

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 28/05/2028.

**Montagem de genoma em nível cromossômico e expressão
diferencial de proteínas em espécies do gênero *Psalidodon* com
cromossomo B (Characiformes, Acestrorhamphidae)**

Mateus Rossetto Vidal

Botucatu, SP

2026

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Instituto de Biociências de Botucatu

**Montagem de genoma em nível cromossômico e expressão
diferencial de proteínas em espécies do gênero *Psalidodon* com
cromossomo B (Characiformes, Acestrorhamphidae)**

Aluno: Mateus Rossetto Vidal

Orientador: Prof. Dr. Fausto Foresti

Defesa apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de
Botucatu, UNESP, para obtenção
do título de Doutor no Programa
de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas (Zoologia).

Botucatu, SP

2026

V649m

Vidal, Mateus Rossetto

Montagem de genoma em nível cromossômico e expressão diferencial de proteínas em espécies do gênero *Psalidodon* com cromossomo B (Characiformes, Acestrorhamphidae) / Mateus Rossetto Vidal. -- Botucatu, 2026

95 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Fausto Foresti

1. Genética animal. 2. Proteômica. 3. Genômica. 4. *Astyanax*. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE MATEUS ROSSETTO VIDAL, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 28 de maio de 2026, às 9h, no IBB - UNESP Botucatu., realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de MATEUS ROSSETTO VIDAL, intitulada "Montagem de genoma em nível cromossômico e expressão diferencial de proteínas em espécies do gênero *Psalidodon* com cromossomo B (Characiformes, Acestrorhamphidae)". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof.Dr. FAUSTO FORESTI (Orientador) - Participação Presencial) do Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências - UNESP Botucatu, Prof. Dr. DIOGO TERUO HASHIMOTO (Participação Virtual) da Coordenadoria Executiva - Centro de Aquicultura da Unesp / UNESP Reitoria - RUNESP, Pós-Doutorando MATHEUS NAIA FIORETTO (Participação Presencial) do Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências - Unesp Botucatu, Pós-Doutoranda JORDANA INÁCIO NASCIMENTO OLIVEIRA (Participação Virtual) da School of Biological and Behavioural Sciences / Queen Mary University of London, Prof. Dr. BRUNO CESAR ROSSINI (Participação Presencial) do Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP Botucatu. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final **aprovado**. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo Presidente da Comissão Examinadora.

Documento assinado digitalmente

 **FAUSTO FORESTI**
Data: 28/05/2026 18:32:47-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.Dr. FAUSTO FORESTI

Dedicatória

Dedico a todos os meus familiares e amigos que me apoiaram, e em especial a todos os professores que abriram portas ao longo da minha trajetória, me permitindo chegar até aqui

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente ao Professor Fausto Foresti por todos os anos de orientação e parceria. Obrigado por todo o apoio, confiança e por ter sempre me inspirado a ir além! Obrigado por todos os bolos no café da manhã, conselhos, ensinamentos e por sempre me incentivar a buscar novos desafios.

Ao meu colega Duílio Mazzoni Zerbinato de Andrade Silva, que mesmo a distância sempre me guiou e, sempre me contagiou com o entusiasmo de fazer ciência. Obrigado por todo o apoio e incentivo durante todos esses anos!

Ao Professor Alexander Suh e ao colega Francisco Ruiz Ruano, por terem me recebido e me acolhido tão bem durante o período de estágio na Alemanha. Agradeço também as colegas de laboratório Yifan Pei, Niki Vontzou e Inês Borges pelo acolhimento.

Ao Professor Claudio Oliveira, por todo o apoio fornecido tanto para execução desta pesquisa, quanto para a minha formação e por toda a parceria ao longo dos anos!

Aos professores, pesquisadores, servidores e alunos do Instituto de Biotecnologia de Botucatu (IBTEC), em especial aos membros do Laboratório de Proteômica pelo apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos membros do Developmental Biology and Multi Omics Laboratory (DBMOL) da UNESP Botucatu pelo apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos membros do Laboratório de Biologia Molecular e Reprodutiva da UNESP de Botucatu pelo suporte.

À Fundação Oswaldo Cruz pela execução do serviço de análises proteômicas através da Plataforma de Espectrometria de Massas (RPT02H) da Rede de Plataformas Tecnológicas Fiocruz (RPT).

Aos meus colegas Lucas Lasmar, Pamela Nadai, Leticia Soares, Raquel Machado e Cristiano Neves por toda a colaboração na execução deste trabalho, pela parceria e amizade por todos esses anos. Agradeço também a todos os colegas do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, por terem me acolhido tão bem por todos esses anos e por toda a ajuda fornecida. Foi um prazer ter convivido com cada um de vocês!

A todos os colegas do Laboratório de Genômica e Conservação de Peixes da UNESP Bauru, pela amizade e apoio no desenvolvimento deste projeto, em especial aos Professores Fabio Porto Foresti e Ricardo Utsunomia e ao colega Rodrigo Zeni.

Aos meus familiares que me deram todo apoio e suporte durante todo o meu percurso desde a graduação e pós-graduação, em especial ao meu avô Clementino e a minha mãe Ana Cristina por sempre me apoiarem.

À minha esposa Ariane, que me apoiou em todos os momentos da minha formação, sempre me oferecendo suporte com muito amor e companheirismo em todos os momentos que precisei. Sem o seu apoio eu não teria chegado tão longe!

Ao Instituto de Biociências de Botucatu.

Ao programa de Pós-graduação em Zoologia.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Estrutural e Funcional e da seção técnica de Pós-Graduação que, pelo seu trabalho, permitiram que este estudo fosse realizado.

À FAPESP, CAPES e ao CNPq, pelo financiamento deste projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 88887.713740/2022-00; 88887.958184/2024-00; 88887.840214/2023-00

Esta pesquisa foi financiada com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

Processos: 2020/01775-0; 2024/22092-9



Resumo

Os cromossomos B são elementos genômicos supranumerários presentes em diversas espécies de eucariotos e caracterizados por alta proporção de sequências repetitivas, complexa origem e capacidade de burlar a segregação mendeliana. As espécies de peixes do gênero *Psalidodon* vem se tornando um modelo de estudo de cromossomos B em peixes, especialmente a espécie *P. paranae*. Esta espécie apresenta um isocromossomo B associado a possíveis funções na diferenciação sexual e na modulação da expressão gênica. Neste mesmo gênero, *P. bockmanni* apresenta um isocromossomo B que compartilha a mesma origem do isocromossomo B de *P. paranae*, no entanto sem associações evidentes com possíveis impactos na diferenciação sexual. Portanto, este trabalho teve como objetivos (i) realizar a montagem do genoma de *P. paranae* a nível cromossômico e caracterizar estruturalmente o cromossomo B, e (ii) investigar diferenças no perfil proteômico de ovários de fêmeas com (1B) e sem cromossomo B (0B) e buscar por proteínas codificadas pelo cromossomo B. A montagem genômica combinou dados PacBio HiFi, Nanopore e Omni-C, resultando em um genoma altamente contíguo para os cromossomos do complemento A (1,53 Gb; N50 = 58,03 Mb) e sequências mais fragmentadas para o cromossomo B, no entanto com dois *scaffolds* correspondendo a 25% do tamanho esperado para este cromossomo. Análises bioinformáticas e de citogenética molecular mostram que ambos os *scaffolds* pertencem a braços diferentes do cromossomo B, estão localizados nas regiões subteloméricas, apresentam menor densidade de DNAs repetitivos, maior densidade gênica e diferenças estruturais (incluindo uma inversão de 4,3 Mb), indicando que o cromossomo B não é um isocromossomo perfeitamente simétrico, como anteriormente definido. A análise proteômica por espectrometria de massas identificou proteínas diferencialmente expressas em ambas as espécies analisadas, sendo 64 em *Psalidodon paranae* e 102 em *Psalidodon bockmanni*. As análises de enriquecimento e de interação proteica indicam que os efeitos do cromossomo B estão associados principalmente a vias de metabolismo energético e de sinalização/crescimento celular, com destaque para a superexpressão da via de sinalização mTOR. Uma possível diferença funcional entre os cromossomos B de ambas as espécies foi observada, com fêmeas 1B de *P. paranae* apresentando superexpressão da fosforilação oxidativa, enquanto fêmeas 1B de *P. bockmanni* apresentaram subexpressão, indicando um processo de transição metabólica nesta última espécie. Além disso, a detecção de peptídeos derivados dos genes *alad1* e *rnf17* em *P. bockmanni* indica que transcritos do cromossomo B são de fato traduzidos em proteínas, abrindo novas perspectivas para os estudos de mecanismos de atuação destes cromossomos.

Abstract

B chromosomes are supernumerary genomic elements found in a wide range of eukaryotic species and are characterized by a high proportion of repetitive sequences, complex origins, and the ability to evade Mendelian segregation. Fish species of the genus *Psalidodon* have emerged as a model for studying B chromosomes in fishes, particularly *P. paranae*. This species harbors a B isochromosome associated with potential roles in sex differentiation and modulation of gene expression. Within the same genus, *P. bockmanni* also possesses a B isochromosome that shares a common origin with that of *P. paranae*, but without evident associations with impacts on sex differentiation. Therefore, the objectives of this study were: (i) to assemble the *P. paranae* genome at the chromosomal level and structurally characterize the B chromosome, and (ii) to investigate differences in the ovarian proteomic profile between females with (1B) and without the B chromosome (0B), as well as to identify proteins encoded by the B chromosome. The genome assembly combined PacBio HiFi, Nanopore, and Omni-C data, resulting in a highly contiguous assembly for the A complement chromosomes (1.53 Gb; N50 = 58.03 Mb) and more fragmented sequences for the B chromosome. However, two scaffolds corresponded to 25% of the expected size of this chromosome. Bioinformatic and molecular cytogenetic analyses showed that both scaffolds belong to different arms of the B chromosome, are located in subtelomeric regions, and exhibit lower densities of repetitive DNA and higher gene density, along with structural differences (including a 4.3 Mb inversion). These findings indicate that the B chromosome is not a perfectly symmetrical isochromosome, as previously defined. Proteomic analysis by mass spectrometry identified differentially expressed proteins in both analyzed species, with 64 in *Psalidodon paranae* and 102 in *Psalidodon bockmanni*. Enrichment and protein interaction analyses indicated that the effects of the B chromosome are mainly associated with energy metabolism pathways and cell signaling/growth, with emphasis on the upregulation of the mTOR signaling pathway. A possible functional difference between the B chromosomes of the two species was observed, as 1B females of *P. paranae* showed upregulation of oxidative phosphorylation, whereas 1B females of *P. bockmanni* exhibited downregulation, suggesting a metabolic transition process in the latter species. Furthermore, the detection of peptides derived from the *alad1* and *rnfl7* genes in *P. bockmanni* indicates that transcripts from the B chromosome are indeed translated into proteins, opening new perspectives for understanding the mechanisms of action of these chromosomes.

Sumário

Introdução Geral.....	9
Referências.....	12
Capítulo 1 – Montagem do genoma de <i>Psalidodon paranae</i> em nível cromossômico revela estrutura isocromossômica imperfeita do seu cromossomo B.....	15
Introdução.....	16
Objetivos	18
Material e métodos	18
Resultados	24
Discussão	39
Conclusões.....	45
Referências.....	45
Capítulo 2 – Expressão diferencial de proteínas ovarianas associadas ao cromossomo B em espécies de <i>Psalidodon</i>	50
Introdução.....	51
Objetivos	52
Material e métodos	53
Resultados	59
Discussão	73
Conclusões.....	79
Referências.....	80
Considerações Finais.....	84
Material suplementar.....	86

Introdução Geral

Além do conjunto padrão de cromossomos (cromossomos A ou genoma A), cerca de 15% dos eucariotos possuem cromossomos extras identificados como cromossomos B. Estes cromossomos não apresentam um par homólogo obrigatório e carregam grande quantidade de informações redundantes, sendo encontrados em fungos, plantas e animais (Houben et al., 1996; Covert, 1998; Silva et al., 2016). Estes cromossomos são dispensáveis, pois não estão presentes em todos os indivíduos da mesma espécie e não são essenciais para a sobrevivência dos indivíduos portadores (Foresti et al., 1989; Camacho, 2005).

Os cromossomos B são encontrados majoritariamente na forma de heterocromatina e são compostos por DNAs repetitivos, tais como DNA ribossomal, DNA satélite, genes U snDNA, genes de histonas e elementos transponíveis (Camacho, 2005). Em geral, os esses cromossomos surgem a partir dos cromossomos A, muito provavelmente devido a erros durante a divisão celular. Na maioria dos casos, após o seu surgimento, esses elementos desaparecem por não conseguirem se fixar na população, ou por serem eliminados pelo genoma A (Camacho et al., 2000). No entanto, alguns desses elementos possuem conteúdo gênico e/ou estrutura que favorecem a sua perpetuação através de gerações e diversos estudos nas últimas décadas mostram que estes cromossomos evoluíram mecanismos ativos de perpetuação que podem exercer efeitos benéficos, deletérios ou neutros nos indivíduos portadores (Camacho et al., 2000; Pokorná e Reifová, 2021). De acordo com Valente et al. (2017), a perpetuação destes cromossomos é ativamente garantida devido a manipulações em todo o sistema celular a fim de beneficiar sua própria sobrevivência. Desta forma, estes cromossomos são entendidos como elementos genômicos parasitários ou egoístas (Östergren, 1945; Nur, 1962).

De forma geral, os cromossomos B não causam efeitos fenotípicos perceptíveis (Burt e Trivers, 2006). Contudo, em algumas espécies a presença destes cromossomos levam a efeitos fenotípicos mais evidentes, como a alteração da coloração do aquênio em *Haplopappus gracilis* (Jackson e Newmark, 1960) e a alteração do tempo da florada masculina em milho (Ruas et al., 2025). Com o refinamento crescente das técnicas de biologia molecular, um número cada vez maior de estudos vem desvendando efeitos complexos menos perceptíveis destes cromossomos. Alguns exemplos incluem: a eliminação dos cromossomos B apenas nas células das raízes de *Aegilops speltoides* durante a fase embrionária (Ruban et al., 2020); a presença de um gene adquirido por hibridação interespecífica chamado de haploidizador em *Nasonia vitripennis*, que causa uma conversão sexual de fêmeas em machos ao expulsar todo o genoma vindo do

espermatozoide (Dalla Benetta et al., 2020); a presença de um gene determinante de sexo feminino epistaticamente dominante ao Y em ciclídeos (Clark e Kocher, 2019); e a presença e atividade do gene *gdf6b* determinante de sexo masculino no cromossomo B de *Astyanax mexicanus* (Imarazene et al., 2021).

O conteúdo gênico dos cromossomos B parece ser um fator importante para garantir sua perpetuação (Ruiz-Ruano et al., 2019). Uma marcante característica inerente a maioria dos cromossomos B é a sua capacidade de burlar a taxa de transmissão mendeliana, se acumulando na prole através de um mecanismo chamado de *drive* (Camacho, 2005). Um dos mais conhecidos mecanismos de *drive* se dá durante a meiose feminina (Aker et al., 2017). Devido à assimetria do fuso meiótico, o cromossomo B se liga preferencialmente ao lado do ovócito no fuso e evita ser eliminado no corpúsculo polar (Kayano, 1957; Hewitt, 1976; Zurita et al., 1998). No entanto, os cromossomos B podem realizar o *drive* de outras maneiras, como aumentando em número por indivíduo, aumentando o número de indivíduos portadores de cromossomos B na população, e diversas outras formas (Revisão em Jones, 2018). É interessante destacar que vários genes relacionados com o ciclo celular já foram encontrados em cromossomos B (Valente et al., 2014; Makunin et al., 2018; Park et al., 2019; Silva et al., 2021a) e, desta forma, é possível de se especular que estes cromossomos egoístas consigam ativamente manipular a maquinaria celular em benefício próprio (Ruiz-Ruano et al., 2019). No entanto, casos de cromossomo B com transmissão abaixo de 50% também são verificados em algumas espécies e nesses casos tendem à extinção (Camacho et al., 2000; Penitente et al., 2013).

As espécies do gênero *Psalidodon* representam excelentes modelos de estudo de cromossomos B em peixes, uma vez que pelo menos oito espécies possuem cromossomos B (Silva et al., 2022), muitos dos quais possuem frequências variadas e estabilidade mitótica, permitindo uma ampla variedade de estudos. Dentre elas, o complexo de espécies *Psalidodon scabripinnis* abriga a espécie *P. paranae* e possui os cromossomos B mais estudados do gênero. Recentemente, Silva et al. (2021a) encontraram pelo menos 21 genes codificadores de proteínas nos cromossomos B metacêntricos grandes (BM) de *P. paranae* e *P. scabripinnis*, sendo que alguns destes genes estavam superexpressos em indivíduos 1B. Ainda, os cromossomos B do complexo *P. scabripinnis* parecem estar relacionados à diferenciação do sexo. Isto se deve aos diversos registros de maior frequência de cromossomos B em fêmeas desta espécie (Revisão em Silva et al., 2022), além da descoberta de que gônadas de indivíduos 1B machos superexpressam o gene *dmrt1* e fêmeas subexpressam o gene *foxl2a* (Castro et al., 2018; 2019), ambos envolvidos com vias metabólicas de diferenciação sexual.

Dentre as variantes de cromossomo B encontradas em *Psalidodon*, a variante BM é um isocromossomo metacêntrico com tamanho similar ao primeiro par cromossômico (Silva et al., 2017). Em *P. scabripinnis* e *P. paranae* foi demonstrado que durante a meiose os braços da variante BM realizam autopareamento (Mestriner et al., 2000; Silva et al., 2021b). Desta forma, de acordo com Silva et al. (2021b), estes cromossomos poderiam escapar do silenciamento meiótico causado por cromatina não-sinaptada e assim expressar os seus próprios genes. Neste sentido, a expressão de genes relacionados ao processo de meiose poderia auxiliar a transmissão do cromossomo B, como pode ser o caso dos genes *msh4* e *nusap1*, dois genes envolvidos relacionados a processos de divisão celular que são expressos a partir dos cromossomos B em ovários (Silva et al., 2021a, b).

Fora do complexo *P. scabripinnis*, a espécie *Psalidodon bockmanni* também apresenta uma variante de cromossomo BM (Silva et al., 2016). Silva et al. (2021a) identificaram que esta variante abriga pelo menos 14 genes codificadores de proteína, sendo que 9 destes são compartilhados com o cromossomo BM do complexo *P. scabripinnis*, incluindo os genes *msh4* e *nusap1*, o que indica uma origem em comum para ambas as variantes. No entanto, ao contrário do observado no complexo *P. scabripinnis* em *P. bockmanni* não é observado maior presença do cromossomo B em um dos sexos ou outros efeitos fenotípicos associados a sua presença, o que sugere mecanismos diferentes de atuação para perpetuação destes cromossomos.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avançar os estudos de cromossomo B em *Psalidodon paranae* e *Psalidodon bockmanni* através de duas abordagens distintas. No primeiro capítulo desta tese, foi realizada a montagem em nível cromossômico e anotação do genoma de um indivíduo portador de cromossomo B de *P. paranae*. Além da obtenção de um genoma de referência para a espécie, esta abordagem nos permitiu avaliar a estrutura e composição do cromossomo B em escala cromossômica. No segundo capítulo, foram investigadas as diferenças no perfil proteômico global em ovários de *P. paranae* e *P. bockmanni* com (1B, variante BM) e sem cromossomo B (0B). Para as análises proteômicas utilizamos a anotação obtida do genoma de *P. paranae* e transcriptoma montado de *P. bockmanni* para construir um banco de proteínas preditas e comparar com dados brutos de espectrometria de massas.

Referências

- Akera, T.; Chmátal, L.; Trimm, E.; Yang, K.; Aonbangkhen, C; Chenoweth, D.M.; Janke, C.; Schultz R.M; Lampson, M.A. Spindle asymmetry drives non-Mendelian chromosome segregation. **Science**, v. 358, n. 6363, p. 668-672, 2017.
- Burt, A.; Trivers, R. **Genes in conflict: the biology of selfish genetic elements**. Harvard University Press, 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.
- Castro, J.P.; Hattori, R.S.; Yoshinaga, T.T.; Silva, D.M.Z.A.; Ruiz-Ruano, F.J.; Foresti, F.; Santos, M.H.; Almeida, M.C.; Moreira-Filho, O.; Artioni, R.F. Differential expression of genes related to sexual determination can modify the reproductive cycle of *Astyanax scabripinnis* (Characiformes: Characidae) in b chromosome carrier individuals. **Genes**, v. 10, n. 11, p. 909, 2019.
- Castro, J.P.; Hattori, R.S.; Yoshinaga, T.T.; Silva, D.M.Z.A.; Foresti, F.; Santos, M.H.; Almeida, M.C.; Artioni, R.F. Differential expression of *dmrt1* in *Astyanax scabripinnis* (Teleostei, Characidae) is correlated with B chromosome occurrence. **Zebrafish**, v. 16, n. 2, p. 182-188, 2018.
- Clark, F.E.; Kocher, T.D. Changing sex for selfish gain: B chromosomes of Lake Malawi cichlid fish. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 20213, 2019.
- Covert, S.F. Supernumerary chromosomes in filamentous fungi. **Current genetics**, v. 33, n. 5, p. 311-319, 1998.
- Dalla Benetta, E.; Antoshechkin, I.; Yang, T.; Nguyen, Q.N.; Ferree, P.M.; Akbari, O.S. Genome elimination mediated by gene expression from a selfish chromosome. **Science Advances**, v. 6, n. 14, p. eaaz9808, 2020.
- Foresti, F.; Almeida-Toledo, L.F.; Toledo, S.A. Supernumerary chromosome system, C-banding pattern characterization and multiple nucleolus organizer regions in *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Pisces, Characidae). **Genetica**, v. 79, n. 2, p. 107-114, 1989.
- Hewitt, G.M. Meiotic drive for B-chromosomes in the primary oocytes of *Myrmekotettix maculatus* (Orthoptera: Acrididae). **Chromosoma**, v. 56, n. 4, p. 381-391, 1976.
- Houben, A.; Kynast, R.G.; Heim, U; Hermann, H.; Jones, R.N.; Forster, J.W. Molecular cytogenetic characterisation of the terminal heterochromatic segment of the B-chromosome of rye (*Secale cereale*). **Chromosoma**, v. 105, n. 2, p. 97-103, 1996.
- Imarazene, B.; Du, K.; Beille, S.; Jouanno, E.; Feron, R.; Pan, Q.; Torres-Paz, J.; Lopez-Roques, C.; Castinel, A.; Gil, L., et al. A supernumerary “B-sex” chromosome drives male sex determination in the Pachón cavefish, *Astyanax mexicanus*. **Current Biology**, v. 31, n. 21, p. 4800-4809. e9, 2021.
- Jackson, R.C.; Newmark, P. Effects of supernumerary chromosomes on production of pigment in *Haplopappus gracilis*. **Science**, v. 132, n. 3436, p. 1316-1317, 1960.
- Jones, R.N. Transmission and drive involving parasitic B chromosomes. **Genes**, v. 9, n. 8, p. 388, 2018.
- Kayano, H. Cytogenetic studies in *Lilium callosum* III. Preferential segregation of a supernumerary chromosome in EMCs. **Proceedings of the Japan Academy**, v. 33, n. 9, p. 553-558, 1957.
- Makunin, A.I.; Romanenko, S.A.; Beklemisheva, V.R.; Perelman, P.L.; Druzhkova, A.S.; Petrova, K.O.; Prokopov, D.Y.; Chernyaeva, E.N.; Johnson, J.L.; Kukekova, A.V., et al.,

Sequencing of supernumerary chromosomes of red fox and raccoon dog confirms a non-random gene acquisition by B chromosomes. **Genes**, v. 9, n. 8, p. 405, 2018.

Mestriner, C.A.; Galleti Jr, P.M.; Valentini, S.R.; Ruiz, I.R.; Abel, L.D. 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.

Nur, U. A supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in the lecanoid genetic system. **Chromosoma**, v. 13, n. 3, p. 249-271, 1962.

Östergren, G. Parasitic nature of extra fragment chromosomes. **Botaniska Notiser**, v. 2, p. 157-163, 1945.

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 & informatics**, v. 17, n. 3, p. e27, 2019.

Penitente, M.; Voltolin, T.A.; Senhorini, J.A.; Bortoluzzi, J.; Foresti, F.; Porto-Foresti, F. Transmission rate variation among three B chromosome variants in the fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 04, p. 1371-1377, 2013.

Pokorná J., Reifová M.R. Evolution of B chromosomes: from dispensable parasitic chromosomes to essential genomic players. **Frontiers in genetics**, v. 12, p. 727570, 2021.

Ruas, P.M.; Mondim, M.; Garcia, A.A.F.; Aguiar-Perecin, M.L.R. Maize B chromosome affects the flowering time. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 138, n. 4, p. 73, 2025.

Ruban, A.; Schmutzer, T.; Wu, D.D.; Fuchs, J.; Boudichevskaia, A.; Rubtsova, M.; Pistrick, K.; Melzer, M.; Himmelbach, A.; Schubert, V., et al. Supernumerary B chromosomes of *Aegilops speltoides* undergo precise elimination in roots early in embryo development. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 2764, 2020.

Ruiz-Ruano, F.J.; Navarro-Domínguez, B.; López-León, M.D.; Cabrero, J.; Camacho, J.P.M. Evolutionary success of a parasitic B chromosome rests on gene content. **BioRxiv**, p. 683417, 2019.

Silva, D.M.Z.A.; Daniel, S.N.; Camacho, J.P.M.; Utsunomia, R.; Ruiz-Ruano, F.J.; Penitente, M.; Pansonato-Alves, J.C.; Hashimoto, D.T.; Oliveira, C.; Porto-Foresti, F., et al. Origin of B chromosomes in the genus *Astyanax* (Characiformes, Characidae) and the limits of chromosome painting. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 291, n. 3, p. 1407-1418, 2016.

Silva, D.M.Z.A.; Ruiz-Ruano, F.J.; Utsunomia, R.; Martín-Peciña, M.; Castro, J.P.; Freire, P.P.; Carvalho, R.F.; Hashimoto, D.T.; Suh, A.; Oliveira, C., et al. Long-term persistence of supernumerary B chromosomes in multiple species of *Astyanax* fish. **BMC biology**, v. 19, n. 1, p. 52, 2021a.

Silva, D.M.Z.A.; Castro, J.P.; Goes, C.A.G.; Utsunomia, R.; Vidal, M.R.; Nascimento, C.N.; Lasmar, L.F.; Paim, F.G.; Soares, L.B.; Oliveira, C., et al. B chromosomes in *Psalidodon scabripinnis* (Characiformes, Characidae) species complex. **Animals**, v. 12, n. 17, p. 2174, 2022.

Silva, D.M.Z.A.; Araya-Jaime, C.; Yamashita, M.; Vidal, M.R.; Oliveira, C. et al. Meiotic self-pairing of the *Psalidodon* (Characiformes, Characidae) iso-B chromosome: A successful perpetuation mechanism. **Genetics and Molecular Biology**, v. 44, n. 3, p. e20210084, 2021b.

Silva, D.M.Z.A.; Utsunomia, R.; Ruiz-Ruano, F.J.; Daniel, S.N.; Porto-Foresti, F. 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.

Valente, G.T.; Nakajima, R.T.; Fantinatti, B.E.A.; Marques, D.F.; Almeida, R.O.; Simões, R.P.; Martins, C. B chromosomes: from cytogenetics to systems biology. **Chromosoma**, v. 126, n. 1, p. 73-81, 2017.

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, 2014.

Zurita, S.; Cabrero, J.; López-León, M.D.; Camacho, J.P.M. Polymorphism regeneration for a neutralized selfish B chromosome. **Evolution**, v. 52, n. 1, p. 274-277, 1998.