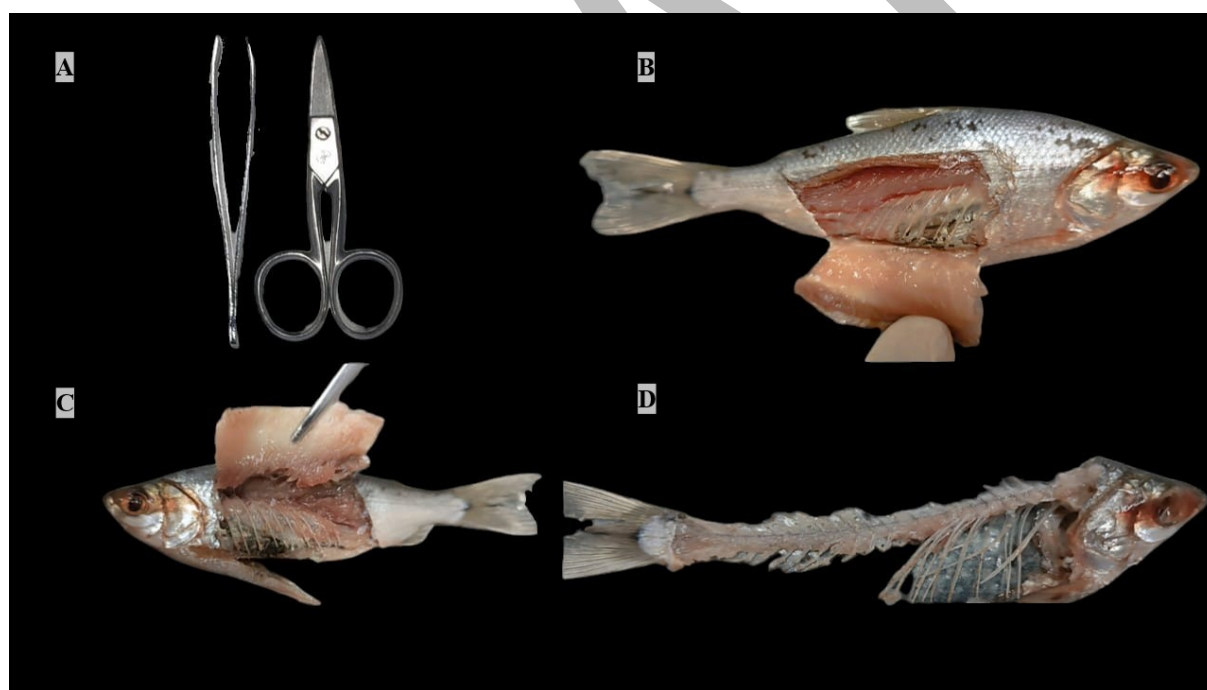
224 durante todo o processo que durou 3hr. Enquanto outros foram preservados em uma solução de  
225 glicerina, nesse método, os peixes foram colocados em recipientes internos, submersos em  
226 glicerina pura, com a troca do líquido a cada 20 dias.

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).



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

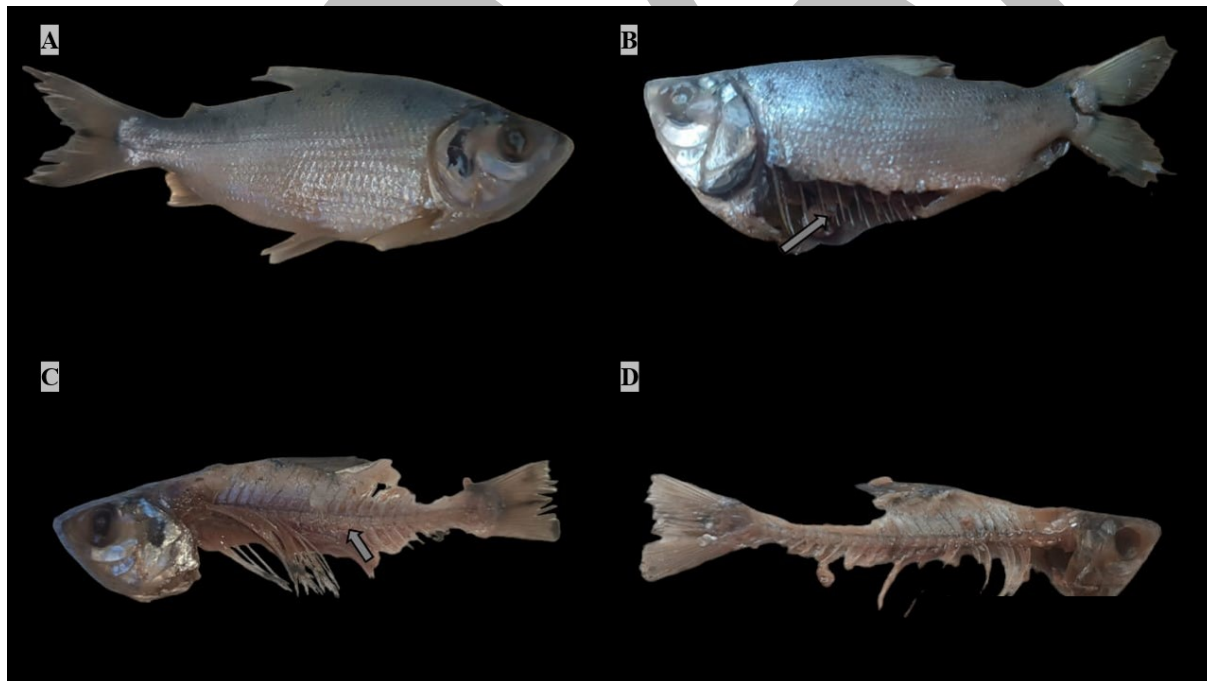
O método de dissecação as amostras de peixes foram dissecadas utilizando materiais como pinças e tesouras para a remoção cuidadosa de cada tecido, garantindo que nenhuma estrutura óssea fosse danificada durante o processo. Inicialmente, foi realizado um corte vertical partindo do ânus do animal até a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



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

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

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



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

Após o período adequado de tratamento em todos os processos utilizados, os ossos foram cuidadosamente recuperados, preparados e separados de acordo com cada método utilizado. As características anatômicas da estrutura óssea da branquinha foram destacadas, incluindo o número e a forma de cada osso, bem como a relação entre eles. Isso ajudou na identificação de características anatômicas específicas que são importantes para a sobrevivência desta espécie. Cada técnica utilizada será avaliada para encontrar a melhor abordagem para a preservação e análise osteológica do peixe, equilibrando a preservação da integridade óssea, a facilidade do processo, o tempo de processamento e a eficácia na limpeza e organização dos ossos. A preservação da integridade óssea é essencial, pois a melhor técnica deve manter a forma e minimizar danos às estruturas esqueléticas durante a decomposição dos tecidos moles.

Além disso, a facilidade do processo é um fator importante. Métodos que são simples e práticos, exigindo menos intervenções e monitoramento, são mais viáveis e o tempo de processamento também é crucial. Técnicas que promovem a decomposição completa dos tecidos moles em um período mais curto são mais eficientes, permitindo que um maior número de amostras seja analisado em menos tempo. A facilidade de limpeza e organização dos ossos após a decomposição é igualmente importante métodos que deixam menos resíduos e facilitam a montagem das estruturas ósseas são preferidos.

Com base na eficácia de cada método, os resultados obtidos na deterioração para a análise osteológica mostraram variações significativas na eficiência de cada técnica em preservar a integridade e a estrutura dos ossos, que são notoriamente frágeis. Na maceração óssea, os espécimes de peixe imersos em solução de água oxigenada apresentaram remoção completa dos tecidos moles após 6 dias de tratamento. A observação periódica revelou uma degradação rápida dos tecidos, destacando-se em relação aos outros métodos utilizados. No entanto, foi necessário monitorar cuidadosamente o processo para evitar a degradação excessiva dos ossos. Foi verificado a produção de um forte odor percebido após 2 dias de início do tratamento, o que exigiu atenção adicional. Ao final do processo, observou-se um clareamento significativo dos ossos. No entanto, algumas estruturas ósseas, especialmente na região craniana, foram danificadas durante o procedimento por terem permanecido por tempo excessivo na água oxigenada, o que impediu uma análise osteológica detalhada dessas partes como foi perceptível.

O método de enterramento, que durou 60 dias, permitiu a remoção detalhada dos tecidos moles, sobrando somente sua estrutura óssea. A decomposição natural do solo com a carcaça do peixe

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

**LCS** = Leticia Cavalcante Santiago

**DCV** = Diego Carvalho Viana

**Conceptualization:** LCS, DCV

**Data curation:** LCS, DCV

**Formal Analysis:** LCS, DCV

**Funding acquisition:** LCS, DCV

**Investigation:** LCS, DCV

**Methodology:** LCS, DCV

**Project administration:** LCS, DCV

**Resources:** LCS, DCV

**Software:** LCS, DCV

**Supervision:** LCS, DCV

**Validation:** LCS, DCV

**Visualization:** LCS, DCV

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

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

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

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

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

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