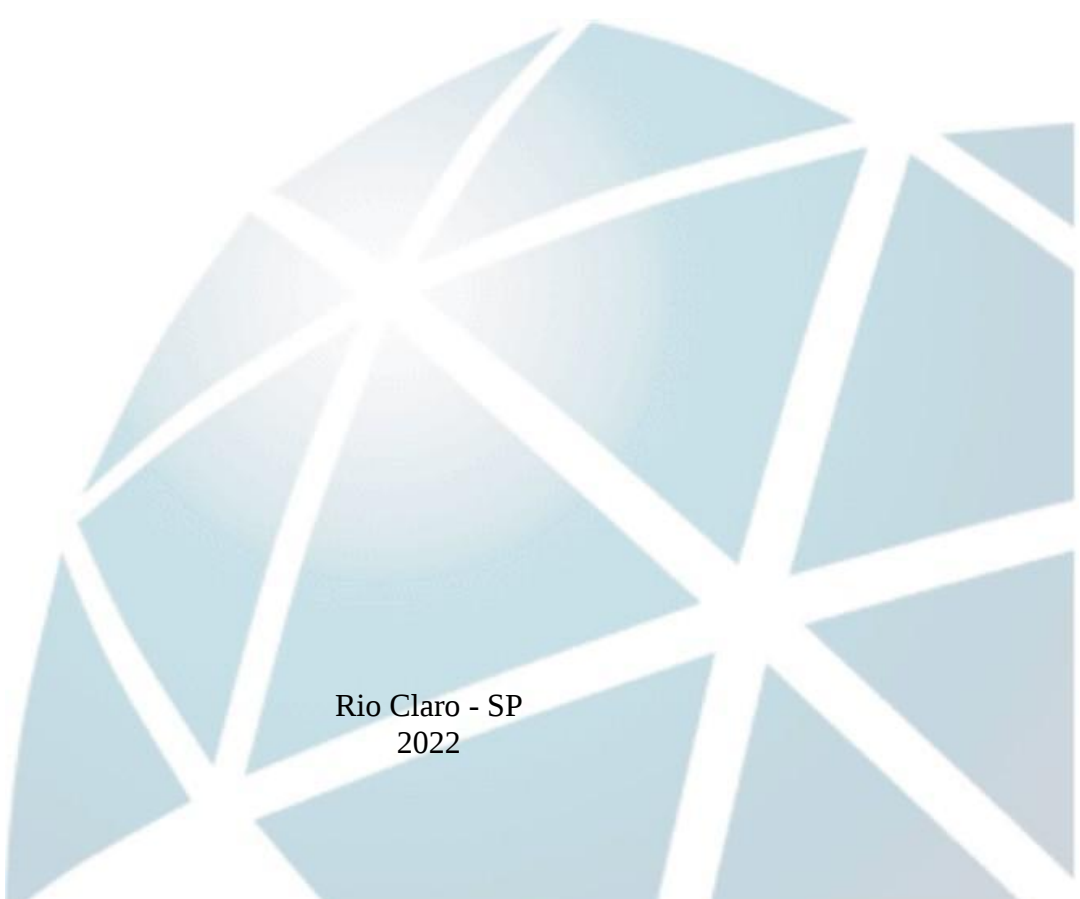

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

GABRIEL ESBRISSÉ DOS SANTOS

**ANÁLISES CITOGENÔMICAS COMPARATIVAS
EM *ANCISTRUS* (SILURIFORMES:
LORICARIIDAE)**



Rio Claro - SP
2022

GABRIEL ESBRISSE DOS SANTOS

**ANÁLISES CITOGENÔMICAS COMPARATIVAS EM *ANCISTRUS*
(SILURIFORMES: LORICARIIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Profa. Dra. Patrícia Pasquali Parise-Maltempi

Coorientador: Me. Marcelo João da Silva

Rio Claro - SP
2022

S237a

Santos, Gabriel Esbrisse dos

Análises citogenômicas comparativas em *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) / Gabriel Esbrisse dos Santos. -- Rio Claro, 2022
38 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Patrícia Pasquali Parise-Maltempi

Coorientador: Marcelo João Da Silva

1. Biologia Molecular. 2. Citogenética Animal. 3. *Ancistrus*. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

GABRIEL ESBRISSE DOS SANTOS

**ANÁLISES CITOGENÔMICAS COMPARATIVAS EM *ANCISTRUS*
(SILURIFORMES: LORICARIIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro,
da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, para obtenção do grau de
Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Patrícia Pasquali Parise-Maltempi (orientadora)

Me. Marcelo João da Silva (coorientador)

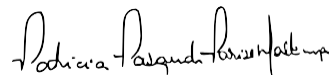
Dr. Diogo Milani

Ma. Carolina Crepaldi

Aprovado em: 16 de novembro de 2022



Assinatura do discente



Assinatura da orientadora



Assinatura do coorientador

Dedico este trabalho a todos os pesquisadores que resistem às diversas dificuldades encontras nesses tempos de negação da ciência.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus e à minha família, que sempre me apoiaram e estiveram comigo durante a minha jornada. Agradeço muito à minha mãe Marlene, aos meus avós Eva e Gercino, aos meus tios Márcio e Zé, e aos meus irmãos Gabriela e Rafael, por todo o amor e carinho e por sempre acreditarem no meu potencial. Sou eternamente grato por tudo o que vocês lutaram e fizeram por mim. Amo vocês!

Agradeço a minha orientadora Patrícia Pasquali Parise-Maltempi pela oportunidade que me deu em fazer parte de seu grupo de pesquisa, onde conheci pessoas incríveis. Agradeço pelo carinho, pelos seus ensinamentos e pela motivação durante todos esses anos de graduação e de trabalho no laboratório. Sou muito grato por essa oportunidade e pela confiança em mim durante todos esses 4 anos. Muito obrigado, Pati!

Agradeço imensamente ao meu coorientador Marcelo João da Silva por todo o apoio, pela paciência, pelo carinho e pelo cuidado durante todos esses anos de trabalho. Sou muito grato por todos os seus ensinamentos e por me acompanhar durante a minha jornada como pesquisador. Agradeço também a Carolina Crepaldi por todos os ensinamentos, pelo apoio, pelo carinho e pela paciência durante o desenvolvimento do meu trabalho.

Agradeço a todos os meus colegas de laboratório, Pati, Marcelo, Carol, Raquel, Murilo e Ágata. Um agradecimento especial a Evelin, uma pessoa maravilhosa que tenho muito orgulho de ter conhecido. Muito obrigado por todos os cafés, pelas conversas e pelas comemorações com bolo! Agradeço principalmente ao Marcelo e Carol pelos ensinamentos e pelo acompanhamento durante a minha jornada e durante o desenvolvimento deste trabalho. Sou muito grato a vocês.

Agradeço imensamente às minhas grandes amigas, Ana Damasceno, Brenda e Giovanna por toda a amizade, confiança, risadas e por todo o carinho. Muito obrigado por compartilharem comigo momentos incríveis durante esses 5 anos de graduação. Amo muito vocês e sou eternamente grato pela nossa amizade! Agradeço a minha amiga Inae pela nossa amizade, pela sua paciência comigo e por toda a companhia, desde quando estávamos no Ensino Médio. Não consigo descrever em palavras a minha gratidão e meu amor por vocês!

Agradeço à FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2020/14370-8) pelo apoio financeiro de Iniciação Científica durante estes anos de pesquisa. Por fim, agradeço a UNESP e a todos os meus amigos e colegas que conheci nessa universidade incrível! Muito obrigado pela amizade e pela companhia durante esses anos de graduação. Amo cada um de vocês!

Nothing in biology makes sense except in the light of evolution
(DOBZHANSKY, 1973).

RESUMO

Os genomas dos eucariotos são caracterizados por conter grande quantidade de sequências repetitivas altamente dinâmicas, seja no nível cromossômico ou nucleotídico, com vários mecanismos contribuindo para sua duplicação e expansão, modulando o curso da evolução cariotípica em diversos organismos. Entre essas sequências, os DNAs satélites (DNAsat) estão entre os elementos repetitivos mais dinâmicos, normalmente encontrando-se localizados principalmente em regiões cromossômicas pericentroméricas, cromossomos sexuais e cromossomos B. O gênero *Ancistrus* Kner, 1854, pertence à família Loricariidae e do ponto de vista citogenético é um grupo muito interessante, pois os seus representantes apresentam uma grande variação cariotípica, sendo encontrados indivíduos com $2n = 34$ a $2n = 54$ cromossomos, além de sistemas cromossômicos sexuais heteromórficos do tipo ZZ/ZW, XX/XY e sistemas múltiplos, que contribuíram para a diversificação cariotípica do gênero. Em *Ancistrus*, o conhecimento sobre a organização genômica ainda é limitado e não há dados atualizados e completos acerca de DNAsat, apesar de toda a diversificação e diferenciação cromossômica registrada no gênero. Em um trabalho prévio, de iniciação científica, foram realizadas análises citogenômicas de alto rendimento, juntamente com análises de bioinformática, para a caracterização do satelitoma de *Ancistrus* sp. Foram encontrados 39 satélites, correspondendo a 11,5% do genoma sequenciado, tendo sido esta a primeira caracterização aprofundada do satelitoma da espécie. Neste trabalho foram analisados os dois satélites mais abundantes do genoma de *Ancistrus* sp., AnSat1-142 e AnSat2-139, através das plataformas *RepeatExplorer2*, *TAREAN* e *RepeatMasker*, para a constatação da presença e do compartilhamento dessas sequências em outras espécies do gênero, *Ancistrus multispinis*, *Ancistrus ranunculus* e *Ancistrus cryptophthalmus*. Através do *RepeatMasker*, foram estimadas a abundância e a divergência (*Kimura-2-parameter* – K2P) destes dois satélites nos genomas das espécies de *Ancistrus*. As análises comparativas poderão auxiliar no entendimento da organização genômica e das relações filogenéticas entre os diversos táxons, além de contribuir para o esclarecimento dos mecanismos evolutivos de sequências repetitivas em diferentes espécies de peixes.

Palavras-chave: Bioinformática; DNA satélite; *RepeatMasker*.

ABSTRACT

The genomes of eukaryotes are characterized by containing a large number of highly dynamic repetitive sequences, either at the chromosomal or nucleotide level, with several factors contributing to their duplication and expansion, modulating the course of karyotype evolution in different organisms. Among these sequences, satellite DNAs (satDNAs) are among the most dynamic repetitive elements, usually located mainly in pericentromeric chromosomal regions, sex chromosomes and B chromosomes. The genus *Ancistrus* Kner, 1852, belongs to the Loricariidae family and from the cytogenetic point of view is a very interesting group, as its representatives have a large of karyotype variation, with individuals with $2n = 34$ to $2n = 54$ chromosomes, in addition to heteromorphic sexual chromosomal systems of the type ZZ/ZW, XX/XY and multiple systems, which contributed to the karyotype diversification in the genre. In *Ancistrus*, this knowledge about the genomic organization is still limited and there are no updated and complete data about satDNAs, despite all the chromosomal diversification and differentiation recorded in the genus. In a previous work, of scientific initiation, high-throughput cytogenomic analyses were performed, together with bioinformatics analyses, for the characterization of the satellitome of *Ancistrus* sp. A total of 39 satellites were found, corresponding to 11.5% of the sequenced genome, and this was the first in-depth characterization of this species satellitome. In this work, the two most abundant satellites of *Ancistrus* sp. genome, AnSat1-142 and AnSat2-139, were analyzed using the *RepeatExplorer2*, *TAREAN* and *RepeatMasker* platforms, to verify the presence and sharing of these sequences in other species of the genus, *Ancistrus multispinis*, *Ancistrus ranunculus* and *Ancistrus cryptophthalmus*. Through *RepeatMasker*, the abundance and divergence (*Kimura-2-parameter* – K2P) of these two satellites in the genomes of *Ancistrus* species were estimated. The comparative analyses can help in the understanding of genomic organization and phylogenetic relationships among different taxa and contribute to the clarification of evolutionary mechanisms of repetitive sequences in different fish species.

Keywords: Bioinformatics; Satellite DNA; *RepeatMasker*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	Sequências repetitivas.....	10
1.2	Os DNAs satélites.....	11
1.3	Ordem Siluriformes e Família Loricariidae.....	13
1.4	Gênero <i>Ancistrus</i> Kner, 1854 (Hypostominae, Ancistrini)	14
1.5	Estudos Citogenéticos em <i>Ancistrus</i>.....	15
1.6	Apontamentos sobre os dois satélites mais abundantes isolados de <i>Ancistrus</i> sp.	16
2	OBJETIVOS.....	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1	Busca em banco de dados.....	18
3.2	Análise comparativa dos genomas via <i>RepeatExplorer2</i> e <i>Geneious</i>.....	18
3.3	Análises no script do <i>RepeatMasker</i>.....	19
4	RESULTADOS.....	20
4.1	Comparação das sequências consenso dos genomas analisados com os 20 satélites AnSat1-142 e AnSat2-139.....	20
4.2	Quantificação de abundância e divergência.....	22
4.3	Gráficos de abundância e divergência.....	23
4.3.1.	Gráfico landscape de AnSat1-142.....	23
4.3.1	Gráfico landscape de AnSat2-139.....	24
4.4	Validação dos satélites AnSat1-142 e AnSat2-139 via PCR.....	25
5	DISCUSSÃO.....	27
6	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sequências repetitivas

Os genomas de eucariotos são compostos por uma grande quantidade de diferentes classes de sequências de DNA repetitivos, que podem estar dispersas por todo o genoma ou repetidas localmente *in tandem* (GARRIDO-RAMOS, 2017). As repetições *in tandem* são encontradas principalmente em ou em torno de regiões centroméricas e teloméricas, formando a estrutura da heterocromatina (THAKUR *et al.*, 2021). Basicamente, a fração repetitiva dos genomas pode ser organizada em elementos moderadamente ou altamente repetitivos que se dispõem em conjunto ou dispersos pelo genoma, onde formam famílias de diferentes classes gênicas, como elementos transponíveis, DNAs ribossômicos, pseudogenes e DNA satélites, constituindo o que é denominado de *Repeatome* (LÓPEZ-FLORES; GARRIDO-RAMOS, 2012; RUIZ-RUANO *et al.*, 2016).

O DNA repetitivo representa uma porção substancial do genoma, compreendendo mais da metade do DNA nuclear em grande parte das espécies e, conseqüentemente, é o principal responsável pelas diferenças nos tamanhos dos genoma de diferentes organismos (CHARLESWORTH; SNIEGOWSKI; STEPHAN, 1994; AMARAL; MATTICK, 2008; TUTAR, 2012; BISCOTTI; OLMO; HESLOP-HARRISON, 2015). Apesar das sequências repetitivas não serem regiões essencialmente codificantes de proteínas em sua maioria e tendo sido por muito tempo consideradas sequências de “DNA lixo” (NOWAK, 1994), vem-se gradativamente demonstrando seus papéis ativos nos genomas dos mais diversos organismos (SHAPIRO *et al.*, 2005; BIÉMONT; VIEIRA, 2006; PLOHL *et al.*, 2012).

Com o avanço da genômica, através das tecnologias de sequenciamento de última geração além de ferramentas de bioinformática para análise de repetições, como *RepeatExplorer2* (NOVÁK *et al.*, 2020), *RepeatMasker* (SMIT *et al.*, 2013-2015), *TAREAN* (NOVÁK *et al.*, 2017) etc., a catalogação das porções repetitivas nos genomas tem ganhado força por meio da sua caracterização, quantificação e localização cromossômica, levando a um aumento expressivo no número de satélites descritos em espécies não-modelo (RUIZ-RUANO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2017; UTSUNOMIA *et al.*, 2019; CREPALDI; PARISE-MALTEMPI, 2020; DA SILVA *et al.*, 2020; CAMACHO *et al.*, 2022), revelando muitas famílias de DNAs satélites envolvidas em diferentes funções celulares (THAKUR *et al.*, 2021).

Algumas funcionalidades incluem manutenção e propagação do material genético nuclear (MARTINS, 2007); formação da heterocromatina (TRAYNOR *et al.*, 2019; OTAKE *et al.*, 2020); formação e manutenção da região centromérica (UTSUNOMIA *et al.*, 2017; VOZDOVA *et al.*, 2020) e participação na diferenciação de cromossomos sexuais (PLOHL *et al.*, 2014; JAGANNATHAN; YAMASHITA, 2017; FERRETI *et al.*, 2020; DA SILVA *et al.*, 2020; CREPALDI *et al.*, 2021). Devido a essas funcionalidades, os componentes repetitivos do genoma podem desempenhar um papel importante na diversificação evolutiva e na divergência das espécies (HUGHES; HAWLEY, 2009).

1.2 Os DNAs satélites

Os DNAs satélites representam uma classe de sequências não codificantes altamente repetidas in tandem, que podem variar de poucas dezenas até milhares de nucleotídeos (DOS SANTOS *et al.*, 2021), sendo um dos mais abundantes componentes do genoma dos eucariotos (PLOHL *et al.*, 2012). Estas sequências estão localizadas principalmente na heterocromatina, nas regiões pericentroméricas, centroméricas e subteloméricas dos cromossomos (THAKUR *et al.*, 2021), mas não são restritos a elas (GARRIDO-RAMOS, 2015; KUHN, 2015; RUIZ-RUANO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2017; MIGA *et al.*, 2020).

Um único genoma pode carregar centenas de famílias de DNAsat, com diferentes localizações e cada uma com suas próprias dinâmicas e taxas de evolução (RUIZ-RUANO *et al.*, 2016). Além disso, possuem um alto grau de polimorfismo entre espécies diferentes, podendo apresentar unidades de repetições (monômeros) de tamanhos variáveis, com dezenas ou até mesmo centenas de nucleotídeos (LÓPEZ-FLORES; GARRIDO-RAMOS, 2012; revisado por THAKUR *et al.*, 2021).

Os primeiros estudos sobre DNA satélites (DNAsat) mostraram a descoberta de sequências de nucleotídeos frequentemente repetidas no genoma, ao ser observado o padrão de reassociação da dupla fita de DNA *in vivo*, após a desnaturação do mesmo (WARING; BRITTEN, 1966). O termo “DNA satélite” originou-se pela origem dessas sequências serem inicialmente isoladas em padrões de bandas satélites em experimentos de ultracentrifugação de gradiente de densidade de Cloreto de Césio (CsCl). Isto ocorria em decorrência da diferença no teor de A + T do resto do DNA genômico, formando frações ou picos diferenciados (satélites) (ALBERTS *et al.*, 2007; SZYBALSKI, 1968) e demonstrando um componente secundário que poderia encontrar acima (DNA rico em AT) ou abaixo (DNA rico em GC) da banda

correspondente ao volume do genoma (KIT, 1961; SUEOKA, 1961; revisado por THAKUR *et al.*, 2021).

Em geral, considera-se que os DNAs satélites evoluem por um processo denominado evolução em concerto, que compreende uma fase de homogeneização dos arranjos de determinada sequência conduzida por mecanismos moleculares como crossing-over desigual e conversão gênica, e uma fase de fixação que ocorre naturalmente com a reprodução sexuada dos organismos (LORITE *et al.*, 2017). Como consequência deste processo, os DNAsat usualmente apresentam uma alta homogeneidade intraespecífica e diversificação interespecífica, levando muitas destas sequências a serem espécie ou gênero-específicas (SMITH, 1976; DOVER, 1986; PLOHL *et al.*, 2012; GARRIDO-RAMOS, 2017; HALBACH *et al.*, 2020).

De acordo com Garrido-Ramos (2017), os DNAs satélites estão organizados dentro das espécies em diferentes famílias, as quais podem ser compartilhadas entre espécies relacionadas ou serem espécie-específicas. Deste modo, as espécies contêm uma “biblioteca” de DNAsat, cujo conjunto pode ser chamado de satelitoma (do inglês *Satellitome*) (RUIZ-RUANO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2017). A evolução a longo prazo dos DNAs satélites segue caminhos delimitados pela “hipótese da biblioteca”, proposta por Fry; Salser (1977), que fundamenta-se no fato de que espécies evolutivamente relacionadas compartilham um conjunto ancestral de diferentes famílias de DNAs satélites conservadas, que podem ser amplificadas de modo independente nos genomas de cada espécie (GARRIDO-RAMOS, 2017).

Segundo Camacho *et al.* (2021), esse processo faz com que uma sequência contida nessa biblioteca possa aparecer abundante em uma espécie e em poucas cópias nas espécies irmãs, isto é, o satelitoma de uma espécie pode ou não ser parcialmente ou totalmente compartilhado com outras espécies e populações proximamente relacionadas (RUIZ-RUANO *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2019). Os novos estudos sobre os possíveis papéis que os DNAs satélites desempenham dentro dos genomas apontam para isolamento reprodutivo e consequente aparecimento de novas espécies (HUGHES; HAWLEY, 2009; PITA *et al.*, 2018), sem alteração no número cromossômico (PITA *et al.*, 2017). De acordo com Ferree; Prasad (2012), a maneira na qual os DNAsat conduzem a diferenciação entre espécies ainda não é muito conhecida, mas acredita-se que atuem no emparelhamento cromossômico em híbridos, funcionando como uma “barreira reprodutiva”.

Essas sequências repetitivas mudam rapidamente ao longo da evolução dos organismos, tornando-se excelentes marcadores de segmentos cromossômicos (MOSCONI *et al.*, 2007).

Com o avanço da era genômica, inúmeros estudos propõem que as sequências repetitivas estão envolvidas em uma grande variedade de funções e novidades genômicas (DÍAZ-CASTILLO, 2017; LOWER *et al.*, 2019), além auxiliarem na caracterização de cromossomos sexuais (PARISE-MALTEMPI *et al.*, 2013; PUCCI *et al.*, 2014; CREPALDI, 2019; UTSUNOMIA *et al.*, 2019). Embora o estudo das sequências repetitivas e dos DNAs satélites seja essencial para a compreensão da regulação funcional e evolução dos genomas, informações sobre a estrutura organização e abundância de sequências repetitivas permanecem escassas, especialmente em espécies não-modelo (BELYAYEV *et al.*, 2020).

1.3 Ordem Siluriformes e Família Loricariidae

Os Siluriformes são peixes neotropicais, popularmente conhecidos como bagres e cascudos, que apresentam grande diversidade taxonômica e ecológica, tendo sido por este motivo alvo de muitos estudos (DE PINNA, 1998; BRITTO, 2003; NEUHAUS *et al.*, 2022). Com 4127 espécies válidas, divididas em 39 famílias (FRICKE *et al.*, 2022), este grupo apresenta a maioria de suas espécies habitando regiões tropicais e neotropicais, com poucos representantes que alcançam o extremo sul da América do Sul ou o extremo norte da América do Norte (BURGESS, 1989; NELSON, 2006). Os peixes dessa ordem possuem em geral hábito noturno e crepuscular, habitando o fundo de rios e lagos, permanecendo entre troncos e rochas (FERRARIS, 2007). De acordo com Nelson (1994), muitas espécies deste grupo são carnívoras, mas outras se alimentam principalmente de algas que são raspadas das folhas, pedras e galhos submersos.

Dentro da ordem Siluriformes, Loricariidae é uma das famílias de peixes neotropicais mais numerosas, com 1.034 espécies válidas (FRICKE *et al.*, 2022), distribuídas por toda a América Central e do Sul, desde o sudoeste da Costa Rica até o nordeste da Argentina (ARMBRUSTER *et al.*, 2016). De acordo com Roxo *et al.* (2019), as espécies representativas desta família constituem um grupo monofilético e estão distribuídas em seis subfamílias: Lithogeninae, Delturinae, Hypoptopomatinae, Neoplecostominae, Loricariinae, e Hypostominae. Segundo Lujan *et al.* (2015), Hypostominae é a subfamília mais numerosa e amplamente distribuída, com 499 espécies válidas (FRICKE *et al.*, 2022), agrupadas nas seguintes tribos: Corymbophanini, Rhinelepini, Hypostomini, Pterygoplichthyini e Ancistrini.

Os loricariídeos são popularmente conhecidos como “cascudos” e caracterizam-se pela presença de um “escudo ósseo” que recobre todo o corpo e cabeça, além da presença de

pequenas estruturas ósseas em forma de espinho chamadas de odontódeos (FISCH-MULLER, 2003). De acordo com Geerinckx *et al.* (2011), apresentam ainda a boca na posição ventral, com lábios formando um disco oral usado para aderir a substratos sólidos e forrageamento. Além disso, suas bocas sugadoras e dentes raspadores ajudam na dieta principalmente detritívora-iliófaga, alimentando-se principalmente de algas e detritos.

1.4 Gênero *Ancistrus* Kner, 1854 (Hypostominae, Ancistrini)

O gênero *Ancistrus*, integrante da tribo Ancistrini, apresenta 75 espécies válidas (FRICKE *et al.*, 2021) amplamente distribuídas na região Neotropical, com as bacias dos rios Amazonas e Paraguai, nos estados do Amazonas, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, abrigando o maior número e diversidade de espécies do gênero (FISCH-MULLER, 2003). De acordo com Sabaj *et al.* (1999), as espécies do gênero *Ancistrus* se diferenciam das demais espécies da família Loricariidae por não apresentarem placas e odontodes, apresentando apenas pequenos tentáculos carnudos e odontodes interoperculares bem desenvolvidos.

As espécies deste gênero também são caracterizadas pela ocorrência de cuidado parental de ovos e larvas, de modo que este comportamento ocorre principalmente entre os indivíduos machos que protegem o ninho de predadores e machos rivais durante 10 dias após a eclosão dos ovos (SABAJ *et al.*, 1999). Possuem hábitos noturnos e, durante o dia, são encontrados escondidos em troncos e pedras submersos (ZUANON, 1999). A coloração das espécies é bastante variável, do preto ao marrom esverdeado, podendo apresentar pintas ou manchas pelo corpo (FERRARIS, 2007). Além destas características, MARIOTTO (2008) resalta o dimorfismo sexual presente em *Ancistrus*, devido a existência de pequenos barbilhões carnudos e moles no focinho, onde em sua maioria é numeroso e bifurcado nos machos e curtos e esparsos nas fêmeas e em machos jovens.

. **Figura 1** - Indivíduo de *Ancistrus* sp.



Fonte: André Karwath (2008). Disponível em

<[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ancistrus_sp._\(aka\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ancistrus_sp._(aka).jpg)>.

1.5 Estudos Citogenéticos em *Ancistrus*

Do ponto de vista citogenético e evolutivo, as espécies do gênero *Ancistrus* fazem parte de um grupo bastante interessante, uma vez que apresentam um número diplóide que desvia da condição ancestral, de $2n = 52$ cromossomos, com a presença de um alto número de cromossomos acrocêntricos (de OLIVEIRA *et al.*, 2007, 2008, 2009; MARIOTTO *et al.*, 2009, 2011; KONERAT *et al.*, 2015; FAVARATO *et al.*, 2016; BARROS *et al.*, 2017; BUENO *et al.*, 2018; GLUGOSKI *et al.*, 2020). O número diplóide encontrado dentro do gênero varia entre $2n = 34$ até $2n = 54$ cromossomos, onde é possível observar na maioria das espécies a redução do $2n$ (SOUZA, 2003; ALVES *et al.*, 2006; de OLIVEIRA *et al.*, 2009; MARIOTTO *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2015; GLUGOSKI *et al.*, 2020).

De acordo com Glukoski *et al.* (2020), sabe-se que rearranjos cromossômicos, tais como inversões paracêntricas e pericêntricas, translocações, deleções, duplicações e fusões cêntricas ou rearranjos Robertsonianos (Rb) estão envolvidos na evolução cariotípica da tribo Ancistrini. Com exceção de espécies com $2n = 52$ e 54 cromossomos, as fusões cêntricas são as principais responsáveis pela redução do $2n$ encontrada no gênero *Ancistrus* (ALVES *et al.*, 2003; SOUZA, 2003; de OLIVEIRA *et al.*, 2009; MARIOTTO *et al.*, 2011). Ademais, mecanismos como inversões, transposições e translocações contribuíram para a variação da morfologia dos cromossomos com a manutenção do número de cromossomos do complemento (MARIOTTO *et al.*, 2011; PRIZON *et al.*, 2016).

Além da grande variação no número de cromossomos, algumas espécies desse gênero podem apresentar diferentes sistemas de cromossomos sexuais simples e múltiplos, com heterogametia em machos ou fêmeas, como os sistemas XX/X0, XX/XY, XX/XY₁Y₂, ZZ/ZW e Z₁Z₁Z₂Z₂/Z₁Z₂W₁W₂, além da ocorrência de polimorfismos cromossômicos envolvendo os cromossomos portadores da região organizadora de nucléolos para o grupo (ALVES *et al.*, 2003, 2006; MARIOTTO *et al.*, 2004; MARIOTTO; MIYAZAWA, 2006; MARIOTTO *et al.*, 2009, 2013; PRIZON *et al.*, 2017; de OLIVEIRA *et al.*, 2007, 2008, 2018).

Em um trabalho prévio realizado no Laboratório de Citogenética Animal da UNESP de Rio Claro, utilizando uma espécie de *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae), foram realizadas análises citogenômicas de alto rendimento em busca de DNAs satélites presentes no genoma de *Ancistrus* sp. através de ferramentas de bioinformática, utilizando o genoma de um indivíduo. As análises no *RepeatExplorer2* mostraram a presença de 39 satélites em *Ancistrus* sp., com a abundância compreendendo cerca de 11,5% do genoma (SILVA, 2016). A

caracterização cariotípica e o mapeamento cromossômico de DNAs repetitivos em peixes do gênero *Ancistrus* podem auxiliar na compreensão dos mecanismos que levaram à diversificação cariotípica no grupo e por isso tornam-se muito interessantes. Tendo sido essa a primeira caracterização aprofundada do satelitoma da espécie, foram reveladas famílias de satDNAs com diferentes particularidades, além de terem sido detectados os satélites mais abundantes no genoma.

1.6 Apontamentos sobre os dois satélites mais abundantes isolados de *Ancistrus* sp.

Os dois satélites de *Ancistrus* sp. utilizados no presente trabalho, AnSat1-142 e AnSat2-139, foram isolados e caracterizados previamente em um trabalho do nosso grupo de pesquisa (SILVA, 2016). Estes satélites são os mais abundantes da espécie e apresentam localização cromossômica centromérica, possivelmente desempenhando funções específicas para essa região. O satélite mais abundante, AnSat1-142, apresenta a seguinte sequência: ATATCAATAAATCATATGACTGTATTACAGTAGCAATTTATTTATAGAAAAAATT AACTAAAATTCAACCAAGGCTTATTTTACTAACTAAAGGTTGTAGTATGTTTATC AGATGTGTCTCTCCACACTACAAGTGAAATT, sendo ela composta por 142 pares de bases. O segundo satélite mais abundante, AnSat2-139, apresenta a seguinte sequência: CTGTAACTCAGTCAGTTTTCTGACCTACGGCCACGAAATTTGGCAGGCTTGGTCCC GGGTGCAATCTGAGGTGATATGTGATGCCCATGGGGCCCCTGTGGACCCCGGGTG GGC ACTGGGGCCCCTGGGTGGGCCAATGA, com 139 pares de bases.

2 OBJETIVOS

Levando em consideração os dois DNAs satélites mais abundantes encontrados previamente no genoma de *Ancistrus* sp., AnSat1-142 e AnSat2-139, este trabalho teve como objetivo investigar a presença dessas sequências nos genomas de outras espécies do gênero *Ancistrus*, como *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*, avaliando o compartilhamento e similaridades em nível de sequência, por meio de análises de alto rendimento comparativas, utilizando ferramentas de bioinformática e dados disponíveis em bancos de dados públicos, na tentativa de melhor entender o comportamento evolutivo destas sequências nas espécies de *Ancistrus*.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Busca em banco de dados

Para este trabalho foram utilizados genomas de espécies de peixes do gênero *Ancistrus*, dos quais partiram as análises de bioinformática. O genoma de *Ancistrus* sp. já se encontrava disponível no Laboratório de Citogenética Animal, da UNESP de Rio Claro, pois fez parte de trabalhos anteriores. Os genomas das outras três espécies, *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*, encontravam-se armazenados em bancos de dados públicos, como o NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), e foram obtidos através da plataforma *Sequence Read Archive* (SRA) (códigos de acesso: SRX4907758, SRX4893854 e SRX4893763, respectivamente).

3.2 Análise comparativa dos genomas via *RepeatExplorer2* e *Geneious*

A plataforma *RepeatExplorer2* (RE) (<https://repeatexplorer-elixir.cerit-sc.cz/>) (NOVÁK *et al.*, 2020) foi utilizada para a busca e primeira caracterização de DNAs satélites gerais nas espécies de *Ancistrus*, exceto para *Ancistrus* sp., que já possui o satelitoma descrito (DOS SANTOS *et al.* - dados não publicados). Primeiramente, foi realizado o *upload* dos arquivos dos genomas das três espécies de *Ancistrus* obtidos no SRA, assim como da biblioteca contendo as sequências dos satélites AnSat1-142 e AnSat2-139. Para o *upload* da biblioteca, elaborada em trabalhos anteriores (DOS SANTOS *et al.* - dados ainda não publicados), foi utilizada a ferramenta “*Custom repeat database*”, disponível no próprio RE, que permite a adição de uma biblioteca de sequências personalizada, gerando no *output* do programa uma coluna com a informação para clusters que obtiveram hits de similaridade com as sequências de interesse. Deste modo, essa ferramenta possibilita localizar o *cluster* correspondente de cada uma das espécies de *Ancistrus* com similaridades com cada um dos satélites (AnSat1-142 e AnSat2-139), o que permitiu a comparação entre eles.

Os arquivos dos genomas foram inseridos separadamente em “*Preprocessing of FASTQ paired-end reads*”, em “*RepeatExplorer Utilities*”, e como resultado foram obtidos os arquivos “*Interlaced paired reads*” e “*Nucleotide composition after filtering*”. Posteriormente, em “*RepeatExplorer2 – Clustering*”, foi inserido o arquivo “*Interlaced paired reads*” de cada genoma, assim como o arquivo FASTA da biblioteca de satélites. Após as análises, o *RepeatExplorer2* gerou um *output* contendo os *clusters* de cada um dos genomas, revelando as sequências dos genomas de *Ancistrus* com similaridades com AnSat1-142 e AnSat2-139. As

sequências consenso dos *clusters* que apresentaram resultados pertinentes de identidade foram analisadas e alinhadas manualmente para a busca por homologia, utilizando a ferramenta *MUSCLE* (EDGAR, 2004), no *software Geneious* v.4.8.5 (DRUMMOND *et al.*, 2009) <<https://www.geneious.com/>>.

3.3 Análise no *script* do *RepeatMasker*

O *script* do *RepeatMasker* (SMIT *et al.*, 2013-2015) foi utilizado para estimar a abundância e divergência (*Kimura-2-parameter* – K2P) para os dois satélites, AnSat1-142 e AnSat2-139, em cada um dos genomas analisados (*Ancistrus* sp., *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*), através do servidor Kasahara-ICG (*Insect Cytogenomics Group*), localizado no Departamento de Biologia Geral e Aplicada, UNESP – Rio Claro. Após as análises no servidor, os gráficos de abundância e divergência foram construídos utilizando tabelas geradas em *Excel*, seguido da quantificação dos dados em gráficos *landscapes* no programa RStudio (Version 1.2.1335).

4 RESULTADOS

4.1 Comparação das sequências consenso dos genomas analisados com os satélites AnSat1-142 e AnSat2-139

Foi realizada a busca por similaridades das sequências consenso dos satélites AnSat1-142 e AnSat2-139 nos três genomas analisados (*Ancistrus multispinis*, *Ancistrus ranunculus* e *Ancistrus cryptophthalmus*), automaticamente através do *output* gerado pelo *RepeatExplorer2* (NOVÁK *et al.*, 2013) e manualmente através de análises no *software Geneious* (DRUMMOND *et al.*, 2009).

Via *RepeatExplorer2* não foram encontradas similaridades para AnSat1-142 em nenhum dos genomas analisados, diferente de AnSat2-139, que no *output* de *A. multispinis* apresentou 100% de *hits* de similaridade com o *cluster* 181 (CL 181), com uma abundância relativa de 0,043% na espécie. Para *A. ranunculus* foi demonstrado que o *cluster* 52 (CL52) apresentou 49,55% de *hits* de similaridade com o satélite AnSat2-139, com abundância relativa de 0,100%. O *output* do genoma de *A. cryptophthalmus* demonstrou que o *cluster* 178 (CL 178) apresentou 79,03% de *hits* de similaridade com AnSat2-139, com abundância relativa de 0,068%.

Posteriormente, o *software Geneious* foi utilizado para a confirmação da homologia entre as sequências via alinhamento entre a sequência do satélite AnSat2-139 e as putativas nos genomas analisados. O satélite AnSat1-142 não foi utilizado nesta análise comparativa e manual pois não foram encontradas similaridades com as sequências dos três genomas analisados pelo RE. Entretanto, será visto adiante que a presença de AnSat1-142 nos genomas das outras três espécies de *Ancistrus* foi demonstrada através de análises no *RepeatMasker*. Para a análise no *Geneious*, foi realizada a comparação manual das sequências consenso dos *clusters* evidenciados pelo RE (CL 181, CL 52 E CL 178, de *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*, respectivamente) com o segundo satélite mais abundante de *Ancistrus* sp.

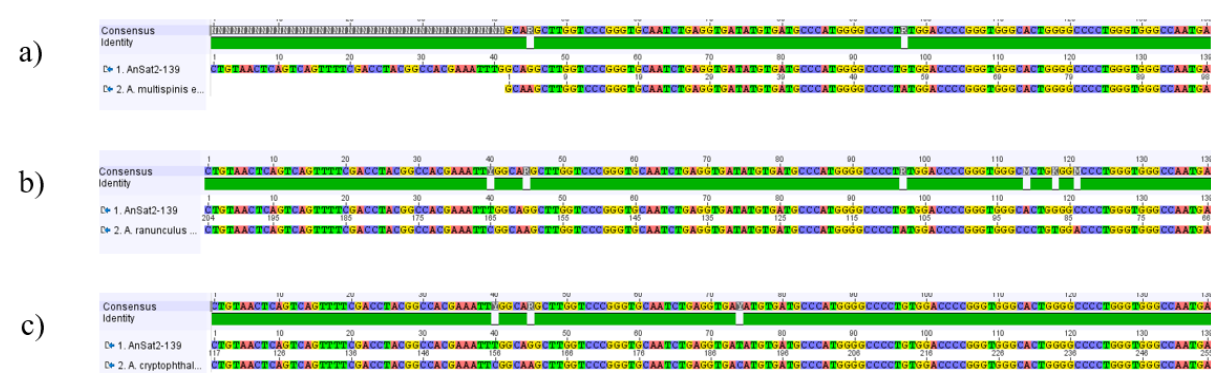
Através das análises, foram reveladas diferenças no tamanho (em pares de bases) das sequências consenso com o segundo satélite mais abundante do genoma de *Ancistrus* sp., AnSat 2-139. As sequências consenso isoladas dos genomas de *Ancistrus ranunculus* e *Ancistrus cryptophthalmus* apresentaram o mesmo tamanho que o deste satélite, ou seja, 139 pares de bases; enquanto que a sequência consenso isolada de *Ancistrus multispinis* apresentou o menor tamanho dentre estas sequências, com 89 pares de bases (Tabela 1).

Tabela 1 - Similaridade das sequências das três espécies de *Ancistrus* com o segundo satélite mais abundante de *Ancistrus* sp., AnSat 2-139, por porcentagem de identidade. Dados obtidos manualmente no *software* Geneious.

Espécie	Cluster	Tamanho das sequências consenso (pb)	Similaridade com AnSat2-139
<i>A. multispinis</i>	181	98	98,0%
<i>A. ranunculus</i>	52	139	95,7%
<i>A. cryptophthalmus</i>	178	139	97,8%

Fonte: autoria própria.

Figura 2 - Alinhamentos realizados no *software* Geneious entre AnSat2-139 e as sequências consenso obtidas dos genomas de: a) *Ancistrus multispinis*; b) *Ancistrus ranunculus*; c) *Ancistrus cryptophthalmus*.



Fonte: autoria própria.

4.2 Quantificação de abundância e divergência

Após as análises no script do *RepeatMasker* (SMIT et al., 2013-2015), foram geradas tabelas em *Excel* com os dados sobre a abundância e a divergência das sequências dos satélites nos genomas estudados neste trabalho (Tabela 2).

Tabela 2 – Dados sobre abundância e divergência (K2P %) do *RepeatMasker* para AnSat1-142 e AnSat2-139 nas quatro espécies de *Ancistrus*.

Satélite	Espécie	Abundância (%)	Divergência (K2P %)
AnSat1-142	<i>Ancistrus</i> sp.	4,3294	4.90
	<i>A. multispinis</i>	0,0001	8.15
	<i>A. ranunculus</i>	0,0003	9.59
	<i>A. cryptophthalmus</i>	0,0002	12.01
AnSat2-139	<i>Ancistrus</i> sp.	1,5037	8.71
	<i>A. multispinis</i>	0,0450	8.78
	<i>A. ranunculus</i>	0,0554	8.82
	<i>A. cryptophthalmus</i>	0,0640	9.18

Fonte: autoria própria.

Analisando a tabela 2, pode-se perceber que *Ancistrus* sp. apresenta os maiores valores de abundância para os dois satélites, AnSat1-142 (4,3294%) e AnSat2-139 (1,5037%) , o que já foi evidenciado em trabalhos anteriores, uma vez que estes são os satélites mais abundantes desta espécie (DOS SANTOS *et al* - dados não publicados). A tabela também mostra que nas outras três espécies de *Ancistrus* (*A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*), AnSat2-

139 está presente em maior abundância do que AnSat1-142. Além disso, as análises do *RepeatMasker* evidenciam a presença de AnSat1-142 nestas três outras espécies, em mínimas porcentagens de abundância. Os dados também mostram que *Ancistrus multispinis* apresenta os menores valores de abundância para os dois satélites.

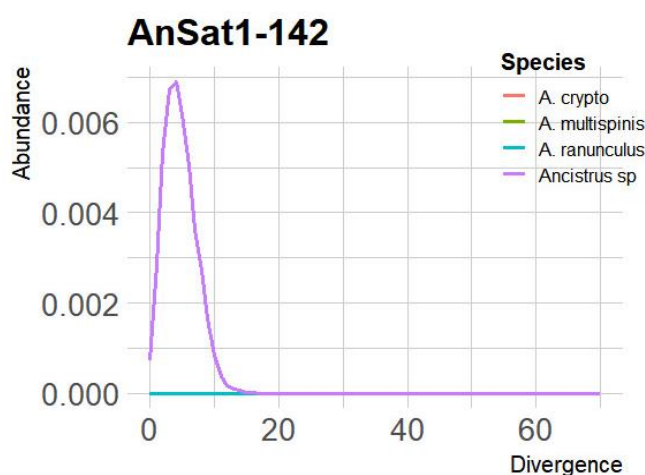
4.3 Gráficos de abundância e divergência

A partir dos dados gerados pelo *RepeatMasker*, foram construídos gráficos *landscapes* no *RStudio* para evidenciar a abundância dos satélites AnSat1-142 e AnSat2-139 nos genomas de *Ancistrus* ao longo do tempo. Os gráficos ilustram a abundância relativa da sequência (eixo y) e a divergência K2P em porcentagem (eixo x) dos satélites nos genomas analisados neste trabalho, mostrando a abundância para as variantes destas sequências nos diferentes graus de divergência.

4.3.1 Gráfico *landscape* de AnSat1-142

Analisando o *landscape* comparativo de AnSat1-142 nos quatro genomas de *Ancistrus*, observa-se apenas um pico de amplificação de baixa divergência para o genoma de *Ancistrus* sp., sendo este o genoma com maior abundância deste satélite. Para os genomas das outras três espécies (*A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*), percebe-se uma abundância muito baixa ou quase nula de AnSat1-142, o que é evidenciado pela ausência de picos de amplificação.

Figura 3 - Gráfico *landscape* gerado a partir dos arquivos do *script* do *RepeatMasker* para AnSat1-142. Eixo -y: abundância relativa da sequência (*abundance*); Eixo -x: divergência K2P (%) (*divergence*)

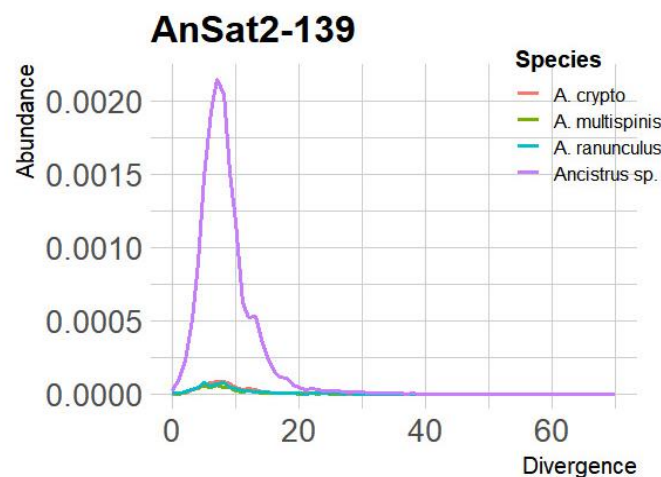


Fonte: dados do trabalho.

4.3.2 Gráfico *landscape* de AnSat2-139

O *landscape* comparativo das sequências dos genomas com AnSat2-139 também revelou um pico de amplificação de baixa divergência para o genoma de *Ancistrus* sp., onde este satélite encontra-se em grande abundância. Entretanto, diferentemente do gráfico para AnSat1-142, este *landscape* mostra que o satélite AnSat2-139 encontra-se no genoma de *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus* em baixa abundância, o que pode ser observado devido aos pequenos picos de amplificação de baixa divergência.

Figura 4 - Gráfico *landscape* gerado a partir dos arquivos do *script* do *RepeatMasker* para AnSat2-139. Eixo -y: abundância relativa da sequência (*abundance*); Eixo -x: divergência K2P (%) (*divergence*).



Fonte: dados do trabalho.

As análises no *script* do *RepeatMasker* corroboram com os dados gerados pelo *output* do *RepeatExplorer2*, revelando que o satélite AnSat2-139 está presente no genoma das três outras espécies utilizadas neste trabalho, *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*. Os dados do *script* também reforçam que o satélite AnSat1-142 encontra-se em uma abundância extremamente baixa ou quase nula no genoma dessas outras três espécies, o que já foi evidenciado pelos dados do *output*.

4.4 Validação dos satélites AnSat1-142 e AnSat2-139 via PCR

Em um trabalho anterior, realizado no laboratório, foi dado início à validação experimental dos dois satélites mais abundantes de *Ancistrus* sp., AnSat1-142 e AnSat2-139 (DOS SANTOS *et al.* - dados não publicados). A validação não foi possível para *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*, pois os materiais citogenéticos para estas espécies não encontravam-se disponíveis no laboratório. Os *primers* divergentes (*forward* e *reverse*) destes satélites foram desenhados manualmente (Tabela 3) e validados via Reação de Cadeia em Polimerase (PCR).

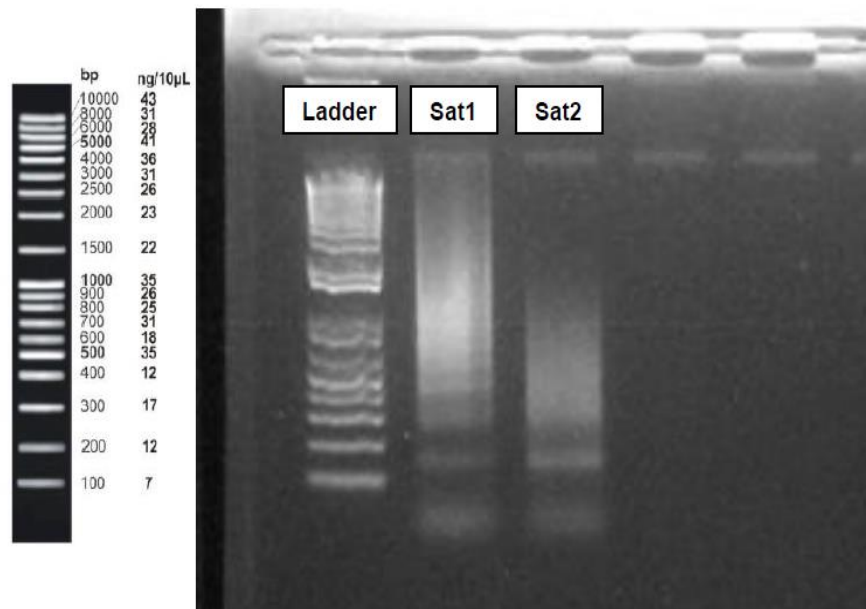
Tabela 3 - *Primers* divergentes (*forward* e *reverse*) desenhados para os satélites AnSat1-142 e AnSat2-139.

Satélite	Primer	Sequência
AnSat1-142	<i>Forward</i>	TTTACTAAACTAAAGGTTGT
	<i>Reverse</i>	TAAGCCTTGGTTGAATTTTA
AnSat2-139	<i>Forward</i>	GATATGTGATGCCCATGGGG
	<i>Reverse</i>	CCTCAGATTGCACCCGGGA

Fonte: autoria própria.

Os resultados observados através de eletroforese em gel de agarose mostram que os dois satélites foram amplificados em *Ancistrus* sp., confirmando sua presença no genoma desta espécie (Figura 5). Posteriormente, tinha-se como objetivo realizar hibridização *in situ* fluorescente (FISH) para a validação destes satélites em metáfases encontradas nos materiais de *Ancistrus* sp. Entretanto, devido ao incêndio do prédio do Instituto de Biociências (IB) da Unesp de Rio Claro, essa validação não foi possível, uma vez que todo o material biológico armazenado no laboratório foi queimado.

Figura 5 - Amplificação dos DNAs satélites AnSat1-142 e AnSat2-139 em *Ancistrus* sp.
Ladder: 1KB Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific®.



Fonte: dados do trabalho.

5 DISCUSSÃO

No presente trabalho foram realizadas análises genômicas comparativas dos satélites mais abundantes de *Ancistrus* sp. em outras três espécies do gênero, *Ancistrus multispinis*, *Ancistrus ranunculus* e *Ancistrus cryptophthalmus*. O satélite AnSat1-142 está praticamente ausente em *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*; com exceção de *Ancistrus* sp., possivelmente pelo fato deste satélite ter sido caracterizado a partir de uma sequência desta espécie (DOS SANTOS *et al.* - dados não publicados). Os dados mostram que AnSat1-142 parece ser exclusivo de *Ancistrus* sp., sugerindo sua conservação nesta espécie corroborada por sua alta abundância e pouca evidência nos *reads* de sequenciamento nas outras três espécies do gênero (*A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus*).

Assim como AnSat1-142, a caracterização prévia de AnSat2-139 revelou sua considerável abundância no genoma de *Ancistrus* sp. As análises realizadas neste trabalho mostram que a presença de AnSat2-139 foi melhor evidenciada em *A. multispinis*, *A. ranunculus* e *A. cryptophthalmus* em comparação a AnSat1-142, porém com valores de abundância e divergência específicos, uma vez que estas sequências podem estar amplificadas em taxas desiguais nas diferentes espécies (GARRIDO-RAMOS, 2017; THAKUR *et al.*, 2021). Deste modo, a presença do satélite AnSat2-139 nas outras espécies de *Ancistrus* configura um certo grau de compartilhamento de sequências entre elas, corroborando com a hipótese da biblioteca de DNAs satélites (FRY; SALSER, 1977), que fundamenta-se no compartilhamento de uma biblioteca comum de DNAsat entre grupos de espécies evolutivamente relacionadas.

Outros trabalhos encontraram resultados que demonstram a hipótese da biblioteca, como de Utsunomia e colaboradores (2017), que revelaram o compartilhamento do DNA satélite MsaSat01-177, previamente descrito no genoma de *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Characiformes: Characidae), em oito espécies de peixes pertencentes à quatro gêneros da família Characidae, indicando a conservação deste satélite neste grupo. Em um trabalho de Camacho *et al.* (2022), foi analisado o satelitoma de gafanhotos das espécies *Oedaleus decorus* e *Locusta migratoria*, pertencentes à subfamília Oedipodinae, revelando que estas espécies compartilham famílias de DNAsat que estavam presentes no ancestral mais comum entre elas. Assim como estes trabalhos, as análises comparativas dos genomas de *Ancistrus* realizadas aqui revelaram o compartilhamento de AnSat2-139 nestas espécies, possivelmente tendo sido este satélite pertencente à uma biblioteca ancestral de DNAsat, estando de acordo com a hipótese da biblioteca.

De acordo com Ruiz-Ruano *et al.* (2019), os gráficos *landscapes*, gerados utilizando os dados do *RepeatMasker*, para a análise de abundância e divergência para os satélites, podem trazer informações sobre a “idade” das variantes de um DNAsat da mesma família. Deste modo, os picos em baixa divergência revelam amplificação e homogeneização recentes, enquanto picos em níveis alto de divergência provavelmente constituem variantes mais antigas e degeneradas por acúmulo de mutações. Neste trabalho, para *Ancistrus* sp., AnSat1-142 demonstrou amplificação em baixa divergência, sugerindo amplificação e homogeneização recentes deste satélite na espécie, enquanto que o *landscape* para AnSat2-139 revela picos de amplificações de cópias mais antigas. Para as outras espécies, o *landscape* gerado AnSat2-139 também revela picos de amplificação em baixa divergência, além da baixa abundância evidenciada pelo *RepeatMasker*.

Segundo Plohl *et al.* (2014) e Garrido-Ramos (2015), como componentes de frações repetitivas dos genomas, os DNAs satélites são altamente dinâmicos e sua abundância pode mudar rapidamente devido à mecanismos de expansão e/ou diminuição dessas sequências. Estas, por sua vez, podem ser amplificadas independentemente no genoma de cada espécie (CAMACHO *et al.*, 2022), levando a rápidas mudanças na distribuição e abundância de suas cópias (PLOHL *et al.*, 2012). Deste modo, diferentes mecanismos podem ter levado os satélites AnSat1-142 e AnSat2-139 a serem mais abundantes, com certo grau de homogeneização, no genoma de *Ancistrus* sp., em comparação às outras espécies analisadas neste trabalho. Estes dados sugerem que, em termos de amplificação, estes dois satélites estão seguindo diferentes caminhos evolutivos em diferentes espécies do gênero *Ancistrus*, como também demonstrado em outras espécies de peixes do gênero *Megaleporinus* (CREPALDI *et al.*, 2021) e de anfíbios do gênero *Proceratophrys* (DESTRO, 2022).

Os estudos sobre os mecanismos envolvidos na dinamicidade de DNAs satélites são muito importantes para o melhor entendimento dessas sequências nos genomas de *Ancistrus*, um grupo bastante interessante do ponto de vista citogenético e evolutivo, devido à grande variação cariotípica registrada no gênero. As análises comparativas podem revelar a organização genômica dessas sequências e contribuir para o entendimento das relações filogenéticas entre diversos táxons, além de contribuir para o esclarecimento de mecanismos evolutivos, principalmente para sequências repetitivas, por meio do compartilhamento de bibliotecas de DNAsat em diferentes espécies de peixes.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através das análises comparativas dos satélites AnSat1-142 e AnSat2-139 nos genomas de espécies do gênero *Ancistrus* condizem com a hipótese da biblioteca para este tipo de sequência, revelando que um mesmo DNAsat pode seguir diferentes caminhos evolutivos em diferentes espécies de peixes. Por meio de análises citogenômicas comparativas, foi demonstrado que AnSat1-142 parece ser um satélite exclusivo de *Ancistrus* sp., enquanto que o satélite AnSat2-139 está compartilhado entre as espécies de *Ancistrus* sp., *Ancistrus multispinis*, *Ancistrus ranunculus* e *Ancistrus cryptophthalmus*, porém com abundância e divergência específica para cada espécie.

Caso tivesse sido possível, os próximos passos deste trabalho seriam a realização dos experimentos de FISH, para confirmar a presença destes satélites no genoma de *Ancistrus* sp., cujo material citogenético encontrava-se armazenado em freezers no Laboratório de Citogenética Animal, que foi acometido pelos incêndios do IB. Os dados obtidos através da realização de FISH para esta espécie seriam de extrema importância para corroborar com os dados de bioinformática, abordados neste trabalho, pois possibilitariam a comparação da distribuição cromossômica de AnSat1-142 e AnSat2-139 em *Ancistrus* sp.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; JULIAN LEWIS, M. R.; ROBERTS, K.; WALTER, P. Molecular structure of genes and chromosomes. **Molecular Biology of the Cell**, 5. ed, p. 405–445, 2007.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 57–63, 2003.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; NIRCHIO, M.; GRANADO, A.; FORESTI, F. Karyotypic relationships among the tribes of Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae) with description of XO sex chromosome system in a Neotropical fish species. **Genetica**, v. 128, p. 1-9, 2006.
- AMARAL, P. P.; MATTICK, J. S. Noncoding RNA in development. **Mammalian Genome**, v. 19, n. 7, p. 454-492, 2008.
- ARMBRUSTER, J. W.; LUJAN, N. K. A new species of *Peckoltia* from the Upper Orinoco (Siluriformes, Loricariidae). **ZooKeys**, v. 569, p. 105–121, 2016.
- BARROS, A. V.; WOLSKI, M. A. V.; NOGAROTO V.; ALMEIDA, M. C.; MOREIRA-FILHO, O; VICARI, M. R. Fragile sites, dysfunctional telomere and chromosome fusions: What is 5S rDNA role?. **Gene**, v. 608, p. 20–27, 2017.
- BELYAYEV, A.; JANDOVÁ, M.; JOSEFIOVÁ, J.; KALENDAR, R.; MAHELKA, V.; MANDÁK, B. *et al.* The major satellite DNA families of the diploid *Chenopodium album* aggregate species: arguments for and against the “library hypothesis”. **PLOS ONE**, v. 15, p. 10, 2020.
- BIÉMONT, C.; VIEIRA, C. Junk DNA as an evolutionary force. **Nature**, v. 443, p. 521-524, 2006.
- BISCOTTI, M. A.; OLMO, E; HESLOP-HARRISON, J. S. Repetitive DNA in eukaryotic genomes. **Chromosome Research**, v. 23, n. 3, p. 415-420, 2015.
- BRITTO, M. R. Phylogeny of the subfamily Corydoradinae Hoedeman, 1952 (Siluriformes: Callichthyidae), with a definition of its genera. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 153, p. 119-153, 2003.
- BUENO, V.; KONERAT, J. T.; ZAWADZKI, C. H.; VENERE, P. C.; BLANCO, D. R.; MARGARIDO, V. P. Divergent chromosome evolution in Hypostominae tribes (Siluriformes: Loricariidae): correlation of chromosomal data with morphological and molecular phylogenies. **Zebrafish**, v. 15, n. 5, p. 492-503, 2018.
- BURGESS, W. E. An atlas of freshwater and marine catfishes: a preliminary survey of the siluriformes. **TFH Publications**, 1989.

- CAMACHO, J. P. M.; CABRERO, J.; LÓPEZ-LEÓN, M. D.; MARTÍN-PECIÑA, M. PERFECTTI, F.; GARRIDO-RAMOS, M. A.; RUIZ-RUANO, F. J. Satellitome comparison of two oedipodine grasshoppers highlights the contingent nature of satellite DNA evolution. **BMC Biology**, v. 20, n. 1, p. 1-24, 2022.
- CAMACHO, J. P. M.; CABRERO, J.; LÓPEZ-LEÓN, M. D.; MARTÍN-PECIÑA, M.; PERFECTTI, F.; GARRIDO-RAMOS, M. A.; RUIZ-RUANO, F. J. On the contingent nature of satellite DNA evolution. **bioRxiv**, 2021.
- CHARLESWORTH B.; SNIEGOWSKI, P.; STEPHAN, W. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. **Nature**, v. 371, n. 6494, p. 215-220, 1994.
- CREPALDI, C. **Estudo da origem e evolução dos cromossomos sexuais do gênero *Megaleporinus* a partir de sequências repetitivas**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2019.
- CREPALDI, C.; MARTÍ, E.; GONÇALVES, É. M.; MARTÍ, D. A.; PARISE-MALTEMPI, P. P. Genomic differences between the sexes in a fish species seen through satellite DNAs. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 728670, 2021.
- CREPALDI, C.; PARISE-MALTEMPI, P. P. Heteromorphic sex chromosomes and their DNA content in fish: an insight through satellite DNA accumulation in *Megaleporinus elongatus*. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 160, n. 1, p. 38-46, 2020.
- da SILVA, M. J.; DESTRO, R. F.; GAZONI, T.; NARIMATSU, H.; SANTOS, P. S. P.; HADDAD, C. F. B.; PARISE-MALTEMPI, P. P. Great abundance of satellite DNA in *Proceratophrys* (Anura: Odontophrynidae) revealed by genome sequencing. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 160, p. 141-147, 2020.
- de OLIVEIRA, R. **Diversidade cariotípica entre dez espécies do gênero *Ancistrus* (Siluriformes, Loricariidae) da bacia Amazônica: estrutura e mecanismos de evolução cromossômica**. 2006. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca interior), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2006.
- de OLIVEIRA, R. R.; FELDBERG, E.; ANJOS, M. B.; ZUANON, J. Karyotype characterization and ZZ/ZW sex chromosome heteromorphism in two species of the catfish genus *Ancistrus* Kner, 1854 (Siluriformes: Loricariidae) from the Amazon basin. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 301-306, 2007.
- de OLIVEIRA, R. R.; FELDBERG, E.; ANJOS, M. B.; ZUANON, J. Mechanisms of chromosomal evolution and its possible relation to natural history characteristics in *Ancistrus* catfishes (Siluriformes: Loricariidae). **Journal of Fish Biology**, v. 75, n. 9, p. 2209-2225, 2009.
- de OLIVEIRA, R. R.; FELDBERG, E.; ANJOS, M. B.; ZUANON, J. Occurrence of multiple sexual chromosomes (XX/XY 1 Y 2 and Z1 Z1 Z2 Z2/Z1 Z2 W1 W2) in catfishes of the genus *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) from the Amazon basin. **Genetica**, v. 134, n. 2, p. 243-249, 2008.

de OLIVEIRA, R. R.; FELDBERG, E.; dos ANJOS, M. B.; ZUANON, J. Karyotype characterization and ZZ/ZW sex chromosome heteromorphism in two species of the catfish genus *Ancistrus* Kner, 1854 (Siluriformes: Loricariidae) from the Amazon basin. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 301-306, 2018.

de PINNA, M. C. C. Phylogenetic relationships of Neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M.; LUCENA, C. A. S. Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. **EDIPUCRS**, p. 603, 1998.

DESTRO, R. F. **Estudo de mecanismos evolutivos envolvendo sequências repetitivas presentes no genoma de espécies de *Proceratophrys* (Amphibia, Odontophrynidae).** Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular), – Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2022.

DÍAZ-CASTILLO, C. Junk DNA contribution to evolutionary capacitance can drive species dynamics. **Evolutionary Biology**, v. 44, n. 2, p. 190-205, 2017.

DOS SANTOS, R. Z.; CALEGARI, R. M.; SILVA, D. M. Z. A.; RUIZ-RUANO, F. J.; MELO, S.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; ULIANO-SILVA, M.; PORTO-FORESTI, F.; UTSUNOMIA, R. A long-term conserved satellite DNA that remains unexpanded in several genomes of *Characiformes* fish is actively transcribed. **Genome Biology and Evolution**, v. 13, p. 2, 2021.

DOVER, G. A. Molecular drive in multigene families: how biological novelties arise, spread and are assimilated. **Trends in Genetics**, v. 2, p. 159-165, 1986.

DRUMMOND *et al.* Geneious v4.8.5. 2009. Disponível em <<http://www.geneious.com>>.

EDGAR, R. MUSCLE: Multiple Sequence Alignment with High Accuracy and High Throughput. *Nucleic Acids Research*, v. 32, p. 1792-1797, 2004.

FAVARATO, R. M.; RIBEIRO, L. B.; FELDBERG, E.; MATOSO, D. A. Chromosomal mapping of transposable elements of the Rex family in the bristlenose catfish, *Ancistrus* (Siluriformes, Loricariidae), from the Amazonian region. **The Journal of Heredity**, v. 108, p. 254-261, 2016.

FERRARIS, C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**, v. 1418, p. 1-628, 2007.

FERREE, P. M.; PRASAD, S. How can satellite DNA divergence cause reproductive isolation? Let us count the chromosomal ways. **Genetics Research International**, v. 2012, 2012.

FERREIRA, I. A.; MARTINS, C. Physical chromosome mapping of repetitive DNA sequences in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: evidences for a differential distribution of repetitive elements in the sex chromosomes. **Micron**, v. 39, n. 4, p. 411–418, 2008.

FERRETTI, A. B. S. M.; MILANI, D.; PALACIOS-GIMENEZ, O. M.; RUIZ-RUANO, F. J.; CABRAL-DE-MELLO, D. C. High dynamism for neo-sex chromosomes: satellite DNAs reveal complex evolution in a grasshopper. **Heredity**, v. 125, p. 124–137, 2020.

FISCH-MULLER, S. Subfamily Ancistrinae (Armored catfishes). *In*: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. J. J. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. **Edipucrs**, p. 373-400, 2003.

FRICKE, R.; ESCHMEYER, W. N.; VAN DER LAAN, R. Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References. 2022. Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Acesso em 6 abr. 2022.

FRY, K.; SALSER, W. Nucleotide sequences of HS- α satellite DNA from kangaroo rat *Dipodomys ordii* and characterization of similar sequences in other rodents. **Cell**, v. 12, p. 1069–1084, 1977.

GARRIDO-RAMOS, M. A. Satellite DNA in plants: more than just rubbish. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 146, n. 2, p. 153-170, 2015.

GARRIDO-RAMOS, M. A. Satellite DNA: an evolving topic. **Genes**, v. 8, n. 9, p. 230-271, 2017.

GEERINCKX, T.; HERREL, A.; ADRIAENS, D. Suckermouth armored catfish resolve the paradox of simultaneous respiration and suction attachment: a kinematic study of *Pterygoplichthys disjunctivus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 315, n. 3, p. 121-131, 2011.

GLUGOSKI L.; DEON, G.; SCHOTT, S.; VICARI, M. R.; NOGAROTO, V.; MOREIRA-FILHO, O. Comparative cytogenetic analyses in *Ancistrus* species (Siluriformes: Loricariidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 18, n. 2, p. 1-16, 2020.

HALBACH, R.; MIESEN, P.; JOOSTEN, J.; TAŞKÖPRÜ, E.; RONDEEL, I.; PENNING, B.; VOGELS, C. B. F.; MERKLING, S. H.; KENRAADT, C. J.; LEMBRECHTS, L.; van RIJ, R. P. A satellite repeat-derived piRNA controls embryonic development of *Aedes*. **Nature**, v. 580, n. 7802, p. 274-277, 2020.

HUGHES, S. E.; HAWLEY, R. S. Heterochromatin: a rapidly evolving species barrier. **PLOS Biology**, v. 7, n. 10, 2009.

JAGANNATHAN, M.; YAMASHITA, Y. M. Function of junk: pericentromeric satellite DNA in chromosome maintenance. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 82, p. 319-327, 2017.

KIT, S. Equilibrium sedimentation in density gradients of DNA preparations from animal tissues. **Journal of Molecular Biology**, v. 3, p. 711-716, 1961.

KONERAT, J. T.; BUENO, V. MARGARIDO, V. P.; PORTELA-CASTRO, A. L. B.; MARTINS-SANTOS, I. C. Diversity of sex chromosome systems in Ancistrini (Loricariidae, Hypostominae): ZZ/ZW in *Ancistrus taunayi* Miranda Ribeiro, 1918. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 146, n. 4, p. 306-310, 2015.

KUHN, G. C. S. Satellite DNA transcripts have diverse biological roles in *Drosophila*. **Heredity**, v. 115, n. 1, p. 1, 2015.

LÓPEZ-FLORES, I.; GARRIDO-RAMOS, M. A. The repetitive DNA content of eukaryotic genomes. In: GARRIDO-RAMOS, M. A. Repetitive DNA. **Karger Publishers**, v. 7, p. 1–28, 2012.

LORITE, P.; MUÑOZ-LÓPEZ, M.; CARRILLO, J. A.; SANLLORENTE, O.; VELA, J.; MORA, P.; TINAUT, A.; TORRES, M. I.; PALOMEQUE, T. Concerted evolution, a slow process for ant satellite DNA: study of the satellite DNA in the *Aphaenogaster* genus (Hymenoptera, Formicidae). **Organisms Diversity & Evolution**, v. 17, n. 3, p. 595–606, 2017.

LOWER, S. E.; DION-CÔTÉ, A.; CLARK, A. G.; BARBASH, D. A. Special issue: repetitive DNA sequences. **Genes**, v. 10, n. 11, p. 896–898, 2019.

LUJAN, N. K.; ARMBRUSTER, J. W.; LOVEJOY, N. R.; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H. Multilocus molecular phylogeny of the suckermouth armored catfishes (Siluriformes: Loricariidae) with a focus on subfamily Hypostominae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 82, p. 269–288, 2015.

MARIOTTO, S. **Estudo citogenético clássico e molecular em quinze espécies da tribo Ancistrini (Siluriformes, Loricariidae) de três bacias hidrográficas brasileiras**. 2008. Tese (Doutorado em Genética e Evolução), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.

MARIOTTO, S.; ARTONI, R. F.; MIYAZAWA, C. S. Occurrence of sexual chromosome, of the type ZZ/ZW in *Ancistrus cf. dubius* (Loricariidae, Ancistrinae) of the Paraguay River Basin, Mato Grosso, Brazil. **Caryologia**, v. 57, n. 4, p. 327–331, 2004.

MARIOTTO, S.; CENTOFANTE, L.; MIYAZAWA, C. S.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Chromosome polymorphism in *Ancistrus cuiabae* Knaack, 1999 (Siluriformes: Loricariidae: Ancistrini). **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 4, p. 595–600, 2009.

MARIOTTO, S.; CENTOFANTE, L.; VICARI, M. R.; MOREIRA-FILHO, O. Diversificação de sítios do DNA ribossômico 5S e 18S em populações de sete espécies do gênero *Ancistrus* (Loricariidae, Ancistrini) das três bacias hidrográficas do Mato Grosso, Brasil. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, p. 1689–1699, 2013.

MARIOTTO, S.; CENTOFANTE, L.; VICARI, M.; ARTONI, R.; MOREIRA-FILHO, O. Chromosomal diversification in ribosomal DNA sites in *Ancistrus* Kner, 1854 (Loricariidae, Ancistrini) from three hydrographic basins of Mato Grosso, Brazil. **Comparative Cytogenetics**, v. 5, n. 4, p. 289–300, 2011.

MARIOTTO, S.; MIYAZAWA, C. S. *Ancistrus cf. dubius* (Siluriformes, Ancistrinae), a complex of species. Chromosomic characterization of four populations and occurrence of sexual chromosomes of type XX/XY, in the pantanal basin of Mato Grosso, Brazil. **Caryologia**, v. 59, n. 4, p. 299–304, 2006.

MARTINS, C. Chromosomes and repetitive DNAs: a contribution to the knowledge of the fish genome. **Fish Cytogenetics**, p. 421–453, 2007.

MIGA, K. H.; KOREN, S.; RHIE, A. *et al.* Telomere-to-telomere assembly of a complete human X chromosome. **Nature**, v. 585, n. 7823, p. 79–84, 2020

MOSCONE, E. A.; SAMUEL, R.; SCHWARZACHER, T.; SCHWEIZER, D.; PEDROSA-HARAND, A. Complex rearrangements are involved in *Cephalanthera* (Orchidaceae) chromosome evolution. **Chromosome Research**, v. 15., n. 7., p. 931–943, 2007.

NELSON, J. S. Fishes of the World. **John Wiley & Sons**, 4. ed., 2006.

NEUHAUS, E. B.; BRITTO, M.; BIRINDELLI, J. L. O.; SOUSA, L. M. A new species of *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) from Tapajós and Xingu basins, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 20, n. 1, 2022.

NOVÁK, P.; NEUMANN, P.; PECH, J.; STEINHAISSL, J.; MACAS, J. RepeatExplorer: a Galaxy-based web server for genome-wide characterization of eukaryotic repetitive elements from next-generation sequence reads. **Bioinformatics**, v. 29, e. 6, p. 792–793, 2013.

NOVÁK, P.; ROBLEDDILLO, L. Á.; KOBLÍŽKOVÁ, A.; VRBOVÁ, I.; NEUMANN, P.; MACAS, J. TAREAN: A computational tool for identification and characterization of satellite DNA from unassembled short reads. **Nucleic Acids Research**, v. 45, p. e111, 2017.

NOVÁK, P.; NEUMANN, P.; MACAS, J. Global analysis of repetitive DNA from unassembled sequence reads using RepeatExplorer2. **Nature Protocols**, v. 15, p. 3745–3776, 2020.

NOWAK, R. Mining Treasures From “Junk DNA”. **Science**, v. 263, p. 608–610, 1994.

OTAKE, K.; OHZEKI, J. I.; SHONO, N.; KUGOU, K.; OKAZAKI, K.; NAGASE, T.; YAMAKAWA, H.; KOUPRINA, N.; LARIONOV, V.; KIMURA, H.; EARNSHAW, W. C. CENP-B creates alternative epigenetic chromatin states permissive for CENP-A or heterochromatin assembly. **Journal of Cell Science**, v. 133, p. 15, 2020.

PARISE-MALTEMPI, P.; DA SILVA, E.; 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**, v. 14, n. 1, p. 60, 2013.

PITA, S.; PANZERA, F.; MORA, P.; VELA, J.; CUADRADO, Á.; SÁNCHEZ, A.; PALOMEQUE, T.; LORITE, P. Comparative repeatome analysis on *Triatoma infestans* Andean and Non Andean lineages, main vector of Chagas disease. **PLOS One**, v. 12, n. 7, p. 1303, 2017.

PITA, S.; MORA, P.; VELA, J.; PALOMEQUE, T.; SÁNCHEZ, A.; PANZERA, F.; LORITE, P. Comparative analysis of repetitive DNA between the main vectors of Chagas disease: *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, p. 1277, 2018.

PLOHL, M.; MESTROVIC, N.; MRAVINAC, B. Centromere identity from the DNA point of view. **Chromosoma**, v. 123, p. 313-325, 2014.

PLOHL, M.; MESTROVIC, N.; MRAVINAC, B. Satellite DNA evolution. **Genome Dynamics**, v. 7, p. 126-152, 2012.

PRIZON, A. C.; BORIN-CARVALHO, L. A.; BRUSCHI, D. P.; RIBEIRO, M. O.; BARBOSA, L. M.; FERREIRA, G. E. B.; CIUS, A.; ZAWADZKI, C. H.; PORTELA CASTRO, A. L. B. Cytogenetic data on *Ancistrus* sp. (Siluriformes, Loricariidae) of the Paraguay River basin (MS) sheds light on intrageneric karyotype diversification. **Comparative Cytogenetics**, v. 10, n. 4, p. 625-636, 2016.

PRIZON, A. C.; BRUSCHI, D. P.; BORIN-CARVALHO, L. A.; CIUS, A.; BARBOSA, L. M.; RUIZ, H. B.; ZAWADZKI, C. H.; FENOCCHIO, A. S.; PORTELA-CASTRO, A. L. de BRITO. Hidden diversity in the populations of the armored catfish *Ancistrus* Kner, 1854 (Loricariidae, Hypostominae) from the Paraná River basin revealed by molecular and cytogenetic data. **Frontiers in Genetics**, v. 8, n. 185, p. 1-13, 2017.

PUCCI, M. B.; BARBOSA, P.; NOGAROTO, V.; ALMEIDA, M. C.; ARTONI, R. F.; PANSONATO-ALVES, J. C.; FORESTI, F.; MOREIRA-FILHO, O.; VICARI, M. R. Population differentiation and speciation in the genus *Characidium* (Characiformes: Crenuchidae): effects of reproductive and chromosomal barriers. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 111, n. 3, p. 541–553. 2014.

RIBEIRO, M. O.; NOLETO, R. B.; LORSCHIEDER, C. A.; PORTO, F. E.; PRIZON, A. C.; ZAWADZKI, C. H.; OLIVEIRA, L. C.; PORTELA CASTRO, A. L. B. Cytogenetic description of *Ancistrus abilhoai* (Siluriformes: Loricariidae) from Iguazu River basin, southern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, p. 4051-4057, 2015.

RODRIGUES, P. H. D. M.; DOS SANTOS, R. Z.; SILVA, D. M. Z. A.; GOES, C. A. G.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F.; UTSUNOMIA, R. Chromosomal and genomic dynamics of satellite DNAs in *Characidae* (Characiformes, Teleostei) Species. **Zebrafish**, v. 16, n. 4, p. 404-414, 2019.

ROXO, F. F.; OCHOA, L. E.; SABAJ, M. H.; LUJAN, N. K.; COVAIN, R.; SILVA, G. S. C.; MELO, B. F.; ALBERT, J. S.; CHANG, J.; FORESTI, F.; ALFARO, M. E.; OLIVEIRA, C. Phylogenomic reappraisal of the Neotropical catfish family Loricariidae (Teleostei: Siluriformes) using ultraconserved elements. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 135, p. 148-165, 2019.

RUIZ-RUANO, F. J.; LÓPEZ-LEÓN, M. D.; CABRERO, J.; CAMACHO, J. P. M. High-throughput analysis of the satellitome illuminates satellite DNA evolution. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 28333, 2016.

RUIZ-RUANO, F. J.; NAVARRO-DOMÍNGUEZ, B.; CAMACHO, J. P. M.; GARRIDO-RAMOS, M. A. Characterization of the satellitome in lower vascular plants: The case of the endangered fern *Vandenboschia speciosa*. **Annals of Botany**, v. 123, n. 4, p. 587–599, 2019.

SABAJ, M. H.; ARMBRUSTER, J. W.; PAGE, L. M. Spawning in *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) with comments on the evolution of the snout tentacles as a novel reproductive strategy: larval mimicry. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 10, p. 217–229, 1999.

SHAPIRO, J. A.; STERNBERG, R. V. Why repetitive DNA is essential to genome function. **Biological Reviews**, v. 80, p. 1-24, 2005.

SILVA, K. **Isolamento de sequências repetitivas do genoma de espécies do gênero *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae)**. Dissertação de Mestrado – Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2016.

SILVA, D. M. Z. d. 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*. **Scientific Reports**, v. 7., n. 1, p. 12726, 2017.

SMIT, A. F. A.; HUBLEY, R.; GREEN, P. RepeatMasker Open-4.0. 2013-2015. <<http://www.repeatmasker.org>>.

SMITH, G. P. Evolution of repeated DNA sequences by unequal crossover: DNA whose sequence is not maintained by selection will develop periodicities as a result of random crossover. **Science**, v. 191, n. 4227, p. 528-535, 1976.

SOUZA, A. C. P. **Descrição cariotípica de peixes dos gêneros *Baryancistrus*, *Parancistrus*, *Peckoltia* e *Ancistrus* (Ancistrinae: Loricariidae) da Bacia Amazônica**. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Universidade Federal do Pará, Belém, 2003.

SUEOKA, N. Variation and heterogeneity of base composition of deoxyribonucleic acids: a compilation of old and new data. **Journal of Molecular Biology**, v. 3, n. 1, p. 31-IN15, 1961.

SZYBALSKI, W. Use of cesium sulfate for equilibrium density gradient centrifugation. In: Methods in Enzymology. **Nucleic Acids**, v. 12, p. 330–360, 1968.

THAKUR, J.; PACKIARAJ, J.; HENIKOFF, S. Sequence, chromatin and evolution of satellite DNA. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 4309, 2021.

TRAYNOR, S.; MØLLEGAARD, N. E.; JØRGENSEN, M. G.; BRÜCKMANN, N. H.; PEDERSEN, C. B.; TERP, M. G.; JOHANSEN, S.; DEJARDIN, J.; DITZEL, H. J.; GJERSTORFF, M. F. Remodeling and destabilization of chromosome 1 pericentromeric heterochromatin by SSX proteins. **Nucleic Acids Research**, v. 47, p. 13, 2019.

TUTAR, Y. Pseudogenes. **Comparative and Functional Genomics**, v. 2012, 2012.

UTSUNOMIA, R.; RUIZ-RUANO, F. J.; SILVA, D. M. Z. A.; SERRANO, É. A.; ROSA, I. F.; SCUDELER, P. E. S.; HASHIMOTO, D. T.; OLIVEIRA, C.; CAMACHO, J. P. M.; FORESTI, F. A glimpse into the satellite DNA library in Characidae fish (Teleostei, Characiformes). **Frontiers in Genetics**, v. 14, p. 8-103, 2017.

UTSUNOMIA, R.; SILVA, D. M. Z. A.; RUIZ-RUANO, F. J.; GOES, C. A. G.; MELO, S.; RAMOS, L. 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. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.

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. **Journal of Fish Biology**, v. 76, p. 1094–1116, 2010.

VOLPE, T. A.; KIDNER, C.; HALL, I. M.; TENG, G.; GREWAL, S. I. S.; MARTIENSSEN, R. A. Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. **Science**, v. 297, p. 1833-1837, 2002.

VOZDOVA, M.; KUBICKOVA, S.; CERNOHORSKA, H.; FRÖHLICH, J.; MARTÍNKOVÁ, N.; RUBES, J. Sequence analysis and fish mapping of four satellite DNA families among cervidae. **Genes**, v. 11, p. 5, 2020.

WARING, M.; BRITTEN, R. J. Nucleotide sequence repetition: a rapidly reassociating fraction of mouse DNA. **Science**, v. 154, n. 3750, p. 791–794, 1966.

ZUANON, J. A. S. **História natural da ictiofauna de corredeiras do rio Xingu, na região de Altamira**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.