


HISTOQUÍMICA DE OÓCITOS DE PEIXES DO GÊNERO *STEINDACHNERINA* (CHARACIFORMES: CURIMATIDAE)

1 Joana Figueiredo da Mata jfdamata@gmail.com
2 Rusleyd Maria Magalhães de Abreu rusleyd.abreu@ufac.br 

1 Centro de Ciências Biológicas e da Natureza – CCBN, Universidade Federal do Acre – UFAC, Rio Branco, Acre, Brazil.
2 Centro de Ciências Biológicas e da Natureza – CCBN, Universidade Federal do Acre – UFAC, Rio Branco, Acre, Brazil.

RESUMO

A literatura pouco fala a respeito da biologia reprodutiva do gênero *Steindachnerina* ou até mesmo da descrição histológica das células reprodutivas destes, caracterizando-os ou mesmo comparando suas atividades funcionais a outros órgãos ou sistemas. O objetivo desta pesquisa é descrever aspectos morfológicos, caracterizar os oócitos e comparar o ciclo de desenvolvimento desses peixes, oriundos de dois lagos na região Amazônica. Os ovários foram fixados em Bouin alcoólico, transferidos para o álcool 70%, incluídos em historesina com cortes de 6µm de espessura e submetidos às técnicas de Hematoxilina e Eosina (HE) e Xylidine Ponceau (XP). Do mesmo lago e entre lagos diferentes. Porém, com relação aos aspectos morfológicos das células, foram identificadas características semelhantes. Os testes indicaram que fêmeas do mesmo lago e de lagos diferentes não apresentaram uniformidade nos resultados nas técnicas aplicadas. Os peixes do lago da Horta, apresentaram metabolismo maior, demonstrado pela intensidade da coloração de suas células. Ocorreu síntese de proteínas nos oócitos de fêmeas de ambos os lagos. No entanto, a ocorrência foi maior no lago da Horta. Além disso, foram detectadas síntese de secreções ácidas e básicas com mais intensidade nas células dos animais no lago da Horta.

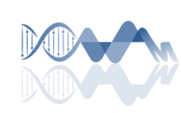
PALAVRAS-CHAVE: Ovários. Ovócitos. Histologia. Citoquímica. Hematoxilina-eosina. Xylidine ponceau.



ABSTRACT

The literature shows few information about reproductive biology of the genus *Steindachnerina* or even the histological description of their reproductive cells, characterizing them or even comparing their functional activities to other organs or systems. The main was to describe morphological aspects, characterize the oocytes and compare the development cycle of these fish, from two lakes in the amazon forest region. The ovaries were fixed in alcoholic Bouin and transferred to 70% alcohol, embedded in historesin with 6µm-thick sections and applied to the techniques of Hematoxylin and Eosin (HE) and Xylidine Ponceau (XP). The results showed differences in relation to the maturation phase of the gonads in the same lake and between different lakes, however, in relation to the morphological aspects of the cells, similar characteristics were identified. The tests showed that females from the same lake and from different lakes did not show uniformity in the results in the applied techniques. The fish from Horta Lake showed a higher metabolism, which was demonstrated by the intensity of the staining of their cells. Protein synthesis occurred in the oocytes of females from both lakes, this was higher in Horta Lake. Synthesis of acidic and basic secretions occurred with more intensity in the cells of the animals from Horta Lake.

KEYWORDS: Ovaries. Oocytes. Histology. Cytochemistry. Hematoxylin-eosin. Xylidine ponceau.



INTRODUÇÃO

Os estudos referentes a peixes de água doce no Brasil ocorrem de uma maneira diversificada, principalmente, em se tratando da bacia amazônica, que é a maior bacia fluvial do mundo e contém inúmeras espécies de peixes, dentre as quais, muitas ainda desconhecidas pela ciência (1–3).

No Acre, existem aproximadamente 251 espécies de peixes catalogadas, e a segunda categoria com maior diversidade de espécies catalogadas é a de vertebrados (21,6%), representando 10,7% da riqueza brasileira (4,5). Dentre elas, está presente a família Curimatidae e o gênero *Steindachnerina* (6).

Os inventários do Acre são poucos expressivos, uma vez que a região é considerada como área de importância para a conservação da biota aquática (4,5). Esses dados implicam em uma baixa diversidade quando se compara à diversidade potencial que deve ocorrer na região, principalmente porque áreas que apresentam endemismos para outros grupos faunísticos devem apresentar também endemismos para peixes (4).

A família Curimatidae, com mais de 100 espécies catalogadas, ocupa uma variedade de ecossistemas: riachos de correntezas rápidas, rios e lagos calmos, igapós, águas claras brancas e pretas (7). São de uma importância econômica comercial significativa e seus representantes estão incluídos na classificação de pequeno porte, abrangendo cerca de 80 a 150 mm de comprimento, podendo, no entanto, alguns animais ultrapassar os 200 mm (8,9).

Eles possuem boca geralmente pequena, localizada em posição subterminal e as maxilas são desprovidas de dentes quando adultos não apresentando rastros, além da linha lateral ser na maioria das vezes ser completa e as escamas ciclóides, podendo possuir ainda a borda posterior com aspecto liso, crenulado ou dentado (8,10).

Novas espécies dessa família vêm sendo catalogadas (11–13), aumentando cada vez mais o conhecimento da riqueza ictiológica brasileira. Novas espécies também dentro do próprio gênero *Steindachnerina* (14,15) vêm sendo descritas nos últimos anos.

Aspectos reprodutivos em peixes vêm sendo estudados frequentemente pelos pesquisadores da área (16–20) e são de grande interesse para a compreensão da

ecologia, do comportamento desses peixes, bem como suas interações intraespecíficas e interespecíficas em seus habitats naturais.

A literatura apresenta estudos citogenéticos(21), análises moleculares e genéticas(22,23), estudos histoquímicos de células branquiais(24) referentes ao gênero *Steindachnerina*, mas pouco se fala a respeito da biologia reprodutiva desse grupo(25), ou até mesmo da descrição histológica das células reprodutivas desses peixes,(26,27) caracterizando-os ou mesmo comparando suas atividades funcionais a outros órgãos ou sistemas como, por exemplo, a forte relação entre a atividade hepática e a oogênese. Em alguns gêneros foi observado uma relação direta entre ambos os processos (28,29). Porém, Ribeiro e colaboradores (2006) não observaram relação entre atividade fisiológica dos hepatócitos daqueles exemplares do gênero *Steindachnerina* com a maturação dos ovários (30).

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar e descrever aspectos morfológicos dos oócitos em *Steindachnerina* e comparar o ciclo de desenvolvimento desses peixes, oriundos de dois sistemas aquáticos distintos localizados no *Campus* da Universidade Federal do Acre (UFAC) no Sudoeste da Amazônia brasileira.

MATERIAL E MÉTODOS

Coletas

As coletas de exemplares da família Curimatidae, pertencentes ao gênero *Steindachnerina*, foram sempre realizadas às doze horas, por um período de 6 horas, no lago Viveiro (19L 623504 8899391) e lago Horta (19L 623872 8898920). Foram capturadas 10 fêmeas com redes de espera, malhas de numeração 3, 4, 5 e 6 em ambos os lagos. Os referidos lagos estão localizados no campus da Universidade Federal do Acre (UFAC) na cidade de Rio Branco, na Região Amazônica (Figura 1).

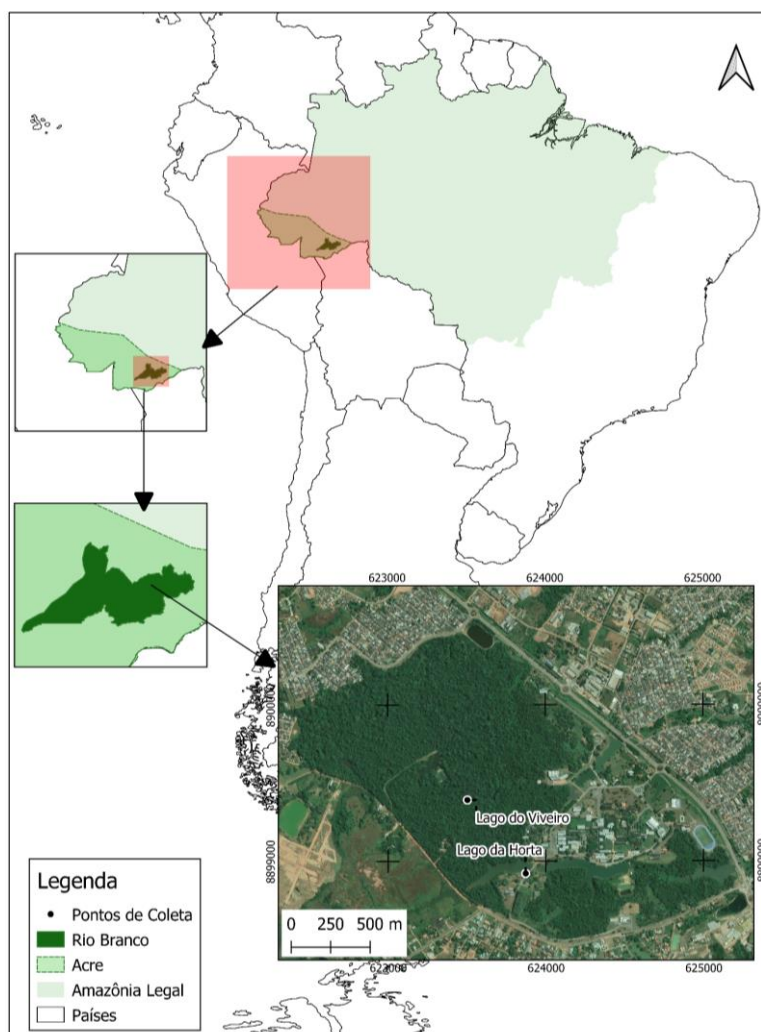
O campus da Ufac abriga a maior área de fragmento florestal urbano da cidade: o Parque Zoobotânico (PZ), no qual, inclusive, estão localizados os lagos que foram feitas as coletas.

Estes lagos são represamentos de igarapés de área de cabeceira. Os Igarapés desta área da não têm nome definido e cerca de 90% da extensão deles se localizam dentro da área do parque preservada pela Ufac. Desaguam no igarapé Dias Martins, cuja margem esquerda, dentro da mancha urbana, está completamente ocupada por

habitações. A margem direita integra a área do PZ, que se apresenta conservada. Por sua vez, o Igarapé Dias Martins se conecta ao igarapé São Francisco, principal drenagem hídrica dessa região urbana de Rio Branco.

Apesar de estar em uma área de fragmento, os lagos de coleta estão localizados em uma região onde há probabilidade de algum impacto antropológico, porém estão distantes do local de despejo residuais do campus.

Figura 1: Localização da cidade de Rio Branco na Amazônia brasileira, onde encontra-se a Universidade Federal do Acre e dentro dela respectivamente o Parque Zoobotânico (PZ).



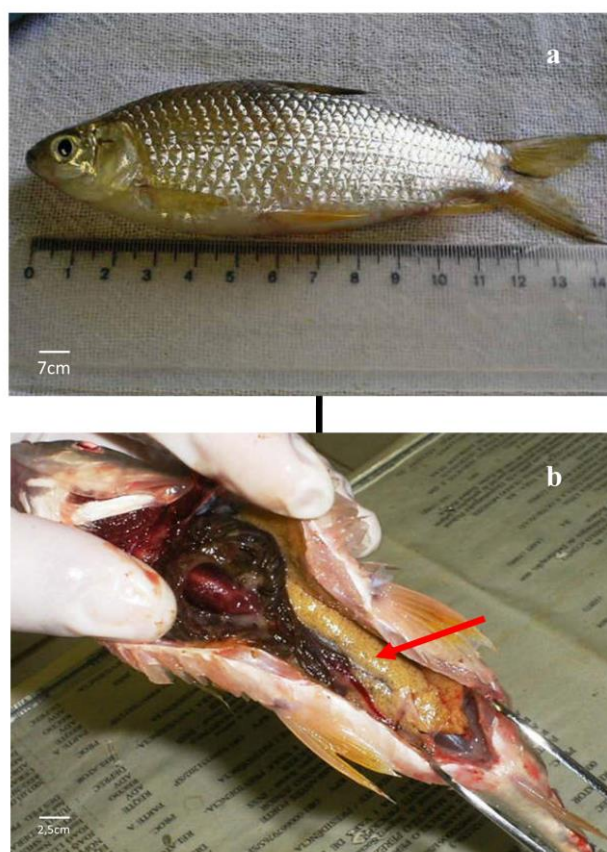
Processamento do Material Biológico

As fêmeas foram dissecadas, através da introdução de tesoura cirúrgica nos respectivos ânus. Foi efetuado um corte longitudinal na região ventral, para retirada dos ovários, os quais foram fixados separadamente em vidro, contendo Bouin alcoólico, durante 72 horas. Após o processo de fixação, o material foi transferido para

álcool 70% para procedimentos posteriores de inclusão em historesina e cortes histológicos, em micrótomo Leica®, na espessura de 6µm (20). Finalmente, após a coloração, elas foram montadas com bálsamo do Canadá (Figura 2).

Os espécimes encontram-se armazenados no laboratório de Ictiologia e Ecologia Aquática da Ufac. Em razão de ter sido amostrado um número reduzido de exemplares, foi necessário realizar a dissecação de todos os que foram coletados, não sendo possível realizar o tombamento de exemplares na Coleção Ictiológica da Universidade.

Figura 2 – (a) Fêmea de *Steindachnerina* sp. capturada durante as coletas. (b) gônada feminina (seta vermelha) sendo processada para sua fixação.



Análise de microscopia de luz

Histologia e Histoquímica

Hematoxilina e Eosina (HE) - para observação de regiões ácidas e básicas das células, respectivamente.

As lâminas foram hidratadas com água destilada, por um minuto e, em seguida, coradas com hematoxilina de Harris, por dez minutos. Depois, foram lavadas durante

cinco minutos, em água de torneira, para reagir com o corante. Em seguida, as lâminas foram coradas com Eosina por cinco minutos e lavadas em água de torneira, durante três minutos, para proporcionar reação com o corante (31).

Xylidine Ponceau - que permite a detecção indireta de proteínas totais. As lâminas foram coradas com Xylidine Ponceau por 30 minutos, lavadas em água destilada e deixadas em temperatura ambiente para secar (32).

Após aplicação dessas técnicas, as lâminas, já secas, foram montadas em bálsamo de Canadá para serem analisadas em microscopia de luz com o auxílio do aparelho Leica® DM750 e os resultados, registrados com o sistema de captura de imagem digital Leica® ICC50 HD.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

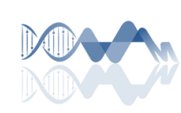
Os resultados dos testes histoquímicos aplicados nos oócitos do gênero *Steindachnerina* apresentaram diferenças na fase de maturação da gônada entre indivíduos do mesmo lago e indivíduos oriundos de lagos diferentes. Porém, com relação aos aspectos morfológicos das células, foram identificadas características semelhantes.

Através da classificação dos oócitos, descrita em Quagio-Grassiotto e colaboradores (2013), observou-se nas lâminas analisadas, pertencentes aos dois ambientes aquáticos estudados, seis fases do desenvolvimento oocitário: oogônias, oócitos em crescimento primário, secundário, completamente desenvolvidos, folículo atresico e complexo folicular pós-ovulatório, indicadas ao longo das figuras 3 e 4 conforme descrições a seguir:(19)

Hematoxilina e Eosina (HE)

Foi possível observar através da coloração com HE que, de maneira geral, os oócitos são revestidos por células foliculares contendo núcleos achatados (Figuras 3a, b, c, d) (26). Entre os oócitos observou-se ainda tecido conjuntivo, contendo células dispersas evidenciadas principalmente na Figura 3b.

Oócitos em crescimento primário (ocp) apresentaram estrutura pequena, com muitos micronúcleolos no interior dos núcleos grandes, que por sua vez apresentaram secreção ácida e homogênea. A secreção do citoplasma dos gametas nesta fase apresentou-se homogênea e mais ácida do que a secreção observada no núcleo



como observado nas figuras 3a, b, c, d, f, concordando com estudos encontrados tanto para a família Curimatidae, quanto para outras famílias de peixes (16,18,26).

Oócitos em crescimento secundário (ocs) apresentaram-se maiores, se comparados às células primárias com núcleos contendo secreção básica e vários micronúcleolos de caráter ácido homogêneo, que nesta fase, tenderam a se concentrar na periferia do núcleo (18,20). Já no citoplasma das células desta fase, foi observado uma secreção menos ácida em comparação ao estágio primário. Além disso, o início de acúmulo de secreção básica dentro de vesículas coradas com a eosina faz com que a estrutura vá aumentando o seu tamanho em volume. (Figuras 3a, c, d) (16,18).

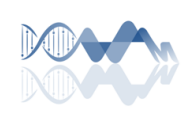
Oócitos completamente desenvolvidos (ocd) apresentaram-se maiores (Figuras 3a, b, c) quando comparados com a fase anterior, cujas secreções do núcleo preservaram também as características químicas da fase secundária (Figuras 3b). O citoplasma dessa fase apresentou-se completamente tomado por grânulos de vitelo, contendo secreção básica como observado nas figuras 3a, b, c (16,18,26).

Nesta fase, folículos com vitelogênese completa (maduro) apresentaram oócitos extremamente grandes, cuja secreção continuou ácida no núcleo, porém mais densa, caracterizando material mais compactado (Figuras 3c e 3f). O citoplasma apresentou secreção básica em forma de grânulos vitelogênicos (16,18,26).

No lago da Horta, foi registrado em alguns exemplares de oócitos maduros secreção nuclear básica, mais descondensada e pouquíssima secreção de caráter ácido, porém, os nucléolos permaneceram como descritos acima na figura 3b (26). Provavelmente, apesar de o conteúdo granular básico estar bem avançado, aquelas células ainda se encontravam em processo de síntese dessa secreção.

Em peixes de ambos os lagos, células com características entre citoplasmas em crescimento e granulos com secreção predominantemente ácida (ocs), não se pôde observar o núcleo nas mesmas, caracterizando-se dessa forma de acordo com Pereira, Moreira e Batlouni (2013) como folículos atrésicos (fa) destacados na figura 3e e 3c (17).

Foram observados também na figura 3c folículos em degeneração cujo conteúdo citoplasmático mostrou-se básico e ácida ao mesmo tempo, caracterizando-os na fase denominada complexos foliculares pós-ovulatório (poc), indicando assim que a maioria dessas fêmeas capturadas estariam aptas, em processo ou até mesmo na fase terminal de desova (16,17,19).



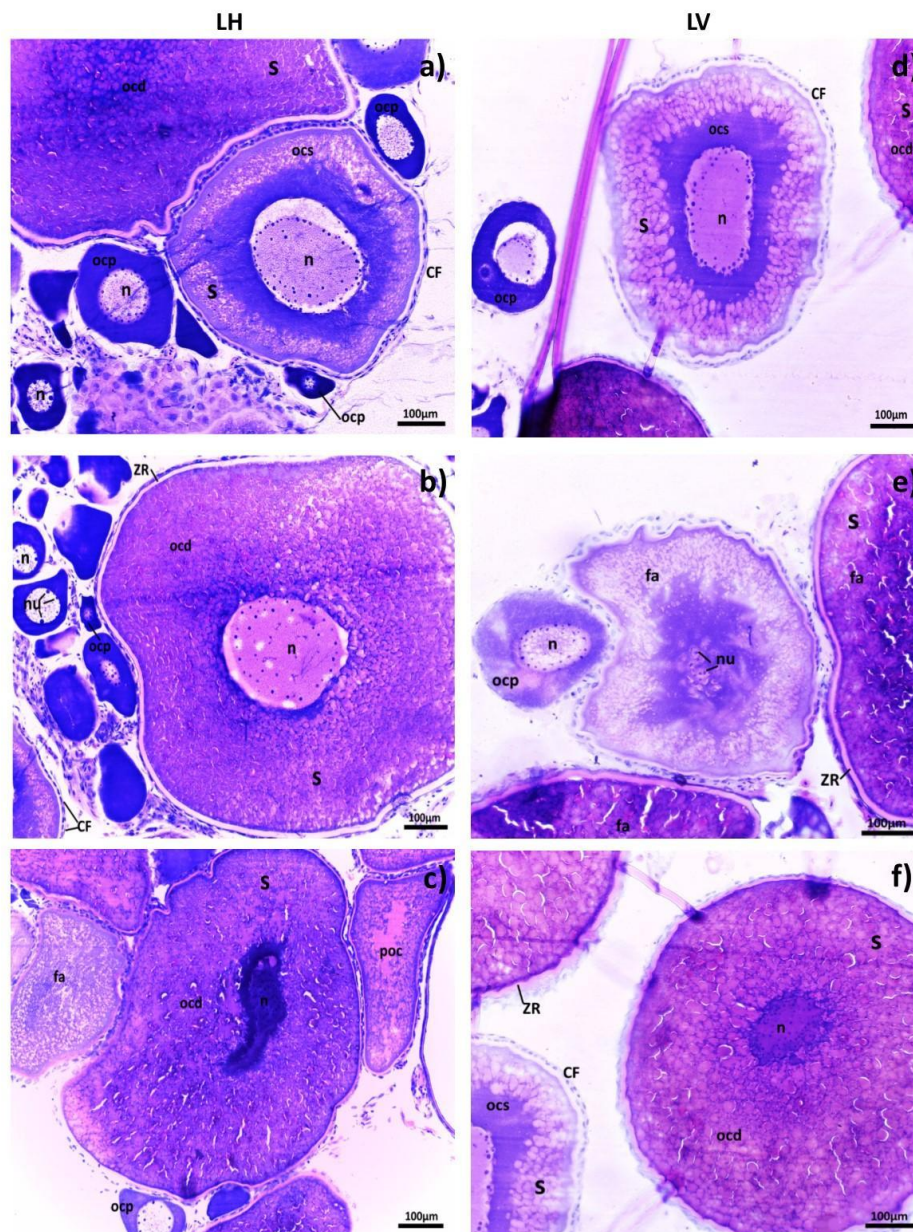
No geral, como podemos observar nas figuras 3 a, b, d, através da descrição dos oócitos das fases descritas de desenvolvimento gonadal de *Stenidachnerina*, os núcleos das células mostraram-se esféricos, porém os nucléolos tiveram a tendência de migrar do centro para a periferia, à proporção que a síntese da secreção e o tamanho das células foram aumentando (18,20).

A secreção, observada no citoplasma, muda suas características de ácida para básica e de homogênea para granular, à proporção que o folículo amadurece, concordando com a literatura (18,20), que relata que o constituinte químico orgânico encontrado em maior abundância na secreção dos oócitos é básico, pois acredita-se que a eosina evidenciou indiretamente a presença desse constituinte orgânico (31).

No núcleo, observou-se ao longo do processo de amadurecimento dos oócitos que a secreção nuclear se torna de homogênea à compactada, refletindo um alto nível de metabolismo celular na primeira situação, ao contrário do observado na segunda situação, quando essa mesma secreção se compacta como demonstrado na coloração mais forte observada na figura 3.

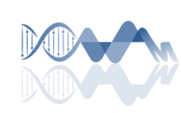
Foi evidenciada, nas fases secundária e madura, a presença de secreção de natureza homogênea básica, que circundou os oócitos. na qual pela estrutura se trata da zona radiata do folículo ovariano como descrito em Perini e colaboradores (2013) para duas espécies da família Curimatidae (26).

Figura 3 – Gônadas de fêmeas de peixes do gênero *Steindachnerina* coradas com Hematoxilina/Eosina (HE) oriundas do lago Viveiro (LV) e do lago da Horta (LH). s= secreção; n= núcleo; nu= nucléolo; CF= células foliculares; ZR= zona radiata; og= oogônia; ocp= oócito em crescimento primário; ocs= oócito em crescimento secundário; ocd= oócito completamente desenvolvido; fa= folículo atresico; poc= complexo folicular pós-ovulatório.



Xylidine Ponceau

Esta coloração evidenciou a presença de proteínas totais no núcleo e no citoplasma de fases celulares observadas (Figura 4), confirmando os resultados apresentados na técnica Hematoxilina/Eosina, no que diz respeito à: presença de epitélio pavimentoso revestindo os oócitos, presença de micronúcleolos que



umentam sua quantidade à medida que o folículo se desenvolve e a maior atividade proteica, na maioria das fêmeas coletadas.

Os resultados confirmaram também atividade de síntese proteica mais intensa nas células de indivíduos do lago do Horta (Figuras 4a, b, c) do que nos pertencentes ao lago do Viveiro (Figura 4d, e, f), pois os primeiros apresentaram oócitos mais corados de vermelho escuro, tanto no núcleo como no citoplasma das células, dos que os últimos que se apresentaram corados de vermelho claro.

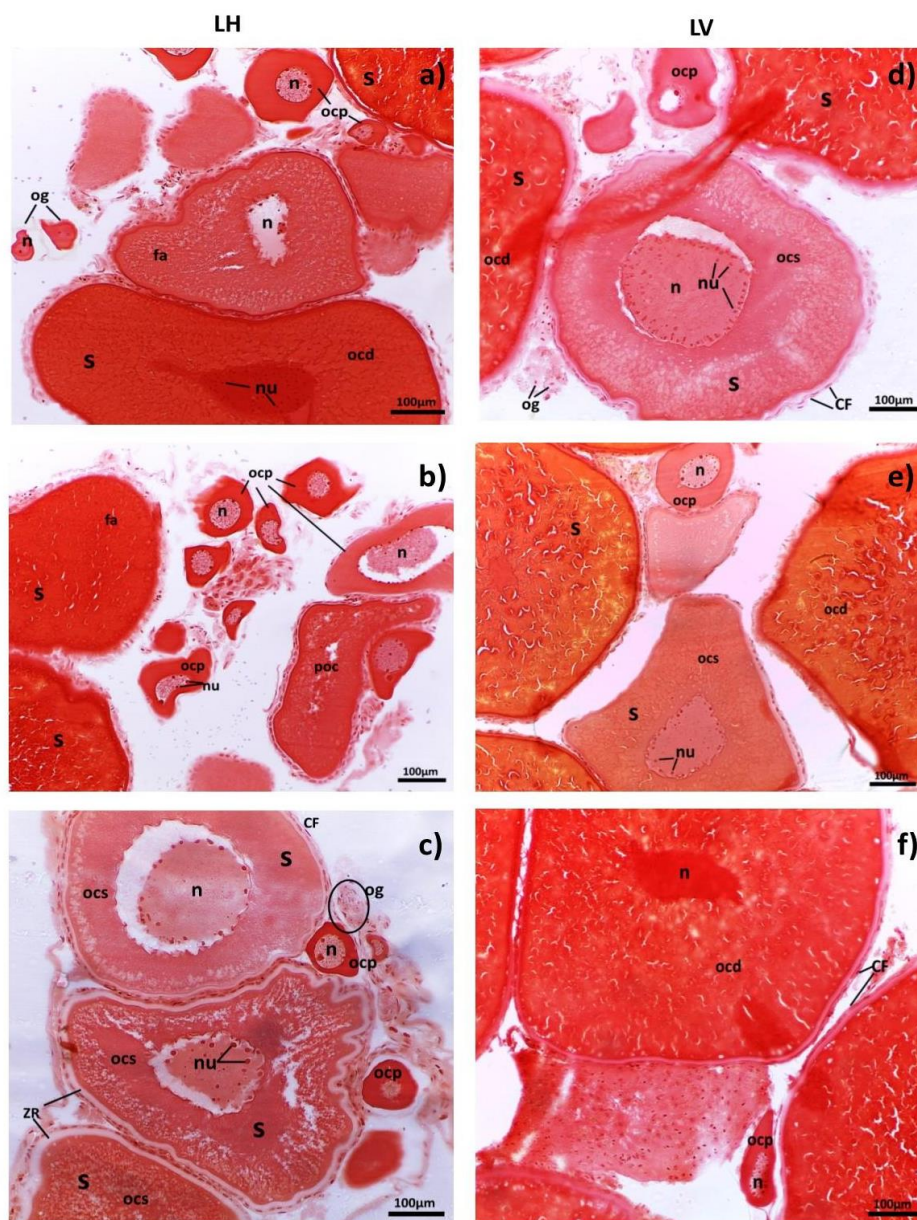
Observou-se ainda em toda a figura 4 que a secreção presente no citoplasma é de origem proteica, passando de homogênea a granulosa gradativamente em suas fases de amadurecimento estrutural. Os grânulos de secreção proteica acumulam-se da periferia em direção à área central do oócito (Figuras 4a, b, c, d, e). Destacou-se ainda um aumento significativo na concentração de proteínas a partir dos oócitos em desenvolvimento secundário (Figuras 4c, d, e) até o estágio completamente maduro (Figuras 4a, e, f), revelando assim o pico máximo de acúmulo de proteínas, constituinte do vitelo.

Destacou-se a presença de oócitos com características aparentes de células na fase maturação completa, porém sem a presença de um núcleo evidente. Pereira, Moreira e Batlouni (2013) analisando as gônadas de *Metynnis maculatus* caracterizaram essas células também como folículos atrésicos (fa) (17).

A técnica possibilitou ainda a observação de oogônias (Figuras 4c e 4d), considerado oócito jovem e imaturo, o qual apresenta tamanho celular bem reduzido e geralmente com um nucléolo de posição central (20). Conforme nossos resultados, tais oócitos possuem caráter proteico evidenciado pela já referida coloração.

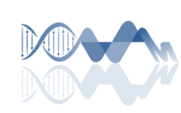
As oogônias foram identificadas em menor quantidade em relação às outras fases celulares. Elas apresentaram núcleos pequenos, quando comparadas às mesmas estruturas descritas nas outras fases de desenvolvimentos dos gametas.

Figura 4 – Gônadas de fêmeas de peixes do gênero *Steindachnerina* coradas com Xylidine Ponceau (XP) oriundas do lago Viveiro (LV) e do lago da Horta (LH). s= secreção; n= núcleo; nu= nucléolo; CF= células foliculares; ZR= zona radiata; og= oogônia; ocp= oócito em crescimento primário; ocs= oócito em desenvolvimento secundário; ocd= oócito completamente desenvolvido; fa= folículo atrésico; poc= complexo folicular pós-ovulatório.



CONCLUSÃO

Mediante os resultados apresentados no presente trabalho, pode-se concluir que as fêmeas de *Steindachnerina* pertencentes ao mesmo lago e lagos diferentes não apresentaram uniformidade nos resultados das técnicas aplicadas. Os peixes do lago da Horta apresentaram metabolismo mais intenso nos oócitos demonstrado pela intensidade da coloração das células. Ocorreu síntese de proteínas nos oócitos de fêmeas pertencentes a ambos os lagos. No entanto, esta é mais intensa em peixes



do lago da horta. Ocorreu também síntese de secreções ácidas e básicas em oócitos de exemplares em ambos os lagos, com mais intensidade nas células dos animais no lago da Horta.

Em resposta a grande diversidade na fauna de peixes neotropicais e sua importância para o ecossistema, torna-se necessário um investimento maior em pesquisas sobre a biologia desses animais, principalmente nas áreas de morfologia e histoquímica, cujos estudos permitem evidenciar, principalmente, a natureza química dos produtos secretados por esses animais, assim como elucidar outros mecanismos desenvolvidos por eles.

Conflito de interesses

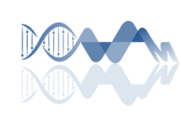
Os autores não têm outros conflitos de interesse.

Agradecimentos

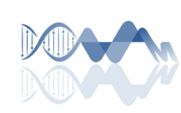
Agradecimento especial ao CNPq e Capes pelo apoio com bolsa e material de consumo, durante a execução.

REFERÊNCIAS

1. Lévêque C, Oberdorff T, Paugy D, Stiassny MLJ, Tedesco PA. Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. In: *Freshwater Animal Diversity Assessment*. Springer Netherlands; 2008. p. 545–67.
2. Albert J, Reis R. Historical biogeography of neotropical freshwater fishes. *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes*. University of California Press; 2011. 388 p.
3. Reis RE, Albert JS, Di Dario F, Mincarone MM, Petry P, Rocha LA. Fish biodiversity and conservation in South America. *J Fish Biol.* 2016 Jul;89(1):12–47.
4. Acre. Zoneamento Ecológico-Econômico do Acre Fase II - Documento Síntese - Escala 1:250.000 11. 2006.
5. Souza MB, Silveira M, Lopes MR., Vieira LJS, Guilherme E, Calouro AM, et al. a Biodiversidade No Estado Do Acre: Conhecimento Atual, Conservação E. *Rev T&C Amaz.* 2003;1(3):45–56.
6. Claro-García A, Vieira LJS, Jarduli LR, Abrahão VP, Shibatta OA. Fishes (Osteichthyes: Actinopterygii) from igarapés of the rio Acre basin, Brazilian Amazon. *Check List.* 2013;9(6):1410–38.
7. Vari RP. A Phylogenetic Study of the Neotropical Characiform Family Curimatidae (Pisces: Ostariophysi). Press SI, editor. Washington, D.C.; 1989. 80 p.



8. Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS; 2003. 729 p.
9. Netto-Ferreira AL, Vari RP. New Species of *Steindachnerina* (Characiformes: Curimatidae) from the Rio Tapajós, Brazil, and Review of the Genus in the Rio Tapajós and Rio Xingu Basins. *Copeia*. 2011;(4):523–9.
10. Lowe-McConnell RH. Fish Communities in Tropical Freshwaters. Their Distribution, Ecology and Evolution. Londres: Longman; 1975. 337 p.
11. Wosiacki WB, Miranda DP da S. Description of a New Small Species of the Genus *Cyphocharax* (Characiformes: Curimatidae) from the Lower Amazon Basin. *Copeia*. 2013 Dec 30;2013(4):627–33.
12. Melo BF, Vari RP. New species of *Cyphocharax* (Characiformes: Curimatidae) from the upper rio Negro, Amazon basin. *Neotrop Ichthyol*. 2014;12(2):327–32.
13. Melo BF, Oliveira C. Three new species of *Curimatopsis* (Characiformes: Curimatidae) from the Amazon basin. *J Fish Biol*. 2017;91(2):528–44.
14. Paulo H. F. Lucinda and Richard P. Vari. New *Steindachnerina* Species (Teleostei: Characiformes: Curimatidae) from the Rio Tocantins Drainage. Source: *Copeia*. 2009;(1):142–7.
15. Netto-Ferreira AL, Vari RP. New Species of *Steindachnerina* (Characiformes: Curimatidae) from the Rio Tapajós, Brazil, and Review of the Genus in the Rio Tapajós and Rio Xingu Basins. *The American Society of Ichthyologists and Herpetologists*. 2011;523–9.
16. Brown-Peterson NJ, Wyanski DM, Saborido-Rey F, Macewicz BJ, Lowerre-Barbieri SK. A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. *Mar Coast Fish*. 2011;3(1):52–70.
17. Pereira TSB, Moreira RG, Batlouni SR. Dynamics of ovarian maturation during the reproductive cycle of *Metynnis maculatus*, a reservoir invasive fish species (Teleostei: Characiformes). *Neotrop Ichthyol*. 2013;11(4):821–30.
18. Araújo FG, Nascimento AA, Gomes ID, Sales A, de Oliveira BAC. Gonadal development and reproductive period of the characin *Astyanax* aff. *Bimaculatus* (characiformes: Characidae) in a tropical reservoir in southeastern Brazil. *Zoologia*. 2019;36:14.
19. Quagio-Grassiotto I, Wildner DD, Ishiba R. Gametogênese de peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. *Rev Bras Reprod Anim*. 2013;37(2):181–91.
20. Vazzoler AEAM. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: Teoria e prática. única*. Maringá: Editora Universidade Estadual de Maringá; 1996. 169 p.
21. Brassesco MS, Pastori MC, Roncati HA, Fenocchio AS. Comparative cytogenetic studies of Curimatidae (Pisces, Characiformes) from the middle Paraná River (Argentina). *Genet Mol Res*. 2004;3(32):293–301.
22. A.V. Oliveira, A.J. Prioli, S.M.A.P. Prioli, C.S. Pavanelli HFJJ and RSP. Diversity and genetic distance in populations of *Steindachnerina* in the upper Paraná river floodplain of Brazil. *Genetica*. 2002;115:259–67.
23. Sampaio TR, Gouveia JG, da Silva CRM, Dias AL, da Rosa R. Molecular Analysis of the B Microchromosome in *Steindachnerina inculpta*



- (Characiformes: Curimatidae) by Microdissection. *Cytogenet Genome Res.* 2015;146:51–7.
24. Díaz AO, García AM, Blauth De Lima F, Pinheiro Junior C, Braccini MC, Galarça Guimarães AC. Glycoproteins in the branchial mucous cells of *Steindachnerina brevipinna* (Characiformes, Curimatidae): A histochemical study. *Rev Real Acad Galega Ciencias.* 2010;29:35–48.
 25. Ribeiro VMA, Santos GB, Bazzoli N. Reproductive biology of *Steindachnerina insculpta* (Fernandez-Yépez) (Teleostei, Curimatidae) in Furnas reservoir, Minas Gerais, Brazil. *Rev Bras Zool.* 2007 Mar;24(1):71–6.
 26. Perini VR, Sato Y, Rizzo E, Bazzoli N. Comparative analysis of the oocytes and early development of two species of curimatidae teleost fish. *J Vet Med Ser C Anat Histol Embryol.* 2013 Feb;42(1):40–7.
 27. Hashiguti F DT, Rocha RM, Montag LFA. Reproductive seasonality of the detritivorous fish *Cyphocharax abramoides* (Kner, 1958) (Characiformes: Curimatidae) in flooded rivers of the eastern Amazon. *Environ Biol Fishes.* 2017 Sep 1;100(9):1033–46.
 28. Rinchard J, Kestemont P. Liver Changes Related to Oocyte Growth in Roach, a Single Spawner Fish, and in Bleak and White Bream, Two Multiple Spawner Fish. *Int Rev Hydrobiol.* 2003 Jan 1;88(1):68–76.
 29. Thomé RG, de Oliveira Cardoso IC, de Oliveira SE, Santos HB dos. Oogenesis is accompanied by cyclic morphological changes in hepatocytes of Neotropical freshwater fish *Piabina argentea*. *Anat Histol Embryol.* 2018 Jul 16;47(5):466–74.
 30. Ribeiro VMA, Bazzoli N, Maria TA, Santos GB, Bazzoli N. Ultrastructural changes in female hepatocytes during ovarian maturation of *Steindachnerina insculpta* (Pisces: Curimatidae). *Brazilian J Biol.* 2006;66(4):957–62.
 31. Junqueira LCU, Junqueira LMMS. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Santos Editora; 1983. 123 p.
 32. Vidal BC, Mello ML. *Biologia Celular.* São Paulo: Atheneu; 1987. 347 p.