



ANTÔNIO QUEIROZ LEZAMA

**ANATOMIA FUNCIONAL E HISTOLOGIA DAS PAPILAS GENITAIS DE
COMPSURINI (CHARACIFORMES: CHARACIDAE: CHEIRODONTINAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de Concentração: Biologia Comparada
Orientador: Prof. Dr. Luiz Roberto Malabarba

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PORTO ALEGRE

2013

**ANATOMIA FUNCIONAL E HISTOLOGIA DAS PAPILAS GENITAIS DE
COMPSURINI (CHARACIFORMES: CHARACIDAE: CHEIRODONTINAE)**

ANTÔNIO QUEIROZ LEZAMA

Aprovada em 24 de janeiro de 2014.

Avaliador 1: Dra. Irani Quagio-Grassiotto – Universidade Estadual de São Paulo
(UNESP/Botucatu)

Avaliador 2: Dr. Fernando Camargo Jerep – Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Avaliador 3: Dra. Clarice Bernhardt Fialho – Universidade Federal do Rio Grande do
Sul (UFRGS)

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Luiz Roberto Malabarba, pela paciência e pelos conhecimentos transmitidos; aos meus colegas do Ministério do Meio Ambiente, especialmente à gerente de biodiversidade aquática, Mônica Brick Peres, e ao coordenador de recursos pesqueiros, Roberto Ribas Gallucci, pelo apoio durante o tempo em que precisei conciliar o meu emprego e o meu mestrado; à minha colega de laboratório Andréa Maciente, por ter me ajudado nas inúmeras viagens que realizei de Brasília a Porto Alegre para adiantar o meu mestrado; ao meu colega de laboratório Clayton Kunio Fukakusa, pela ajuda na criação dos peixes de aquário utilizados na dissertação; às professoras Júlia Giora e Clarianna Martins Baicere Silva, por terem me ajudado com a parte de histologia; ao professor Mauro Luis Triques, pela ajuda com a documentação em Belo Horizonte; aos professores Irani Quagio-Grassiotto e Fernando Jerep pelo esclarecimento de dúvidas referentes à minha dissertação; aos meus colegas de mestrado João Anacleto Bitencourt, Nataly Slivak, Jean Lucas Poppe, Pedro Carvalho Neto e Andrés Francisco Aldea, pela maratona de piadas; à minha família, pelo apoio incondicional e aos alunos, professores e demais funcionários do Departamento de Zoologia, por toda a ajuda prestada ao longo do meu mestrado.

SUMÁRIO

CAPITULO I: Introdução geral	Pag. 1
Referências	Pag. 10
CAPITULO II: Papila genital de <i>Compsura heterura</i> (Characidae: Cheirodontinae) estrutura morfológica e seu possível papel na inseminação	
Resumo	Pag. 15
Abstract	Pag. 16
Introdução	Pag. 17
Justificativa	Pag. 18
Material e métodos	Pag. 19
Resultados	Pag. 23
Discussão	Pag. 44
Referências	Pag. 55
CAPÍTULO III: Evolução da papila genital em <i>Compsurini</i>	
Resumo	Pag. 62
Abstract	Pag. 63
Introdução	Pag. 63
Justificativa	Pag. 69
Material e métodos	Pag. 69
Resultados	Pag. 75
Discussão	Pag. 160
Referências	Pag. 168
CAPITULO IV: Conclusão geral	Pag. 176

CAPITULO I

Introdução geral

Aspectos gerais da reprodução de peixes teleósteos

A reprodução em peixes teleósteos é um fenômeno altamente complexo e diversificado. Os representantes deste grupo podem apresentar diversos padrões de reprodução: hermafroditismo, reprodução unissexuada (partenogênese), reprodução bissexuada (gonocorismo) ou uma combinação desses padrões (Coward *et al.*, 2002; Miller & Kendall, 2009). O hermafroditismo pode ser simultâneo, quando uma das gônadas é o ovário e a outra o testículo ou quando o indivíduo apresenta um ovoteste, ou pode ser sequencial, quando o peixe muda do sexo masculino para o feminino (hermafroditismo protândrico) ou do feminino para o masculino (protoginia) (Warner, 1975). A reprodução unissexuada ocorre em alguns vivíparos. O desenvolvimento ocorre sem fertilização e a prole é formada exclusivamente por fêmeas. O desenvolvimento pode ser iniciado por meio da ativação do núcleo do óvulo pelo espermatozoide de uma espécie próxima filogeneticamente, sem ocorrência de fecundação ou com fecundação, mas sem a transferência do genótipo masculino durante as divisões celulares. A reprodução bissexuada é o modo de reprodução mais comum em peixes (Miller & Kendall, 2009), sendo o foco deste trabalho.

Estrutura das gônadas

Os ovários de teleósteos são internos e geralmente longitudinais e pareados. Entretanto, eles podem estar frequentemente fusionados e encurtados. Em algumas espécies (ex. *Poecilia reticulata*, Poeciliidae) só uma gônada desenvolve-se. Em outras elas podem fusionar-se completamente (ex. *Perca* spp., Percidae) ou apenas caudalmente (ex.: *Sander lucioperca*, Percidae) (Guimarães-Cruz,

2005). A maioria dos teleósteos possui dois ovários suspensos dorsalmente no celoma pelo mesovário. Embora o desenvolvimento inicial das gônadas ocorra pela extrusão das cristas genitais pares, como em outros vertebrados, protuberâncias somáticas desenvolvem-se nos ovários jovens destes teleósteos que então se fundem formando a ovocele (Grier *et al.*, 2009). Túbulos e ductos dos rins não são utilizados para transportar ovócitos. O ovário pode representar até 70% da massa corporal do peixe (Helfman *et al.*, 2009).

Os gonodutos são prolongamentos posteriores da túnica ovariana e são formados pelo crescimento posterior das dobras peritoneais que circundam o ovário durante seu desenvolvimento. O ovário comunica-se com o gonoduto através da sua porção caudal. Essa condição é denominada cistovariana (Hoar & Randall, 2009; Grier *et al.*, 2009). Entretanto alguns grupos apresentam a condição denominada gimnovariana, onde não há formação da cavidade ovariana e a cápsula ovariana não é contínua com o gonoduto, de modo que os ovócitos são liberados na cavidade do corpo. Em Anguillidae, Galaxiidae, Notopteridae, Osteoglossidae, Salmonidae e no ciprinídeo *Misgurnus*, o gonoduto degenera completamente ou parcialmente, de modo que o ovócito entra na cavidade peritoneal, saindo para o exterior, através de poros ou funis, dependendo do grau de degeneração (Helfman *et al.*, 2009; Grier *et al.*, 2009).

O desenvolvimento dos ovos ocorre dentro do ovário e envolve diversos estágios: proliferação ovogonial (OP), cromatina-nucléolo (CN), crescimento primário (PG), crescimento secundário ou vitelogênese (SG), maturação (OM) e ovulação (OV). As ovogônias desenvolvem-se a partir de células sexuais primordiais no epitélio germinativo da parede do ovário. Na fase OP, a ovogônia divide-se por mitose e forma células germinativas. Na maioria dos teleósteos, a ovogônia continua a proliferar nos adultos. Uma vez iniciada a meiose, ela transforma-se em ovócito (fase CN). A fase de crescimento primário inicia-se com o acúmulo de RNA no citoplasma, causando a basofilia do ovócito. A fase é marcada por um aumento significativo do tamanho do ovócito, pelo aparecimento de alvéolos corticais e gotículas de óleo no seu interior e pela interrupção temporária

da meiose. A fase de maturação envolve uma série de mudanças morfológicas e fisiológicas que precedem a ovulação, entre elas o desaparecimento da vesícula germinal e a retomada e conclusão da primeira divisão meiótica. A meiose é interrompida novamente durante a segunda metáfase. Durante a ovulação ocorre o deslocamento do ovócito do folículo para o lúmen do ovário, separando-se das células foliculares. Após a fertilização, a segunda divisão meiótica é concluída (Grier *et al.*, 2009; Lowerre-Barbieri, 2011).

Os testículos de teleósteos são internos, longitudinais, e geralmente pareados. Eles estão suspensos por mesentérios e estão posicionados lateralmente à bexiga natatória. Túbulos e ductos dos rins servem para conduzir os espermatozoides para o exterior em diversos grupos. Os testículos podem representar até 12% do peso corporal do peixe na idade de maturação, apesar dessa proporção ser geralmente inferior a 5% (Helfman *et al.*, 2009). Os testículos são recobertos por uma delicada membrana chamada túnica albugínea, que estende-se posteriormente para formar o espermiducto ou vaso deferente, que por sua vez conecta-se com o ducto mesonéfrico pouco antes de atingir a abertura urogenital (Hoar & Randall, 1969; Lahnsteiner & Patzner, 2009). Os espermatozoides deixam o testículo por meio dos vasos deferentes, que são túbulos mesonéfricos (do rim) modificados. Os espermatozoides passam através das glândulas de Leydig, que consistem em pequenos túbulos glandulares derivados dos rins. Secreções das glândulas de Leydig estão envolvidas na produção de espermatóforos. Os espermatozoides passam depois através do ducto espermático, que é um ducto mesonéfrico modificado (Hoar & Randall, 1969; Lahnsteiner & Patzner, 2009).

A formação dos espermatozoides ocorre através de uma série de transformações típicas de vertebrados. As espermatogônias (diploides) proliferam por mitose. Uma vez que iniciam a meiose, transformam-se em espermatócitos primários, após a primeira divisão meiótica transformam-se em espermatócitos secundários. Terminada a segunda divisão meiótica, os espermatócitos viram espermátides (haploides), que sofrem transformações morfológicas (espermio gênese) dando origem

aos espermatozoides (Grier & Uribe Aranzábal, 2009). Os testículos de teleósteos podem ser de dois tipos diferentes considerando a estrutura interna: tubular anastomosado ou lobular (Parenti & Grier, 2004; Grier & Uribe Aranzábal, 2009): No primeiro, os túbulos testiculares formam curvas na periferia do testículo e seguem em direção aos ductos eferentes, formando uma rede altamente ramificada. Esse tipo de testículo está presente em teleósteos basais, como salmonídeos e lepisosteídeos. O testículo lobular, por sua vez, pode ser separado em dois subtipos dependendo da distribuição das espermatogônias. No primeiro subtipo, as espermatogônias estão distribuídas ao longo de todo o comprimento dos lóbulos testiculares (“unrestricted spermatogonial testis”). Esse tipo de testículo está presente em grupos mais derivados, como Perciformes. No segundo subtipo, as espermatogônias estão restritas à porção distal dos lóbulos (“restricted spermatogonial testis”). Esse padrão é observado em Atheriniformes.

Fecundação em teleósteos

A maioria dos teleósteos possui fecundação externa, excetuando aproximadamente uma dúzia de famílias, entre elas: Brotulidae, Clinidae, Scorpaenidae, Embiotocidae, Goodeidae, Labrisomidae, Phallostethidae e Siluridae. A maioria dos teleósteos marinhos desovam na coluna d'água, sendo que os ovócitos são fertilizados externamente e flutuam perto da superfície (Coward *et al.*, 2002; Kendall *et al.*, 1984). Nesse caso, os ovócitos são geralmente esféricos e possuem uma única gotícula grande de óleo no seu interior. A maioria dos peixes de água doce, por outro lado, depositam seus ovos no fundo. Várias espécies desovam em ninhos e apresentam cuidado parental. Nesse caso, os ovos apresentam geralmente um grande tamanho, córion espesso e coberturas adicionais que proporcionam proteção mecânica (Helfman *et al.*, 2009). A fertilização ocorre quando o espermatozoide penetra no ovo através de um orifício denominado micrópila, que é estreito o suficiente para permitir a passagem de um único espermatozoide. Após a passagem, a micrópila fecha-se prevenindo a entrada de outros espermatozoides (Helfman *et al.*, 2009).

Inseminação e fecundação interna

A inseminação foi documentada em nove ordens e mais de 17 famílias de teleósteos. As modificações morfológicas para a inseminação podem ser ausentes, pequenas ou significativas. Estas últimas compreendem papilas genitais alongadas, nadadeiras anais modificadas e alterações nas cinturas e nadadeiras pélvicas e peitorais. Algumas espécies podem inclusive possuir mais de uma alteração morfológica (Meisner, 2005).

É importante destacar que inseminação não é sinônimo de fecundação interna, pois ela implica apenas na transferência de espermatozoides do macho para o gonoduto ou ovário da fêmea, sem que ocorra obrigatoriamente a fertilização dentro dos mesmos (Meisner, 2005). Essa distinção começou a ser utilizada a partir de espécies da família Cottidae (por exemplo, *Alcichthys alcicornis* [atualmente sinônimo júnior de *Alcichthys elongatus*]), *Blepsias cirrhosus* e *Pseudoblennius cottoides*). Nestas espécies, um fenômeno denominado associação gamética interna foi descrito, onde os espermatozoides ficam associados aos ovócitos dentro do ovário da fêmea após a cópula, sem que haja, no entanto fecundação. A fertilização dos ovócitos só ocorre externamente, em contato com a água do mar (Meisner, 2005; Javonillo *et al.*, 2009). Para muitas espécies de teleósteos inseminadores, o momento exato da fertilização é desconhecido, sendo inapropriado classificar a sua fecundação como interna sem essa informação (Meisner, 2005).

Segundo Meisner (2005), não existe uma terminologia unificada para o aparelho copulatório masculino modificado para a inseminação, podendo ser denominado gonopódio (ex. Poeciliidae), priápio (ex. Phallostethidae), pseudopênis (ex. Auchenipteridae), pênis (ex. Aphyonidae) ou andropódio (ex. “Halfbeaks”, Hemiramphidae). O autor sugere a utilização do termo “órgão intromitente” para essa estrutura, apesar de que na maioria dos peixes inseminadores ela não funcione como órgão intromitente de fato, mas apenas auxilie no direcionamento do fluxo de espermatozoides ou pacotes de espermatozoides até o gonóporo feminino. Para minimizar a perda

de espermatozoides nos peixes inseminadores que não possuem órgãos intromitentes verdadeiros, eles são liberados em pacotes, que podem ser não-encapsulados (espermatozeugmata) ou, mais raramente, encapsulados (espermatóforos) (Meisner, 2005; Javonillo *et al.*, 2009).

A inseminação está presente nos seguintes táxons de teleósteos:

1) Ordem Characiformes: a inseminação está presente nas subfamílias Cheirodontinae, Glandulocaudinae e Stevardiinae, todas pertencentes à família Characidae (Javonillo *et al.*, 2009). Machos de Glandulocaudinae e Stevardiinae possuem diversos caracteres sexuais secundários, como escamas caudais modificadas e glândulas associadas, ganchos e espinhos associados com os raios da nadadeira anal. Foi sugerido que a papila genital e a nadadeira anal sejam utilizadas conjuntamente na inseminação, com a nadadeira anal formando uma cavidade que direciona os pacotes de espermatozoides (Kutaygil, 1959; Meisner, 2005). Representantes das duas subfamílias também apresentam tecido glandular associado a escamas modificadas do pedúnculo caudal de machos maduros, considerado como sendo uma bomba de feromônios sexuais (Weitzman & Menezes, 1998; Weitzman *et al.*, 2005). Dentro de Cheirodontinae, a tribo Compsurini inclui todas as espécies que apresentam inseminação (Malabarba, 1998). As espécies de Compsurini apresentam uma papila genital hipertrofiada (Jerep, 2011: 250). Uma estrutura semelhante já foi observada em alguns outros grupos de Characidae, como em *Phallobrycon* (Menezes *et al.*, 2009) e *Monotocheirodon* (Burns & Weitzman, 2006), ambas pertencentes ao Clado A de Malabarba & Weitzman (2003), atualmente denominado de Stevardiinae. Em ambos os casos, foi sugerido que poderia tratar-se de um órgão intromitente, para transferência de espermatozoides do macho para a fêmea.

2) Ordem Siluriformes: a inseminação ocorre nas famílias Astroblepidae, Auchenipteridae e Scoloplacidae (Javonillo *et al.*, 2009). Os auchenipterídeos machos possuem os raios anteriores da nadadeira anal alongados e engrossados e em diversas espécies uma papila genital modificada. Em *Astroblepus* (Astroblepidae), os machos possuem uma papila urogenital

alongada, com presença de uma musculatura esquelética circundando a sua base e provavelmente exercendo o papel de esfíncter (Spadella *et al.*, 2012). Em Scoloplacidae, a papila genital da fêmea é modificada em formato de saco, formando um receptáculo seminal (Schaefer *et al.*, 1989).

3) Ordem Salmoniformes: a inseminação ocorre na subfamília Lepidogalaxiinae (Galaxiidae), onde a espécie *Lepidogalaxias salamandroides* possui raios modificados na nadadeira anal do macho, que também são associados com uma bainha de escamas (Meisner, 2005). A estrutura formada não é um órgão intromitente verdadeiro, mas serve para direcionar a transferência de espermatozoides durante a cópula (Mc Dowall & Pusey, 1983).

4) Ordem Ophidiiformes: a inseminação está presente nas famílias Aphyonidae e Bythidae (Meisner, 2005). Nas espécies *Barathronus unicolor* e *B. multidentis* (Aphyonidae) o órgão copulatório masculino é uma papila genital hipertrofiada (Nielsen, 1984). Em Bythidae a transferência de espermatozoides ocorre por meio de uma papila genital modificada, que pode ou não estar associada com os raios da nadadeira anal. Alguns bitídeos, como os representantes dos gêneros *Typhliasina* e *Brosmophycis* apresentam uma estrutura em formato de pênis (Khanna, 2004).

5) Ordem Atheriniformes: a inseminação foi documentada em Atherinopsidae e Phallostethidae (Meisner, 2005). Em Atherinopsidae, a inseminação ocorre na espécie *Labidesthes sicculus*, na qual o órgão intromitente é supostamente uma papila genital modificada presente unicamente nos machos (Grier *et al.*, 1980). Em Phallostethidae, vestígios da nadadeira pélvica, cintura pélvica, parte da cintura peitoral e o primeiro par de costelas formam o órgão copulatório (Khanna, 2004).

6) Ordem Beloniformes: a inseminação ocorre em Adrianichthyidae e Hemiramphidae (Meisner, 2005). Todos os beloniformes marinhos têm fertilização externa. Nas espécies inseminadoras de Hemiramphidae, pode ser observada a presença de uma papila genital alongada, associada com modificações nos raios da nadadeira anal (Khanna, 2004; Meisner, 2005). Em

Adrianichthyidae a inseminação ocorre na espécie *Oryzias setnai*, na qual o macho possui uma nadadeira anal modificada. Este não seria um órgão intromitente mas provavelmente apenas auxiliaria na transferência de espermátóforos para o corpo da fêmea (Grier, 1984).

7) Ordem Cyprinodontiformes: a inseminação ocorre em Anablepidae, Goodeidae, Poeciliidae e Rivulidae (Meisner, 2005). O órgão copulatório de Anablepidae é peculiar pelo fato de poder mover-se apenas em uma direção (para a esquerda em alguns casos e para a direita em outros) tanto no macho como na fêmea. O órgão copulatório de *Jenynsia lineata* é formado pelo prolongamento dos raios anais 3, 4, 6, 7 e 8 e pelo engrossamento dos raios 6 e 7 da nadadeira anal, de modo que esta transforma-se em um tubo onde estão presentes as aberturas dos ductos espermáticos (Khanna, 2004). Em Poeciliidae o órgão copulatório do macho é um o gonopódio formado por modificações nos raios da nadadeira anal e do suspensório. Várias espécies também possuem modificações nas nadadeiras pélvica e peitoral (Meisner, 2005). A estocagem de espermatozoides é comum em Poeciliidae e é utilizada para fertilizar diversos lotes de ovócitos (Khanna, 2004). A nadadeira anal é modificada nos machos de godeídeos, mas esta aparentemente não possui função de órgão intromitente, servindo apenas para direcionar os espermatozeugmata até o gonópore da fêmea. Em Rivulidae a nadadeira anal é modificada no macho ou na fêmea, dependendo da espécie.

8) Ordem Scorpaeniformes: a inseminação foi documentada em Cottidae e Hemitriptidae (Meisner, 2005). Como descrito anteriormente, ambas as famílias apresentam o fenômeno denominado, associação gamética interna, onde os espermatozoides associam-se com os ovócitos no interior do ovário da fêmea, mas a fertilização só ocorre externamente. A maioria dos cotídeos inseminadores machos apresenta uma estrutura alongada denominada pênis, que parece ser formada por uma hipertrofia da papila genital, acompanhada por modificações na nadadeira anal (Bolin, 1944; Meisner, 2005).

9) Ordem Perciformes: a inseminação ocorre em Clinidae, Labrisomidae e Embiotocidae (Meisner, 2005). Em Clinidae, a inseminação ocorre no gênero *Clinus*, onde os machos têm uma papila genital modificada (Breder & Rosen, 1966; Meisner, 2005). Os labrosomídeos possuem uma nadadeira anal modificada que pode estar associada a uma papila genital hipertrofiada. Em Embiotocidae, os machos possuem uma nadadeira anal modificada que aparentemente atua como um órgão intromitente (Breder & Rosen, 1966; Meisner, 2005). Um exemplo ocorre em *Oligocottus snyderi*, onde os dois primeiros raios da anal são separados e o primeiro raio, que é muito maior que os outros, pode prender-se ao redor da fêmea atuando como um cláster (Khanna, 2004). Em *Micrometrus minimus* (Embiotocidae), machos neonatos inseminam fêmeas neonatas, mas os espermatozoides são guardados por 6 a 9 meses até a fecundação (Khanna, 2004).

Breve descrição do presente trabalho

Este trabalho tem por objetivos conhecer a diversidade morfológica e compreender a estrutura e função da papila genital das espécies da tribo Compsurini (Cheirodontinae), considerando seu possível papel como órgão intromitente, para transferência de espermatozoides do macho para a fêmea. Para isso, o trabalho foi dividido em duas etapas. Na primeira, foi descrita a estrutura macroscópica e microscópica da papila genital de uma espécie de Compsurini, assim como suas variações morfológicas em diferentes etapas do ciclo de vida da espécie. Também foi analisado o possível envolvimento da papila genital na transferência de espermatozoides durante a cópula. Na segunda parte, foram realizadas descrições morfológicas da papila genital para todas as espécies da tribo Compsuini e também foi feito o levantamento e análise de caracteres na filogenia do grupo.

Referências

Formato: revista *Neotropical Ichthyology*

Breder, C. M. Jr. & D. E. Rosen. 1966. Modes of Reproduction in Fishes. THF Publications, Jersey City, N. J.

Burns, J. R. & S. H. Weitzman. 2006. Intromittent organ in the genus *Monotocheirodon* (Characiformes: Characidae). *Copeia*, 2006(3), 529–534.

Coward, K., N. R. Bromage, O. Hibbitt & J. Parrington. 2002. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 12: 33–58.

Grier, H. J. 1984. Testis structure and formation of spermatophores in the atherinomorph teleost *Horaichthys stenai*. *Copeia*, 1984: 833-839.

Grier, H. J., J. R. Linton, J. F. Leatherland, V. L. De Vlaming. 1980. Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. *The American Journal of Anatomy*, 159: 331 -345.

Grier, H. J. & M. C. Uribe Aranzábal. 2009. The testis and spermatogenesis in teleosts. In: Jamieson, B. G. M. (ed.). *Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Bony fishes)*. Endfield, New Hampshire, Science Publishers. pp.119-42.

Grier, H. J., M. C. Uribe-Aranzábal & R. Patiño. 2009. The ovary, folliculogenesis, and oogenesis in teleost. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes. (Agnathans and Neoteleostomi)*.

Jamieson, B. G. M. (ed.). Phylogeny-Reproductive System-Viviparity-Spermatozoa. Enfield, Science Publishers Inc., p 25-84.

Guimarães-Cruz, R. J., J. E. Santos & G. B. Santos. 2005. Gonadal structure and gametogenesis of *Loricaria lentiginosa* Isbrücker (Pisces, Teleostei, Siluriformes) . Revista Brasileira de Zoologia 22 (3): 556–564.

Helfman, G. S., B. B. Collette, D. E. Facey & B. W. Bowen. 2009. The Diversity of Fishes: Biology, Evolution and Ecology. Wiley-Blackwell, 720 pp.

Hoar, W. S., D. J. Randall. 1969. Fish Physiology. Volume III: Reproduction and Growth Bioluminescence, Pigments, and Poisons. Academic Press, 485 pp.

Javonillo, R., J. R. Burns & S. H. Weitzman. 2009. Sperm modifications related to insemination, with examples from the Ostariophysi. Pp. 723-763. In: Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Bony fishes). Phylogeny - Reproductive System Viviparity - Spermatozoa. Jamieson, B. G. M. (ed.) Science Publishers, Enfield.

Jerep, F. C. 2011. Revisão taxonômica e filogenia da tribo Compsurini (Characiformes: Characidae: Cheirodontinae). Unpublished Ph. D. Dissertation, Pontífica Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, ix + 448 pp.

Kendall Jr., A. W., E. H. Ahlstrom & H. G. Moser. 1984. Early life history stages of fishes and their characters. American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Special publication, 1: 11–22

Khanna, D. R. 2004. Morphogenesis. Discovery Publishing House, 401 pp.

Kutaygil, N. 1959. Insemination, sexual differentiation and secondary sex characters in *Stevardia albipinnis* Gill. Hidrobiologie Istanbul Universitat Fen Fakultesi Mecumuasi Serie B, 24: 93-128.

Lahnsteiner, F. & R. A. Patzner. 2009: Male reproductive system: spermatic duct and accessory organs of the testis. In: Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (B.G.M. Jamieson ed.) pp. 143-186, Science Publishers, Enefield.

Lowerre-Barbieri, S. K., N. J. Brown-Peterson, H. Murua, J. Tomkiewicz, M. D. Wyanski, F. Saborido-Rey. 2011. Emerging Issues and Methodological Advances in Fisheries Reproductive Biology. Marine and Coastal Fisheries, 3(1): 32-51.

Malabarba, L. R. 1998. Monophyly of the Cheirodontinae, characters and major clades (Ostariophysi: Characidae). Pp.193-233. In: Malabarba, L.R.; R. E. Reis; R.P. Vari; Z.M.S. Lucena & C.A.S. Lucena (Eds). Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. Porto Alegre, Edipucrs, 603p.

Malabarba, L. R. & S. H. Weitzman. 2003. Description of a new genus with six new species from Southern Brazil, Uruguay and Argentina, with a discussion of a putative characid clade (Teleostei: Characiformes: Characidae). Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia PUCRS, Série Zoologia, 16(1): 67-151.

- Mc Dowall, R. M. & B. J. Pusey. 1983. *Lepidogalaxias salamandroides* Mees, a redescription, with natural history notes. Records of the Western Australian Museum, 11: 11-23.
- Meisner, A. D. 2005. Male modifications associated with insemination in teleosts. 167–192. In: Viviparous Fishes. Grier, H.J. & M.C. Uribe, editors. eds. New Life Publications. Homestead, Florida
- Menezes, A. N., K. M. Ferreira & A. L. Netto-Ferreira. 2009. A new genus and species of inseminating characid fish from the rio Xingu basin (Characiformes: Characidae). Zootaxa 2167: 47–58.
- Miller, B. S. & A. W. Kendall Jr. 2009. Early Life History of Marine Fishes. University of California Press, 376pp.
- Nielsen, J. G. 1984. Two new, abyssal *Barathronus* spp. from the North Atlantic (Pisces: Aphyonidae). Copeia, 1984: 579-584.
- Parenti, L. R. & H. J. Grier. 2004. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. Integr. Comp. Biol., 44:333-48.
- Schaefer, S. A., S. H. Weitzman & H. A. Briski. 1989. Review of the Neotropical catfish genus *Scoloplax* (Pisces: Loricarioidei: Scoloplacidae) with comments on reductive characters in phylogenetic analysis. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 141: 181-211.

Spadella, M. A., C. Oliveira, C. H. Ortegac, I. Quagio-Grassiotto, & J. R. Burns. 2012. Male and female reproductive morphology in the inseminating genus *Astroblepus* (Ostariophysi: Siluriformes: Astroblepidae). *Zoologischer Anzeiger*, 251: 38–48.

Warner, R. R. 1975. The Adaptive Significance of Sequential Hermaphroditism in Animals. *The American Naturalist*, 109: 61–82.

Weitzman, S. H. & N. A. Menezes. 1998. Relationships of the tribes and genera of the Glandulocaudinae (Ostariophysi: Characiformes: Characidae) with a description of a new genus, *Chrysobrycon*. Pp. 171-192. In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre, Edipucrs, 603p.

Weitzman, S. H., N. A. Menezes, H. G. Evers & J. R. Burns. 2005. Putative relationships among inseminating and externally fertilizing characids, with a description of a new genus and species of Brazilian inseminating fish bearing an anal-fin gland in males (Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, 3(3): 329-360.