

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

**EFICÁCIA DE DOIS MÉTODOS DE ESTOCAGEM DE VERTEBRADOS
DIAFANIZADOS EM COLEÇÃO DIDÁTICA¹
EFFICIENCY OF TWO METHODS OF STORING DIAFANIZED
VERTEBRATES IN DIDACTIC COLLECTION**

Bruno Guilherme Sczmanski Roesler², Raqueli Dettenborn Heiser³, Isabela Lorini Franciscatto⁴, Jéssica Ceretta Corrêa⁵, Francesca Werner Ferreira⁶

¹ Trabalho realizado durante disciplina de Estágio I

² Acadêmico do curso de Ciências Biológicas, UNIJUI, b.roesler@hotmail.com

³ Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, UNIJUI, rakellyhd@hotmail.com;

⁴ Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, UNIJUI, isabelalorini@hotmail.com;

⁵ Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, UNIJUI, je.ceretta@hotmail.com;

⁶ Professora doutora do Departamento de Ciências da Vida, UNIJUI, piscis@unijui.edu.br.

INTRODUÇÃO

As coleções científicas e didáticas armazenam grande quantidade de material a ser utilizado para estudos de identificação, classificação, morfologia e adaptações, essenciais na formação de pesquisadores como também para observação do público em geral. As coleções têm como função divulgar e promover a educação sendo fundamentais para a comunicação científica, uma vez que se constituem como base de dados essenciais para que pesquisadores sustentem seus estudos, evidenciando sua importância para o conhecimento da biodiversidade, nos quais os exemplares armazenados nas coleções atestam a riqueza biológica (MAGALHÃES; SANTOS; SALÉM, 2001).

Dentre as diversas formas de apresentação de espécimes em coleções, a diafanização, técnica feita por meio de tratamento químico (FERREIRA, 2012), permite os estudos ósseos de pequenos animais com esqueletos delicados sem que estes sejam desarticulados ou danificados, possibilitando a diferenciação dos ossos e cartilagens de outros tecidos (AURICCHIO; SALOMÃO, 2002), dependendo do objetivo do trabalho a ser realizado.

Ressalta-se que é dada a preferência para realizar a diafanização em vertebrados pequenos pelo fato de que justamente há menor quantidade de tecidos para que as substâncias químicas ajam, logo, o processo torna-se mais rápido. Outro ponto, é que se o vertebrado já for de porte grande, há outras técnicas mais interessantes que podem ser utilizadas.

A diafanização é uma técnica descrita por Wassersug (1976), que colore ossos e cartilagens, e clareia tecidos moles. A coloração das cartilagens é feita com Alcian Blue, corante que tem afinidade pelos polissacarídeos sulfatados da matriz cartilaginosa, enquanto a coloração dos ossos é feita com Alizarina Red, que tem afinidade por sais de cálcio. O clareamento de tecidos moles é realizado com o uso de solução de hidróxido de potássio a 5%, sendo que o método de conservação convencional é com a glicerina pura.

Este trabalho teve como objetivo demonstrar uma forma para apresentação para uma coleção

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

osteológica a partir da execução de uma técnica específica na preparação de vertebrados através do processo de diafanização.

METODOLOGIA

Foram utilizados um espécime de serpente *Sibynomorphus ventrimaculatus* (Boulenger, 1885) e dois de anfíbios anuros *Scinax fuscovarius* (A. Lutz, 1925) já incorporados à coleção didática do Laboratório de Zoologia da UNIJUI e conservados em álcool 70%.

O processo de diafanização escolhido foi de acordo com a técnica modificada de Dingerkus e Uhler (1977), na qual consistiu a seguinte ordem de procedimentos:

- Imersão dos espécimes em água destilada por 72 horas, sendo realizada a troca da mesma a cada 24 horas;
- Remoção de pele e gordura, evisceração e imersão em mistura de 10mg de Alcian Blue, 80ml de álcool 95% e 20ml de ácido acético glacial por período de 24 a 48 horas;
- Transferência, por três vezes, para álcool 95% a fim de neutralizar o pH ácido;
- Reidratação em série alcoólica de 90%, 80%, 70%, 40%, 15% com água destilada, na qual a troca da graduação ocorre cada vez que a peça submergisse;
- Imersão em solução saturada de 30ml de borato de sódio em 70ml de água destilada, para entrar em fase alcalina;
- Imersão em solução de 5g de KOH com 100ml de água destilada e 5mg de Alizarina Red até os ossos ficarem vermelhos; e
- Transferência em séries de água destilada glicerinada de proporção 1:3, 1:1 e 3:1, com troca cada vez que as peças submergissem.

Após a técnica, os espécimes preparados foram colocados em frascos de vidro transparente liso, sendo que o indivíduo de *S. ventrimaculatus* e um de *S. fuscovarius* foram acomodados em parafina gel enquanto o outro anuro em glicerina líquida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de diafanização mantém a integridade do esqueleto e permite a observação dos ossos e cartilagens através da musculatura, é uma das técnicas mais utilizadas na preparação de esqueletos delicados, na qual a pele é tratada com produtos químicos.

Todos os espécimes diafanizados apresentaram ossos corados em vermelho, cartilagens em azul e tecidos musculares translúcidos. A glicerina líquida mostrou ser um ótimo meio para conservar *S. fuscovarius*, de fácil manuseio e manteve a translucidez necessária para observação dos espécimes. Do mesmo modo, a parafina gel também manteve a translucidez e uniforme,

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

entretanto, foi mais trabalhoso pela necessidade de ser derretida para ser aplicada.

O resultado da *S. fuscovarius* preservada em parafina gel foi tão satisfatório quanto o das outras em glicerina líquida, mas para *S. ventrimaculatus* o efeito não foi o mesmo devido à presença de bolhas de ar na parte ventral da serpente no momento de emblocar a parafina gel no frasco.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tanto a glicerina líquida quanto a parafina gel mostraram-se eficientes meios na conservação de pequenos vertebrados diafanizados, mantendo as características necessárias para observação dos mesmos. No caso da *S. ventrimaculatus*, a presença de bolhas de ar foi devido à acomodação incomum por causa de seu comprimento corporal.

Ressalta-se que, se por um lado a glicerina líquida é mais fácil de ser manuseada, a parafina gel dá mais resistência ao manuseio e ao transporte das peças.

Assim, o uso de esqueletos auxilia nas atividades científicas e didáticas, pois fornecem informações seguras sobre as adaptações específicas dos vertebrados e pode ser fundamental para pesquisa científica, na identificação de caracteres para análises anatômicas e filogenéticas. Os estudos na área da biodiversidade necessitam de ferramentas e inúmeras informações que podem ser adquiridas por meio das coleções osteológicas, as quais são de grande importância científica tanto em museus como nas universidades.

Ainda, para a organização de uma coleção, seja para fins didáticos ou científicos, deve-se levar em consideração, alguns fatores para a preparação de esqueletos que futuramente serão incorporados ao acervo. O uso das peças deve ser definido *a priori*, de modo que poderá ou não haver a necessidade de desarticulação completa ou manutenção de cartilagens e articulações. Alguns métodos de preparação tais como a maceração química que, se não for feita com critério, podem danificar os ossos e dessa forma tornar as peças inúteis para estudos ecomorfológicos e de morfologia funcional que necessitem de comparação de determinadas características entre indivíduos ou espécies (SILVEIRA, 2008).

PALAVRAS-CHAVE: diafanização; parafina gel; glicerina líquida; pequenos vertebrados.

KEYWORDS: diaphonization; gel paraffin; liquid glycerin; small vertebrates.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AURICCHIO, Paulo; SALOMÃO, Maria da Graça (Orgs.). **Técnicas de Coleta e Preparação de Vertebrados**. São Paulo: Arujá: Instituto Pau Brasil de História, 2002.

DINGERKUS, G; UHLER, L. D. Enzyme Clearing of Alcian Blue Stained Whole Small Vertebrates for Demonstration of Cartilage. **Stain Technol.**, 1977, **52**: 229 - 232.

FERREIRA, Raniela Aparecida et al. Preparação de Coleção Didática de Vertebrados do Laboratório de Zoologia do UNILAVRAS pela Técnica de Diafanização. **VII Seminário de**

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

Iniciação Científica - VI Seminário PIBIC/CNPQ e IV Seminário PIBIC/FAPEMIG. 2012.

GERÔNIMO, Sidney; LEITE, Thássia do Rosário. A Parafina Gel Utilizada como Meio de Estocagem para Pequenos Vertebrados Diafanizados. **Science in Health**, 2011, jan-abr; 2(1): 17-19.

MAGALHÃES, Célio; SANTOS, José L. C. dos; SALÉM, Júlia Ignês. Automação de Coleções Biológicas e Informações sobre a Biodiversidade da Amazônia. In: **Parcerias Estratégicas**, n. 12, setembro, 2001, p. 294-312.

MAHECHA, G. A. B. et al. Técnica modificada de diafanização e coloração diferencial de cartilagens e ossos em pequenos vertebrados. **Rev. Bras. de Ciências Morfol.**, 1994, 11(2):204-7.

SILVEIRA, Márcio José da; OLIVEIRA, Edson Fontes de. A importância das coleções osteológicas para o estudo da biodiversidade. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, 2008, v. 3, n.1 pp.1-4, Jul-Dez.

WASSERSUG, R. J. A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin-fixed vertebrates. **Stain Technology**, 1976, 51(2):131-4.