

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

ISABELA CAROLINE MOURA DOS SANTOS

Descrição osteológica da piranha amarela (Characiformes: Serrasalminae: *Serrasalmus maculatus*)

Osteological description of the yellow piranha (Characiformes: Serrasalminae: *Serrasalmus maculatus*)

DOURADOS - MS

2024

ISABELA CAROLINE MOURA DOS SANTOS

Descrição osteológica da piranha amarela (Characiformes: Serrasalminae: *Serrasalmus maculatus*)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Rafaela Priscila Ota

Área de Concentração: Biodiversidade

DOURADOS- MS

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S237d Santos, Isabela Caroline Moura Dos

Descrição osteológica da piranha amarela (Characiformes: Serrasalminae: Serrasalmus maculatus) [recurso eletrônico] / Isabela Caroline Moura Dos Santos. -- 2024.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Rafaela Priscila Ota.

TCC (Graduação em Ciências Biológicas)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Piranha amarela. 2. Complexo de Espécies. 3. Morfologia Interna. 4. Taxonomia. I. Ota, Rafaela Priscila. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

ISABELA CAROLINE MOURA DOS SANTOS

Descrição osteológica da piranha amarela (Characiformes: Serrasalminidae: *Serrasalmus maculatus*)

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Grande Dourados.

Aprovado em: 5 de dezembro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Rafaela Priscila Ota
Universidade Federal da Grande Dourados

Prof^a. Dra. Renata Rúbia Ota
Universidade Federal da Grande Dourados

Prof. Dr. Anderson Ferreira
Universidade Federal da Grande Dourados

AGRADECIMENTOS

Este item sempre envolverá diversas pessoas que passaram pela minha vida e que de alguma forma contribuíram para minha formação pessoal e profissional. Contudo, devo destacar as mais marcantes, como é o caso da minha mãe, a Cleusa, acredito que nunca vou conseguir agradecer o suficiente e o tanto que ela merece, por sempre estar presente e me incentivando em cada passo que eu dou e em cada sonho que meu coração guarda. Foi ela quem comprou meu primeiro livro –e bancou muitos mais-, me levando a desenvolver amor pela leitura e foi ela quem dirigiu mais de 1.500 km para me levar ao meu primeiro curso prático de Biologia Marinha, obrigada por continuar me lembrando de que sou capaz, te amo com todo o meu coração.

Além disso, tenho que agradecer minha irmã, Luciane, por me auxiliar sempre, e ainda, a cada um dos amigos que fiz durante o decorrer desses anos e que me ajudaram de alguma forma a chegar aonde estou, em especial, à Juslâne e Heloize, por aturarem meus surtos sejam eles sobre livros ou faculdade, obrigada por sempre me ouvirem, e a Bárbara e Ariely, colegas de laboratório e amigas, obrigada por estarem dispostas a me ajudar sempre que precisei.

Ainda mais, devo um enorme agradecimento à minha orientadora, Rafaela Ota, muito obrigada por todo o apoio, auxílio e orientação fornecido durante esses últimos 2 anos. Também preciso agradecer ao INCT-Peixes e CNPq, pela bolsa de iniciação científica concedida e os recursos para que essa pesquisa fosse possível, e ao Núcleo de Pesquisa em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá pelo empréstimo do exemplar para a realização desta pesquisa.

Enfim, o último e mais importante, Deus, preciso deixar minha gratidão por todos que colocou em minha vida, por me guiar sempre pelos melhores caminhos e pela graça sem medidas que derramou sobre mim em todos os momentos, acredito que nunca conseguirei agradecer o suficiente por tudo que fez por mim, mas seguirei tentando todos os dias.

RESUMO

Serrasalmus maculatus possui ampla distribuição pela região Neotropical, sendo encontrada em diversos rios da bacia Amazônica e Paraná-Paraguai, habitando ambientes de águas paradas, próximos a vegetação aquática. Descrita do rio Guaporé, até 2007 era identificada na bacia do alto rio Paraná como *S. spilopleura*. A presença de uma faixa subterminal escura na nadadeira caudal fez com que houvesse essa diferenciação da *S. spilopleura*, que apresenta margem distal preta. Estudos moleculares mostraram que a variabilidade genética desta espécie é extremamente alta, refletindo a diversidade de sua distribuição geográfica, e a complicada taxonomia do gênero, indicando tratar-se de um complexo de espécies, com ao menos uma nova espécie. Assim, este estudo teve como objetivo descrever osteologicamente exemplares de *S. maculatus* que ocorrem na bacia do alto rio Paraná, para subsidiar futuras investigações sobre a taxonomia e filogenia desta espécie. As análises osteológicas ocorreram pela preparação de dois esqueletos secos utilizando besouros dermestídeos e dois indivíduos diafanizados. Características que merecem destaque são: neurocrânio com formato triangular em vista lateral, com região supraocipital com demarcação suave e frontal resguardando a primeira fontanela em formato triangular. Além disso, apresenta 35-37 vértebras totais, incluindo 4 fusionadas ao aparelho de Weber, ainda, 19-23 espinhos pré-pélvicos e 8-10 pós-pélvicos na serra abdominal. Portanto, este estudo forneceu material base para futuras comparações osteológicas da população do alto rio Paraná, podendo auxiliar na diagnose e descrição de possíveis novas espécies.

Palavras-chave: Piranha amarela, Complexo de Espécies, Morfologia Interna, Taxonomia.

ABSTRACT

Serrasalmus maculatus has a wide distribution across the Neotropical region, being found in several rivers of the Amazon and Paraná-Paraguay basins, inhabiting still-water environments near aquatic vegetation. Described from the Guaporé River, it was identified as *S. spilopleura* in the upper Paraná River basin until 2007. The presence of a dark subterminal band on the caudal fin differentiated it from *S. spilopleura*, which has a black distal margin. Molecular studies have shown that the genetic variability of this species is extremely high, reflecting the diversity of its geographical distribution and the complex taxonomy of the genus, indicating a species complex with at least one new species. Thus, this study aimed to describe the osteology of *S. maculatus* specimens from the upper Paraná River basin to support future investigations into the taxonomy and phylogeny of this species. The osteological analyses were conducted by preparing two dry skeletons using dermestid beetles and two cleared and stained specimens. Notable features include a neurocranium with a triangular shape in lateral view, a supraoccipital region with a smooth demarcation, and a frontal region surrounding the first fontanel, which has a triangular shape. Additionally, the species has 35-37 total vertebrae, including four fused to the Weberian apparatus, as well as 19-23 pre-pelvic and 8-10 post-pelvic spines on the abdominal keel. Therefore, this study provided baseline material for future osteological comparisons of the upper Paraná River population, potentially aiding in the diagnosis and description of new species.

Keywords: Yellow Piranha, Species Complex, Internal Morphology, Taxonomy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> despigmentado.....	13
Figura 2. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> com cartilagem corada em solução de ácido acético glacial 30% e 70% de álcool anidro + alcian blue.....	13
Figura 3. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> no processo de digestão na solução com a enzima tripsina.....	14
Figura 4. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> após processo de coragem de ossos.....	15
Figura 5. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> em glicerina pura com timol.....	15
Figura 6. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> diafanizado e corado.....	16
Figura 7. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> (CT: 13,5 cm) proveniente da coleção do NUP, da Universidade Estadual de Maringá (NUP-1234).....	17
Figura 8. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> (CT: 22,5 cm) pertencente à coleção de peixes do MUBIO.....	17
Figura 9. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> em processo de secagem.....	17
Figura 10. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> no dermestário.....	18
Figura 11. <i>Serrasalmus maculatus</i> visão lateral do esqueleto. Vab , vértebras abdominais; Vca , vértebras caudais.....	20
Figura 12. Serra abdominal de <i>Serrasalmus maculatus</i> . A: visão lateral. B: visão dorsal. bpt , basiptérigio; Ebl , espinho bilateral; EpPv , espinhos pós-pélvicos; EprPv , espinhos pré-pélvicos.....	20
Figura 13. Neurocrânio de <i>Serrasalmus maculatus</i> . A: Visão lateral. B: Visão dorsal. C: Visão ventral. ApW , aparelho de Weber; BarEp , barra epifisial; Boc , baseocipital; epo , epiótico; Esf , esfenótico; EtL , etimóide lateral; exo , exocipital; fpt , fossa pós temporal; Fro , frontal; Int , intercalar; mes , mesopterigoide; nas , nasal; neu , neural; OESf , orbitosfenóide; olf , olfatório; par , parietal; Pasf , parasfenóide; pro , proótico; pto , pterótico; ptf , pterosfenóide; soc , supraocipital; sorb , supraorbital; vom , vomer.....	21
Figura 14. Osteologia de <i>Serrasalmus maculatus</i> . A: Série opercular. B: Série infraorbital, visão lateral. An , antorbital; Cl , cleitro; Io1-5 , infraorbital; Iop , interopérculo; md , mandíbula; op , opérculo Pcl , pós cleitro; Prop , pré-opérculo; Pt , qua , quadrado; sop , subopérculo; suc , supracleitro.....	23

Figura 15. Série mandibular de *Serrasalmus maculatus*. A: Vista labial e lingual do pré-maxilar. B: Vista labial e lingual do dentário. **anAr**, ânguloarticular; **Ap**, processo ascendente; **Cp**, cripta dos dentes de reposição; **Lm**, lamelas da sínfise; **Lp**, processo lateral da pré-maxila; **max**, maxila; **Pmax**, pré-maxila.....23

Figura 16. Arco hióide e branquial de *Serrasalmus maculatus*. A: Arco hióide. B: Arco branquial. **Bb1-4**, basibranquial; **Bh**, basihiial; **Cb1-5**, ceratobranquial; **ChA**, ceratoial anterior; **Cp** ceratoial posterior; **Hb1-3**, hipobranquial; **HhD**, hipoial dorsal; **HhV**, hipoial ventral **RB**, U, uroial.....24

Figura 17. Esqueleto apendicular de *Serrasalmus maculatus*. A: Arco hiopalatino e série opercular. B: Cintura peitoral. **Apal**, autopalatino; **Cl**, cleitro; **cor**, coracóide; **dt**, dentes do ectopterigoide; **ect**, ectopterigoide; **exc**, extraescapular; **hio**, hiopalatino; **Iop**, interopérculo; **mes**, mesopterigoide; **met**, metapterigoide; **op**, opérculo **Pcl 1-3**, pós cleitro; **Prop**, pré-opérculo; **Pt** ; **ptem**, pós-temporal; **qua**, quadrado; **rpeit**, raios da nadadeira peitoral; **sop**, subopérculo; **suc**, supracleitro.....25

Figura 18. Nadadeira dorsal, anal e caudal de *Serrasalmus maculatus*. A: nadadeira dorsal. B: nadadeira anal. C: nadadeira caudal. **Cp2-3**, centro preural; **dr**, distal radial; **ep1-2**, epurais; **Epd**, espinho pré-dorsal; **h1-5**, hipurais; **pmr**, proximal médio radial; **Rna**, raios da nadadeira anal; **RnC**, raios da nadadeira caudal; **RnD**, raios da nadadeira dorsal; **U**, centro ural.....26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
2.2 Geral:.....	12
2.3 Específicos:.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4. RESULTADOS.....	19
5. DISCUSSÃO.....	26
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
7. REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

Serrasalmus maculatus Kner, 1858 é uma espécie de peixe popularmente conhecida como piranha-amarela. Essa espécie faz parte dos Characiformes, uma ordem de peixes de água doce que apresenta uma vasta distribuição pela África, América do Norte, América Central e América do Sul, até o momento englobando 2.334 espécies válidas distribuídas em 28 famílias (Toledo-Piza *et al.*, 2024). Dentre elas destaca-se Serrasalminidae, que abriga além das temidas piranhas outras espécies que possuem corpo muito alto, comprimido e uma serra de espinhos na região ventral do corpo, conhecidas popularmente como pacus, tambaqui, pirapitinga (Jégu, 2003; Ota *et al.*, 2022).

Atualmente, Serrasalminidae possui 17 gêneros e 102 espécies amplamente distribuídas nas bacias dos rios Amazonas, do Orinoco e Paraná-Paraguai (In Toledo-Piza *et al.* 2024). De acordo com a filogenia mais recente, utilizando elementos ultraconservados do DNA, a família é composta por duas subfamílias: Colossomatinae, incluindo representantes sem espinho pré-dorsal e Serrasalminae, representada pelas espécies que possuem essa estrutura. Ainda, Serrasalminae possui duas tribos: Myleini, que inclui os pacus, e Serrasalmini que compreende *Metynnis* e as piranhas (Mateussi *et al.*, 2020).

As piranhas dos gêneros *Pygocentrus* Müller & Troschel, 1844, *Pygopristis* Müller & Troschel, 1844 e *Serrasalmus* Lacepède, 1803 são peixes muito icônicos e emblemáticos, conhecidos pela voracidade e agressividade da mordida, temidos por possíveis ataques a humanos (Roosevelt, 1914; Machado-Allison, 2002). Essas características estão associadas à forma dos dentes, tri- ou pentacuspídeos, cortantes, distribuídos em apenas uma série no pré-maxilar e o hábito alimentar carnívoro, podendo consumir desde escamas, raios de nadadeiras, pedaços de músculo e até peixes inteiros (Northcote *et al.*, 1986; Sazima, Machado, 1990; Silva *et al.*, 2015).

A piranha amarela, também chamada de pirambeba (Ota *et al.*, 2018), possui ampla distribuição pela região Neotropical, sendo registrada em diversos rios da bacia Amazônica, além da bacia dos rios Paraná-Paraguai (Frickle *et al.*, 2024), habitando ambientes de águas paradas, próximos a vegetação aquática (Sazima, Machado, 1990). É caracterizada pelo colorido do corpo predominantemente prateado, com região dorsal mais escura e ventral amarelada, com presença de numerosas máculas escuras pelo flanco. As nadadeiras são amareladas a alaranjadas, as ímpares com a margem distal escura, exceto pela caudal, que possui uma faixa transversal subterminal enegrecida e margem distal hialina (Ota *et al.*, 2018; Ota *et al.*, 2022).

Estudos moleculares e morfológicos utilizando o auxílio de marcadores como isoenzimas e DNA mitocondrial mostraram que a variabilidade genética desta espécie é extremamente alta, refletindo a diversidade de sua área de distribuição geográfica (Bignotto *et al.*, 2020), bem como a complicada taxonomia do gênero. A última espécie descrita em *Serrasalmus* foi *S. magallanesi* (Gallo-Cardozo *et al.*, 2024), sendo que na última década foram descritas formalmente 16 novas espécies de serrasalmídeos (Frickle *et al.*, 2024). Isso não significa que não existam novas espécies de piranhas para serem descobertas, o que pode ser reforçado pelo estudo já mencionado de Bignotto *et al.* (2018), além de Machado *et al.* (2018) que recuperaram múltiplas linhagens dentro do gênero.

No entanto, a compreensão sobre os limites intra- e interespecíficos dessas espécies é extremamente agravada pela falta de estudos de revisões taxonômicas mais recentes, com chaves de identificação. Fatores que contribuem para esse impedimento taxonômico são a diversidade de espécies e a grande variação morfológica que apresentam. *Serrasalmus* possui 34 espécies consideradas válidas atualmente (Frickle *et al.*, 2024), que representa um terço das 101 espécies viventes de Serrasalmidae. Essa grande diversidade é acompanhada por ampla variação na forma do corpo entre jovens e adultos, além do dimorfismo sexual, em que machos e fêmeas podem apresentar coloridos diferentes (Jégu e Santos, 2001).

Nesse sentido, a descrição osteológica pode representar um conjunto de informações adicionais além daquelas tradicionalmente utilizadas considerando a morfologia externa, fornecendo dados sobre número e forma das vértebras, espinhos que compõem a serra ventral, ossos do neurocrânio, entre outros. Em Serrasalmidae ela tem sido amplamente utilizada (*e.g.* Machado-Allison, 1985; Ota *et al.*, 2016; 2020). Além da compreensão sobre a morfologia da espécie, essa técnica permite um maior entendimento das relações filogenéticas com as demais espécies. Pois sua análise permite observar o compartilhamento de caracteres derivados, a modificação e surgimento de novas estruturas, e conseqüentemente de espécies novas, reforçando o entendimento de como elas se adaptam às mudanças ambientais.

Assim, este estudo visa descrever osteologicamente exemplares de *Serrasalmus maculatus*, primeiramente daqueles que ocorrem na bacia do alto rio Paraná. Bignotto *et al.* (2020) apontaram que as populações dessa espécie que ocorrem nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Tocantins-Araguaia apresentam elevada diferença genética quanto ao gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I, conhecido como DNA Barcode, indicando que se trata de um complexo de espécies, e pode haver, pelo menos uma nova espécie aguardando descrição formal. Portanto, esse trabalho poderá subsidiar futuras investigações sobre a taxonomia e filogenia de *Serrasalmus maculatus*, permitindo comparações sobre

osteologia da população do alto rio Paraná com as demais, fornecendo novas evidências que poderão auxiliar na diagnose e descrição de possíveis novas espécies.

2. OBJETIVOS

2.2 Geral:

Realizar a caracterização osteológica detalhada de exemplares de *Serrasalmus maculatus* provenientes da bacia do alto rio Paraná.

2.3 Específicos:

- Identificar modificações em ossos dos esqueletos axial e apendicular de *Serrasalmus maculatus*;
- Fornecer uma metodologia detalhada para o preparo de esqueletos secos e diafanizados;
- Subsidiar futuras pesquisas sobre taxonomia de *Serrasalmus maculatus*, incluindo a descrição de possíveis novas espécies.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 4 indivíduos da população do alto rio Paraná, sendo três exemplares da coleção ictiológica do Museu de Biodiversidade (MuBio-Peixes) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e um da Coleção de Peixes do Núcleo de Pesquisas (NUP) em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM) adquirido via empréstimo.

O estudo da osteologia de *S. maculatus* foi realizado através da análise de dois esqueletos secos e de dois exemplares diafanizados e corados. Os exemplares menores (CP: 3,5 e 4 cm) foram diafanizados e corados seguindo a técnica de Taylor e Van Dyke (1985), que envolve as seguintes etapas: despigmentação, desidratação, coloração das cartilagens, digestão e coloração dos ossos. Os reagentes e passo a passo detalhados seguem abaixo:

Devido ao tamanho diminuto dos exemplares utilizados, não foi necessária a retirada da pele, olhos e nem vísceras, sendo assim, os exemplares foram levados direto para o processo de despigmentação.

1. Despigmentação: os indivíduos são colocados em solução de água + hidróxido de potássio (KOH)1% (3 bolinhas) até que estivessem completamente despigmentados (Figura 1).



Figura 1. Exemplar de *Serrasalmus maculatus* despigmentado.

2. Desidratação: acondicionamento dos indivíduos em álcool absoluto por 48h.

3. Corando cartilagens: os indivíduos eram colocados em solução de ácido acético glacial 30% e 70% de álcool P. A. + alcian blue por 24h. Posteriormente, eram bem lavados em água corrente e depois mantidos em solução de álcool P. A. por mais 24h (Fig. 2).



Figura 2. Exemplar de *Serrasalmus maculatus* com cartilagem corada em solução de ácido acético glacial 30% e 70% de álcool anidro + alcian blue.

4. Preparação para digestão: Primeiramente era preparada uma solução de água saturada de bórax (buffer), que consiste na adição de bórax em água até que o mesmo decante. Em outro recipiente, utiliza-se uma proporção de 7 partes de água e 3 de buffer, além da adição de enzima (tripsina ou pancreatina). Para cada 250 ml adicionou-se aproximadamente meia colher de café rasa de enzima. Então, o peixe utilizado foi adicionado a esse recipiente e

mantido até que ficasse translúcido (Figura 3). Caso necessário, a solução era trocada quando estivesse muito opaca. A solução era injetada pela abertura anal do indivíduo para que a musculatura próxima a coluna fosse digerida. Uma vez que o tempo de digestão varia de acordo com o tamanho do exemplar e tempo de fixação, e apenas após esse processo é possível prosseguir para as etapas finais: coloração dos ossos e preservação.



Figura 3. Exemplar de *Serrasalmus maculatus* no processo de digestão na solução com a enzima tripsina.

5. Corando os ossos: o indivíduo foi transferido para uma solução de água destilada + KOH 1% + uma pitada de alizarina (até a água ficar roxo escuro, mas ainda translúcido). O indivíduo foi mantido nessa solução por volta de 24 horas ou até corar totalmente, incluindo as vértebras (Figura 4).



Figura 4. Exemplar de *Serrasalmus maculatus* após processo de coragem de ossos.

6. Preservação: os exemplares foram armazenados em uma solução composta por 70% de água e 30% de glicerina + KOH 1%. Após 24 horas, ou até afundarem, foram trocados para uma solução de 50% de água e 50% de glicerina + KOH 1%. Em sequência, após 24 horas ou após atingirem o fundo do frasco foram transferidos para uma solução de 30% de água e 70% de glicerina. Finalmente, após 24 horas foram transferidos para glicerina pura com timol, finalizando assim, o processo de diafanização (Figura 5).



Figura 5. Exemplar de *Serrasalmus maculatus* em glicerina pura com timol.

A análise osteológica dos exemplares diafanizados foi realizada ao final do procedimento, em que primeiramente foram anotadas a quantidade de vértebras e raios das nadadeiras, e feita as fotografias de suas estruturas inteiras (Figura 6). Posteriormente, os

indivíduos foram dissecados para que cada componente do esqueleto axial e perpendicular fosse identificado e ilustrado.



Figura 6. Exemplar de *Serrasalmus maculatus* diafanizado e corado.

Os maiores exemplares (10 e 22,5 cm CP) foram preparados na forma de esqueletos secos, limpos com auxílio de uma colônia de larvas de besouros dermestídeos. Antes de serem submetidos a digestão dos *Dermestes* spp. os tecidos moles foram removidos com auxílio de bisturis, pinças e tesouras. Os exemplares fotografados foram clarificados com solução de hipoclorito de sódio (0,001%) e peróxido de hidrogênio 30 volumes (0,01%). Foram preparados dois esqueletos secos pertencentes à coleção de peixes do MUBIO e NUP 1234, Reservatório Corumbá, Caldas Novas, Goiás, Brasil, (Figuras 7 e 8). A preparação desses exemplares foi mais demorada, pois haviam sido fixados no formol, sendo assim, foi necessário deixá-los imersos por sete dias em uma bandeja com uma mistura de água, KOH e solução Scott, um suplemento alimentar à base de óleo de fígado de bacalhau, para que o peixe ficasse mais palatável para os dermestes. Depois desse período, os peixes foram retirados da imersão e deixados para secarem (Figura 9). Por fim, depois de secos foram colocados no dermestário (Figura 10).



Figura 7. Exemplar de *Serrasalmus maculatus*, NUP -1234 , 10 cm CP, bacia do alto rio Paraná, PR.



Figura 8. Exemplar de *Serrasalmus maculatus*, MUBIO, 22,5 cm CP, rio Dourados, afluente do rio Ivinhema, bacia do alto rio Paraná, MS.



Figura 9. Exemplar de *Serrasalmus maculatus* em processo de secagem.



Figura 10. Exemplar de *Serrasalmus maculatus*, NUP 1234, 10 cm CP, no dermestário.

Quando finalizados, os esqueletos foram retirados do dermestário e colocados em uma solução com água sanitária durante aproximadamente 15 minutos para que ocorresse seu clareamento e para que os besouros restantes fossem completamente removidos. Com os esqueletos prontos, foi iniciada a análise osteológica, contagens de vértebras e raios das nadadeiras, e fotografia das estruturas para a posterior identificação.

A dissecação para análise osteológica foi feita de acordo com a metodologia proposta por Weitzman (1974). A nomenclatura utilizada seguiu Weitzman (1962) com alterações na sequência de ossificação proposta por Mattox *et al.* (2014). A descrição osteológica seguiu Ota *et al.* (2016) e foi dividida em esqueleto axial e apendicular, apresentados resumidamente abaixo.

Esqueleto axial:

1. Neurocrânio: composto pelas regiões olfatória (ossos mesetmóide, etmóide lateral, vômer e nasal), orbital (ossos parasfenoide, frontal, pterofenoide e orbitofenoide), ótica (ossos proótico, esfenótico, parietal, pterótico e epiótico) e occipital (ossos basioccipital, exoccipital e supraoccipital);
2. Aparelho de Weber: quatro primeiras vértebras modificadas, *intercalarium*, *scaphium*, *suspensorium*, *tripus*, *claustrum* e supraneural 3;
3. Série circumorbital: antorbital, cinco ossos infraorbitais e supraorbital;
4. Maxilas: pré-maxilar, maxilar, dentário, ângulo-articular, retro-articular e coronomeckeliano;

5. Vértex: vértebras abdominais e caudais;
6. Supraneurais: número e forma do espinho pré-dorsal (primeiro supraneural modificado).

Esqueleto apendicular

1. Arco hiopalatino: quadrado, hiomandibular, endopterigoide, metapterigoide, ectopterigóide, simplético e autopalatino;
2. Série opercular: pré-opérculo, interopérculo, subopérculo e opérculo;
3. Arco hioide: raios branquiostégios, ceratoial anterior e posterior, uroial, hioial dorsal e ventral, basihial e interial;
4. Cintura peitoral: cleitro, supracleitro, pós-cleitro 1 a 3, pós-temporal, coracóide, escápula, mesocoracóide, extraescapular e raios;
5. Cintura pélvica: basipterígio e raios da nadadeira;
6. Nadadeira dorsal: pterigióforos, radiais proximais e raios;
7. Nadadeira anal: pterigióforos, radiais proximais e raios;
8. Nadadeira caudal e esqueleto de suporte: raios principais, raios procurrentes, hipurais 1 a 6 e epurais 1 e 2.

As contagens dos raios das nadadeiras foram apresentadas seguidas pela frequência de cada uma entre parêntesis.

4. RESULTADOS

Foram observadas 35 (1), 36 (2) ou 37 (1) vértebras totais, sendo 4 delas fusionadas ao aparelho de Weber, 11 (4) vértebras abdominais e 20 (1), 21 (2) ou 22 (1) vértebras caudais (Figura 11). Como característico da espécie, a *S. maculatus*, apresenta uma serra abdominal composta por diversos espinhos pontiagudos próximos uns dos outros com ponta voltada para parte posterior do corpo do animal (Figura 12). Ao analisar a estrutura foi visto que os exemplares apresentaram 19 (1), 20 (1), 21 (1) ou 23 (1) espinhos pré-pélvicos e 8 (2), 9 (1) ou 10 (1) espinhos pós-pélvicos (Figura 13). Além disso, a cintura pélvica está inserida dentro da serra, composta pelo basipterígio em formato de V, estrutura que suporta a nadadeira pélvica acima da serra abdominal.



Figura 11. *Serrasalmus maculatus* visão lateral do esqueleto. **Vab**, vértebras abdominais; **Vca**, vértebras caudais.

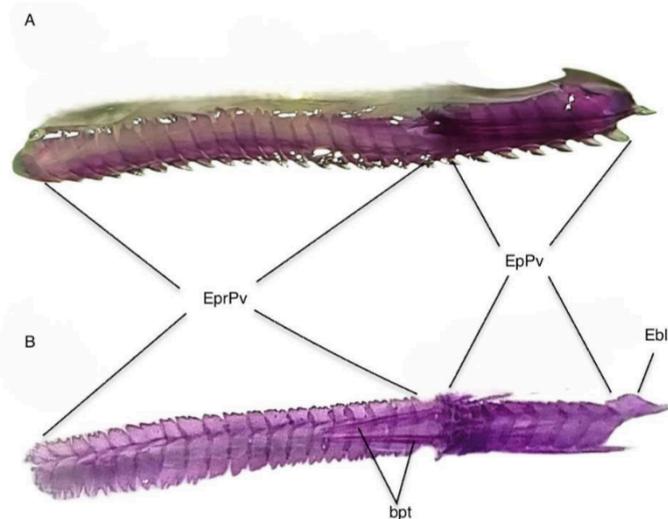


Figura 12. Serra abdominal de *Serrasalmus maculatus*. A: visão lateral. B: visão dorsal. **bpt**, basiptérigio; **Ebl**, espinho bilateral; **EpPv**, espinhos pós-pélvicos; **EprPv**, espinhos pré-pélvicos.

O neurocrânio dessa espécie possui formato triangular com a região supraocipital com demarcação suave. Para a região olfatória é possível identificar: mesetmoide alongado e voltado para baixo na vista dorsal e lateral, e articulado a região anterior do vômer. Etmóide lateral alongado lateralmente e com um formato meio quadrangular em vista ventral. Vômer com região anterior em formato quadrangular em vista ventral e com leves pontas demarcadas

em sua extremidade anterior. Nasal estreito e alongado com delimitação bem definida em vista dorsal (Figura 13).

Região orbital: Parasfenoide longo formando quase uma reta em vista lateral e achatado lateralmente em vista ventral. Frontal em formato triangular e extremamente alongado, resguardando a primeira fontanela também alongada, mas com um formato lembrando uma gota. Pterofenoide diminuto ligado ao orbitosfenóide. Orbitosfenóide conectado com o parasfenoide. Região ótica: Proótico bem fino com formato triangular em vista ventral. Esfenótico com margem apontada para fora. Parietal estriado em sua região dorsal, se estreitando gradativamente ao final do crânio. Intercalar bem pequeno, laminar com extremidade apontada para fora. Pterótico laminar articulado lateralmente com o esfenótico e com formato elíptico em vista ventral. Epiótico se estendendo a margem do parietal e pterótico. Região occipital: Basioccipital formando a superfície para as cápsulas lagenares. Exoccipital diminuto e apresentando curvatura. Supraoccipital com espinha longa, bem desenvolvida com ponta fina na extremidade final. Aparelho de Weber bem delimitado, sendo possível a identificação das 4 vértebras fusionadas a ele.

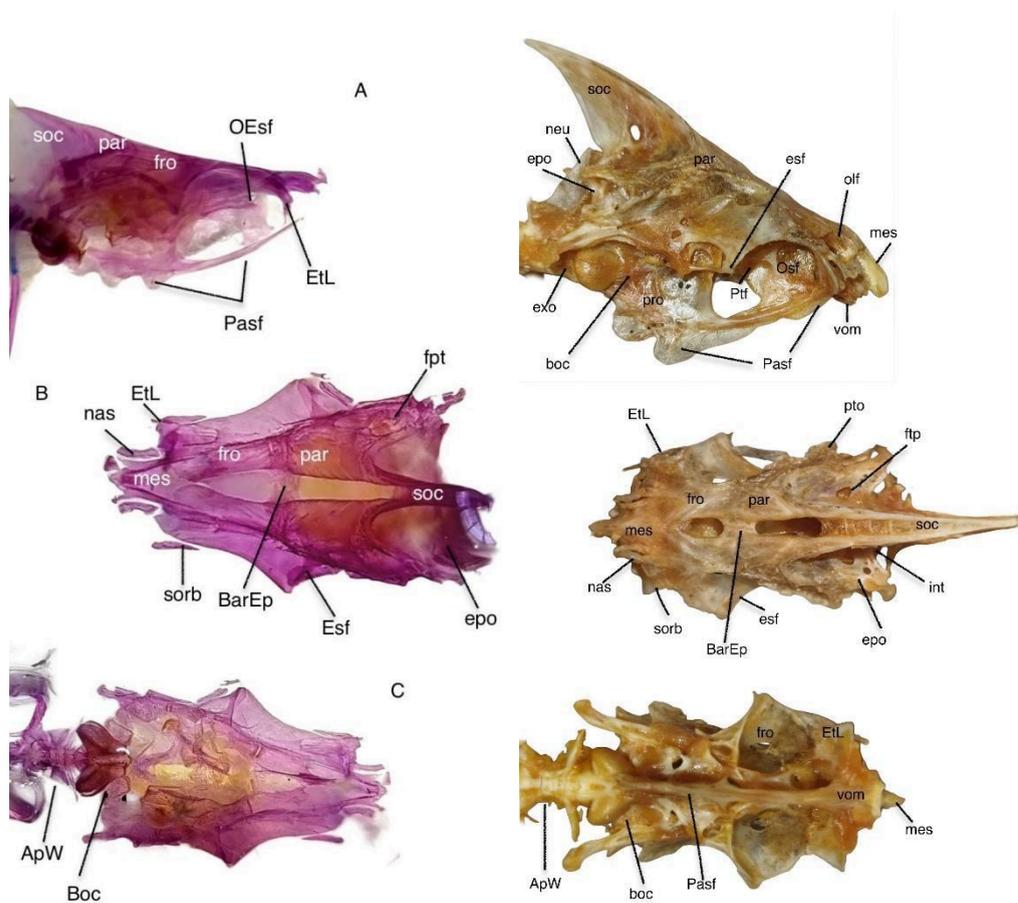


Figura 13. Neurocrânio de *Serrasalmus maculatus*. A: Visão lateral. B: Visão dorsal. C: Visão ventral. **ApW**, aparelho de Weber; **BarEp**, barra epifisial; **Boc**, baseocipital; **epo**, epiótico; **Esf**, esfenótico; **EtL**, etimóide lateral; **exo**, exocipital; **fpt**, fossa pós temporal; **Fro**, frontal; **Int**, intercalar; **mes**, mesopterigoide; **nas**, nasal; **neu**, neural; **OEsf**, orbitosfenóide; **olf**, olfatório; **par**, parietal; **Pasf**, parasfenóide; **pro**, proótico; **pto**, pterótico; **ptf**, pterosfenóide; **soc**, supraocipital; **sorb**, supraorbital; **vom**, vômer.

Para o esqueleto axial as figuras 14, 15 e 16 ilustram a série circumorbital e maxilas. Série circumorbital (Figura 14b): Antorbital pequeno e curvado, cinco infraorbitais formando um círculo incompleto, sendo infraorbitais 2-4 levemente lobulados e infraorbital 5 em formato de "I", localizados na bochecha do indivíduo. Supraorbital ovalado não conectando com infraorbitais. Maxilas (Figura 14a): pré-maxilar fixa ao mesetmoide com processo ascendente alongado, lateral com uma depressão para a inserção do maxilar. Maxilar articulado ao pré-maxilar, com porção distal mais fina que na inserção apontada para o dentário. Apresenta 6 dentes triangulares com cúspide do dente anterior a frente do dente posterior, sendo o último bem alongado. Dentário apresentando 8 dentes triangulares cortantes. Ângulo-articular pequeno, restrito à porção dorsal, com processo pontiagudo. Retro-articular alongado verticalmente. Lamelas da sínfise paralelas entre si (Figura 15).

Série opercular (Figura 14): Opérculo estreito e semicircular. Pré-opérculo laminar margeando o quadrado e hiomandibular. Interopérculo laminar, estreito e em formato retangular. Subopérculo alongado na margem ventral do opérculo. Arco hiopalatino (Figura 17a): Quadrado, hiomandibular, endopterigoide consideravelmente grande com formato de semicírculo fechado. Metapterigóide com ponta apontada para a região frontal. Ectopterigóide estreito apresenta 6 dentes pontiagudos. Simplético pequeno localizado entre o quadrado e o metapterigóide. Autopalatino levemente quadrangular.

Arco hióide (Figura 16a): 4 raios branquiostégios, o quarto sendo o mais longo. Ceratoial anterior com margem anterior maior conectando com o ceratorial posterior, e ceratorial posterior pequeno com formato de diamante. Uroial em formato de triângulo isósceles. Hipoial dorsal e ventral localizados na extremidade do arco hioide e com formato diminuto. Basihial triangular e bem alongado. Interial pequeno e articulado ao hiomandibular. Arco branquial (Figura 16b): Hipobranquial pequeno com formato de um círculo irregular. 5 ceratobranquiais articulados a cada hipobranquial. Rastros branquiais (região corada levemente em azul) articulados aos ceratobranquiais.

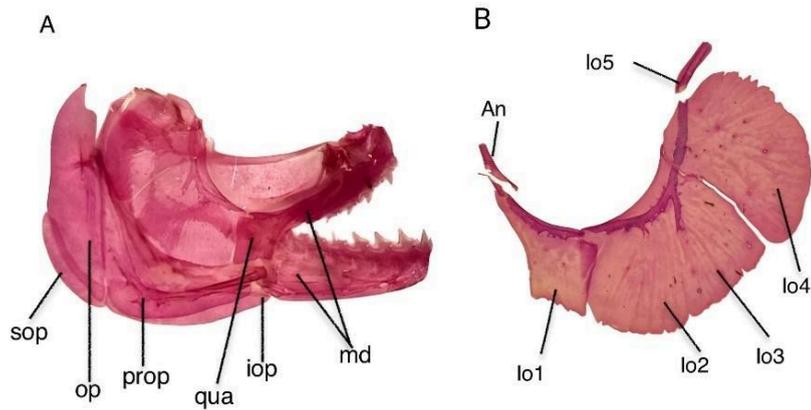


Figura 14. Osteologia de *Serrasalmus maculatus*. A: Série opercular. B: Série infraorbital, visão lateral. **An**, antorbital; **Cl**, cleitro; **Io1-5**, infraorbital; **Iop**, interopérculo; **md**, mandíbula; **op**, opérculo **Pcl**, pós cleitro; **Prop**, pré-opérculo; **Pt**, **qua**, quadrado; **sop**, subopérculo; **suc**, supracleitro.

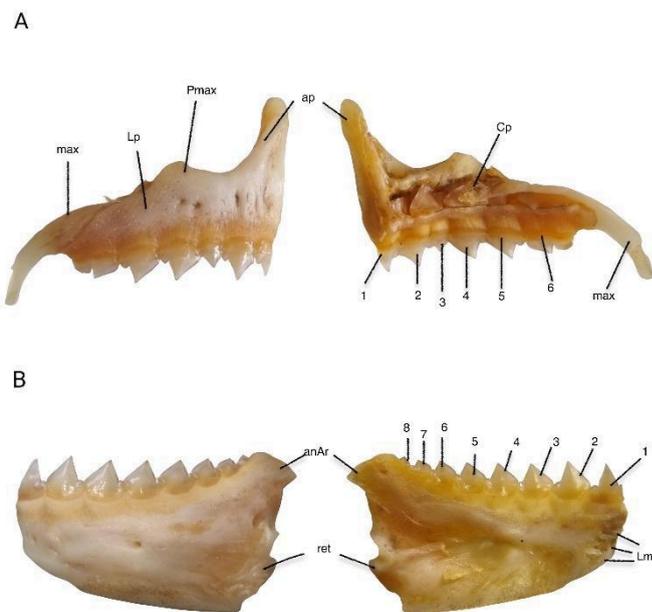


Figura 15. Série mandibular de *Serrasalmus maculatus*. A: Vista labial e lingual do pré-maxilar. B: Vista labial e lingual do dentário. **anAr**, ânguloarticular; **Ap**, processo ascendente; **Cp**, cripta dos dentes de reposição; **Lm**, lamelas da sínfise; **Lp**, processo lateral da pré-maxila; **max**, maxila; **Pmax**, pré-maxila.

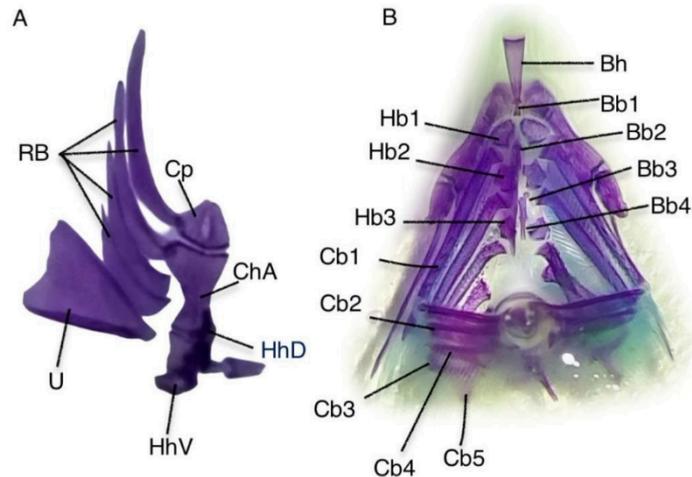


Figura 16. Arco hióide e branquial de *Serrasalmus maculatus*. A: Arco hióide. B: Arco branquial. **Bb1-4**, basibranquial; **Bh**, basihial; **Cb1-5**, ceratobranquial; **ChA**, ceratoial anterior; **Cp** ceratoial posterior; **Hb1-3**, hipobranquial; **HhD**, hipoial dorsal; **HhV**, hipoial ventral **RB**, **U**, uroial.

Cintura peitoral (Figura 17b): Cleitro bem desenvolvido com extremidade distal pontiaguda estendendo-se até a metade do supracleitro. Supracleitro alongado. Pós-cleitro 1 alongado verticalmente. Pós-cleitro 2 também alongado verticalmente e sobreposto pelo cleitro. Pós-cleitro 3 extremamente alongado com ponta se estendendo além da nadadeira peitoral. Pós-temporal fino e pequeno. Escápula com extremidade distal pontuda e com formato semelhante a um losângulo. Coracóide conectando o cleitro anterior e posteriormente. Mesocoracóide com porção dorsal articulada ao cleitro e porção ventral em contato com o coracóide. Extraescapular pequeno posicionado anteroventral ao pós-temporal.

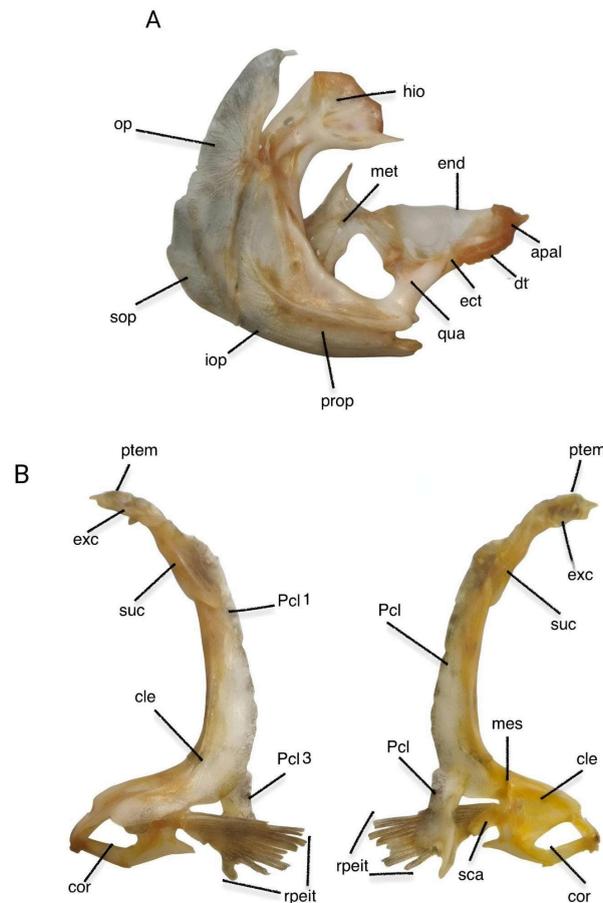


Figura 17. Esqueleto apendicular de *Serrasalmus maculatus*. A: Arco hiopalatino e série opercular. B: Cintura peitoral. **Apal**, autopalatino; **Cl**, cleitro; **cor**, coracóide; **dt**, dentes do ectopterigoide; **ect**, ectopterigoide; **exc**, extraescapular; **hio**, hiopalatino; **Iop**, interopérculo; **mes**, mesopterigoide; **met**, metapterigoide; **op**, opérculo **Pcl 1-3**, pós cleitro; **Prop**, pré-opérculo; **Pt** ; **ptem**, pós-temporal; **qua**, quadrado; **rpeit**, raios da nadadeira peitoral; **sop**, subopérculo; **suc**, supracleitro.

Por fim, a figura 18 mostrando as nadadeiras dorsal, anal e caudal. Nadadeira dorsal em que é possível identificar os proximais radiais e raios, além dos hipurais e epurais da nadadeira caudal. Os indivíduos apresentaram nadadeira dorsal com um espinho pré-dorsal pontiagudo anteriormente direcionado, nadadeira anal alongada e com o dobro do tamanho da dorsal, nadadeira caudal furcada com o lobo inferior sendo levemente maior que superior. Em relação a quantidade de raios nas nadadeiras analisadas, foi visto que os exemplares apresentaram nadadeira dorsal com ii, 13 (2), i, 14 (1) ou 15 (1) raios; nadadeira peitoral com i, 10 (1), 11 (1) ou 14 (2) raios; nadadeira pélvica com i, 6 (4) raios; nadadeira anal com iii, 27 (1), 30 (2) ou 31 (1) raios; e nadadeira caudal com 9+8 (4) raios.

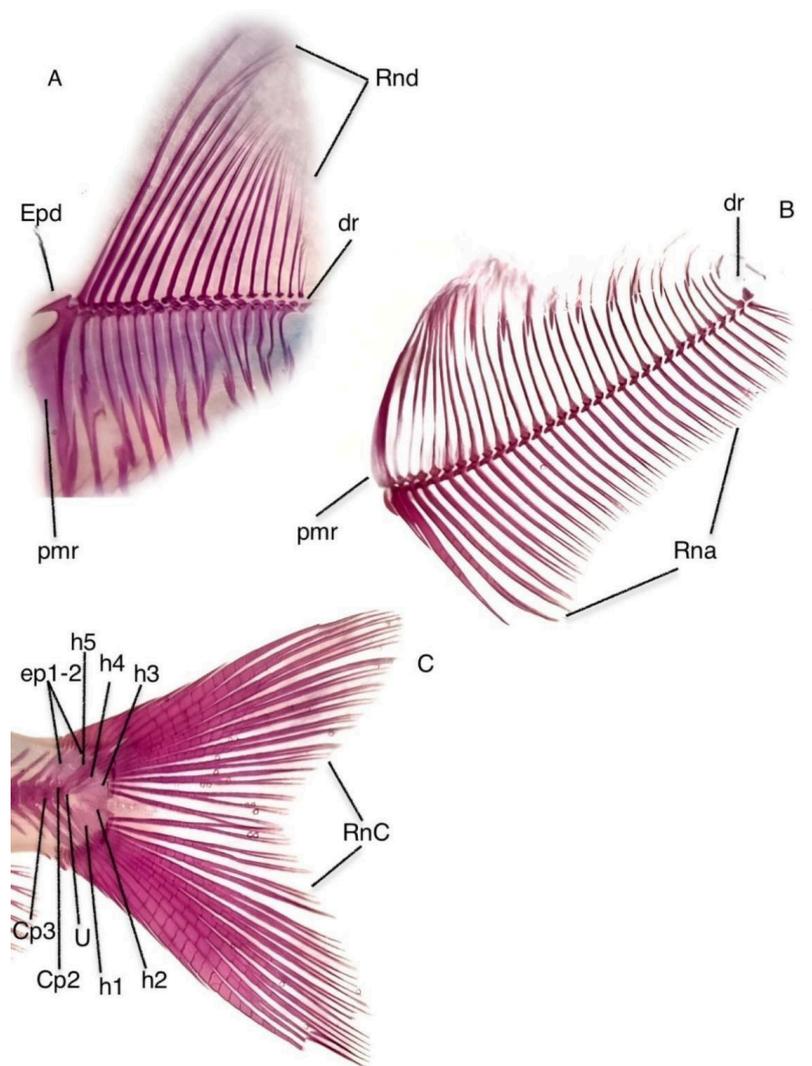


Figura 18. Nadadeira dorsal, anal e caudal de *Serrasalmus maculatus*. A: nadadeira dorsal. B: nadadeira anal. C: nadadeira caudal. **Cp2-3**, centro preural; **dr**, distal radial; **ep1-2**, epurais; **Epd**, espinho pré-dorsal; **h1-5**, hipurais; **pmr**, proximal médio radial; **Rna**, raios da nadadeira anal; **RnC**, raios da nadadeira caudal; **RnD**, raios da nadadeira dorsal; **U**, centro ural.

5. DISCUSSÃO

Por muito tempo a espécie *Serrasalmus maculatus* estava na sinonímia de *S. spilopleura*, visto que ambas as espécies foram descritas do rio Guaporé, eram consideradas como uma única espécie. Entretanto, Jégu e Santos (2001) desenvolveram um estudo analisando e comparando características morfológicas, possibilitando assim a identificação de diferenças que distinguem as duas espécies. A principal diferença é a presença de uma faixa

subterminal escura e margem distal hialina na nadadeira caudal da *S. maculatus*, diferentemente da *S. spilopleura*, que apresenta a margem distal preta.

O propósito deste trabalho surgiu com os resultados da análise de Bignotto *et al.* (2020) que mostraram que a variabilidade genética da espécie trabalhada aqui é extremamente alta. E levando em consideração que apresenta uma distribuição bem ampla e taxonomia do gênero complicada, é possível que mais de uma espécie esteja sendo identificada como *S. maculatus*.

Ao olhar para a série tipo de *S. maculatus* estudada por Jégu e Santos (2001) foi possível notar diferenças principalmente em relação ao número de espinhos pélvicos. Foi visto que os exemplares tipo apresentaram 23 (1), 22 (1) e 25 (1) espinhos pré-pélvicos, uma quantidade maior que dos exemplares analisados neste trabalho que apresentaram 19 (1), 20 (1), 21 (1) e 23 (1).

Além disso, o ectopterigoide da série tipo apresentou 5 (2) e 6 (1) dentes, sendo assim, apenas um dos exemplares apresentou a mesma quantidade dos estudados aqui. Ademais, a série tipo apresentou um número menor de dentes no dentário, tendo 6 (1) e 7 (2), um a menos que os estudados aqui que apresentaram 8 (4) dentes nessa estrutura.

Também foi possível notar que os exemplares da série tipo praticamente não variaram muito na quantidade de raios das nadadeiras, apresentando nadadeira dorsal com ii, 14 (3) raios e nadadeira anal com iii, 30 (2) e 32 (1). Ao contrário dos analisados neste trabalho, que variaram em quase todas as contagens, apresentando nadadeira dorsal com ii, 13 (2), i, 14 (1) ou 15 (1) raios, e nadadeira anal com iii, 27 (1), 30 (2) ou 31 (1) raios.

Por conseguinte, a descrição osteológica realizada neste trabalho permitiu que algumas análises fossem feitas, sendo possível observar que os exemplares estudados apresentaram uma variação considerável em todas as contagens elencadas. Ainda, foi possível observar que o neurocrânio desta espécie possui uma demarcação mais suave que o visto em *Serrasalmus marginatus* que apresenta uma curva bem demarcada e um focinho mais alongado.

Dito isso, Jégu e Santos (2001) não analisaram todas as características presentes neste estudo para que houvesse uma comparação mais elaborada. Entretanto, as que foram analisadas mostraram resultados semelhantes aos obtidos aqui, com poucas variações. Portanto, é importante que seja feita a análise de mais exemplares, provenientes de outras

bacias, para uma comparação mais completa, a fim de auxiliar na investigação da possibilidade de uma nova espécie dentro de *Serrasalmus maculatus*.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos osteológicos são um promissor aliado para auxiliar na diferenciação de espécies de peixes, especialmente em casos como o de *S. maculatus*, que como mostrado em estudos moleculares e morfológicos, apresentam uma alta variabilidade e ampla distribuição, dificultando assim, a identificação de novas espécies entre elas. Portanto, o estudo da osteologia pode fornecer informações além das mais utilizadas, como a morfologia externa. Sendo assim, ao final desta pesquisa, como mostrado, foi possível fornecer essas informações sobre a espécie *S. maculatus*, disponibilizando material para futuras pesquisas e investigações se há mais de uma espécie ainda sendo identificada. Ainda, o material utilizado durante o estudo agregou o acervo ictiológico do MuBio, com os esqueletos secos e os exemplares diafanizados, sendo utilizados em diversos projetos de extensão, assim como, em disciplinas de Ciências Biológicas.

7. REFERÊNCIAS

- Bignotto TS, Maniglia TC, Gomes VN, Oliveira IJ, Agostinho CS, Prioli SMAP, Prioli AJ. 2020. Genetic evidence for a species complex within the piranha *Serrasalmus maculatus* (Characiformes, Serrasalminidae) from three Neotropical river basins based on mitochondrial DNA sequences. *Genomics and Bioinformatics*, 43(1): 1-10.
- Fink WF, Machado-Allison A. 1992. Three new species of piranhas from Brazil and Venezuela (Teleostei: Characiformes). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 3(1): 55-71.
- Fricke, R., Eschmeyer, W. N. & Van der Laan, R. (eds) 2023. Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, species, references. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>).
Versão eletrônica acessada em 18 de novembro de 2024.

- Gallo-Cardozo, F., Maldonado, M., Careaga, M. et al. 2024. A New Species of Piranha (Serrasalmus, Serrasalmidae) from the Upper Madeira River System, Amazon Basin, Bolivia. *J. Ichthyol.* 64, 386–409.
- Jégu M. 2003. Subfamily Serrasalminae. Pp. 185-199. In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ (Eds). *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. EDIPUCRS, Porto Alegre.
- Jégu, M., GM dos Santos. 2001. Mise au point à propos de *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858 et réhabilitation de *S. maculatus* Kner, 1858 (Characidae : Serrasalminae). *Muséum national d'histoire naturelle*, v. 25, n. 2,.
- Kner R. 1858. Zur Familie der Characinen. *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe* v. 32 (no. 22): 163-168.
- Machado-Allison, A. 1985. Estudios sobre la Subfamilia Serrasalminae. Parte III: Sobre el estatus genérico y relaciones filogenéticas de los géneros *Pygopristis*, *Pygocentrus*, *Pristobrycon* y *Serrasalmus* (TeleosteiCharacidae- Serrasalminae). *Acta Biológica Venezuelana*, 12(1): 19-42.
- Machado-Allison A. 2002. Los peces caribes de Venezuela: una aproximacion a su studio taxonómico. *Boletín de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales*, 62(1): 35-88.
- Machado VN, Collins RA, Ota RP, Andrade MC, Farias IP, Hrbek T. 2018. One thousand DNA barcodes of piranhas and pacus reveal geographic structure and unrecognized diversity in the Amazon. *Scientific Reports*, 8(8387): 1-12.
- Mateussi NTB, Melo BF, Ota RP, Roxo FF, Ochoa LE, Foresti F, Oliveira C. 2020. Phylogenomics of the Neotropical fish family Serrasalmidae with a novel intrafamilial classification (Teleostei: Characiformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Volume 153.
- Mattox GM, Britz R, Toledo-Piza M. 2014. Skeletal development and ossification sequence of the characiform *Salminus brasiliensis* (Ostariophysi: Characidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 25(2): 103- 158.
- Northcote TG, Northcote RG, Arcifa MS. 1986. Differential cropping of the caudal fin lobes of prey fishes by the piranha, *Serrasalmus spilopleura*. *Hydrobiologia*, 141: 199-205.

- Ota RP, Röpke CP, Zuanon JAS, Jégu M. 2013. Serrasalmidae. Pp. 15-47. In: Queiroz LJ, Torrente-Vilara G, Ohara WM, Pires TH, Zuanon JAS, Dória C (Orgs.). Peixes do rio Madeira, volume II, a ictiofauna do rio Madeira, Diaeto Latin American Documentary, São Paulo, Brasil.
- Ota RP, Rapp Py-Daniel LH, Jégu M. 2016. A new Silver Dollar species of *Metynnis* Cope, 1878 (Characiformes: Serrasalmidae) from Northwestern Brazil and Southern Venezuela. *Neotropical Ichthyology*, 14(4):e160023.
- Ota RP, Gimenes-Junior H, Rech R, Carvalho FR. 2022. Serrasalmidae. Pp: 228-243. In: Gimenes Junior H, Rech R (Orgs.). Guia ilustrado dos peixes do Pantanal e entorno. Julien Design, Campo Grande, Brasil.
- Roosevelt T. 1914. *Through the Brazilian Wilderness* (New York).
- Ota RR, Deprá GC, Graça WJ, Pavanelli SC. 2018. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: revised, annotated and updated. *Neotropical Ichthyology*, 16(2): 1-111.
- Sazima I, Machado FA. 1990. Underwater observations of piranhas in western Brazil. Pp.17-31. In: *Alternative life-history styles of fishes*. Springer, Dordrecht.
- Silva AT, Zina J, Ferreira FC, Gomiero LM, Goitein R. 2015. Caudal-fin nipping by *Serrasalmus maculatus* (Characiformes: Serrasalmidae) in a small water reservoir: Seasonal variation and prey selection. *Zoologia*, 32: 457-462.
- Taylor WR, van Dyke GC. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, 9: 107-119.
- Toledo-Piza M., *et al.* 2024. Checklist of the species of the Order Characiformes (Teleostei: Ostariophysi). *Neotropical Ichthyology*, 22(1):e230086.
- Weitzman SH. 1974. Osteology and evolutionary relationships of the Sternoptychidae, with a new classification of stomiatooid families. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 153: 327-478.