

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta dissertação será disponibilizado
somente a partir de 01/03/2019.

CROMOSSOMOS B: OCORRÊNCIA NOS PEIXES
NEOTROPICAIS E SUA DISTRIBUIÇÃO EM
Prochilodus lineatus

MANOLO PENITENTE

BOTUCATU - SP

2018



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

CROMOSSOMOS B: OCORRÊNCIA NOS PEIXES
NEOTROPICAIS E SUA DISTRIBUIÇÃO EM
Prochilodus lineatus

DOUTORANDO: MANOLO PENITENTE

ORIENTADOR: FABIO PORTO-FORESTI

Tese apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética).

BOTUCATU - SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Penitente, Manolo.

Cromossomos B : ocorrência nos peixes neotropicais e sua distribuição em *Prochilodus lineatus* / Manolo Penitente. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Fabio Porto-Foresti
Capes: 20204000

1. Peixe - Genética. 2. *Prochilodus lineatus*. 3. Genética de populações. 4. Cromossomos. 5. Citogenética. 6. Marcadores genéticos.

Palavras-chave: Curimba; citogenética; cromossomos supranumerários; genética de populações; marcadores moleculares.



Se você olhar para isso, você vê um ponto. É aqui. É nosso lar. Somos nós. Nele, todos que você ama, todos que você conhece, todos de quem você já ouviu falar, todo ser humano que já existiu, viveram suas vidas. A totalidade de nossas alegrias e sofrimentos, milhares de religiões, ideologias e doutrinas econômicas, cada caçador e saqueador, cada herói e covarde, cada criador e destruidor da civilização, cada rei e plebeu, cada casal apaixonado, cada mãe e pai, cada criança esperançosa, inventores e exploradores, cada educador, cada político corrupto, cada “superstar”, cada “líder supremo”, cada santo e pecador na história da nossa espécie viveu ali, em um grão de poeira suspenso em um raio de sol.

Carl Sagan

Dedico ao meu irmão Murilo (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

O meu agradecimento é dedicado às instituições e pessoas que contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho, em particular:

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio concedido.

Ao Programa de Doutorando Sanduíche no Exterior (PDSE) vinculado a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida (Processo: 88881.132467/2016-01).

Ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista - UNESP, campus de Botucatu, ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética) e à Seção de Pós-Graduação do IBB pelo apoio.

À Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista - UNESP, campus de Bauru e ao Departamento de Ciências Biológicas pelas condições oferecidas para a execução deste trabalho.

Ao Centro de Pesquisa e Gestão dos Recursos Pesqueiros Continentais/Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (CEPTA/ICMBio) pela grandiosa colaboração para a realização deste trabalho.

Ao professor Fabio Porto-Foresti, pela grande oportunidade oferecida durante todos estes anos de Lagenpe. Obrigado pela atenciosa orientação, pelo apoio, incentivo e confiança durante minha formação.

Ao professor Fausto Foresti, pelo incentivo, auxílio e valiosos ensinamentos que sempre serão de grande valia no meu caminho científico.

Ao Pesquisador José Augusto Senhorini pela disponibilidade, ajuda e ensinamentos durante a Iniciação Científica e Mestrado, pelo trabalho realizado junto ao CEPTA/ICMBio o qual foi de fundamental importância para a concretização desta tese.

Ao professor Manuel Vera e sua esposa Ana, pela amizade e por me acolherem tão bem em sua casa durante o período na Espanha, jamais esquecerei o que fizeram por mim, muitíssimo obrigado por tudo.

Ao professor Paulino Martínez e a Universidad de Santiago de Compostela por terem me recebido tão bem durante o estágio no exterior.

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Genética de Peixes (Lagenpe) da UNESP – Bauru: Diego, Fernanda, Bruna, Caio Goes, Willian, Raul, Caio Felipe, Ricardo, Andrea, Carolina, Lilian, Egberto, Cahique, Sandro, Sheila, Ana, Roger, Vinicius, Ana Carolina, além de todos que passaram durante a minha formação, por todos os momentos que passamos juntos e principalmente pela amizade que cultivamos ao longo destes anos.

Aos amigos do laboratório de Biologia e Genética de Peixes da Unesp – Botucatu, pela parceria e amizade.

Aos docentes e servidores do Departamento de Ciências Biológicas da Unesp de Bauru e do Departamento de Morfologia da Unesp de Botucatu, pela atenção.

Aos amigos Ricardo Utsunomia e Bruno Melo pela amizade e participação na banca de qualificação, além das valiosas críticas para a conclusão desta tese.

Ao amigo Luis Alberto (Gordo) pela amizade e valiosa ajuda nas idas e vindas ao CEPTA, além das coletas do rio Grande.

Ao amigo Vinícius e ao professor Rodney da Universidade do Sagrado Coração pela amizade e ajuda com as coletas no rio Batalha.

A todos os professores, pesquisadores, alunos, amigos e técnicos do grupo ACUIGEN, Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, Espanha: Adrián Chiclana, Carlos Copel, Marina, Marialaura, Néstor, Andres, Ana, Jeannette, Francesco, Carlha, Belén, Carlos, Carmen, Jorge, Laura, Lucía, María Portela, María (Peque), Manuel, Mónica, Miguel, Paulino, Raquel, Sonia, Susana, Vanessa, Adrián. Obrigado a todos pelos ensinamentos e pela amizade que recebi desde o primeiro dia que cheguei ao laboratório. Em especial, agradeço aos amigos Marialaura e Néstor pela amizade e por todos os momentos especiais que passamos juntos.

Ao grande amigo Juarez Cotrim pela amizade e por fazer possível a coleta no rio Apa, a qual foi fundamental para a conclusão desta tese, muito obrigado!

À minha mãe Miriam e meus avós: Valdelício e Wanda, por todo amor e incentivo, onde quer que eu estivesse e em todas decisões que tomei. Obrigado por estarem sempre presentes e fazerem parte da minha vida.

À minha irmã Manoela e minhas sobrinhas - Ananda e Alana, pelo amor e por serem tão especiais para minha vida.

Ao meu irmão Murilo (*in memoriam*), por todo amor e companheirismo em vida, por me apoiar sempre nas decisões, por ter sido uma pessoa de ótimo caráter, além de me fazer pensar todos os dias em você e assim conseguir forças para seguir adiante.

À minha sogra Terezinha e meu sogro Valdir por me acolherem na sua família e sempre me apoiar, mesmo nos momentos mais difíceis.

À minha noiva Amanda, por todo amor e dedicação durante todos estes anos e por ser o alicerce da minha vida, sempre me apoiando e me dando forças nestes 14 anos de convivência. Te amo muito!

RESUMO

Os cromossomos B são cromossomos adicionais de natureza dispensável e estão amplamente distribuídos entre os genomas dos eucariotos. Sua estrutura, origem, função, manutenção e comportamento são particulares nos diferentes grupos de uma maneira espécie-específica. Dentre os peixes portadores de cromossomos B da região Neotropical podemos destacar a espécie *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836), sendo uma espécie de grande ocorrência na bacia do rio de La Plata. Citogeneticamente, essa espécie apresenta um número diploide composto por 54 cromossomos dos tipos meta/submetacêntrico e apresenta um interessante sistema de microcromossomos B, que pode ocorrer variação interindividual de zero a nove supranumerários, além de apresentar polimorfismo, sendo encontrados três variantes morfológicas (acrocêntrica, metacêntrica e submetacêntrica). *P. lineatus* pode ser considerada uma espécie modelo de peixe Neotropical para estudos concernentes à origem, comportamento e evolução dos cromossomos B, devido à facilidade de captura, manejo, elevada frequência de supranumerários, além de ter sido utilizada em vários estudos pioneiros relacionados a estrutura, herança e origem dos Bs nos peixes. Entretanto, ainda pouco se sabe sobre a ocorrência dos cromossomos B em *P. lineatus* ao longo da bacia do rio de La Plata, onde esta espécie está amplamente distribuída, pois a maioria dos estudos foram conduzidos na população do rio Mogi Guaçu. Diante disto, o presente estudo teve como objetivo estudar a ocorrência dos supranumerários nos peixes do Neotrópico, além de efetuar um estudo sobre a distribuição dos Bs na espécie *P. lineatus* ao longo da bacia do rio Paraná. A revisão dos cromossomos B nos peixes neotropicais mostrou que atualmente são descritos em 73 espécies de peixes, distribuídas em 20 famílias de 6 diferentes ordens. A ordem dos Characiformes representa o maior número de espécies portadoras de cromossomos B, com quase 50% do total de descritos. Além disso, a análise citogenética em *P. lineatus* de diversas localidades

evidenciou uma macroestrutura cariotípica conservada dos cromossomos A. No entanto, ao observar a ocorrência dos Bs nas diferentes populações foi possível levantar hipóteses sobre a origem destes elementos genômicos na bacia do alto rio Paraná, mais especificamente na bacia do rio Grande. Adicionalmente aos dados citogenéticos foram utilizados marcadores moleculares nucleares (microssatélites) e mitocondriais (sequenciamento da região controle) para averiguar se há estruturação populacional nesta espécie. Os dados observados a partir de marcadores moleculares indicaram ausência de estruturação populacional sugerindo uma panmixia para populações de *P. lineatus*. Entretanto, ao observar os resultados utilizando os Bs como marcadores populacionais foi observada uma acentuada diferenciação populacional, o que sugere que a ocorrência dos Bs é relativamente recente nesta espécie e que a evolução destes elementos se dá de maneira muito mais rápida que os marcadores moleculares utilizados no presente estudo. Por fim, podemos pensar na possibilidade da utilização dos cromossomos B como uma importante ferramenta no estudo populacional em espécies migradoras que apresentam uma dificuldade na detecção de diferenciação populacional, assim como ocorre em *P. lineatus*.

ABSTRACT

B chromosomes are additional chromosomes of a dispensable nature and are widely distributed among eukaryotic genomes. Their structure, origin, function, maintenance and behavior are particular in the different groups in a species-specific manner. Among the fish with B chromosomes of Neotropical region we can highlight a species *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836), being a species of great occurrence in the La Plata River basin. Cytogenetically, this species presents a diploid number of 54 chromosomes of the meta/submetacentric types and presents an interesting system of microchromosomes B, which can occur interindividual variation from zero up to nine supernumeraries, besides presenting polymorphism, being found three morphological variants (acrocentric, metacentric and submetacentric). *P. lineatus* can be considered a model species of Neotropical fish for studies concerning the origin, behavior and evolution of B chromosomes, due to the ease of capture, handling, high frequency of supernumerary, and has been used in several pioneering studies related to the structure, inheritance and origin of Bs in fish. However, little is known about the occurrence of B chromosomes in *P. lineatus* along the La Plata basin, where this species is widely distributed, since most of the studies were conducted in the Mogi Guaçu River population. Therefore, the present study had as objective to study the occurrence of supernumerary in neotropical fish, besides carrying out a study on the distribution of Bs in *P. lineatus* along the Paraná River basin. The review of B chromosomes in neotropical fish showed that they are currently described in 73 species of fish distributed in 20 families from 6 different orders. The order of Characiformes represents the largest number of species bearing B chromosomes, with almost 50% of the total described. In addition, cytogenetic analysis in *P. lineatus* from several localities showed a conserved karyotype macrostructure of A chromosomes. However, when observing the occurrence of Bs in the different populations, it

was possible to hypothesize about the origin of these genomic elements in the upper Paraná River basin, more specifically in the Grande River basin. In addition to the cytogenetic data, nuclear (microsatellite) and mitochondrial molecular markers (control region sequencing) were used to determine if there is a population structure in this species. The molecular data indicated absence of population structure suggesting a panmixia for *P. lineatus*. However, observing the results using the Bs as population markers showed a population differentiation, which suggests that the occurrence of Bs is relatively recent in this species and the evolution of these elements occurs much faster than the molecular markers used in the present study. Finally, we can think about the possibility of using the B chromosomes as an important tool in population studies in migratory species which present a difficulty in the detection of population differentiation, as in *P. lineatus*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 A ictiofauna Neotropical.....	1
1.2 Características gerais dos Characiformes com ênfase no gênero <i>Prochilodus</i>	3
1.3 Estudos citogenéticos no gênero <i>Prochilodus</i>	6
1.4 Os cromossomos B	8
1.4.1 Aspectos gerais.....	8
1.4.2 Novas perspectivas sobre o estudo dos cromossomos B.....	10
1.4.3 Hipóteses sobre a origem dos cromossomos B	11
1.4.4 Manutenção dos cromossomos B.....	13
1.4.5 Herança dos cromossomos B	15
1.4.6 Cromossomos B em peixes neotropicais.....	16
1.4.7 Cromossomos B em <i>Prochilodus lineatus</i>	18
1.5 Estudos populacionais em peixes neotropicais, com ênfase em marcadores de DNA mitocondrial	20
1.6 O uso de marcadores microssatélites	22
1.7 Estudos populacionais em <i>Prochilodus lineatus</i>	23
1.8 Justificativa	24
2 OBJETIVOS	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Material.....	27
3.2 Locais de coleta	27
3.3 Captura dos exemplares	30
3.4 Métodos	31
3.4.1 Marcação dos exemplares	31
3.4.2 Análises citogenéticas	33
3.5 Utilização de marcadores citogenéticos.....	38
3.5.1 Detecção das regiões organizadoras de nucléolos (NOR) através da impregnação com nitrato de prata (Ag-NO ₃).....	38
3.5.2 Caracterização da heterocromatina constitutiva.....	39
3.6 Utilização de marcadores moleculares	40
3.6.1 Extração de DNA e quantificação das amostras	40
3.6.2 Protocolo para extração de DNA a partir de amostras de nadadeira.....	40

3.6.3 Seleção dos <i>loci</i> microssatélites	41
3.6.4 Análises populacionais utilizando microssatélites	43
3.6.5 Amplificação da região controle (mtDNA).....	44
3.6.6 Purificação do produto de PCR (mtDNA região controle)	45
3.6.7 Reação de sequenciamento (mtDNA região controle).....	45
3.6.8 Purificação das amostras amplificadas.....	46
3.6.9 Análise populacional utilizando a região controle	47
3.6.10 Análise populacional utilizando os cromossomos B como marcadores	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
CAPÍTULO 1.....	50
CAPÍTULO 2.....	68
CAPÍTULO 3.....	82
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	112
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
7 APÊNDICES	142
7.1 Apêndice 1	142

1 INTRODUÇÃO

1.1 A ictiofauna Neotropical

Há aproximadamente 35.700 espécies de peixes descritas, incluindo os fósseis (Zhang, 2013), desta forma, é considerado o grupo mais diversificado que habita os ambientes aquáticos (Nelson, 2006). Dentre todas as espécies de peixes descritas, pelo menos 13.000 são exclusivas de ambientes de águas continentais (Agostinho et al., 2008). No entanto, a extensa rede hidrográfica e os problemas de acesso aos locais de amostragem dificultam o conhecimento da real diversidade dos peixes dulcícolas (Vari e Malabarba, 1998).

A região Neotropical compreende a área desde parte do México, Caribe, até o sul da América do Sul e contém a fauna de peixes mais rica do mundo (Reis et al., 2016). A maior parte desta diversificação teve início no Cretáceo, num período entre 120 a 100 Ma, durante o processo de separação dos continentes Africano e Sul Americano (Brito et al., 2007; Albert et al., 2011). A estimativa para o total de espécies de peixes para o Neotrópico é de 9.100 espécies (Reis et al., 2016).

De acordo com Reis et al., (2016), as espécies de peixes dulcícolas de águas neotropicais existentes correspondem a aproximadamente 27% de todas as espécies de peixes do mundo, entretanto, este número torna-se impressionante, já que toda esta diversidade ocorre em ambientes de águas continentais, os quais representam apenas 0,03% de toda a água do planeta (Vari e Malabarba, 1998). Contudo, o conhecimento da biologia básica de suas espécies ainda é um dos maiores desafios da ictiologia, sendo as espécies de pequeno porte as menos conhecidas, desde o ponto de vista taxonômico até a quantificação de aspectos da ecologia populacional, reprodutiva o que dificulta a adoção de medidas mais eficientes de manejo e conservação (Sanna-Kaisa e Jukka, 2004; Martins-Queiroz et al., 2008).

A ictiofauna Neotropical no Brasil se apresenta como um notável recurso natural, onde são conhecidas cerca de 2.481 espécies de peixes (Buckup et al., 2007). Diante disto, pode-se considerar que o Brasil comporta a maior diversidade de peixes neotropicais do mundo. Entretanto, ainda são escassas as informações disponíveis sobre a ictiofauna marinha no Brasil, com apenas 1.298 espécies de peixes descritas, incluindo quatro Myxini, 139 Chondrichthyes (tubarões e raias) e 1.155 Actinopterygii (Menezes et al., 2003), além disso, a maioria destas espécies estão presentes nas regiões caribenhas.

Dentro da região Neotropical podemos destacar a bacia do rio La Plata, a qual está situada na região sudeste da América do Sul, sendo considerada um dos maiores sistemas fluviais do planeta, cujas origens geológicas datam desde a ruptura Gondwanica durante a era mesozoica (Potter, 1997; Ribeiro, 2006; Brea e Zucol, 2011). Os principais tributários que formam esta bacia são os rios Paraná, Paraguai e Uruguai. O rio Paraná possui cerca de 1.400.000 km², representando aproximadamente 48.7% de toda a sua área de extensão (Brea e Zucol, 2011). A área de drenagem do rio Paraná abrange uma área de aproximadamente 900.000 km², localizada região sul do escudo brasileiro, abrigando cerca de 250 espécies autóctones de peixes, sendo que 125 dessas espécies são consideradas endêmicas (Langeani et al., 2007; Albert et al., 2011). Essa riqueza de espécies corresponde a aproximadamente 6% da biodiversidade conhecida de peixes do Neotrópico (Albert et al., 2011).

A bacia do alto rio Paraná apresenta uma ictiofauna diversificada, onde são registradas aproximadamente 360 espécies (Carvalho e Langeani, 2013). Uma das causas do endemismo de peixes na bacia do alto rio Paraná se deve à barreira biogeográfica do salto de Sete Quedas, antes de ser inundada para o fechamento da barragem de Itaipu em 1982, a qual isolava assembleias de peixes da porção abaixo e acima do rio Paraná (Agostinho et al., 2004).

1.2 Características gerais dos Characiformes com ênfase no gênero *Prochilodus*

A ordem Characiformes é um dos maiores grupos de peixes dulcícolas, com pelo menos 3.516 espécies válidas (Eschmeyer e Fong, 2017). Membros dos Characiformes ocorrem na África subsaariana, sul da América do Norte, Américas Central e do Sul (Moreira, 2007). Atingem sua maior diversidade na região Neotropical representando aproximadamente 43% das espécies de peixes de águas continentais na Amazônia e cerca de 30% das espécies de peixes neotropicais (Otero e Gayet, 2001).

Há uma grande variação em tamanhos dentre os Characiformes, contendo desde espécies muito pequenas (como ocorre nos gêneros *Lepidarchus* e *Xenurobrycon*), até outras com dois metros de comprimento (*Hydrocynus goliath*). Representantes dos Characiformes ocorrem desde ambientes lênticos até lóticos. Vários grupos de Characiformes são importantes para a pesca esportiva, principalmente os peixes do gênero *Brycon* e *Salminus*, além da pesca de subsistência, sendo muitas vezes a única fonte de proteína animal de algumas populações ribeirinhas. Além disso, algumas espécies são importantes para o mercado de peixes ornamentais (por exemplo os peixes dos gêneros *Hyphessobrycon*, *Paracheirodon*, *Phenacogrammus* e *Gymnocorymbus*).

Dentre os Characiformes existem espécies que se destacam por apresentarem comportamentos migratórios, dentre elas podemos destacar o dourado (*Salminus brasiliensis*) e o curimatá (*Prochilodus* sp.) (Godinho e Kynard, 2008). A migração é um fenômeno anual em que peixes se deslocam em direção à cabeceira dos rios à procura de locais propícios para a desova e crescimento dos juvenis. Há diferentes estratégias migratórias, desde as longas migrações de espécies anádromas, como ocorre nos salmonídeos que migram do mar para as nascentes dos rios e chegam a nadar mais de mil quilômetros até as áreas de desova. Além disso, há também os chamados peixes potamódromos, que vivem exclusivamente em rios e

migram rumo às nascentes para desencadear os processos biológicos que levam à reprodução (Hilsdorf e Moreira, 2008).

Os peixes de piracema, como são conhecidos no Brasil, são os que realizam migrações reprodutivas e apresentam padrões de deslocamento de alta complexidade (Godinho e Pompeu, 2003). Todavia, ainda pouco se sabe sobre o comportamento biológico reprodutivo sobre os padrões de migração e muitas questões relativas a este tema ainda estão para serem respondidas (Godinho, 2007).

Dentre os grandes migradores da região Neotropical, podemos destacar os peixes da família Prochilodontidae os quais são considerados um dos componentes mais importantes para o comércio e a pesca de subsistência em ambientes dulcícolas da América do Sul, com exceção do Chile, onde estas espécies não ocorrem (Lowe-McConnell, 1975; Goulding, 1981; Vari, 1983). Segundo dados do Ministério da Pesca e Aquicultura (2011), peixes desta família possuem a maior produção de pescado proveniente da pesca extrativa continental, com 28.643t no ano de 2010. Desta forma, são elementos de importante participação na produção de pescado e fonte proteica de populações ribeirinhas no Brasil.

Todos os Prochilodontidae são iliófagos, possuindo assim algumas adaptações anatômicas como boca em forma de ventosa para succionar o lodo do fundo dos rios e retirar os detritos orgânicos. Apresentam alta tolerância ao ambiente em que vivem, tais como mudança de pH, estratificação de temperatura elevada e baixas concentrações de oxigênio (Mago-Leccia, 1972). Além disso, a família Prochilodontidae compreende espécies de tamanho variável, com representantes alcançando mais de 50 centímetros de comprimento (Britski et al., 1988). Em uma revisão taxonômica, Castro e Vari (2004) mostraram que a família Prochilodontidae compreende 21 espécies distribuídas em três gêneros: *Ichthyoelephas* (2 espécies), *Prochilodus* (13 espécies) e *Semaprochilodus* (6 espécies).

A sistemática da família Prochilodontidae é um tanto complexa devido à estabilidade dos caracteres morfológicos e merísticos adotados para a distinção das diferentes espécies (Mago-Leccia, 1972). Esta homogeneidade dos caracteres taxonômicos pode ser explicada devido ao fato destas espécies estarem amplamente distribuídas ao longo das grandes bacias hidrográficas da América do Sul, talvez por sua capacidade de efetuar grandes migrações com propósito reprodutivo, dispersando, desta maneira, populações em grandes áreas (Mago-Leccia, 1972).

Castro e Vari (2004) revisaram a taxonomia da família Prochilodontidae, a qual compreende 21 espécies distribuídas em três gêneros: *Ichthyoelephas* (*Ichthyoelephas humeralis* e *Ichthyoelephas longirostris*), *Prochilodus* (*Prochilodus argenteus*, *Prochilodus brevis*, *Prochilodus britskii*, *Prochilodus costatus*, *Prochilodus harttii*, *Prochilodus lacustris*, *Prochilodus lineatus*, *Prochilodus magdalenae*, *Prochilodus mariae*, *Prochilodus nigricans*, *Prochilodus reticulatus*, *Prochilodus rubrotaeniatus* e *Prochilodus vimboides*) e *Semaprochilodus* (*Semaprochilodus brama*, *Semaprochilodus insignis*, *Semaprochilodus kneri*, *Semaprochilodus laticeps*, *Semaprochilodus taeniurus* e *Semaprochilodus varii*). Recentemente, Melo et al. (2016) propuseram uma filogenia molecular da família Prochilodontidae, utilizando três *loci* de marcadores nucleares e três mitocondriais, fornecendo subsídios para afirmar que há uma monofilia na família incluindo os três gêneros.

O curimatá, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes 1836), é considerado um peixe migrador por excelência e grandes cardumes realizam extensas migrações nos rios da bacia do Paraná na época da piracema. Padrões migratórios em *P. lineatus* foram descritos na maior parte da bacia do rio Paraná com base em experimentos envolvendo a marcação e recaptura, biotelemetria, uso de *tags* de registro de dados e análise de tecidos rígidos, tais como os otólitos (Bayley, 1973; Lucas et al., 2001; Godinho e Kynard, 2006; Peixer e Petrere Júnior, 2009). Uma revisão dos dados de marcação e recaptura nesta espécie (Sverlij et al., 1993)

sugere que possam ocorrer extensas migrações reprodutivas, sendo documentado exemplares recapturados em 1.000 km de distância da localidade de marcação. Rotas migratórias mais curtas parecem ser mais prováveis, como indicado pela maioria das recapturas estarem contidas entre 50 e 500 km de distância a partir do local de marcação (Espinach Ros et al., 1990).

1.3 Estudos citogenéticos no gênero *Prochilodus*

Estudos em ictiologia revelam um interesse crescente pela citogenética de peixes, devido à problemática taxonômica e filogenética que tem motivado grande parte das pesquisas da área neste grupo. No último levantamento realizado foram reportadas informações citogenéticas disponíveis para cerca de 475 espécies de Characiformes, 318 espécies de Siluriformes, 48 espécies de Gymnotiformes, 199 espécies não pertencentes à superordem Ostariophysi e 109 espécies de peixes marinhos (Oliveira et al., 2007). Em outra revisão, Oliveira et al. (2009) incluíram a descrição 62 espécies contendo cromossomos sexuais em seu conjunto cariotípico.

Os primeiros estudos realizados por Pauls e Bertollo (1983, 1990) sobre a citogenética de peixes do gênero *Prochilodus* sugeriram a existência de uma homogeneidade dos caracteres cariotípicos básicos. Vários estudos mostraram que exemplares de *Prochilodus* analisados citogeneticamente continham um número diploide de 54 cromossomos dos tipos meta e submetacêntricos, com número fundamental igual a 108 (Pauls e Bertollo, 1983, 1990; Oliveira et al., 1997; Cavallaro et al., 2000; Jesus e Moreira-Filho, 2003; Artoni et al., 2006; Voltolin et al., 2009; Voltolin et al., 2013a). Voltolin et al. (2013a) realizaram um estudo citogenético comparativo envolvendo cinco espécies de *Prochilodus* (*P. argenteus*, *P. brevis*, *P. costatus*, *P. lineatus* e *P. nigricans*) que apresentaram uma composição cariotípica conservada, havendo apenas poucas variações no padrão de heterocromatina constitutiva.

Diante disso, pode-se afirmar que a família Prochilodontidae parece apresentar uma evolução cromossômica predominantemente conservada.

Análises do bandamento C realizadas em preparações cromossômicas de indivíduos destas espécies evidenciaram a presença de heterocromatina constitutiva nas regiões centroméricas dos cromossomos, com a presença de alguns blocos heterocromáticos (Voltolin et al., 2013a). Além disso, os cromossomos B dos indivíduos portadores apresentaram-se totalmente heterocromáticos (Pauls e Bertollo, 1990; Cavallaro et al., 2000; Jesus e Moreira-Filho, 2003), embora já tenha sido descrito a presença de blocos eucromáticos nos cromossomos supranumerários de exemplares de *P. lineatus* na bacia do rio Tibagi, Paraná (Artoni et al., 2006).

Alguns trabalhos descritos na literatura para o gênero *Prochilodus* relatam que a técnica de detecção da Região Organizadora de Nucléolo (NOR) por meio da impregnação por nitrato de prata, evidenciaram as NORs na região intersticial do braço longo de um par cromossômico metacêntrico de tamanho médio (Pauls e Bertollo, 1990; Maistro et al., 2000; Jesus e Moreira-Filho, 2003; Artoni et al., 2006; Vicari et al., 2006, Voltolin et al., 2013a). A região de NOR simples localizada intersticialmente é uma condição bastante comum encontrada nesse grupo como nas espécies *P. brevis*, *P. argenteus*, *P. nigricans*, *P. costatus* (Pauls e Bertollo, 1990) e *P. mariae* (Oliveira et al., 2003). A localização dos genes ribossomais rDNA 5S e 18S indicaram sintonia em *P. argenteus*, *P. brevis*, *P. costatus*, *P. lineatus* e *P. nigricans* (Voltolin et al., 2013a). A organização sintênica dos genes ribossomais 5S e 18S constitui uma situação rara entre os vertebrados. Além da descrição em algumas espécies do gênero *Prochilodus*, esta sintonia também foi observada nos peixes *Salmo salar* (Pendás et al., 1994), *Oncorhynchus mykiss* (Morán et al., 1996), *Astyanax* (Almeida-Toledo et al., 2002), *Triporthus nematurus* (Diniz et al., 2009), *Pimelodus britskii* (Moraes Neto et al., 2011). Por outro lado, em várias espécies de peixes, estes *loci* tem sido mapeados em distintos

cromossomos (Martínez et al., 1996; Morán et al., 1996; Born e Bertollo, 2000; Ferro et al., 2001; Vicente et al., 2001; Wasko et al., 2001; Noieto et al., 2007), representando a condição mais frequente descrita para vertebrados (Lucchini et al., 1993; Drouin e Muniz de Sá, 1995; Suzuki et al., 1996).

Adicionalmente, uma interessante característica citogenética de várias espécies do gênero *Prochilodus* é a abundante presença de cromossomos B, que foram primeiramente descritos em *P. lineatus* por Pauls e Bertollo (1983).

1.4 Os cromossomos B

1.4.1 Aspectos gerais

Os cromossomos B foram descobertos nos primórdios da história da citogenética clássica quando Wilson (1907) observou a presença de cromossomos “extras” em hemípteros *Metapodius*. Alguns anos depois, casos similares foram descobertos em besouros *Diabrotica* (Stevens, 1908) e no milho (Kuwada, 1915). Diferentes nomenclaturas foram adotadas para descrever os cromossomos supranumerários, incluindo “fragmentos cromossômicos extras” (Müntzing, 1944; Östergren, 1945), “cromossomos supérfluos” (Hakansson, 1945) e “cromossomos acessórios” (Hakansson, 1948; Müntzing, 1948).

Os cromossomos B, também conhecidos como Bs ou cromossomos supranumerários, são elementos extras presentes no genoma de várias espécies dentre os eucariotos. Nas plantas há a descrição de cromossomos B em 979 espécies de angiospermas, representando 8% das monocotiledôneas e 3% das dicotiledôneas (Levin et al., 2005). Dentre os animais, o grupo mais bem caracterizado são os Artrópodes, classe Insecta, com os Orthoptera representando 92 espécies, Diptera 42, e Coleoptera 40 espécies (Camacho, 2005). Nos mamíferos os Bs ocorrem em 55 espécies, sendo os roedores o grupo mais representativo (Vujosevic e

Blagojevic, 2004). Em uma recente revisão, Jones (2017) descreve a ocorrência de 1685 organismos portadores de cromossomos B nos eucariotos até o presente momento, tendo uma descrição de 406 novas ocorrências nos últimos 35 anos.

A definição mais comum dos Bs é que estes seriam cromossomos adicionais, dispensáveis para o crescimento e desenvolvimento dos organismos portadores, que apresentam frequência variável e que provavelmente teriam surgido dos cromossomos A, porém seguindo um caminho evolutivo independente. A composição, função e especialmente a origem dos cromossomos B ainda são questões bastante controversas e não resolvidas no campo da citogenética.

Houben et al. (2014) definem cromossomos B como elementos adicionais ao conjunto de cromossomos normais. Estes elementos adicionais apresentam herança não-mendeliana e têm sido amplamente descritos em milhares de animais, plantas, fungos e outras espécies, mas ainda permanecem como um mistério evolutivo. São encontrados em alguns indivíduos de uma determinada população, e podem variar em número inter e intraindividualmente. Além disso, diferentes tipos de cromossomos B podem existir dentro da mesma espécie.

Inicialmente, e até há pouco tempo, os cromossomos B foram considerados como elementos não-funcionais e sem deter quaisquer genes essenciais, uma vez que são dispensáveis para o crescimento normal do organismo portador, não conferindo qualquer vantagem adaptativa (Houben et al., 2014). Muitos autores consideram estes cromossomos como elementos parasitas (ou egoístas) presente nos genomas de muitas espécies e persistem nas populações fazendo uso da maquinaria celular necessária para sua transmissão com um mecanismo de acúmulo próprio (Cabrero et al., 2013). Quando presentes em número reduzido, os supranumerários geralmente têm pouco ou nenhum impacto sobre os portadores, no entanto, uma elevada frequência dos Bs pode causar diferenças fenotípicas e reduzir a fertilidade em alguns casos (Camacho et al., 2000; Jones e Houben, 2003; Camacho, 2005).

Por fim, os supranumerários têm despertado grande interesse na comunidade científica devido apresentarem, aparentemente, material genético dispensável e ainda persistirem em populações sem serem eliminados pela seleção natural. Apesar da ampla distribuição taxonômica dos cromossomos B, o conhecimento da origem, composição, regulação e mecanismos de acúmulo destes cromossomos foram limitados até muito recentemente. Devido aos avanços das tecnologias de sequenciamento e ferramentas de bioinformática o conhecimento biológico dos cromossomos B têm melhorado significativamente nos últimos anos.

1.4.2 Novas perspectivas sobre o estudo dos cromossomos B

Os cromossomos B estão ranqueados como um dos principais temas de pesquisa de citogenética e biologia cromossômica nos últimos anos. A importância dos Bs tem sido amplamente discutida nas últimas décadas através de uma série de conferências organizadas para discutir o tema (1^a, 2^a e 3^a B Chromosome Conferences, realizadas em 1993, 2004 e 2014, respectivamente). Os estudos envolvendo supranumerários avançaram desde a citogenética clássica (conduzida durante a maior parte do século 20) e citogenética molecular (desde os anos 90 até hoje) para análise genômica e ferramentas de bioinformática, sendo conduzida nos últimos anos com o advento de novas metodologias de sequenciamento de nova geração (SNG) com um custo mais baixo (Valente et al., 2017).

Estudos em citogenética clássica e molecular foram extensivamente utilizados para o entendimento dos Bs, numa tentativa de responder questões acerca de sua origem e evolução. Embora estas metodologias tenham provido descobertas importantes, elas apresentam um limite de resolução a nível molecular (Valente et al., 2017). Todavia, os avanços tecnológicos de sequenciamento permitiram uma investigação massiva sobre questões estruturais e

funcionais relacionadas aos cromossomos B que anteriormente e até pouco tempo não seria possível (Valente et al., 2017).

Martis et al. (2012) utilizaram SNG a partir de Bs isolados de centeio e descobriram que estes cromossomos são basicamente derivados dos autossomos 3R e 7R, com subsequente acumulação de sequências de outros autossomos e genomas de organelas. A análise de genoma massiva realizada no peixe *Astatotilapia latifasciata* (Valente et al., 2014) utilizando SNG de cromossomos B microdissectados e genoma total de indivíduos B+ (portador) e B- (não portador) mostraram que os Bs contêm milhares de sequências duplicadas de todos os cromossomos A desta espécie. Além disso, estes autores encontraram muitos genes nos cromossomos B, sendo que alguns deles ainda permaneciam intactos.

Por fim, pode-se afirmar que as informações dos estudos recentes envolvendo SNG mudaram a visão clássica de que os cromossomos B são pobres em genes/atividade gênica, sugerindo que os Bs podem exercer um papel importante sobre a biologia celular (Valente et al., 2017).

1.4.3 Hipóteses sobre a origem dos cromossomos B

Até o momento, não existe uma elucidação definitiva sobre a origem dos cromossomos B. No entanto, há muitas hipóteses que tentam explicar os diversos caminhos evolutivos que originaram os supranumerários (Jones, 1995; Camacho et al., 2000; Berdnikov et al., 2003; Jones e Houben, 2003). As características dos cromossomos B variam de uma maneira espécie-específica, portanto, sabemos hoje que os cromossomos B apresentam origens distintas nos diferentes organismos portadores.

Diferentes alternativas têm sido consideradas quanto à origem dos cromossomos B as quais, entretanto, podem ser enquadradas entre duas possibilidades gerais, ou seja, a origem intra ou interespecífica. No primeiro caso, os cromossomos B se originaram do complemento

padrão (também chamados de cromossomos A), porém seguindo um caminho evolutivo independente (Camacho et al., 2000; Teruel et al., 2009). No mosquito *Chironomus plumosus*, por exemplo, os padrões de bandamentos nos cromossomos B são similares aos encontrados na região próxima ao centrômero do quarto par autossômico, evidenciando uma possível origem intraespecífica dos Bs nesta espécie (Keyl e Hägele, 1971).

A origem intraespecífica teve suporte com alguns estudos de cromossomos B em peixes (Mestriner et al., 2000; Jesus et al., 2003; Artoni et al., 2006). Como é o caso do peixe *Astyanax scabripinnis*, onde sequências do DNA satélite As51 encontram-se presentes simetricamente em ambos os braços de um grande cromossomo B metacêntrico, assim como em um cromossomo acrocêntrico (par 24) do complemento padrão, sugerindo uma possível origem intraespecífica dos Bs nesta espécie a partir da formação de um isocromossomo (Mestriner et al., 2000).

No segundo caso, os supranumerários podem surgir a partir de um evento de hibridização, em decorrência de acasalamentos de espécies proximamente relacionadas (Schartl et al., 1995; Camacho et al., 2000; Perfectti e Werren, 2001). A origem dos Bs a partir de uma hibridização bem-sucedida foi descrita por Perfectti e Werren (2001) ao observarem a presença de cromossomos supranumerários em uma linhagem de vespas do gênero *Nasonia* obtida a partir do cruzamento entre duas espécies diferentes, *Nasonia vitripennis* e *Nasonia giraulti*.

Os cromossomos sexuais também têm sido previamente propostos como ancestrais dos cromossomos B (Yoshida et al., 2011). Entretanto, diferentes hipóteses sobre a origem dos cromossomos B têm surgido, em decorrência do conhecimento da estrutura molecular dos fragmentos livres de DNA de origem não cromossômica, comumente encontrados nos núcleos das células. A hipótese de que os segmentos genômicos supranumerários tenham surgido a partir destes fragmentos, num modelo de desenvolvimento independente também deve ser

considerada (Foresti, 1998). Diante disso, pode-se afirmar que os cromossomos supranumerários parecem não apresentar um modelo de origem único, mas ao contrário, podem ter se originado de modo independente por vários caminhos evolutivos de uma maneira espécie-específica (Jesus et al., 2003).

1.4.4 Manutenção dos cromossomos B

Dois modelos são propostos para explicar a manutenção dos B em populações naturais: o modelo heterótico e o modelo parasítico. De acordo com o modelo heterótico proposto inicialmente por White (1973), os cromossomos B seriam mantidos graças às vantagens adaptativas que conferem aos seus portadores quando se encontram em números baixos para que não haja um gasto energético excessivo para a sua manutenção nas células. Já o modelo parasítico proposto foi discutido por vários autores (Östergren, 1945; Nur, 1966 a, b; Nur, 1977; Jones, 1985; Shaw e Hewitt, 1990), onde consideram que os Bs permanecem nas populações em razão de seus próprios meios de acúmulo, utilizando a maquinaria celular para se multiplicar e ser transmitido para as futuras gerações. Nesta segunda hipótese, esses cromossomos se apresentariam como elementos parasitas, uma vez que sua presença não traria vantagem aos seus portadores.

Quando as taxas de transmissão dos cromossomos são superiores a 0,5 ($k_B > 0,5$), não obedecendo a lei Mendeliana da segregação, o resultado do acúmulo da transmissão é coletivamente referido como “*drive*” (Houben, 2017). Embora os cromossomos B apresentem a forma mais comum de *drive* conhecida para elementos genômicos (Jones, 1991), ainda pouco se sabe sobre os mecanismos celulares e moleculares envolvendo o *drive*.

A dinâmica evolutiva dos cromossomos B parasitas parece ser caracterizada por rápidas invasões em virtude do *drive*, seguida pela neutralização por meio da evolução de genes supressores presentes nos cromossomos A, os quais eliminam os efeitos do *drive* nos

Bs (Camacho et al., 1997). No modelo proposto por estes autores, o acúmulo de cromossomos B pode proporcionar um marcante aumento da frequência, em uma determinada população, em apenas dez gerações.

O comportamento meiótico irregular, como a não-disjunção, pode auxiliar na fixação e transmissão dos cromossomos B nas populações (Houben, 2017). Entretanto, se o padrão de transmissão estiver abaixo da expectativa mendeliana, os Bs estão destinados à extinção por meio de forças ao acaso (Camacho et al., 2000). Segundo Zurita et al. (1998) e Camacho et al. (2000), o ciclo de vida dos cromossomos B nas populações portadoras compreende em três fases: invasão, neutralização e extinção (Figura 1). Na fase neutra os supranumerários devem sofrer mutações em suas sequências de DNA para dar origem a uma nova variante de B e assim reiniciar seu ciclo, caso contrário estarão destinados à extinção em um longo período de tempo. No entanto, por se tratar de elementos genômicos dispensáveis eles tendem a sofrer uma taxa e mutação mais elevada, sendo mais propensos a dar origem a novas variantes de B, reiniciando assim o ciclo através do *drive*, ocasionando em um polimorfismo de cromossomos B comumente encontrado em diversas espécies portadoras.

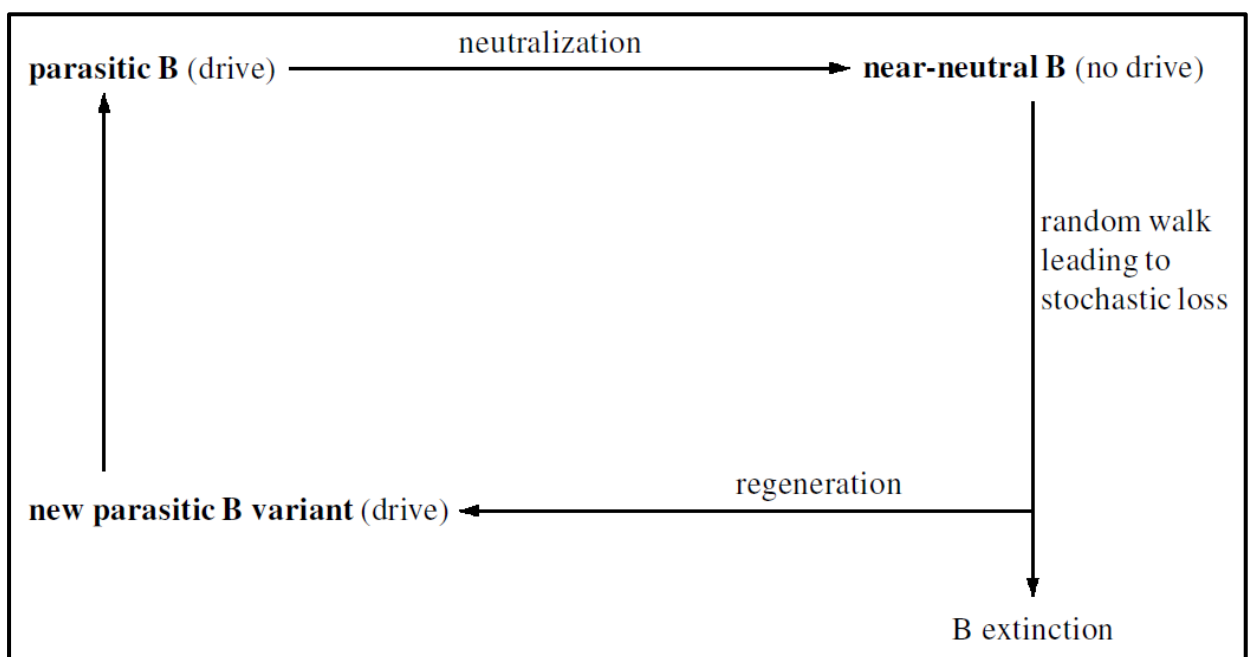


Figura 1. Ciclo dos cromossomos B parasíticos, proposto por Camacho et al. (2000).

O surgimento de novas variantes de cromossomos B foi registrado na espécie de gafanhoto *Eyprepocnemis plorans*, onde os cromossomos B são considerados bastante mutáveis (Camacho et al., 1997; Cabrero et al. 2013). Diferentes tipos de supranumerários foram descritos decorrentes de translocação entre os cromossomos A e B (Henriques-Gil et al., 1984; Henriques-Gil e Arana, 1990). A frequente geração de novas variantes de Bs indica que o polimorfismo destes elementos genômicos é uma característica comum nas populações portadoras (López-León et al., 1994). Além disso, cada variante de cromossomo B apresenta um *drive* distinto, aumentando assim a média de Bs por indivíduo ao longo do tempo (Camacho et al., 1997).

1.4.5 Herança dos cromossomos B

O controle genético e padrão de transmissão dos cromossomos B têm sido demonstrados em algumas espécies de animais como no gafanhoto *Myrmeleotettix maculatus* (Shaw e Hewitt, 1985; Shaw et al., 1985), no bicho da farinha *Pseudococus affinis*, (Nur e Brett, 1987, 1988), no gafanhoto *Eypreponemis plorans* (Herrera et al., 1996), em algumas plantas como *Hypochoeris maculata* (Parker et al., 1982), *Aegilops speltoides* (Cebriá et al., 1994) e em *Allium schoenoprasum* (Bougourd e Plowman, 1996).

Entretanto, estudos concernentes à herança dos cromossomos supranumerários em espécies de peixes portadores são ainda bastante escassos. Este processo já foi identificado em peixes como uma demonstração da herança paternal ginogenética na espécie *Poecilia formosa* (Schartl et al., 1995). Posteriormente, Oliveira et al. (1997), Voltolin et al. (2010c) realizaram estudos sobre o mecanismo de herança dos cromossomos B em *P. lineatus* e verificaram que o padrão de transmissão destes cromossomos foi consistente com a expectativa do comportamento regular meiótico dos cromossomos B em ambos os sexos, demonstrando uma taxa de transmissão mendeliana (0,5). Entretanto, Penitente et al. (2013, 2016a) observaram

um *drive* diferente para cada variante de cromossomo B encontrado em *P. lineatus*, sendo o tipo metacêntrico com uma taxa de transmissão neutra ($k_B = 0,5$), enquanto que os tipos acrocêntrico e submetacêntrico apresentaram um valor de transmissão abaixo do Mendeliano ($k_B < 0,5$), indicando uma possível extinção destas variantes da população natural do rio Mogi Guaçu ao longo do tempo.

Araújo et al. (2002) ao estudarem a transmissão dos tipos de cromossomos B presentes em populações da vespa *Trypoxylon albitarse*, relataram que o tipo B metacêntrico apresentou maior taxa de transmissão comparado com o tipo B acrocêntrico. Estes autores concluíram que o tipo B metacêntrico deve apresentar, aparentemente, uma maior eficiência de transmissão em relação a variante acrocêntrica.

Estudos envolvendo o processo de herança quanto à frequência dos supranumerários têm sido realizados em diversos organismos, no entanto, ainda pouco se sabe sobre a herança, segregação meiótica e conhecimento básico sobre os mecanismos que influenciam o *drive* dos diferentes tipos de cromossomos B nas espécies portadoras, principalmente em peixes.

1.4.6 Cromossomos B em peixes neotropicais

Uma das primeiras descrições de supranumerários com características pertinentes aos cromossomos B em peixes da região Neotropical refere-se aos cromossomos adicionais encontrados em *Prochilodus lineatus* por Pauls e Bertollo (1983). Desde então, nas últimas décadas a descrição da ocorrência de Bs em espécies de peixes do Neotrópico têm crescido muito com a expansão e surgimento de novos grupos de estudos citogenéticos da ictiofauna Neotropical.

Dentre os cromossomos B descrito em peixes podemos destacar variações tanto na frequência quanto a morfologia, as quais se diferem geralmente de uma maneira espécie-específica. Há a descrição de Bs em espécies do gênero *Astyanax* de tamanho macro, médio e

micro, além disso, variam também morfológicamente, podendo se apresentar como metacêntrico, submetacêntrico e acrocêntrico (Daniel et al., 2013). Entretanto, o cromossomo do tipo metacêntrico parece ser o mais comumente encontrado nas espécies de peixes.

Com relação ao tamanho, os cromossomos supranumerários encontrados em peixes exibem uma grande diversidade, ou seja, há a ocorrência de macrocromossomos descrito em algumas espécies do gênero *Astyanax* (Maistro et al., 1992; Salvador e Moreira-Filho, 1992; Vicente et al., 1996; Moreira-Filho et al., 2001; Ferro et al., 2003; Hashimoto et al., 2008); cromossomos supranumerários de tamanho médio, como ocorre em *Rhamdia* (Fenocchio e Bertollo, 1990; Fenocchio et al., 2000) ou microcromossomos, como os encontrados em *Prochilodus* (Pauls e Bertollo, 1983, 1990; Venere et al., 1999; Cavallaro et al., 2000; Oliveira et al., 2003; Artoni et al., 2006; Voltolin et al., 2013a; Penitente et al., 2016ab).

Os cromossomos B também podem variar tanto inter quanto intraindividualmente nas espécies de peixes portadoras. A frequência de Bs em *Moenkhausia sanctaefilomenae* pode variar de zero a oito microcromossomos B em um único indivíduo (Foresti et al., 1989; Hashimoto et al., 2012). Oliveira e Foresti (1993) também descreveram a ocorrência de até dois microcromossomos B metacêntricos em *Steindachnerina insculpta*. Erdtmann et al., (1990) descreveram a ocorrência de até dezesseis microcromossomos B em *Callichthys callichthys*. No entanto, em espécies do gênero *Astyanax*, o padrão mais comumente encontrado é a ocorrência de apenas um supranumerário (Salvador e Moreira-Filho, 1992; Néó et al., 2000; Moreira-Filho et al., 2001, Hashimoto et al., 2008; Daniel et al. 2013).

Por fim, a estimativa da ocorrência de cromossomos B em peixes neotropicais pode ser muito maior, pois ainda há uma carência em estudos filogenéticos e citogenéticos básicos que permitam identificar espécies novas, o que dificulta a descrição de supranumerários em novas espécies.

1.4.7 Cromossomos B em *Prochilodus lineatus*

Desde a primeira descrição de Bs em *P. lineatus*, a mais de três décadas, vários estudos foram realizados nesta espécie, resultando em conclusões relevantes para o tema dos cromossomos B nos peixes (Pauls e Bertollo, 1990; Oliveira et al., 1997; Cavallaro et al., 2000; Jesus et al., 2003; Voltolin et al., 2010abc, 2011, 2013ab; Penitente et al., 2013, 2016ab). Diante disto, podemos afirmar que *P. lineatus* pode ser considerada, juntamente com os peixes do gênero *Astyanax*, como espécies modelo no estudo sobre a origem, função e manutenção dos Bs nos peixes neotropicais.

Em *P. lineatus*, os cromossomos B apresentam um tamanho reduzido, podendo ser classificados como microcromossomos (Pauls e Bertollo, 1983, 1990; Venere et al., 1999; Cavallaro et al., 2000; Oliveira et al., 2003). Entre os exemplares capturados em diferentes localidades, foi constatada uma variação modal de cromossomos supranumerários, contudo, em todas as populações analisadas, o número desses cromossomos está contido entre os valores de zero a nove (Voltolin et al., 2011).

Em outro estudo realizado com exemplares do rio Mogi-Guaçu, foi demonstrado que o número de Bs não é estável, sendo observado um aumento da média ao longo do tempo, a partir das primeiras observações realizadas naquela localidade (Pauls e Bertollo, 1983). No entanto, vários autores (Cavallaro et al., 2000; Oliveira et al., 1997; Voltolin et al., 2010b) detectaram uma estabilidade mitótica na frequência de cromossomos B, ou seja, não há variação intraindividual na população natural de *P. lineatus* do rio Mogi-Guaçu, sendo constatado um número modal de 2 a 3 Bs.

Microcromossomos B também foram identificados na espécie *P. brevis* (cit. *Prochilodus cearensis*) por Pauls e Bertollo (1990). Além de apresentar todas as características dos cromossomos B de *P. lineatus*, a espécie *P. brevis* apresentou uma variação de até dois Bs. Venere et al. (1999) descreveram a ocorrência de até dois Bs na espécie *P. nigricans*

coletados no rio Araguaia, os quais foram considerados totalmente heterocromáticos após o bandamento C. Estudos realizados por Oliveira et al. (2003) identificaram a presença de até três Bs na espécie *P. mariae* provenientes da bacia do rio Orinoco, na Venezuela.

Recentemente supranumerários foram descritos em mais duas espécies de *Prochilodus*, sendo a ocorrência de até três Bs em *P. argenteus* (Penitente et al., 2015) e um cromossomo B em *P. costatus* (Melo et al., 2017). No entanto, dentre as 13 espécies de *Prochilodus* descritas, apenas oito foram cariotipadas até agora, sendo reportada a ocorrência de cromossomos B em seis delas, portanto, a origem dos Bs dentro deste gênero pode ser em decorrência de um antigo evento filogenético neste grupo (Melo et al., 2017).

Na literatura existem muitos estudos que descrevem a variação da frequência dos Bs em *P. lineatus*, no entanto, Artoni et al. (2006) e Penitente et al. (2013, 2016a), ao estudarem exemplares desta espécie provenientes do rio Mogi Guaçu evidenciaram a presença de três variantes morfológicas básicas, podendo ser classificados como metacêntrico, submetacêntrico e acrocêntricos, sendo o tipo metacêntrico o mais frequente. Além disso, estes Bs se diferem em tamanho, sendo o tipo submetacêntrico o maior, metacêntrico o de tamanho médio e o tipo acrocêntrico o menor dentre todas as variantes.

A transmissão dos tipos de Bs em *P. lineatus* foi descrita por Penitente et al. (2013, 2016a) ao estudarem o *drive* envolvendo cada tipo de supranumerário da população do rio Mogi Guaçu por meio de cruzamentos induzidos. Estes autores sugerem que a variante metacêntrica se apresenta estável na população, enquanto que os tipos acro e submeta estão sofrendo uma redução na frequência devido a uma baixa taxa de transmissão ($k_B < 0,5$), o que pode levar a uma extinção dos mesmo ao longo do tempo, caso não ocorram mutações que propiciem uma regeneração no ciclo.

Estudos sobre a origem dos Bs em *P. lineatus* foram primeiramente conduzidos por Jesus et al. (2003), que ao analisar a distribuição do DNA satélite SATH1 observaram

homologias entre regiões pericentroméricas dos cromossomos A com os Bs, sugerindo assim uma hipótese de origem intraespecífica dos supranumerários nesta espécie. Artoni et al. (2006) também analisaram a distribuição de SATH1 em *P. lineatus*, encontrando marcações simétricas dos mesmos nos Bs da população do rio Tibagi, sugerindo também uma hipótese de origem intraespecífica por meio da formação de isocromossomos.

Voltolin et al. (2010a, 2013b) conduziram estudos sobre a origem dos Bs em *P. lineatus* na população do rio Mogi Guaçu utilizando a metodologia de microdissecção cromossômica aliada à técnica de DOP-PCR para a produção das sondas B-específicas. Estes autores não encontraram homologias entre os cromossomos B e A, portanto sugeriram uma hipótese sobre origem interespecífica na espécie. No entanto, Penitente et al. (2016) realizaram um estudo parecido, porém isolando sondas de cada tipo de B, também por meio de microdissecção, e constataram que apenas a variante submetacêntrica apresentava homologia com regiões centroméricas dos cromossomos A, assim como descrito previamente por Jesus et al. (2003), reforçando a hipótese de origem intraespecífica destes elementos genômicos nesta espécie.

1.5 Estudos populacionais em peixes neotropicais, com ênfase em marcadores de DNA mitocondrial

A identificação e a caracterização dos padrões genético-populacionais são de fundamental importância para o planejamento adequado de programas de conservação, manejo e exploração dos bancos genéticos selvagens das espécies nativas da ictiofauna Neotropical (Toledo-Filho et al., 1999). Na piscicultura já existem vários estudos empregando diversos marcadores genéticos, pois, antes de se iniciar o cultivo de um estoque é imprescindível que se conheça a variabilidade genética da população fundadora (Toledo-Filho et al., 1992). Além disso, o uso de marcadores genéticos torna-se cada vez mais necessário

para a identificação de híbridos nos estoques de reprodutores nas pisciculturas brasileiras (Porto-Foresti et al., 2011).

Atualmente, há a descrição de diversos marcadores genéticos disponíveis para averiguar a estruturação populacional em peixes, associados tanto ao genoma nuclear como ao genoma mitocondrial. Dentre tantos, podemos destacar o DNA mitocondrial (mtDNA), pois apresenta características que o tornam um excelente marcador para estudos evolutivos, pois apresenta um genoma compacto com estrutura e organização simples, ausência de íntrons, pseudogenes e elementos transponíveis, elevada taxa de substituição nucleotídica, herança predominantemente materna, conservação do conteúdo gênico e facilidade de purificação, além do fato de possuir várias cópias por célula (Avice et al., 1987).

O mtDNA constitui uma importante fonte de marcadores genéticos moleculares, pois a maior parte de sua variabilidade encontra-se distribuída inter-estoques ao invés de intra-estoques, isto parece ocorrer porque o mtDNA é mais suscetível às consequências da deriva genética do que o DNA nuclear (Avice et al., 1979ab; Brown et al., 1979). Além disso, o mtDNA apresenta uma taxa de substituição de nucleotídeos de 5 a 10 vezes superior à do DNA nuclear, sendo a região controle, também conhecida como *D-loop* (*Displacement loop*), a mais variável (Brown et al., 1979; Harrison, 1989).

Adicionalmente, informações fornecidas pela análise do mtDNA mostraram-se úteis na identificação de diferentes bancos genéticos em populações intraespecíficas na área de ictiologia (Avice, 1992; Calcagnotto, 1998). Além de acrescentar uma perspectiva filogeográfica à demografia e à estrutura populacional de uma determinada espécie, os dados obtidos também podem contribuir para um conhecimento mais aprofundado a respeito da diversidade genética em diversos organismos (Avice, 1992).

1.6 O uso de marcadores microsatélites

Os microsatélites, também conhecidos como STR (*Short Tandem Repeats*), são elementos repetitivos abundantes no genoma, formados por arranjos de repetições em tandem que variam de dois a seis nucleotídeos de comprimento e estão entre os *locus* mais polimórficos dos genomas (Ferguson et al., 1995). O polimorfismo desses marcadores baseia-se na variação do número dos elementos repetidos, provavelmente devido aos erros da DNA polimerase durante o processo de replicação e reparo do DNA (Studart, 2001).

Os marcadores microsatélites vêm sendo muito utilizados nas últimas décadas por apresentarem uma série de vantagens, pois são abundantes e cobrem extensivamente o genoma, possuem natureza multialélica, necessitam de uma pequena quantidade de DNA para análise, são facilmente detectáveis via PCR (*Polymerase Chain Reaction*), apresentam herança mendeliana e são expressos como alelos codominantes (Lima, 1998; Moreira, 1999).

Todavia, os microsatélites têm sido amplamente utilizados em diversos estudos na área de genética animal, tais como: estimativas de distâncias genéticas; monitoramento de endocruzamentos; testes de paternidade em diversas espécies animais; comparações de composição genética de amostras recentes e antigas e análise da diversidade genética (Melo et al., 2008). Além disso, os microsatélites também auxiliam na identificação genética de estoques, de forma a maximizar a recuperação da variabilidade genética via cruzamentos, bem como para monitorar os níveis de endocruzamentos nos plantéis de reprodutores (Melo et al., 2008).

Os estudos genético-populacionais baseados no polimorfismo dos marcadores microsatélites nos peixes dulcícolas neotropicais têm crescido a medida que novos *locus* espécie-específicos são publicados (Hilsdorf 2013). O primeiro estudo realizado no gênero *Prochilodus* utilizando microsatélites foi o de Hatanaka et al. (2006) ao estudarem a diferenciação genética entre populações de *P. argenteus* na bacia do rio São Francisco.

1.7 Estudos populacionais em *Prochilodus lineatus*

Vários estudos populacionais foram conduzidos na espécie *P. lineatus* por meio de isozimas, marcadores moleculares nucleares e mitocondriais. Em um estudo pioneiro sobre a estrutura genética em populações de *P. lineatus*, Revaldaves et al. (1997) utilizaram seis *loci* polimórficos de isozimas em 160 indivíduos pertencentes aos rios Paraná, Baía e Ivinhema. Foi constatada uma única unidade reprodutiva panmítica com alto fluxo gênico entre as três subpopulações analisadas, devido aos índices de fixação e de distância genética, além de uma alta similaridade genética entre os exemplares analisados ($F_{ST} = 0.018$).

Sivasundar et al. (2001) realizaram estudos filogeográficos em quatro grandes bacias sul-americanas (Orinico, Magdalena, Amazônica e Paraná) utilizando espécies do gênero *Prochilodus*. Além disso, os autores também realizaram uma análise populacional em 26 indivíduos de *P. lineatus* dentro da bacia do Paraná, utilizando-se a região controle do DNA mitocondrial. Cada indivíduo apresentou um haplótipo distinto, mas a distribuição filogeográfica dos haplótipos não seguia a distribuição esperada de acordo com o arranjo espacial das localidades originárias de cada um. Esses resultados foram apontados como evidências de amplo fluxo gênico dentro da bacia hidrográfica e a falta de estruturação genético-populacional para esta espécie na bacia do Paraná, corroborando os resultados obtidos com isozimas realizados por Revaldaves et al. (1997).

Morelli (2008), utilizou marcadores microssatélites e sequências de *D-loop* em *P. lineatus* no intuito de averiguar a ausência de estruturação genética em populações migradoras e residentes no rio Mogi-Guaçu, alto rio Paraná, amostrados sazonalmente em diferentes anos consecutivos. Os resultados obtidos evidenciaram uma baixa diferenciação genética para microssatélites e moderada para a região controle entre as populações que migram e as residentes no rio Mogi-Guaçu. Estes autores sugerem um isolamento temporal entre as populações, associado à formação de cardumes migradores aleatórios com inserção de novos

indivíduos juvenis, alterando assim as frequências dos alelos nas populações. Outro exemplo de variação sazonal dos estoques genéticos nesta espécie também foi reportado por Rueda et al. (2013), ao estudarem cardumes de *P. lineatus* coletados na mesma localidade no rio Uruguai.

Garcez et al. (2011) analisaram exemplares provenientes da bacia do rio Grande, envolvendo os rios Grande, Mogi-Guaçu e Pardo, utilizando técnicas de PCR-RFLP no mtDNA região controle. Estes autores não encontraram estruturação genética entre as localidades amostradas, exceto amostras do rio Pardo, as quais evidenciaram níveis significantes de divergência. Além disso, os autores sugerem que os impactos ambientais causados pelas barragens não geraram, a curto prazo, diferenças significativas entre as populações estudadas.

Recentemente outros estudos populacionais foram conduzidos em *P. lineatus*. Revaldaves et al. (2016) utilizaram marcadores mitocondriais e RAPD em populações de *P. lineatus* amostrados na bacia do rio Paraná e Paraguai. Ferreira et al. (2017) analisaram populações fragmentadas por barragens no rio Paraná utilizando marcadores microssatélites e mtDNA (*D-loop*). Ambos autores não encontraram estruturação genética entre as populações desta espécie e reforçaram a hipótese de panmixia conforme já sugerida anteriormente por outros autores (Revaldaves et al., 1996; Sivasundar et al., 2001).

1.8 Justificativa

Os cromossomos B têm sido o principal tema da citogenética de peixes neotropicais, desde a sua primeira descrição nesta região há mais de três décadas. Desde então, muitos estudos envolvendo marcadores citogenéticos clássicos até a utilização de sondas B-específicas a partir da microdissecção cromossômica foram realizadas para elucidar questões envolvendo a temática dos Bs. Embora importantes conclusões tenham sido obtidas acerca

dos Bs nos peixes utilizando tais técnicas, ainda restam muitas questões a serem respondidas. Neste sentido, uma revisão sobre o panorama atual da ocorrência e distribuição dos supranumerários em peixes do Neotrópico se faz necessária.

A espécie *P. lineatus* está amplamente distribuída ao longo da bacia do Paraná e apresenta inegável importância econômica e ecológica. Além disso, esta espécie é pioneira no entendimento dos cromossomos B, sendo considerada como modelo em estudos sobre a origem, transmissão e composição destes elementos adicionais nos peixes neotropicais. Os principais pontos que tornam esta espécie interessante nos estudos dos Bs se devem a elevada ocorrência de supranumerários, ampla distribuição na bacia do rio de La Plata, facilidade de captura e manejo para a reprodução induzida. Portanto, esta espécie se tornou o principal alvo de estudos focados no entendimento da herança, manutenção e origem dos Bs nos peixes neotropicais nas últimas décadas, gerando importantes conclusões sobre o tema. Entretanto, a maior parte desses estudos estão restritos à população natural do rio Mogi Guaçu.

Portanto, uma análise pormenorizada sobre a distribuição dos cromossomos B ao longo da bacia do rio Paraná em localidades não estudadas, bem como a utilização destes elementos genômicos como possíveis marcadores populacionais em *P. lineatus*, que apresenta uma problemática no estudo de estruturação populacional devido, principalmente, ao seu comportamento migratório, podem auxiliar no entendimento da origem e manutenção dos Bs nesta espécie e, de modo mais amplo, nos peixes do Neotrópico.

registros de estudos, desde a sua primeira descrição no final dos anos 70. Sendo que atualmente contamos com um panorama em que há o maior polimorfismo dos Bs na bacia do Grande, entretanto, já podemos notar o surgimento de novas variantes na localidade de Reginópolis, além ausência de Bs na bacia do rio Paraguai.

Por fim, estes dados aqui apresentados podem se modificar em um curto período de tempo, inclusive em poucas gerações, pois os Bs são elementos dispensáveis do genoma e apresentam uma elevada taxa evolutiva o que pode acabar influenciando nas frequências das variantes nas diferentes localidades através do *drive* e fluxo gênico.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostinho AA, Gomes LC, Veríssimo S, Okada EK (2004) Flood regime, dam regulation and fish in the Upper Paraná River: effects on assemblage attributes, reproduction and recruitment. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4(1):11-19.
- Agostinho AA, Pelicice FM, Gomes LC (2008) Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impact and management related to diversity and fisheries. *Brazilian Journal of Biology*, 68:1119-1132.
- Agostinho AA, Pelicice FM, Gomes LC, Júlio-Junior HF (2010) Reservoir fish stocking: when one plus one may be less than two. *Nat Conservação*, 08:103-111.
- Aguirre-Pabón J, Barandica JN, García LC (2013) Mitochondrial DNA variation of the bocachico *Prochilodus magdalenae* (Characiformes, Prochilodontidae) in the Magdalena River Basin, Colombia. *Aquat Conserv*, 23:594-605.
- Albert JA, Petry P, Reis RE (2011) Major Biogeographic and Phylogenetic Patterns. In: Albert JS, Reis RE (eds) *Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes*. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, California, pp. 21-58.
- Almeida-Toledo LF, Ozouf-Costaz C, Foresti F, Bonillo C, Porto-Foresti F, Daniel-Silva MFZ (2002) Conservation of the 5S-bearing chromosome pair and co-localization with major rDNA clusters in five species of *Astyanax* (Pisces, Characidae). *Cytogenet Genome Res*, 97:229-233.
- Araújo SMSR, Pompolo SG, Perfectti F, Camacho JPM (2002) Integration of a B chromosome into the A genome of a wasp, revisited. *R. Soc. Lond.*, 269:1475-1478.
- Araya-Jaime C, Serrano EA, de Andrade e Silva DMZ, Yamashita M, Iwai T, Oliveira C, Foresti F (2015) Surface-spreading technique of meiotic cells and immunodetection of

synaptonemal complex proteins in teleostean fishes. *Molecular Cytogenetics*, 8(1):4.
doi: 10.1186/s13039-015-0108-9

Artoni RF, Vicari MR, Endler AL, Cavallaro ZI, Jesus CM, Almeida MC, Moreira-Filho O, Bertollo LAC (2006) Banding pattern of and B chromosome of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae), with comments on B chromosome evolution. *Gen. Mol. Biol.*, 127:277-284.

Avise JC, Giblin-Davidson C, Laerm J, Patton JC, Lansman RA (1979a) Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographic populations of the pocket gopher, *Geomys pinetis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76:6694-6698.

Avise JC, Lansman RA, Shade RO (1979b) The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. I. Population structure and evolution in the genus *Peromyscus*. *Genetics*, 92:279-295.

Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, ... Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 18(1):489-522.

Avise JC, Zink RM (1988) Molecular genetic divergence between avian sibling species: king and clapper rails, longbilled and short-billed dowitchers, boat-tailed and greatailed grackles, and tufted and black-crested titmice. *Auk*, 105:516-528.

Avise JC (1992) Gene trees and organismal histories: a phylogenetic approach to population biology. *Evolution*, 43(6):1192-1208.

Ayres M (2007). *BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Sociedade Civil Mamirauá.

Barbarino Duque A, Taphorn D, Winemiller K (1998) Ecology of the coporo, *Prochilodus mariae* (Characiformes, Prochilodontidae), and status of annual migrations in western Venezuela. *Environ Biol Fishes*, 53:33-46. doi:10.1023/a:1007447004451

- Barbosa ACDR, Corrêa TC, Galzerani F, Galetti JRPM, Hatanaka T (2006) Thirteen polymorphic microsatellite locos in the Neotropical fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae). *Mol Ecol Notes*, 6:936-938.
- Barbosa ACDR, Galzerani F, Corrêa TC, Galetti JRPM, Hatanaka T (2008) Description of novel microsatellite loci in the Neotropical fish *Prochilodus argenteus* and cross-amplification in *P. costatus* and *P. lineatus*. *Genet Mol Biol*, 31:357-360.
- Barroso RM, Hilsdorf AWS, Moreira HLM, Cabello PH, Traub-Cseko YM (2005) Genetic diversity of wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconinae) using microsatellites. *Aquaculture*, 247:51-65.
- Bayley PB (1973) Studies on the migratory characin, *Prochilodus platensis* Holmberg 1889, (Pisces, Characoidei) in the river Pilcomayo, South America. *J Fish Biol*, 5:25-40. doi:10.1111/j.1095-8649.1973.tb04428.x
- Berdnikov VA, Gorel FL, Kosterin OE, Bogdanova VS (2003) Tertiary trisomics in the garden pea as a model of B chromosome evolution in plants. *Heredity*, 91:577-583.
- Berdugo GO, Barandica JCN (2014) Genetic diversity and population structure of bocachico *Prochilodus magdalenae* (Pisces, Prochilodontidae) in the Magdalena River basin and its tributaries, Colombia. *Genet Mol Biol*, 37:37-45.
- Bonetto AA, Wais I, Castello HP (1989) The increasing damming of the Paraná basin and its effects on the lower reaches. *Regulated Rivers: research and management*, 4(4):333-346.
- Bonetto AA (1994) Austral rivers of South America in Margalef R (Ed.), *Limnology now: a paradigm of planetary problems*, Elsevier Science, New York, pp. 425-472.
- Borin LA, Martins-Santos IC (2004) Study on karyotype and occurrence of B chromosome in two endemic species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae) from river Iguaçú. *Hereditas*, 140:201-209.

- Born GG, Bertollo LAC (2000) An XX/XY Sex chromosome system in a fish species, *Hoplias malabaricus* with a polymorphic NOR bearing X chromosome. *Chromosome Research*, 8:111-118.
- Bougourd SM, Plowman AB (1996) The inheritance of chromosome in *Allium schoenoprasum* L. *Chromosome Research*, 4:151-158.
- Brea, M., A. F. Zucol. 2011. The Paraná-Paraguay Basin: Geological and Paleoenvironmental. In: Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes. Albert, J. S, Reis, R. E. (eds). University of California Press, pp. 69-87.
- Brito PM, Meunier FJ, Leal MEC (2007) Origine et diversification de l'ichthyofaune Neotropical: Une revue. *Cybium*, 31:139-153.
- Britski HÁ, Sato Y, Rosa ABS (1988) Manual de identificação de peixes da região de três Marias (com chave de identificação para os peixes da bacia do São Francisco). 3ª Ed. Minas Gerais, Ministério da Irrigação - CODEVASF, 115p.
- Brown WM, George M Jr, Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76:1967-1971.
- Buckup PA, Menezes NA, Ghazzi MS (2007) Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Série livros 23. Museu Nacional. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 195p.
- Burt A, Trivers R (2006) *Genes in conflict: the biology of selfish genetic elements*. Cambridge: Belknap Press of Harvard University.
- Cabrero J, López-Léon MD, Bakkali M, Camacho JPM (1999) Common origin of B chromosome variants in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Heredity*, 83:435-439.
- Cabrero J, López-Léon MD, Ruíz-Estévez M, Gómez R, Petitpierre E, Rufas JS, Massa B, Kamel Ben Halima M, Camacho JPM (2013) B₁ Was the Ancestor B Chromosome

- Variant in the Western Mediterranean Area in the Grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. Cytogenet Genome Res, 142(1):54-58. doi: 10.1159/000356052.
- Calcagnotto D (1998) Caracterização de bancos genéticos selvagens de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e de tambaqui (*Colossoma macropomum*) através da análise do DNA mitocondrial, 131 f. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências, USP, São Paulo/SP.
- Calcagnotto D, Russello M, Desalle R (2001) Isolation and characterization of microsatellite loci in *Piaractus mesopotamicus* and their applicability in other Serrasalminae fish. Mol Ecol Notes, 1:245-247.
- Camacho JPM, Shaw MW, López-León MD, Pardo MC, Cabrero J (1997) Population dynamics of a selfish B chromosome neutralized by the standard genome in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. Am Nat, 149:1030-1050.
- Camacho JPM, Sharbel TF, Beukboom LW (2000) B-chromosome evolution. Phil. Trans. R. Soc. Lond., 355:163-178.
- Camacho JPM (2005) B chromosomes. In: Gregory TR (ed) The evolution of the genome, 1st edn. Elsevier, San Diego, pp. 223-286.
- Carmo AO, Dias PFPB, Martins APV, Bedore AG, Kalapothakis E (2014) Complete mitochondrial genome sequence of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). Mitochondria DNA, 27(3):1946-1947.
- Carvalho FR, Langeani F (2013) *Hyphessobrycon uaiso*: new characid fish from the rio Grande, upper rio Paraná basin, Minas Gerais State (Ostariophysi: Characidae), with a brief comment about some types of *Hyphessobrycon*. Neotropical Ichthyology, 11(3):525-536.
- Carvalho-Costa LF, Hatanaka T, Galetti PM (2006) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in the migratory freshwater fish *Prochilodus costatus*. Mol Ecol Notes, 6:818-819.

- Carvalho-Costa LF, Hatanaka T, Galetti PM Jr (2008) Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. *Genet Mol Biol*, 31:377-380.
- Castro J, Rodríguez S, Pardo BG, Sánchez L, Martínez P (2001) Population analysis of an unusual NOR-site polymorphism in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Heredity*, 86(3):291-302.
- Castro RCM, Vari PP (2004) Detritivores of the South American fish family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi Characiforme): a phylogenetic and revisionary study. *Smithsonian Contribution to Zoology* n.622. Washington, DC. Smithsonian books, 189p.
- Cavallaro ZI, Bertollo LAC, Perfectti F, Camacho JPM (2000) Frequency increase and mitotic stabilization of a B chromosome in fish *Prochilodus lineatus*. *Chrom. Res*, 8:627-634.
- Cebriá A, Navarro ML, Puertas MJ (1994) Genetic control of B chromosome transmission in *Aegilops speltoides* (Poaceae). *Am J Bot*, 81:1502-1507.
- Cole CJ, Leavens CR (1971) Chromosome preparations of amphibians and reptiles: improved technique. *Herpetol.*, 49:102.
- Daniel SN, Hashimoto DT, Pansonato-Alves JC, Foresti F, Porto-Foresti P (2013) Cytogenetic characterization of distinct B chromosomes in a population of the fish *Astyanax bockmanni* (Teleostei, Characiformes). *Caryologia*, 65(3):229-233.
- DeWoody JA, Avise JC (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *J Fish Biol*, 56:461-473.
- Dias AL, Foresti F, Oliveira C (1998) Synapsis in supernumerary chromosomes of *Prochilodus lineatus* (Teleostei: Prochilodontidae). *Caryologia* 51:105-113.

- Diniz D, Laudicina A, Bertollo LAC (2009) Chromosomal location of 18S and 5S rDNA sites in *Triportheus* fish species (Characiformes, Characidae). *Gen Mol. Biol.*, 32:37-41.
- Drouin G, Muniz de Sá M (1995) The concerted evolution of 5S ribosomal genes linked to the repeat units of other multigene families. *Mol. Biol. Evol.*, 12:481-493.
- Eickbush DG, Eickbush TH, Werren JH (1992) Molecular characterization of repetitive DNA sequences from a B chromosome. *Chromosoma*, 101:575-583.
- Erdtmann B, Calcagnoto D, Rabolini L, Malabarba LR (1990) Variabilidade cromossômica em *Callichthys callichthys* (Callichthyidae, Pisces). *Ciênc Cult*, 42:452.
- Eschmeyer, WN, Fong JD (2017) (Ed.). *Species by family/subfamily* electronic version. Disponível em <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. Acesso em: 20 jun. 2017.
- Espinach Ros A, Sverlij S, Mestre J, Fabiano G, Amestoy F (1990) Desplazamientos migratorios de peces marcados en el tramo inferior del río Uruguay. In: Resúmenes de Comunicaciones Segundo Seminario “El Rio Uruguay: Sus Recursos Pesqueros”, Concepción del Uruguay, Entre Rios, Argentina. Comisión Administradora del Rio Uruguay (CARU).
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction sites. *Genetics*, 131:479-491.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1:47-50.
- Fenocchio AS, Bertollo LAC (1988) A simple method for fresh-water fish lymphocyte culture. *Rev. Brasil. Genet*, 11(4):847-852.

- Fenocchio AS, Bertollo LAC, Takahashi CS, Camacho JPM (2000) B chromosomes in two fish species, genus *Rhamdia* (Siluriformes, Pimelodidae). *Folia Biol*, 48:105-109.
- Fenocchio AS, Bertollo LAC (1990) Supranumerary chromosome in a *Rhamdia hilarii* population (Pisces, Pimelodidae). *Genética*, 81:193-198.
- Ferguson A, Taggart JB, Prodhon A, McMeel O, Thompson C, Stone C, McGinnity P, Hynes RA (1995) The application of molecular markers to the study and conservation of fish population with special reference to *Salmo*. *J Fish Biol*, 47:103-126.
- Ferreira DG, Souza-Shibatta L, Shibatta OA, Sofia SH, Carlsson J, Dias JHP, Makrakis S, Makrakis MC (2017) Genetic structure and diversity of migratory freshwater fish in a fragmented Neotropical river system. *Rev Fish Biol Fisheries*, 27:209-231. doi:10.1007/s11160-016-9441-2
- Ferro DAM, Moreira-Filho O, Bertollo LAC (2003) B chromosome polymorphism in the fish, *Astyanax scabripinnis*. *Genetica*, 119:147-153.
- Foresti F, Almeida-Toledo LF, Toledo-Filho SA (1981) Polymorphic nature of nucleous organizer regions in fishes. *Cytogenet Cell Genet*, 31:137-144.
- Foresti F, Almeida-Toledo LF, Toledo AS (1989) Supranumerary chromosome system, C-banding pattern characterization and multiple organizer regions in *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Pisces, Characidae). *Genetica*, 79:107-114.
- Foresti F, Oliveira C, Almeida-Toledo LF (1993) A method for chromosome preparations from large fish specimens using in vitro short-term treatment with colchicine. *Experientia*, 49:810-813.
- Foresti F (1998) Hipótese alternativa sobre a origem dos cromossomos supernumerários em peixes. VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicas, Londrina, Paraná. p. A1.

- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, UK, 607 pp.
- Galetti Jr PM (1998) Chromosome diversity in Neotropical fishes: NOR studies. *Ital. J. Zool.*, 65:53-56.
- Garcez R, Calcagnotto D, Almeida-Toledo LF (2011) Population structure of the migratory fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes) from rio Grande basin (Brazil), an area fragmented by dams. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.*, 21:268-275.
- García de León FJ; Chikhi L, Bonhomme F (1997) Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of Europe sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Mol. Ecol.*, 6:51-62
- Gauthier DT, Audemard CA, Carlsson JEL, Darden TL, Denson MR, Reece KS, Carlsson J (2013) Genetic population structure of US Atlantic coastal striped bass (*Morone saxatilis*). *J Hered*, 104:510-520. doi:10.1093/jhered/est031
- Godinho AL, Kynard B (2006) Migration and spawning of radiotagged zulega *Prochilodus argenteus* in a dammed Brazilian River. *Trans Am Fish Soc*, 135:811-824. doi:10.1577/t04-176.1
- Godinho HP (2007) Estratégias reprodutivas de peixes aplicada à aquicultura: bases para o desenvolvimento de Tecnologia de Produção. *Rev. Bras. Reprod. Animal*, 31:351-360.
- Godinho AL, Kynard B (2009) Migratory fishes of Brazil: life history and fish passage needs. *River. Res. Applic.*, 25:702-712. doi: 10.1002/rra.1180
- Godoy MP (1975) Peixes do Brasil; Sub-ordem Characoidei. *Bacia do Rio Mogi-Guaçu*. Piracicaba, Ed. Franciscana, 4:631-847.
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3) [available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>].

- Goulding M (1981) Man and fisheries on an Amazon frontier. Kluwer Academic Publishers, 137p.
- Grant WS, Bowen BW (1998) Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J Hered*, 89:415-427.
- Hafez T, Labat R, Quiller R (1978) Aneuploidie observes chez les population de gardons (*Rutilus rutilus* L.) et d'ablettes (*Alburnus alburnus* L.) de la regions Mii-Pyreens. *Bull Soc Nat Toulouse*, 114:85-92.
- Hakansson A (1948) Behaviour of accessory rye chromosomes in the embryosac. *Hereditas*, 34:35-59.
- Hakansson A (1945) Überzählige chromosome in einer rasse von *Godetia nutans*. *Hiorth. Bot. Notiser*, 2:1-19.
- Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41:95-98.
- Harrison RG (1989) Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Tree*, 4(1):6-11.
- Hatanaka T, Silva FH, Galetti PM Jr (2006) Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica*, 126:153-159.
- Hashimoto DT, Gonçalves VR, Bortolozzi J, Foresti F, Porto-Foresti F (2008) First report of a B chromosome in population of the *Astyanax scabripinnis* (Characiformes, Characidae). *Gen. Mol. Biol.*, 31:275-278.
- Hashimoto DT, Voltolin TA, Arruda-Paes ADN, Foresti F, Porto-Foresti F (2012) Cytogenetic analysis of B chromosomes in one population of the fish *Moenkhausia*

- sanctaeofilomenae* (Steindachner, 1907) (Teleostei, Characiformes). *Comparative Cytogenetics*, 6:141-151.
- Henriques-Gil N, Santos JL, Arana P (1984) Evolution of complex polymorphism in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma*, 89:290-293.
- Henriques-Gil N, Arana P (1990) Origin and substitution of B chromosome in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Evolution*, 44:747-753.
- Herrera JA, López-León MD, Cabrero J, Shaw MW, Camacho JPM (1996) Evidence for B chromosome drivesuppression in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Heredity*, 76:633-639.
- Hilsdorf AWS, Azeredo-Espin AML, Krieger MH, Krieger JE (2002) Mitochondrial DNA diversity in wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiformes, Characidae, Bryconinae) from the Paraíba do Sul Basin, Brazil. *Aquaculture*, 214:81-91.
- Hilsdorf AWS, Moreira RG (2008) Piracema, por que os peixes migram? *Scientific American Brasil*, 79:76-80.
- Hilsdorf AWS (2013) Marcadores moleculares e a caracterização dos recursos genéticos de peixes: desenvolvimento sustentável da aquicultura e da pesca de espécies nativas de água doce no Brasil, 159f. Tese de Livre Docência. Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- Houben A, Banaei-Moghaddam AM, Klemme S, Timmis JN (2014) Evolution and biology of supernumerary B chromosomes. *Cell. Mol. Life Sci.*, 71:467-478.
- Houben A (2017) B Chromosomes - A Matter of Chromosome Drive. *Front. Plant Sci.*, 8:210. doi: 10.3389/fpls.2017.00210
- Howell WM, Black DA (1980) Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36:1014-1015.

- Jamilena M, Ruíz-Rejón C, Ruíz-Rejón M (1994) A molecular analysis of the origin of the *Crepis capillaris* B chromosome. *J. Cell. Sci.*, 107:703-708.
- Jamilena M, Garrido-Ramos M, Ruíz-Rejón M, Ruíz-Rejón C, Parker JS (1995) Characterization of repeated sequences from microdissected B chromosomes of *Crepis capillaris*. *Chromosoma*, 104:113-120.
- Jesus CM, Moreira-Filho O (2003) Chromosomal localization of 5S and 18S rRNA genes in *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). *Caryologia*, 56:281-287.
- Jesus CM, Galetti Jr. PM, Valentini SR, Moreira-Filho O (2003) Molecular characterization and chromosomal location of two families of satellite DNA in *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae), a species with B chromosomes. *Genetica*, 118:25-32.
- Jombart T, Devillard S, Balloux F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11:94.
- Jones RN, Rees H (1982) *B Chromosomes*. - Academic Press.
- Jones RN (1985) Are B chromosome selfish? Cavalier Smith, T. (ed.), *The evolution of genome size*. Wiley, 397-425p.
- Jones RN (1991) B-Chromosome drive, *Am. Nat.*, 137(3):430-442.
- Jones RN (1995) B chromosomes in plants. - *New Phytol.*, 131:411-434.
- Jones RN, Houben A (2003) B chromosomes in plants: escapes from the A chromosome genome? *Trends in Plant Science*, 8:417-423.
- Jones N (2017) New species with B chromosomes discovered since 1980. *The Nucleus*, 1-19.
- Keyl HG, Hägele K (1971) B chromosome bei *Chironomus*. *Chromosoma*, 36:403-417.
- Kuwada Y (1915) Ueber die chromosomenzahl von *Zea mays*. L. *Bot Mag.*, 29:83-89.

- Laikre L, Antunes A, Alexandrino P (1999) Conservation genetic management of brown trout (*Salmo trutta*) in Europe. In: Laikre L et al (eds) “Troutconcert”: EU Fair CT97-3882. Stockholm University, Sweden.
- Langeani F, Castro RMC, Oyakawa OT, Shibatta OA, Pavanelli CS, Casatti L (2007) Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. *Biota Neotropica*, 7(3):181-197.
- Langella O (2002) POPULATIONS 1.2.26. Logiciel de Génétique de populations. Laboratoire populations, génétique et évolution. CNRS UPR 9034. Gif-sur-Yvette. France [available from http://www.bioinformatics.org/project/?group_id=84].
- Lee MR, Elder FFB (1980) Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. *Cytogen. Cell Genet.*, 26:36-40.
- Levin DA, Palestis BG, Jones RN, Trivers R (2005) Phyletic hot spots for B chromosomes in angiosperms. *Evolution*, 59:962-969.
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25:1451-1452.
- Lima RMG (1998) Polimorfismos de microssatélites em DNA de equinos e seu uso na determinação de parentesco em animais da raça mangalarga machador, 91 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- López-León MD, Cabrero J, Camacho JPM (1993) Generating high variability of B chromosomes in *Eyprepocnemis plorans* (grasshopper). *Heredity*, 71(4):352-362.
- López-León MD, Veves N, Schwarzacher JS, Heslop-Harrison JS (Pat), Hewitt GM, Camacho JPM (1994) Possible origin of a B chromosome deduced from its DNA composition using double FISH technique. *Chrom. Res.*, 2:87-92.

- Lowe-McConnell R (1975) Fish communities in tropical freshwaters. New York, Longman. 337p.
- Lozano R, Rejon CR, Rejon MR (1988) A method for increasing the number of mitoses available for cytogenetic analysis in rainbow trout. *Stain Technology*, 66(6):335-338.
- Lucas MC, Baras E, Thom TJ, Duncan A, Slavík O (2001) Migration of freshwater fishes. Wiley Online Library, London.
- Mago-Leccia FM (1972) Consideraciones sobre la sistemática de la familia Prochilodontidae (Osteichthyes, Cypriniformes), com uma sinops de la espécies de Venezuela. *Acta Biol.Venez.*, 8:35-96.
- Maistro EL, Oliveira C, Foresti F (2000) Cytogenetic analysis of A and B-chromosome of *Prochilodus lineatus* (Teleostei, Prochilodontidae) using different restriction enzyme banding and staining methods. *Genetica*, 108:119-125.
- Maistro EL, Foresti F, Oliveira C, Almeida-Toledo LF (1992) Occurrence of macro B chromosome in *Astyanax scabripinnis paranae* (Pisces, Characiformes, Characidae). *Genetica*, 87:101-106.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton JM (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, 7:639-655.
- Martínez JL, Morán P, Garcia-Vázquez E, Pendás AM (1996) Chromosomal localization of the major and 5S rRNA genes in the European eel (*Anguilla anguilla*). *Cytogen Cell Genet.*, 73:149-152.
- Martins C, Wasko AP, Oliveira C, Foresti F (2003) Mitochondrial DNA variation in wild populations of *Leporinus elongatus* from the Paraná River basin. *Genet Mol Biol*, 26:33-38.

- Martins-Queiroz MF, Mateus FL, Garutti V, Venere PC (2008) Reproductive biology of *Triportheus trifurcatus* (Castelnau, 1855) (Characiformes: Characidae) in the middle rio Araguaia, MT, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 6(2):231-236.
- Martis MM, Klemme S, Banaei-Moghaddam AM, Blattner FR, Macas J, Schmutzer T, et al. (2012) Selfish supernumerary chromosome reveals its origin as a mosaic of host genome and organellar sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(33):13343-13346.
- Matsumoto CK, Hilsdorf AWS (2009) Microsatellite variation and population genetic structure of a Neotropical endangered Bryconinae species *Brycon insignis* Steindachner, 1877: implications for its conservation and sustainable management. *Neotrop Ichthyol*, 7:395-402
- McVean GT (1995) Fractious chromosomes hybrid disruption and the origin of selfish genetic elements. *BioEssays*, 17:579-582.
- Melo BF, Sidlauskas BL, Hoekzema K, Frable BW, Vari RP, Oliveira C (2016) Molecular phylogenetics of the Neotropical fish family Prochilodontidae (Teleostei: Characiformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 102:189-201.
- Melo DC, Oliveira DAA, Seerig A, Carvalho DC (2008) Aplicações práticas de marcadores microssatélites na caracterização genética e identificação de plantéis de tilápia. *Rev Bras Reprod Anim*, 32(4):220-224.
- Melo BF, Sato Y, Foresti F, Oliveira C (2013) The roles of marginal lagoons in the maintenance of genetic diversity in the Brazilian migratory fishes *Prochilodus argenteus* and *P. costatus*. *Neotropical Ichthyology*, 11(3):625-636.
- Melo S, Utsunomia R, Penitente M, Sobrinho-Scudeler PE, Porto-Foresti F, Oliveira C, Foresti F, Dergam JA (2017). B chromosome dynamics in *Prochilodus costatus*

- (Teleostei, Characiformes) and comparisons with supernumerary chromosome system in other *Prochilodus* species. *Comparative Cytogenetics*, 11:393.
- Menezes NA, Buckup PA, Figueiredo JL (2003) Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo 159p.
- Mestriner CA, Galetti Jr. PM, Valentini SR, Ruiz IRG, Abel LDS, Moreira-Filho O, Camacho JPM (2000) Structural and functional evidence that a B chromosome in the characid fish *Astyanax scabripinnis* is an isochromosomes. *Heredity*, 85:1-9.
- Ministério da Pesca e Aquicultura (2011) Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, p.17-22.
- Moraes-Neto A, Silva M, Motoso DA, Vicari MR, Almeida MC, Collares-Pereira MJ, Artoni RF (2011) Karyotype variability in Neotropical catfishes of the family Pimelodidae (Teleostei:Siluriforme). *Neotropical Ichthyology*, 9:97-105.
- Morán P, Martínez JL, García-Vásquez E, Pendás AM (1996) Sex chromosome linkage of 5S rDNA in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Cytogenet. Cell Genet.*, 75:145-150.
- Morelli KA (2008) Migração do curimatá (*Prochilodus lineatus*, Prochilodontidae, Characiformes) no rio Mogi-Guaçu: aspectos genético-populacionais, 141 f. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Moreira CR (2007) Relações filogenéticas na ordem Characiformes (Teleostei: Ostariophysi), 468 f. Tese (Doutorado em Ciências (Zoologia)) Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Moreira HLM (1999) Análise da estrutura de plantéis e diversidade genética de estoques de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estimadas por microssatélites, 112 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Moreira-Filho O, Fenocchio AS, Pastori MC, Bertollo LAC (2001) Occurrence of a metacentric macrochromosome B in different species of the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae, Tetragonopterinae). *Cytologia*, 66:59-64.

- Müntzing A (1944) Citological studies of extra fragment chromosomes in rye I. Isofragments produced by misdivision. *Hereditas*, 30:231-248.
- Müntzing A (1948) Accessory chromosomes in *Poa alpina*. *Heredity*, 2:49-61.
- Nei M (1987) *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nelson JS (2006) *Fishes of the World*. 4th eds. New York: John, 601p.
- Néo DM, Bertollo LAC, Moreira-Filho O (2000) Morphological differentiation and possible origin of B chromosome in natural Brazilian population of *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). *Genetica*, 108:211-215.
- Noletto RB, Guimarães FSF, Paludo KS, Vicari MR, Artoni RF, Cestari MM (2007) Genome Size Evaluation in Tetraodontiform Fishes from the Neotropical Region. *Mar Biotechnol*, 11:680-685.
- Nur U (1966a) Harmful B chromosomes in a mealy bug population. *Genetics*, 54:1225-1238.
- Nur U (1966b) The effect of supernumerary chromosomes on the development of mealy bugs. *Genetics*, 54:1239-1249.
- Nur, U (1977) Maintenance of a “parasitic” B chromosome in the grasshopper *Melonoplus femur-rubrum*. *Genetics*, 87:499-512.
- Nur U, Brett BLH (1987) Control of meiotic drive of B chromosomes in the mealy bug *Pseudococcus affinis (obscurus)*. *Genetics*, 115:499-510.
- Nur U, Brett BLH (1988) Genotypes affecting the condensation and transmission of heterochromatic B chromosomes in the mealy bug *Pseudococcus affinis*. *Chromosoma*, 96:205-212.
- Oliveira C, Almeida-Toledo LF, Foresti F, Toledo-Filho SA (1988) Supernumerary chromosomes, Robertsonian rearrangements and multiple NORs in *Corydoras aeneus* (Pisces, Siluriformes, Callichthyidae). *Caryologia*, 41:227-236.

- Oliveira C, Foresti F (1993) Occurrence of supernumerary microchromosomes in *Steindachnerina insculpta* (Pisces, Characiformes, Curimatidae). *Cytobios*, 76:183-186.
- Oliveira C, Saboya SMR, Foresti F, Senhorini JA, Bernardino G (1997) Increased B chromosome frequency and absence of drive in the fish *Prochilodus lineatus*. *Heredity*, 79:473-476.
- Oliveira C, Nirchio M, Granado A, Levy S (2003) Karyotypic characterization of *Prochilodus mariae*, *Semaprochilodus Kneri* and *Semaprochilodus laticeps* (Teleostei:Prochilodontidae from Caicara del Orinoco, Venezuela. *Neotropical Ichthyology*, 1:47-52.
- Oliveira C, Almeida-Toledo LF, Foresti F (2007) Karyotypic Evolution in Neotropical Fishes. (Pisano E, Ozouf-Costaz C, Foresti F, Kapoor BG Eds) *Fish Citogenetics*. Science Publishers USA, 111-152p.
- Oliveira C Foresti F Hilsdorf AWS (2009) Genetics of Neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiol Biochem*, 35:81-100.
- Otero O, Gayet M (2001) Palaeoichthyofaunas from the lower Oligocene and Miocene of the Arabian Plate: palaeoecological and palaeobiogeographical implications. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 165:141-169.
- Östergren G (1945) Parasitic nature of extra fragment chromosomes. *Bot. Notiser*, 2:157-163.
- Page RDM (1996) TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, 12:357-358.
- Pansonato-Alves JC, Serrano EA, Utsunomia R, Camacho JPM, da Costa Silva GJ, Vicari MR, Artoni RF, Oliveira C, Foresti F (2014) Single origin of sex chromosomes and multiple origins of B chromosomes in fish genus *Characidium*. *PloS one*, 9(9):e107169.

- Parker JS, Taylor S, Ainsworth CC (1982) The B chromosome system of *Hypochoeris maculata*. III. Variation in B chromosome transmission rates. *Chromosoma*, 85:229-310.
- Pauls E, Bertollo LAC (1990) Distribution of a supernumerary chromosome system and aspects of cariotipic evolution in the genus *Prochilodus* (Pisces, Prochilodontidae). *Genetica*, 81:117-123.
- Pauls E, Bertollo LAC (1983) Evidence for a system of supranumerary chromosomes in *Prochilodus scrofa* Steindacher 1881 (Pisces, Prochilodontidae). *Caryologia*, 36(4):307-314.
- Peixer J, Petreire Júnior M (2009) Sport fishing in Cachoeira de Emas in Mogi-Guaçu River, State of São Paulo, Brazil. *Braz J Biol*, 69:1081-1090.
- Pendás AM, Morán P, Freije JP, Garcia-Vásquez E (1994) Chromosomal mapping and nucleotide sequence of two tandem repeats of Atlantic salmon 5S rDNA. *Cytogenet. Cell Genet.*, 67:31-36.
- Penitente M, Voltolin TA, Senhorini JA, Bortolozzi J, Foresti F, Porto-Foresti F (2013) Transmission rate variation among three B chromosome variants in the fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 85(4):1371-1377. doi: 10.1590/0001-3765201387611.
- Penitente M, Foresti F, Porto-Foresti F (2015) B chromosomes in the species *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae): morphological identity and dispersion. *Comparative Cytogenetics*, 9(1):79-87.
- Penitente M, Daniel SN, Senhorini JA, Foresti F, Porto-Foresti F (2016a) Transmission Behavior of B Chromosomes in *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). *Cytogenetic and Genome Research*, 147:179-185. doi: 10.1159/000443384

- Penitente M, Daniel Sn, Scudeler Pes, Foresti F, Porto-Foresti F (2016b) B chromosome variants in *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) analyzed by microdissection and chromosome painting techniques. *Caryologia*, 69:1-6.
- Peppers JA, Wiggins LE, Baker RJ (1997) Nature of B chromosomes in the harvest mouse *Reithrodontomys megalotis* by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *Chromosome Res.*, 5:475-479.
- Perfectti F, Werren JH (2001) The Interspecific Origin of B Chromosomes: Experimental Evidence. *Evolution*, 55:1069-1073.
- Piry S, Luikart G, Cornuet JM (1999) BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *J Hered*, 90:502-503.
- Pohler W, Schlegel R (1990) A rye plant with frequent A-B chromosome pairing. *Hereditas*, 112:217-220.
- Porto FE, Portela-Castro ALB, Martins-Santos IC (2010) Possible origins of the B chromosome in *Rinelocaria pentamaculata* (Loricariidae, Siluriformes) from the Paraná river basin. *Genetics and Molecular Research*, 9:1654-1659.
- Porto-Foresti F (2001) Análise das regiões organizadoras de nucléolo polimórficas em truta Arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*): mecanismo de herança e efeitos no desenvolvimento, 119 f. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências de Botucatu - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Porto-Foresti F, Hashimoto DT, Prado FD, Senhorini JA, Foresti F (2010) A hibridação interespecífica em peixes. *Panorama da Aquicultura*, 21(126):28-33.
- Potter PE (1997) The Mesozoic and Cenozoic paleodrainage of South America: A natural history. *Journal of South American Earth Sciences*, 10:331-344.

- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population Structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155 (2):945-59.
- Ramos É, Cardoso AL, Brown J, Marques DF, Fantinatti BE, Cabral-de-Mello DC, Oliveira RA, O'Neill RJ, Martins C (2017). The repetitive DNA element BncDNA, enriched in the B chromosome of the cichlid fish *Astatotilapia latifasciata*, transcribes a potentially noncoding RNA. *Chromosoma*, 126(2):313-323.
- Reis RE, Albert JS, Di Dario F, Mincarone MM, Petry P, Rocha LA (2016) Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of Fish Biology*, 89:12–47. doi:10.1111/jfb.13016.
- Revaldaves E, Renesto E, Machado MFPS (1997) Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the upper Paraná river. *Brazilian Journal of Genetics*, 20(3):381-388.
- Revaldaves E, Renesto E, Gold JR (2016). Genetic variation of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) from Paraná, Baía, Miranda, and Corumbá rivers, Brazil. *Genetics and molecular research: GMR*, 15(4).
- Ribeiro AC (2006) Tectonic history and the biogeography of the fresh- water fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: An example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology*, 4:225-246.
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43:223-225.
- Rohlf FJ (1993) NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.1. Setauket, New York.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145:1219-1228.
- Rousset F (2008). Genepop'007: a complete reimplementaion of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resources*, 8:103-106.

- Rueda EC, Sommer J, Scarabotti P, Markariani R, Ortí G (2011) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the migratory freshwater fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes: Prochilodontidae). *Conserv Genet Resour*, 3:681-684.
- Rueda EC, Carriquiriborde P, Monzón AM, Somoza GM, Ortí G (2013) Seasonal variation in genetic population structure of sábalo (*Prochilodus lineatus*) in the Lower Uruguay River. *Genetica*, 141(7-9):401-407.
- Salvador LB, Moreira-Filho O (1992) B chromosome in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). *Heredity*, 69:50-56.
- Sampaio TR, Gravena W, Gouveia JG, Giuliano-Caetano L; Dias AL (2011) B microchromosomes in the family Curimatidae (Characiformes): mitotic and meiotic behavior. *Comparative Cytogenetics*, 5(4):301-313.
- Sanches A, Galetti PM Jr, Galzerani F, Derazo J, Cutilakbianchi B, Hatanaka T (2012) Genetic population structure of two migratory freshwater fish species (*Brycon orthotaenia* and *Prochilodus argenteus*) from the São Francisco River in Brazil and its significance for conservation. *Lat Am J Aquat Res*, 40:177-186.
- Sanna-Kaisa J, Jukka S (2004) Sustainable use of ornamental fish populations in Peruvian Amazonia. *Lyonia*, 7(2):53-59.
- Santorum JM, Darriba D, Taboada GL, Posada D (2014) jmodeltest.org: selection of nucleotide substitution models on the cloud. *Bioinformatics*, 30(9):1310-1311.
- Santos MCF, Ruffino ML, Farias IP (2007) High levels of genetic variability and panmixia of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) in the main channel of the Amazon River. *J Fish Biol*, 71:33-44.
- Santos LPD, Castro JP, Francisco CMD, Vicari MR, Almeida MCD, Goll LG, Gusso L, Morelli S, Artoni RF (2013) Cytogenetic analysis in the Neotropical fish *Astyanax*

- goyacensis* Eigenmann, 1908 (Characidae, incertae sedis): karyotype description and occurrence of B microchromosomes. *Molecular Cytogenetics*, 6(1):1-10.
- Sapre AB, Despanche DS (1987) Origin of B chromosomes in *Coix* L. through spontaneous interspecific hybridization. *J. Hered.*, 78:191-196.
- Schartl M, Nanda I, Schlupp I, Wilde B, Epplen JT, Schmidt M, Parzefall J (1995) Incorporation of subgenomic amounts of DNA as compensation for mutational load in a gynogenetic fish. *Nature*, 373: 68-71.
- Serrano EA, Araya-Jaime C, Suárez-Villota EY, Oliveira C, Foresti F (2016) Meiotic behavior and H3K4m distribution in B chromosomes of *Characidium gomesi* (Characiformes, Crenuchidae). *Comparative Cytogenetics*, 10(2):255-268. doi: 10.3897/CompCytogen.v10i2.7939
- Sivasundar A, Bermingham E, Ortí G (2001) Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major South American rivers. *Molecular Ecology*, 10:407-418.
- Shaw MW, Hewitt GM, Anderson DA (1985) Polymorphism in the rates of meiotic drive acting on the chromosome of *Myrmeleotettix maculatus*. *Heredity*, 55:61-68.
- Shaw MW, Hewitt GM (1985) The genetic control of meiotic drive acting on the B chromosome of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera: Acrididae). *Heredity*, 54:259-268.
- Shaw MW, Hewitt GM (1990) B chromosomes, selfish DNA and theoretical models: where next?. Futuyma D and Antonovics J (eds), *Oxford surveys in evolutionary biology*. Oxford Univ. Press, 197-223p.
- Silva DMZA, Pansonato-Alves JC, Utsonomia R, Daniel SN, Hashimoto DT, Oliveira C, Porto-Foresti F, Foresti F (2013) Chromosomal organization of repetitive DNA

- sequences in *Astyanax bockmanni* (Teleostei, Characiformes): dispersive location, association and co-localization in the genome. *Genetica*, 141:329-336.
- Stevens NM (1908) The chromosomes in *Diabrotica vittata*, *Diabrotica soror* and *Diabrotica 12-punctata*. A contribution to the literature on heterochromosomes and sex determination. *J. Exp. Zool.*, 5:453-470.
- Studart MT (2001) Caracterização molecular de bovinos da raça Simental com base em microssatélites e RFLP, 2001 73 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Sumner AT (1972) Chromosome Banding. Unwin Hyman Inc. Cambridge 434p.
- Suzuki H, Sakurai S, Matsuda Y (1996) Rat DNAr spacer sequence and chromosomal assignment of the genes to the extreme terminal region of chromosome 19. *Cytogenet. Cell Genet.*, 72:1-4.
- Sverlij SB, Espinach Ros A, Ortí G (1993) Synopsis de los datos biológicos del sabalo *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847), (No. 154). Food and Agriculture Organization of the United Nations—FAO Fisheries Synopsis, pp 1-67.
- Tamura K (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases. *Molecular biology and evolution*, 9(4):678-687.
- Taylor AI (1967) Patau's, Edwards' and cri du chat syndromes: A tabulated summary of current findings. *Develop. Med. Child Neurol.*, 9:78.
- Templeton AR (2011) Genética de populações e teoria microevolutiva. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, SP, 705 p.
- Teruel M, Cabrero J, Montiel EE, Acosta MJ, Sánchez A, Camacho JPM (2009) Microdissection and chromosome painting of X and B chromosomes in *Locusta migratória*. *Chromosome Research*, 17:11-18.

- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997) The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.*, 25:4876-4882.
- Toledo-Filho SA, Calcagnotto D, Bernardino G, Fernandes-Matioli FMC, Moysés CB, Almeida-Toledo LF, Foresti F (1999) Projeto de Bancos Genéticos na Piscicultura Brasileira. *Cadernos de Ictiogenética* 5. CCS/USP, São Paulo, SP.
- Toledo-Filho SA, Almeida-Toledo LF, Foresti F, Galhardo E, Donola E (1992) Conservação Genética de Peixes em Projetos de Repovoamento de Reservatórios. *Cadernos de Ictiogenética* 1. CCS/USP, São Paulo, SP.
- Tosta VC, Marthe JB, Tavares MG, Fernandes-Salomão TM, Pompolo SG, Recco-Pimentel SM, Perfectti F, Campos LAO, Camacho JPM (2015) Possible Introgression of B Chromosomes between Bee Species (Genus *Partamona*). *Cytogenetic and Genome Research*, 144(3), 220-226. doi:10.1159/000370171
- Valente GT, Conte MA, Fantinatti BEA, Cabral-de-Mello DC, Carvalho RF, Vicari MR, Kocher TD, Martins C (2014) Origin and evolution of B chromosomes in the cichlid fish *Astatotilapia latifasciata* based on integrated genomic analyses. *Mol Biol Evol*, 31:2061-2072.
- Valente GT, Nakajima RT, Fantinatti BEA, Marques DF, Almeida RO, Simões RP, Martins C (2017) B chromosomes: from cytogenetics to systems biology. *Chromosoma*, 126:73-81. doi: 10.1007/s00412-016-0613-6
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4:535-538.

- Vari RP (1983) Phylogenetic relationships of the families Curimatidae, Prochilodontidae, Anostomidae and Chilodontidae (Pisces, Characiformes). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 378:1-60.
- Vari RP, Malabarba LR (1998) Neotropical Ichthyology: an overview. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS, Lucena CAS (Ed.). *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*. Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 1-11.
- Venere PC, Miyazawa CS, Galetti Jr. PM (1999) New cases of supernumerary chromosomes in characiform fishes. *Genet Mol Biol*, 22:345-349.
- Vicari MR, Almeida MC, Bertollo LAC, Moreira-Filho O, Artoni RF (2006) Cytogenetic analysis and chromosomal characteristics of the polymorphic 18S rDNA in the fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes Prochilodontidae). *Genet and Mol Biol*, 29:621-625.
- Vicari MR, Pistune HFM, Castro JP, Almeida MC, Bertollo LAC, Moreira-Filho O, Camacho JPM, Artoni RF (2011) New insights on the origin of B chromosome in *Astyanax scabripinnis* obtained by chromosome painting and FISH. *Genetica*, 139:1073-1081.
- Vicente VE, Moreira-Filho O, Camacho JPM (1996) Sex-ratio distortion associated with the presence of a B chromosome in *Astyanax scabripinnis* (Teleostei, Characidae). *Cytogenetic Cell Genet*, 74:70-75.
- Vicente VE, Jesus CM, Moreira-Filho O (2001) Chromosomal localization of 5S and 18S rDNA genes in three *Parodon* species (Pisces, Parodontidae). *Caryologia*, 4:365-369.
- Volobujev VT (1981) The B-chromosome system of mammals. *Caryologia*, 34:1-23.
- Voltolin TA, Senhorini JA, Oliveira C, Foresti F, Bortolozzi J, Porto-Foresti F (2009) Cytogenetic Markers in Wild Population of Curimatá (*Prochilodus lineatus*) from Mogi-Guaçu River. *Cytologia*, 74(3):281-287.

- Voltolin TA, Senhorini JA, Laudicina A, Oliveira C, Foresti F, Bortolozzi J, Porto-Foresti F (2010a) Origin and Molecular organization of Supernumerary Chromosomes of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) obtained by DNA probes. *Genetica*, 138(11-12):1133-1139. doi: 10.1007/s10709-010-9502-8.
- Voltolin TA, Senhorini JA, Oliveira C, Foresti F, Bortolozzi J, Porto-Foresti F (2010b) B-chromosome frequency stability in *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). *Genetica*, 138(3):281-284. doi: 10.1007/s10709-009-9420-9.
- Voltolin TA, Senhorini JA, Oliveira C, Foresti F, Bortolozzi J, Porto-Foresti F (2010c) Supernumerary chromosome inheritance in the curimbatá (*Prochilodus lineatus*) of the Mogi-Guaçu River. *Hereditas*, 147:127-131.
- Voltolin TA, Senhorini JA, Foresti F, Bortolozzi J, Porto-Foresti F (2011) Intraspecific crosses resulting in the first occurrence of eight and nine B chromosomes in *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). *Genetics and Molecular Biology*, 34(2):220-224.
- Voltolin TA, Penitente M, Mendonça BB, Senhorini JA, Foresti F, Porto-Foresti F (2013a) Karyotypic conservatism in five species of *Prochilodus* (Characiformes, Prochilodontidae) disclosed by cytogenetic markers. *Genet and Mol Biol*, 36(3):347-352.
- Voltolin TA, Pansonato-Alves JC, Senhorini JA, Foresti F, Camacho JPM, Porto-Foresti F (2013b) Common Descent of B Chromosomes in Two Species of the Fish Genus *Prochilodus* (Characiformes, Prochilodontidae). *Cytogenet Genome Res*, 141(2-3):206-211. doi: 10.1159/000354987.
- Vujosevic M, Blagojevic J (2004) B chromosomes in populations of mammals. *Cytogenetic and Genome Research*, 106:247-256.

- Wasko AP, Martins C, Wright JM, Galetti Jr. PM (2001) Molecular organization of 5S rRNA in fishes of the genus *Brycon*. *Genome*, 44:839-902.
- White MJD (1973) *Animal cytology and evolution*. Cambridge Univ Press, 961p.
- Wilson E (1907) The supernumerary chromosome of Hemiptera. *Science*, 26:870-871.
- Winemiller K (1996) *Food webs: integration of patterns and dynamics*. Chapman and Hall, New York.
- Yazbeck GM, Kalapothakis E (2007) Isolation and characterization of microsatellite DNA in the piracema fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes). *Genet Mol Res*, 6:1026-1034.
- Yoshida K, Terai Y, Mizoiri S, Aibara M, Nishihara H, Watanabe M, Kuroiwa A, Hirai H, Hirai Y, Matsuda Y, Okada N (2011) B Chromosomes Have a Functional Effect on Female Sex Determination in Lake Victoria Cichlid Fishes. *PLoS Genet*, 7(8):e1002203. doi: 10.1371/journal.pgen.1002203.
- Zhang ZQ (2013) *Animal biodiversity: an update of classification and diversity in 2013*. *Zootaxa*, Auckland, 3703(1):5-11.
- Zurita S, Cabrero J, López-León MD (1998) Polymorphism regeneration for a neutralized selfish B chromosome. *Evolution*, 52:274-277.