

RESSALVA

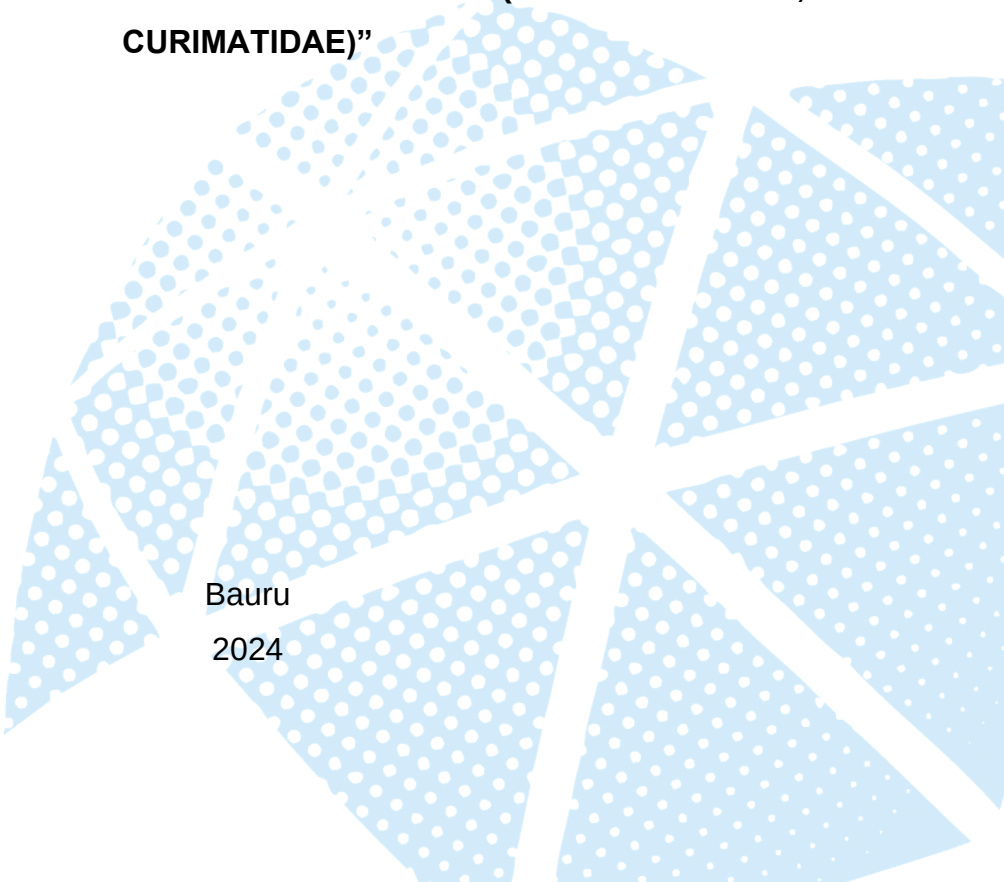
Atendendo solicitação do autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 09/11/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Campus de Bauru

NATÁLIA DOS SANTOS

**“DIVERGÊNCIA MOLECULAR E COMPOSIÇÃO GENÔMICA DE
CROMOSSOMOS B EM *CYPHOCHARAX MODESTUS* (CHARACIFORMES,
CURIMATIDAE)”**

Bauru
2024



NATÁLIA DOS SANTOS

**“DIVERGÊNCIA MOLECULAR E COMPOSIÇÃO GENÔMICA DE
CROMOSSOMOS B EM *CYPHOCHARAX MODESTUS* (CHARACIFORMES,
CURIMATIDAE)”**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Bauru, para obtenção do título de Mestra em Biociências.

Área de Concentração: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Utsunomia

Coorientador: Prof. Dr. Fabio Porto Foresti

Bauru

2024

S237d

Santos, Natália dos

Divergência molecular e composição genômica de cromossomos B em *Cyphocharax modestus* (Characiformes, Curimatidae) / Natália dos Santos. -- Bauru, 2024

60 p. : tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências, Bauru

Orientador: Ricardo Utsunomia

Coorientador: Fabio Porto-Foresti

1. Citogenética animal. 2. Genômica. 3. Characiformes. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências, Bauru. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE NATALIA DOS SANTOS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 27 dias do mês de setembro do ano de 2024, às 09:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de NATALIA DOS SANTOS, intitulada **“DIVERGÊNCIA MOLECULAR E COMPOSIÇÃO GENÔMICA DE CROMOSSOMOS B EM CYPHOCHAX MODESTUS (CHARACIFORMES, CURIMATIDAE)”**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. RICARDO UTSUNOMIA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências - Unesp/Câmpus de Bauru, Dr. CAIO AUGUSTO GOMES GOES (Participação Presencial) do(a) Faculdade de Ciências - Unesp/Campus de Bauru, Profa. Dra. GEIZE APARECIDA DEON (Participação Presencial) do(a) Universidade Federal de São Carlos. Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovado . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. RICARDO UTSUNOMIA

Documento assinado digitalmente
 **RICARDO UTSUNOMIA**
Data: 30/09/2024 15:08:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dedico este trabalho à minha família,
Francisca, Arnaldo, Gustavo, Massao,
Erina e João Dourado.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço à minha família, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, sempre acreditando em mim e me incentivando a seguir em frente em busca dos meus sonhos. Em especial aos meus pais, Francisca e Arnaldo e ao meu irmão Gustavo. Sua presença e amor foram fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui e com certeza me levarão cada vez mais longe.

Agradeço ao meu namorado, Massao, que sempre foi uma inspiração para mim. Obrigada pelo amor e apoio diariamente, que foram fundamentais durante toda essa jornada. Sua compreensão, suporte e incentivo me motivaram a sempre seguir em frente, mesmo nos momentos mais desafiadores. Sou eternamente grata por ter você ao meu lado, sempre acreditando em mim e celebrando cada conquista juntos.

Agradeço a Erina Kodama e João Dourado pelo acolhimento e apoio durante essa jornada. Sua gentileza e incentivo foram fundamentais, sempre me motivando a dar o meu melhor. Sou grata por toda a confiança e carinho que me ofereceram, me ajudando a seguir em frente para realizar meus sonhos e conquistar meus objetivos.

Agradeço a todos os meus queridos amigos da família Lagenpe, em especial a Zeni, Henrique, Goes, Gabi, Amandinha, Hélio, Auany, Vitor, Kevin, Camila e Verônica, por todos os momentos que compartilhamos. Seja durante os cafés, almoços, comemorações ou nas horas difíceis, sempre estive cercada de apoio e compreensão. Sou grata por cada risada e lágrima dividida, e por sempre estarem prontos para me ouvir. Esses momentos preciosos ficarão guardados comigo para sempre. Agradeço a todos os amigos do laboratório, tanto os atuais quanto os antigos, e que de alguma forma me apoiaram.

Ao Rodrigo Zeni, em especial, agradeço por me acompanhar desde o início e por todos os ensinamentos, tanto dentro quanto fora do laboratório. Por sempre acreditar em mim, me ouvir, me aconselhar e estar ao meu lado em todos os momentos me apoiando e torcendo por mim. Sou profundamente grata por sua amizade e por estar sempre ao meu lado.

Agradeço aos amigos que acompanharam este processo e que de alguma forma me incentivaram, tanto os de perto quanto de longe. Ao meu irmão de coração,

Israel, aos amigos Minhoca, Júlio e Eduardo por tornarem meus momentos de descanso mais divertidos e descontraídos. Obrigada pelas inúmeras conversas, jogos, suporte emocional e por todos os momentos alegres que tornaram essa jornada mais leve e agradável.

Agradeço à minha psicóloga, Isa, pelo apoio e orientação que me proporcionou ao longo desta jornada. Por todos as conversas e reflexões que foram fundamentais para meu crescimento pessoal e emocional e que me permitiram continuar perseguindo meus sonhos. Sou profundamente grata por todo o suporte que me ofereceu, pelo carinho e pela sua amizade.

Ao pessoal da UFSCAR, Marcelo, Francisco e Renata, agradeço a ajuda com meu trabalho e a todos do grupo pelos momentos compartilhados em congressos e encontros científicos. Seu apoio foi fundamental para o desenvolvimento deste projeto, e sou imensamente grata por toda a colaboração.

Ao meu orientador, expresso minha gratidão pelo apoio e pela orientação. Sua experiência e dedicação foram essenciais para meu desenvolvimento acadêmico. Agradeço por compartilhar seu conhecimento e por escolher acreditar em mim, junto com sua dedicação em me guiar ao longo desta jornada e sua disposição para me ouvir que foram fundamentais para meu crescimento. Obrigada pelo apoio e pela colaboração nesse processo.

Ao meu co-orientador Fabio, agradeço por ter me acolhido desde a iniciação científica e por ter acreditado em mim sempre. Por me ouvir e se preocupar genuinamente comigo, oferecendo conselhos e ajuda sempre que precisei. Sua dedicação em fazer o possível para me ajudar e sua tranquilidade foram fundamentais ao longo dessa jornada. Sou imensamente grata por todo o apoio, experiências enriquecedoras, oportunidades, e pelo carinho e acolhimento que sempre me ofereceu.

Por fim, sou grata a todos os que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, seja com palavras de encorajamento, descontração, apoio técnico ou inspiração. Cada um de vocês fez a diferença nessa trajetória.

“Everything in life is a learning experience... As long as you're learning, you're not failing.”

(Bob Ross).

RESUMO

Os cromossomos B, também conhecidos como cromossomos supranumerários, representam elementos dispensáveis encontrados em organismos eucarióticos, os quais estão presentes em diversas espécies de peixes, incluindo em representantes de Characiformes. Elementos repetitivos como os DNAs satélites (satDNAs) têm tendência de acumularem em regiões de baixa recombinação, como por exemplo, nos cromossomos supranumerários. Em *Cyphocharax modestus*, (Teleostei: Characiformes), a presença de cromossomos B tem sido documentada em diversas populações, embora existam poucos estudos buscando analisar DNAs repetitivos nesta espécie. Portanto, visando aumentar o conhecimento sobre a composição dos cromossomos B nesta espécie, caracterizamos o satelitoma de *C. modestus* e identificamos duas variantes do cromossomo B (aqui chamadas de B_e e B_h) as quais se distinguem por sua morfologia, padrões de heterocromatina e composição de sequências repetitivas. Com a utilização da hibridização *in situ* fluorescente (FISH) e genômica comparativa (CGH) em satélites com maior abundância no portador de cromossomo B foi possível notar que as variantes encontradas podem ter origem intraespecífica e tenham seguido trajetórias evolutivas distintas. Além de caracterizar pela primeira vez o satelitoma desta espécie em um indivíduo portador de cromossomo B e encontrar um satélite específico deste cromossomo, encontramos pela primeira vez um indivíduo portador de cinco cromossomos B, aumentando o conhecimento sobre a composição genômica e a diversidade estrutural dos cromossomos B nessa espécie. Dessa forma, a análise dos cromossomos B e dos DNAs satélites em peixes como *C. modestus* contribui significativamente para a compreensão da evolução genômica, origem e diferenciação desses elementos e da diversidade biológica presente nesses organismos.

Palavras-chave: Citogenética animal; Genômica; Characiformes.

ABSTRACT

B chromosomes, also known as supernumerary chromosomes, are dispensable genetic elements found in eukaryotic organisms, including several fish species, such as those in the order Characiformes. Repetitive elements, such as satellite DNAs (satDNAs), tend to accumulate in regions with low recombination rates, such as supernumerary chromosomes. In *Cyphocharax modestus* (Teleostei: Characiformes), the presence of B chromosomes has been documented across several populations, although few studies have focused on analyzing repetitive DNAs in this species. To enhance our understanding of the composition of B chromosomes in *C. modestus*, we characterized the satellitome of this species and identified two variants of the B chromosome (designated B_e and B_h), distinguished by their morphology, heterochromatin patterns, and repetitive sequence composition. Using fluorescence in situ hybridization (FISH) and comparative genomic hybridization (CGH) to analyze satellites with greater abundance in B chromosome carriers, we observed that these variants likely have an intraspecific origin and have followed distinct evolutionary trajectories. In addition, for the first time, we characterize the satellitome of this species in an individual carrying a B chromosome and identifying a specific satellite associated with this chromosome, we also documented, for the first time, an individual carrying five B chromosomes. This finding expands our knowledge of the genomic composition and structural diversity of B chromosomes in this species. Thus, the study of B chromosomes and satellite DNAs in fish species such as *C. modestus* significantly contributes to our understanding of genomic evolution, the origin and differentiation of these elements, and the biological diversity present in these organisms.

Keywords: Animal cytogenetics; Genomics; Characiformes.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Cromossomos B	12
1.2	Sequências repetitivas com ênfase em dnas satélites	14
1.3	Família curimatidae com ênfase na espécie <i>Cyphocharax modestus</i> ...	17
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1	Coleta de indivíduos e análises citogenéticas	19
3.2	Estimulação de mitoses e obtenção de cromossomos metafásicos	20
3.3	Caracterização da heterocromatina constitutiva	22
3.4	Microscopia e processamento de imagens.....	22
3.5	Sequenciamento das leituras curtas.....	22
3.6	Análises bioinformáticas em servidor remoto e protocolos de bioinformática.....	23
3.7	Desenho de primers e reação em cadeia da polimerase (PCR).....	25
3.8	Hibridização <i>in situ</i> fluorescente (FISH).....	25
3.9	Hibridização genômica comparativa (CGH).....	27
4	RESULTADOS	27
4.1	Caracterização citogenética.....	27
4.2	Caracterização e análise do satelitoma	29
4.3	Distribuição cromossômica dos cmosatdna.....	30
4.4	Divergência intra e intergenômica	34
4.5	Hibridização genômica comparativa (CGH).....	36
5	DISCUSSÃO.....	37
6	CONCLUSÃO	40
7	REFERÊNCIAS	41
8	INFORMAÇÕES SUPLEMENTAR	52

1 INTRODUÇÃO

1.1 Cromossomos B

Cromossomos B, também conhecidos como cromossomos supranumerários ou acessórios, são elementos genômicos extras e dispensáveis presentes nos genomas de cerca de 15% eucariotos (Camacho 2005). Foram identificados pela primeira vez por Wilson (1907) em um inseto do gênero *Metapodius* (atualmente *Acanthocephala*), nomeados de supranumerários por Longley (1927) e, finalmente chamados de cromossomos B por Randolph (1928) (Douglas & Birchler, 2017). Em plantas, estes elementos foram identificados pela primeira vez no centeio (*Secale cereale*) por Gotoh (1924) e no milho (*Zea mays*) por Kuwada (1925). Já em peixes neotropicais de água doce, o primeiro relato de cromossomos B foi para a espécie *Prochilodus lineatus* (Pauls & Bertollo, 1983). Desde então, contando com cerca de 5760 publicações até 2016, diversos estudos vêm contribuindo para aumentar o conhecimento sobre os cromossomos B em diferentes grupos, abrangendo 2828 espécies eucarióticas, incluindo plantas, animais e fungos (D'Ambrosio et al., 2017).

Essencialmente, estes cromossomos podem ter uma origem intraespecífica, derivando dos cromossomos A da própria espécie hospedeira, ou uma origem interespecífica, resultante de processos de hibridização (McAllister et al., 1997; Camacho, 2000; Pansonato-Alves et al., 2014; Utsunomia et al., 2016). Eles são excelentes exemplos de conflito genômico, pois não são essenciais para o ciclo de vida dos organismos e são distintos pela herança não mendeliana com uma segregação irregular durante a meiose (Camacho et al., 2000; Karafiátová et al., 2021). De modo geral, esses cromossomos não possuem uma função definida, sendo classificados como elementos parasitários (Camacho et al., 2000; Gravena et al., 2007; Sampaio et al., 2011; Houben, 2017; Stornioli et al., 2021), não conseguem recombinar com os cromossomos A durante a meiose (Jones et al., 2008; Houben et al., 2012) e podem utilizar da maquinaria celular necessária para replicação e transmissão (Camacho, 2000; Douglas & Birchler, 2017).

Devido à sua natureza parasitária, os cromossomos B são capazes de modular o funcionamento das células para beneficiar suas próprias taxas de transmissão, um processo conhecido como "drive" (Camacho et al., 2000; Oliveira, 2010). O "drive" se refere ao sucesso na transmissão dos cromossomos B, que está ligado a taxas de

transmissão mais altas do que o esperado pelas leis mendelianas (Camacho, 2005; Burt e Trivers, 2006; Houben et al., 2017; Jones et al., 2018; Blavet et al., 2021). Uma vez que esses cromossomos surgem, acredita-se que os cromossomos B passam por um ciclo que inclui: i) invasão; ii) neutralização; e iii) extinção, a menos que sejam substituídos por uma nova variante de cromossomo B e passem novamente pelo "drive" (Camacho et al., 2000). Em plantas, o "drive" acontece após a meiose, enquanto em animais, ocorre na fase pré-meiótica ou durante a meiose, processo já descrito para diversas espécies como milho, gafanhotos e em alguns mamíferos (Douglas & Birchler, 2017).

A diversificação intraespecífica de variantes de B tem sido amplamente relatada em diferentes grupos e pode mostrar variação estrutural, morfológica, de tamanho, quantidade de heterocromatina-constitutiva, conteúdo de DNA e taxas de transmissão (López-León et al., 1993; Houben et al., 1999; Penitente et al., 2013). Essa diversificação já foi observada nos Characiformes como por exemplo: *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Utsunomia et al. 2016), *Prochilodus lineatus* (Artoni et al. 2006) e *Psalidodon bockmanni* (Daniel et al., 2012). Além disso, um mesmo indivíduo pode apresentar diferença na quantidade desses elementos a nível celular ou intrapopulacional (Jones et al., 2008) e ainda, em algumas espécies, o acúmulo de B pode ocorrer exclusivamente em um ou em ambos os sexos (Douglas & Birchler, 2017).

A presença dos cromossomos B pode ter efeitos negativo, neutro ou positivo em seu hospedeiro (Douglas & Birchler, 2017). Em baixa quantidade apresentam nenhum ou pouco impacto, mas em grande quantidade causam diferenças fenotípicas e podem afetar a fertilidade do hospedeiro (Houben et al., 2003; Houben et al., 2014). Embora a composição e função dos cromossomos B permaneçam desconhecidas em muitos casos, o uso da Hibridação *in situ* Fluorescente (*Fluorescent in situ Hybridization* – FISH) e Sequenciamento de Nova Geração (*Next-generation Sequencing* – NGS) têm possibilitado a caracterização de genes repetitivos e de cópia única (Houben et al., 2014; Makunin et al., 2014) que ajudaram a esclarecer a origem dos cromossomos B (Martins et al., 2012, Yoshida et al., 2011; Trifonov et al., 2013) e sugerem que parte do seu DNA pode ser funcional em algumas espécies, como em *Eyprepocnemis plorans* (Ruiz-Estevez et al., 2012). Outro exemplo é o complexo de espécies *Psalidodon scabripinnis*, em que os cromossomos B apresentam expressão

gênica própria, evidenciando genes relacionados ao ciclo celular e à diferenciação das gônadas (Silva et al., 2022).

O estudo dos cromossomos B mostra as complexas interações coevolutivas que atuam nos organismos e nos seus elementos genéticos e, embora tenha ocorrido diversos avanços na compreensão desses elementos, ainda há muito a investigar sobre suas origens, trajetórias evolutivas, impactos e futuros desenvolvimentos (Camacho, 2005).

Nesse contexto, observam-se nos cromossomos B de animais e plantas os DNAs satélites (satDNAs) como uma das sequências mais predominantes (Mestriner et al., 2000; Martins et al., 2012; Silva et al., 2014; Milani et al., 2018; Dhar et al., 2019; Blavet et al., 2021). Essas sequências repetitivas são propensas a se acumular nos cromossomos B similar ao mecanismo de Muller's *ratchet* (Green, 1990; Camacho et al., 2000; Charlesworth et al., 2005; Plohl et al., 2012), que sugere que pequenas populações assexuadas acumulam mutações deletérias devido ao efeito amplificado da deriva genética e ao aumento da taxa de mutação associado ao reduzido tamanho populacional (Muller, 1964; Howe & Denver, 2008). Além disso, essas sequências têm sido amplamente utilizadas para investigar a função na organização e evolução do genoma (Moraes et al., 2023).

1.2 Sequências repetitivas com ênfase em DNAs satélites

Os genomas de eucariotos apresentam diversas sequências de DNA repetitivo que incluem elementos transponíveis, famílias multigênicas e repetições em tandem (satélites, minissatélites e microssatélites) (Charlesworth & Stephan, 1994; Jurka, et al. 2005; Oliveira, 2020). As sequências de DNA repetitivo são instrumentos importantes para estudos evolutivos devido à concentração de variações que produzem diversas cópias durante o processo evolutivo. Elementos transponíveis e sequências repetidas em tandem frequentemente desempenham um papel importante na evolução de cromossomos B, pois esses elementos normalmente não sofrem recombinação (Camacho et al., 2000). Portanto, compreender essas sequências permite entender a organização e o comportamento evolutivo dos genomas de organismos eucariotos e seus possíveis impactos nos cromossomos (Oliveira, 2020).

Os DNAs satélites são unidades monoméricas com tamanhos variados e repetidas em tandem, organizadas em uma orientação cabeça-a-cauda de forma

sequencial, podendo abranger de dezenas a milhões de repetições. São localizados principalmente na heterocromatina pericentromérica e subtelomérica, mas também pode estar espalhado pelas regiões eucromáticas (Plohl et al., 2012). Anteriormente conhecidos como DNA “lixo”, os satDNAs podem estar relacionados a algumas funções, entre elas centromérica, além de serem um dos principais componentes da heterocromatina, uma região do genoma que permanece quase sempre condensada e com pouca presença de genes (Ruiz-Ruano et al., 2016). Apesar de abundantes nos genomas de organismos eucarióticos, os satDNAs foram pouco estudados até o começo de 2010, o que pode ser atribuído à falta de ferramentas genômicas até aquele momento (Oliveira, 2020; Stornioli et al., 2021).

Com o desenvolvimento de ferramentas bioinformáticas, tornou-se possível a caracterização de catálogos dos satDNAs em espécies de interesse, cujas informações têm contribuído significativamente para a compreensão da evolução de determinadas sequências e do papel dessas sequências na evolução e diferenciação de cromossomos sexuais e supranumerários (Ruiz-Ruano, 2016; Novák et al., 2013; Utsunomia et al., 2016; Stornioli et al., 2021). Por meio da técnica de sequenciamento de nova geração (*Next Generation Sequencing*), têm sido conduzidas diversas análises genômicas em espécies que careciam de estudos prévios, possibilitando a identificação de sequências repetitivas como os satDNAs e, conseqüentemente, sua utilização em diversos estudos, voltados para questões evolutivas, de filogenias e diversidade genômica (Ruiz-Ruano et al., 2016; Moraes et al., 2023; Kretschmer et al., 2024).

O primeiro trabalho a descrever o catálogo de satDNAs (também chamado de satelitoma) utilizando o RepeatExplorer foi de Ruiz-Ruano et al. (2016) para o gafanhoto-migratório (*Locusta migratória*). Até então, os satDNA eram analisados por enzima de restrição e eletroforese, porém essas técnicas apresentavam limitações.

O uso dessas novas ferramentas, aliado à citogenética, permite compreender a organização genômica dos cromossomos, principalmente da fração repetitiva, possibilitando a montagem de bibliotecas de leituras curtas com alta qualidade, mesmo em espécies sem genoma de referência (Toma et al., 2023). Um dos programas que possibilitaram isso é o *RepeatExplorer*, que fornece ferramentas para encontrar sequências repetitivas em genomas, permitindo e auxiliando nas análises comparativas (Oliveira, 2020). Além do mapeamento de regiões repetitivas, outras técnicas como a FISH e a CGH (*Comparative Genomic Hybridization* - Hibridização

genômica comparativa) possibilitam realizar comparações entre diferentes populações, ajudando a evidenciar a evolução de cariótipos em níveis intra e interespecíficos (Toma et al., 2023). Dessa forma, a análise da distribuição do satDNA nos cromossomos A e B por meio da FISH tem fornecido informações valiosas sobre a origem dos cromossomos B em: gafanhotos (Ruiz-Ruano et al. 2017, 2018); peixes (Silva et al. 2017) e de cromossomos sexuais (Utsunomia et al. 2019).

Em peixes, o primeiro satelitoma caracterizado utilizando RepeatExplorer e satMiner foi publicado por Silva et al. (2017) para *Astyanax paranae* (atualmente, *Psalidodon paranae*), utilizando o genoma de indivíduos com e sem cromossomo B mostrando o compartilhamento de DNA satélites entre *P. paranae*, *fasciatus* e *bockmanni*. Após isso, diversos outros trabalhos contribuíram para os estudos de satelitoma em peixes como, por exemplo: *Megaleporinus macrocephalus* onde foram encontrados satélites exclusivos no cromossomo W (Utsunomia, 2019); *Megaleporinus elongatus* onde o acúmulo de satDNAs contribui para a diferenciação do cromossomo sexual W1 (Crepaldi et al., 2021); *Harttia carvalhoi*, o primeiro estudo de satelitoma em Siluriformes, onde foram identificados satélites conservados em cromossomos sexuais e regiões de rearranjos cromossômicos (Deon et al., 2024); em *Triportheus auritus* utilizando seu satelitoma para comparar com outras espécies da mesma família, mostrando um padrão diferente de acúmulo de satDNAs no cromossomo sexual de cada espécie (Kretschmer et al., 2022); *Characidium gomesi* utilizando os satDNA para investigar a origem do cromossomo B (Serrano-Freitas et al., 2020); *P. lineatus* sugerindo origem do B a partir de cromossomo A e identificando famílias de satDNA compartilhadas com *M. macrocephalus* (Stornioli et al., 2021) e; *Colossoma macropomum* e *Piaractus mesopotamicus* evidenciando o compartilhamento de satDNA entre essas espécies (Goes et al., 2022).

Embora o número de estudos envolvendo satDNA vem crescendo e contribuindo para a compreensão desta classe de DNA repetitivo em diversos grupos, especialmente os Characiformes, ainda existem lacunas para alguns grupos que não possuem nenhum satelitoma descrito até o momento. Dessa forma, a localização dos satDNAs nos cromossomos B pode ajudar a esclarecer a evolução desses componentes genéticos, incluindo sua origem e diferenciação.

1.3 Família Curimatidae com ênfase na espécie *Cyphocharax modestus*

Desde então, diversos estudos realizados ao longo de décadas no Brasil vêm contribuindo para a citogenética de peixes Neotropicais, através de descobertas sobre a diversidade cromossômica e genômica desses peixes (Bertollo et al., 2017). Além disso, estudos em diversas populações de *C. modestus* indicaram a presença de cromossomos B variando em número e composição heterocromática (Gravena et al., 2007; Santos et al., 2008; Sampaio et al., 2011; Moraes et al., 2022).

Os peixes representam um dos grupos mais diversos entre os vertebrados, abrangendo espécies que podem ser encontradas em diversos ambientes aquáticos e desempenham um papel fundamental na cadeia trófica como predadores, fonte de alimento e até mesmo recicladores devido ao hábito detritívoro (Carmassi et al., 2008; Moraes et al., 2022; Santos et al., 2008). Cerca de 50% das espécies de peixes neotropicais com cromossomos B pertencem à ordem dos Characiformes e, destes, cerca de 13% são correspondentes a família Curimatidae (Carvalho et al., 2008; Lui et al., 2021). Apresentando 37 espécies válidas, o gênero *Cyphocharax* é o mais diversificado dentro de Curimatidae (Vari et al., 2012; Melo et al., 2014).

Dentro da ordem dos Characiformes, a família Curimatidae (quarta maior família de peixes Characiformes neotropicais detritívoros), engloba 117 espécies distribuídas em 8 gêneros: *Curimata*, *Curimatella*, *Curimatopsis*, *Cyphocharax*, *Potamorhina*, *Psectrogaster*, *Pseudocurimata* e *Steindachnerina* que são amplamente distribuídas nos rios da América Central e América do Sul (Brassesso et al., 2004; Oliveira, 2010; Melo, 2018; Moraes et al., 2022).

Embora apresentem uma complexa história evolutiva, Melo et al. (2018) mostra tanto a monofilia do grupo quanto a posição de gêneros específicos utilizando análises moleculares, onde *Curimatopsis* seria irmã de todos os outros grupos. Além disso, o gênero *Cyphocharax* seria parafilético contendo *Steindachnerina* (monofilético) e *Curimatella* (polifilético). Ainda assim, baseado em análises moleculares, algumas espécies desse gênero mostram uma maior proximidade filogenética entre si, enquanto outras são mais distantes. (Melo et al., 2018).

Citogeneticamente, a maioria das espécies da família Curimatidae apresenta $2n=54$, com o cariótipo majoritariamente composto de cromossomos biarmados (Sampaio et al., 2016), metacêntricos e submetacêntricos. Porém, a presença de cromossomos B vem sendo descrita para diferentes grupos de peixes, incluindo os

Characiformes (Santos et al., 2008), onde algumas espécies de Curimatidae (como em *Cyphocharax gouldingi*, *Cyphocharax spilatus*, *Steindachnerina biornata* e *Steindachnerina insculpta*) também podem apresentar cromossomos supranumerários pequenos (Gravena et al., 2007; Santos et al., 2008; Sampaio et al., 2011, 2015, 2016). Apesar da estabilidade do cariótipo, a presença de cromossomos supranumerários já foi observada em *C. modestus* (Sampaio, 2016; Santos et al., 2008; Oliveira, 2010), onde foram descritos pela primeira vez em 1985 por Venere e Galetti, sendo classificados como heterocromáticos.

Figura 1: Espécime de *C. modestus* coletado no Rio Batalha, pertencente à Bacia do Rio Tietê.



Fonte: Autor.

A espécie *C. modestus* (Fernández-Yépez, 1948), popularmente conhecida como "saguirus", é encontrada na América do Sul e partes da América Central, atingindo no máximo 17 cm de tamanho (Perez, 2014). Esses peixes são presentes na Bacia do Alto Paraná e abundantes em reservatórios de hidrelétricas, sendo importantes na ciclagem de nutrientes devido ao hábito alimentar detritívoro (Carmassi et al., 2008; Perez, 2014; Moraes et al., 2022). Porém, até agora os trabalhos envolvendo esta espécie focam em descrições convencionais usando especialmente dados citogenéticos.

Dessa forma, o estudo dos satDNAs é fundamental para compreender a evolução cromossômica nesta família (Oliveira, 2010). Neste trabalho, foram analisadas duas populações de *C. modestus*, uma do Rio Batalha e outra do Córrego Campo Novo, ambas pertencentes à Bacia do Rio Tietê, integrando citogenética molecular e análises bioinformáticas para revelar a composição e diversificação de cromossomos B nesta espécie.

6 CONCLUSÃO

Ao estudar duas populações alopátricas de *C. modestus*, demonstramos a ocorrência de duas variantes de cromossomos B (B_h e B_e) na população BR. A maior parte do DNA repetitivo presente nessas duas variantes cromossômicas B é compartilhada com os cromossomos A, sugerindo uma origem intraespecífica para eles. Por outro lado, a variante B_e exibe sequências específicas e é altamente divergente da forma B_h .

Portanto, mais pesquisas são necessárias para esclarecer se esses cromossomos B surgiram independentemente de diferentes cromossomos A ou se

tiveram uma origem única antes da diversificação. Estudos futuros devem focar no comportamento meiótico desses cromossomos e nas sequências centroméricas específicas que podem estar relacionadas às vias de acumulação e manutenção desses elementos acessórios.

7 REFERÊNCIAS

- ARTONI, R. F. et al. Banding pattern of A and B chromosomes of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae), with comments on B chromosomes evolution. **Genetica**, v. 127, p. 277-284, 2006.
- BARBOSA, P. et al. Silencing of Transposable Elements Mediated by 5-mC and Compensation of the Heterochromatin Content by Presence of B Chromosomes in *Astyanax scabripinnis*. **Cells**, v. 10, n. 5, p. 1162, 2021.
- BERTOLLO, L. A. C. et al. Contributions to the cytogenetics of the Neotropical fish fauna. **comparative Cytogenetics**, v. 11, p. 665-690, 2017.
- BLAVET, N. et al. Sequence of the supernumerary B chromosome of maize provides insight into its drive mechanism and evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 23, p. e2104254118, 2021.
- BRASSESCO, M. S. Comparative cytogenetic studies of Curimatidae (Pisces, Characiformes) from the middle Paraná River (Argentina). **Genetics and molecular research**, v. 3, p. 293-301, 2004.
- Burt, A. & Trivers, R. L. Genes in Conflict. Belknap Press of Harvard University Press, Boston, MA, 2006.
- CAMACHO, J. P. M.; SHARBEL, T. F.; BEUKEBOOM, L. W. B-chromosome evolution. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: **Biological Sciences**, v. 355, n. 1394, p. 163-178, 2000.
- CAMACHO, J. P. M. B chromosomes. In: **The evolution of the genome**. Academic Press, 2005. p. 223-286.

- CARMASSI, A. L. et al. Population biology of *Cyphocarax modestus* (Osteichthyes, Curimatidae) in the Ribeirão Claro stream, Rio Claro (SP). **Biota Neotropica**, v. 8, p. 109-114, 2008.
- CARVALHO, R. A.; MARTINS-SANTOS, I. C.; DIAS, A. L. B chromosomes: an update about their occurrence in freshwater Neotropical fishes (Teleostei). **Journal of Fish Biology**, v. 72, n. 8, p. 1907-1932, 2008.
- CHARLESWORTH, B.. Model for evolution of Y chromosomes and dosage compensation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 75, n. 11, p. 5618-5622, 1978.
- CHARLESWORTH, B.; SNIEGOWSKI, P.; STEPHAN, W. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. **Nature**, v. 371, n. 6494, p. 215-220, 1994.
- CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B.; MARAIS, G. Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes. **Heredity**, v. 95, n. 2, p. 118-128, 2005.
- CHUMOVÁ, Z.; MANDÁKOVÁ, T.; TRÁVNÍČEK, P. Are B-chromosomes responsible for the extraordinary genome size variation in selected *Anthoxanthum* annuals?. **Plant Systematics and Evolution**, v. 302, p. 731-738, 2016.
- CREPALDI, C. et al. Genomic differences between the sexes in a fish species seen through satellite DNAs. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 728670, 2021.
- D'AMBROSIO, U. et al. B-chrom: a database on B-chromosomes of plants, animals and fungi. **New Phytologist**, v. 216, n. 3, p. 635-642, 2017.
- DANIEL, S. N. et al. Cytogenetic characterization of distinct B chromosomes in a population of the fish *Astyanax bockmanni* (Teleostei, Characiformes). **Caryologia**, v. 65, n. 3, p. 229-233, 2012.
- DE OLIVEIRA, A. M. et al. Satellite DNAs, heterochromatin, and sex chromosomes of the wattled jacana (Charadriiformes; Jacanidae): A species with highly rearranged karyotype. **Genome**, 2024.
- DEON, Geize Aparecida et al. The role of satellite DNAs in the chromosomal rearrangements and the evolution of the rare XY. **Journal of Heredity**, v. 20, p. 1-11, 2024.

- DHAR, M. K.; KOUR, J.; KAUL, S. Origin, behaviour, and transmission of B chromosome with special reference to *Plantago lagopus*. **Genes**, v. 10, n. 2, p. 152, 2019.
- DOS SANTOS, L. P. et al. Chromosomal Instability and Origin of B Chromosomes in the Amazonian Glass Tetra *Moenkhausia oligolepis* (Günther, 1864) (Characiformes, Characidae). **Cytogenetic and Genome Research**, v. 161, n. 5, p. 249-256, 2021.
- DOUGLAS, R. N.; BIRCHLER, James A. B chromosomes. **Chromosome structure and aberrations**, p. 13-39, 2017.
- EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic acids research**, v. 32, n. 5, p. 1792-1797, 2004.
- FORESTI, F. et al. Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 31, n. 3, p. 137-144, 1981.
- GOES, C. A. G. et al. The satellite DNA catalogues of two Serrasalminidae (Teleostei, Characiformes): conservation of general satDNA features over 30 million years. **Genes**, v. 14, n. 1, p. 91, 2022.
- GOTOH, K.. Über die Chromosomenzahl von *Secale cereale*, L. **Shokubutsugaku Zasshi**, v. 38, n. 453, p. en135-en152, 1924.
- GRAVENA, W. et al. Occurrence of B chromosomes in *Cyphocharax modestus* (Fernández-Yépez, 1948) and *Steindachnerina insculpta* (Fernández-Yépez, 1948)(Characiformes, Curimatidae) from the Tibagi River basin (Paraná State, Brazil). **Brazilian journal of biology**, v. 67, p. 905-908, 2007.
- GREEN, D. M. Muller's Ratchet and the evolution of supernumerary chromosomes. **Genome**, v. 33, n. 6, p. 818-824, 1990.
- HARTLEY, G.; O'NEILL, R. J. Centromere repeats: hidden gems of the genome. **Genes**, v. 10, n. 3, p. 223, 2019.
- HOUBEN, A. et al. A monophyletic origin of the B chromosomes of *Brachycome dichromosomatica* (Asteraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 219, p. 127-135, 1999.

- HOUBEN, A.; BANAEI-MOGHADDAM, A.; KLEMME, S. Biology and evolution of B chromosomes. In: **Plant Genome Diversity Volume 2: Physical Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes**. Vienna: Springer Vienna, 2012. p. 149-165.
- HOUBEN, A. et al. Evolution and biology of supernumerary B chromosomes. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, p. 467-478, 2014.
- HOUBEN, A. B chromosomes—a matter of chromosome drive. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 238635, 2017.
- HOWE, D. K.; DENVER, D. R. Muller's Ratchet and compensatory mutation in *Caenorhabditis briggsae* mitochondrial genome evolution. **BMC evolutionary biology**, v. 8, p. 1-13, 2008.
- JONES, N.; HOUBEN, A. B chromosomes in plants: escapees from the A chromosome genome?. **Trends in plant science**, v. 8, n. 9, p. 417-423, 2003.
- JONES, R. Neil; VIEGAS, Wanda; HOUBEN, Andreas. A century of B chromosomes in plants: so what?. **Annals of botany**, v. 101, n. 6, p. 767-775, 2008.
- JONES, R. N. Transmission and drive involving parasitic B chromosomes. **Genes**, v. 9, n. 8, p. 388, 2018.
- JURKA, J. et al. Repbase Update, a database of eukaryotic repetitive elements. **Cytogenetic and genome research**, v. 110, n. 1-4, p. 462-467, 2005.
- KARAFIÁTOVÁ, M. et al. The B chromosome of *Sorghum purpureosericeum* reveals the first pieces of its sequence. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 5, p. 1606-1616, 2021.
- KRETSCHMER, Rafael et al. Satellitome analysis illuminates the evolution of ZW sex chromosomes of Triportheidae fishes (Teleostei: Characiformes). **Chromosoma**, v. 131, n. 1, p. 29-45, 2022.
- KRETSCHMER, R. et al. Satellitome Analysis in the Southern Lapwing (*Vanellus chilensis*) Genome: Implications for SatDNA Evolution in Charadriiform Birds. **Genes**, v. 15, n. 2, p. 258, 2024.
- KUWADA, Yoshinari. On the number of chromosomes in maize. **Shokubutsugaku Zasshi**, v. 39, n. 465, p. en227-en234, 1925.

- LONGLEY, A. E. Supernumerary chromosomes in *Zea mays*. **J Agric Res**, v. 35, p. 769-784, 1927.
- LÓPEZ-LEÓN, M. D. et al. Generating high variability of B chromosomes in *Eyprepocnemis plorans* (grasshopper). **Heredity**, v. 71, n. 4, p. 352-362, 1993.
- LUI, R. L. et al. Possible common origin of B chromosomes in Neotropical fish (Siluriformes, Auchenipteridae) reinforced by repetitive DNA mapping. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p. e21190494, 2021.
- MAKOVA, K. D.; HARDISON, R. C. The effects of chromatin organization on variation in mutation rates in the genome. **Nature Reviews Genetics**, v. 16, n. 4, p. 213-223, 2015.
- MAKUNIN, Alexey I. et al. Genes on B chromosomes of vertebrates. **Molecular cytogenetics**, v. 7, p. 1-10, 2014.
- MARCHIORO, P.; CAMPOS, L. A. O.; LOPES, D. M. First record of a B chromosome in *Polybia fastidiosuscula* Saussure (Vespidae) and investigation of chromatin composition through microsatellite mapping. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 160, n. 11-12, p. 711-718, 2021.
- MARTINS, C.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. *Cyphocharax modesta* (Pisces, Curimatidae). **Cytobios**, v. 85, p. 247-253, 1996.
- MARTIS, M. M. et al. Selfish supernumerary chromosome reveals its origin as a mosaic of host genome and organellar sequences. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 33, p. 13343-13346, 2012.
- MCALLISTER, B. F.; WERREN, J. H. Hybrid origin of a B chromosome (PSR) in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. **Chromosoma**, v. 106, n. 4, p. 243-253, 1997.
- MELO, B. F.; VARI, R. P. New species of *Cyphocharax* (Characiformes: Curimatidae) from the upper rio Negro, Amazon basin. **Neotropical Ichthyology**, v. 12, n. 2, p. 327-332, 2014.
- MELO, B. F. et al. Molecular phylogenetics of Neotropical detritivorous fishes of the family Curimatidae (Teleostei: Characiformes). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 127, p. 800-812, 2018.

- MESTRINER, C. A. et al. Structural and functional evidence that a B chromosome in the characid fish *Astyanax scabripinnis* is an isochromosome. **Heredity**, v. 85, n. 1, p. 1-9, 2000.
- MILANI, D. et al. Out of patterns, the euchromatic B chromosome of the grasshopper *Abracris flavolineata* is not enriched in high-copy repeats. **Heredity**, v. 127, n. 5, p. 475-483, 2021.
- MONTIEL, E. E. et al. Preferential occupancy of R2 retroelements on the B chromosomes of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e91820, 2014.
- MORAES, R. L. R. et al. Tracking the evolutionary trends among small-size fishes of the genus *Pyrrhulina* (Characiforme, Lebiasinidae): New insights from a molecular cytogenetic perspective. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 769984, 2021.
- MORAES, J. N. et al. Karyotype variability in six Amazonian species of the family Curimatidae (Characiformes) revealed by repetitive sequence mapping. **Genetics and Molecular Biology**, v. 45(2), 2022.
- MORAES, R. L. R. et al. Chromosomal Rearrangements and Satellite DNAs: Extensive Chromosome Reshuffling and the Evolution of Neo-Sex Chromosomes in the Genus *Pyrrhulina* (Teleostei; Characiformes). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 17, p. 13654, 2023.
- MOREIRA-FILHO, O.; GALETTI Jr., P. M.; BERTOLLO, L. A. C. B chromosomes in the fish *Astyanax scabripinnis* (Characidae, Tetraodonopterinae): An overview in natural populations. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 106, n. 2-4, p. 230-234, 2004.
- MULLER, H. J. The relation of recombination to mutational advance. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 1, n. 1, p. 2-9, 1964.
- NASCIMENTO, M. et al. PHYLOViZ 2.0: providing scalable data integration and visualization for multiple phylogenetic inference methods. **Bioinformatics**, v. 33, n. 1, p. 128-129, 2017.
- NOVÁK, P. et al. RepeatExplorer: a Galaxy-based web server for genome-wide characterization of eukaryotic repetitive elements from next-generation sequence reads. **Bioinformatics**, v. 29, n. 6, p. 792-793, 2013.

- NOVO, C. L. et al. Satellite repeat transcripts modulate heterochromatin condensates and safeguard chromosome stability in mouse embryonic stem cells. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 3525, 2022.
- OLIVEIRA, C. et al. Increased B chromosome frequency and absence of drive in the fish *Prochilodus lineatus*. **Heredity**, v. 79, n. 5, p. 473-476, 1997.
- OLIVEIRA, C. et al. Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. **Revista Brasileira de Genética**, v. 11, n. 3, p. 577-624, 1988.
- OLIVEIRA, M. R. **Citogenética clássica e molecular de três espécies de curimatídeos, com ênfase no cromossomo B de *Cyphocharax nageii* (Characiformes, Curimatidae)**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), centro de Ciências Biológicas e da saúde, Universidade Federal de São Carlos, 2010.
- OLIVEIRA, M. A. S. **Caracterização genômica de sequências repetitivas em espécies diplóides e poliplóides do gênero *Stylosanthes* Sw.** Dissertação (Mestrado em Agricultura e Ambiente) Universidade Federal de Alagoas – Arapiraca, 2020.
- PANSONATO-ALVES, J. C. et al. Single origin of sex chromosomes and multiple origins of B chromosomes in fish genus *Characidium*. **PLoS One**, v. 9, n. 9, p. e107169, 2014.
- PAULS, E.; BERTOLLO, L. A. C. Evidence for a system of supernumerary chromosomes in *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Pisces, Prochilodontidae). **Caryologia**, v. 36, n. 4, p. 307-314, 1983.
- PEREZ, I. L. B. **Biologia reprodutiva de *Cyphocharax modestus* (Characiformes: Curimatidae) no rio Taquari (alto rio Paranapanema), São Paulo, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Zoologia) Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2014.
- PENITENTE, M. et al. Transmission rate variation among three B chromosome variants in the fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 1371-1377, 2013.
- PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, n. 9, p. 2934-2938, 1986.

- PLOHL, M.; MEŠTROVIĆ, N.; MRAVINAC, B. Satellite DNA evolution. **Repetitive DNA**, v. 7, p. 126-152, 2012.
- RANDOLPH, L. A. Types of supernumerary chromosomes in maize. **Anat. Rec.**, v. 41, p. 102, 1928.
- RANUCCI, L. et al. Occurrence of euchromatic B chromosomes in natural populations of *Moenkhausia bonita* and *M. forestii* (Pisces: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 19, n. 4, p. e210056, 2021.
- ROZAS, J. et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. **Molecular biology and evolution**, v. 34, n. 12, p. 3299-3302, 2017.
- RUBAN, A. et al. How next-generation sequencing has aided our understanding of the sequence composition and origin of B chromosomes. **Genes**, v. 8, n. 11, p. 294, 2017.
- RUIZ-ESTEVEZ, M. et al. B-chromosome ribosomal DNA is functional in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. **PLoS One**, v. 7, n. 5, p. e36600, 2012.
- RUIZ-RUANO, F. J. et al. High-throughput analysis of the satellitome illuminates satellite DNA evolution. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2016.
- RUIZ-RUANO, F. J. et al. Satellite DNA content illuminates the ancestry of a supernumerary (B) chromosome. **Chromosoma**, v. 126, p. 487-500, 2017.
- RUIZ-RUANO, F. J. et al. High-throughput analysis of satellite DNA in the grasshopper *Pyrgomorpha conica* reveals abundance of homologous and heterologous higher-order repeats. **Chromosoma**, v. 127, p. 323-340, 2018.
- SALES-OLIVEIRA, V. et al. Cross-species chromosome painting and repetitive DNA mapping illuminate the karyotype evolution in true crocodiles (Crocodylidae). **Chromosoma**, v. 132, n. 4, p. 289-303, 2023.
- SALES-OLIVEIRA, V. C. et al. Evolution of ancient satellite DNAs in extant alligators and caimans (Crocodylia, Reptilia). **BMC biology**, v. 22, n. 1, p. 47, 2024.

- SAMPAIO, T. R. et al. B microchromosomes in the family Curimatidae (Characiformes): Mitotic and meiotic behavior. **Comparative cytogenetics**, v. 5, p. 301-313, 2011.
- SAMPAIO, Tatiane R. et al. Molecular Analysis of the B Microchromosome in *Steindachnerina insculpta* (Characiformes: Curimatidae) by Microdissection. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 146, n. 1, p. 51-57, 2015.
- SAMPAIO, T. R. et al. Evolutionary trends in the family Curimatidae (Characiformes): Inferences from chromosome banding. **Comparative cytogenetics**, v. 10, p.77-95, 2016.
- SANTOS, L. V. D. R. et al. Identification and description of distinct B chromosomes in *Cyphocharax modestus* (Characiformes, Curimatidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, 2008.
- SANTOS, L. V. R. et al. Identification and description of distinct B chromosomes in *Cyphocharax modestus* (Characiformes, Curimatidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, p. 265-269, 2008.
- SEMBER, A. et al. Sex chromosome evolution and genomic divergence in the fish *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae). **Frontiers in genetics**, v. 9, p. 71, 2018.
- SERRANO-FREITAS, E. A. et al. Satellite DNA content of B chromosomes in the characid fish *Characidium gomesi* supports their origin from sex chromosomes. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 295, p. 195-207, 2020.
- SILVA, D. M. Z. A. et al. Delimiting the origin of a B chromosome by FISH mapping, chromosome painting and DNA sequence analysis in *Astyanax paranae* (Teleostei, Characiformes). **PLoS One**, v. 9, n. 4, p. e94896, 2014.
- SILVA, D. M. Z. A. et al. High-throughput analysis unveils a highly shared satellite DNA library among three species of fish genus *Astyanax*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 12726, 2017.
- SILVA, D. M. Z. A. et al. Long-term persistence of supernumerary B chromosomes in multiple species of *Astyanax* fish. **BMC biology**, v. 19, p. 1-17, 2021.
- SILVA, D. M. Z. A. et al. B chromosomes in *Psalidodon scabripinnis* (characiformes, characidae) species complex. **Animals**, v. 12, n. 17, p. 2174, 2022.

STORNIOLI, J. H. F. et al. The B Chromosomes of *Prochilodus lineatus* (Teleostei, Characiformes) Are Highly Enriched in Satellite DNAs. **Cells**, v. 10, p. 1527, 2021.

STORNIOLI, J. H. F. **Caracterização do satelitoma de *Prochilodus lineatus* (Teleostei, Characiformes) e a diferenciação de cromossomos B.** Dissertação (Mestrado em Biociências) - Faculdade de Ciências e Letras, Assis, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2021.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Exp. Cell Res.** 75:304-306, 1972.

TALBERT, P. B.; HENIKOFF, S. What makes a centromere?. **Experimental Cell Research**, v.389, n. 2, p. 111895, 2020.

TOMA, G. A. et al. Cytogenetics meets genomics: cytotaxonomy and genomic relationships among color variants of the Asian Arowana *Scleropages formosus*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 10, p. 9005, 2023.

TRIFONOV, V. A. et al. Supernumerary chromosomes, segmental duplications, and evolution. **Russian Journal of Genetics**, v. 46, p. 1094-1096, 2010.

TRIFONOV, V. A. et al. Transcription of a protein-coding gene on B chromosomes of the Siberian roe deer (*Capreolus pygargus*). **BMC biology**, v. 11, p. 1-11, 2013.

URDAMPILLETA, J. D. et al. Molecular and cytogenetic characterization of an AT-rich satellite DNA family in *Urvillea chacoensis* Hunz.(Paullinieae, Sapindaceae). **Genetica**, v. 136, p. 171-177, 2009.

UTSUNOMIA, Ricardo et al. Uncovering the ancestry of B chromosomes in *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Teleostei, Characidae). **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0150573, 2016.

UTSUNOMIA, R. et al. Satellitome landscape analysis of *Megaleporinus macrocephalus* (Teleostei, Anostomidae) reveals intense accumulation of satellite sequences on the heteromorphic sex chromosome. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 5856, 2019.

VALENTE, G. T. et al. B chromosomes: from cytogenetics to systems biology. **Chromosoma**, v. 126, p. 73-81, 2017.

- VARI, R. P.; SIDLAUSKAS, B. L.; LE BAIL, P. New species of *Cyphocharax* (Ostariophysi: Characiformes: Curimatidae) from Suriname and French Guiana and a discussion of curimatid diversity on the Guiana Shield. **Cybium**, 2012.
- VENERE, P. C, GALETTI, Jr. P. M. Natural triploidy and chromo-some B in the fish *Curimata modesta* (Curimatidae, Characi-formes). **Braz. J. Genet.**, 7: 681- 687, 1985.
- VENERE, P. C.; GALLETTI, Jr. P. M. Chromosome evolution and phylogenetic relationships of some Neotropical Characiformes of the family Curimatidae. **Rev. bras. genét**, p. 17-25, 1989.
- VENERE, P. C. et al. Recent chromosome diversification in the evolutionary radiation of the freshwater fish family Curimatidae (Characiformes). **Journal of Fish Biology**, v. 72, n. 8, p. 1976-1989, 2008.
- VIDAL, J. A. D. et al. Giant Sex Chromosomes in Omophoita Species (Coleoptera, Chrysomelidae): Structural and Evolutionary Relationships Revealed by Zoo-FISH and Comparative Genomic Hybridization (CGH). **Insects**, v. 14, n. 5, p. 440, 2023.
- WANG, J.; JIA, S. T.; JIA, S. New insights into the regulation of heterochromatin. **Trends in Genetics**, v. 32, n. 5, p. 284-294, 2016.
- WILSON, Edmund B. Note on the chromosome-groups of *Metapodius* and *Banasa*. **The Biological Bulletin**, v. 12, n. 5, p. 303-313, 1907.
- YANG, F.; GRAPHODATSKY, A. S. Animal probes and ZOO-FISH. **Fluorescence in situ hybridization (FISH)—application guide**, p. 323-346, 2009.
- YANO, C. F.; BERTOLLO, L. A. C.; CIOFFI, M. B. Fish-FISH: Molecular cytogenetics in fish species. **Fluorescence in situ hybridization (FISH) application guide**, p. 429-443, 2017.
- YOSHIDA, K. et al. B chromosomes have a functional effect on female sex determination in Lake Victoria cichlid fishes. **PLoS genetics**, v. 7, n. 8, p. e1002203, 2011.

8 INFORMAÇÕES SUPLEMENTAR

Tabela S1. Principais características dos 116 satDNAs encontrados em *C. modestus*.

S.F	Família de satDNA	A+T (%)	Abundância 3B	Abundância 0B	Abundância 3B/0B	Divergência 0B	Divergência 3 B
	CmoSat01-192	64.1	0.015	0.013	1.18	5.61	5.7
5	CmoSat02-108	52.8	0.014	0.013	1.05	12.75	12.63
	CmoSat03-74	52.7	0.007	0.008	0.89	7.42	7.78
1	CmoSat04-187	64.7	0.007	0.004	1.90	6.89	7.01
	CmoSat05-41	65.9	0.004	0.003	1.42	8.94	8.56
6	CmoSat06-317	57.7	0.002	0.002	1.18	4.7	4.68
	CmoSat07-191	59.2	0.002	0.002	1.16	8.17	8.3
1	CmoSat08-41	61.0	0.002	0.001	3.31	7.52	4.91
5	CmoSat09-772	58.9	0.002	0.002	0.99	8.35	8.31
	CmoSat10-33	72.7	0.002	0.001	2.11	11.19	10.37
7	CmoSat11-64	53.1	0.002	0.002	0.72	6.21	6.41
	CmoSat12-20	60.0	0.001	0.002	0.81	13.72	14.76

4	CmoSat13-2520	62.7	0.001	0.001	0.98	11.51	11.37
6	CmoSat14-158	49.4	0.001	0.001	0.94	16.36	16.4
	CmoSat15-65	64.6	0.001	0.001	1.11	5.22	5.28
	CmoSat16-36	58.3	0.001	0.001	1.00	8.38	8.63
	CmoSat17-42	57.1	0.001	0.001	0.76	13.6	14.02
	CmoSat18-31	51.6	0.001	0.002	0.65	4.29	4.78
	CmoSat19-647	52.9	9.72E-04	1.07E-03	0.91	18.68	18.97
	CmoSat20-50	40.0	9.26E-04	1.05E-03	0.88	7.42	7.57
	CmoSat21-34	58.8	8.99E-04	8.88E-04	1.01	12.52	13.19
	CmoSat22-40	52.5	8.77E-04	1.54E-03	0.57	19.55	19.63
	CmoSat23-1043	41.8	8.34E-04	9.91E-04	0.84	10.39	10.18
	CmoSat24-41	48.8	6.84E-04	7.82E-04	0.87	9.28	9.45
	CmoSat25-41	68.3	6.48E-04	4.97E-04	1.30	24.16	23.43
	CmoSat26-30	46.7	6.29E-04	8.49E-04	0.74	13.93	13.93
	CmoSat27-72	62.5	6.21E-04	4.77E-04	1.30	8.14	7.55

	CmoSat28-43	53.5	5.92E-04	7.08E-04	0.84	4.8	5.29
	CmoSat29-87	56.3	5.80E-04	5.91E-04	0.98	6.26	6.39
	CmoSat30-52	55.8	5.11E-04	4.82E-04	1.06	14.45	14.88
	CmoSat31-66	60.6	5.02E-04	2.96E-04	1.70	10.52	10.36
	CmoSat32-39	53.8	5.00E-04	6.02E-04	0.83	10.06	10.36
8	CmoSat33-23	73.9	3.79E-04	3.31E-04	1.15	13.29	12.86
	CmoSat34-130	50.0	3.79E-04	6.90E-04	0.55	11.23	11.14
7	CmoSat35-36	69.4	3.72E-04	6.04E-04	0.62	7.01	8.55
3	CmoSat36-182	50.5	3.72E-04	1.74E-04	2.14	5.84	5.97
	CmoSat37-43	30.2	3.68E-04	9.22E-04	0.40	8.76	8.69
	CmoSat38-991	62.1	3.67E-04	3.21E-04	1.14	7.9	8.01
	CmoSat39-67	61.2	3.64E-04	3.06E-04	1.19	14.2	13.82
2	CmoSat40-31	54.8	3.59E-04	5.45E-04	0.66	11.43	11.28
	CmoSat41-100	56.0	3.56E-04	4.25E-04	0.84	18.11	18.2
	CmoSat42-21	71.4	3.51E-04	3.14E-04	1.12	9.13	9.42

3	CmoSat43-22	59.1	3.41E-04	1.57E-04	2.18	9.27	9.47
10	CmoSat44-30	56.7	3.38E-04	3.77E-04	0.90	14.8	14.83
10	CmoSat45-44	52.3	3.37E-04	9.43E-05	3.57	9.75	6.05
8	CmoSat46-48	52.1	2.76E-04	2.93E-04	0.94	7.41	7.64
	CmoSat47-947	65.3	2.65E-04	2.43E-04	1.09	2.67	2.47
	CmoSat48-61	54.1	2.63E-04	2.68E-04	0.98	6.17	6.06
	CmoSat49-938	51.5	2.58E-04	1.93E-04	1.33	2.67	2.45
6	CmoSat50-1638	53.1	2.50E-04	1.73E-04	1.44	0.82	1.03
10	CmoSat51-308	53.6	2.45E-04	3.07E-04	0.80	6.58	7.78
	CmoSat52-183	57.4	2.43E-04	4.40E-05	5.53	7.39	4.27
10	CmoSat53-56	53.6	2.30E-04	9.95E-05	2.31	11.07	4.91
	CmoSat54-53	58.5	2.28E-04	3.28E-04	0.70	8.13	8.94
	CmoSat55-49	59.2	2.20E-04	2.80E-04	0.79	8.25	8.32
	CmoSat56-166	51.2	2.08E-04	5.64E-04	0.37	6.47	8.96
10	CmoSat57-245	51.8	1.99E-04	1.60E-04	1.24	6.51	6.46

10	CmoSat58-47	44.7	1.90E-04	5.56E-06	34.14	4.93	3.28
	CmoSat59-853	59.2	1.87E-04	1.55E-04	1.20	14.05	13.75
8	CmoSat60-28	57.1	1.78E-04	2.33E-04	0.77	5.69	6.08
	CmoSat61-38	55.3	1.71E-04	1.48E-04	1.16	8.08	7.49
9	CmoSat62-42	64.3	1.67E-04	2.21E-04	0.76	5.9	6.13
7	CmoSat63-32	65.6	1.66E-04	1.52E-04	1.10	10.39	10.35
4	CmoSat64-664	55.0	1.64E-04	1.44E-04	1.14	4.33	4.31
	CmoSat65-695	51.8	1.63E-04	2.44E-04	0.67	4.03	5.99
	CmoSat66-60	56.7	1.55E-04	1.36E-04	1.15	8.15	7.91
	CmoSat67-140	47.9	1.53E-04	6.80E-05	2.25	3.86	3.7
	CmoSat68-408	57.6	1.47E-04	1.21E-04	1.22	12.46	11.82
10	CmoSat69-213	54.0	1.45E-04	1.18E-04	1.23	5.19	5.35
	CmoSat70-776	54.5	1.45E-04	1.11E-04	1.31	9.76	10.73
10	CmoSat71-68	63.2	1.42E-04	1.23E-04	1.16	12.05	11.31
10	CmoSat72-164	58.5	1.36E-04	1.39E-04	0.98	6.87	6.77

	CmoSat73-36	41.7	1.34E-04	1.71E-04	0.78	7.76	7.62
	CmoSat74-31	54.8	1.33E-04	2.73E-05	4.86	5.82	5.34
	CmoSat75-71	60.6	1.32E-04	1.26E-04	1.04	9.02	8.99
	CmoSat76-16	50.0	1.31E-04	1.93E-04	0.68	7.8	8.25
	CmoSat77-748	56.8	1.30E-04	1.09E-04	1.19	2.58	2.1
	CmoSat78-20	55.0	1.29E-04	3.15E-04	0.41	6.44	7.39
	CmoSat79-843	52.7	1.27E-04	1.12E-04	1.13	1.87	2.4
10	CmoSat80-654	48.5	1.25E-04	1.30E-04	0.97	5.89	5.36
	CmoSat81-240	38.3	1.20E-04	1.36E-04	0.88	9.75	10.25
	CmoSat82-37	56.8	1.16E-04	1.22E-04	0.95	4.42	4.36
	CmoSat83-195	51.8	1.15E-04	1.02E-04	1.12	5.37	5.75
	CmoSat84-22	50.0	1.14E-04	2.21E-04	0.52	6.02	6.03
	CmoSat85-48	50.0	1.13E-04	2.30E-04	0.49	6.82	8.24
	CmoSat86-126	55.6	1.11E-04	9.04E-05	1.23	8.27	8.37
	CmoSat87-1128	56.1	1.09E-04	1.00E-04	1.09	3.41	3.71

	CmoSat88-172	48.8	1.07E-04	8.34E-05	1.28	8.57	7.55
	CmoSat89-1371	53.1	1.04E-04	9.00E-05	1.15	1.74	1.36
	CmoSat90-23	56.5	1.03E-04	1.17E-04	0.88	9.26	10.39
	CmoSat91-20	55.0	9.42E-05	1.73E-04	0.55	14.95	16.64
	CmoSat92-628	53.7	9.39E-05	7.02E-05	1.34	2.78	2.45
	CmoSat93-48	56.3	9.05E-05	1.47E-04	0.62	6.46	6.79
	CmoSat94-39	56.4	9.01E-05	8.28E-05	1.09	6.43	6.65
	CmoSat95-48	47.9	8.84E-05	2.00E-04	0.44	5.74	7.79
	CmoSat96-232	41.8	8.33E-05	9.40E-05	0.89	2.24	2.34
	CmoSat97-126	54.0	8.31E-05	1.40E-04	0.59	7.45	6.82
	CmoSat98-47	40.4	8.31E-05	1.83E-04	0.45	4.73	5.05
	CmoSat99-37	45.9	8.07E-05	1.46E-04	0.55	3.77	4.27
9	CmoSat100-46	58.7	7.84E-05	6.76E-05	1.16	4.82	4.57
	CmoSat101-694	48.3	7.64E-05	7.35E-05	1.04	1.51	1.24
	CmoSat102-25	56.0	7.46E-05	2.50E-04	0.30	10.27	12.61

10	CmoSat103-39	51.3	6.28E-05	1.79E-04	0.35	9.14	12.11
9	CmoSat104-30	53.3	5.79E-05	1.43E-04	0.40	6.68	7.44
	CmoSat105-20	65.0	5.17E-05	1.66E-04	0.31	4.12	5.83
	CmoSat106-582	61.2	5.04E-05	5.93E-05	0.85	1.78	1.94
	CmoSat107-31	41.9	4.82E-05	1.28E-04	0.38	5.35	5.83
	CmoSat108-30	56.7	4.42E-05	1.11E-04	0.40	10.68	12.83
	CmoSat109-228	52.2	4.42E-05	9.03E-05	0.49	9.06	9.16
	CmoSat110-434	52.3	4.19E-05	3.96E-05	1.06	0.81	0.77
	CmoSat111-18	44.4	3.58E-05	3.11E-04	0.11	8	9.15
	CmoSat112-23	52.2	3.35E-05	1.04E-04	0.32	7.47	8.54
	CmoSat113-350	38.6	3.06E-05	9.74E-05	0.31	9.12	12.98
	CmoSat114-860	52.7	2.96E-05	8.79E-05	0.34	1.95	2.4
	CmoSat115-319	52.7	2.78E-05	2.78E-05	1.00	2.45	2.94
	CmoSat116-755	57.6	2.49E-05	1.60E-04	0.16	1.72	8.51

Fonte: Elaborado pelo Autor.

S.F: superfamília.

Tabela S2. *Primers* de CmoSatDNAs desenhados no presente estudo.

Família de satDNA	Primer F	Primer R
CmoSat01-192	GTTTTTGCAGGTTCCAGTTGTT	TGCCTGTAGTTCAACCCCAA
CmoSat02-108	GGCGTCCTAGGGCATTACAA	CTGTTTCCCACGCTCTTAGA
CmoSat03-74	CCACATAGCGCTACATAACAC	CAGTGCTATATACTCCACCTG
CmoSat04-187	CCAAATATGTAAGAGCCATCC	GAACTCATCTCAAGCTTTTCAG
CmoSat05-41*	CATTAAGTGAAGAACAATCGTGC	AGAACAATCGTGCTAACTCTGC
CmoSat06-319	GCTTGTCTCTGTTGAAGGGC	TCAGTGTCTCTCCTTGGCTT
CmoSat07-191	GACCTAGGGTTAATGTTACAG	TAACCATAACCCTAGCTGTAAC
CmoSat08-41**	AGTATAGAACAGTACAGACT	CTCTCCTGAGGTAGTTATTA
CmoSat09-772	TTCCTGTTGGGCGGAGCTAA	GGTGGGAATGTAAAAGTCGTC
CmoSat11-64	ACTGTAATGTGCCACCAGGT	CATGCTATGTGACAGTGCTG
CmoSat31-66	CGCATTGTACACTTTCCCACT	CCCTCTAGTGGACTTTATTTGA
CmoSat36-182	GTCTACTACTTGTCTTCTACCA	CCTCCTTTAGAGCGGTGTG
CmoSat37-43	TCAGAGCGCAGCAGTGTTTCGC	GCCGAGGACGAGCGAGGGA
CmoSat45-44*	GACACTGTACAGAACCGTTAC	TGGTAGAGAGGTGAAGGAAC
CmoSat52-183	TATTTTCATGGGCCTGCTGACC	TGTGGTTAAGCTGTGCCTATTA
CmoSat53-56	AGAGTCTTATAGCAGCAGGA	ATAACCAGTCTCCATACTG
CmoSat56-166	TTAGAGCTACGAATAGGTCTG	CCCTAACCCTAGCTCCAG
CmoSat58-47	GTGGGTGATGTACAGGTC	CACTGATCTACAGCCAGAGT
CmoSat67-140	GAGGTGAAGTGCGAGGGTCT	CACCACCACCTCCCTTAGT

Fonte: Elaborado pelo Autor.

*Não amplificado na PCR.