

## RESUMO

A família Cichlidae é um dos grupos de peixes mais diversificados, cujas quase duas mil espécies estão globalmente distribuídas em bacias hidrográficas das Américas, África, Madagascar, Índia, Sri Lanka e Oriente Médio. A diversificação desse grupo é baseada tanto em extensos processos de alopatria, assim como rápidas explosões irradiativas simpátricas. Embora muitos aspectos citogenéticos do grupo tenham sido avaliados, a compreensão da associação dos processos de diversificação biogeográfica e filética com a evolução do cariótipo é menos conhecida. Nesse contexto, aqui foram realizadas análises citogenômicas comparativas em um conjunto expressivo de espécies multicontinentais da família Cichlidae, com vistas a contribuir no entendimento das tendências evolutivas associadas à biogeografia e seus processos de diversificação. Os padrões cromossômicos se mostraram conspicuamente diferenciados entre grupos de espécies Neotropicais (América Central e do Sul) e Afro-Tropicais (África), regiões que abrigam a maior diversidade de espécies. O valor diploide modal das espécies Neotropicais, retrata uma condição basal, com 48 cromossomos, com notável variação estrutural dos cariótipos; enquanto as espécies Afro-Tropicais apresentaram cariótipos reduzidos, com  $2n=44$ , e mais similares entre si quanto a estrutura dos cariótipos, além de particularidades na organização de sequências de DNAs repetitivos. Sítios DNAr múltiplos e por vezes sintênicos, além de outras sequências repetitivas, indicam intensas reorganizações internas nos cromossomos. O contexto biogeográfico da diversificação citogenética indica que multipartições alopátricas, envolvendo rios da América Central e da bacia Amazônica, na América do Sul, potencializam maiores mudanças estruturais nos cariótipos, com reflexos na evolução de suas espécies, enquanto rápidos processos simpátricos de radiação adaptativa, devido a partições ecológicas, ocorridos nos grandes lagos africanos, promoveram a retenção de um significativo conservadorismo cariotípico nas espécies Afro-Tropicais.

**Palavras-chave:** Evolução cariotípica, rearranjos cromossômicos, DNAr, especiação alopátrica, especiação simpátrica.

## ABSTRACT

The family *Cichlidae* is one of the most diverse groups of fish, comprising nearly two thousand species globally distributed across the river basins of the Americas, Africa, Madagascar, India, Sri Lanka, and the Middle East. The diversification of this group is attributed both to extensive processes of allopatric speciation and rapid radiative bursts of sympatric speciation. Although many cytogenetic aspects of this family have been studied, the relationship between biogeographic and phylogenetic diversification processes and karyotype evolution remains less understood. In this context, comparative cytogenomic analyses were conducted on a significant set of multicontinental species from the *Cichlidae* family to contribute to understanding the evolutionary trends associated with biogeography and its diversification processes. Chromosomal patterns were conspicuously differentiated between Neotropical species groups (Central and South America) and Afrotropical species groups (Africa), regions that host the highest species diversity. The modal diploid value for Neotropical species reflects a basal condition with 48 chromosomes, accompanied by notable structural variation in karyotypes. In contrast, Afrotropical species exhibited reduced karyotypes with  $2n=44$  and greater structural similarity among their karyotypes, as well as unique features in the organization of repetitive DNA sequences. Multiple and sometimes syntenic rDNA sites, alongside other repetitive sequences, suggest intense internal chromosomal reorganizations. The biogeographic context of cytogenetic diversification indicates that extensive allopatric partitioning, involving rivers in Central America and the Amazon basin in South America, drives significant structural changes in karyotypes, influencing the evolution of these species. Conversely, rapid sympatric adaptive radiation processes, driven by ecological partitioning in the large African lakes, have promoted the retention of significant karyotypic conservatism among Afrotropical species.

**Key-words:** Karyotypic evolution, chromosomal rearrangements, rDNA, allopatric speciation, sympatric speciation.

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

- Figura 1.** Distribuição biogeográfica das espécies da família Cichlidae foco das análises citogenômicas. Sp. = número de espécies por continente. **21**
- Figura 2.** Espécies de ciclídeos Neotropicais e Indo-malaios utilizadas nas análises citogenômicas: **A)** *Mesonauta festivos*, **B)** *Andinoacara rivulatus*, **C)** *Amatitlania nigropasciata*, **D)** *Trorinchthys meeki*, **E)** *Herichthys carpints*, **F)** *Vieja melanurus*, **G)** *Parachromis managuensis*, **H)** *Mikrogeophagus altispinosus*, **I)** *Pseudetroplus maculatus*. Barra = 1cm. **22**
- Figura 3.** Espécies de ciclídeos Afro-tropicais utilizadas nas análises citogenômicas: **A)** *Rubricatichromis lifalili*, **B)** *Nimbochromis livinstonii*, **C)** *Labeotropheus trewavasae*, **D)** *Gephyrochromis moorii*, **E)** *Chindongo elongatus*, **F)** *Chindongo demasoni*, **G)** *Paratilapia polleni*, **H)** *Melanochromis auratus*, **I)** *Maylandia zebra*, **J)** *Chindongo socolofi*, **K)** *Nimbochromis venustus*, **L)** *Labidochromis caeruleus*. Barra = 1cm. **23**

### CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Distribuição biogeográfica das espécies da família Cichlidae utilizadas nas análises citogenômicas, distribuição do valor de FN nas regiões biogeográficas Neotropical, Afro-tropical, Madagascar e Indo-malaia e, respectivas frequências dos sítios DNAr 18S e 5S nos cariótipos. **32**
- Figura 2.** Cariótipos das espécies Indo-malaias e Neotropicais, *P. maculatus*, *H. carpintis*, *T. meeki*, *M. festivos*, sob coloração com Giemsa e bandamento-C e sinais de hibridização com sondas DNAr 18S (marcações em verde) e 5S (marcações em vermelho). Em destaque nas caixas os pares portadores de sítios Ag-RONs. Barra = 5µm. **36**
- Figura 3.** Cariótipos das espécies Neotropicais, *P. managuensis*, *A. nigrofasciata*, *M. altispinosus*, *A. rivulatus*, sob coloração com Giemsa e bandamento-C e sinais de hibridização com sondas DNAr 18S (marcações em verde) e 5S (marcações em vermelho). Em destaque nas caixas os pares portadores de sítios Ag-RONs. Caixas com duas **39**

cores indicam sítios DNAr 18S e 5S colocalizados. Barra = 5µm.

- Figura 4.** Cariótipos das espécies afro-tropicais, *Paratilapia polleni*, *Rubricatochromis lifalili*, *Nimbochromis livingstonii*, *Nimbochromis venustus*, *Labidochromis caeruleus*, sob coloração com Giemsa e bandamento-C e sinais de hibridização com sondas DNAr 18S (marcações em verde) e 5S (marcações em vermelho). Em destaque nas caixas os pares portadores de sítios Ag-RONs. Barra = 5µm. **40**
- Figura 5.** Cariótipos das espécies Afro-Tropicais, *Melanochromis auratus*, *Chindongo socolofi*, *Chindongo demasoni*, *Labeotropheus trewavasae*, *Gephyrochromis moorii*, sob coloração com Giemsa e bandamento-C e sinais de hibridização com sondas DNAr 18S (marcações em verde) e 5S (marcações em vermelho). Em destaque nas caixas os pares portadores de sítios Ag-RONs. Caixas com duas cores indicam sítios DNAr 18S e 5S colocalizados. Barra = 5µm. **41**
- Figura 6.** Cariótipo das espécies *C. elongatus*, *M. zebra* e *V. melanurus*, sob coloração com Giemsa e bandamento-C. Em destaque nas caixas os pares portadores de sítios Ag-RONs. Barra = 5µm. **42**
- Figura 7.** Cariótipos de *Pseudetroplus maculatus* e *Paratilapia polleni*, sob hibridização *in situ* fluorescente (FISH) com sondas CA<sub>15</sub>, Rex, teloméricas (TTAGGG)<sub>n</sub>. Barra = 5µm. **43**
- Figura 8.** Análise filogenética bayesiana a partir de sequências COI das espécies analisadas neste estudo. Barra = distância evolutiva de diversificação dos grupos em milhões de anos. Gráficos em verde e azul demonstram a variação de FN, com valores máximos e mínimos representados nos círculos. **44**

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1.

**Tabela 1.** Espécies, localidades e código do GenBank das sequências do DNA mitocondrial Citocromo Oxidase Subunidade I – COI, utilizadas para construção da filogenia do grupo de ciclídeos analisados. **33**

**Tabela 2.** Dados citogenéticos das espécies de ciclídeos analisados no presente estudo. **35**

### ANEXO I

**Tabela 1.** Dados citogenéticos disponíveis para família Cichlidae. **64**

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Aspectos biológicos gerais da família Cichlidae.....	14
1.2 Aspectos biogeográficos da família Cichlidae.....	15
1.3 Especiação simpátrica e alopátrica na família Cichlidae.....	17
1.4 Hibridização interespecífica em peixes e relações com a radiação adaptativa.....	18
1.5 Aspectos citogenéticos da família Cichlidae.....	20
2. OBJETIVOS.....	22
2.2 Objetivo Geral.....	22
2.3 Objetivos Específicos.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Material.....	23
3.2 Métodos.....	26
3.2.1 Estimulação mitótica.....	26
3.2.2 Técnica de preparação de cromossomos mitóticos.....	26
3.2.3 Preparação das lâminas.....	27
3.2.4 Análises cromossômicas.....	27
3.2.5 Detecção das regiões organizadoras de nucléolos (RONS).....	27
3.2.6 Detecção de heterocromatina constitutiva.....	28
3.2.7 Obtenção de sondas para Hibridação <i>in situ</i> fluorescente (FISH).....	28
3.2.8 Hibridização cromossômica.....	29
3.2.9 Análises filogenéticas utilizando sequencias COI.....	30
Capítulo I.....	31
Padrões carioevolutivos da família Cichlidae associados aos seus padrões biogeográficos e filogenéticos.....	31
CONCLUSÕES.....	51
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
5. ANEXO I.....	65