



## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

### **MESTRADO**

# **CARACTERIZAÇÃO DA CARNE, PELE E EXPRESSÃO GÊNICA DO COLÁGENO DO TIPO I EM DUAS VARIEDADES DE TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**

**VINÍCIUS JOSÉ CAMPOS**

**SÃO CRISTÓVÃO – SE  
2023**

**VINICIUS JOSÉ CAMPOS**

**CARACTERIZAÇÃO DA CARNE, PELE E EXPRESSÃO GÊNICA DO COLÁGENO  
DO TIPO I EM DUAS VARIEDADES DE TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS  
NILOTICUS*)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação Integrado  
em Zootecnia como parte das  
exigências para obtenção do título de  
Mestre em Zootecnia.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Del  
Vesco

SÃO CRISTÓVÃO – SE  
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

VINICIUS JOSÉ CAMPOS

CARACTERIZAÇÃO DA CARNE, PELE E EXPRESSÃO GÊNICA DO COLÁGENO DO TIPO I EM DUAS VARIEDADES DE TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Aprovado em: 28/02/2023

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 ANA PAULA DEL VESCO  
Data: 25/03/2024 10:22:38-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Paula Del Vesco  
Universidade Federal de Sergipe

---

Dr<sup>ª</sup>. Maria Luiza Rodrigues Souza  
Universidade Estadual de Maringá

Documento assinado digitalmente  
 ELIANE GASPARINO  
Data: 25/03/2024 13:14:06-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eliane Gasparino  
Universidade Estadual de Maringá

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por estar me acompanhando em todos os momentos, seja de conquistas ou de fracassos. Agradeço também a meus pais que sempre me apoiaram e apoiam em todas as decisões tomadas na minha vida, proporcionando-me tantas conquistas e felicidades ao longo dessa caminhada.

Agradeço a todos os amigos que no decorrer destes longos anos, que foram ótimos, principalmente meu amigo Wellington por ter sido um suporte durante o Mestrado.

A minha querida orientadora Profa. Dra. Ana Paula, que no decorrer de toda minha graduação sempre foi minha inspiração como pessoa e profissional.

A todo o grupo de Maringá que ajudaram e foram essencial no processo experimental da minha pesquisa.

Gratifico a todos os professores do departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, que, quando necessário, sempre ajudavam de alguma maneira para minha formação durante a graduação.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a mim por ser comprometido, resistente e sempre buscar sair da minha zona de conforto para crescer como humano e profissional.

## BIOGRAFIA

VINICIUS JOSÉ CAMPOS, filho de Maria Aparecida da Silva Campos e Edson Luis Campos, nasceu na cidade de Campos Gerais (MG), no dia 24 de abril de 1995. Graduado em Zootecnia pela Universidade Federal de Sergipe (UFS), tem experiência em criação e manejo de equinos pelo grupo de estudos de equideocultura (NEQUI-UFS), criação e manejo de suínos pelo núcleo de estudos em suínos (NEPSUI-UFS) e animais ruminantes. Foi monitor da disciplina de Fisiologia Animal e bolsista voluntário de iniciação científica na área de fermentação ruminal e melhoramento genético. Em 2020, ingressou no Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia na Universidade Federal de Sergipe, na linha de pesquisa Biotecnologias na Produção Animal, sob orientação da Professora Dra. Ana Paula Del Vesco. No dia 28 de fevereiro de 2023, submeteu-se à banca examinadora para a defesa de dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de mestre em Zootecnia.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	1
1. INTRODUÇÃO .....	3
2. OBJETIVOS .....	5
2.1 Objetivo Geral.....	5
2.2 Objetivos Específicos.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	6
4. RESULTADOS .....	13
5. DISCUSSÃO.....	18
6. CONCLUSÃO .....	22
7. REFERÊNCIAS.....	23

## RESUMO

A tilápia do Nilo se destaca entre as espécies mais cultivadas no mundo devido a criação de diferentes espécies e linhagens que ocorre em diferentes sistemas de aquicultura. A cor da pele é uma das características que auxiliam na diferenciação das variedades de tilápia e é um importante traço fenotípico que pode estar associado a diversas características produtivas importantes. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo determinar o efeito da cor da pele sobre as características do filé e da pele de tilápias do Nilo GIFT com fenótipo de coloração preta e vermelha. Para isso, 24 tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem GIFT de aproximadamente 150 dias de idade, com peso médio de 0,450 kg, e provenientes da mesma desova foram divididos em dois grupos relacionados à cor da pele: variedade preta (pele de tonalidade escura) e variedade vermelha (pele de tom avermelhado). Não foi observada diferença significativa entre as duas variedades de tilápia para nenhuma das características biométricas. Com relação as características do filé, animais da variedade vermelha apresentaram maior valor de pH logo após a eutanásia, menor valor do componente b\*, menor valor de luminosidade, menor perda de água por descongelamento e por cocção que as tilápias da variedade preta ( $P < 0.05$ ). Com relação as características das peles, no teste de rasgamento progressivo, maior valor de força foi observado na pele de tilápia da variedade preta. No teste de tração e alongamento, as peles de tilápias da variedade preta apresentaram maior valor de força, tração, deformação, e alongamento que a pele de tilápias da variedade vermelha. As peles das tilápias da variedade preta apresentaram maior conteúdo de colágeno e hidroxiprolina que as peles das tilápias da variedade vermelha. Peixes da variedade vermelha apresentaram maior expressão dos genes colágeno tipo 1 subunidades alfa 1 (*COL1A1*), alfa 2 (*COL1A2*) e alfa 3 (*COL1A3*), e menor expressão do gene vimentin (*VIM*) que os peixes da variedade preta. A pele de tilápias de cor vermelha apresentou maior capacidade antioxidante que a pele de tilápias de cor preta. Nossos resultados sugerem que o fenótipo de coloração da pele pode estar ligado a importantes rotas metabólicas que atuam de maneira diferente sobre as características de filé ou da pele dos peixes. Tais resultados podem ser aplicados em estudos futuros visando sugerir possíveis variações relacionadas ao cultivo de cada variedade e a adequada utilização dos resíduos.

**PALAVRAS CHAVES:** Colágeno, Peixes, Qualidade de carne, Qualidade de pele, Zootecnia.

## ABSTRACT

The Nile tilapia stands out among the most cultivated species worldwide due to the breeding of different species and lineages occurring in various aquaculture systems. Skin color is one of the characteristics that aids in the differentiation of tilapia varieties and is an important phenotypic trait that may be associated with several important production traits. Thus, this study aims to determine the effect of skin color on the characteristics of fillets and skin of GIFT Nile tilapia with black and red color phenotypes. For this purpose, 24 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) of the GIFT strain, approximately 150 days old, with an average weight of 0.450 kg, and originating from the same spawning, were divided into two groups related to skin color: black variety (dark-toned skin) and red variety (reddish-toned skin). No significant difference was observed between the two varieties of tilapia for any of the biometric characteristics. Regarding fillet characteristics, animals of the red variety showed a higher pH value immediately after euthanasia, a lower b\* value, lower luminosity, and less water loss due to thawing and cooking than tilapia of the black variety ( $P < 0.05$ ). Regarding skin characteristics, in the progressive tear test, a higher force value was observed in the skin of tilapia of the black variety. In the tensile and elongation tests, the skins of black variety tilapia showed higher force, tensile strength, deformation, and elongation values than those of red variety tilapia. The skins of black variety tilapia showed a higher content of collagen and hydroxyproline than the skins of red variety tilapia. Fish of the red variety showed higher expression of the collagen type 1 subunits alpha 1 (*COL1A1*), alpha 2 (*COL1A2*), and alpha 3 (*COL1A3*) genes, and lower expression of the vimentin (*VIM*) gene than fish of the black variety. The skin of red variety tilapia exhibited higher antioxidant capacity than that of black variety tilapia. Our results suggest that the skin color phenotype may be linked to important metabolic pathways that act differently on the characteristics of fish fillets or skin. Such findings can be applied in future studies aiming to suggest possible variations related to the cultivation of each variety and the proper utilization of waste.

**KEYWORDS:** Collagen. Fish. Meat quality. Skin quality. Animal Science.

## 1. INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma importante fonte de proteína de qualidade para a alimentação humana, além ser a principal fonte de renda em muitas comunidades. A crescente busca por alimentação saudável tem impulsionado o crescimento no consumo per capita de pescado em todo o mundo nas últimas décadas, saindo de 11,5 kg em 1970 para 20,5 kg em 2017 (FAO, 2023). Nesse contexto, a tilápia do Nilo se destaca entre as espécies mais cultivadas no mundo, devido à sua tolerância ao cultivo em alta densidade, ao teor de salinidade, boa adaptabilidade e resistência a doenças, entre outras características (Prabu et al., 2019). A criação de diferentes espécies e linhagens de tilápias ocorre em diversos sistemas de aquicultura permitindo a produção anual de cerca de 5 milhões de toneladas (FAO, 2023).

O aumento no consumo da carne de tilápia pode ser justificado por se tratar de uma proteína de alta qualidade, preço acessível e facilidade de preparo (Planello et al., 2016). Nuryanto et al. (2022) demonstraram que a carne (sem osso e cabeça) da tilápia do Nilo teve valor calórico de 1 kcal/g, sendo que o maior teor de macronutrientes encontrado foi de proteína (18,46 g). A concentração de aminoácidos encontrada pelos autores na carne da tilápia foi de 21,56%, e dentro dessa porcentagem os aminoácidos com níveis mais elevados foram o ácido aspártico (2,16%), o ácido glutâmico (3,45%), a lisina (1,84%), a arginina (1,88%) e a leucina (1,69%). Além disso, a carne de tilápia apresentou 30,39% de ácidos graxos totais, consistindo de ácidos graxos saturados e ácidos graxos insaturados, incluindo os ácidos graxos oléico (8,13%), palmítico (7,87%), linoléico (3,67%) e esteárico (4,30%), além de apresentar elevado nível de cálcio (74,58 mg/100 g) (Nuranto et al., 2022).

A principal forma utilizada pela indústria para comercialização da tilápia é o filé. Uma vez que este corte corresponde em média a 34,2% do peso do animal o processo de filetagem gera grande quantidade de resíduos, entre eles a carcaça, vísceras e a pele do peixe (Yoshida et al., 2019). O aproveitamento adequado desses resíduos é importante para minimizar o impacto ambiental, gerar receita e agregar valor ao processo industrial. Dessa forma, nos últimos anos estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de descrever a aplicabilidade de resíduos do processamento de tilápias em diferentes vertentes, como por exemplo, em produtos para a alimentação humana (Corrêa et al., 2023), em áreas de produção de biocombustíveis (Mota et al., 2019), e biomédicas (Dermawan et al., 2022; Lee et al., 2022). Pesquisas já

demonstraram, por exemplo, a eficiência da pele de tilápia do Nilo como potencial curativo biológico e de baixo custo para o tratamento de queimaduras (Lima Junior et al., 2017; 2020).

Alguns dos fatores que tem potencializado a utilização de colágeno proveniente de organismos aquáticos são a ausência de risco de transmissão de doenças, a falta de restrições religiosas, o custo econômico do processo, o baixo peso molecular, a biocompatibilidade e a sua fácil absorção pelo corpo humano (Jafari et al., 2020). A pele do peixe é uma fonte abundante de gelatina e colágeno que pode ser hidrolisada para produzir peptídeos bioativos relacionados a diferentes atividades, como anti-hipertensiva, antioxidante, antimicrobiana, de neuroproteção, anti-hiperglicêmica e anti-envelhecimento. Tais atividades são baseadas na composição e sequência de aminoácidos de cada bioativo (Abuine et al., 2019). De acordo com Reátegui-Pinedo et al. (2022), a mudança no conteúdo desses aminoácidos se deve a fatores ambientais, sejam nutricionais ou de doenças, à espécie genética, ou até mesmo a variedade dos indivíduos.

A linhagem GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapias) é fruto do projeto iniciado há três décadas como objetivo principal de produzir uma linhagem de tilápia do Nilo de alto desempenho para uma ampla variedade de ambientes, e é considerada atualmente como a variedade de tilápia mais popular e preferida em todo o mundo (Moses et al., 2021). A cor da pele é uma das características que auxiliam na diferenciação das variedades de tilápia (Wang et al., 2018). A coloração da pele é um importante traço fenotípico que pode estar associado a outras diversas características adaptativas, reprodutivas e produtivas (Li et al., 2019). Dessa forma este trabalho busca caracterizar biometricamente tilápias do Nilo da linhagem GIFT com fenótipo de coloração preta e vermelha, e determinar o efeito da cor da pele sobre as características do filé e da pele destes animais para assim sugerir possíveis variações relacionadas ao cultivo de cada variedade e a adequada utilização dos resíduos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar as principais características de carne, pele e expressão gênica do colágeno do tipo I em nas variedades preta e vermelha de tilápia do Nilo (*Oreochromis Niloticus*).

### **2.2 Objetivos Específicos**

Avaliar parâmetros morfométricos do corpo de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) preta e vermelha;

Avaliar parâmetros relacionados a qualidade da carne de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) preta e vermelha: Luminosidade (L), Índice de vermelho(a), Índice de amarelo (b), Potencial hidrogeniônico (pH) e atividade de água (Aw).

Avaliar a expressão dos genes colágeno tipo 1 alfa 2 (COL1A2) e alfa 3 (COL1A3) na pele de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) preta e vermelha.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA nº 2942240423) da Universidade Estadual de Maringá, Brasil.

#### 3.1. Animais e medidas corporais

Para a realização deste estudo foram avaliadas 24 tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem GIFT de aproximadamente 150 dias de idade, com peso médio de 0,450 kg, provenientes da mesma desova. Os animais foram divididos em dois grupos relacionados à cor da pele, e que são mencionados nesse trabalho como variedade preta (pele de tonalidade escura,  $n = 12$ ) e variedade vermelha (pele de tom avermelhado,  $n=12$ ). Os animais foram criados na Estação Experimental de Piscicultura (CODAPAR - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, BR) em tanque escavado (3 peixes/m<sup>3</sup>), com parâmetros de qualidade da água padrão, e sistema de aeração convencional ocorrendo a cada 30 minutos durante 12 horas de funcionamento e 12 horas de descanso. Todos os animais receberam a mesma ração comercial com 32% de proteína e 3000 kcal/kg de energia digestível (Acqua Fish, SUPRA, São Leopoldo, RS, BR).

Para formar os grupos, os animais foram capturados aleatoriamente do tanque, em seguida foram insensibilizados por meio de choque térmico em água com gelo (1:1). Após insensibilização dos animais, os mesmo foram eutanaseados por meio da secção do cordão espinhal. Após o abate, os animais foram pesados e as medidas biométricas realizadas. Foram tomadas as medidas de comprimento total, comprimento padrão, comprimento da cabeça, altura do dorso e da cauda, assim como a largura nessas mesmas regiões.

Após a pesagem e a mensuração dos parâmetros biométricos, os peixes foram submetidos a evisceração e posteriormente, a pele dos dois lados do corpo do animal foi retirada com o uso de alicate específico, iniciando-se a tração de retirada da pele na região dorsal próxima da cabeça em direção a região caudal. As peles foram identificadas e pesadas, em seguida amostras de pele ( $n = 12$  pretas e  $n = 12$  vermelhas) obtidas do lado direito do corpo do animal na região superior, foram coletadas, lavadas com soro fisiológico gelado, e foram adicionadas em tubos criogênicos e congeladas em nitrogênio líquido. Subseqüentemente as amostras foram armazenadas em freezer a -80°C até o momento da análise de expressão gênica e da capacidade antioxidante. Além disso, para a quantificação dos tipos de colágeno,

fragmentos de aproximadamente 5 cm de pele (lado direito do corpo do animal na região superior) de sete animais por tratamento foram coletados. As amostras de pele sem escama foram coletadas e lavadas cuidadosamente com solução fisiológica estéril gelada e, em seguida, foram colocadas em microtubos contendo solução de formol 10% tamponado para sua fixação.

Após a coleta das amostras de pele para expressão gênica e histologia, as peles (direita e esquerda) foram colocadas em saco plástico e armazenadas a freezer -20°C até o momento das análises de resistência da pele e determinação do conteúdo de hidroxiprolina e colágeno.

Posteriormente a retirada da pele, foi feita a decaptação das cabeças dos peixes que foram então pesadas. Além disso, os filés do lado direito e esquerdo do corpo dos animais (sem pele) foram pesados e separados para serem utilizados na análise de indicadores de qualidade da carne. Após a retirada dos filés as carcaças dos peixes foram pesadas.

### **3.2. Indicadores de qualidade do filé**

Os indicadores de qualidade da carne avaliados neste estudo foram o pH, a cor instrumental, a atividade de água (Aw), a perda de água por descongelamento e cocção, e o pH dos filés após o descongelamento. Para essas análises o peixe foi considerado como uma unidade experimental ( $n = 12$  peixes de cada variedade).

As análises de pH, cor e Aw, foram realizadas nos filés coletados do lado esquerdo do corpo dos animais, imediatamente após o abate e pesagem dos filés. Para as análises de perda de água por descongelamento e cocção, e de pH após o descongelamento, os filés coletados do lado direito do corpo dos animais foram armazenados em freezer a -20°C até o momento das análises.

O pH dos filés mensurado logo após o abate e com 12 horas após o descongelamento foi realizado utilizando pHmetro digital (Hanna, HI 99163, HANNA®instruments Brasil Exp. E Imp. LTDA.), com eletrodo de inserção inserido em três pontos diferentes do filé (partes dorsal, ventral e central). A mensuração da cor foi feita na face ventral dos filés, em seis pontos diferentes de leitura utilizando um colorímetro CR-400 (Konica Minolta Sensing Americas, Inc.) em um ângulo de 90° em temperatura ambiente. Os parâmetros de luminosidade ( $L^*$ ), medida do croma no eixo vermelho-verde ( $a^*$ ) e medida do croma no eixo amarelo-azul ( $b^*$ ) foram expressos no sistema de cor CIELAB.

A atividade de água foi determinada nas amostras à temperatura ambiente, utilizando o aparelho Aqualab 4 TE (Meter Group, EUA).

Para avaliar a perda de água por descongelamento, os filés congelados (tempo 0) foram pesados e transferidos para uma incubadora digital B.O.D (Demanda Bioquímica de Oxigênio) (modelo SSBOD 342L) sob refrigeração à 4°C para o descongelamento. Os filés foram pesados a cada duas horas durante o período de 12 horas. A perda por descongelamento (%) foi calculada da seguinte forma:  $(\text{Peso}_{\text{tempo}2,4,6,8,10,12} \times 100) / (\text{Peso}_{\text{tempo}0})$ .

Após o período de 12 horas de descongelamento dos filés, e antes dos mesmos serem assados, os filés foram retirados da incubadora B.O.D e colocados em bandejas sobre a bancada por 30 minutos a temperatura ambiente. Em seguida os filés foram pesados para obtenção do peso inicial e foram assados em um grill (Cadence) forrado com papel alumínio. Os filés foram assados, sem a adição de qualquer condimento, até que a temperatura interna chegasse em 75°C. A temperatura interna do filé foi obtida em três pontos diferentes do filé com o uso de um termômetro digital culinário TP101 (CITEX, Arapongas, PR, BR). Após atingir a temperatura, os filés foram retirados do grill, colocados em bandejas sobre a bancada, onde permaneceram por cinco minutos a temperatura ambiente, e então foram pesados (peso final). A perda por cocção (%) foi calculada como:  $100 - (\text{peso final} \times 100) / \text{peso inicial}$ .

### **3.3. Resistência da pele (teste de rasgamento progressivo e teste de tração e alongamento)**

A pele obtida do lado esquerdo do corpo do animal foi utilizada para determinação da sua resistência. Essa análise foi realizada conforme descrito por Matiucci et al. (2021).

### **3.4. Capacidade antioxidante da pele**

A capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH – Sigma-Aldrich), foi realizada conforme o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), com algumas modificações. As amostras de pele (100 mg) de sete peixes de cada variedade foram adicionadas em 1000 µl de metanol, homogeneizadas com homogeneizador portátil Fisherbrand™ 150 (Fisher Scientific) até sua completa dissociação, e então foram centrifugadas a  $10,000 \times g$  por 10 minutos a 4°C. Em seguida, 100

ul do sobrenadante das amostras foram adicionadas em microtubo contendo 900 µl da solução de DPPH a 0,06 mM. As reações foram mantidas em ambiente escuro por 30 min. Após esse período, as amostras foram lidas no espectrofotômetro Evolution™ 300 UV-VIS (Thermo Fisher Scientific™) no comprimento de onda de 515 nm. A capacidade antioxidante da pele (% de atividade antioxidante) foi determinada da seguinte forma: % de atividade antioxidante =  $(1 - (\text{absorbância da amostra} / \text{absorbância do DPPH})) \times 100$ .

### **3.5. Conteúdo de hidroxiprolina e concentração de colágeno na pele**

O conteúdo de hidroxiprolina e a concentração de colágeno foram determinados nas peles obtidas do lado direito do corpo dos animais. As peles descongeladas foram lavadas com água destilada e as escamas residuais foram retiradas da pele com o auxílio de colher de laboratório. A extração de colágeno foi feita por meio de extração ácida, com tempo de cozimento de 3h 30min, conforme a metodologia descrita por Oliveira et al. (2022).

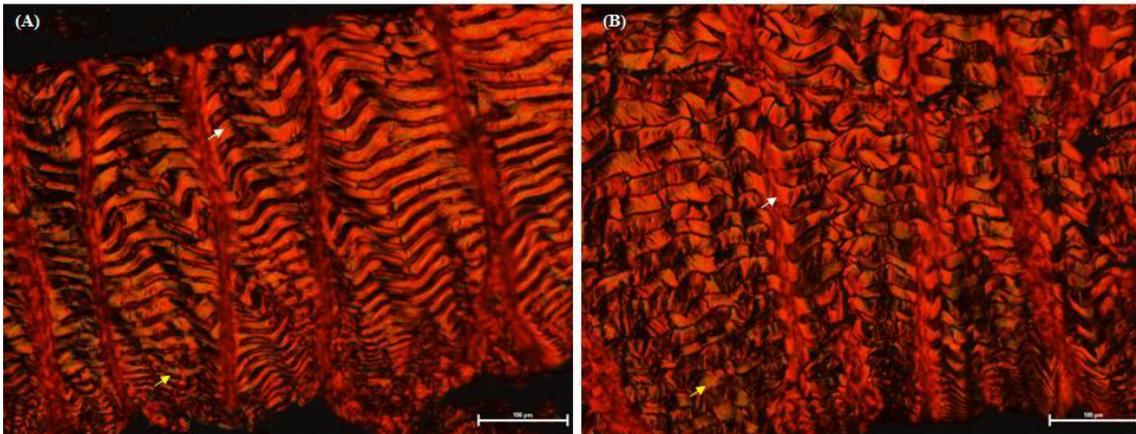
O conteúdo de hidroxiprolina foi determinado com base na oxidação do ácido pirrocarbônico presente na hidroxiprolina livre da coramina-T após o processo de hidrólise da amostra. A metodologia empregada foi a descrita por Bergman e Loxley (1963). A absorbância das amostras foi medida a 558 nm em espectrofotômetro. O conteúdo de hidroxiprolina foi calculado a partir de uma curva analítica. O valor de hidroxiprolina obtido foi convertido em colágeno utilizando o fator 7,25. A concentração de colágeno (%) da pele foi calculada como:  $(\text{conteúdo de hidroxiprolina (g)/100 g de amostra}) \times (7,25)$ .

### **3.6. Determinação da área ocupada pelo colágeno tipo I e tipo III na pele de tilápias do Nilo das variedades preta e vermelha**

Após a fixação, as amostras foram submetidas a um processo de desidratação em séries crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina para obtenção de cortes histológicos semi-seriados no sentido longitudinal de três µm de espessura. Os cortes foram obtidos em micrótomo manual (Leica BIOSYSTEMS, RM2125 RTS).

Os cortes histológicos foram corados com Picrosirius Red para diferenciar os colágenos. Para determinar a área ocupada pelas fibras colágenas dos tipos I e III, 10 imagens por animal foram capturadas no microscópio Óptico Nikon (Eclipse®, Shimjuku, Japão) acoplado a uma câmera de alta resolução (Nikon®, Ds-Fi1c, Shimjuku, Japão) por meio do software NIS-

Elements (versão 4.0, Praga, República Tcheca) na objetiva de 20 X e usando polarização óptica (Figura 1). A quantificação das fibras colágenas tipos I e III foi realizada utilizando o software Image Pro Plus versão 4.0 (Média Cibertecnicos). Os resultados são expressos em porcentagem da quantidade de cada tipo de colágeno por área da derme analisada.



**Figura 1.** Fotomicrografia de corte histológico de pele de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) variedade preta (A) e vermelha (B), corada com Picrosirius-Red, observado em microscópio óptico sob luz polarizada. Fibras colágenas do tipo I, em tons vermelho-laranja (seta branca) e fibras colágenas do tipo III, em tons de verde (seta amarela). Objetiva: 20 X. Barra = 100  $\mu$ m.

### 3.7. Expressão dos genes colágeno tipo 1 subunidades alfa 1, 2 e 3, vimentin e RNA helicase A dependente de ATP na pele

O RNA total das amostras de pele ( $n = 7$  da variedade preta e  $n = 7$  da variedade vermelha) foi extraído com o reagente TRIzol (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as normas do fabricante. A concentração do RNA total foi mensurada no espectrofotômetro Nano Drop 2000-c (Thermo Fisher Scientific) no comprimento de onda de 260 nm. A pureza e integridade do RNA total de cada amostra foi determinada por meio das razões 260/280 nm e 260/230 nm que obtiveram valores entre 1,9 a 2,1. Para evitar a contaminação das amostras com DNA genômico, o RNA total foi tratado com o kit DNase I amplification grade (Invitrogen, Carlsbad CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante. O DNA complementar (cDNA) foi sintetizado usando o kit SuperScript III First-Strand Synthesis Super Mix (Invitrogen Corporation) de acordo com as instruções do fabricante, e as amostras de cDNA foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do seu uso. As reações em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR) foram realizadas

usando o composto fluorescente Power UP SYBR® Green Master Mix (Applied Biosystems, Vilnius, Lithuania) no termociclador Step One Real Time PCR System versão 2.3 (Applied Biosystems) em duplicata, e os parâmetros do ciclo térmico para todos os genes foram realizados conforme sugerido no protocolo do Power UP SYBR® Green Master Mix (Applied Biosystems, Vilnius, Lithuania).

Os genes colágeno tipo 1 subunidades alfa 1 (*COL1A1*, nº de acesso: AB603656.1), alfa 2 (*COL1A2*, nº de acesso: AB603657.1) e alfa 3 (*COL1A3*, nº de acesso: AB603658.1), vimentin (*VIM*, nº de acesso XM\_003438066.5) e RNA helicase A dependente de ATP (*DHX9*, nº de acesso: XM\_025900168.1) específicos para a espécie *Oreochromis niloticus* foram desenhados de acordo com as sequências depositadas no site [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov), usando o software para desenho de primer disponível no site [www.idtdna.com](http://www.idtdna.com). A beta actina específica para a espécie *Oreochromis niloticus* foi utilizada como gene endógeno da reação (nº de acesso: EU887951.1) (Tabela 1).

O método  $2^{-\Delta Ct}$  (Livak e Schmitzgen, 2001), onde  $\Delta Ct = (Ct \text{ gene alvo} - Ct \text{ gene endógeno})$ , foi utilizado para a quantificação relativa da expressão gênica e os resultados obtidos são apresentados como unidade arbitrária (UA).

**Tabela 1.** Sequência dos genes utilizadas nas reações de RT-qPCR

Genes <sup>1</sup>	Sequência do gene (5'→3')	Amplicon (pb) <sup>2</sup>
<i>COL1A1</i> <sup>2</sup>	F: GAAGGGACACAGAGGATTACAC R: GCTCACACCATCCTTACCAG	148
<i>COL1A2</i> <sup>3</sup>	F: GTGGATTCTACTGGATTGACCC R: TCTTGTTCTCGGTGCTTCTG	147
<i>COL1A3</i> <sup>4</sup>	F: GCAGTGGATTTGAGTTCGTC R: CTTCTGTGTCAGGGTCTTAAGG	146
<i>VIM</i>	F:GACCATTGAGACCAGGGATG R:TGTAGCCCGAGTGAAATGTG	136
<i>DHX9</i>	F:TTAACGGGTTACGGAATAGG R:GGATGTCGTAGTTTGGAGTCAG	113
$\beta$ -actina	F: TGGTGGGTATGGGTCAGAAAG	217

R: CTGTTGGCTTTGGGGTTCA

---

<sup>1</sup>*COL1A1*: colágeno tipo 1 subunidade alfa 1; *COL1A2*: colágeno tipo 1 subunidade alfa 2; *COL1A3*: colágeno tipo 1 subunidade alfa 3; *VIM*: vimentn; *DHX9*: RNA helicase A dependente de ATP. <sup>2</sup>Tamanho do amplicon em pares de bases (pb). F: forward e R: reverse.

### 3.7. Análise estatística

O teste Shapiro-Wilk foi realizado para verificar a normalidade dos dados. Os dados foram analisados por meio da ANOVA-one-way. O modelo estatístico utilizado foi  $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$ , onde  $Y_{ij}$  é a variável dependente,  $\mu$  é a média geral,  $\alpha_i$  é efeito dos tratamentos ( $i$  = variedade preta ou variedade vermelha), e  $e_{ij}$  é o termo de erro residual. As médias com diferença significativa foram comparadas pelo teste t de Student ( $P < 0.05$ ) (SAS, 2002 versão 9.00, SAS Inst. Inc., Cary, NC).

#### 4. RESULTADOS

Não foi observada diferença significativa entre as duas variedades de tilápia para nenhuma das características biométricas avaliadas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Biometria corporal de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) das variedades preta e vermelha

CARACTERÍSTICA	VARIEDADE		<i>P-value</i>
	BLACK	RED	
Peso corporal (g)	837.69 ± 186,69	857.33 ± 145.74	0.7733
Peso da pele (g)	56.00 ± 14.22	52.08 ± 10.03	0.4379
Peso do filé (g)	266.38 ± 39.03	300.08 ± 42.50	0.0502
Comprimento total (cm)	35.40 ± 2.34	35.51 ± 2.02	0.9028
Comprimento padrão (cm)	29.30 ± 2.06	28.92 ± 1.56	0.6156
Comprimento da cabeça (cm)	9.12 ± 0.69	8.81 ± 0.60	0.2419
Altura do dorso (cm)	12.75 ± 1.01	12.28 ± 0.91	0.2361
Largura do dorso (cm)	5.75 ± 0.44	6.06 ± 0.43	0.0872
Peso da carcaça (g)	508.08 ± 119.06	503.92 ± 85.67	0.9216
Peso da cabeça (g)	240.54 ± 56.78	227.50 ± 33.84	0.4973

O peixe foi considerado como uma unidade experimental ( $n = 12$  tilápias de cada variedade). Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  erro padrão. <sup>a,b</sup>Médias diferentes pelo teste t de Student ( $P < 0,05$ ).

A Tabela 3 mostra o efeito das variedades de tilápia sobre os indicadores de qualidade do filé. Observamos que animais da variedade vermelha apresentaram maior valor de pH logo após a eutanásia (5.95 vs. 5.90), menor valor do componente b\* (croma amarelo-azul) (2.68 vs. 3.31), menor valor de luminosidade (46.66 vs. 48.92), menor perda por descongelamento (7.85 vs. 9.65%) e menor perda por cocção (18.30 vs. 20.32%) que as tilápias da variedade preta ( $P < 0.05$ ).

**Tabela 3.** Indicadores de qualidade do filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) da variedade preta e vermelha

Indicadores	VARIEDADE		<i>P-value</i>
	BLACK	RED	
pH logo após euthanasia (PA)	5.90 <sup>b</sup> ± 0.12	5.95 <sup>a</sup> ± 0.08	0.0362
L*	48.92 <sup>a</sup> ± 3.51	46.66 <sup>b</sup> ± 3.39	0.0060
a*	3.47 ± 1.72	4.23 ± 2.50	0.1284
b*	3.31 <sup>a</sup> ± 1.30	2.68 <sup>b</sup> ± 1.40	0.0468
AW	0.99 ± 0.002	0.99 ± 0.002	0.6486
PD	9.65 <sup>a</sup> ± 0.56	7.85 <sup>b</sup> ± 0.15	0.0131
PC	20.32 <sup>a</sup> ± 0.56	18.30 <sup>b</sup> ± 0.28	0.0140
pH 12 h após descongelamento (PC)	5.79 ± 0.15	5.78 ± 0.11	0.7686

O peixe foi considerado como uma unidade experimental ( $n = 12$  tilápias de cada variedade). Os resultados são apresentados como a média ± erro padrão. pH PA: potencial hidrogeniônico mensurado logo após o abate; L\*: Luminosidade; a\*: medida do croma no eixo vermelho-verde; b\*: medida do croma no eixo amarelo-azul; Aw: atividade de água; PD: perda de água por descongelamento; PC: perda de água por cocção; pH 12 h PC: potencial hidrogeniônico mensurado 12 horas após o descongelamento do filé. <sup>a,b</sup>Médias diferentes pelo teste t de Student ( $P < 0.05$ ).

Os resultados do teste de resistência da pele das duas variedades de tilápia são apresentados na Tabela 4. No teste de rasgamento progressivo, maior valor de força foi observado na pele de tilápia de variedade preta (44,50 vs. 36,00 N). No teste de tração e alongamento, as peles de tilápias da variedade preta apresentaram maior valor de força (113,33 vs. 85,42 N), tração (13,15 vs. 10,82 N/mm<sup>2</sup>), deformação (50,16 vs. 38,85 mm), e alongamento (86,33 vs. 64,86%) que a pele de tilápias da variedade vermelha.

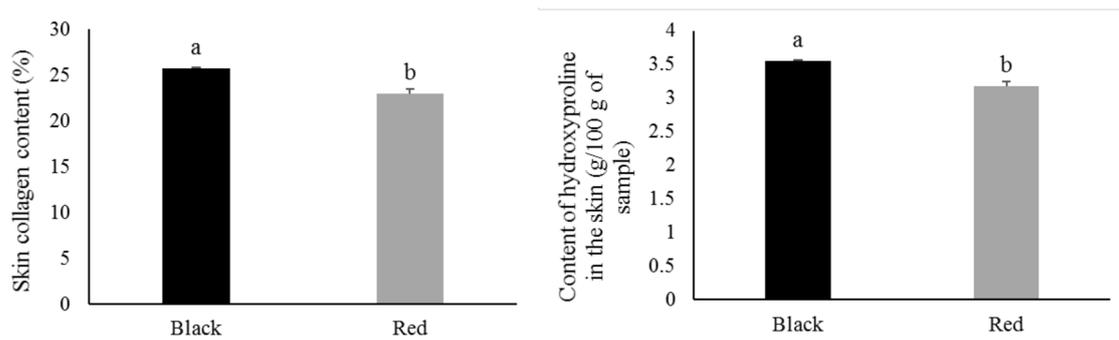
**Tabela 4.** Teste de resistência da pele de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) das variedades preta e vermelha

Teste	VARIEDADE		<i>P-value</i>
	BLACK	RED	
Força (N)	113.33 <sup>a</sup> ± 7.63	85.42 <sup>b</sup> ± 4.60	0.0079

Tração e Alongamento	Tração (N/mm <sup>2</sup> )	13.15 <sup>a</sup> ± 0.62	10.81 <sup>b</sup> ± 0.73	0.0365
	Deformação (mm)	50.16 <sup>a</sup> ± 3.56	38.85 <sup>b</sup> ± 1.07	0.0077
	Alongamento (%)	86.83 <sup>a</sup> ± 4.30	64.85 <sup>b</sup> ± 1.68	0.0004
Rasgamento progressivo	Força (N)	44.50 <sup>a</sup> ± 3.25	36.00 <sup>b</sup> ± 1.15	0.0237
	Rasgo (N/mm <sup>2</sup> )	51.45 ± 3.02	45.70 ± 1.46	0.1039

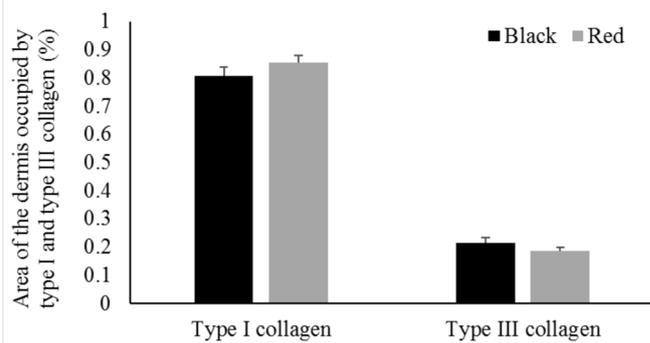
O peixe foi considerado como uma unidade experimental ( $n = 12$  Tilápias de cada variedade). Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  erro padrão. <sup>a,b</sup>Médias diferentes pelo teste t de Student ( $P < 0.05$ ).

As peles das tilápias da variedade preta também apresentaram maior conteúdo de colágeno (25.76 vs. 23.01%;  $P = 0.0003$ ) e hidroxiprolina (3.55 vs. 3.17 g/100 g de amostra;  $P = 0.0003$ ) que as tilápias da variedade vermelha (Figura 2).



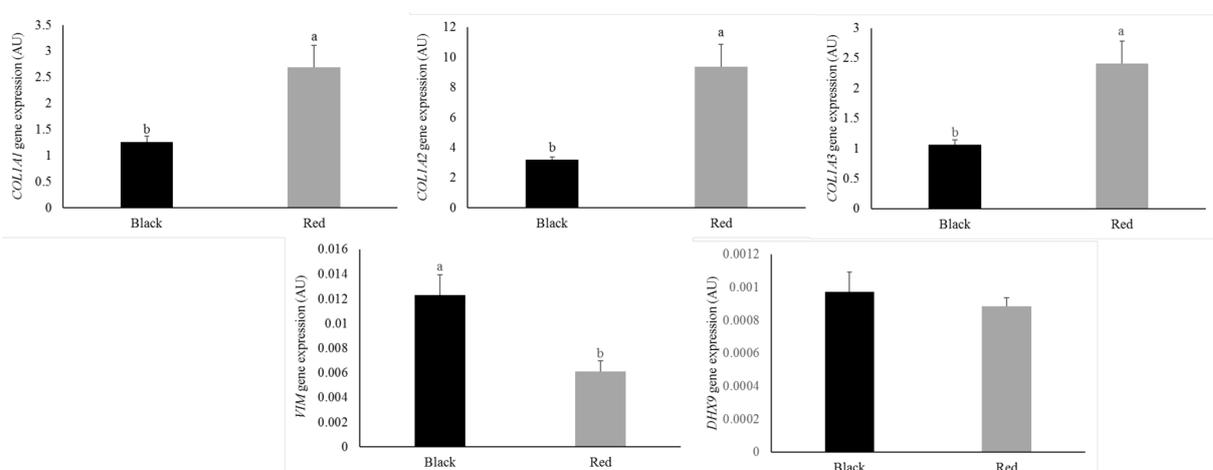
**Figura 2.** Conteúdo de hidroxiprolina e rendimento de colágeno da pele de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) das variedades preta e vermelha. O peixe foi considerado como uma unidade experimental ( $n = 7$  tilápias de cada variedade). Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  erro padrão. <sup>a,b</sup>Médias diferentes pelo teste t de Student ( $P < 0.05$ ).

Não houve diferença significativa na área ocupada pelo colágeno tipo I ( $P = 0.2801$ ) e tipo III ( $P = 0.2763$ ) na pele de tilápias do Nilo preta e vermelha (Figura 3).



**Figura 3.** Determinação da área ocupada pelo colágeno tipo I e tipo III da pele de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) das variedades preta e vermelha. O peixe foi considerado como uma unidade experimental ( $n = 7$  tilápias de cada variedade). Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  erro padrão.

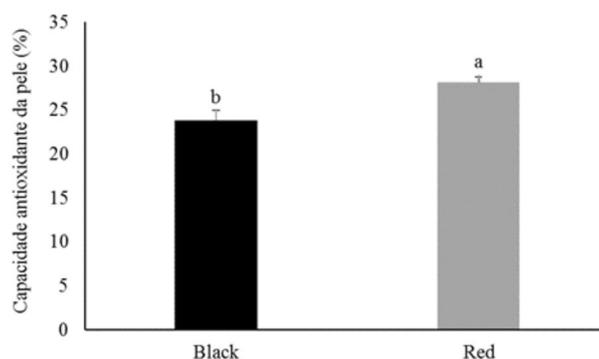
Com relação à expressão dos genes colágeno tipo 1 subunidades alfa 1, 2 e 3 nas peles das tilápias das duas variedades, observamos que peixes da variedade vermelha apresentaram maior expressão dos genes *COL1A1* (2.69 vs. 1,26 AU;  $P = 0.02000$ , *COL1A2* (9.38 vs. 3.19 AU;  $P = 0.0032$ ) e *COL1A3* (2.41 vs. 1.06 AU;  $P = 0.0141$ ) que os peixes da variedade preta. Com relação aos genes que regulam a expressão do gene colágeno, a maior expressão do gene vimentin (*VIM*) foi observada nas peles das tilápias da variedade preta (0.0122 vs. 0.006 AU;  $P = 0.0067$ ). A variedade da tilápia não influenciou a expressão do gene RNA helicase A dependente de ATP (*DHX9*;  $P = 0.9259$ ) (Figura 4).



**Figura 4.** Expressão dos genes colágeno tipo 1 subunidades alfa 1 (*COL1A1*), 2 (*COL1A2*) e 3 (*COL1A3*), vimentin (*VIM*) e RNA helicase A dependente de ATP (*DHX9*) na pele de

tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) das variedades preta e vermelha. O peixe foi considerado como uma unidade experimental ( $n = 7$  tilápias de cada variedade). Os resultados são expressos como unidades arbitrárias (AU) e são apresentados como a média  $\pm$  erro padrão. <sup>a,b</sup>Médias diferentes pelo teste t de Student ( $P < 0.05$ ).

Houve diferença significativa ( $P = 0,0171$ ) na capacidade antioxidante da pele das variedades de tilápias do Nilo, sendo que a pele de cor vermelha apresentou maior capacidade antioxidante que a pele de cor preta (28,11 vs. 23,87%), respectivamente (Figura 5).



**Figura 5.** Capacidade antioxidante da pele de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) das variedades preta e vermelha. O peixe foi considerado como uma unidade experimental ( $n = 7$  tilápias de cada variedade). Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  erro padrão. <sup>a,b</sup>Médias diferentes pelo teste t de Student ( $P < 0,05$ ).

## 5. DISCUSSÃO

Este estudo foi conduzido para caracterizar biometricamente tilápias do Nilo da linhagem GIFT com fenótipo de coloração preta e vermelha, e determinar o efeito da cor da pele sobre as características do filé e da pele destes animais. Não foi observada diferença significativa entre as duas variedades de tilápia para nenhuma das características biométricas avaliadas. Os animais utilizados neste estudo pertencem a uma mesma linhagem e, portanto compartilham mesma composição genética, e embora haja variação no fenótipo em relação à coloração da pele desses animais, a padronização biométrica dispensa a necessidade de separá-los em lotes diferentes no sistema de produção.

O filé é a principal forma de comercialização da carne de tilápia, considerada uma proteína de alta qualidade. Embora não tenhamos observado diferença em relação ao peso dos filés entre as variedades de tilápia preta e vermelha, quando comparamos os parâmetros que avaliaram as características de qualidade da carne observamos que os animais com fenótipo de pele preta apresentaram menor valor de pH logo após eutanásia (5.90 vs. 5.95), maior valor de luminosidade ( $L^*$ ) (48.92 vs. 46.66) e maior valor do componente  $b^*$  (3.31 vs. 2.68). Valor de pH semelhante foi encontrado por De Paiva Soares e Gonçalves (2012) (5.9) e segundo os autores o valor de pH observado pode ser considerado baixo quando comparado a outros estudos que indicam o pH próximo de 7 como o ideal para o filé do peixe (Baygar et al., 2012; Castro et al., 2016). Deste modo, a redução do pH pode estar relacionado ao sistema de produção, ao estresse pré abate e ao conseqüente acúmulo de ácido láctico que reduz o pH do músculo.

O pH *post-mortem* é utilizado como um importante indicador de qualidade da carne e está diretamente relacionado com a redução da capacidade de reter água no músculo, isso por que a queda do pH causa desnaturação e perda de solubilidade das proteínas musculares afetando a textura e a coloração da carne (Bainy et al., 2015). Fato corroborado pelos resultados das análises de perda de água por descongelamento e por cocção realizadas no presente estudo, em que os filés dos peixes com fenótipo de pele preta apresentaram maior perda de água em ambos os parâmetros.

A cor da carne é outro importante critério levado em consideração pelo mercado consumidor. A quantidade de mioglobina e o líquido livre presente na musculatura

influenciam a coloração da carne, podendo variar de acordo com o estado físico-químico das fibras musculares e da mioglobina. Os valores de  $L^*$  e de  $b^*$  observados para os filés dos peixes de pele preta indicam uma tendência da luz refletida em direção ao branco e caracterização de carne mais clara, desejável pelo mercado consumidor desse tipo de pescado (Uddin et al., 2019; Kyule et al., 2020).

O processo de filetagem dos peixes gera grande quantidade de resíduos, entre eles a pele que tem potencial de uso em diversas áreas como na indústria têxtil, minimizando os impactos ambientais causados pelo descarte indiscriminado deste resíduo (Yoshida et al., 2019), nesse contexto é fundamental conhecer os parâmetros relacionados à resistência da pele. Oliveira et al. (2022) ao avaliarem parâmetros de qualidade da pele de tilápias observaram que o couro do peixe apresentou tração de  $13.52 \text{ N/mm}^2$  e força de rasgamento de  $53.85 \text{ N/mm}^{-1}$ , valores semelhantes aos encontrados no presente estudo para os animais com fenótipo de pele preta ( $13.15 \text{ N/mm}^2$  e  $51.45 \text{ N/mm}^2$ , respectivamente). Embora os peixes da variedade vermelha tenham apresentado valores de tração ( $10.81 \text{ N/mm}^2$ ) e de rasgamento ( $45.70 \text{ N/mm}^2$ ) menores que os peixes de pele preta, ainda assim são superiores aos valores observados para alguns mamíferos, como coelhos ( $8.98 \text{ N/mm}^2$  e  $24.25 \text{ N/mm}^{-1}$  respectivamente) (Oliveira et al., 2022), ratificando a qualidade do couro de tilápia e a possibilidade de utilização desse subproduto da indústria da pesca na produção de bolsas, calçados e vestuário.

A pele do peixe apresenta em sua composição colágeno, uma proteína fibrosa e insolúvel, com potencial atividade antioxidante, neuroprotetora, anti-inflamatória e anti-envelhecimento. O perfil de aminoácidos que compõe o colágeno presente na pele dos peixes se assemelha ao dos mamíferos. Nesse contexto, pesquisas têm demonstrado o potencial uso da pele de peixe na área biomédica, para a extração de componentes bioativos e como curativo biológico no tratamento de queimaduras (Lima Junior et al., 2020; Dermawan et al., 2022; Lee et al., 2022).

Embora tenhamos observado menor rendimento de colágeno nas peles dos peixes com fenótipo de coloração vermelha em comparação com a preta (25.76 vs. 23.01%), o valor encontrado está acima do relatado na literatura para linhagens de tilápia vermelha: 22.58% (Medina-Medrano et al., 2019) e 19,04% (Reátegui-Pinedo et al., 2022). Ademais, Medina-Medrano et al. (2019) ao caracterizar as propriedades antioxidantes do colágeno das peles de tilápias vermelhas concluiu que é recomendado seu uso como ingrediente ativo de

nutracêuticos, farmacêuticos ou alimentos funcionais, corroborando os achados do presente estudo referente a capacidade antioxidante das peles das tilápias da variedade vermelha que foi superior a da pele preta.

Com relação ao conteúdo de hidroxiprolina, aminoácido que caracteriza o colágeno tipo I conferindo estabilidade de integridade estrutural à molécula, também observamos maior concentração nas peles dos animais com fenótipo de coloração preta (3,55 vs. 3,17 g/100 g de amostra), este resultado vem atrelado ao maior conteúdo de colágeno nas peles desses peixes, contrariando os achados de Reátegui-Pinedo et al. (2022) que não observaram diferenças significativas no conteúdo de hidroxiprolina nas peles de tilápias de diferentes linhagens incluindo a variedade vermelha.

O colágeno tipo 1 é composto por dois tipos de peptídeos ( $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ ) que se dobram em uma hélice tripla na proporção de 2 de  $\alpha 1$  e 1 de  $\alpha 2$ . A taxa de tradução e dobramento dos peptídeos de colágeno devem ocorrer de maneira rigorosa para evitar o desequilíbrio da estrutura e a síntese prejudicial de homotrímeros  $\alpha 1$ . A helicase DHX9 e a vimentin são proteínas que atuam em processos relacionados a alterações estruturais do RNA, ligando-se diretamente ao elemento pós-traducional promovendo seu desenrolamento, aumentando a eficiência da tradução (Stefanovic, 2013).

Observamos maior expressão das subunidades do colágeno tipo 1 nas peles das tilápias da variedade vermelha. Entretanto, com relação aos genes das proteínas que regulam a tradução e o dobramento dos peptídeos de colágeno, houve maior expressão nas tilápias com fenótipo de pele preta. Isso indica que embora os peixes de pele preta tenham menor expressão gênica das subunidades do colágeno tipo 1 o processo de síntese do colágeno nestes animais pode estar ocorrendo de maneira mais eficiente, uma vez que os genes das proteínas essenciais para a tradução e estabilidade do mRNA do colágeno estão sendo mais expressas na pele desses indivíduos.

No presente estudo os fenótipos de cor preta ou vermelha da pele da tilápia do Nilo GIFT não afetaram nenhuma das características biométricas avaliadas, no entanto as variedades demonstraram diferenças significativas nos parâmetros relacionados à qualidade da carne. Com relação aos parâmetros de qualidade da pele, os peixes da variedade preta apresentam couro mais resistente que os animais de pele vermelha. Houve diferença significativa também em relação ao rendimento de colágeno, expressão gênica das subunidades do colágeno tipo 1

e dos cofatores, indicando uma maior eficiência na síntese de colágeno tipo 1 na pele dos peixes da variedade preta.

## 6. CONCLUSÃO

Neste estudo, os fenótipos de cor da pele preta ou vermelha da tilápia do Nilo GIFT não afetaram qualquer uma das características biométricas avaliadas; no entanto, as variedades apresentaram resultados significativos diferenças nos parâmetros relacionados à qualidade da carne e textura da pele. Em relação ao filé, animais da variedade vermelha apresentaram maior valor de pH, menor valor de b\* (indicando menos amarelecimento), menor valor de luminosidade e menor perda de água durante o descongelamento e culinária em comparação com a tilápia da variedade preta. Em relação aos parâmetros de qualidade da pele, peixes com pele preta tendem a ter pele mais dura do que aqueles com pele vermelha. Também observou-se uma diferença significativa no rendimento de colágeno, expressão gênica de subunidades de colágeno tipo I e fatores, indicando maior eficiência na síntese de colágeno tipo I na pele de peixes da variedade preta.

## 7. REFERÊNCIAS

- ALVES, A. P. N. N., VERDE, M. E. Q. L., FERREIRA-JUNIOR, A. E. C., SILVA, P. G. B., FEITOSA, V. P., LIMA-JUNIOR, E. M., MIRANDA, M. J. B., FILHO M. O. M. (2015) Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo. *Rev Bras Queimaduras* **14**(3), 203-10.
- ALVES, A. P. N. N., LIMA-JÚNIOR, E. M., PICCOLO, N. S., MIRANDA, M. J. B., VERDE, M. E. Q. L., FERREIRA-JUNIOR, A. E. C., SILVA, P. G. B., FEITOSA, V. P., BANDEIRA, T. J. P. G., MATHOR, M. B., MORAES, M. O. (2018) Study of tensiometric properties, microbiological and collagen content in Nile tilapia skin submitted to different sterilization methods. *Cell and Tissue Banking* **19**, 373–382.
- ABDEL-LATIF, H. M. R., DAWOD, M. A. O., MENANTEAU-LEDOUBLE, S., EL-MATBOULI, M. (2020) The nature and consequences of co-infections in tilapia: A review. *J Fish Dis.* **00**, 1–14.
- B.K. Behera, P.K. Pradhan, T.R. Swaminathan, N. Sood, Prasenjit Paria, Abhishek Das, D.K. Verma, Rajkumar, M.K. Yadav, A.K. Dev, P.K. Parida, B.K. Das, K.K. Lal, J.K. Jena. (2017) Emergence of Tilapia Lake Virus associated with mortalities of farmed Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) in India. *Aquaculture* (**17**) 31636-8.
- BALDISSERA, M. D., SOUZA, C. F., ZEPPENFELD, C. C., VELHO, M. C., KLEIN, B., ABBAD, L. B., OURIQUE, A. F., WAGNES, R., SILVA, A. S., BALDISSEROTTO, B. (2020) Dietary supplementation with nerolidol nanospheres improves growth, antioxidant status and fillet fatty acid profiles in Nile tilapia: Benefits of nanotechnology for fish health and meat quality. *Aquaculture* **516**, 734635.
- De Paiva Soares, K. M., & Gonçalves, A. A. (2012). Aplicação do método do índice de qualidade (MIQ) para o estudo da vida útil de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sem pele, armazenados em gelo. *Semina: Ciências Agrárias*, *33*(6), 2289-2300.
- GARCIA, A. L. S., OLIVERIA, C. A. L., KARIM, H. M., SARY, C., TODESCO, H., RIBEIRO, R, P. (2017) Genetic parameters for growth performance, fillet traits, and fat percentage of male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Appl Genetics* **58**, 527–533.
- JANSEN, M. D., DONG, H. T., MOHAN, C. V. (2019) Tilapia lake virus: a threat to the global tilapia industry? *Reviews in Aquaculture* **11**, 725–739.
- KAYAN, Q., BOONTAN, I., JATURSSITHA, S., WICKE, M., KREUZER, M. (2015) Effect of Slaughter Weight on Meat Quality of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Agriculture and Agricultural Science Procedia* **5**, 159 – 163.
- LIMA-JUNIOR, E. M. et al. Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. *Revista brasileira de queimaduras, Limeira*, v. 16, n. 1, p.10-7, 2017.

- LI, J., WANG, M., QIAO, Y., TIAN, Y., LIU, J., QIN, S., WU, W. (2018) Extraction and characterization of type I collagen from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its potential application in biomedical scaffold material for tissue engineering. *Process Biochemistry* **74**, 156-163.
- LI, B. J., ZHU, Z. X., GU, Z. H., LIN, H. H., XIA, J. H. QTL Mapping for Red Blotches in Malaysia Red Tilapia (*Oreochromis* spp.) (2019) *Marine Biotechnology*. **21**, 384–395.
- LAGO, A. A., REIS-NETO, R. V., REZENDE, T. T., RIBEIRO, M. C. S., FREITAS, R. T. F., HILSDORF, A. W. S. Quantitative analysis of black blotching in a crossbred red tilapia and its effects on performance traits via a path analysis methodology (2019) *Journal of Applied Genetics* **60**, 393–400.
- LAU, C. S., HASSANBHAI, A., WEN, F., WANG, D., CHANCHAREONSOOK, N., GOH, B. T., YU, NA., TEOH, S. H. (2019) Evaluation of decellularized tilapia skin as a tissue engineering scaffold. *J Tissue Eng Regen Med*. **13**, 1779–1791.
- LV, H. B., MA, Y. Y., HU, C. T., LIN, Q. Y., YUE, J., CHEN, L. Q., ZHANG, M. L., DU, Z. Y., QIAO, F. (2020) The individual and combined effects of hypoxia and high-fat diet feeding on nutrient composition and flesh quality in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chemistry* **341**, 128479.
- MEI, F., LIU, J., WU, J., DUAN, Z., CHEN, M., MENG, K., CHEN, S., SHEN, X., XIA, G., ZHAO, M. (2020) Collagen Peptides Isolated from *Salmo salar* and *Tilapia nilotica* Skin Accelerate Wound Healing by Altering Cutaneous Microbiome Colonization via Upregulated NOD2 and BD14. *J. Agric. Food Chem.* **68**, 1621–1633.
- MORAIS, C. A. R. S., SANTANA, T. P., SANTOS, C. A., PASSETTI, R. A. C., MELO, J. F. B., MACEDO, F. A. F., VIEIRA, J. S. TEIXEIRA, A. J. C., DEL VESCO, A. P. (2020) Effect of slaughter weight on the quality of Nile tilapia fillets. *Aquaculture* **520**, 734941.
- RONG, H., ZHANG, Y., HAO, M., ZOU, W., YU, J., YU, C., SHI, Q., WEN, X. (2019) Effects of dietary hydroxyproline on collagen metabolism, proline 4-hydroxylase activity, and expression of related gene in swim bladder of juvenile *Nibeia diacanthus*. *Fish Physiol Biochem* **45**, 1779–1790.
- REN, Y. WU, H., CHI, Y., DENG, R., HE, Q. (2020) Structural characterization, erythrocyte protection, and antifatigue effect of antioxidant collagen peptides from tilapia (*Oreochromis nilotica* L.) skin. *Food & Function* **11**,
- RICHTER, B. L., SILVA, T. S. C., MICHELATO, M., MARINHO, M. T., GONÇALVES, G. S., FURUYA, W. M. (2020) Combination of lysine and histidine improves growth performance, expression of muscle growth-related genes and fillet quality of grow-out Nile tilapia. *Aquaculture Nutrition* **00**, 1–13.

REATEGUI-PINEDO, N., SALIRROSAS, D., SANCHEZ-TUESTA, L., QUINONES, C., JAUREGUI-ROSAS, S. R., BARRAZA, G., CABRERA, A., AYALA-JARA, C., MARTINEX, R. M., BABY, R. A., PRIETO, Z. A. (2022) Characterization of Collagen from Three Genetic Lines (Gray, Red and F1) of *Oreochromis niloticus* (Tilapia) Skin in Young and Old Adults. *Molecules*, **27**, 1123.

SONG, W. K., LIU, D., SUN, L. L., LI, B. F., HOU, H. (2019) Physicochemical and Biocompatibility Properties of Type I Collagen from the Skin of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) for Biomedical Applications. *Mar. Drugs* **17**, 137.

SURACHETPONG, W.; ROY, S. R. K.; NICHOLSON, P. (2020) Tilapia lake virus: The story so far. *Journal of fish diseases* **00**, 1-18.

SUN, L., LI, B., SONG, W., ZHANG, K., FAN, Y., HOU, H. Comprehensive assessment of Nile tilapia skin collagen sponges as hemostatic dressings (2020) *Materials Science & Engineering C* **109**, 110532.

SURACHETPONG, W., ROY, S. R. K., NICHOLSON, P. (2020) Tilapia lake virus: The story so far. *J Fish Dis.* **00**, 1–18.

TATTIYAPONG, P., DACHAVICHITLEAD, W., SURACHETPONG, W. (2017) Experimental infection of Tilapia Lake Virus (TiLV) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and red tilapia (*Oreochromis spp.*). *Veterinary Microbiology* **207**, 170–177.

Todesco, H., Campos, E. C., Ribeiro, R. P., de Araújo, F. C. T., Tsujii, K. M., Mantovani, L. S. C., ... & de Oliveira, C. A. L. (2022). Genetic parameters for productive traits and skin quality in Nile tilapia. *Aquaculture*, **560**, 738572.

VICENTE, I. S. T., ELIAS, F., FONSECA-ALVES, C. E. (2014) Prospects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production in Brazil. *Revista de Ciências Agrárias* **37(4)**, 392-398.

WANG, L., ZHU, W., DONG, Z., SONG, F., DONG, J., FU, J. (2018) Comparative microRNA-seq Analysis Depicts Candidate miRNAs Involved in Skin Color Differentiation in Red Tilapia. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 1209.

WANG, M., LU, M. (2015) Tilapia polyculture: a global review. *Aquaculture Research*, 1–12.  
PRABU, E., RAJAGOPALSAMY, C. B. T., AHILAN, B., JEEVAGAN, I. J. M. A., RENUHADEVI, M. (2019) Tilapia – An Excellent Candidate Species for World Aquaculture: A Review. *Annual Research & Review in Biology* **31(3)**, 1-14.

Wang, C., Lu, B., Li, T., Liang, G., Xu, M., Liu, X., ... & Wang, D. (2021). Nile tilapia: a model for studying teleost color patterns. *Journal of Heredity*, **112(5)**, 469-484.

YANEZ, J. M., JOSHI, R., YOSHIDA, G. M. (2020) Genomics to accelerate genetic improvement in tilapia. *Stichting International Foundation for Animal Genetics* **51**, 658 –674.

ZHU, W., WANG, L., DONG, Z., CHEN, X., SONG, F., LIU, N., YANG, H., FU, J. (2016) Comparative Transcriptome Analysis Identifies Candidate Genes Related to Skin Color Differentiation in Red Tilapia. *SCientific REPORTS* **6**, 31347.