

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 19/02/2022.

ANÁLISES CROMOSSÔMICAS E GENÔMICAS APLICADAS
AO ESTUDO EVOLUTIVO E ESTRUTURAL DOS
SATELITOMAS EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Gymnotus*
(TELEOSTEI, GYMNOTIFORMES)

SILVANA DE MELO

BOTUCATU - SP

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

ANÁLISES CROMOSSÔMICAS E GENÔMICAS APLICADAS
AO ESTUDO EVOLUTIVO E ESTRUTURAL DOS
SATELITOMAS EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Gymnotus*
(TELEOSTEI, GYMNOTIFORMES)

NOME DA CANDIDATA: SILVANA DE MELO

ORIENTADOR: FAUSTO FORESTI

CO-ORIENTADOR: RICARDO UTSUNOMIA

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

BOTUCATU - SP

2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Melo, Silvana de.

Análises cromossômicas e genômicas aplicadas ao estudo evolutivo e estrutural dos satelitomas em espécies do gênero *Gymnotus* (Teleostei, Gymnotiformes) / Silvana de Melo. - Botucatu, 2020

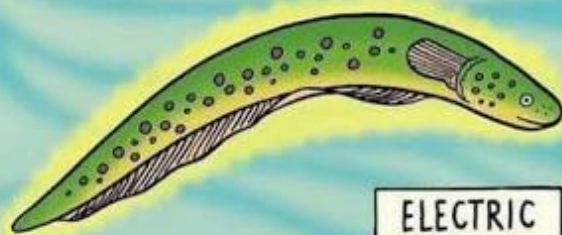
Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Fausto Foresti
Coorientador: Ricardo Utsunomia
Capes: 20203004

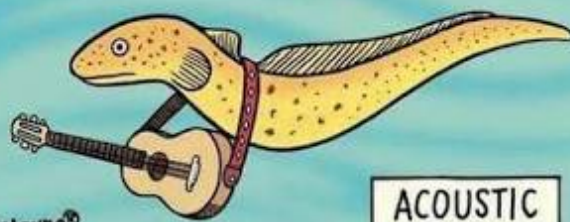
1. Citogenética animal. 2. Teleosteos. 3. Peixe - Genética. 4. DNA satélite.

Palavras-chave: Citogenética de peixes; DNA repetitivo; Gymnotidae; Satelitoma.

KNOW YOUR EELS



ELECTRIC



ACOUSTIC

@Wayno®
12-16-16
GOCOMICS.COM/WAYNOVISION

Agradecimentos

“É junto dos ‘bão’ que a gente fica ‘mió’”. (Guimarães Rosa, em “Grande Sertão Veredas” - 1956). Início os agradecimentos com muita alegria pelo o que foi construído ao longo de todos esses anos, felizmente nunca sozinha. Desde a tia Penha, minha primeira professora, deixo aqui os meus agradecimentos a todos os educadores e pensadores que passaram pelo meu caminho e despertaram em mim o interesse pela ciência.

Ao meu orientador, meu pai científico, professor Fausto Foresti, por fazer a utopia de chegar ao final do Doutorado satisfeita com a minha pesquisa se tornar realidade. Não tem palavra que o descreva melhor do que “incentivador”. Muito obrigada, meu professor!

Ao professor Claudio, por toda a ajuda nos momentos pontuais de desespero, que não foram poucos, e todo o aconselhamento ao longo do caminho.

Ao meu co-orientador, professor Ricardo Utsunomia, pela amizade de todos esses anos, oportunidade e suporte científico para a realização desse trabalho.

I also would like to thank professor Nathan Lovejoy for the opportunity to go abroad and study at the University of Toronto, accomplishing a very special chapter in this thesis. This opportunity meant a lot for me, especially for the friends I made. I am so grateful to JP, Frances, Kavi, Lisa, Ahmed, Alex, Katherine and all the undergrads at Lovejoy's Lab.

Aos Desaplaudidos do PDSE na *U of T*, companheiros de perrengues, muitas vezes linguísticos, desafios e conquistas. Especialmente ao Bruno, Áurea, Emanuel e ao combo *cariño* Vanessa e Dario. Aurinha, estou esperando meu cubo mágico.

Aos amigos que fiz durante o PDSE no Canadá. Especialmente à Elaine, Júlia, Kate, Ivan, Leonardo e Helena. Os meus dias foram muito mais lindos e grande parte da saudade que tenho de Toronto está relacionada a vocês.

A minha família LBGP, lugar de tanto apoio e tanto suporte ao longo desses anos. Aos amigos Dani, Ivis, Fabi, Sova, Naná, Lori, Gi, May, Gabi, Bia Boza, Bia Dorini, Angélica, Najila, Marionete, Luz, Bruno Melo, casal Bruno Ota e Rafa Ota, Bruno Campos, Vanessa, Mateus, Cristiano, Cristhian, Paty, Cris, Vivi, Pri, Érica, Li. Especialmente aos integrantes do grupo citogenético *Los Transposons*, Renato, Du e menino Morms. Vocês são meu abrigo, família a gente também pode escolher e vocês são a minha.

À galera do LAGENPE em Bauru, famoso padrão LAGENPE, pelos biscoitos, cafés e análises de quartas esporádicas.

Aos amigos que me apoiaram e caminharam comigo até aqui. Jor, AnaJú, Bia Pereira, Inacio, Danusy, Jú Chiti, Vet, Paula, Carla, Naty Sanches, Marina Oliveira, Marininha.

Aos amigos da pós-graduação, especialmente aos colegas da PG Genética por todos os momentos de entrosamento, ajuda e cuidado.

Aos meus pais e minhas irmãs maravilhosas. Dona Neia, obrigada pelo carinho, consultas podológicas e cafés sempre quentinhos. Sr. Chacal, sou muito grata pelo zelo, pelo apoio emocional e financeiro desde o início. Sinceramente, não teria mesmo como dar esse passo sem o suporte de vocês. Obrigada por sempre acreditarem em mim.

Agradecimento Especial

Gostaria de agradecer especialmente ao ensino público e expressar o meu apoio pela manutenção do mesmo, lugar de excelência em ensino, pesquisa, atividades de extensão e um direito de todos. “O fim do direito é a paz [para o Estado], o meio de que se serve para consegui-lo [o direito] é a luta.” (Rudolf von Ihering, em “A Luta pelo Direito” - 1872).

À CAPES (Processos 88882.433922/2019-01 e 88881.188817/2018-01) pelos auxílios concedidos a mim, às agências de fomento CNPq e FAPESP por auxílios de outrora que possibilitaram a obtenção e manutenção da estrutura laboratorial essencial para o desenvolvimento dessa tese. Estendo, também, agradecimentos especiais ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética), bem como aos coordenadores e responsáveis pelo funcionamento da Secretaria do PPG.

The analyses that supported the second chapter were funded by Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (discovery grant to Nathan Richard Lovejoy).

Resumo

Um dos tipos mais abundantes de DNA repetitivo, o DNA satélite, apresenta importantes aspectos estruturais e evolutivos, como o acúmulo diferencial entre espécies próximas e taxas de evolução molecular variadas. O satelitoma, identificado como o conjunto total de DNAs satélites (satDNA) de determinado organismo, permite uma investigação mais aprofundada em abundância e riqueza desses elementos repetitivos entre espécies, mas ainda é de conhecimento restrito entre espécies de peixes. Mapeamentos prévios de DNA repetitivo no gênero *Gymnotus* evidenciaram uma ampla diversificação na distribuição dessas sequências no genoma do grupo, todavia é restrita a porção de DNA repetitivo reportado pela limitação de metodologias passadas. Dessa forma, a associação recente de plataformas de Sequenciamento de Próxima Geração (NGS) com análises de bioinformática proporcionam um acesso mais refinado ao genoma, permitindo a anotação de um maior número de elementos repetitivos nos componentes desse grupo. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a evolução do DNA satélite e a distribuição física de famílias de satDNAs em espécies de peixe elétrico do gênero *Gymnotus*, a partir da construção do satelitoma dos grupos. Os genomas das espécies dos principais clados de *Gymnotus* foram acessados e a metodologia de filtragem pela plataforma RepeatExplorer e satMiner permitiu a identificação do satelitoma em cada um dos grupos abordados, caracterizando massivamente as famílias de satDNAs dentro de complexo de espécies diferentes em *Gymnotus*, destacando os processos de diferenciação genética, a evolução e a dinâmica destas sequências entre representantes do grupo.

Abstract

One of the most relevant types of repetitive DNA, the satellite DNA, has important structural and evolutionary aspects, such as differential accumulation between close species and diverse molecular evolution rates. The satellitome, identified as the total set of satellite DNAs (satDNA) of a given organism, allows further investigation into the abundance and richness of these elements between species, but is still of limited knowledge among fish species. Previous studies of repetitive DNA mapping in the Gymnotidae fish family showed a wide diversification in the distribution of these sequences in the genome of the group. Since past methodologies have been limited in reporting this portion of repetitive DNA, there is still too much to know regarding these elements. Notably, the recent association of Next Generation Sequencing (NGS) platforms with bioinformatics analysis provides a more refined access to the genome, allowing annotation of a greater number of repetitive elements. Thus, the aim of the present study was to investigate the evolution of satellite DNA and the physical distribution of satDNA families in *Gymnotus*, through the construction of the satellitome of the groups. The genomes of the species from the main *Gymnotus* clades were accessed and the RepeatExplorer filtering methodology allowed the identification of the satellitome in each of the groups analyzed, massively characterizing the families of satDNAs within each species complex in *Gymnotus*, highlighting the processes of genetic differentiation, evolution and dynamics of these sequences among representatives of this group.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	7
1.1	Estrutura e organização do genoma repetitivo	7
1.2	<i>Next-generation sequencing</i> (NGS) como ferramenta para análises globais de sequências repetitivas	8
1.3	Análise <i>high-throughput</i> e a busca por DNA satélite	9
1.4	Citogenética de peixes e o estudo do DNA satélite	10
1.5	Sistemática e citogenética na ordem Gymnotiformes e no gênero <i>Gymnotus</i>	11
1.6	Justificativa	13
2	OBJETIVOS	14
3	MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1	Amostragem das espécies de <i>Gymnotus</i>	15
3.2	Obtenção de cromossomos metafásicos mitóticos	15
3.3	Coloração convencional com Giemsa	16
3.4	Hibridação in situ fluorescente – FISH	17
3.5	Extração de DNA genômico	18
3.6	Sequenciamento de Próxima Geração (NGS)	18
3.7	Análises bioinformáticas em servidor remoto	19
3.8	Prospecção de satélites com RepeatExplorer – satMiner	19
3.9	Desenho de primers e preparação das sondas	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1	Capítulo 1 - Satelitoma comparativo e estrutural nas espécies <i>Gymnotus cuia</i> e <i>Gymnotus sylvius</i> (Gymnotiformes, Gymnotidae)	23

4.2	Capítulo 2 - Análise genômica da evolução de DNAs satélites em complexos de espécies do gênero <i>Gymnotus</i> (Teleostei, Gymnotiformes)	40
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
6	REFERÊNCIAS	55
7	MATERIAL SUPLEMENTAR	63
7.1	Material Suplementar – Capítulo 1	63
7.2	Material Suplementar – Capítulo 2	68
8	ANEXOS	73
8.1	Anexo I – Certificado do Protocolo de ética CEUA 974/2017 (IBB/UNESP)	73
8.2	Anexo II - RepeatExplorer utilizado x RepeatExplorer <i>TAREAN</i>	74
9	APÊNDICE	77
9.1	Produção Acadêmica e Científica no Doutorado (2016-2020)	77

1 INTRODUÇÃO

1.1 Estrutura e organização do genoma repetitivo

O genoma dos eucariotos se caracteriza por apresentar sequências de nucleotídeos com arranjos variados, formando dois grandes grupos; o primeiro composto por regiões gênicas, e o segundo representado pelas sequências de DNA repetitivo. As sequências de regiões gênicas geralmente apresentam cópia única e constituem uma porção considerável dos genes funcionais, que geram diversos transcritos com funções variadas. Já as sequências de DNA repetitivo são constituídas por segmentos de diversos tamanhos e naturezas, que se repetem inúmeras vezes ao longo do genoma (Charlesworth et al. 1994).

Particularmente, a porção genômica repetitiva apresenta algumas características comuns, podendo ser ressaltado o seu elevado caráter polimórfico nos genomas e ainda o possível acúmulo em regiões que apresentam baixas taxas de recombinação (Charlesworth et al. 1994; Steinemann & Steinemann 2005). De forma geral, o DNA repetitivo compreende sequências dispersas no genoma, como os elementos transponíveis, ou organizadas *in tandem*, como as sequências de famílias multigênicas e as sequências satélites (Charlesworth et al. 1994; Nei & Rooney 2005).

O DNA satélite (satDNA) constitui uma fração não codificante do genoma dos organismos e consiste em sequências repetidas *in tandem* que podem chegar a formar longos *arrays* de dezenas a milhares de nucleotídeos (Garrido-Ramos 2017). Este tipo de sequência está localizado preferencialmente em regiões pericentroméricas e subteloméricas dos cromossomos, embora também possa ocorrer nas regiões intersticiais (López-Flores & Garrido-Ramos 2012; Plohl et al. 2012). A teoria do “Paradoxo do valor C”, que associa diretamente a complexidade dos organismos à quantidade de DNA genômico, é completamente refutada pela presença de DNAs repetitivos como os DNAs satélites, visto que o genoma dos eucariotos apresenta um variável acúmulo desse tipo de sequência (Thomas Jr. 1971; Garrido-Ramos 2017).

As sequências de DNA satélite são representadas por diferentes famílias que variam nos genomas com relação à localização, constituição, tamanho da unidade de repetição e abundância (Garrido-Ramos 2015, 2017). Recentemente, Ruiz-Ruano et al. (2016a) propuseram um caminho evolutivo para cada família de DNA satélite existente no genoma das espécies eucarióticas. Neste estudo, os autores propõem que o nascimento de um satDNA se daria pela duplicação de alguma sequência em determinado local do genoma, formando um

pequeno *array* de sequências; este *array* seria, então, disseminado para diversos locais do genoma, podendo passar subsequentemente por processos locais de amplificação.

O termo “DNA satélite” apresenta um cunho histórico, pois a descoberta desse tipo de DNA repetitivo se deu por um pequeno pico no perfil de ultracentrifugação em Cloreto de Césio (CsCl) (Kit 1961). Atualmente, a técnica de ultracentrifugação não é mais utilizada para procurar sequências de satDNA, tendo sido substituída por ferramentas mais eficazes e resolutivas, tais como a cinética de renaturação (Britten et al. 1974) e digestão com enzimas de restrição seguida de eletroforese, originando um padrão de escada (Singer 1982). Mais recentemente, foi desenvolvida a metodologia de análise bioinformática de sequências de DNA geradas por Sequenciamento de Próxima Geração (NGS) (Novák et al. 2013). Nesse sentido, a incorporação de ferramentas de bioinformática permitiu uma alta eficiência na detecção de sequências de DNA repetitivo, incluindo DNAs satélites.

1.2 *Next-generation sequencing* (NGS) como ferramenta para análises globais de sequências repetitivas

As tecnologias de NGS, recentemente desenvolvidas para estudos genômicos, tornaram o processo de caracterização de sequências nucleotídicas mais eficiente, com sequenciamentos que geram uma quantidade massiva de dados, tornando possível até mesmo a comparação de genomas inteiros de organismos. Tais avanços metodológicos têm sido acompanhados por novas propostas de análises bioinformáticas com *pipelines* amigáveis, possibilitando o estudo de determinadas porções do genoma dos organismos.

Análises prévias de regiões repetitivas de DNA a partir de dados providos da aplicação de técnicas de NGS tem se constituído um desafio nos últimos anos, principalmente porque a maioria das ferramentas de bioinformática geralmente requer genomas previamente montados para a identificação da repetição, ou baseiam-se em buscas de similaridade em bancos de dados de elementos repetitivos já conhecidos (Novak et al. 2010). Contudo, tais particularidades dificultam o estudo e a caracterização destas regiões em organismos não-modelos. Nessa abordagem, para que as técnicas funcionem com sucesso, é necessário que os organismos em estudo possuam genomas bem montados, o que ainda não é comum em espécies de peixes neotropicais.

Novak et al. (2010) descreveram uma abordagem diferencial para a identificação de repetições utilizando os *reads* providos diretamente do sequenciamento *de novo* do DNA. Esta abordagem consistiu em demonstrar, de forma gráfica (*graph-based*), grupos de *reads* que se

sobrepõem frequentemente formando *clusters*. Tal estratégia foi utilizada com sucesso para a análise da porção repetitiva do genoma em plantas (Novak et al. 2010; Macas et al. 2011) e animais (Pagan et al. 2012; Ruiz-Ruano et al. 2016b; Silva et al. 2017; Utsunomia et al. 2016, 2019). Além disso, destaca-se que o número de *reads* gerados pelo sequenciamento na abordagem citada mostrou-se proporcional à abundância genômica das sequências analisadas (Macas et al. 2007; Novak et al. 2010). Assim, a eficiência deste método para o estudo da composição repetitiva presente em cromossomos poderia apontar tanto as repetições mais abundantes como aquelas exclusivas nas diferentes bibliotecas, tal como demonstrado em plantas do gênero *Rumex* (Steflova et al. 2013). Dessa forma, a aplicação da técnica de NGS aliada à análise de *reads in silico*, poderia identificar e caracterizar de forma mais rápida e massiva as famílias de DNA repetitivo acumuladas em cromossomos específicos ou espécies, em comparação com as informações obtidas por métodos clássicos, realizados com base em cortes no genoma com enzimas restrição.

1.3 Análise *high-throughput* e a busca por DNA satélite

O sequenciamento massivo é tido como uma metodologia de alto rendimento, podendo gerar milhões de *reads* a custo moderado comparado à plataformas anteriores, o que contribuiu positivamente para estudos de DNA satélites reportados recentemente na literatura (Ruiz-Ruano et al. 2016a, 2016b; Palacios-Gimenez et al. 2017; Utsunomia et al. 2016, 2019). Adicionalmente às milhões de sequências geradas após o sequenciamento (*throughput*), novas *pipelines* de análise computacional (*in silico*) estão sendo desenvolvidas para a análise desses *reads* e filtragem otimizada do DNA satélite, sendo possível construir uma biblioteca com todos os satDNAs presentes no genoma dos organismos (Ruiz-Ruano et al. 2016a, 2016b; Silva et al. 2017; Utsunomia et al. 2016, 2019).

Estudos pioneiros permitindo o acesso a toda coleção de satDNA foram realizados no gafanhoto *Locusta migratoria*, no qual 62 famílias de sequências foram anotadas (Ruiz-Ruano et al. 2016a, 2016b). Posteriormente, foi reportado que uma sequência, dentre toda a coleção de DNA satélites, é responsável por 55% do conteúdo genético do cromossomo B dessa espécie (Ruiz-Ruano et al. 2018). Antes de 2016, as metodologias disponíveis de isolamento por enzimas de restrição e eletroforese permitiram o isolamento de 21 famílias de satDNA em insetos da ordem Orthoptera, em sua maioria espécies de gafanhotos; sendo assim, a nova metodologia por filtragem representa, então, um aumento substancial no conhecimento de sequências satélites (Ruiz-Ruano et al. 2016b).

Entre os peixes, os primeiros estudos reportados em literatura foram nas espécies de Characiformes *Astyanax paranae*, *Megaleporinus macrocephalus* e *Characidium gomesi* com a identificação de 45, 164 e 59 famílias de DNA satélite, respectivamente (Silva et al. 2017; Utsunomia et al. 2019; Serrano-Freitas et al. 2020). Deve-se destacar que nos estudos acima citados, diferentes catálogos de DNA satélite foram descritos e caracterizados, mas nenhuma comparação interespecífica com mais de um genoma analisado foi realizada, de modo a investigar as possíveis relações existentes, bem como a evolução e a dinâmica destas sequências em um grupo de espécies relacionadas.

1.4 Citogenética de peixes e o estudo do DNA satélite

A fauna de peixes de água doce na região continental Neotropical é representada por cerca de 5.160 espécies, constituindo aproximadamente um terço de toda a riqueza de espécies de peixes de água doce mundial (Reis et al. 2016). A identificação e descrição de novas espécies de peixes reportadas em literatura é crescente, sendo estimada a ocorrência de mais de 8.000 espécies na região Neotropical (Reis et al. 2016). No entanto, embora apenas uma pequena parcela destas espécies tenha sido geneticamente analisada, uma intensa variabilidade intra- e interespecífica vem sendo descrita nos últimos 40 anos, incluindo a ocorrência de variações cariotípicas numéricas e estruturais, além da caracterização de cromossomos com características particulares, como os cromossomos supranumerários e certos heteromorfismos ligados ao sexo (revisões em Oliveira et al. 2009; Arai 2011). Com o advento e a popularização da técnica de Hibridação *in situ* Fluorescente (FISH), no final de década de 90, os estudos citogenéticos em peixes se voltaram para a caracterização e mapeamento físico de diversos tipos de DNA repetitivo, especialmente de sequências de DNAs ribossômicos 5S e 18S, além de diferentes satDNAs (Mestriner et al. 2000; Artoni et al. 2006; Martins et al. 2006; Vicari et al. 2010; Cioffi et al. 2011; Melo et al. 2017; Silva et al. 2017).

Embora sejam abundantes no genoma dos peixes, poucos estudos foram realizados até o momento relacionados à caracterização e ao aspecto evolutivo de um conjunto de DNAs satélites considerando diferentes espécies de um grupo biológico (De La Herrán et al. 2001; Lanfredi et al. 2001; Robles et al. 2004; Martins et al. 2006; Lima et al. 2017; Palacios-Gimenez et al. 2017; Silva et al. 2017; Utsunomia et al. 2017, 2019). Além disso, grande parte dos estudos desenvolvidos teve como objetivo principal a geração de marcadores citogenéticos para análises mais refinadas sobre a origem e evolução de cromossomos supranumerários e de cromossomos relacionados ao sexo (Koehler et al. 1997; Mestriner et al. 2000; Jesus et al. 2003; Artoni et al.

2006; Parise-Maltempo et al. 2013; Utsunomia et al. 2016; Melo et al. 2017; Silva et al. 2017). Deve ser destacado que a técnica de restrição enzimática do genoma para a caracterização destas sequências foi utilizada em alguns dos estudos citados acima. No entanto, esta metodologia apresenta a eficiência limitada, pois utiliza do princípio do acaso para que as enzimas selecionadas cortem o DNA na região desejada do satDNA a ser estudado. Além disso, por representarem segmentos genômicos altamente dinâmicos e suscetíveis a rápidas mudanças, estes elementos satélites são geralmente sequências espécie- ou gênero-específicas, o que dificulta o estudo sistematizado de um mesmo satDNA, ou de uma coleção deles (satelitoma), em diferentes espécies (Vicari et al. 2010; Ruiz-Ruano et al. 2016a, 2016b; Garrido-Ramos 2017; Utsunomia et al. 2017). Nesse sentido, metodologias como NGS associadas a análises de bioinformática, que permitem o isolamento, caracterização e análise de sequências repetitivas distribuídas por todo o genoma são extremamente relevantes, considerando-se especialmente de regiões de DNA satélite, tornando possível a construção da biblioteca de satDNA a partir do isolamento de todo o conjunto de DNA satélites existentes no genoma analisado.

1.5 Sistemática e citogenética na ordem Gymnotiformes e no gênero *Gymnotus*

A ordem Gymnotiformes é representada por cerca de 219 espécies válidas distribuídas em cinco famílias de peixes elétricos de água doce exclusivos da região Neotropical (Albert & Crampton 2003; Tagliacollo et al. 2016). A presença de órgãos elétricos nesta ordem de peixes deu origem à emissão de dois tipos de sinais elétricos que evoluíram monofileticamente, dividindo-se em dois grupos principais: Sinusoidea e Pulseoidea (Alda et al. 2019). Os grupos de peixes que apresentam sinais elétricos do tipo "onda" (Sinusoidea) são representadas pelas famílias Sternopygidae e Apterontidae, enquanto o sinal do tipo "pulso" (Pulseoidea) está presente nas famílias Rhamphichthyidae, Hypopomidae e Gymnotidae (Mago-Leccia 1994; Tagliacollo et al. 2016). Esse grupo de peixes, conhecido como *knifefishes*, apresenta ampla distribuição geográfica nas Américas (com exceção do Chile e Belize), ocorrendo na região cis- e trans- Andina na América do Sul, nas planícies dos pampas argentinos (36° S) até o Rio San Nicolás (região de Chiapas), no sul do México (18° N), sendo encontrados também na Ilha de Trinidad (Mago-Leccia 1994; Albert 2001).

Dentre os Gymnotiformes, a diversidade cariotípica é mais bem caracterizada nos gêneros *Gymnotus* (família Gymnotidae) e *Eigenmannia* (família Sternopygidae), por serem os táxons mais especiosos, além de estarem amplamente distribuídos pela região Neotropical,

especialmente em bacias da região da Amazônia, Orinoco e Guiana (Albert 2001; Albert & Crampton 2003; Lovejoy et al. 2010).

A família Gymnotidae é atualmente constituída por dois gêneros: *Electrophorus* e *Gymnotus*. *Electrophorus* foi, por décadas, tido como monotípico, com apenas uma espécie válida. Entretanto, duas novas espécies foram descritas recentemente, totalizando três espécies (Santana et al. 2019). Por outro lado, o gênero *Gymnotus* constitui um táxon muito especioso, com 43 espécies válidas atualmente, e muitos táxons aguardando descrição formal (Crampton & Hopkins 2005; Lovejoy et al. 2010; Crampton et al. 2013, Craig et al. 2018, 2019). Por conta da problemática em descrever novas espécies, devido a conflitos relacionados aos caracteres morfológicos, a sistemática do gênero *Gymnotus* é bastante complexa, com relações filogenéticas conflitantes entre alguns táxons e muitas espécies alocadas em complexos de espécies, como por exemplo o complexo *Gymnotus carapo*, situação que subestima a biodiversidade dentro deste gênero (Lovejoy et al. 2010). Notavelmente, os estudos citogenéticos, somados às características morfológicas, têm contribuído de forma significativa para acessar a diversidade presente em *Gymnotus*, especialmente no grupo *G. carapo* (Milhomem et al. 2008, 2012a, 2012b; Utsunomia et al. 2018). A família Gymnotidae possui um número diploide basal de 52 cromossomos (Silva et al. 2019), entretanto as espécies componentes do gênero *Gymnotus* apresentam uma ampla plasticidade cariotípica, com número diploide variando de 34 cromossomos em *G. capanema* a até 54 cromossomos em algumas populações de *G. carapo* e em *G. cuiá* (Utsunomia et al. 2018). A alta similaridade morfológica entre as espécies dentro de um mesmo complexo, como *G. carapo*, juntamente com a alta plasticidade cromossômica, reforça a abordagem citogenética como uma ferramenta eficaz para contribuir com diagnósticos taxonômicos neste grupo de peixes e inclusive sugere alguns marcadores de DNA repetitivo, como o DNAr 5S, como um possível marcador biogeográfico para o gênero (Fernandes-Matioli & Almeida-Toledo 2001; Scacchetti et al. 2011; Milhomem et al. 2012a; Silva et al. 2019).

Os dados citogenéticos disponíveis para o gênero *Gymnotus* refletem a existência de uma ampla e interessante diversidade cariotípica dentro do gênero, relacionada a eventos de rearranjos cromossômicos e a uma acumulação diferencial na distribuição do DNA repetitivo (Silva et al. 2019). No entanto, deve-se destacar que algumas porções do genoma dos representantes deste gênero ainda permanecem desconhecidas, como as sequências de DNA satélite. Nesse sentido, a utilização de múltiplas abordagens, como o Sequenciamento de Próxima Geração e o consequente mapeamento citogenético de regiões satélites a partir do sequenciamento, possibilitariam a obtenção de informações de interesse para a melhor

compreensão da organização do genoma e estrutura cariotípica neste grupo de organismos, aumentando o conhecimento sobre os processos envolvidos na diversificação e evolução dessas espécies da família Gymnotidae.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segmentos de DNA repetitivo, anteriormente associados à depósitos genômicos inertes e sem nenhuma função aparente, recentemente têm estado sob a atenção de pesquisas por exibirem mais do que apenas funções estruturais. Dentre as novas funções que estão sendo atribuídas a esses elementos do genoma, ressaltam-se aquelas relacionadas ao enovelamento do material genético e à regulação de genes, caso específico do DNA satélite, uma das mais diversas classes de DNA repetitivo no genoma. Os resultados apresentados evidenciam a riqueza de DNA satélites em *Gymnotus* e podem contribuir para estudos futuros envolvendo a montagem do genoma deste grupo de peixes, visto que a relação de elementos repetitivos e sua abundância geralmente representam um desafio na montagem de genomas, devido a sua dinâmica própria e ao alto grau de polimorfismo dessas sequências.

Analisando estruturalmente os satDNAs identificados em *G. cuia* que apresentaram uma composição nucleotídica altamente similar com os satélites de *G. sylvius*, é possível afirmar que, embora identificadas como espécies distintas, o satelitoma dessas espécies é bem conservado, o que pode ser explicado pelo fato de as duas espécies pertencerem ao grupo *Gymnotus carapo* e, portanto, apresentarem mais proximidade nas suas relações filogenéticas. Em contrapartida, é possível destacar a existência de uma abundância variável na acumulação genômica e estrutural dentre esses elementos, corroborando a definição canônica de constituírem sequências repetitivas *in tandem*, com a organização altamente variável por desenvolverem caminhos evolutivos independentes.

Sequências satélites em distintos estágios de evolução e acumulação no genoma das espécies demonstram que, mesmo possuindo uma biblioteca ancestral, as espécies sofrem diferentes pressões evolutivas que refletem na fixação e acumulação genômica desses elementos, o que pode ser reforçado pela ausência de comportamento migratório no grupo e consequente isolamento geográfico dessas espécies (Silva et al. 2019). Ao realizar uma comparação excludente de satélites ao longo dos grupos, foi possível identificar um conjunto ancestral de satDNAs presentes em todas as espécies analisadas. Entretanto, os satélites compartilhados são de ordem intermediária de abundância, indicando que cada espécie tem um processo evolutivo independente na acumulação e fixação de DNAs satélites mais abundantes.

A caracterização de DNAs satélites em estudos anteriores foi realizada, por vezes, através de abordagens que permitiam o isolamento moderado de sequências, o que muitas vezes mascarava a riqueza de satDNAs existentes em determinados grupos (Garrido-Ramos 2017).

Além disso, por estarem comumente associados à heterocromatina, erroneamente considerada “DNA-lixo”, achava-se que essas sequências também não apresentavam função (Garrido-Ramos, 2017). Com a incorporação de novas metodologias potencialmente resolutivas, como NGS, análises *in silico* e ferramentas de citogenética molecular, o estudo do DNA satélite está se tornando uma abordagem eficaz e promissora no estudo da evolução cariotípica e genômica de variados grupos biológicos.

6 REFERÊNCIAS

- Albert, J. S. Species diversity and phylogenetic systematics of American knifefishes (Gymnotiformes, Teleostei). Los Angeles: Museum of Zoology, *University of Michigan* 127 (2001).
- Albert, J. S., Crampton, W. G. R. Seven new species of the Neotropical electric fish *Gymnotus* (Teleostei, Gymnotiformes) with a redescription of *G. carapo* (Linnaeus). *Zootaxa* 1-54, (2003).
- Alda, F., Tagliacollo, V. A. Bernt, M. J., Waltz, B. T., Ludt, W. B., Faircloth, B. C., Alfaro, M. E., Albert, J. S., Chakrabarty, P. Resolving deep nodes in an ancient radiation of Neotropical fishes in the presence of conflicting signals from incomplete lineage sorting. *Syst. Biol.* **68**, 573-593 (2019).
- Arai, R. Fish karyotypes: a check list. *Tokyo: Springer Japan* 340 (2011).
- Artoni, R. F., Vicari, M. R., Endler, A. L., Cavallaro, Z. I., Jesus, C. M., Almeida, M. C., Moreira-Filho, O., Bertollo, L. A. C. Banding pattern of A and B chromosomes of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae), with comments on B chromosomes evolution. *Genetica* **127**, 277-284 (2006).
- Britten, R. J., Graham, D. E., Neufeld, B. R. Analysis of repeating DNA Sequences by Reassociation. *Meth. Enzymol.* **29**, 363-418 (1974).
- Charlesworth, B., Snlegowski, P., Stephan, W. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. *Nature* **371**, 215-220 (1994).
- Cioffi, M. B., Camacho, J. P. M., Bertollo, L. A. C. Repetitive DNAs and differentiation of sex chromosomes in Neotropical fishes. *Cytogenet. Genome Res.* **132** 188-194 (2011).
- Cohen, S., Agmon, N., Sobol, O., Segal, D. Extrachromosomal circles of satellite repeats and 5S ribosomal DNA in human cells. *Mob. Dna* **1**, 11 (2010).
- Craig, J., Crampton, W., Albert, J. Revision of the polytypic electric fish *Gymnotus carapo* (Gymnotiformes, Teleostei), with descriptions of seven subspecies. *Zootaxa* **4318**, 401-438 (2017).
- Craig, J., Malabarba, L., Crampton, W., Albert, J. Revision of Banded Knifefishes of the *Gymnotus carapo* and *G. tigre* clades (Gymnotidae Gymnotiformes) from the Southern Neotropics. *Zootaxa* **4379** (2018).

- Craig, J. M., Kim, L. Y., Tagliacollo, V. A., Albert, J. S. Phylogenetic revision of Gymnotidae (Teleostei: Gymnotiformes), with descriptions of six subgenera. *PLoS ONE* **14**, e0224599 (2019).
- Crampton, W. G. R., Hopkins, C. D. Nesting and paternal care in the weakly electric fish *Gymnotus* (Gymnotiformes: Gymnotidae) with descriptions of larval and adult electric organ discharges of two species. *Copeia* **1**, 48-60 (2005).
- Crampton, W. G. R., Rodríguez-Cattáneo, A., Lovejoy, N. R., Caputi, A. A. Proximate and ultimate causes of signal diversity in the electric fish *Gymnotus*. *J. Exp. Biol.* **216**, 2523-2541 (2013).
- Dalíková, M., Zrzavá, M., Kubičková, S., Marec, F. W-enriched satellite sequence in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Chromosome Res.* **25**, 241-252 (2017).
- De La Herrán, R., Fontana, F., Lanfredi, M., Congiu, L., Leis, M., Rossi, R., Rejón, C. R., Rejón, M. R., Garrido-Ramos, M. A. Slow rates of evolution and sequence homogenization in an ancient satellite DNA family of sturgeons. *Mol. Biol. Evol.* **18**, 432-436 (2001).
- Dover, G. A. Evolution of genetic redundancy for advanced players. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **3**, 902-910 (1993).
- Ebrahimzadegan, R., Houben, A., Mirzaghaderi, G. Repetitive DNA landscape in essential A and supernumerary B chromosomes of *Festuca pratensis* Huds. *Sci. Rep.* **9**, 19989 (2019).
- Faria-Pereira, L. P., Hilsdorf, A. S., Albert, J., Paiva, M. J. T. R., Galvão, M. S. N. Molecular assessment of *Gymnotus* spp. (Gymnotiformes: Gymnotidae) fishing used as live baitfish in the Tietê River, Brazil. *Neotrop. Ichthyol.* **17**, e190075 (2019).
- Fernandes-Matioli, F. M. C., Almeida-Toledo, L. F. A Molecular phylogenetic analysis in *Gymnotus* species (Pisces: Gymnotiformes) with inferences on chromosome evolution. *Caryologia* **54**, 23-30 (2001).
- Foresti, F., Toledo-Filho, S. A., Almeida-Toledo, L. F. Polymorphic nature of the Nucleolus Organizer Regions in fishes. *Cytogenet. Cell Genet.* **31**, 134-141 (1981).
- Fry, K., Salser, W. Nucleotide Sequences of HS-A satellite DNA from kangaroo rat *Dipodomys Ordii* and characterization of similar sequences in other rodents. *Cell* **12**, 1069-1084 (1977).
- Fu, J., Zhang, H., Guo, F., Ma, L., Wu, J., Yue, M., Zheng, X., Qiu, Z., Li, L. Identification and characterization of abundant repetitive sequences in *Allium cepa*. *Sci. Rep.* **9**, 16756 (2019).

- Garrido-Ramos, M. A. Satellite DNA in plants: more than just rubbish. *Cytogenet. Genome Res.* **146**, 153-170 (2015).
- Garrido-Ramos, M. A. Satellite DNA: an evolving topic. *Genes* **8**, 1-41 (2017).
- Hancock, J. M. Simple sequences and the expanding genome. *Bioessays* **18**, 421-425 (1996).
- Heslop-Harrison, J. S. P., Schwarzacher, T. Organisation of the plant genome in chromosomes. *Plant J.* **66**, 18–33 (2011).
- Hinegardner, R., Rosen, D. E. Cellular DNA content and evolution of Teleostean fishes. *Am. Nat.* **106**, 621-644 (1972).
- Jesus, C. M., Galetti Jr, P. M., Valentini, S. R., Moreira-filho, O. Molecular characterization and chromosomal localization of two families of satellite DNA in *Prochilodus Lineatus* (Pisces, Prochilodontidae), a species with B chromosomes. *Genetica* **118**, 25-32 (2003).
- Kit, S. Equilibrium sedimentation in density gradients of DNA preparations from animal tissues. *J. Mol. Biol.* **3**, 711-716 (1961).
- Koehler, M. R., Haaf, T., Guttenbach, M., Schartl, M., Schmid, M. Cytogenetics of the genus *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). II. Molecular cytogenetics, organization and evolutionary conservation of a chromosome-specific satellite DNA from *Leporinus obtusidens*. *Chromosome Res.* **5**, 325-331 (1997).
- Lanfredi, M., Congiu, L., Garrido-Ramos, M. A., De La Herrán, R., Leis, M., Chicca, M., Rossi, R., Tagliavini, J., Rejón, C. R., Rejón, M. R., Fontana, F. Chromosomal location and evolution of a satellite DNA family in seven sturgeon species. *Chromosome Res.* **9**, 47-52 (2001).
- Lima, L. G., Svartman, M., Kuhn, G. C. S. Dissecting the satellite DNA landscape in three cactophilic *Drosophila* sequenced genomes. *G3 (Bethesda)* **7**, 2831-2843 (2017).
- López-Flores, I., Garrido-Ramos, M. A. The repetitive DNA content of eukaryotic genomes. In: Garrido-ramos, M. A. (Org.). Repetitive DNA. *Granada: Genome Dynamics, Karger, Basel* 1-28 (2012).
- Lovejoy, N. R., Lester, K., Crampton, W. G. R., Marques, F. P. L., Albert, J. S. Phylogeny, biogeography, and electric signal evolution of Neotropical knifefishes of the genus *Gymnotus* (Osteichthyes: Gymnotidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **54** 278-290 (2010).
- Louzada, S., Lopes, M., Ferreira, D., Adegas, F., Escudeiro, A., Gama-Carvalho, M., Chaves, R. Decoding the role of satellite DNA in genome architecture and plasticity—an evolutionary and clinical affair. *Genes* **11**, 72 (2020).
- Mago-Leccia, F. Electric fishes of the continental waters of America. *Caracas: Biblioteca De La Academia De Ciencias Fisicas, Matematicas Y Naturales* 206 (1994).

- Macas, J., Neumann, P., Navratilova, A. Repetitive DNA in the pea (*Pisum sativum* L.) genome: comprehensive characterization using 454 sequencing and comparison to soybean and *Medicago truncatula*. *BMC Genomics* **8**, 427 (2007).
- Macas, J., Kejnovsky, E., Neumann, P., Novák, P., Koblizkova, A., Vyskot, B. Next Generation Sequencing-based analysis of repetitive DNA in the model dioecious plant *Silene latifolia*. *PLoS ONE* **6**, e27335 (2011).
- Martins, C., Ferreira, I. A., Oliveira, C., Foresti, F., Galetti Jr, P. M. A tandemly repetitive centromeric DNA sequence of the fish *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) is derived from 5S rDNA. *Genetica* **127**, 133-141 (2006).
- Mcmurray, C. T. Mechanisms of DNA expansion. *Chromosoma* **104** 2-13 (1995).
- 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. *Comp. Cytogen.* **11**, 393-403 (2017).
- Mestriner, C. A., Galetti, P. M., Valentini, S. R., Ruiz, I. R. G., Abel, L. D. S., Moreira-Filho, O., Camacho, J. P. M. Structural and functional evidence that a B chromosome in the characid fish *Astyanax scabripinnis* is an isochromosome. *Heredity* **85**, 1-9 (2000).
- Meštrović, N., Mravinac, B., Pavlek, M., Vojvoda-Zeljko T., Šatović, E., Plohl, M. Structural and functional liaisons between transposable elements and satellite DNAs. *Chromosome Res.* **23**, 583 (2015).
- Milani, D., Cabral-de-Mello, D.C. Microsatellite organization in the grasshopper *Abracris flavolineata* (Orthoptera: Acrididae) revealed by fish mapping: remarkable spreading in the A and B chromosomes. *PLoS ONE* **9** (2014).
- Milhomem, S. S. R., Pieczarka, J. C., Crampton, W. G. R., Silva, D. S., Souza, A. C. P., Carvalho Jr., J. R., Nagamachi, C. Y. Chromosomal evidence for a cryptic species in the *Gymnotus carapo* species-complex (Gymnotiformes, Gymnotidae). *BMC Evol. Biol.* **9**, 75 (2008).
- Milhomem, S. S. R., Crampton, W. G. R., Pieczarka, J. C., Shetka, G. H., Silva, D. S., Nagamachi, C. Y. *Gymnotus capanema*, a new species of electric knife fish (Gymnotiformes, Gymnotidae) from eastern Amazonia, with comments on an unusual karyotype. *J. Fish Biol.* **80**, 812-815 (2012a).
- Milhomem, S. S. R., Crampton, W. G. R., Pieczarka, J. C., Silva, D. S., Cardoso, A. L., Silva, P. C., Oliveira, J. A., Nagamachi, C. Y. Chromosomal and electric signal diversity in three

- sympatric electric knifefish species (*Gymnotus*, Gymnotidae) from the central Amazon floodplain. *Rev. Fish Biol. Fish.* **22**, 485-497 (2012b).
- Milhomem, S. S. R., Scacchetti, P. C., Pieczarka, J. C., Ferguson-Smith, M. A., Pansonato-Alves, J. C., O'brien, P. C. M., Foresti, F., Nagamachi, C. Y. Are NORs always located on homeologous chromosomes? A fish investigation with rDNA and whole chromosome probes in *Gymnotus* fishes (Gymnotiformes). *PLoS ONE* **8**, e55608 (2013).
- Nei, M., Rooney, A. P. Concerted and birth-and-death evolution of multigene families. *Annu. Rev. Genet.* **39**, 121 (2005).
- Novák, P., Neumann, P., Macas, J. Graph-based clustering and characterization of repetitive sequences in Next-Generation Sequencing data. *BMC Bioinformatics* **11**, 378 (2010).
- Novák, P., Neumann, P., Pech, J., Steinhais, J., Macas, J. Repeatexplorer: A Galaxy-based WEB server for genome-wide characterization of eukaryotic repetitive elements from Next-Generation sequence reads. *Bioinformatics* **29**, 792-793 (2013).
- Novák, P., Robledillo, L. A., Kobylzková, A., Vrbová, I., Neumann, P., Macas, J. TAREAN: A computational tool for identification and characterization of satellite DNA from unassembled short reads. *Nucleic Acids Res.* **45**, 1 (2017).
- Oliveira, C., Foresti, F., Hilsdorf, A. W. S. Genetics of Neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiol. Biochem.* **35**, 81-100 (2009).
- Pagan, H. J., Macas, J., Novak, P., Mcculloch, E. S., Stevens, R. D., Ray, D. A. Survey sequencing reveals elevated DNA transposon activity, novel elements, and variation in repetitive landscapes among vesper bats. *Genome Biol. Evol.* **4**, 575-585 (2012).
- Palacios-Gimenez, O. M., Dias, G. B., Lima, L. G., Ramos, É., Martins, C., Cabral-de-Mello, D. C. High-throughput analysis of the satellitome revealed enormous diversity of satellite DNAs in the Neo-Y chromosome of the cricket *Eneoptera rurinamensis*. *Sci. Rep.* **7**, 6422 (2017).
- Parise-Maltempi, P. P., Da Silva, E. L., Rens, W., Dearden, F., O'brien, P. C., Trifonov, V., Ferguson-smith, M. A. Comparative analysis of sex chromosomes in *Leporinus* species (Teleostei, Characiformes) using chromosome painting. *BMC Genetics* **14** 60 (2013).
- Pinkel, D., Straume, T., Gray, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity, Fluorescence Hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **83**, 2934-2938 (1986).
- Plohl, M., Mestrovic, N., Mravinac, B. Satellite DNA Evolution. In: Garrido-ramos, M. A. (Org.). Repetitive DNA. *Granada: Genome Dynamics, Karger, Basel* 126-152 (2012).
- Reis, R. E., Albert, J. S., Dario, F. D., Mincarone, M. M., Petry, P., Rocha, L. A. Fish biodiversity and conservation in South America. *J. Fish Biol.* **90**, 1182 (2016).

- Robles, F., De La Herrán, R., Ludwig, A., Rejón, C. R., Rejón, M. R., Garrido-Ramos, M. A. Evolution of ancient satellite DNAs in sturgeon genomes. *Gene* **338**, 133-142 (2004).
- Ruiz-Ruano, F. J., Cuadrado, Á., Montiel, E. E., Camacho, J. P. M., López-León, M. D. Next Generation Sequencing and FISH reveal uneven and nonrandom microsatellite distribution in two grasshopper genomes. *Chromosoma* **124**, 221-234 (2015).
- Ruiz-Ruano, F. J., López-León, M. D., Cabrero, J., Camacho, J. P. M. High-throughput analysis of the Satellitome illuminates satellite DNA evolution. *Sci. Rep.* **6** (2016a).
- 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* **124**, 487-500 (2016b).
- 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* **127**, 45 (2018).
- Santana, C. D., Crampton, W. G., Dillman, C. B., Frederico, R. G., Sabaj, M. H., Covain, R., Ready, J. S., Zuanon, J., Oliveira, R. R., Mendes-Junior, R. N., Bastos, D. A., Teixeira, T. F., Mol, J., Ohara, W. M., Castro, N. C., Peixoto, L. A., Nagamachi, C. Y., Sousa, L., Montag, L. F., Ribeiro, F., Waddell, J. C., Piorsky, N. M., Vari, R. P., Wosiacki, W. B. Unexpected species diversity in electric eels with a description of the strongest living bioelectricity generator. *Nature* (2019).
- Scacchetti, P. C., Pansonato-Alves, J. C., Utsunomia, R., Oliveira, C., Foresti, F. Karyotypic diversity in four species of the genus *Gymnotus* Linnaeus, 1758 (Teleostei, Gymnotiformes, Gymnotidae): physical mapping of ribosomal genes and telomeric sequences. *Comp. Cytogen.* **5**, 223-235 (2011).
- Scacchetti, P. C., Alves, J. C. P., Utsunomia, R., Claro, F. L., Almeida-Toledo, L. F., Oliveira, C., Foresti, F. Molecular characterization and physical mapping of two classes of 5S rDNA in the genomes of *Gymnotus sylvius* and *G. inaequilabiatus* (Gymnotiformes, Gymnotidae). *Cytogenet. Genome Res.* **136**, 131-137 (2012).
- Serrano-Freitas, E. A., Silva, D. M. Z. A., Ruiz-Ruano, F. J., Utsunomia, R., Araya-Jaime, C., Oliveira, C., Camacho, J. P. M., Foresti, F. Satellite DNA content of B chromosomes in the characid fish *Characidium gomesi* supports their origin from sex chromosomes. *Mol. Genet. Genomics* **295**, 195–207 (2020).
- Silva, D. M. Z. A., Utsunomia, R., Ruiz-Ruano, F. J., Daniel, S. N., Porto-Foresti, F., Hashimoto, D. T., Oliveira, C., Camacho, J. P. M., Foresti, F. High-throughput analysis

- unveils a highly shared satellite DNA library among three species of fish genus *Astyanax*. *Sci. Rep.* **7**, 1 (2017).
- Silva, M., Matoso, D.A., Artoni, R. F., Feldberg, E. Karyotypic diversity and evolutionary trends in Neotropical electric fish of the genus *Gymnotus* (Gymnotiformes: Gymnotidae). *Zebrafish* **16**,308-320 (2019).
- Singer, M. F.Highly Repeated sequences in mammalian genomes. *Int. Rev. Cytol.* **76**, 67-112 (1982).
- Smit, A. F. A., Hubley, R., Green, P. RepeatMasker Open-3.0. (2010). Disponível Em: <<http://www.repeatmasker.org>>
- Steflova, P., Tokan, V., Vogel, I., Lexa, M., Macas, J., Novak, P., Hobza, R., Vyskot, B., Kejnovsky,E. Contrasting patterns of transposable element and satellite distribution on sex chromosomes (XY1Y2) in the dioecious plant *Rumex acetosa*. *Genome Biol. Evol.* **5**, 769-782 (2013).
- Steinemann, S., Steinemann, M. Y Chromosomes: born to be destroyed. *Bioessays* **27**, 1076-1083 (2005).
- Thomas Jr, C. A. The genetic organization of chromosomes. *Annu. Rev. Genet.* **5**, 237-256 (1971).
- Utsunomia, R., Pansonato-Alves, J. P., Paiva, R., Costa-Silva, G., Oliveira, C., Bertollo, L., Foresti, F. Genetic differentiation among distinct karyomorphs of the wolf fish *Hoplias malabaricus* species complex (Characiformes, Erythrinidae) and report of unusual hybridization with natural triploidy. *J. Fish Biol.* **85** (2014).
- Utsunomia, R., Silva, D. M. Z. A., Ruiz-Ruano, F. J., Araya-Jaime, C., Pansonato-Alves, J. C., Scacchetti, P. C., Hashimoto, D. T., Oliveira, C., Trifonov, V. A., Porto-Foresti, F., Camacho, J. P. M., Foresti, F. Uncovering The Ancestry Of B Chromosomes In *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Teleostei, Characidae). *PLoS ONE* **1**, 1-20 (2016).
- Utsunomia, R., Ruiz-Ruano, F. J., Silva, D. M. Z. A., Serrano, E. A., Rosa, I. F., Sobrinho-Scudeler, P. E., Hashimoto, D. T., Oliveira, C., Camacho, J. P. M., Foresti, F. A glimpse into the Satellite DNA library in Characidae fish (Teleostei, Characiformes). *Front. Genet.* **8**, 103 (2017).
- Utsunomia, R., Melo, S., Scacchetti, P. C., Oliveira, C., Machado, M. A, Pieczarka, J. C., Nagamachi C. Y., Foresti, F. Particular Chromosomal Distribution of Microsatellites in Five Species of the Genus *Gymnotus* (Teleostei, Gymnotiformes). *Zebrafish* **15**, 398-403 (2018).

- Utsunomia, R., Silva, D. M. Z. A., Ruiz-Ruano, F.J., Goes, C. A. G., Melo, S., Ramos, L. F. P., Oliveira, C., Porto-Foresti, F., Foresti, F., Hashimoto, D. T. Satellitome landscape analysis of *Megaleporinus macrocephalus* (Teleostei, Anostomidae) reveals intense accumulation of satellite sequences on the heteromorphic sex chromosome. *Sci. Rep.* **9**, 5856 (2019).
- Tagliacollo, V. A., Bernt, M. J., Craig, J. M., Oliveira, C., Albert, J. S. Model-based total evidence phylogeny of Neotropical electric knifefishes (Teleostei, Gymnotiformes). *Mol. Phylogenet. Evol.* **95**, 20-33 (2016).
- Van der Sleen. P., Albert, J. S. Field guide to the fishes of the Amazon, Orinoco, and Guianas. *University of Princeton Press* (2017).
- Vicari, M. R., Nogaroto, V., Noleto R.B., Cestari, M. M., Cioffi, M. B., Almeida, M. C., Moreira-Filho, O., Bertollo, L. A. C., Artoni, R. F. Satellite DNA and chromosomes in Neotropical fishes: methods, applications and perspectives. *J. Fish Biol.* **76**, 1094-1116 (2010).