

RESSALVA

Atendendo solicitação da
autora, o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 29/08/2027.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

**CROMOSSOMO B EM *Drosophila melanogaster*:
COMPOSIÇÃO, MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS E
IMPACTO NA EXPRESSÃO DO GENOMA NA LINHAGEM GERMINATIVA**

ANA BEATRIZ STEIN MACHADO FERRETTI

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

**CROMOSSOMO B EM *Drosophila melanogaster*:
COMPOSIÇÃO, MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS E
IMPACTO NA EXPRESSÃO DO GENOMA NA LINHAGEM GERMINATIVA**

ANA BEATRIZ STEIN MACHADO FERRETTI

Tese apresentada ao Instituto de Biotecnologia do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

Orientador: Dr. Diogo Cavalcanti Cabral de Mello
Coorientadora: Dra. Maria Dulcetti Vibriani

**Rio Claro – SP
2025**

F387c	Ferretti, Ana Beatriz Stein Machado Cromossomo B em <i>Drosophila melanogaster</i> : composição, modificações epigenéticas e impacto na expressão do genoma na linhagem germinativa / Ana Beatriz Stein Machado Ferretti. -- Rio Claro, 2025 103 f. : il., tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro Orientador: Diogo Cavalcanti Cabral de Mello Coorientadora: Maria Dulcetti Vibranovski 1. DNA repetitivo. 2. Elementos de transposição. 3. Transcrição. 4. Gametogênese. 5. DNA satélite. I. Título.
-------	---

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CROMOSSOMO B EM DROSOPHILA MELANOGASTER: COMPOSIÇÃO, MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS E IMPACTO NA EXPRESSÃO DO GENOMA NA LINHAGEM GERMINATIVA

AUTORA: ANA BEATRIZ STEIN MACHADO FERRETTI

ORIENTADOR: DIOGO CAVALCANTI CABRAL DE MELLO

COORDINADORA: MARIA DULCETTI VIBRANOVSKI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. DIOGO CAVALCANTI CABRAL DE MELLO (Participação Presencial)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / UNESP Instituto de Biociências de Rio Claro SP

Profa. Dra. JORDANA INÁCIO NASCIMENTO OLIVEIRA (Participação Virtual)
Department of Biology - Faculty of Science / University of Ottawa

Prof. Dr. OCTAVIO MANUEL PALACIOS GIMÉNEZ (Participação Virtual)
Institute of Ecology and Evolution / Friedrich Schiller University Jena

Prof. Dr. SEBASTIAN PITA (Participação Virtual)
Sección Genética Evolutiva - Facultad de Ciencias / Universidad de la República - Montevideo

Profa. Dra. PATRICIA PASQUALI PARISE MALTEMPI (Participação Presencial)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

Rio Claro, 29 de agosto de 2025.

Agradecimentos

Este trabalho representa mais do que o final de uma etapa acadêmica; carrega aprendizados, desafios e encontros que me transformaram ao longo do caminho. Essa jornada só foi possível porque muitas pessoas caminharam ao meu lado. A todas elas, meu mais profundo agradecimento.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Diogo C. Cabral de Mello, pela confiança, paciência e valiosas orientações científicas e humanas. Sua escuta atenta, ética e dedicação foram fundamentais para a concretização deste trabalho e para meu crescimento como pesquisadora. À minha coorientadora, Maria D. Vibranovski, sou grata pelas contribuições, rigor científico e pela inspiradora oportunidade do intercâmbio na Arizona State University. À colaboradora Stacey Hanlon, sem a qual este trabalho sequer teria se iniciado, meu profundo agradecimento, estendendo também à Josefa Gonzales. Ambas, com suas colaborações e acolhimento no exterior, foram essenciais para minha formação. Agradeço também a todos os colegas do laboratório, em especial às queridas Vanessa, Ana Elisa, Rhavenna e demais membros, pela ajuda, companheirismo e amizade que tornaram o caminho mais leve e enriquecedor. Levo comigo não só o aprendizado técnico, mas também as amizades que floresceram.

À minha família, minha base firme, amor e apoio constantes, meu sincero agradecimento. Obrigada por acreditarem em mim mesmo quando duvidava e por estarem sempre ao meu lado, mesmo de longe. À minha avó Beth, que nos deixou durante essa caminhada, minha homenagem mais sentida; sua força e sabedoria seguem comigo, presentes em cada conquista. Este trabalho é também para ela. Sou profundamente grata a todos os amigos que estiveram ao meu lado ao longo desta jornada; cada conversa, abraço e risada foram fundamentais para manter meu ânimo e coração aquecidos durante esse processo. Ao meu companheiro, João, que chegou mais ao final da trajetória, agradeço pelo incentivo e pela inspiração para conclusão dessa etapa.

Agradeço ainda a Universidade Estadual Paulista e o Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, Molecular e Microbiologia (UNESP – Rio Claro).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processo nº 2020/06188-5, 2022/06509-1 e 2015/16661-1. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do(s) autor(es) e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

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

"Aqueles que passam por nós não vão sós, deixam um pouco de si, levam um pouco de nós."

Antoine de Saint-Exupéry, O Pequeno Príncipe

RESUMO

Cromossomos B são elementos genômicos extras, não essenciais, presentes em diversas espécies, incluindo *Drosophila melanogaster*. Nesta espécie, os Bs são predominantemente heterocromáticos e originados do cromossomo 4. Apesar dos estudos conduzidos sobre os Bs dessa espécie, muitas questões permanecem inexploradas. Nesta tese, foi caracterizado a composição molecular dos cromossomos B de *D. melanogaster*, além de seus padrões de modificações epigenéticas e sua influência na transcrição global do genoma. Foram identificadas 13 famílias de DNAs satélites (DNAsats) no genoma, incluindo três novas sequências (Sat-307, Sat-597 e Sat-228). Análises citogenômicas e genômicas indicaram enriquecimento de variantes específicas (*AAGAT*, *AAGAG*, *dodeca-2* e *AAGAGAAGAT*) nos Bs. Embora elementos transponíveis (TEs) como *G2_Jockey* também estejam presentes, sua abundância nos cromossomos Bs foi menor em comparação aos DNAsats. Análises de epigenéticas a nível celular revelaram que os Bs permanecem transcricionalmente inativos em tecidos somáticos e germinativos masculinos, com ausência de RNA polimerase II e acetilação e enriquecimento em marcas de repressão.

A influência dos cromossomos B na linhagem germinativa foi investigada em testículos e ovários de genótipos com diferentes históricos de herança deste cromossomo (perda e ganho). Foram identificadas alterações na transcrição de genes codificantes (CDSs), RNAs não codificantes (ncRNAs) e TEs. Na primeira geração, observou-se uma resposta transcricional nos TEs, embora sem efeitos acumulativos nas gerações subsequentes. Em contraste, os efeitos sobre CDSs e ncRNAs foram progressivos, com impacto mais pronunciado após 30 gerações. A expressão diferencial apresentou alguns padrões cromossomo-específicos, incluindo a ativação preferencial de genes no cromossomo X e repressão no cromossomo 4, possivelmente associadas à redistribuição de heterocromatina. Notavelmente, o genótipo que perdeu os Bs ao longo das gerações apresentou maior instabilidade transcricional, sugerindo respostas genômicas distintas entre linhagens expostas à presença ou ausência desses cromossomos.

Os resultados mostram que os B cromossomos, surgidos recentemente no genoma de *D. melanogaster*, mesmo sendo repetitivos, transcricionalmente inativos e desprovidos de genes completos, podem modular a arquitetura epigenética e a expressão gênica de forma dinâmica. Esses achados avançam a compreensão dos impactos funcionais e evolutivos dinâmicos dos cromossomos supranumerários, revelando mecanismos de resposta genômica frente à inserção de novos elementos.

Palavras-chave: DNA satélite, elementos de transposição, expressão gênica, gametogênese

ABSTRACT

B chromosomes are extra, non-essential genomic elements found in various species, including *Drosophila melanogaster*. In this species, B chromosomes are predominantly heterochromatic and originated from chromosome 4. Despite previous studies on Bs in this species many aspects remain unexplored. In this thesis, the molecular composition of the B chromosomes in *D. melanogaster* was characterized, along with their epigenetic modification patterns and influence on global genome transcription. A total of 13 satellite DNA (satDNA) families were identified in the genome, including three novel sequences (Sat-307, Sat-597, and Sat-228). Cytogenomic and genomic analyses indicated enrichment of specific variants (*AAGAT*, *AAGAG*, *dodeca-12*, and *AAGAGAAGAT*) on the B chromosomes. Although transposable elements (TEs), such as *G2_Jockey*, were also detected, their abundance on the B chromosomes was lower compared to satDNAs. Cell-level epigenetic analyses revealed that B chromosomes remain transcriptionally inactive in both somatic and male germline tissues, showing absence of RNA polymerase II and acetylation marks, along with enrichment in repressive histone modifications.

The influence of B chromosomes on the germline was investigated in testes and ovaries of genotypes with distinct histories of B chromosome inheritance (gain or loss). Alterations in the transcription of coding genes (CDSs), non-coding RNAs (ncRNAs), and TEs were identified. In the first generation, a transcriptional response involving TEs was observed, although no cumulative effects were detected in subsequent generations. In contrast, effects on CDSs and ncRNAs were progressive, with a more pronounced impact after 30 generations. Differential expression revealed some chromosome-specific patterns, including preferential activation of genes on the X chromosome and repression on chromosome 4, possibly associated with heterochromatin redistribution. Notably, the genotype that lost Bs over generations exhibited greater transcriptional instability, suggesting distinct genomic responses depending on the long-term presence or absence of B chromosomes. These results demonstrate that B chromosomes, although recently emerged in the *D. melanogaster* genome and composed mainly of repetitive, transcriptionally inactive sequences without intact genes, can dynamically modulate epigenetic architecture and gene expression. These findings enhance our understanding of the functional and evolutionary impacts of supernumerary chromosomes, revealing mechanisms of genomic response to the insertion of novel chromosomal elements.

Key-words: satellite DNA, transposable elements; gene expression; gametogenesis

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
1.1. Cromossomos Bs: características gerais.....	7
1.2. Modelos evolutivos para a manutenção dos cromossomos B	11
1.3. Cromossomos B em <i>Drosophila melanogaster</i>	13
1.4. Efeitos epigenéticos dos cromossomos B e o modelo de <i>heterochromatin sink</i>	16
1.5. Espermatogênese e oogênese em <i>Drosophila melanogaster</i>	17
2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	21
2.1. Objetivo geral.....	21
2.2. Objetivos específicos.....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4. CAPÍTULO 1: Comparative genomic analysis and epigenetic profiling of the <i>D. melanogaster</i> B chromosome.....	24
4.1. Abstract	25
4.2. Introduction	26
4.3. Materials and methods.....	28
4.4. Results.....	32
4.5. Discussion	37
4.6. Conclusion	40
4.7. References.....	41
4.8. Figures	48
4.9. Tables	52
4.10. Supplementary Material	54
5. CAPÍTULO 2: Generational transcriptomic impacts of B chromosome gain and loss in the <i>Drosophila</i> germline	64
5.1. Abstract	65
5.2. Introduction	66
5.3. Material and methods	68
5.4. Results.....	71
5.5. Discussion	76
5.6. Conclusion	80
5.7. References.....	80
5.8. Figures	86
5.9. Tables	90
5.10. Supplementary Material	91
6. CONCLUSÕES FINAIS.....	94
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

1. INTRODUÇÃO

1.1. Cromossomos Bs: características gerais

Para todas as espécies o conjunto de cromossomos essenciais carregam os genes necessários para o metabolismo, desenvolvimento e reprodução dos organismos, e juntos formam o complemento A, que inclui os cromossomos autossômicos e em diversas espécies também os cromossomos sexuais. Entretanto, em várias espécies foi documentado a existência de um ou mais cromossomos extras, também conhecidos como supranumerários ou cromossomos B (FERREE *et al.*, 2024; HOUBEN *et al.*, 2025; RANDOLPH, 1928; WILSON, 1907). Esses cromossomos já foram detectados em cerca de 15% dos eucariotos, abrangendo animais, plantas e fungos (BEUKEBOOM, 1994; BORISOV; MYSHLIAVKINA, 2019). Ainda assim, o número exato de espécies que possuem cromossomos B permanece incerto, pois muitas delas ainda não têm seus cariótipos completamente definidos. Além disso, em várias situações, os estudos citogenéticos foram realizados com um número limitado de indivíduos, sem uma abordagem populacional ampla, o que pode ter levado a uma subestimação da real incidência dos cromossomos Bs (D'AMBROSIO *et al.*, 2017).

Os cromossomos B foram historicamente descritos como cromossomos parasitas, uma vez que persistem nos genomas sem apresentar benefícios mensuráveis ao hospedeiro. Também foram classificados como elementos genômicos egoístas, por obterem vantagens na transmissão e conseguirem manter-se nas populações, muitas vezes apresentando padrões de herança não mendelianos, com taxas de transmissão superiores aos 50% esperados para os cromossomos ordinários (FERREE *et al.*, 2024; HOUBEN *et al.*, 2025).

Os cromossomos Bs geralmente se originam intraespecificamente (embora pode ser originado de hibridização entre espécies – interespecificamente) de segmentos dos próprios cromossomos do complemento A (**Figura 1**), por meio de eventos como duplicações ou quebras cromossômicas seguidas de reestruturações ou ainda por processos de translocação (BORISOV; MYSHLIAVKINA, 2019; FERREE *et al.*, 2024; HOUBEN *et al.*, 2025). Logo após sua formação, os Bs são denominados *proto*-Bs, e tendem a acumular características que os diferenciam estrutural e funcionalmente dos cromossomos A, uma vez que normalmente não se recombina com esses, o que lhes permite seguir um caminho evolutivo próprio, sob menor pressão seletiva. Isso leva ao acúmulo e à diferenciação do conteúdo molecular, impulsionados por mutações e inserções, principalmente de elementos repetitivos, mas também de outras sequências, além da aquisição de mecanismos que favorecem sua própria transmissão, como o

drive meiótico. Esses processos reforçam o caráter dinâmico dos Bs e explicam, ao menos em parte, sua persistência nos genomas hospedeiros. No entanto, considerando-se que elementos genômicos não essenciais tendem a ser eliminados ao longo do tempo, uma questão intrigante permanece: por que e como os cromossomos B persistem nos genomas? (AHMAD; MARTINS, 2019; BENETTA; AKBARI; FERREE, 2019; CAMACHO, 2005; HOUBEN, 2017).

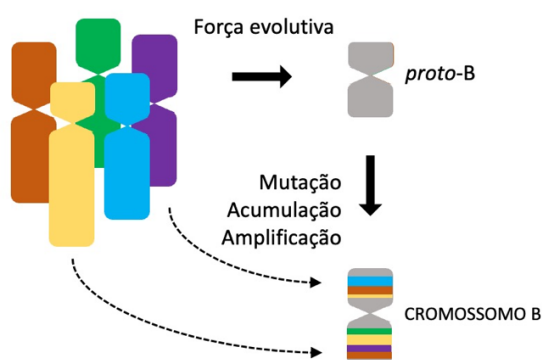


Figura 1. Modelo evolutivo do cromossomo B. Forças evolutivas levando a formação do cromossomo *proto-B*. O acúmulo de mutações, a amplificação de sequências repetitivas e a incorporação de fragmentos genômicos adicionais levam à formação de um cromossomo B funcional (Figura baseada em Houben 2017 e em Ahmad e Martins 2019).

A composição molecular dos cromossomos B inclui tanto sequências codificantes quanto não codificantes, que podem ter sido herdadas do cromossomo A ancestral de onde se originaram ou adquiridas posteriormente, ao longo de sua evolução. Essa aquisição pode ocorrer por meio de mecanismos como transposição de elementos móveis (TEs), recombinação intercromossômica ou reparo imperfeito do DNA (BANAEI-MOGHADDAM *et al.*, 2015; HOUBEN *et al.*, 2025). Como resultado, os cromossomos B apresentam uma composição altamente variável entre as espécies.

Dentre as sequências não codificantes, predominam os DNAs repetitivos, especialmente DNAs satélites (DNAsat) e TEs, em consonância com a natureza heterocromática dos cromossomos B (BORISOV; MYSHLIAVKINA, 2019; HUANG *et al.*, 2016; KLEMMME *et al.*, 2013; MELO *et al.*, 2017; SCUDELER *et al.*, 2015; VALENTE *et al.*, 2014). Por muito tempo, esses elementos foram considerados “DNA lixo”, por não codificarem proteínas ou apresentarem função aparente (ORGEL; CRICK, 1980). Contudo, atualmente já está claro que os DNAs repetitivos possuem funções críticas e participam de processos cruciais como a regulação da expressão gênica, replicação e reparo do DNA (BIÉMONT; VIEIRA, 2006; CABRAL-DE-MELLO; PALACIOS-GIMENEZ, 2025; FELICIELLO; AKRAP; UGARKOVIĆ, 2015; JAGANNATHAN; CUMMINGS; YAMASHITA, 2018; MILLS *et al.*, 2019; PLOHL; MEŠTROVIĆ; MRAVINAC, 2012; SHAPIRO; VON STERNBERG, 2005;

WEI; CHAN; BACHTROG, 2021). Esses elementos também são fundamentais, compondo as regiões centroméricas de cromossomos monocêntricos e assegurando a correta segregação cromossômica durante o ciclo celular (ALLSHIRE; KARPEN, 2008; COURRET *et al.*, 2024; GARRIDO-RAMOS, 2017; IWATA-OTSUBO *et al.*, 2017; UGARKOVIĆ, 2021)

Além disso, de modo geral, os elementos repetitivos contribuem para a diferenciação dos Bs em relação ao complemento A. O enriquecimento em DNAsats já foi amplamente documentado nos cromossomos B de diversos grupos (CAMACHO *et al.*, 2021, como gafanhotos (MILANI *et al.*, 2018; RUIZ-RUANO *et al.*, 2017, 2018), plantas (MARQUES; KLEMME; HOUBEN, 2018; PENG; CHENG, 2011), e peixes (VALENTE *et al.*, 2014). Diversos trabalhos também identificaram a presença de elementos transponíveis em Bs de peixes (COAN; MARTINS, 2018; VALENTE *et al.*, 2014), plantas (KLEMME *et al.*, 2013), fungos (COLEMAN *et al.*, 2009) e insetos (MILANI *et al.*, 2021; MONTIEL *et al.*, 2012). Embora TEs codifiquem proteínas funcionais apenas usadas nos processos de transposição, na maioria dos casos, seus transcritos podem afetar significativamente a organização genômica e a regulação gênica. A expressão diferencial de TEs associada à presença de cromossomos B já foi registrada em diversas espécies, como gafanhotos (MONTIEL *et al.*, 2012; RUIZ-RUANO *et al.*, 2017), centeio, *Secale cereale* (CARCHILAN *et al.*, 2009; MA *et al.*, 2017) e peixes (COAN; MARTINS, 2018), reforçando sua relevância funcional e adaptativa nos contextos genômico e epigenético.

Os primeiros genes identificados nos Bs foram aqueles pertencentes a famílias multigênicas altamente repetitivas, como os genes de RNA ribossômico (45S e 5S), genes de histonas e pequenos RNAs nucleolares (snoRNAs ou DNAsn U), cuja prospecção e detecção foi facilitada justamente por seu caráter repetitivo (AHMAD; MARTINS, 2019). Com os avanços nas tecnologias de sequenciamento de alto rendimento e no desenvolvimento de ferramentas para montagem genômica, estudos mais recentes têm revelado a presença de diversos outros genes nos Bs, incluindo genes que são de cópia única no complemento A e com potencial de atividade transcricional. Entre esses, destacam-se genes envolvidos em processos celulares fundamentais, como divisão celular, orientação de microtúbulos, regulação da transcrição e do metabolismo. Além disso, foram identificados genes relacionados a funções como sinalização celular, diferenciação sexual e sinapses neuronais, todos com evidências de transcrição ativa (AHMAD; MARTINS, 2019; DALLA BENETTA; AKBARI; FERREE, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2024).

Além de conter genes próprios, os cromossomos B podem modular a expressão gênica do complemento A, afetando a regulação global do genoma. Há evidências crescentes de que a presença e a dosagem dos Bs estão associadas à alteração da transcrição de numerosos genes localizados nos cromossomos A, incluindo genes envolvidos no reparo do DNA, metabolismo e segregação cromossômica (BOUDICHEVSKAIA *et al.*, 2022; HUANG *et al.*, 2016; NAVARRO-DOMÍNGUEZ *et al.*, 2019; PARK; KIM; KIM, 2019; SHI *et al.*, 2022). Essas referências mostram que dezenas a centenas de genes ligados aos cromossomos A foram encontrados diferencialmente expressos em resposta à presença dos Bs, destacando um impacto transcricional de grande escala.

Os cromossomos B também podem influenciar a expressão de elementos não codificantes, como microRNAs e TEs, os quais podem ser abundantes em seu conteúdo de sequência (HUANG *et al.*, 2020; NASCIMENTO-OLIVEIRA *et al.*, 2021; SHI *et al.*, 2022). A atividade dos TEs parece especialmente sensível à dosagem dos Bs: estes podem atuar tanto como reservatórios quanto como reguladores de TEs, com efeitos que se estendem aos cromossomos A. Notavelmente, os Bs têm sido implicados no surgimento de regiões produtoras de piRNA que ajudam a suprimir a atividade dos TEs, estabelecendo um possível ciclo de retroalimentação no qual os Bs contribuem para a instabilidade genômica enquanto também evoluem mecanismos para mitigar seu próprio impacto (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Em conjunto, essas evidências reforçam a noção de que os cromossomos B, apresentam um potencial considerável para interagir com a maquinaria regulatória celular e não são elementos genômicos passivos, como pensado no passado. Seja por meio do seu conteúdo repetitivo, de genes codificadores ativos ou de elementos não codificantes como microRNAs e piRNAs, os Bs têm mostrado capacidade de influenciar tanto a expressão gênica global quanto a estabilidade genômica. Esses múltiplos níveis de interação sugerem que a presença dos Bs pode ter consequências evolutivas e funcionais significativas para os organismos portadores. No entanto, apesar dos avanços recentes, ainda persiste uma lacuna importante no entendimento sobre os mecanismos moleculares precisos que mediam esses efeitos, bem como sobre o impacto fenotípico concreto que os Bs podem gerar. Estudos futuros que integrem abordagens genômicas, transcriptômicas, proteômicas e funcionais serão fundamentais para elucidar o papel biológico dos cromossomos B em diferentes contextos celulares e espécies.

1.2. Modelos evolutivos para a manutenção dos cromossomos B

Duas teorias iniciais foram propostas para explicar a evolução e manutenção dos cromossomos B nos genomas, as quais foram revisadas por Camacho (2005). Essas teorias assumem que a frequência dos cromossomos B nas populações estaria em equilíbrio, podendo ocorrer segundo dois modelos principais: o parasítico e o heterótico. No modelo heterótico (ou adaptativo) (WHITE, 1977), o equilíbrio seria resultado de um balanço seletivo entre os efeitos benéficos e deletérios desses elementos sobre o *fitness* dos indivíduos. Nesse cenário, os Bs confeririam vantagens adaptativas quando presentes em baixa cópia, mas se tornariam prejudiciais em altas doses, por afetarem negativamente o desenvolvimento, a fertilidade ou a estabilidade genômica. Essa dinâmica impede a fixação completa dos Bs na população, resultando em uma frequência intermediária mantida por seleção balanceadora.

Por outro lado, o modelo parasítico, propõe que o equilíbrio é mantido pelo conflito entre o aumento da frequência dos cromossomos B, favorecido por mecanismos que promovem sua transmissão não mendeliana (como o drive meiótico), e os efeitos deletérios que eles causam aos organismos hospedeiros. Nesse caso, os Bs seriam “egoístas”, que exploram o maquinário do hospedeiro para garantir sua própria transmissão, independentemente do impacto sobre o organismo. Segundo Camacho (2005), a grande maioria dos sistemas com cromossomos B estudados até então enquadrava-se nesse modelo parasítico. A dinâmica desse modelo pode ser compreendida a partir do ciclo evolutivo proposto pelo autor, representado na **figura 2**.

- Primeira etapa - Invasão: Um novo cromossomo B (neo-B), portador de forte capacidade de drive, pode rapidamente invadir a população. Com o aumento da frequência do B impulsionado por seu drive, isso causa um ônus para o genoma hospedeiro, produzindo um conflito intragenômico.
- Segunda etapa – Resistência: O hospedeiro pode desenvolver mecanismos de resistência, com por exemplo, aumento de genes supressores do drive, diminuindo o acúmulo dos cromossomos Bs.
- Terceira etapa - Neutralização: se os genes de neutralização tiverem um custo menor que a virulência pelos cromossomos Bs, os Bs podem chegar à neutralização, sofrendo supressão da acumulação. O B neutralizado pode seguir três caminhos: (1) desaparecer da população por meio de mecanismos como a deriva genética e seleção natural, (2) se estabelecer na população, convertido em elementos neutros e com taxa de transmissão similar ao complemento A. (3) Invadir novamente a população, por meio de uma nova

variante, que pela alta taxa de acúmulo de mutações dos cromossomos Bs, poderiam adquirir novos mecanismos de acumulação. Essa última possibilidade fecha um ciclo no qual os Bs alternam repetidamente entre estados parasíticos e quase neutros, prolongando significativamente a persistência do polimorfismo dos cromossomos B nas populações.

Esse modelo conceitual ajuda a compreender as diferentes fases evolutivas observadas em populações naturais com cromossomos B e serve como base para interpretar os padrões de diversidade, expressão gênica e impacto funcional desses elementos ao longo do tempo.



Figura 2. Ciclo de vida do cromossomo B e suas principais etapas. Figura baseada em Camacho (2005).

Além desses dois modelos clássicos, o avanço das tecnologias genômicas proporcionou um novo panorama, mais detalhado e complexo, sobre a composição molecular e a evolução dos cromossomos B, dando origem a novas hipóteses. Ahmad e Martins (2019) propuseram uma teoria mais ampla, que mantém a ideia do cromossomo B como um elemento egoísta (parasita), mas adiciona outras duas possibilidades para sua função e papel evolutivo: não parasita e acessório (**Figura 3**). Nesse novo modelo, o cromossomo B inicialmente surge como um elemento egoísta que pode conter genes que aumentam sua capacidade de persistência,

especialmente conferindo vantagens na divisão celular e evitando a eliminação durante a segregação cromossômica, caracterizando seu comportamento parasitário. Contudo, após a estabilização nos genomas, quando o cromossomo B não é mais eliminado e passa a ser transmitido de forma estável, ele pode continuar acumulando novas sequências e genes, atuando como um verdadeiro repositório genético (AHMAD; MARTINS, 2019; RAJPAL et al., 2023). Dessa forma, o cromossomo B deixaria de ser apenas um parasita para se tornar um elemento acessório do genoma, com potencial função adaptativa, influenciando o funcionamento e a evolução dos organismos que o carregam. Esse novo entendimento abre perspectivas para um papel mais complexo e multifacetado dos cromossomos B, indo além da tradicional visão de elementos genômicos puramente egoístas.

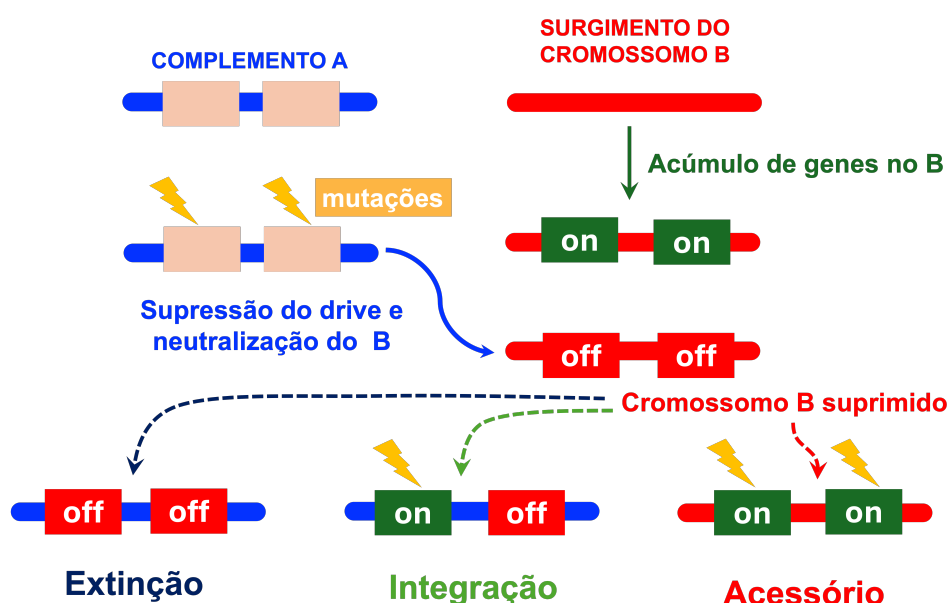


Figura 3. Surgimento do cromossomo B e sua interação no genoma do hospedeiro. Figura baseada em Ahmad e Martins (2019).

1.3. Cromossomos B em *Drosophila melanogaster*

Os cromossomos B não foram extensivamente estudados ou descritos em espécies de *Drosophila*, como revisado por Hanlon e Hawley (2018). A primeira descrição de um cromossomo B no gênero ocorreu em *Drosophila albomicans*, em 1980. Desde então, cromossomos supranumerários foram relatados em outras sete espécies: *D. malerkotliana*, *D. kikkawai*, *D. subsilvestris*, *D. lini*, *D. pseudoananassae*, *D. yangana* e *D. huancavilcae*, além da descoberta mais recente em *D. melanogaster* (**Figura 4**) (BAUERLY et al., 2014).

A identificação de cromossomos B em *D. melanogaster* representou um marco inédito, considerando-se que essa espécie é um modelo clássico e amplamente utilizado em estudos genéticos. O genoma de *Drosophila melanogaster* foi o primeiro de um animal multicelular a ser sequenciado integralmente, em 2000, e desde então tornou-se uma referência fundamental para estudos genômicos e evolutivos (ADAMS *et al.*, 2000). Com aproximadamente 180 Mb distribuídos em quatro pares de cromossomos — os autossomos 2, 3 e 4, além do cromossomo sexual X —, o genoma contém cerca de 14 mil genes codificadores de proteínas, organizados em regiões de eucromatina ativa e heterocromatina repetitiva (HOSKINS *et al.*, 2015). Essa composição combina elementos altamente conservados com extensas regiões de DNA repetitivo, incluindo DNAsats, TEs e famílias multigênicas, o que fornece um modelo versátil para investigar mecanismos de regulação gênica, evolução de sequências repetitivas e dinâmica cromossômica. A vasta disponibilidade de ferramentas genéticas e moleculares em *D. melanogaster* (JENKINS *et al.*, 2022; ÖZTÜRK-ÇOLAK *et al.*, 2024) tem possibilitado avanços significativos na compreensão de processos básicos de biologia celular e evolução genômica, abrindo novas possibilidades para investigar com maior detalhe a evolução e os efeitos genômicos dos cromossomos B.

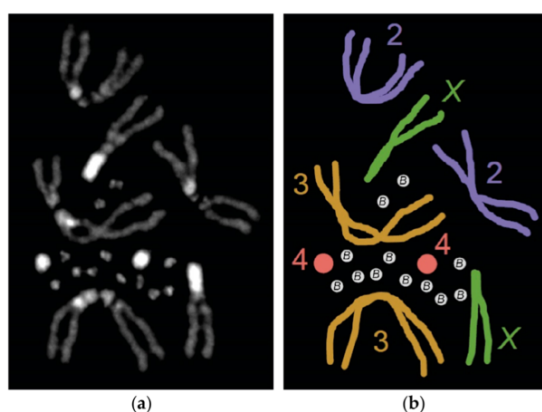


Figura 4. Cromossomos B de *Drosophila melanogaster*. (a) Metáfase mitótica de uma fêmea carregando 12 cromossomos B supranumerários. O DNA foi corado com DAPI. (b) Ilustração representativa da metáfase mostrada em (a). Cromossomos homólogos são mostrados na mesma cor. Figura reproduzida e legenda traduzida de Hanlon e Hawley (2018).

Os cromossomos Bs foram identificados em um estoque no laboratório do Prof. Dr. Scott Hawley do *Stowers Institute for Medical Research*, que apresenta média de 10 cromossomos B por indivíduo e apresenta duas características genéticas adicionais: (1) um alelo nulo do gene *matrimony* (*mtrm126*), que interage com a Polo quinase para regular a segregação de cromossomos não recombinantes durante a meiose feminina; e (2) o *balancer TM3*, um terceiro cromossomo com múltiplas inversões que pode interferir na segregação cromossômica normal. Quando indivíduos deste estoque com 10 Bs são cruzados com um estoque 0B (sem cromossomos B e sem a mutação em *mtrm*), os cromossomos B são inicialmente herdados, mas

tendem a ser perdidos ao longo das gerações subsequentes (BAUERLY *et al.*, 2014). Descobertas recentes sugerem que essa perda progressiva dos Bs resulta da redução de dosagem ou da ausência dos efeitos combinados da mutação em *mtrm* e da presença do cromossomo balancer *TM3* (HANLON; HAWLEY, 2023).

Estudos citogenéticos e moleculares revelaram que esses cromossomos B são majoritariamente heterocromáticos e apresentam marcas epigenéticas típicas de silenciamento, como a metilação de histona H3 na lisina 9 (H3K9me). Além disso, sua estrutura contém a proteína centromérica CID (*Centromere Identifier*), responsável por interagir com o fuso meiótico, além da proteína de cap de telômero HOAP (*Heterochromatin Protein Associated*). Análises de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) utilizando uma sequência de DNA satélite (AAGAT) sugerem que os cromossomos B de *D. melanogaster* compartilham similaridades com o cromossomo 4, apontando para uma possível origem a partir do mesmo. Acredita-se que a formação desses Bs tenha envolvido uma quebra na região centromérica do cromossomo 4, seguida pela geração de um isocromossomo (**Figura 5**). Um dos mecanismos mais documentados para a formação de isocromossomos envolve justamente a quebra centromérica durante a divisão celular, com posterior fusão dos fragmentos e reconstituição de um centrômero funcional (BAUERLY *et al.*, 2014; HANLON *et al.*, 2018; HANLON; HAWLEY, 2018).

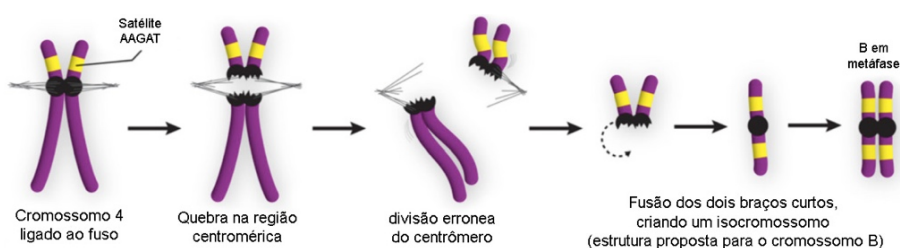


Figura 5. Modelo para a formação do cromossomo B em *D. melanogaster*. Análises por FISH mostraram que a sequência repetitiva AAGAT (mostrada em amarelo) é consistente com a estrutura do cromossomo B sendo um isocromossomo. Esse tipo de cromossomo deve se formar pelo erro na divisão do centrômero no cromossomo quatro, deixando os fragmentos do braço curto, esquerdo, para se fundir e formar um isocromossomo B. Figura reproduzida e legenda traduzida de Hanlon et al (2018).

Embora os Bs tenham origem estrutural relacionada ao cromossomo 4, análises de conteúdo gênico indicam que eles não retêm genes codificadores provenientes deste cromossomo. No entanto, sua presença provoca efeitos significativos nos cromossomos A. Por exemplo, a segregação do cromossomo 4 durante a meiose feminina é severamente afetada, resultando em um aumento drástico na frequência de erros de segregação (*mis-segregation*).

Além disso, foi observado que o grau de pigmentação ocular sofre variação por efeito de posição (*Position Effect Variegation – PEV*), afetando o gene marcador *white (w)*. Esse fenômeno decorre do silenciamento gênico induzido pela proximidade com regiões heterocromáticas, sendo mais um indicativo da influência epigenética dos Bs. Apesar dessas observações, os mecanismos moleculares subjacentes a esse efeito ainda não são completamente compreendidos. O que se sabe, até o momento, é que a heterocromatina presente nos cromossomos B afeta a transcrição de loci sensíveis a limites heterocromáticos (BAUERLY *et al.*, 2014).

1.4. Efeitos epigenéticos dos cromossomos B e o modelo de *heterochromatin sink*

Os cromossomos B de *D. melanogaster* são predominantemente heterocromáticos, apresentando enriquecimento em marcas epigenéticas associadas ao silenciamento transcricional nos oócitos, como a trimetilação da lisina 9 da histona H3 (H3K9me3) (BAUERLY *et al.*, 2014). A introdução de uma grande quantidade de DNA heterocromático adicional, como a presença de múltiplas cópias de cromossomos B, pode provocar efeitos globais sobre a organização da cromatina no núcleo. Um dos modelos mais aceitos para explicar tais efeitos é o modelo de “*heterochromatin sink*”, originalmente proposto para o cromossomo Y de *D. melanogaster* (FRANCISCO; LEMOS, 2014). Contudo, evidências indicam que esse fenômeno não é exclusivo do cromossomo Y, podendo ocorrer em resposta a qualquer incremento substancial de sequências repetitivas e heterocromáticas (BROWN; NGUYEN; BACHTROG, 2020), como o observado nos cromossomos B. Segundo esse modelo, cromossomos ricos em heterocromatina atuam como “sequestradores” de proteínas e enzimas responsáveis pelo estabelecimento e manutenção da heterocromatina. Como consequência, a disponibilidade desses fatores epigenéticos para o restante do genoma é reduzida, promovendo alterações na deposição de marcas heterocromáticas e modulando o silenciamento gênico em outras regiões, incluindo o complemento A.

Essa redistribuição epigenética pode ter implicações diretas sobre a regulação de TEs, cuja repressão é altamente dependente da integridade da heterocromatina e da ação de pequenos RNAs não codificantes, como os piRNAs, especialmente nas células germinativas (LE THOMAS *et al.*, 2013; OZATA *et al.*, 2019). Assim, a presença de múltiplos cromossomos B pode intensificar o efeito de sumidouro ou “*sink*”, sequestrando ainda mais os fatores necessários para o silenciamento de TEs e aumentando o risco de sua desregulação (BROWN;

NGUYEN; BACHTROG, 2020; FRANCISCO; LEMOS, 2014). Além dos TEs, há evidências de que os Bs podem afetar também a expressão de genes codificantes no complemento A, alterando a expressão global do transcriptoma. Esses efeitos se tornam particularmente críticos durante processos como a espermatogênese e a oogênese, que exigem controle epigenético preciso para garantir a manutenção da estabilidade genômica, o silenciamento apropriado de TEs e a formação adequada de gametas.

1.5. Espermatogênese e oogênese em *Drosophila melanogaster*

A espermatogênese e a oogênese são processos fundamentais para a formação dos gametas masculinos e femininos, respectivamente, em *D. melanogaster*. Ambos envolvem divisões celulares mitóticas e meióticas, com regulação precisa da expressão gênica e da dinâmica epigenética para garantir a produção de gametas funcionais e geneticamente estáveis.

A espermatogênese ocorre de maneira contínua e espacialmente organizada no testículo de machos adultos, seguindo um eixo apical-caudal, e pode ser dividida em três fases principais: mitótica (pré-meiótica), meiótica e pós-meiótica (**Figura 6**) (CLARK *et al.*, 2002; VIBRANOVSKI *et al.*, 2009; WHITE-COOPER, 2010). Na região apical, as células-tronco germinativas se dividem assimetricamente para produzir um gonialoblasto. Essa estrutura passa por quatro divisões mitóticas e duas divisões meióticas incompletas, originando um cisto com 64 espermátides haploides. Durante a fase pós-meiótica, essas espermátides sofrem alongação e remodelação morfológica, desenvolvendo flagelos e sendo, ao final, individualizadas para formar espermatozoides maduros (DEMARCO *et al.*, 2014; FABIAN; BRILL, 2012; WHITE-COOPER, 2010). Ao longo de todo o processo, mecanismos de controle da expressão gênica, remodelamento da cromatina e segregação cromossômica são cruciais para garantir a integridade genômica e a funcionalidade dos espermatozoides (DEMARCO *et al.*, 2014; VIBRANOVSKI *et al.*, 2009; WHITE-COOPER, 2010).

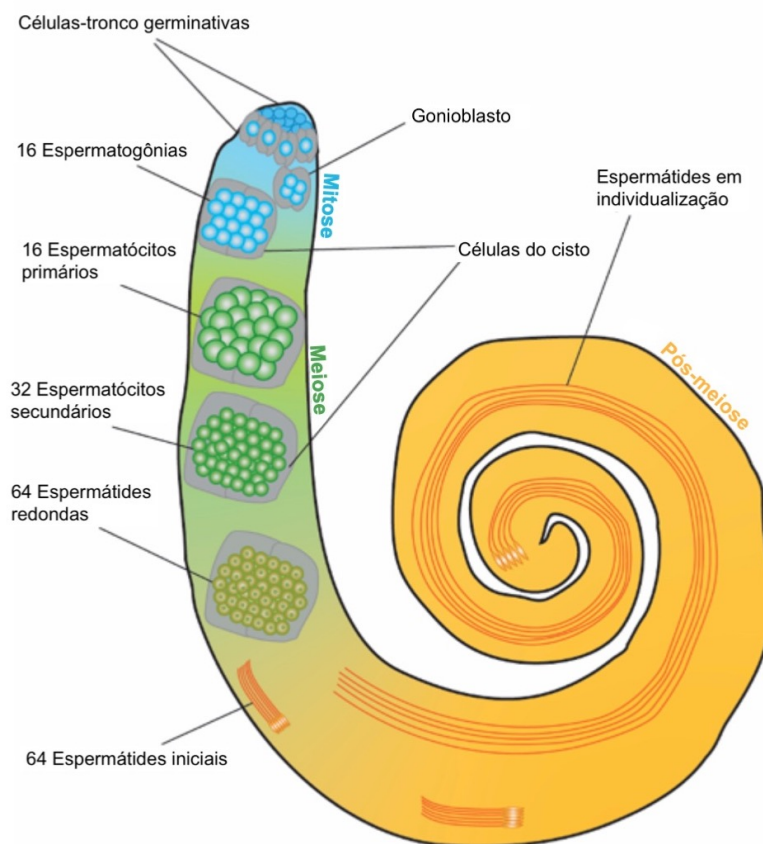


Figura 6. Esquema da espermatogênese mostrando a progressão das células germinativas ao longo do testículo, desde as divisões mitóticas até a individualização das espermátides. Figura reproduzida e traduzida de Avelino et al., 2025.

A oogênese em *Drosophila* ocorre de maneira espacialmente organizada nos ovaríolos, seguindo um gradiente antero-posterior, e pode ser dividida em três fases principais: formação do cisto germinativo, crescimento do ovócito e encapsulamento pelas células somáticas (**Figura 7**). No germário, as células-tronco germinativas originam cistoblastos que passam por quatro divisões mitóticas incompletas, formando um cisto de 16 células interconectadas, composto por um ovócito e 15 células-nodrizas. Estas aumentam de tamanho por ciclos endoreduplicativos e fornecem RNAs e proteínas ao ovócito, cujo núcleo permanece dormente até fases mais avançadas. Em seguida, o cisto é encapsulado por células foliculares somáticas, constituindo as câmaras de ovo que progridem ao longo do ovaríolo até a maturação final do ovócito (LEBO; MCCALL, 2021). Durante esse processo em *D. melanogaster*, há uma dinâmica regulatória crítica envolvendo fatores transcricionais e modificações na cromatina que controlam a progressão do ciclo celular, a entrada na meiose e a maturação do ovócito (CABRITA;

MARTINHO, 2023; MORRIS; LEHMANN, 1999). Alterações nesses mecanismos podem impactar diretamente a qualidade dos gametas femininos e sua capacidade de gerar descendentes viáveis.

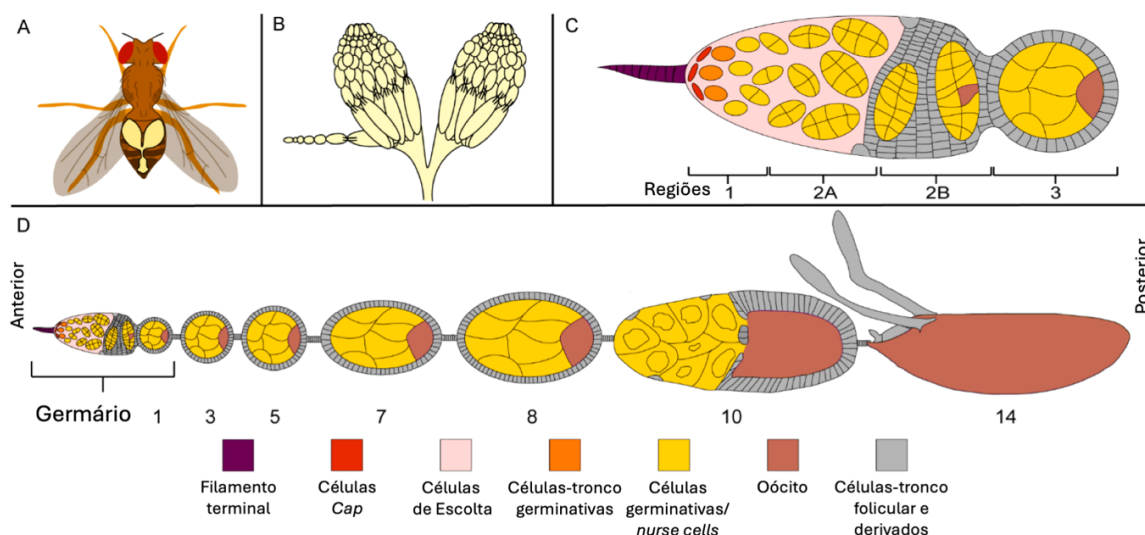


Figura 7. Estrutura do ovário de *Drosophila*. (A) Posição dos ovários na fêmea. (B) Esquema de um ovário mostrando ovariolo e câmaras de ovos. (C) Germário com células da linhagem germinativa, células-tronco e células somáticas com cores da legenda. O filamento terminal, células cap e células de escolta formam o nicho das células-tronco germinativas na região 1. Cada câmara de ovo deriva de uma célula-tronco germinativa. (D) Esquema detalhado de um ovariolo que é composto por câmaras de ovos em diferentes estágios de desenvolvimento. Figura reproduzida e traduzida de Lebo e McCall 2021.

No entanto, a presença dos cromossomos B adiciona um fator adicional de instabilidade a esses processos. Estudos mostraram que os cromossomos B de *D. melanogaster* frequentemente falham em se orientar adequadamente antes da metáfase I, escapando ao controle do sistema de segregação distributiva – um mecanismo especializado garantir a correta separação de cromossomos que não formam quiasmas, como é o caso dos Bs (HANLON; HAWLEY, 2023). Essas falhas de orientação ocorrem com maior frequência no estoque que carrega a mutação no gene *mtrm* (*matrimony*) e o balancer *TM3*, que juntos parecem facilitar o acúmulo e a transmissão dos Bs ao longo das gerações. Quando os Bs são transferidos para indivíduos com um genoma sem essas alterações (estoques 0B que podem ser chamados de “wild-type” ou “+”), sua manutenção é prejudicada, levando à sua perda progressiva, como visto em Bauerly e colaboradores (2014). Esses achados sugerem que o funcionamento normal de *mtrm* pode atuar como um supressor natural do drive dos Bs, limitando sua transmissão (HANLON; HAWLEY, 2023).

Além dos efeitos diretos na própria segregação dos Bs, essas falhas podem indiretamente comprometer a estabilidade genômica global, aumentando o risco de aneuploidias nos cromossomos A e interferindo na dinâmica epigenética geral. Como consequência, pode haver desregulação da expressão gênica e de processos celulares essenciais para a gametogênese. Considerando que tanto a espermatogênese quanto a oogênese envolvem uma extensa reprogramação epigenética — com ativação e silenciamento coordenado de múltiplos genes e elementos repetitivos — a presença dos Bs pode exercer um impacto funcional amplo, alterando a paisagem transcriptômica e a integridade do genoma germinativo.

Investigar como os cromossomos B afetam a gametogênese em *D. melanogaster* é fundamental para entender os mecanismos que garantem a manutenção da estabilidade genômica mesmo diante da presença de elementos genéticos extras e potencialmente parasíticos. A interação entre Bs, cromossomos A, elementos transponíveis (TEs) e RNAs não codificantes (ncRNAs) durante a formação dos gametas pode revelar como o genoma responde e se adapta a pressões impostas por ocasião de heterocromatina adicional e sequências repetitivas. Dessa forma, os estudos sobre os impactos dos Bs na gametogênese não apenas aprofundam nosso entendimento sobre a biologia reprodutiva, mas também fornecem insights valiosos sobre os fatores que moldam a evolução e a estabilidade dos genomas ao longo do tempo.

6. CONCLUSÕES FINAIS

Os resultados apresentados nesta tese avançam no conhecimento sobre as consequências do ponto de vista genômico e funcional da presença de cromossomos Bs usando como modelo *Drosophila melanogaster*. A partir de uma abordagem integrativa que combinou dados citológicos, genômicos, epigenéticos e transcriptômicos, foi possível demonstrar que os cromossomos B não são elementos genômicos neutros, mas sim componentes ativos, estrutural e funcionalmente distintos, com impacto potencial sobre a regulação gênica e a dinâmica evolutiva do genoma hospedeiro.

Inicialmente, caracterizamos a composição repetitiva do cromossomo B e confirmamos sua origem a partir do cromossomo 4, com base no enriquecimento de famílias específicas de DNAsats. Além disso, a baixa divergência entre as cópias dessas sequências (alta homogeneidade) no cromossomo B, sugerem que esses cromossomos não passaram por substancial diferenciação, o que é coerente com a emergência recente desses elementos em *D. melanogaster* (menos de 25 anos). Apesar do enriquecimento de DNAsats, para os TEs, apenas a família *G2-Jockey* foi encontrada enriquecida nos genomas com B, destacando que a composição do cromossomo B é governada por poucas famílias de DNAsats. Além disso, a descoberta de três novos DNAsats (Sat-307, Sat-597 e Sat-228), localizados em regiões eucromáticas de cromossomos A, amplia o catálogo de repetições da espécie e fornece modelos promissores para o estudo de como elementos repetitivos podem modular a expressão gênica.

Do ponto de vista funcional, evidências epigenéticas citológicas revelaram que os Bs assumem um estado heterocromático reprimido, caracterizado pela ausência de RNA polimerase II (nas formas total e fosforiladas), e pela ausência de marcas epigenéticas de atividade transcricional que envolve acetilação de histonas e também pela presença de marcas epigenéticas de inativação da cromatina, como a metilação (H3K9me1 e H3K9me2). Essa inativação não é casual, sendo verificada em tecido germinativo e somático, e regulada por modificações pós-traducionais em histonas, o que sugere um silenciamento ativo desses cromossomos e pode representar uma forma de minimizar efeitos deletérios sobre o restante do genoma. A semelhança do estado epigenético entre os Bs e o cromossomo 4 reforça a relação de ancestralidade entre esses elementos e levanta hipóteses sobre mecanismos compartilhados de regulação da heterocromatina.

Apesar de sua aparência citologicamente inativa, os cromossomos B demonstraram exercer efeitos amplos e dinâmicos sobre a regulação transcricional do complemento A. Nossos resultados revelam que os Bs não são elementos neutros: sua presença é capaz de alterar a

expressão de CDSs, ncRNAs e TEs, com impactos distintos conforme o tipo de sequência e o tempo de interação com o genoma hospedeiro. Para CDSs e ncRNAs, os efeitos foram mais discretos na geração inicial, mas se intensificaram ao longo das gerações, indicando um componente cumulativo. Já os TEs responderam de forma mais imediata à introdução dos Bs, mas sem manutenção desse padrão nas gerações subsequentes, sugerindo uma ativação transitória seguida de re-silenciamento, possivelmente mediado por mecanismos como o piRNA.

A intensidade da resposta transcricional variou entre os estoques analisados. Observamos um impacto mais pronunciado sobre CDSs e ncRNAs no estoque que perdeu os Bs, o que pode refletir uma resposta compensatória à sua eliminação ou a ausência de mecanismos regulatórios que favoreçam sua manutenção. Alternativamente, em genomas permissivos ao drive, pode ser menos oneroso eliminar o B do que manter mecanismos ativos de supressão. Esse contraste entre estoques fornece um modelo experimental consistente com o ciclo de vida teórico dos cromossomos B proposto por Camacho, o qual prevê fases de invasão, repressão e eventual estabilização ou eliminação.

Destaca-se ainda o impacto específico dos Bs sobre os cromossomos X e 4, sugerindo que sua atuação regulatória não é aleatória, mas se concentra em regiões mais vulneráveis a perturbações epigenéticas. A ativação de genes no cromossomo X e a repressão progressiva de genes no cromossomo 4 apontam para uma possível competição por fatores epigenéticos ou sequestro de sinais heterocromáticos, especialmente considerando a homologia entre os Bs e o cromossomo 4. A repressão de ncRNAs associados à cromatina reforça o papel dos Bs como moduladores epigenéticos, atuando como “sumidouros heterocromáticos” capazes de influenciar o estado transcricional de regiões específicas do genoma.

As análises funcionais corroboram esses efeitos contextuais. Nos ovários, a introdução dos Bs alterou processos relacionados à cromatina e à recombinação desde a primeira geração, enquanto nos testículos predominou uma resposta transcricional mais rápida e abrangente, com destaque para vias metabólicas. Essa diferença entre os tecidos germinativos pode refletir a maior plasticidade do transcriptoma testicular, reconhecido como um ambiente mais permissivo à inovação e à instabilidade genômica.

Em conjunto, os resultados obtidos nesta tese contribuem significativamente para a compreensão do papel funcional dos cromossomos B. Mais do que simples passageiros silenciosos, a presença dos Bs é modular a organização e o funcionamento dos genomas que os

hospedam. Atuam como reguladores epigenéticos dinâmicos, induzindo respostas imediatas e ajustes compensatórios de longo prazo. Ao demonstrar sua capacidade de interferir de forma coordenada e duradoura nos mecanismos de expressão gênica, esta tese reforça o papel dos Bs como agentes evolutivos ativos, com potencial para influenciar a arquitetura, a estabilidade e a evolução do genoma hospedeiro.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, S.; MARTINS, C. The Modern View of B Chromosomes Under the Impact of High Scale Omics Analyses. **Cells**, v. 8, n. 2, p. 1-26, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/8/2/156>
- ALLSHIRE, R. C.; KARPEN, G. H. Epigenetic regulation of centromeric chromatin: Old dogs, new tricks? **Nature Reviews Genetics**, v. 9, n. 12, p. 923–937, 2008. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg2466>
- AVELINO, C. C.; MENDONÇA, C. A.; GOLDSTEIN, G.; BERNARDO, A.; VIBRANOVSKI, M. D. Meiotic Sex Chromosome Inactivation: conservation across the *Drosophila* genus. 2025 (*In press on Plos Genetics*).
- BANAEI-MOGHADDAM, A. M.; MARTIS, M. M.; MACAS, J.; GUNDLACH, H.; HIMMELBACH, A.; ALTSCHMIED, L.; MAYER, K. F. X.; HOUBEN, A. Genes on B chromosomes: Old questions revisited with new tools. **Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1849, n. 1, p. 64–70, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25481283/>
- BAUERLY, E.; HUGHES, S. E.; VIETTI, D. R.; MILLER, D. E.; MCDOWELL, W.; HAWLEY, R. S. Discovery of Supernumerary B Chromosomes in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, v. 196, n. 4, p. 1007–1016, 2014. Disponível em: <https://academic.oup.com/genetics/article/196/4/1007/5935621>
- BENETTA, E. D.; AKBARI, O. S.; FERREE, P. M. Sequence expression of supernumerary B chromosomes: Function or fluff? **Genes**, v. 10, n. 2, 2019.
- BEUKEBOOM, L. W. Bewildering Bs: an impression of the 1st B-Chromosome Conference. **Heredity**, v. 73, n. 3, p. 328–336, 1994. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/hdy1994140>
- BIÉMONT, C.; VIEIRA, C. Junk DNA as an evolutionary force. **Nature**, v. 443, n. 7111, p. 521–524, 4 out. 2006. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/443521a>>.

- BORISOV, Yu. M.; MYSHLIAVKINA, T. A. B Chromosomes. **Biology Bulletin Reviews**, v. 9, n. 2, p. 105–118, 2019. Disponível em:
<http://link.springer.com/10.1134/S2079086419020038>
- BOUDICHEVSKAIA, A.; FIEBIG, A.; KUMKE, K.; HIMMELBACH, A.; HOUBEN, A. Rye B chromosomes differently influence the expression of A chromosome–encoded genes depending on the host species. **Chromosome Research**, v. 30, n. 4, p. 335–349, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10577-022-09704-6>
- BROWN, E. J.; NGUYEN, A. H.; BACHTROG, D. The *Drosophila* Y Chromosome Affects Heterochromatin Integrity Genome-Wide. **Molecular Biology and Evolution**, v. 37, n. 10, p. 2808–2824, 2020. Disponível em:
<https://academic.oup.com/mbe/article/37/10/2808/5811572>
- CABRAL-DE-MELLO, D. C.; PALACIOS-GIMENEZ, O. M. Repetitive DNAs: the ‘invisible’ regulators of insect adaptation and speciation. **Current Opinion in Insect Science**, v. 67, p. 1-8, 2025. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214574524001378>
- CABRITA, B.; MARTINHO, R. G. Genetic and Epigenetic Regulation of *Drosophila* Oocyte Determination. **Journal of Developmental Biology**, v. 11, n. 2, p. 21, 24 maio 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2221-3759/11/2/21/htm>
- CAMACHO, J. P. M. B Chromosomes. In: GREGORY, T. R. (Ed.) **The Evolution of the Genome**. Burlington: Academic Press, 2005. p. 223–286. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123014634500061>
- CAMACHO, J. P. M.; RUIZ-RUANO, F. J.; LÓPEZ-LEÓN, M. D.; CABRERO, J. Satellite DNA Is an Inseparable Fellow Traveler of B Chromosomes. *Em: Progress in Molecular and Subcellular Biology*. Springer, Cham, 2021. p. 85–102.
- CARCHILAN, M.; KUMKE, K.; MIKOLAJEWSKI, S.; HOUBEN, A. Rye B chromosomes are weakly transcribed and might alter the transcriptional activity of A chromosome sequences. **Chromosoma**, v. 118, n. 5, p. 607–616, 2009. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19575213>
- CLARK, M. E.; VENETI, Z.; BOURTZIS, K.; KARR, T. L. The distribution and proliferation of the intracellular bacteria Wolbachia during spermatogenesis in *Drosophila*. **Mechanisms of Development**, v. 111, n. 1–2, p. 3–15, 2002. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925477301005949>

- COAN, R. L. B.; MARTINS, C. Landscape of transposable elements focusing on the B chromosome of the cichlid fish *Astatotilapia latifasciata*. **Genes**, v. 9, n. 6, p. 1-18, 2018. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29882892>
- COLEMAN, J. J.; ROUNSLEY, S. D.; RODRIGUEZ-CARRES, M.; KUO, A.; WASMANN, C. C.; GRIMWOOD, J.; SCHMUTZ, J.; TAGA, M.; WHITE, G. J.; ZHOU, S.; SCHWARTZ, D. C.; FREITAG, M.; MA, L. J.; DANCHIN, E. G. J.; HENRISSAT, B.; COUTINHO, P. M.; NELSON, D. R.; STRANEY, D.; NAPOLI, C. A.; BARKER, B. M.; GRIBSKOV, M.; REP, M.; KROKEN, S.; MOLNÁR, I.; RENSING, C.; KENNEL, J. C.; ZAMORA, J.; FARMAN, M. L.; SELKER, E. U.; SALAMOV, A.; SHAPIRO, H.; PANGILINAN, J.; LINDQUIST, E.; LAMERS, C.; GRIGORIEV, I. V.; GEISER, D. M.; COVERT, S. F.; TEMPORINI, E.; VANETTEN, H. D. The Genome of *Nectria haematococca*: Contribution of Supernumerary Chromosomes to Gene Expansion. **PLOS Genetics**, v. 5, n. 8, p. e1000618, 2009. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1000618>
- COURRET, C.; HEMMER, L. W.; WEI, X.; PATEL, P. D.; CHABOT, B. J.; FUDA, N. J.; GENG, X.; CHANG, C. H.; MELLONE, B. G.; LARRACUENTE, A. M. Turnover of retroelements and satellite DNA drives centromere reorganization over short evolutionary timescales in *Drosophila*. **PLOS Biology**, v. 22, n. 11, p. e3002911, 2024. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.3002911>
- D'AMBROSIO, U.; ALONSO-LIFANTE, M. P.; BARROS, K.; KOVAŘÍK, A.; MAS DE XAXARS, G.; GARCIA, S. B-chrom: A database on B-chromosomes of plants, animals and fungi. **New Phytologist**, v. 216, n. 2007, p. 635–642, 2017. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/nph.14723>
- DEMARCO, R. S.; EIKENES, Å. H.; HAGLUND, K.; JONES, D. L. Investigating spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. **Methods**, v. 68, n. 1, p. 218–227, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.04.020>
- FABIAN, L.; BRILL, J. *Drosophila* spermiogenesis: Big things come from little packages. **Spermatogenesis**, v. 2, n. 3, p. 197–212, 2012.
- FELICIELLO, I.; AKRAP, I.; UGARKOVIĆ, Đ. Satellite DNA Modulates Gene Expression in the Beetle *Tribolium castaneum* after Heat Stress. **PLOS Genetics**, v. 11, n. 8, p. e1005466, 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1005466>
- FERREE, P. M.; BLAGOJEVIĆ, J.; HOUBEN, A.; MARTINS, C.; TRIFONOV, V. A.; VUJOŠEVIĆ, M. What is a B chromosome? Early definitions revisited. **G3: Genes**,

- Genomes, Genetics**, v. 14, n. 6, p. 10–12, 2024. Disponível em:
<https://academic.oup.com/g3journal/article/doi/10.1093/g3journal/jkae068/7646804>
- FRANCISCO, F. O.; LEMOS, B. How Do Y-Chromosomes Modulate Genome-Wide Epigenetic States: Genome Folding, Chromatin Sinks, and Gene Expression. **Journal of Genomics**, v. 2, p. 94-103, 2014. Disponível em:
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4105431/>
- GARRIDO-RAMOS, M. Satellite DNA: An Evolving Topic. **Genes**, v. 8, n. 9, p. 230, 18 set. 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4425/8/9/230>
- HANLON, S. L.; HAWLEY, R. S. B Chromosomes in the *Drosophila* Genus. **Genes**, v. 9, n. 10, p. 1-8 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4425/9/10/470>
- HANLON, S. L.; HAWLEY, R. S. B chromosomes reveal a female meiotic drive suppression system in *Drosophila melanogaster*. **Current Biology**, v. 33, n. 11, p. 2300- 2306.e5, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.04.028>
- HANLON, S. L.; MILLER, D. E.; ECHE, S.; HAWLEY, R. S. Origin, Composition, and Structure of the Supernumerary B Chromosome of *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, v. 210, n. 4, p. 1197–1212, 2018. Disponível em:
<https://academic.oup.com/genetics/article/210/4/1197/5931048>
- HOUBEN, A. B chromosomes – a matter of chromosome drive. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. February, p. 1–6, 2017. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2017.00210/full>
- HOUBEN, A.; FUCHS, J.; BANAEI-MOGHADDAM, A. M.; CHEN, J.; KIM, G.; LIU, T. Does chromoanagenesis play a role in the origin of B chromosomes? **Heredity**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41437-025-00758-w>
- HUANG, W.; DU, Y.; ZHAO, X.; JIN, W. B chromosome contains active genes and impacts the transcription of A chromosomes in maize (*Zea mays* L.). **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1-14, 2016. Disponível em:
<http://bmcpplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12870-016-0775-7>
- HUANG, Y.-H.; PENG, S.-F.; LIN, Y.-P.; CHENG, Y.-M. The maize B chromosome is capable of expressing microRNAs and altering the expression of microRNAs derived from A chromosomes. **Chromosome Research**, v. 28, n. 2, p. 129–138, 2020. Disponível em:
<http://link.springer.com/10.1007/s10577-019-09620-2>
- IWATA-OTSUBO, A.; DAWICKI-MCKENNA, J. M.; AKERA, T.; FALK, S. J.; CHMÁTAL, L.; YANG, K.; SULLIVAN, B. A.; SCHULTZ, R. M.; LAMPSON, M. A.; BLACK, B. E. Expanded Satellite Repeats Amplify a Discrete CENP-A Nucleosome

- Assembly Site on Chromosomes that Drive in Female Meiosis. **Current Biology**, v. 27, n. 15, p. 2365–2373.e8, 7, 2017. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982217308060?via%3Dihub>
- JAGANNATHAN, M.; CUMMINGS, R.; YAMASHITA, Y. M. A conserved function for pericentromeric satellite DNA. **eLife**, v. 7, p. 1–19, 26 mar. 2018. Disponível em:
<https://elifesciences.org/articles/34122>
- KLEMME, S.; BANAEI-MOGHADDAM, A. M.; MACAS, J.; WICKER, T.; NOVÁK, P.; HOUBEN, A. High-copy sequences reveal distinct evolution of the rye B chromosome. **New Phytologist**, v. 199, n. 2, p. 550–558, jul. 2013. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23614816>
- LE THOMAS, A.; ROGERS, A. K.; WEBSTER, A.; MARINOV, G. K.; LIAO, S. E.; PERKINS, E. M.; HUR, J. K.; ARAVIN, A. A.; TÓTH, K. F. Piwi induces piRNA-guided transcriptional silencing and establishment of a repressive chromatin state. **Genes & Development**, v. 27, n. 4, p. 390–399, 15 fev. 2013. Disponível em:
<http://genesdev.cshlp.org/content/27/4/390.full>
- LEBO, D. P. V.; MCCALL, K. Murder on the Ovarian Express: A Tale of Non-Autonomous Cell Death in the *Drosophila* Ovary. **Cells**, v. 10, n. 6, p. 1454, 2021. Disponível em:
<https://doi.org/10.3390/cells10061454>
- MA, W.; GABRIEL, T. S.; MARTIS, M. M.; GURSINSKY, T.; SCHUBERT, V.; VRÁNA, J.; DOLEŽEL, J.; GRUNDLACH, H.; ALTSCHMIED, L.; SCHOLZ, U.; HIMMELBACH, A.; BEHRENS, S. E.; BANAEI-MOGHADDAM, A. M.; HOUBEN, A. Rye B chromosomes encode a functional Argonaute-like protein with in vitro slicer activities similar to its A chromosome paralog. **New Phytologist**, v. 213, n. 2, p. 916–928. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27468091>
- MARQUES, A.; KLEMME, S.; HOUBEN, A. Evolution of Plant B Chromosome Enriched Sequences. **Genes** 2018, v. 9, n. 10, p. 1-15, 2018. Disponível em:
<https://www.mdpi.com/2073-4425/9/10/515/htm>
- MELO, S.; UTSUNOMIA, R.; PENITENTE, M.; SOBRINHO-SCUDELER, P. E.; PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; DERGAM, J. A. B chromosome dynamics in *Prochilodus costatus* (Teleostei, Characiformes) and comparisons with supernumerary chromosome system in other *Prochilodus* species. **Comparative Cytogenetics**, v. 11, n. 2, p. 393–403, 2017. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2017.00210/full>

- MILANI, D.; BARDELLA, V. B.; FERRETTI, A. B. S. M.; PALACIOS-GIMENEZ, O. M.; MELO, A. de S.; MOURA, R. C.; LORETO, V.; SONG, H.; CABRAL-DE-MELLO, D. C. Satellite DNAs Unveil Clues about the Ancestry and Composition of B Chromosomes in Three Grasshopper Species. **Genes**, v. 9, n. 11, p. 523, 26 out. 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4425/9/11/523>
- MILANI, D.; RUIZ-RUANO, F. J.; CAMACHO, J. P. M.; CABRAL-DE-MELLO, D. C. 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, 1 nov. 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41437-021-00470-5>
- MILLS, W. K.; LEE, Y. C. G.; KOCHENDOERFER, A. M.; DUNLEAVY, E. M.; KARPEN, G. H. RNA from a simple-tandem repeat is required for sperm maturation and male fertility in *Drosophila melanogaster*. **eLife**, v. 8, p. 1–21, 5 nov. 2019. Disponível em: <https://elifesciences.org/articles/48940>
- MONTIEL, E. E.; CABRERO, J.; CAMACHO, J. P. M.; LÓPEZ-LEÓN, M. D. Gypsy, RTE and Mariner transposable elements populate *Eyprepocnemis plorans* genome. **Genetica**, v. 140, n. 7–9, p. 365–374, 17 set. 2012. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23073915>
- MORRIS, J.; LEHMANN, R. *Drosophila* oogenesis: Versatile spn doctors. **Current Biology**, v. 9, n. 2, p. R55–R58, 28 jan. 1999. Disponível em: <https://www.cell.com/action/showFullText?pii=S0960982299800104>
- NASCIMENTO-OLIVEIRA, J. I.; FANTINATTI, B. E. A.; WOLF, I. R.; CARDOSO, A. L.; RAMOS, E.; RIEDER, N.; DE OLIVEIRA, R.; MARTINS, C. Differential expression of miRNAs in the presence of B chromosome in the cichlid fish *Astatotilapia latifasciata*. **BMC Genomics**, v. 22, n. 1, p. 344, 12 dez. 2021. Disponível em: <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-021-07651-w>
- NAVARRO-DOMÍNGUEZ, B.; MARTÍN-PECIÑA, M.; RUIZ-RUANO, F. J.; CABRERO, J.; CORRAL, J. M.; LÓPEZ-LEÓN, M. D.; SHARBEL, T. F.; CAMACHO, J. P. M. Gene expression changes elicited by a parasitic B chromosome in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* are consistent with its phenotypic effects. **Chromosoma**, v. 128, n. 1, p. 53–67, 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00412-018-00689-y>
- OLIVEIRA, J. I. N.; CABRAL-DE-MELLO, D. C.; VALENTE, G. T.; MARTINS, C. Transcribing the enigma: the B chromosome as a territory of uncharted RNAs. **Genetics**, v. 227, n. 1, p. 1–12, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/genetics/iyac026>

- OLIVEIRA, J. I. N.; CARDOSO, A. L.; WOLF, I. R.; DE OLIVEIRA, R. A.; MARTINS, C. First characterization of PIWI-interacting RNA clusters in a cichlid fish with a B chromosome. **BMC Biology**, v. 20, n. 1, p. 204, 21 set. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01403-2>
- ORGEL, L. E.; CRICK, F. H. C. Selfish DNA: The ultimate parasite. **Nature**, v. 284, n. 5757, p. 604–607, 1980. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/284604a0>
- OZATA, D. M.; GAINETDINOV, I.; ZOCH, A.; O'CARROLL, D.; ZAMORE, P. D. PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions. **Nature Reviews Genetics** 2018 20:2, v. 20, n. 2, p. 89–108, 16 nov. 2018. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41576-018-0073-3>
- PARK, D.; KIM, J. H.; KIM, N. S. De novo transcriptome sequencing and gene expression profiling with/ without b-chromosome plants of *Lilium amabile*. **Genomics and Informatics**, v. 17, n. 3, 2019. Disponível em: <http://genominfo.org/journal/view.php?doi=10.5808/GI.2019.17.3.e27>
- PENG, S. F.; CHENG, Y. M. Characterization of satellite CentC repeats from heterochromatic regions on the long arm of maize B-chromosome. **Chromosome Research**, v. 19, n. 2, p. 183–191, 19 fev. 2011. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10577-010-9183-2>
- PLOHL, M.; MEŠTROVIĆ, N.; MRAVINAC, B. Satellite DNA evolution. **Genome dynamics**, v. 7, p. 126–152, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22759817/>
- RAJPAL, V. R.; SHARMA, S.; SEHGAL, D.; SHARMA, P.; WADHWA, N.; DHAKATE, P.; CHANDRA, A.; THAKUR, R. K.; DEB, S.; RAMA RAO, S.; MIR, B. A.; RAINA, S. N. Comprehending the dynamism of B chromosomes in their journey towards becoming unselfish. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, n. January, p. 1–26, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2022.1072716/full>
- RANDOLPH, L. F. Types of supernumerary chromosomes in maize. **The Anatomical Record**, v. 41, p. 102, 1928.
- RUIZ-RUANO, F. J.; CABRERO, J.; LÓPEZ-LEÓN, M. D.; CAMACHO, J. P. M. Satellite DNA content illuminates the ancestry of a supernumerary (B) chromosome. **Chromosoma**, v. 126, n. 4, p. 487–500, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00412-016-0611-8>
- RUIZ-RUANO, F. J.; CABRERO, J.; LÓPEZ-LEÓN, M. D.; SÁNCHEZ, A.; CAMACHO, J. P. M. Quantitative sequence characterization for repetitive DNA content in the

- supernumerary chromosome of the *Migratory locust*. **Chromosoma**, v. 127, n. 1, p. 45–57, 4 mar. 2018. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00412-017-0644-7>
- SCUDELER, P. E. S.; DINIZ, D.; WASKO, A. P.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Whole chromosome painting of B chromosomes of the red-eye tetra *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Teleostei, Characidae). **Comparative Cytogenetics**, v. 9, n. 4, p. 661–669, 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26753081>
- SHAPIRO, J. A.; VON STERNBERG, R. Why repetitive DNA is essential to genome function. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 80, n. 2, p. 227–50, 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15921050>
- SHI, X.; YANG, H.; CHEN, C.; HOU, J.; JI, T.; CHENG, J.; BIRCHLER, J. A. Effect of aneuploidy of a non-essential chromosome on gene expression in maize. **The Plant Journal**, v. 110, n. 1, p. 193–211, abr. 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tpj.15665>
- VALENTE, G. T.; CONTE, M. A.; FANTINATTI, B. E. A.; CABRAL-DE-MELLO, D. C.; CARVALHO, R. F.; VICARI, M. R.; KOCHER, T. D.; MARTINS, C. Origin and evolution of B chromosomes in the cichlid fish *Astatotilapia latifasciata* based on integrated genomic analyses. **Molecular Biology and Evolution**, v. 31, n. 8, p. 2061–2072, ago. 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24770715>
- VIBRANOVSKI, M. D.; LOPES, H. F.; KARR, T. L.; LONG, M. Stage-specific expression profiling of *Drosophila* spermatogenesis suggests that meiotic sex chromosome inactivation drives genomic relocation of testis-expressed genes. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 11, 2009. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1000731>
- WEI, K. H. C.; CHAN, C.; BACHTROG, D. Establishment of h3k9me3-dependent heterochromatin during embryogenesis in *Drosophila miranda*. **eLife**, v. 10, p. 1–24, 2021. Disponível em: <https://elifesciences.org/articles/62375>
- WHITE, M. J. D. Animal cytology and evolution. 1977. Disponível em: <<https://wellcomecollection.org/works/meqhhay5>>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- WHITE-COOPER, H. Molecular mechanisms of gene regulation during *Drosophila* spermatogenesis. **REPRODUCTION**, v. 139, n. 1, p. 11–21, jan. 2010. Disponível em: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/139/1/11.xml>
- WILSON, E. B. The supernumerary chromosomes of Hemiptera. **Science**, v. 26, p. 870–871, 1907.