

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PARÂMETROS GENÉTICOS PARA CARACTERÍSTICAS
PRODUTIVAS E QUALIDADE DE PELE EM TILÁPIA DO
NILO

Autor: Humberto Todesco
Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira

MARINGÁ
Estado do Paraná
Setembro de 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PARÂMETROS GENÉTICOS PARA CARACTERÍSTICAS
PRODUTIVAS E QUALIDADE DE PELE EM TILÁPIA DO
NILO

Autor: Humberto Todesco
Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Setembro de 2020

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

T637p

Todesco, Humberto

Parâmetros genéticos para características produtivas e qualidade de pele em Tilápia do Nilo / Humberto Todesco. -- Maringá, PR, 2020.
58 f. figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2020.

1. Herdabilidade. 2. *Oreochromis niloticus*. 3. Biomateriais. 4. Queimadura. 5. Medicina regenerativa. I. Oliveira, Carlos Antonio Lopes de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 636.3774



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PARÂMETROS GENÉTICOS PARA CARACTERÍSTICAS
PRODUTIVAS E QUALIDADE DE PELE EM
TILÁPIA DO NILO

Autor: Humberto Todesco
Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADO em 04 de setembro de 2020.

Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

Profª Drª Sandra Maria Simonelli

Dr. Luiz Guilherme Nadal Nunes

Profª Drª Cristiana Libardi
Miranda Furtado

Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira
Orientador

“Para que levar a vida tão a sério, se a vida é uma alucinante aventura da qual não sairemos vivos”

Bob Marley

Aos

meus pais Araldo e Maura, pelo amor e melhor herança que um filho pode ter, o estudo.

Aos

meus irmãos Fabiana, Carolina, Virginia, Juliano e Priscila por todo apoio, incentivo e amor.

À

minha esposa Daiane, pela compreensão, companheirismo e amor.

Aos

meus filhos Otávio e Otto, por todo amor que eu sinto por eles.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar suas bênçãos todos os dias.

Aos meus pais, Araldo Todesco e Maura Aparecida Campos Vieira Todesco, meus irmãos, Fabiana Todesco, Carolina Todesco, Virginia Todesco, Juliano Todesco e Priscila Todesco por sempre me apoiarem e acreditarem em mim. Sem eles jamais teria chegado até aqui.

À minha esposa Daiane, pelo apoio, paciência e todo suporte.

Aos meus filhos Otávio e Otto, por ser a razão de todo meu esforço.

À família que me acolheu, Eleusa Ferrante de Souza, José Gabriel de Solza e Renan Gabriel de Souza, por todo apoio e companheirismo.

À Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade para a realização do curso.

Ao Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira, pela orientação, ensinamentos, estímulo e amizade.

Ao Professor Ricardo Pereira Ribeiro, por toda a ajuda, paciência, amizade e conhecimentos compartilhados.

Ao Departamento de Zootecnia, UEM, e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UEM, pelos valiosos ensinamentos.

Aos Pesquisadores do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará, em especial ao Dr. Edmar Maciel Lima Junior, pela parceria na pesquisa.

Às pessoas especiais que me ajudaram de diversas formas durante o doutorado: Eric Costa Campos, Filipe Chagas Teodózio de Araújo, Karla Tisujii, Jaísa Casetta, Hanner Mahmud Karim, Diogo Silva, Fernando Mendes Brito, Renan Sanches, Francisco Altimari Júnior.

Aos funcionários da estação experimental de piscicultura da UEM, Vitor Moises, Cleiton e José, por toda ajuda, dedicação e companheirismo durante todo meu doutorado.

A todos os colegas do grupo PeixeGen, em especial pelo empenho, dedicação e grande ajuda na realização deste projeto.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação.

BIOGRAFIA

HUMBERTO TODESCO, casado com Daiane Aparecida Gabriel de Souza, pai de Otávio de Souza Todesco e de Otto de Souza Todesco, filho de Araldo Todesco e Maura Aparecida Campos Vieira Todesco. Nasceu na cidade de Tapiraí, São Paulo, no dia 05 de fevereiro de 1988.

Em dezembro de 2013, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em julho de 2016, concluiu o mestrado na área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Melhoramento Genético Animal.

Em março de 2017, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Melhoramento Genético Animal.

No dia 04 de setembro de 2020, submeteu-se à banca examinadora para defesa da Tese.

INDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
I INTRODUÇÃO.....	1
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 Cenário da piscicultura mundial e brasileira.....	1
1.2 Uso terapêutico da pele de tilápia em queimados.....	4
1.3 Colágeno da pele de tilápia.....	8
1.4 Melhoramento genético de tilápia do Nilo.....	10
2 REFERÊNCIAS.....	12
I OBJETIVO.....	17
Parâmetros genéticos para características produtivas e qualidade de pele em tilápia do Nilo.....	18
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	20
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
Conjuntos de dados.....	24
Procedimentos de abate e coleta de dados.....	24
Ajuste de modelos e análises genéticas.....	25

Análise de expressão gênica	26
Análise estatística	28
RESULTADOS	29
DISCUSSÃO	33
CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS.....	38

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. <i>Primers</i> utilizados para quantificar a reação em cadeia da polimerase.	28
Tabela 2. Estatística descritiva das características.	29
Tabela 3. Modelos estatísticos testados para cada característica.....	30
Tabela 4. Estimativas para o coeficiente de herdabilidade e para os componentes de variância das características de crescimento e qualidade de pele.....	31
Tabela 5. Estimativas das correlações genéticas, fenotípicas e residuais entre as características de crescimento e qualidade de pele.....	31

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Queimadura profunda de espessura parcial no membro superior esquerdo, após limpeza da lesão (LIMA JUNIOR et al., 2019a).....	5
Figura 2. Aparência do membro superior esquerdo após aplicação da pele de tilápia do Nilo (LIMA JUNIOR et al., 2019a).	6
Figura 3. Aparência do curativo no sexto dia de tratamento. Foi detectada boa aderência da pele de tilápia ao leito da ferida (LIMA JUNIOR et al., 2019a).	6
Figura 4. Aparência da lesão do membro superior esquerdo após a remoção da pele de tilápia, com o total de 17 dias necessários para a completa reepitelização das queimaduras profundas (LIMA JUNIOR et al., 2019a).	7
Figura 5. Esquema da estrutura de tripla hélice de cadeias α , formando a fibra do colágeno (MARIEB, 2003).....	9
Figura 6. Expressão dos genes <i>COL1A2</i> (A) e <i>COL1A3</i> (B) nos grupos de baixo valor genético (BVG) e alto valor genético (AVG). Os valores médios com letras diferentes foram significativamente diferentes ($P < 0,05$).	32

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivos estimar os componentes de variância e parâmetros genéticos de características de crescimento, rendimento de filé e qualidade de pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*); avaliar a associação genética entre características produtivas e espessura de pele; e verificar o efeito de grupos genéticos com alto e baixo valor genético para espessura de pele na expressão dos genes do colágeno tipo I, cadeias $\alpha 2$ e $\alpha 3$. Os animais utilizados neste estudo são da décima geração do programa de melhoramento genético de tilápia do Nilo, da Universidade Estadual de Maringá (PMGT-UEM). Para estimação dos componentes de variância, herdabilidade e correlações foram utilizados registros de 1.221 médias de três medidas de espessura de pele (EP), 1.213 medidas de rendimento de filé (RF) e 3.171 medidas de peso à despesca (PD). Para análise de expressão dos genes *COLIA2* e *COLIA3*, foram coletadas peles de seis machos pertencentes à família de alto valor genético (AVG) e seis pertencentes à família de baixo valor genético (BVG). As estimativas de herdabilidade foram altas para PD (0,71), média para EP (0,59) e moderada para RF (0,21). A repetibilidade da espessura de pele foi de 0,66. A correlação genética entre EP e PD foi de 0,77 e entre EP e RF a correlação foi de -0,02, não sendo significativa. A expressão do gene *COLIA3* foi maior no grupo AVG (7,38 UA) quando comparado ao grupo BVG (4,88 UA) ($p=0,038$). Os resultados, obtidos na análise genética quantitativa e de expressão gênica indicam que é possível por meio de seleção aumentar a espessura e a quantidade de colágeno tipo I na pele de tilápia, melhorando a qualidade da pele com a finalidade de utilizá-la como biomaterial. A estimativa da repetibilidade da espessura da pele demonstrou que não é necessário realizar mais que uma medida no mesmo animal. A correlação genética das características espessura da pele e peso à

despesa é favorável, possibilitando resposta positiva em ambas as características e não afetando a característica rendimento de filé, tornando interessante o melhoramento da pele da tilápia do Nilo visando tanto o uso medicinal (xenoenxerto) quanto o ganho de peso.

Palavras-chave: Herdabilidade. *Oreochromis niloticus*. Biomateriais. Curativo. Queimadura. Xenoinxerto. Medicina regenerativa.

ABSTRACT

The present study aimed to estimate the components of variance and genetic parameters of growth characteristics, fillet yield, and skin quality; to evaluate the genetic association between productive characteristics and skin thickness; and to verify the effect of genetic groups with high and low value genetics for skin thickness in the expression of type I collagen genes, $\alpha 2$ and $\alpha 3$ chains in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The animals used in this study are from the tenth generation of the Nile tilapia breeding program, from the State University of Maringá (PMGT-UEM). To estimate the variance components, heritability and correlations were used records of 1,221 averages three skin thickness measurements (EP), 1,213 fillet yield information (RF) and 3,171 harvesting weight (PD). For the expression analysis of *COLIA2* and *COLIA3* genes, skins were collected from six males belonging to the family of high genetic value (AVG) and six to the family of low genetic value (BVG) for skin thickness. Heritability estimates were high for PD (0.71), medium for EP (0.59) and moderate for RF (0.21). The repeatability of the skin thickness was 0.66. The genetic correlation between EP and PD was 0.77, but between EP and RF the estimated value was -0.02, not being significant. *COLIA3* gene expression was higher in the AVG group (7.38 AU) when compared to the BVG group (4.88 AU) ($p = 0.038$). The results, obtained in the quantitative genetic analysis and gene expression, indicate that it is possible through selection to increase the thickness and the amount of type I collagen in tilapia skin, improving the skin quality to use it as biomaterial. The repeatability estimate of the skin thickness, demonstrated that it is not necessary to perform more than one measurement on the same animal. The correlation between the genetic values of the characteristic skin thickness and weight at harvest is favorable, enabling a

positive response in both characteristics and not affecting the fillet yield characteristic, making it interesting looking for Nile Tilapia skin improvement aiming at both medicinal use (xenograft) and weight gain.

Key words: Heritability. *Oreochromis niloticus*. Biomaterials. Burn. Xenograft. Regenerative medicine.

I INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Cenário da piscicultura mundial e brasileira

A produção de pescado atingiu 171 milhões de toneladas (2016), sendo desse total, 47% representado pela aquicultura. Desconsiderando o uso sem fins alimentares do pescado, esse valor sobe para 53% de produção aquícola (FAO, 2018).

No ano de 2018 foram produzidas mundialmente 84 milhões de toneladas de peixes de cultivo. Sendo 4 milhões de toneladas a mais do que no ano anterior. Estes resultados apontam para o incremento da aquicultura no mundo, enquanto se observa estagnação na captura pesqueira (PEIXEBR, 2019).

A pesca e aquicultura em 2016 geraram U\$362 bilhões em vendas, dos quais U\$232 bilhões foram provenientes da produção de aquicultura. Com a captura da produção pesqueira estagnada desde o final dos anos 80, a aquicultura tem sido responsável pelo crescimento contínuo no suprimento de peixe para consumo humano (FAO, 2018).

Do início dos anos 1960 até os dias atuais, houve aumento de 3,2% no consumo anual de peixes no mundo, ultrapassando o crescimento populacional (1,6%) e excedendo o crescimento do consumo de carne de bovinos, ovinos, suínos e outros animais terrestres combinados (2,8%), exceto o crescimento do consumo de aves que foi de 4,9%. Nesse mesmo período, o consumo per capita de pescado cresceu a taxa média anual de cerca de 1,5%, passando de 9,0 para 20,5 kg em 2017 (FAO, 2018).

Da produção mundial de origem da aquicultura no ano de 2016 foram obtidos 80,0 milhões de toneladas de pescados destinados à alimentação, 30,1 milhões de toneladas de plantas aquáticas e 37,9 mil toneladas de produtos não alimentares. Do total de pescado produzido, 54,1 milhões de toneladas foram de peixes (FAO, 2018).

Desde o ano de 1991, a China se tornou o maior produtor de peixes cultivado, produzindo mais do que o resto do mundo durante todo o período até o ano de 2016 (FAO, 2018). Outros países com grande produção nesse mesmo ano foram Índia, Indonésia, Vietnã, Bangladesh e Egito. Segundo o relatório da FAO (2018), o Brasil aparece como o oitavo maior produtor (507,1 mil toneladas) de peixes de cultivo em águas continentais.

A produção mundial de peixes de cultivo depende cada vez mais da aquicultura de água doce, e, é mais comum na maioria dos países. Viveiros escavados são as formas mais utilizadas na aquicultura, embora sistemas *raceway* e tanques-rede também sejam amplamente utilizados, mas dependem de diversos fatores e das condições locais de cultivo (FAO, 2018).

Entre as espécies de peixes mais cultivadas, as três primeiras posições são ocupadas pelas carpas. A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) aparece em seguida, com 4,5 milhões de toneladas produzidas (2016). Dentre as espécies mais importantes o salmão aparece em nono lugar e o pangá em décimo primeiro (FAO, 2018).

A piscicultura brasileira cresceu 4,9% e chegou a 758.006 toneladas produzidas em 2019. Nos últimos seis anos a produção aumentou 31% no país (PEIXEBR, 2020). Considerando a produção de tilápia do Nilo, o Brasil ocupa a quarta posição, atrás apenas da China, Indonésia e Egito, ficando à frente de países como Filipinas e Tailândia (PEIXEBR, 2019). A produção nacional aumentou em 11,9%, passando de 357,6 mil toneladas em 2017 para 400,2 mil toneladas em 2018 (PEIXEBR, 2019). No ano de 2019, a produção de tilápia chegou a 57% de toda a piscicultura brasileira, com o total de 432,1 mil toneladas produzidas, um incremento de 7,96% em relação ao ano anterior (PEIXEBR, 2020).

A produção de tilápia do Nilo no Brasil supera a de peixes nativos, uma vez que se trata de uma espécie de fácil adaptação, sendo encontrada em todos os estados e

regiões do país. Entretanto, cinco estados detêm cerca de 70% de toda criação de tilápia. A produção de tilápia no Brasil se concentra principalmente no estado do Paraná, sendo o maior produtor, com 146,2 mil toneladas. Seguido pelos estados de São Paulo que produziu 64,9 mil toneladas, Santa Catarina com 38,5 mil toneladas, Minas Gerais com 36,3 mil toneladas e Pernambuco com 25,4 mil toneladas de tilápia (PEIXEBR, 2020).

Dentre as vantagens em relação as demais espécies, a tilápia se destaca pelas suas características zootécnicas, ou seja, boa adaptação ao ambiente, bem como a velocidade de crescimento, resistência a doenças, capacidade de suportar altas densidades de povoamento e tolerância a baixos teores de oxigênio dissolvido na água (NOGUEIRA; RODRIGUES, 2007). Uma espécie de peixe que não necessita de indução hormonal para reprodução é de fácil manejo reprodutivo e precoce na idade de desova (RIBEIRO, VARGAS E OLIVEIRA, 2019), principalmente, tratando-se da produção em tanques rede (SCORVO et al., 2010). Além das características zootécnicas, outro fator que impactou o cultivo de tilápia no Brasil foi a implantação e condução de programas de melhoramento genético (OLIVEIRA et al. 2016).

Tendo em vista toda a expectativa e as estatísticas de produção de tilápia, surge a preocupação com os coprodutos da produção. Em frigoríficos processadores de peixe, a produção de coprodutos, principalmente na indústria de filetagem de tilápias representa entre 62,5 a 66,5% da matéria-prima, sendo fundamental o processamento de coprodutos não utilizados para redução do impacto ambiental (BOSCOLO et al., 2001). A pele de tilápia representa cerca de 9% do coproduto total de uma tilápia com tamanho médio de 0,886g (SONE e MOREJON 2019). O desenvolvimento de processos que visam maior aproveitamento do pescado pode acarretar incrementos nos lucros para o produtor, e também para os frigoríficos processadores.

Neste cenário, a pele é um subproduto na indústria de filetagem de tilápia, uma vez que o filé é o principal produto comercializado. A pele de tilápia tem grande procura pela indústria do couro (SOUZA et al., 2006), porém em sua grande maioria é descartada ou então processada e transformada em farinha junto com outros resíduos industriais e utilizada na alimentação animal. Além das utilizações da pele já citadas, surgiu recentemente outra linha de estudo e pesquisa para a pele de tilápia, que é o seu uso no tratamento de queimaduras tanto em humanos como em outras espécies de mamíferos.

A pele da tilápia é geralmente descartada pelos frigoríficos ou direcionada à graxarias ou produção de farinhas pela indústria de ração animal. O uso da pele de peixe como fonte alternativa de colágeno converte essa matéria-prima de baixo valor em um produto de valor agregado, dando um destino mais nobre, reduzindo os custos relacionados ao manejo de resíduos e possível poluição ambiental em descartes ilegais (SUN et al., 2017).

1.2 Uso terapêutico da pele de tilápia em queimados

Queimaduras em seres humanos é um problema global de saúde pública, provocando mais de 180.000 mortes anualmente (OMS 2018). A maioria destas fatalidades ocorre em países de baixa e média renda, grupo no qual, o Brasil está incluído. Queimaduras não fatais causam sequelas, hospitalizações prolongadas, desfigurações e incapacidades. Em 2004, quase 11 milhões de pessoas no mundo sofreram queimaduras graves o suficiente para exigir atenção médica (OMS 2018).

Lima Júnior et al. (2016) descrevem que a queimadura é uma lesão dos tecidos orgânicos, em decorrência de um trauma de origem térmica, o qual varia desde uma pequena bolha até formas graves, capazes de desencadear respostas sistêmicas proporcionais à extensão e à profundidade, podendo resultar em desfiguração, incapacidade e até morte (LIMA JUNIOR et al., 2019a).

A utilização da pele de tilápia em tratamentos de queimados é uma técnica que vem sendo desenvolvida pelos pesquisadores da Universidade Federal do Ceará (UFC) e avaliada pela Agência Nacional de Vigilância da Saúde (ANVISA) para a liberação e utilização pelo Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil. Diversos países, como Alemanha, Estados Unidos, Holanda, Guatemala e Colômbia, vêm estudando os benefícios dessa técnica.

O tratamento com a pele da tilápia funciona como curativo biológico, o qual tampona a ferida aderindo à lesão (assemelhando à cola), assim permanecendo por vários dias, reduzindo o risco de infecção e a dor durante o tratamento, evitando maiores traumas ao paciente (LIMA JUNIOR et al., 2017).

Para a utilização como material biológico, por exemplo o xenoinxerto, o material deve possuir resistência, elasticidade e colágeno do tipo I. A quantidade de

colágeno do tipo I está relacionada à espessura da pele, ou seja, quanto mais espessa a pele da tilápia maior será a quantidade de colágeno aplicada sobre a lesão, aumentando a qualidade do tratamento (ALVES et al., 2015; LIMA JUNIOR et al., 2016, 2017; COSTA et al., 2019). Outra característica importante a ser considerada em um biomaterial é o custo-benefício, devendo o material ser barato, de fácil utilização e sem reações adversas, ou seja, deve ser biosseguro (LIMA JUNIOR et al., 2019a).

A pele da tilápia se encaixa nos quesitos mencionados, podendo ser considerada um recurso extra, eficaz e de baixo custo com alto impacto social para o sistema de saúde, sendo introduzido no arsenal terapêutico das queimaduras pediátricas (LIMA JUNIOR et al., 2019b) e em adultos (LIMA JUNIOR et al., 2019a). Na figura 1 é possível observar uma queimadura profunda de espessura parcial no membro superior esquerdo, após limpeza da lesão; na figura 2, nota-se a aparência após aplicação da pele de tilápia do Nilo; e na figura 3, verifica-se a evolução do tratamento no curativo no sexto dia de tratamento. Como resultado foi detectado boa aderência da pele de tilápia ao leito da ferida e a figura 4 apresenta a aparência após a remoção da pele de tilápia, após o total de 17 dias (LIMA JUNIOR et al., 2019a).



Figura 1. Queimadura profunda de espessura parcial no membro superior esquerdo, após limpeza da lesão (LIMA JUNIOR et al., 2019a).



Figura 2. Aparência do membro superior esquerdo após aplicação da pele de tilápia do Nilo (LIMA JUNIOR et al., 2019a).



Figura 3. Aparência do curativo no sexto dia de tratamento. Foi detectada boa aderência da pele de tilápia ao leito da ferida (LIMA JUNIOR et al., 2019a).



Figura 4. Aparência da lesão do membro superior esquerdo após a remoção da pele de tilápia, com um total de 17 dias necessários para a completa reepitelização das queimaduras profundas (LIMA JUNIOR et al., 2019a).

Além do uso da pele da tilápia, como xenoenxerto em queimaduras, Dias et al. (2019) pesquisaram o uso da pele de tilápia como enxerto biológico para a criação de uma neovagina, na cirurgia de neovaginoplastia em mulheres com a síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser. Os resultados deste trabalho apontaram mais uma alternativa para utilização da pele da tilápia na medicina regenerativa em humanos.

Song et al. (2019) ao investigarem as propriedades físico-químicas, a biossegurança e a biocompatibilidade da pele da tilápia do Nilo, verificaram que o colágeno da pele da tilápia do Nilo é altamente biocompatível e pode ser usado como material biomédico adequado na medicina humana. As estruturas fibrosas e porosas em sua constituição evidenciam a possibilidade do seu uso na composição dos biomateriais (SUN et al., 2017).

O colágeno de mamíferos, especialmente colágeno porcino (DING et al., 2014) ou bovino (PARCELLS et al., 2014), possui excelente biocompatibilidade. No entanto, o colágeno de mamíferos ainda apresenta um risco de transmissão de zoonoses, como encefalopatia espongiforme bovina e febre aftosa (MATSUMOTO et al., 2011). O colágeno da pele de tilápia do Nilo é uma fonte alternativa ao colágeno de mamíferos, possuindo boa relação custo-benefício em relação as outras espécies (SUN et al., 2017).

As unidades formadoras de colônias encontradas em amostras de pele de tilápia antes do processo de esterilização química indicaram a presença de microbiota normal e não infecciosa (LIMA JUNIOR et al., 2016). A pele de tilápia possui características microscópicas semelhantes à estrutura morfológica da pele humana e elevada resistência e extensão à tração em quebra, é composta por feixes organizados de fibras de colágeno denso, predominantemente do tipo I, e traz considerável importância para seu uso clínico (ALVES et al., 2015).

1.3 Colágeno da pele de tilápia

As proteínas colágenas dos peixes, assim como dos mamíferos, são amplamente distribuídas na pele, cartilagem, ossos e muitos outros órgãos (KIMURA, 1985). Giménez e Montero (2011) descrevem que há 27 tipos diferentes de colágeno identificados e o colágeno tipo I é o colágeno que ocorre mais amplamente no tecido conjuntivo.

A pele de tilápia é composta de 57% de colágeno tipo I (ALVES et al., 2015) e as moléculas intersticiais de colágeno são compostas por três cadeias polipeptídicas α , cada uma formando uma hélice para esquerda, entrelaçando-se e formando uma hélice tripla para direita (heterotrímero) (figura 5). Em vertebrados superiores as moléculas são compostas por duas cadeias $\alpha 1$ e uma $\alpha 2$ ($[\alpha 1]_2 \alpha 2$) (KIMURA; OHNO, 1987; KIMURA, 1992; NICOL et al., 2019).

Os primeiros estudos com pele de peixes teleósteos encontraram uma terceira cadeia $\alpha 3$, formando um heterotrímero $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$, em bacalhau (*Gadus sp.*) (PIEZ, 1965), posteriormente em escamudo do Alasca (*Theragra chalcogramma*) (KIMURA; OHNO, 1987), carpa (*Cyprinus carpio*), tilápia (*Tilapia nilótica*) (KIMURA, 1992), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (SAITO et al., 2001) e Zebrafish (*Danio rerio*) (MORVAN-DUBOIS et al., 2003; GISTELINCK et al., 2016).

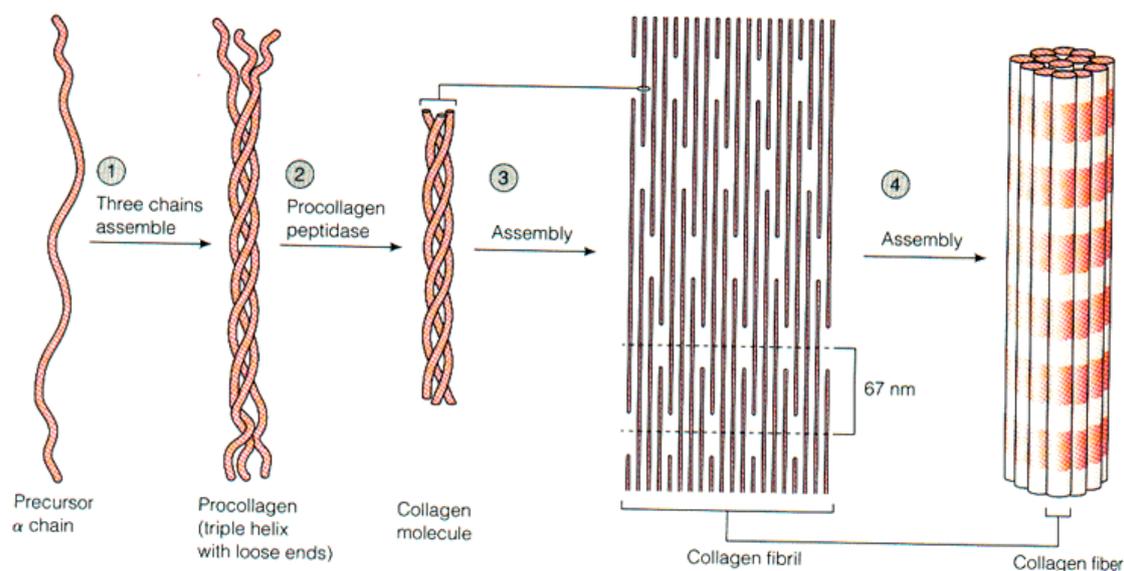


Figura 5. Esquema da estrutura de tripla hélice de cadeias α , formando a fibra do colágeno (MARIEB, 2003).

Kimura e Ohno (1987) descrevem que a cadeia $\alpha 3$ parece ser o produto de um terceiro locus genético que surgiu como duplicação do gene $\alpha 1$. Ao analisar o colágeno da pele e do músculo de truta arco-íris, Saito et al. (2001) observaram heterotrímeros $[\alpha 1]_2 \alpha 2$ no músculo e $\alpha 1 \alpha 2 \alpha 3$ na pele sendo mais suscetível à desnaturação por calor do que o equivalente muscular. Estes resultados sugerem que a temperatura corporal interna dos peixes é significativamente maior que a temperatura corporal da superfície, assim, é razoável especular que $\alpha 3$ (I) regula a estabilidade térmica do colágeno da pele (MORVAN-DUBOIS et al., 2003). Peixes ósseos podem ter necessitado de colágeno na pele contendo $\alpha 3$ no lugar de uma das duas cadeias $\alpha 1$. Esta composição proporciona rotação metabólica mais rápida que outras configurações de colágenos orgânicos sem o $\alpha 3$, permitindo melhor adaptação a mudanças severas de temperatura no habitat (SAITO et al., 2001).

O colágeno de pele de tilápia do Nilo tem maior estabilidade térmica comparável aos outros peixes (SUN et al., 2017). No entanto, o próprio autor descreve que mais estudos são necessários para esclarecer as funções específicas da cadeia $\alpha 3$. Os genes *COL1A1* e *COL1A2* codificam a proteína do colágeno tipo I $\alpha 1$ e $\alpha 2$, respectivamente, em tetrápodes (GISTELINCK et al., 2016) e o gene *COL1A3* codifica o gene do colágeno tipo I $\alpha 3$ (MORVAN-DUBOIS et al., 2003).

1.4 Melhoramento genético de tilápia do Nilo

O grupo de pesquisa PeixeGen da Universidade Estadual de Maringá conduz um programa de melhoramento genético de tilápia do Nilo, cujo objetivo de seleção é aumentar a velocidade de crescimento dos animais, gerando indivíduos que atinjam o peso de abate mais rapidamente (RIBEIRO; VARGAS e OLIVEIRA, 2019).

Estudos em genética quantitativa para características de interesse econômico em tilápia do Nilo estão consolidados em vários programas de melhoramento genético de tilápias no mundo. Os principais critérios de seleção utilizados estão relacionados com velocidade de crescimento, rendimento de cortes comerciais e aspectos reprodutivos.

Resultados relevantes a cerca das características da tilápia do Nilo podem ser encontrados na literatura. Ponzoni et al., (2005), aferiram o peso vivo da tilápia com herdabilidade de 0,34. Rutten, Bovenhuis e Komen, (2005), mediram o peso e rendimento de filé com herdabilidade de 0,24 e 0,12, respectivamente, e correlação genética de 0,74 entre as duas características. Nguyen et al., (2010), aferiram o peso com herdabilidade 0,31 e o rendimento de filé com herdabilidade de 0,25. Garcia et al., (2017), encontraram herdabilidade para o peso, teor de gordura no filé e o rendimento de filé com 0,41, 0,20 e 0,32, respectivamente. Todesco et al., (2016), mediram características reprodutivas, obtendo valores de herdabilidade de volume de ovos e número de desova de 0,17 e 0,46, respectivamente. Finalmente, Trong, Van Arendonk e Komen, (2013), aferiram herdabilidade para a probabilidade de desovar no período de 12 dias de 0,03 e no período de 32 dias de 0,22.

Em função dos recentes estudos sobre os potenciais usos da pele de tilápia na medicina, foi desenvolvida uma parceria de pesquisa entre o grupo PeixeGen, o núcleo de seleção do programa de melhoramento genético de tilápia da Universidade Estadual de Maringá (PMGT/UEM) e o Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os primeiros resultados desta parceria permitiram avaliar a existência de variabilidade genética e resposta à seleção para qualidade de pele.

Nesta pesquisa, para o estudo dos componentes de variância e parâmetros genéticos da qualidade de pele da tilápia foi determinado como critério de seleção a

espessura da pele. A facilidade de mensuração e a forte associação da espessura com a qualidade de pele determinaram tal escolha. Ainda não existem relatos na literatura de estudos genéticos quantitativos sobre a característica espessura de pele da tilápia do Nilo. Com o presente trabalho, pretende-se avançar neste sentido.

2 REFERÊNCIAS

ALVES, A. P. N. N. et al. Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo. **Rev Bras Queimaduras**, v. 14, n. 3, p. 203–210, 2015.

BOSCOLO, W. R. et al. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1391–1396, 2001.

COSTA, B. A. et al. Use of tilapia skin as a xenograft for pediatric burn Treatment: A case report. **Journal of Burn Care & Research**, 2019.

DIAS, M. T. P. M. et al. Neovaginoplasty using Nile tilapia fish skin as a new biologic graft in patients with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. **Journal of Minimally Invasive Gynecology**, 2019.

DING, L. et al. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on collagen scaffolds for the functional regeneration of injured rat uterus. **Biomaterials**, v. 35, n. 18, p. 4888–4900, 2014.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Meeting the sustainable development goals. [s.l: s.n.], 2018.

GARCIA, A. L. S. et al. Genetic parameters for growth performance, fillet traits, and fat percentage of male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Applied Genetics**, v. 58, n. 4, p. 527–533, 2017.

GIMÉNEZ, B.; MONTERO, M. P. Food hydrocolloids functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, 2011.

GISTELINCK, C. et al. Zebrafish collagen type I: molecular and biochemical

characterization of the major structural protein in bone and skin. **Scientific Reports**, v. 6, n. October 2015, p. 1–14, 2016.

KIMURA, S. The interstitial collagens of fish. In: BAIRAT, A.; GARRONE, R. (Ed.). **Biology of Invertebrate and Lower Vertebrate Collagens**. Boston: Springer, p. 583, 1985.

KIMURA, S. Wide distribution of the skin type I collagen $\alpha 3$ chain in bony fish. **Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry and**, v. 102, n. 2, p. 255–260, 1992.

KIMURA, S.; OHNO, Y. Fish type I collagen: tissue-specific existence of two molecular forms, $(\alpha 1)2\alpha 2$ and $\alpha 1\alpha 2\alpha 3$, in Alaska pollack. **Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry and**, v. 88, n. 2, p. 409–413, 1987.

LIMA JUNIOR, E. M. et al. Characterization of the microbiota of the skin and oral cavity of *Oreochromis niloticus*. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 4, n. 3, p. 193, 2016.

LIMA JUNIOR, E. M. et al. Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. **Rev Bras Queimaduras**, v. 16, n. 1, p. 10–17, 2017.

LIMA JUNIOR, E. M. et al. Innovative treatment using tilapia skin as a xenograft for partial thickness burns after a gunpowder explosion. **Journal of Surgical Case Reports**, v. 2019, n. 6, p. 1–4, 2019a.

LIMA JUNIOR, E. M. et al. Pediatric burn treatment using tilapia skin as a xenograft for superficial partial-thickness wounds: A pilot study. **Journal of Burn Care & Research**, n. May 2017, p. 1–7, 2019b.

MARIEB, E. N. **Essentials of Human Anatomy & Physiology**. Copyright Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings, 2003.

MATSUMOTO, Y. et al. The usefulness of the collagen and elastin sponge derived from salmon as an Artificial dermis and scaffold for tissue engineering. **Biomedical Research**, v. 32, n. 1, p. 29–36, 2011.

MORVAN-DUBOIS, G. et al. Phylogenetic analysis of vertebrate fibrillar collagen locates the position of zebrafish $\alpha 3(I)$ and suggests an evolutionary link between collagen α chains and Hox Clusters. **Journal of Molecular Evolution**, v. 57, n. 5, p. 501–514, 2003.

NGUYEN, N. H. et al. Correlated response in fillet weight and yield to selection for increased harvest weight in genetically improved farmed tilapia (GIFT strain), *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 305, n. 1–4, p. 1–5, 2010.

NICOL, L. et al. Alterations in non-type I collagen biomarkers in osteogenesis imperfecta. **Bone**, v. 120, p. 70-74, 2019.

NOGUEIRA, A. C.; RODRIGUES, T. Criação de tilápias em tanques-rede. **Sebrae Bahia**, p. 23, 2007.

OLIVEIRA, C. A. L. et al. Correlated changes in body shape after five generations of selection to improve growth rate in a breeding program for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in Brazil. **Journal of Applied Genetics**, v. 57, n. 4, p. 487–493, 2016.

OMS. **Organização Mundial da Saúde. Queimaduras**. Disponível em: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns> . Acessado em 2 de outubro de 2018.

PARCELLS, A. L. et al. The use of fetal Bovine dermal scaffold (PriMatrix) in the management of full-thickness hand burns. **Eplasty**, v. 14, p. e36, 2014.

PEIXEBR. Anuário PeixeBr da Piscicultura. **Associação Brasileira de Piscicultura**, p. 138, 2019.

PEIXEBR. Anuário PeixeBr da Piscicultura. p. 1–136, 2020.

PIEZ, K. A. Characterization of a collagen from codfish skin containing three chromatographically different α chains. **Biochemistry**, v. 4, n. 12, p. 2590–2596, 1965.

PONZONI, R. W. et al. Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 247, n. 1–4, p. 203–210, 2005.

RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L.; OLIVEIRA, C. A. L. **Dez anos da tilápia GIFT no Brasil**. Disponível em: <<http://www.aquaculturebrasil.com/2016/08/01/dez-anos-da-tilapia-gift-no-brasil/>>. Acesso em: 24 jun. 2019.

RUTTEN, M. J. M.; BOVENHUIS, H.; KOMEN, H. Genetic parameters for fillet traits and body measurements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture**, v. 246, n. 1–4, p. 125–132, 2005.

SAITO, M. et al. Complete primary structure of rainbow trout type I collagen consisting of $\alpha 1(I)\alpha 2(I)\alpha 3(I)$ heterotrimers. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, n. 10, p. 2817–2827, 2001.

SCORVO, J. D. F. et al. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. SUPPL. 1, p. 112–118, 2010.

SONE e MOREJON. Caracterização e potencial de geração de efluentes de frigoríficos de peixe. **10 Fórum internacional de resíduos sólidos**, João Pessoa-PB, 2019.

SONG, W. K. et al. Physicochemical and biocompatibility properties of type I collagen from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) for biomedical applications. **Marine Drugs**, v. 17, n. 3, 2019.

SOUZA, M. L. R. et al. Efeito da técnica de curtimento e do método utilizado para remoção da pele da tilápia-do-nilo sobre as características de resistência do couro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1273–1280, 2006.

SUN, L. et al. Characterization of acid- and pepsin-soluble collagen extracted from the

skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 8–14, 2017.

TODESCO, H. **Desempenho reprodutivo de tilápia do Nilo melhorada**. 2016. Universidade Estadual de Maringá, 2016.

TRONG, T. Q.; VAN ARENDONK, J. A. M.; KOMEN, H. Genetic parameters for reproductive traits in female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): II. Fecundity and fertility. **Aquaculture**, v. 416–417, p. 72–77, 2013.

I OBJETIVO

Os objetivos do trabalho foram: (1) estimar os componentes de variância e parâmetros genéticos de características de crescimento, rendimento de filé e qualidade de pele; (2) avaliar a associação genética entre características produtivas e espessura da pele; e (3) verificar o efeito de grupos com alto e baixo valor genético para espessura de pele na expressão dos genes do colágeno tipo I, cadeias $\alpha 2$ e $\alpha 3$ em tilápias do Nilo (*O. niloticus*).

1 **Parâmetros genéticos para características produtivas e qualidade de pele em**
2 **tilápia do Nilo**

3
4 **Genetic parameters for productive traits and skin quality in Nile tilapia**

5
6 **RESUMO**

7 A pele de tilápia tem sido considerada importante biomaterial no tratamento de
8 queimaduras e reconstituição de tecidos na cirurgia de neovaginoplastia. As melhorias
9 na qualidade da pele da tilápia são de grande interesse para a medicina regenerativa.
10 Neste contexto, o presente trabalho objetivou: estimar os componentes de variância e
11 parâmetros genéticos de características de crescimento, rendimento de filé e qualidade
12 de pele; avaliar a associação genética entre características produtivas e espessura da
13 pele; e verificar o efeito de grupos com alto (AVG) e baixo (BVG) valor genético para
14 espessura de pele na expressão dos genes do colágeno tipo I, cadeias $\alpha 2$ e $\alpha 3$ em tilápias
15 do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foram estimados componentes de variância,
16 herdabilidade e correlações genéticas para peso a despesca (PD), rendimento de filé
17 (RF) e espessura de pele (EP). As estimativas foram realizadas por meio da análise de
18 dados de amostras provenientes dos animais da décima geração de seleção do programa
19 de melhoramento genético de tilápia do Nilo da Universidade Estadual de Maringá.
20 Foram incluídos registros de 1.221 médias de três medidas de EP (em milímetros),
21 1.213 medidas de RF (em porcentagem de aproveitamento) e 3.171 medidas de PD (em
22 gramas). Para análise da expressão gênica, foram coletadas peles de dois grupos (AVG
23 e (BVG) para espessura de pele. As estimativas para o coeficiente de herdabilidade
24 foram alta para PD (0,71), média para EP (0,59) e moderada para rendimento de filé
25 (0,21). O coeficiente de repetibilidade da espessura de pele foi alto (0,66). A correlação

26 genética estimada entre EP e PD foi alta e forte de 0,77, enquanto entre EP e RF a
27 correlação foi não significativa, com o valor de -0,02. Para o gene *COL1A3*, verificou-
28 se diferença significativa ($p=0,038$) na expressão gênica entre os grupos AVG (7,38
29 UA) e BVG (4,88 UA). Os resultados indicaram que é possível aumentar a espessura e a
30 quantidade de colágeno tipo I na pele de tilápia por meio de seleção. Os resultados de
31 correlação genética apontam que a seleção para aumento do peso à despesca impacta
32 positivamente a espessura de pele, sem impactar o rendimento de cortes comerciais. A
33 seleção para ganho de peso se mostrou uma ferramenta efetiva para a produção de peles
34 mais adequadas para serem utilizadas como xenoinxerto.

35 **Palavras-chave:** Herdabilidade. *Oreochromis niloticus*. Biomateriais. Curativo.
36 Queimadura. Xenoinxerto. Medicina regenerativa.

37 **ABSTRACT**

38 Tilapia skin has been considered an important biomaterial in the treatment of burns and
39 tissue reconstruction in vaginoplasty surgery. Improvements in the tilapia skin quality
40 are of great interest to regenerative medicine. In this context, this study aimed to:
41 estimate variance components and genetic parameters of growth traits, fillet yield and
42 skin quality; to evaluate the genetic association between productive characteristics and
43 skin thickness; and to verify the effect of groups with high and low genetic value for
44 skin thickness in the expression of type I collagen genes, $\alpha 2$ and $\alpha 3$ chains in Nile
45 tilapia (*Oreochromis niloticus*). The components of variance, heritability and genetic
46 correlations were estimated for weight at harvest (PD), fillet yield (RF) and skin
47 thickness (EP). The database contained records of 1,221 averages of three
48 measurements of EP, 1,213 of RF and 3,171 of PD, in animals from the tenth generation
49 of selection of Nile tilapia breeding program of the State University of Maringá. For
50 analysis of gene expression, skins from the groups with AVG and BVG were used for
51 skin thickness. The estimates for the heritability coefficient were high for PD (0.71),
52 average for EP (0.59) and moderate for fillet yield (0.21). The repeatability coefficient
53 of skin thickness was high (0.66). The estimated genetic correlation between PE and PD
54 was high and strong at 0.77, while between EP and RF the correlation was not
55 significant, reaching the value of -0.02. For the COL1A3 gene, there was a significant
56 difference ($p = 0.038$) in gene expression between the AVG (7.38 AU) and BVG (4.88
57 AU) groups. The results indicated that it is possible to increase the thickness and the
58 amount of type I collagen in the tilapia skin through selection. The results of genetic
59 correlation indicate that the selection to increase the weight at harvest positively impacts
60 the skin thickness, without impacting the yield of commercial cuts. The selection for

61 weight gain proved to be an effective tool for the production of skins more suitable for
62 use as xenograft.

63 **Key word:** Heritability. *Oreochromis niloticus*. Biomaterials. Dressing. Burn.
64 Xenograft. Regenerative medicine.

65 **INTRODUÇÃO**

66 Os programas de melhoramento genético de tilápias do Nilo (*Oreochromis*
67 *niloticus* Linnaeus, 1758) estão em fase de consolidação, com diversas ações
68 distribuídas ao redor do mundo (NGUYEN et al., 2010; THODESEN et al., 2012; LIND
69 et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016). Os principais critérios de seleção utilizados estão
70 relacionados com a velocidade de crescimento, rendimento de cortes comerciais e
71 reprodutivos, com herdabilidades variando de 0,25 a 0,41 para peso (PONZONI et al.,
72 2005; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2005; NGUYEN et al., 2010), de 0,24 a 0,32
73 para rendimento de filé (RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2005; NGUYEN et al.,
74 2010; GARCIA et al., 2017) e herdabilidade de 0,22 para características reprodutivas
75 (TRONG; VAN ARENDONK; KOMEN, 2013).

76 A pele da tilápia é um subproduto que geralmente é descartado pelos
77 frigoríficos, cuja utilização era limitada a graxarias na produção de farinhas pela
78 indústria de ração de peixe. Contudo, esse produto apresenta elevado valor agregado,
79 por ser composto de 57% de colágeno tipo I (SONG et al., 2019), podendo ter relevante
80 aplicabilidade clínica como biomaterial para a bioengenharia (ALVES et al., 2015).

81 Atualmente, dada a sua natureza altamente biocompatível com o humano
82 (GIMÉNEZ; MONTERO, 2011; SONG et al., 2019), a pele da tilápia tem sido utilizada
83 no tratamento de queimaduras e feridas. A pele de tilápia possui características
84 microscópicas e estrutura morfológica semelhante à pele humana, boa resistência à
85 tração, aderência às lesões e capacidade de reter umidade (ALVES et al., 2015; LIMA
86 JUNIOR et al., 2016, 2017, 2019b, 2019a; COSTA et al., 2019; SONG et al., 2019).
87 Segundo Dias et al. (2019), também pode ser usada na cirurgia de neovaginoplastia.
88 Além disso, a indústria farmacêutica a utiliza em cosméticos, fármacos e alimentos

89 funcionais (GIMÉNEZ; MONTERO, 2011). A pele de tilápia também é empregada na
90 produção de couros (SOUZA et al., 2006).

91 A produção comercial e o cultivo de uma linha genética com alta qualidade de
92 pele poderiam auxiliar no desenvolvimento de produtos comerciais em quantidade e
93 com a padronização necessária para utilização na indústria farmacêutica. A produção
94 comercial da pele de tilápia com alta qualidade genética forneceria biomaterial com
95 baixo valor econômico e relevante aplicabilidade na medicina. Entretanto, observa-se,
96 na época de realização do presente estudo, escassez na literatura científica de estudos
97 que estimem parâmetros genéticos para qualidade de pele *in natura* e as associações
98 genéticas da pele com características de velocidade de crescimento e rendimento de
99 cortes comerciais.

100 Assim, os objetivos do trabalho foram: (1) estimar os componentes de
101 variância e parâmetros genéticos de características de crescimento, rendimento de filé e
102 qualidade da pele; (2) avaliar a associação genética entre características produtivas e
103 espessura da pele; (3) verificar o efeito de grupos com alto e baixo valor genético para
104 espessura da pele na expressão dos genes do colágeno tipo I, cadeias $\alpha 2$ e $\alpha 3$ em tilápias
105 do Nilo (*O. niloticus*).

106

107 **MATERIAIS E MÉTODOS**

108 **Conjuntos de dados**

109 Os animais que foram utilizados neste estudo são pertencentes à décima
110 geração do programa de melhoramento genético de tilápia do Nilo, da Universidade
111 Estadual de Maringá (PMGT-UEM).

112 Todos os procedimentos de manipulação durante o crescimento e abate dos
113 animais estão de acordo com as normas do comitê de ética em pesquisa animal da
114 Universidade Estadual Maringá (UEM), número do protocolo 2185290519.

115 Foram obtidas 3.171 medidas de peso à despesca (PD), em gramas, e 1.213
116 medidas de rendimento de filé (RF), em proporção sobre o peso total. Foram coletadas
117 três medidas de espessura de pele ao longo da região lombar, em milímetros, para
118 análise de parâmetros genéticos. Utilizou-se a média das três medidas para compor a
119 variável espessura de pele (EP) de cada animal. Foram obtidas 1.221 medidas de EP.

120 **Procedimentos de abate e coleta de dados.**

121 Antes do abate, os animais foram submetidos a jejum de 24 horas. Após a
122 verificação e registro do número do *PIT tag*, foi registrado individualmente o peso dos
123 animais. O método de abate foi através de sangria após insensibilização por choque
124 térmico (caixas isotérmicas com gelo moído e água [1:1], temperatura de 0° celsius).

125 Os animais foram escamados por escamadora automatizada em bateladas de
126 100 kg de peixe por 20min, em seguida foram filetados por filetadores treinados que
127 retiravam o filé com pele. A separação da pele do filé foi realizada por meio de
128 descouradeira automatizada. Os filés sem pele de cada peixe foram pesados.

129 A espessura da pele do lado direito foi mensurada em três pontos com espaço
130 de 1 cm entre eles, ao longo do dorso, posterior ao opérculo, usando um micrometro
131 digital com as seguintes especificações técnicas: capacidade de 1" - 2" / 25 - 50mm,

132 resolução de .00005"/ 0,001mm, exatidão de aproximadamente 0,002mm e força de
133 medição de 5 a 10N.

134 Em todo o processo foi mantida a identificação individual dos animais que
135 forneciam as informações de peso corporal, peso de filé e espessura da pele.

136 **Ajuste de modelos e análises genéticas**

137 Foram testados vários modelos estatísticos de regressão linear múltipla para
138 cada característica. Os modelos diferiram pela presença ou ausência dos efeitos de
139 ambiente comum de família (aleatório) e os efeitos fixos do sexo, tanque rede (TR), dia
140 de coleta (DC) e filetador. Além disso, foram ajustados modelos incluindo o peso à
141 chipagem (PC) e idade à despesca (ID), como covariáveis com efeito linear e
142 quadrático.

143 O critério adotado para selecionar o modelo com melhor ajuste para cada
144 característica foi o Critério de Informação de Akaike (AIC) (AKAIKE, 1974). O
145 modelo com menor valor para o coeficiente AIC foi considerado o modelo com melhor
146 ajuste.

147 Após a determinação dos modelos, análises *unicaracter* foram realizadas para
148 estimar os componentes de variância de ambiente comum de família e o coeficiente de
149 herdabilidade para EP, PD e RF. Os componentes de (co)variância e as correlações
150 genéticas e fenotípicas entre EP e PD (EP_PD), EP e RF (EP_RF) e PD e RF (PD_RF)
151 foram estimadas por meio de análises *bicaracter*.

152 A estimativa do coeficiente de repetibilidade (R) para espessura de pele foi
153 obtida a partir dos componentes de variância, gerados em análises *unicaracter*. O
154 coeficiente R foi calculado por meio da seguinte expressão:

$$R = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_{ep}^2}{\sigma_p^2}$$

155

156 em que σ_a^2 , σ_{ep}^2 e σ_p^2 são, respectivamente, a variância genética aditiva, a variância do
157 efeito ambiental permanente e a variância fenotípica.

158 Os componentes de (co)variância foram estimados por meio do software
159 AIREMLF90, da família BLUPF90 (MISZTAL et al., 2018), seguindo a metodologia
160 dos modelos mistos de Henderson (1984). Os parâmetros genéticos herdabilidade
161 ($h^2 = \sigma_a^2 / \sigma_p^2$) e correlação genética ($R_g x/y = (COV_{g X/Y}) / \sqrt{(\sigma_a^2 X \sigma_a^2 Y)}$) foram calculados
162 segundo a metodologia descrita por Falconer e Mackay (2009).

163 **Análise de expressão gênica**

164 As amostras de pele foram coletadas de seis indivíduos machos da família com
165 maior valor genético médio para espessura de pele (AVG) e outras seis amostras de pele
166 foram coletadas de seis indivíduos machos da família com menor média do valor
167 genético para espessura de pele (BVG).

168 Antes do abate, os animais foram submetidos a jejum de 24 horas. Após a
169 seleção dos animais de cada grupo pelo registro do número do *PIT tag*, foi registrado
170 individualmente o peso dos animais. O método de abate foi a sangria após
171 insensibilização por choque térmico (caixas isotérmicas com gelo moído e água [1:1],
172 temperatura de 0°C). Os animais abatidos foram escamados manualmente e lavados.
173 Com auxílio de bisturi foi feito um corte de aproximadamente 225 mm² de pele de cada
174 animal na posição dorsal posterior ao opérculo do lado direito e com auxílio de pinça
175 cirúrgica a pele foi puxada. As amostras de pele foram lavadas com soro fisiológico
176 0,9% e armazenadas em solução contendo 750 µL Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA,
177 USA) mais 250 µL de água ultrapura. As amostras foram congeladas imediatamente em
178 nitrogênio líquido e posteriormente mantidas em freezer -80°C até a utilização. A
179 extração do RNA total foi realizada utilizando o reagente Trizol (ThermoScientifics)
180 segundo recomendações do fabricante.

181 A concentrações e a pureza do RNA total extraído foram verificados utilizando
182 espectrofotômetro NanoDrop 2000™ (Thermo Scientific, Carlsbad, CA, USA). Todas
183 as amostras foram tratadas com DNase I para a remoção do DNA genômico (Invitrogen
184 Corporation, Carlsbad, CA, USA) seguindo as recomendações do fabricante.

185 A síntese do DNA complementar (cDNA) foi realizada utilizando o
186 *SuperScript™ III First-Strand Synthesis System* (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA,
187 USA), seguindo as recomendações do fabricante.

188 Para as reações da PCR quantitativa (qPCR) em tempo real foi utilizado o
189 sistema de detecção *Power Up SYBR Green Master Mix* (Applied Biosystems, Carlsbad,
190 CA, USA), utilizando-se o equipamento *Step One Plus Real Time PCR System* (Applied
191 Biosystems, USA). As sequências para a confecção dos *primers*, tanto para os genes
192 alvo *COLIA2* (AB603657.1) e *COLIA3* (AB603658.1) quanto para o gene referência
193 *ACTB* de *O. niloticus*, foram obtidas no banco de dados do *National Center for*
194 *Biotechnology Information* (www.ncbi.nlm.nih.gov) (Tabela 1). Para todos os genes, a
195 eficiência da PCR quantitativa foi calculada por uma curva padrão a partir da diluição
196 seriada de cDNA (2:1). A eficiência entre 90% e 110% foi considerada para os *primers*
197 (Livak e Schmittgen, 2001). Para as reações da qPCR foram utilizados 200 nM de cada
198 primer para os genes *COLIA2* e *ACBT*, e 400 nM para o gene *COLIA3*, 1X Sybr green,
199 100ng de cDNA em um volume final de 20 ul. Todas as reações foram realizadas em
200 duplicata e as condições de amplificação foram: 2 minutos a 50°C, 2 minutos a 95°C e
201 40 ciclos a 95°C por 3 segundos e a 60°C por 30 segundos. Para as curvas de *melting*
202 foram consideradas as seguintes condições: 15 segundos a 95°C, 1 minuto a 60°C e
203 95°C por 30 segundos. Para a análise dos dados foi utilizado o método de $2^{-\Delta Ct}$ (LIVAK;
204 SCHMITTGEN, 2001).

205

206 Tabela 1. *Primers* utilizados para quantificar a reação em cadeia da polimerase.

Gene	Temperatura (°C) ¹	Sequência de <i>Primers</i>
<i>COLIA2</i>	60 °C	F- GTGGATTCTACTGGATTGACCC R- TCTTGTTCTCGGTGCTTCTG
<i>COLIA3</i>	60 °C	F- GCAGTGGATTTGAGTTCGTC R- CTTCTGTGTCAGGGTCTTAAGG
<i>ACBT</i>	60 °C	F- TGGTGGGTATGGGTCAGAAAG R- CTGTTGGCTTTGGGGTTCA

207 ¹ Temperatura de Anelamento.208 **Análise estatística**

209 Para a análise da expressão gênica foi utilizado o método $2^{-\Delta CT}$ (LIVAK;
210 SCHMITTGEN, 2001) e os resultados foram apresentados como unidade arbitrária
211 (UA). O teste de Shapiro-Wilk, ao nível de significância de 5%, foi aplicado para
212 verificar a normalidade da distribuição dos dados (SHAPIRO; WILK, 1965). Para
213 comparação entre os grupos AVG e BVG, os dados sobre peso corporal (em gramas) e
214 expressão dos genes *ACBT*, *COLIA2* e *COLIA3* passaram por testes de ajuste de
215 modelos pelo Critério de Informação de Akaike (AIC) (AKAIKE, 1974), o peso não foi
216 significativo no modelo ajustado. Os resultados dos modelos ajustados foram
217 submetidos à análise de variância (ANOVA). As diferenças entre as médias dos grupos
218 AVG e BVG foram comparadas ao nível de 5% de significância. Empregou-se a
219 linguagem de programação R para a realização dos testes de hipóteses (R
220 DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

221 **RESULTADOS**

222 Observam-se na Tabela 2 as estatísticas descritivas mensuradas. O peso
 223 corporal médio de abate foi de 922,93 g, com rendimento médio do filé de 32,47% (sem
 224 pele com corte em “V”) correspondendo a 313,90g do peso médio do filé. A espessura
 225 da pele variou de 0,270 a 0,712 mm, com média 0,483 mm.

226 Tabela 2. Estatística descritiva das características.

Características (unidades)	n	Mínimo	Máximo	Média	SD	CV(%)
PC(g)	3171	2,00	132,00	11,20	7,78	69
ID (dia)	3171	213,00	271,00	243,70	17,23	7
PD (g)	3171	100,00	1468,00	602,35	205,61	34
RF (%)	1213	21,21	48,32	32,47	6,91	21
EP (mm)	1221	0,270	0,712	0,483	0,069	14
IA (dia)	1221	299,00	356,00	329,20	17,20	5
PA (g)	1213	236,00	1736,00	922,93	287,26	31

227 PC peso na chipagem, ID idade a despesa, PD peso à despesa, RF rendimento de filé,
 228 EP espessura média da pele, IA idade ao abate, PA peso ao abate, SD desvio padrão e
 229 CV coeficiente de variação.

230

231 O melhor modelo para característica peso à despesa (PD) (g) foi:

$$232 \quad y_{ijklmn} = \mu + t_i + s_j + g_k + b_1 p_l + b_2 p_l^2 + c_m + a_{ijklmn} + e_{ijklmn}$$

233 Em que y_{ijklmn} corresponde ao fenótipo para a característica PD, μ corresponde a
 234 constante geral, t_i corresponde ao efeito do tanque rede, s_j corresponde ao efeito de sexo,
 235 g_k corresponde ao efeito de idade, p_l corresponde ao efeito de peso a chipagem, b_1
 236 corresponde ao coeficiente linear, b_2 corresponde ao coeficiente quadrático, c_m
 237 corresponde ao efeito comum de família, a_{ijklmn} corresponde ao efeito animal e e_{ijklmn}
 238 corresponde ao erro.

239 O melhor modelo para característica espessura médio da pele (EP) (mm) foi:

$$240 \quad y_{ijkl} = \mu + s_i + b_1 p_j + b_2 p_j^2 + d_k + a_{ijkl} + e_{ijkl}$$

241 Em que y_{ijkl} corresponde ao fenótipo para a característica EP, μ corresponde a
 242 constante geral, s_i corresponde ao efeito de sexo, p_j corresponde ao efeito de peso a
 243 chipagem, b_1 corresponde ao coeficiente linear, b_2 corresponde ao coeficiente
 244 quadrático, d_k corresponde ao efeito do dia de coleta (1 e 2), a_{ijkl} corresponde ao efeito
 245 animal e e_{ijkl} corresponde ao erro.

246 O melhor modelo para característica rendimento de filé (RF) (%) foi:

$$247 \quad y_{ijkl} = \mu + s_i + d_j + f_k + a_{ijkl} + e_{ijkl}$$

248 Em que y_{ijkl} corresponde ao fenótipo para a característica RF, μ corresponde a
 249 constante geral, s_i corresponde ao efeito de sexo, d_j corresponde ao efeito de dia de
 250 coleta (1 e 2), f_k corresponde ao efeito de filetagem (1, 2 e 3), a_{ijkl} corresponde ao efeito
 251 animal e e_{ijkl} corresponde ao erro.

252 Os efeitos da idade à época da biometria e do ambiente comum de família
 253 foram significativos para PD. O efeito da idade quadrática não foi significativo para
 254 nenhuma característica. O sexo foi significativo para todas as características (Tabela 3).

255 O dia do abate foi significativo para RF e EP. O efeito tanque-rede foi
 256 significativo para PD. O efeito peso à chipagem foi significativo para EP e PD, tanto na
 257 forma linear quanto na forma quadrática (Tabela 3).

258

259 Tabela 3. Modelos estatísticos testados para cada característica.

Características	a	c	e	s	t	id	id ²	pch	pch ²	dc	F
EP (mm)	✓	X	✓	✓	X	X	X	✓	✓	✓	X
PD (g)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	-	-
RF (%)	✓	X	✓	✓	X	X	X	X	X	✓	✓

260 a efeito animal, c efeito comum de família, e efeito residual, s efeito de sexo, t efeito do
 261 tanque rede, id corresponde ao efeito de idade, id² ao efeito de idade quadrático, pch
 262 efeito de peso a chipagem, pch² efeito de peso a chipagem ao quadrado, dc efeito de dia
 263 da coleta, F efeito de filetagem. (X) efeito não usado, (✓) efeito usado e (-) efeito não
 264 existente.

265 As estimativas para o coeficiente de herdabilidade foram de 0,21 para RF, 0,59
 266 para EP e 0,71 para PD (Tabela 4). O coeficiente de repetibilidade estimado para as três
 267 medidas da espessura da pele foi de 0,664.

268

Tabela 4. Estimativas para o coeficiente de herdabilidade e para os componentes de
 variância das características de crescimento e qualidade de pele.

Características	h²	σ²a	σ²e
EP	0,59 ^{0,0836}	0,0025 ^{0,0005}	0,0018 ^{0,0003}
PD	0,71 ^{0,1051}	0,0189 ^{0,0038}	0,0078 ^{0,0019}
RF	0,21 ^{0,0511}	0,0002 ^{0,0000}	0,0006 ^{0,0000}

269 σ²a variação genética aditiva; σ²e variância resíduo; h² herdabilidade; ^{SE} erro padrão.

270

271 A correlação dos valores genéticos entre as características espessura de pele e
 272 peso a despesca foi forte e positiva, com valor de 0,77 e desvio padrão de 0,068. As
 273 correlações dos valores genéticos entre EP e RF e entre PD e RF não foram
 274 significativos (Tabela5).

275

276 Tabela 5. Estimativas das correlações genéticas, fenotípicas e residuais entre as
 277 características de crescimento e qualidade de pele.

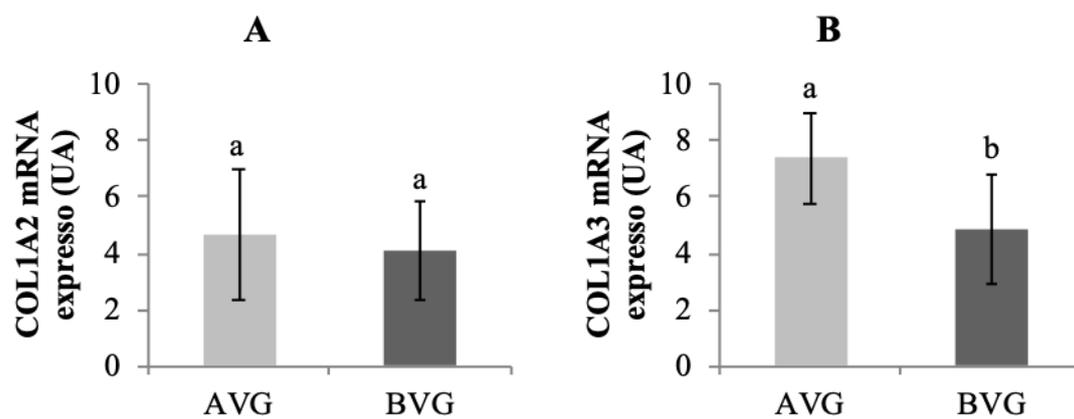
Características	Corr_g	Corr_y	Corr_e
EP_PD	0,77 ^{0,068}	0,62 ^{0,027}	0,34 ^{0,125}
EP_RF	-0,06 ^{0,165(ns)}	0,02 ^{0,035}	0,08 ^{0,068}
PD_RF	-0,02 ^{0,163(ns)}	0,11 ^{0,038}	0,25 ^{0,099}

278 ^{SE} erro padrão; ^{ns} não significativo; Corr_g, correlação genética; Corr_y, correlação
 279 fenotípica; Corr_e, correlação residual.

280

281 Na avaliação da expressão gênica não foi observada diferença na expressão do
 282 *COLIA2* entre os grupos com alto e baixo valor genético para espessura de pele
 283 (p=0,640), enquanto para o gene *COLIA3* foi observado que os peixes do grupo AVG
 284 apresentaram maior expressão gênica (7,38 UA) em comparação ao grupo de BVG
 285 (4,88 UA) (p=0,038) (Figura 6).

286



287

288 Figura 6. Expressão dos genes *COLIA2* (A) e *COLIA3* (B) para os grupos de baixo
289 valor genético (BVG) e alto valor genético (AVG). Os valores médios com letras
290 diferentes foram significativamente diferentes ($p < 0,05$).

291 **DISCUSSÃO**

292 A espessura média da pele de tilápia *in natura* (EP) é uma medida inédita na
293 literatura, os valores de RF e PD observados são semelhantes aos encontrados por
294 (NGUYEN et al., 2010; THODESEN et al., 2012; NEIRA et al., 2016; GARCIA et al.,
295 2017), 32% de rendimento de file, da mesma forma a herdabilidade de RF está de
296 acordo com (RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2005; NGUYEN et al., 2010;
297 THODESEN et al., 2012; GARCIA et al., 2017) de 0,20 a 0,32.

298 A estimativa para o coeficiente de herdabilidade da característica PD, 0,71,
299 apresentou valor maior que o de diversos estudos relatados (NGUYEN et al., 2010;
300 THODESEN et al., 2012; NEIRA et al., 2016; GARCIA et al., 2017), nos quais a
301 herdabilidade de PD variou entre 0,12 a 0,42. O elevado valor de herdabilidade para o
302 peso à despesca encontrado no presente estudo está relacionado ao conjunto de dados
303 empregado, que incluiu informações fenotípicas de uma única geração. Resultados
304 obtidos com informações de 5 gerações do mesmo programa de melhoramento
305 apontaram herdabilidade de 0,48 (OLIVEIRA et al., 2016).

306 A estimativa de herdabilidade para EP evidenciou que é possível alterar a
307 espessura da pele de tilápia por meio de seleção. Segundo Souza et al. (2006), a pele
308 demonstra ser mais resistente a tração quando mais espessa for, podendo se afirmar que
309 a quantidade de colágeno tipo I por cm² está diretamente relacionada à espessura da
310 pele. O material biológico utilizado como xenoenxerto deve ter alta resistência,
311 elasticidade e quantidade elevada de colágeno do tipo I. Resultados indicaram que
312 quanto mais espessa for a pele da tilápia maior será a quantidade de colágeno aplicado
313 sobre a lesão, melhorando relevantemente a qualidade do tratamento. (ALVES et al.,
314 2015; LIMA JUNIOR et al., 2016, 2017; COSTA et al., 2019).

315 A correlação genética entre EP e PD foi positiva e forte (0,77), e sugere que a
316 seleção para altas taxas de crescimento deve gerar resposta positiva na espessura de
317 pele. Espera-se, portanto que as tilápias resultantes de acasalamentos dirigidos entre
318 animais com superior potencial para taxa de crescimento apresentem peles mais
319 espessas. Sob outra perspectiva, a utilização da espessura da pele como critério de
320 seleção não implicará na redução das taxas de crescimento e nos rendimentos de cortes
321 comerciais de tilápias do Nilo.

322 O valor estimado para o coeficiente de repetibilidade das três medidas de
323 espessura da pele foi alto (0,66), indicando que não há necessidade de se realizar três
324 medidas da pele para se obter estimativa de parâmetros genéticos, apenas uma medida
325 seria suficiente, e otimizaria a coleta de dados em campo. Segundo Bourdon (2000) e
326 Falconer e Mackay (2009), valores acima de 0,40 são considerados como sendo de alta
327 repetibilidade, ou seja, nestes casos, medidas múltiplas resultarão em pequenos ganhos
328 de precisão.

329 A autenticação da *ACBT* como gene referência em estudos com tilápia já foi
330 verificada em outros trabalhos com músculo e fígado (TANAMATI et al., 2015; GOES
331 et al., 2019; SILVA et al., 2019). Porém, como gene referência na pele de tilápias esta é
332 a primeira investigação.

333 A diferença significativa da expressão gênica entre os grupos AGV e BGV
334 para o gene *COL1A3* corrobora com o resultado de herdabilidade relevante para
335 espessura de pele (0,59), indicando que é possível selecionar animais com o intuito de
336 aumentar a espessura e quantidade de colágeno do tipo I na pele da próxima geração. A
337 pele de tilápia é composta por 57% de colágeno tipo I (ALVES et al., 2018) e sua
338 organização molecular resulta na formação de fibras responsáveis por manter a estrutura

339 do tecido (TULLBERG-REINERT; JUNDT, 1999), sendo assim, quanto mais espessa a
340 pele maior quantidade de colágeno tipo I será expresso.

341 Os resultados da expressão gênica demonstraram que a pele da tilápia (*O.*
342 *niloticus*) expressa as duas cadeias do colágeno tipo I, $\alpha 2$ (COL1A2) e $\alpha 3$ (COL1A3). A
343 expressão gênica do colágeno tipo I é constituída por estrutura heterotrimérica com três
344 cadeias, $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$ (KIMURA; OHNO, 1987; KIMURA, 1992). A cadeia $\alpha 3$ é
345 encontrada em peixes teleósteos, mas não é encontrada em outros vertebrados, para os
346 quais se encontram apenas $\alpha 1$ e $\alpha 2$ (KIMURA, 1992; NICOL et al., 2019). As cadeias
347 $\alpha 2$ e $\alpha 3$ do colágeno tipo I são encontradas em pele de peixes como bacalhau (*Gadus*
348 *sp.*) (PIEZ, 1965), escamudo do Alasca (*Theragra chalcogramma*), (KIMURA; OHNO,
349 1987), carpa (*Cyprinus carpio*), tilápia (*Tilapia nilótica*) (KIMURA, 1992), truta arco-
350 íris (*Oncorhynchus mykiss*) (SAITO et al., 2001) e Zebrafish (*Danio rerio*) (MORVAN-
351 DUBOIS et al., 2003; GISTELINCK et al., 2016).

352 Morvan-Dubois et al. (2003) e Saito et al. (2001) defendem a hipótese de que a
353 maior expressão da cadeia $\alpha 3$ regula a estabilidade térmica do colágeno da pele,
354 considerando que a pele está mais susceptível a variações do ambiente. Outra hipótese
355 defendida por estes autores é a de que os peixes teleósteos necessitem do colágeno na
356 pele contendo a cadeia $\alpha 3$ na estrutura heterotrimérica, cuja rotação metabólica é mais
357 rápida, para se adaptarem ao habitats com severas mudanças de temperatura. A
358 diferença significativa encontrada para a expressão gênica do $\alpha 3$, entre os grupos AVG
359 e BVG, e não encontrada para a expressão do $\alpha 2$, pode estar relacionada as variações
360 térmicas da espessura da pele. Ou seja, quanto mais espessa a pele, maiores variações
361 térmicas ela estará sujeita, conseqüentemente, expressando mais a cadeia $\alpha 3$.

362 Pelo ineditismo do presente trabalho, a busca por informações a respeito da
363 espessura da pele ficou limitada às características por ora disponíveis. Certamente, pela

364 importância da aplicação e perspectiva otimista de bons resultados, há interesse em se
365 aprofundar as pesquisas sobre parâmetros genéticos e expressão dos genes relacionados
366 com a espessura de pele da tilápia do Nilo. Não obstante, os resultados aqui obtidos são
367 relevantes para a ampliação do conhecimento em favor do aumento da produção e da
368 produtividade de biomateriais a partir da pele de tilápia, com alta qualidade e
369 padronização propícias para a utilização na medicina regenerativa.

370

371 CONCLUSÃO

372 Os resultados obtidos na análise genética quantitativa e de expressão gênica
373 indicam que é possível por meio de seleção direcionada aumentar a espessura e a
374 quantidade de colágeno tipo I na pele de tilápia, melhorando a qualidade da pele com
375 finalidade de utilização como biomaterial.

376 O resultado de repetibilidade demonstra que não há necessidade de se obter
377 mais que uma medida de espessura da pele com vistas à avaliação genética.

378 A seleção para ganho de peso se mostrou uma ferramenta efetiva para a
379 produção de peles mais adequadas para serem utilizadas como xenoenxerto.

380 **REFERÊNCIAS**

381 AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on**
382 **Automatic Control**, v. 19, n. 6, p. 716–723, 1974.

383 ALVES, A. P. N. N. et al. Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de
384 propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo. **Rev Bras Queimaduras**, v. 14,
385 n. 3, p. 203–210, 2015.

386 ALVES, A. P. N. N. et al. Study of tensiometric properties, microbiological and
387 collagen content in Nile tilapia skin submitted to different sterilization methods. **Cell**
388 **and Tissue Banking**, v. 19, n. 3, p. 373–382, 2018.

389 BOURDON, R. M. **Understanding Animal Breeding**. Second Edition. New Jersey:
390 Prentice Hall, 2000.

391 COSTA, B. A. et al. Use of tilapia skin as a xenograft for pediatric burn Treatment: A
392 case report. **Journal of Burn Care & Research**, 2019.

393 DIAS, M. T. P. M. et al. Neovaginoplasty using Nile tilapia fish skin as a new biologic
394 graft in patients with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. **Journal of Minimally**
395 **Invasive Gynecology**, 2019.

396 FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Fourth
397 edition. Noida: Pearson Ed, 2009.

398 GARCIA, A. L. S. et al. Genetic parameters for growth performance, fillet traits, and fat
399 percentage of male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Applied Genetics**,
400 v. 58, n. 4, p. 527–533, 2017.

401 GIMÉNEZ, B.; MONTERO, M. P. Food hydrocolloids functional and bioactive
402 properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food**
403 **hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, 2011.

404 GISTELINCK, C. et al. Zebrafish collagen type I: molecular and biochemical

- 405 characterization of the major structural protein in bone and skin. **Scientific Reports**, v.
406 6, n. October 2015, p. 1–14, 2016.
- 407 GOES, E. S. dos R. et al. Imbalance of the redox system and quality of tilapia fillets
408 subjected to pre-slaughter stress. **PLoS ONE**, v. 14, n. 1, p. 1–15, 2019.
- 409 HENDERSON. C. R. Applications of linear model in animal breeding. Ontário:
410 **University of Guelph**, 1984. 462p.
- 411 KIMURA, S. Wide distribution of the skin type I collagen $\alpha 3$ chain in bony fish.
412 **Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry and**, v. 102, n.
413 2, p. 255–260, 1992.
- 414 KIMURA, S.; OHNO, Y. Fish type I collagen: tissue-specific existence of two
415 molecular forms, $(\alpha 1)2\alpha 2$ and $\alpha 1\alpha 2\alpha 3$, in Alaska pollack. **Comparative Biochemistry**
416 **and Physiology -- Part B: Biochemistry and**, v. 88, n. 2, p. 409–413, 1987.
- 417 LIMA JUNIOR, E. M. et al. Characterization of the microbiota of the skin and oral
418 cavity of *Oreochromis niloticus*. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 4, n. 3, p.
419 193, 2016.
- 420 LIMA JUNIOR, E. M. et al. Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como
421 curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. **Rev Bras Queimaduras**, v.
422 16, n. 1, p. 10–17, 2017.
- 423 LIMA JUNIOR, E. M. et al. Innovative treatment using tilapia skin as a xenograft for
424 partial thickness burns after a gunpowder explosion. **Journal of Surgical Case**
425 **Reports**, v. 2019, n. 6, p. 1–4, 2019a.
- 426 LIMA JUNIOR, E. M. et al. Pediatric burn treatment using tilapia skin as a xenograft
427 for superficial partial-thickness wounds: A pilot study. **Journal of Burn Care &**
428 **Research**, n. May 2017, p. 1–7, 2019b.
- 429 LIND, C. E. et al. Differences in sexual size dimorphism among farmed tilapia species

- 430 and strains undergoing genetic improvement for body weight. **Aquaculture Reports**, v.
431 1, p. 20–27, 2015.
- 432 LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using
433 real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402–408,
434 2001.
- 435 MISZTAL, I. et al. Manual for BLUPF90 family of programs. **university of Georgia,**
436 **Athens, USA**, 2018.
- 437 MORVAN-DUBOIS, G. et al. Phylogenetic analysis of vertebrate fibrillar collagen
438 locates the position of zebrafish α 3(I) and suggests an evolutionary link between
439 collagen α chains and Hox Clusters. **Journal of Molecular Evolution**, v. 57, n. 5, p.
440 501–514, 2003.
- 441 NEIRA, R. et al. Evaluation of the growth and carcass quality of diallel crosses of four
442 strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 451, p. 213–222, 2016.
- 443 NGUYEN, N. H. et al. Correlated response in fillet weight and yield to selection for
444 increased harvest weight in genetically improved farmed tilapia (GIFT strain),
445 *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 305, n. 1–4, p. 1–5, 2010.
- 446 NICOL, L. et al. Alterations in non-type I collagen biomarkers in osteogenesis
447 imperfecta. **Bone**, v. 120, n. September 2018, p. 70–74, 2019.
- 448 OLIVEIRA, C. A. L. et al. Correlated changes in body shape after five generations of
449 selection to improve growth rate in a breeding program for Nile tilapia *Oreochromis*
450 *niloticus* in Brazil. **Journal of Applied Genetics**, v. 57, n. 4, p. 487–493, 2016.
- 451 PIEZ, K. A. Characterization of a collagen from codfish skin containing three
452 chromatographically different α chains. **Biochemistry**, v. 4, n. 12, p. 2590–2596, 1965.
- 453 PONZONI, R. W. et al. Genetic parameters and response to selection for live weight in
454 the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 247, n. 1–4, p.

- 455 203–210, 2005.
- 456 R DEVELOPMENT CORE TEAM (2019). R: a language and environment for
457 statistical computing. The R Foundation for Statistical Computing, Vienna Austria.
- 458 RUTTEN, M. J. M.; BOVENHUIS, H.; KOMEN, H. Genetic parameters for fillet traits
459 and body measurements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture**, v.
460 246, n. 1–4, p. 125–132, 2005.
- 461 SAITO, M. et al. Complete primary structure of rainbow trout type I collagen consisting
462 of $\alpha 1(I)\alpha 2(I)\alpha 3(I)$ heterotrimers. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, n. 10, p.
463 2817–2827, 2001.
- 464 SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete
465 samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3–4, p. 591–611, 1965.
- 466 SILVA, S. C. C. et al. Fumonisin affects performance and modulates the gene
467 expression of IGF-1 and GHR in Nile tilapia fingerlings and juveniles. **Aquaculture**, v.
468 507, n. January, p. 233–237, 2019.
- 469 SONG, W. K. et al. Physicochemical and biocompatibility properties of type I collagen
470 from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) for biomedical applications.
471 **Marine Drugs**, v. 17, n. 3, 2019.
- 472 SOUZA, M. L. R. et al. Efeito da técnica de curtimento e do método utilizado para
473 remoção da pele da tilápia-do-nilo sobre as características de resistência do couro.
474 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1273–1280, 2006.
- 475 TANAMATI, F. et al. GHR and IGF-I gene expression and production characteristics
476 associated with GH gene polymorphism in Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 435, p. 195–
477 199, 2015.
- 478 THODESEN, J. et al. Genetic improvement of tilapias in China: Genetic parameters and
479 selection responses in fillet traits of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after six

480 generations of multi-trait selection for growth and fillet yield. **Aquaculture**, v. 366–
481 367, p. 67–75, 2012.

482 TRONG, T. Q.; VAN ARENDONK, J. A. M.; KOMEN, H. Genetic parameters for
483 reproductive traits in female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): II. Fecundity and
484 fertility. **Aquaculture**, v. 416–417, p. 72–77, 2013.

485 TULLBERG-REINERT, H.; JUNDT, G. In situ measurement of collagen synthesis by
486 human bone cells with a Sirius Red-based colorimetric microassay: Effects of
487 transforming growth factor β 2 and ascorbic acid 2-phosphate. **Histochemistry and Cell**
488 **Biology**, v. 112, n. 4, p. 271–276, 1999.