

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 17/02/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Caracterização genética do padrão de
manchas no tambaqui (*Colossoma
macropomum*)**

Celma Gomes de Lemos
Zootecnista

Jaboticabal, São Paulo
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Caracterização genética do padrão de
manchas no tambaqui (*Colossoma
macropomum*)**

Celma Gomes de Lemos

Orientador: Dr. Diogo Teruo Hashimoto

Dissertação apresentada ao
programa de Pós-graduação em
Aquicultura, Centro de Aquicultura da
UNESP - CAUNESP, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre.

Jaboticabal, São Paulo
2023

L557c Lemos, Celma Gomes de
Caracterização genética do padrão de manchas no tambaqui
(*Colossoma macropomum*) / Celma Gomes de Lemos. --
Jaboticabal, 2023
60 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2023
Orientador: Diogo Teruo Hashimoto
Banca examinadora: Luciana Shiotsuki, Fabio Porto-Foresti
Bibliografia

1. Tambaqui. 2. Coloração. 3. Deep learning. 4. Seleção. I. Título.
II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3:636.082



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Caracterização genética do padrão de manchas no tambaqui
(*Colossoma macropomum*)

AUTORA: CELMA GOMES DE LEMOS

ORIENTADOR: DIOGO TERUO HASHIMOTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Aquicultura, pela
Comissão Examinadora:



Documento assinado digitalmente
DIOGO TERUO HASHIMOTO
Data: 13/03/2023 12:21:53-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. DIOGO TERUO HASHIMOTO (Participação Virtual)
Laboratório de Genética / Centro de Aquicultura da UNESP, CAUNESP, Jaboticabal-SP

Pesquisadora LUCIANA SHIOTSUKI (Participação Virtual)
. / Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas-TO

Prof. Dr. FABIO PORTO FORESTI (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / FC/Unesp,
Bauru-SP

Documento assinado digitalmente
FABIO PORTO FORESTI
Data: 20/03/2023 11:06:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 17 de fevereiro de 2023

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por todo o cuidado comigo e com as pessoas que amo, como também por todo o discernimento ao longo desse período.

Agradeço à minha mãe, meus irmãos e minha Avó, por entenderem minha ausência em diversos momentos e por todo o apoio sempre.

Agradeço ao meu orientador Diogo Hashimoto, por todo incentivo, apoio, compreensão e conhecimento compartilhado.

A todos que compõem o Laboratório de Genética em Aquicultura e Conservação- LAGEAC, Milena, Raquel, Rubens, Vito, John, Marcelo, Shisley, Carolina, Carol e Jairo, muito obrigada pelos cuidados comigo, pela ajuda em todos os momentos. Vocês foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

Agradeço também as minhas amigas Val e Cláudia, que mesmo de longe sempre se fizeram presentes em minha vida e sempre me apoiaram em minhas escolhas.

Agradeço a Daiane, Andressa e Marina, amigas que fiz aqui em Jaboticabal, obrigada pelas conversas e conselhos sempre.

Agradeço também ao Valdecir e Márcio, técnicos do CAUNESP por sempre estarem dispostos a ajudar e sempre de maneira descontraída fazerem as coletas serem mais leves.

Muito obrigada a todos vocês.

Apoio Financeiro

O presente trabalho foi desenvolvido com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Número do processo 131510/2021-5.

Resumo

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é o peixe neotropical mais produzido em água doce na aquicultura sul-americana, sendo uma espécie alvo para os programas de seleção genética. Apesar de pesquisas que contribuíram com o avanço de produção da espécie nos últimos anos, não há informações sobre parâmetros genéticos voltados a características de coloração e/ou padrão de manchas ventrais, e suas implicações no desempenho produtivo/genético da espécie. Como também não há estudos ligados a inteligência artificial que possam integrar características de coloração nos programas de seleção genética utilizando sistemas automatizados de visão computacional (CVS). O objetivo desse estudo foi analisar se o padrão de manchas ventrais pode ser inserido como critério de seleção em programas de melhoramento genético voltados ao tambaqui e desenvolver um CVS para automatização da predição dessa característica, utilizando uma máscara R-CNN com 18 camadas, a fim de reduzir custos computacionais e facilitar a incorporação da mesma em programas de seleção. Foram utilizadas duas populações de tambaquis pertencentes ao CAUNESP, uma para análise dos parâmetros genéticos (herdabilidade e correlações genéticas e fenotípicas) das manchas ventrais com características de crescimento e rendimento e a outra para desenvolvimento do CVS. As análises genéticas demonstraram que a área de mancha ventral da espécie é uma característica com herdabilidade moderada (0.16 ± 0.10), com correlações genéticas que variaram entre moderadas e altas, mas em sua maioria altas, sendo as maiores e menores correlações significativas entre a área de mancha e rendimento de costela (0.99 ± 0.06) e rendimento de lombo (0.46 ± 0.03), respectivamente. Todas as correlações fenotípicas variaram de baixas a moderadas, com valores negativos. A análise de correlação de Pearson das medições manuais e preditas, apresentou-se alta e positiva (0.92%), demonstrando que o CVS desenvolvido pode ser utilizado para fenotipagem em larga escala da característica. Os resultados indicaram que a área de manchas ventrais pode ser considerada como critério para os programas de seleção, e a abordagem *deep learning* validada pode ser utilizada para fenotipagem em larga escala da característica.

Palavras-chave: tambaqui, coloração, *deep learning*, seleção.

Abstract

The tambaqui (*Colossoma macropomum*) is the most produced neotropical fish in freshwater in South American aquaculture, being a target species for genetic selection programs. Despite research that has contributed to the advancement of production of the species in recent years, there is no information on genetic parameters focused on color characteristics and/or pattern of ventral spots, and their implications on the productive/genetic performance of the species. Also, there are no studies related to artificial intelligence that can integrate color traits into genetic selection programs using automated computer vision systems (CVS). The objective of this study was to analyze whether the pattern of ventral spots can be inserted as a selection criterion in genetic improvement programs aimed at tambaqui and to develop a CVS to automate the prediction of this characteristic, using an R-CNN mask with 18 layers, in order to reduce computational costs and facilitate its incorporation into selection programs. Two populations of tambaqui belonging to CAUNESP were used, one for the analysis of genetic parameters (heritability and genetic and phenotypic correlations) of ventral spots with growth and yield characteristics and the other for CVS development. The genetic analyzes demonstrated that the ventral spot area of the species is a trait with moderate heritability (0.16 ± 0.10), with genetic correlations that varied between moderate and high, but mostly high, with the highest and lowest significant correlations between the area of spot and rib yield (0.99 ± 0.06) and loin yield (0.46 ± 0.03), respectively. All phenotypic correlations ranged from low to moderate, with negative values. Pearson's correlation analysis of manual and predicted measurements was high and positive (0.92%), demonstrating that the developed CVS can be used for large-scale phenotyping of the trait. The results indicated that the area of ventral spots can be considered as a criterion for selection programs, and the validated deep learning approach can be used for large-scale phenotyping of the trait.

Keywords: tambaqui, coloring, *deep learning*, selection.

1. Introdução Geral

1.1. Aquicultura 4.0

No decorrer dos anos, ocorreram várias revoluções tecnológicas que vem facilitando a vida das pessoas, separando trabalho humano do que é realizado por máquinas. Os avanços tecnológicos iniciaram-se com o desenvolvimento do motor a vapor no século 18, que proporcionou o surgimento das primeiras indústrias que substituíram o trabalho artesanal, surgindo a revolução industrial (BLOEM *et al.*, 2014). Com a segunda revolução industrial ocorreu o desenvolvimento de indústrias químicas, elétricas, de aço e petróleo, como também avanços na comunicação e nos meios de transporte (FANTE *et al.*, 2021). Entre 1950 e 2010, com o marco da substituição gradual da mecânica análoga pela digital, uso de microcomputadores e a criação da internet, houve a terceira revolução (SCHWAB, 2017). Mais recentemente, a partir de 2011, iniciou-se a quarta revolução industrial ou “revolução 4.0”, que é centralizada no uso de tecnologias modernas, como a internet das coisas (IoT), nanotecnologia e inteligência artificial (IA), que unem conhecimentos digitais, biológicos e físicos oferecendo soluções customizadas (KOCH *et al.*, 2014) e criando sistemas inteligentes, que quando aplicados aos sistemas de produção, tem capacidade de resolução de problemas de forma autossuficiente.

A aquicultura, por também se tratar de um processo produtivo, segue a mesma nomenclatura, dando origem a “Aquicultura 4.0”, onde os dados são obtidos por equipamentos de monitoramento, armazenados em bancos de dados compartilhados, podendo ser acessados por computadores ou smartphones (BARTZ, 2021). Algo que viabiliza as aplicações tecnológicas na aquicultura é que os sistemas de produção de organismos aquáticos ocorrem principalmente em sistemas controlados ou semicontrolados, tornando as ferramentas tecnológicas muito importantes para planejar, manejar e controlar com eficiência os mesmos (MOREIRA e MOREIRA, 2017).

Apesar do aumento das contribuições da aquicultura para a produção global de organismos aquáticos, que desde o ano 2000 vem apresentando crescimento de 5,3% ao ano (FAO, 2020), ainda é necessário que soluções inovadoras sejam adotadas para solucionar problemas como: poluição da água, surtos de doenças, qualidade de alevinos e reprodutores, dentre outros

(FEARGHAL, 2019; MICHAEL, 2019). Essas inovações também podem contribuir com os desafios que são enfrentados por todos os setores de produção de alimentos, dentre eles, as mudanças climáticas, crescimento populacional e a concorrência crescente por recursos naturais (SIQUEIRA, 2018).

Mesmo a aquicultura 4.0 sendo uma realidade no cenário mundial, é notório que no Brasil ainda são limitados os estudos e tecnologias voltadas a esta área (FONSECA *et al.*, 2022). Sendo necessário que as empresas emergentes da aquicultura se concentrem no desenvolvimento de tecnologias que permitam impulsionar o setor, proporcionando diminuição nos custos de mão de obra, aumentando a produção e qualidade dos produtos ofertados, redução dos ciclos de produção, melhor desempenho dos animais e como consequência uma maior lucratividade dos sistemas e competitividade no mercado interno e externo (MARMENTINI *et al.*, 2022).

Para tanto, deve ser levado em consideração a velocidade com que a tecnologia vem se desenvolvendo e os avanços já disponíveis que vão desde o uso da Tecnologia da Informação (TI) nas áreas de Internet das Coisas (IoT), computação em nuvem (Cloud Computing) até a Inteligência Artificial (IA), e suas subcategorias: a *Machine Learning* (aprendizado de máquina), que utiliza algoritmos para fazer com que computadores realizem tarefas, aprendam com elas e sejam capazes de gerar soluções; e a *Deep Learning* (aprendizagem profunda), que faz uso de algoritmos mais complexos, baseando-se nas redes neurais, imitando o cérebro humano com maior fidelidade, possibilitando análises mais complexas e profundas. Tais tecnologias vêm fornecendo serviços de fácil acesso para uma ampla variedade de atividades, permitindo o desenvolvimento de dispositivos inteligentes habilitados em coletar e compartilhar informações, acelerando tarefas e automatizando atividades rotineiras (MATTERN e FLOERKEMEIER, 2010; ROUSE, 2020).

6.6 Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que a área de manchas ventrais do tambaqui é uma característica importante, podendo ser implementada como critério de seleção nos programas de melhoramento genético. Diante disso, apresentou-se um modelo de aprendizado profundo rápido para desenvolvimento do primeiro CVS para predição da característica, a fim de facilitar a incorporação da mesma de forma automatizada em programas de seleção.

6.7 Referências

- Araujo-Lima, C., & Goulding, M. (1997). *So fruitful a fish: Ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui*. Columbia University Press.
- Araus, J. L., Kefauver, S. C., Zaman-Allah, M., Olsen, M. S., & Cairns, J. E. (2018). Translating high-throughput phenotyping into genetic gain. *Trends in plant science*, 23(5), 451-466.
- Ariede, R. B., Freitas, M. V., Agudelo, J. F., Borges, C. H., Lira, L. V., Yoshida, G. M., ... & Hashimoto, D. T. (2020). Genetic (co) variation between resistance to *Aeromonas hydrophila* and growth in tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture*, 523, 735225.
- Backström, T., Heynen, M., Brännäs, E., Nilsson, J., & Magnhagen, C. (2015). Dominance and stress signalling of carotenoid pigmentation in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*): lateralization effects?. *Physiology & Behavior*, 138, 52-57.
- BEMVENUTI, M., & FISCHER, L. G. (2010). Peixes: morfologia e adaptações. *Cadernos de Ecologia Aquática*, 5(2), 31-54.
- Bentsen, H. B., Gjerde, B., Nguyen, N. H., Rye, M., Ponzoni, R. W., de Vera, M. S. P., ... & Eknath, A. E. (2012). Genetic improvement of farmed tilapias: Genetic parameters for body weight at harvest in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during five generations of testing in multiple environments. *Aquaculture*, 338, 56-65.
- Blonk, R. J. W., Komen, J., Tenghe, A., Kamstra, A., & Van Arendonk, J. A. M. (2010). Heritability of shape in common sole, *Solea solea*, estimated from image analysis data. *Aquaculture*, 307(1-2), 6-11.
- Cardoso, A. J. D. S., Oliveira, C. A. L. D., Campos, E. C., Ribeiro, R. P., Assis, G. J. D. F., & Silva, F. F. E. (2021). Estimation of genetic parameters for body areas in Nile tilapia measured by digital image analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 138(6), 731-738.
- Colihueque, N. (2010). Genetics of salmonid skin pigmentation: clues and prospects for improving the external appearance of farmed salmonids. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20, 71-86.
- Costa, D. C., Mattioli, C. C., Silva, W. S., Takata, R., Leme, F. O. P., Oliveira, A. L., & Luz, R. K. (2017). The effect of environmental colour on the growth,

- metabolism, physiology and skin pigmentation of the carnivorous freshwater catfish *Lophiosilurus alexandri*. *Journal of fish biology*, 90(3), 922-935.
- Ruiz-Gomez, M., Huntingford, F. A., Øverli, Ø., Thörnqvist, P. O., & Höglund, E. (2011). Response to environmental change in rainbow trout selected for divergent stress coping styles. *Physiology & behavior*, 102(3-4), 317-322.
- Ducrest, A. L., Keller, L., & Roulin, A. (2008). Pleiotropy in the melanocortin system, coloration and behavioural syndromes. *Trends in ecology & evolution*, 23(9), 502-510.
- Fernandes, A. F., Turra, E. M., de Alvarenga, É. R., Passafaro, T. L., Lopes, F. B., Alves, G. F., ... & Rosa, G. J. (2020). Deep Learning image segmentation for extraction of fish body measurements and prediction of body weight and carcass traits in Nile tilapia. *Computers and electronics in agriculture*, 170, 105274.
- Freitas, M. V., Lemos, C. G., Ariede, R. B., Agudelo, J. F., Neto, R. R., Borges, C. H., ... & Hashimoto, D. T. (2023). High-throughput phenotyping by deep learning to include body shape in the breeding program of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*, 562, 738847.
- Fu, G., & Yuna, Y. (2022). Phenotyping and phenomics in aquaculture breeding. *Aquaculture and Fisheries*, 7(2), 140-146.
- Galappaththi, E. K., Ichien, S. T., Hyman, A. A., Aubrac, C. J., & Ford, J. D. (2020). Climate change adaptation in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2160-2176.
- Gjedrem, T. (2010). Selection and breeding programs in aquaculture. Springer, 364 p., Norway.
- Gjedrem, T., & Robinson, N. (2014). Advances by selective breeding for aquatic species: a review. *Agricultural Sciences*, 5(12), 1152.
- He, W., Meng, T., He, X., & Ge, S. S. (2018). Unified iterative learning control for flexible structures with input constraints. *Automatica*, 96, 326-336.
- Johnston, C. E., & Eales, J. G. (1970). Influence of body size on silvering of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) at Parr–Smolt transformation. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 27(5), 983-987.
- Kause, A., Ritola, O., Paananen, T., Eskelinen, U., & Mäntysaari, E. (2003). Big and beautiful? Quantitative genetic parameters for appearance of large rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 62(3), 610-622.

- Kause, A., Ritola, O., & Paananen, T. (2004). Breeding for improved appearance of large rainbow trout in two production environments. *Aquaculture Research*, 35(10), 924-930.
- Kittilsen, S., Schjolden, J., Beitnes-Johansen, I., Shaw, J. C., Pottinger, T. G., Sørensen, C., ... & Øverli, Ø. (2009). Melanin-based skin spots reflect stress responsiveness in salmonid fish. *Hormones and behavior*, 56(3), 292-298.
- Kittilsen, S., Johansen, I. B., Braastad, B. O., & Øverli, Ø. (2012). Pigments, parasites and personality: towards a unifying role for steroid hormones?. *PloS one*, 7(4), e34281.
- Mat Nawang, S. U. S., Ching, F. F., & Senoo, S. (2019). Comparison on growth performance, body coloration changes and stress response of juvenile river catfish, *Pangasius hypophthalmus* reared in different tank background colour. *Aquaculture Research*, 50(9), 2591-2599.
- Matias, V. D. F. (2011). *Efeito da intensidade luminosa na coloração do peixe-palhaço Clarkii (Amphiprion clarkii)* (Doctoral dissertation, Instituto Politecnico de Leiria (Portugal)).
- Meng, L., Hirayama, T., & Oyanagi, S. (2018). Underwater-drone with panoramic camera for automatic fish recognition based on deep learning. *Ieee Access*, 6, 17880-17886.
- Misztal, I., Tsuruta, S., Lourenco, D. A. L., Masuda, Y., Aguilar, I., Legarra, A., & Vitezica, Z. (2018). Manual for BLUPF90 family of programs, University of Georgia.
- Naddaf-Sh, M. M., Myler, H., & Zargarzadeh, H. (2018). Design and implementation of an assistive real-time red lionfish detection system for AUV/ROVs. *Complexity*, 2018, 1-10.
- Omasaki, S. K., Charo-Karisa, H., Kahi, A. K., & Komen, H. (2016). Genotype by environment interaction for harvest weight, growth rate and shape between monosex and mixed sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 458, 75-81.
- Qin, H., Li, X., Liang, J., Peng, Y., & Zhang, C. (2016). DeepFish: Accurate underwater live fish recognition with a deep architecture. *Neurocomputing*, 187, 49-58.
- Ren, Y., Zhu, C., & Xiao, S. (2018). Small object detection in optical remote sensing images via modified faster R-CNN. *Applied Sciences*, 8(5), 813.

- Rodgers, J. D., Ewing, R. D., & Hall, J. D. (1987). Physiological changes during seaward migration of wild juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44(2), 452-457.
- Rodríguez, F. H., Cáceres, G., Lhorente, J. P., Newman, S., Banger, R., Tadich, T., ... & Yáñez, J. M. (2019). Genetic (co) variation in skin pigmentation patterns and growth in rainbow trout. *animal*, 13(4), 675-682.
- Saberioon, M., & Císař, P. (2018). Automated within tank fish mass estimation using infrared reflection system. *Computers and electronics in agriculture*, 150, 484-492.
- Seki, S., Kohda, M., & Hori, M. (2000). Asymmetry of mouth morph of a freshwater goby, *Rhinogobius flumineus*. *Zoological Science*, 17(9), 1321-1325.
- Takeuchi, Y., Hori, M., Myint, O., & Kohda, M. (2010). Lateral bias of agonistic responses to mirror images and morphological asymmetry in the Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Behavioural brain research*, 208(1), 106-111.
- Taud, S., & Palacios, S. (2003). La acuicultura en Chile. TechnoPress y Salmon Chile. *Santiago*.
- Ventura, R. V., e Silva, F. F., Yáñez, J. M., & Brito, L. F. (2020). Opportunities and challenges of phenomics applied to livestock and aquaculture breeding in South America. *Animal Frontiers: the Review Magazine of Animal Agriculture*, 10(2), 45.
- Woynárovich, A., & Van Anrooy, R. (2019). Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, (624), 1-121.
- Yang, W., Feng, H., Zhang, X., Zhang, J., Doonan, J. H., Batchelor, W. D., ... & Yan, J. (2020). Crop phenomics and high-throughput phenotyping: past decades, current challenges, and future perspectives. *Molecular Plant*, 13(2), 187-214.
- Yang, X., Zhang, S., Liu, J., Gao, Q., Dong, S., & Zhou, C. (2021). Deep learning for smart fish farming: applications, opportunities and challenges. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 66-90.
- Yasugi, M., & Hori, M. (2011). Predominance of cross-predation between lateral morphs in a largemouth bass and a freshwater goby. *Zoological*

science, 28(12), 869-874.

Yue, G. H. (2014). Recent advances of genome mapping and marker-assisted selection in aquaculture. *Fish and fisheries*, 15(3), 376-396.