

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO DO MÚSCULO *PECTORALIS* DE
FRANGOS DE CORTE ACOMETIDOS COM *WHITE STRIPING***

TAMARA ZINN FERREIRA

PORTO ALEGRE

2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO DO MÚSCULO *PECTORALIS* DE
FRANGOS DE CORTE ACOMETIDOS COM *WHITE STRIPING***

Autora: Tamara Zinn Ferreira

**Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de Inspeção de Produtos
de Origem Animal e Tecnologia.**

Orientador: Profa. Dra. Liris Kindlein

PORTO ALEGRE

2014

CIP - Catalogação na Publicação

Ferreira, Tamara Zinn

Estudo histomorfológico do músculo pectoralis de frangos de corte acometidos com white striping / Tamara Zinn Ferreira. -- 2014.

77 f.

Orientadora: Liris Kindlein.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. frangos de corte. 2. miopatia. 3. histopatologia. 4. morfometria. I. Kindlein, Liris, orient. II. Título.

TAMARA ZINN FERREIRA

**ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO DO MÚSCULO *PECTORALIS* DE
FRANGOS DE CORTE ACOMETIDOS COM *WHITE STRIPING***

Aprovado em: 27 de fevereiro de 2014

APROVADO POR:

Prof. Dr. Liris Kindlein

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Hamilton Luiz de Souza Moraes

Membro da Comissão

Prof. Dr. Luiz Cesar Bello Fallavena

Membro da Comissão

Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento

Membro da Comissão

Aos meus pais Júlio e Suzete...
DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente, aos meus pais Júlio e Suzete os quais sem eles eu nada seria. Espero retribuir com a mesma dedicação. Aos meus irmãos Julio César, Carolina e Vanessa, por sempre me apoiarem. Amo vocês demais! Vocês são a base de tudo!

Aos meus tios e primos pelo apoio incondicional.

A Deus por sempre me iluminar.

A Prof. Liris Kindlein pela amizade, confiança e companheirismo. Muito obrigada! Teremos muito trabalho pela frente!

Ao Prof. Guiomar pelo incentivo nesta caminhada.

Ao Prof. David Driemeier por todo o suporte na realização das análises e a todos do Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, principalmente a Bárbara, Fabi e Renata.

Aos amigos especiais que o Cepetec me trouxe Ana F., Cássia, Victória, Patrícia e Maurício. Adoro vocês demais! Meu muitíssimo obrigado também para a Laura, Camila e Ana C. que tanto me ajudaram na realização deste trabalho.

As queridas amigas Bruna, Christiane, Daiana, Daniela, Fernanda, Larissa, Laura, Mariana, Nadine, Paula K., Paula S., Renata e Viviane. Vocês são sensacionais!

Ao Mauricio pelo amor, companheirismo e paciência. Teu apoio é fundamental! Te amo!

A CAPES pela bolsa de estudos.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

A seleção de linhagens de frangos de corte com altas taxas de crescimento e aumento de rendimento muscular vem contribuindo para o surgimento de perdas significativas na indústria avícola em decorrência de modificações anatômicas. Dentre estas alterações, destaca-se uma miopatia que se caracteriza pelo aparecimento de graus de estrias esbranquiçadas no músculo *Pectoralis major*, as quais seguem a direção da fibra muscular, referida como *white striping*. A etiologia da *white striping* ainda é desconhecida, mas avaliações histológicas demonstraram que esta alteração é usualmente associada à degeneração muscular e alterações miopáticas. Problemas de qualidade da carne podem ser resultantes de mudanças estruturais, morfométricas e bioquímicas do tecido muscular, com consequente alteração nas fibras musculares. Para tanto este trabalho, conduzido através de dois experimentos, teve como objetivos caracterizar histopatologicamente a miopatia *white striping* em diferentes graus de severidade (NORM, MOD, SEV) no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte e as características morfométricas das fibras musculares, bem como avaliar a incidência desta condição em frangos de corte de linhagem Cobb abatidos aos 42 dias de idade. No primeiro experimento, a avaliação histopatológica demonstrou uma miopatia degenerativa nos graus de severidade classificados como MOD e SEV, entretanto as amostras de grau MOD apresentaram necrose ou necrose multifocal moderada, enquanto as de grau SEV apresentaram necrose difusa e acentuada, sugerindo avanço do processo degenerativo. Não foi observada proliferação de tecido conjuntivo em nenhum dos graus de *white striping* analisados, caracterizando este caso como de ocorrência aguda. No segundo experimento, foram verificados menor área de tecido muscular, menor diâmetro e maior densidade de fibras nos músculos *Pectoralis major* de frangos acometidos com *white striping* (MOD e SEV) quando comparado aos peitos sem esta condição (NORM). Conforme os resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que as fibras com os graus MOD e SEV de *white striping* demonstraram o início de um processo de regeneração muscular, de característica hiperplásica.

Palavras-chave: estereologia, fibra muscular, lesão muscular, miopatia, tecido conjuntivo.

ABSTRACT

Genetic selection of broiler chickens for growth rate and increase of muscle yield has contributed to the appearance of significant losses in the poultry industry caused by anatomical changes. Among these alterations stands out a myopathy characterized by the occurrence of white striations on Pectoralis major muscle, seen parallel to the direction of muscle fibers, referred as white striping. The etiology of white striping is still unknown but histological changes demonstrated that this alteration is usually associated with muscle degeneration and myopathic changes. Meat quality problems may result from structural, morphological and biochemical changes of muscle tissue with consequent alterations in muscle fibers. To this study, two experiments were conducted, and aimed to histopathologically characterize the myopathy white striping at varying degrees of severity (NORM, MOD, SEV) on broilers Pectoralis major muscle and the morphometric muscle fibers characteristics as well as evaluate the incidence of this condition on Cobb 500 broiler breast fillets slaughtered at 42 days of age. The histopathological evaluation on experiment 1 showed a degenerative myopathy in both MOD and SEV degrees, however the samples classified as MOD showed microscopically necrosis or necrosis multifocal moderate, while the classified as SEV showed necrosis diffuse and strong suggesting an advancement in the degenerative process. The proliferation of connective tissue was not observed for either of the degrees of white striping investigated, characterizing this profile as an acute occurrence. In experiment 2, small area and diameter and higher densities of muscle fiber were observed in broilers Pectoralis major muscle with white striping (MOD and SEV) compared to NORM. According to the results, we can conclude that muscle fibers with white striping showed the beginning of a muscle regeneration process with hyperplastic characteristics.

Key-words: stereology, muscle fiber, muscle injury, miopathy, connective tissue.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Localização anatômica do músculo <i>Pectoralis major</i>	20
Figura 2 -	Fotomicrografia de corte histológico transversal (visualização do diâmetro das fibras) do músculo <i>Pectoralis major</i> de um frango de corte com 21 dias de idade.....	22
Figura 3 -	Classificação de <i>white striping</i> no músculo <i>Pectoralis major</i> de frangos de corte. A) normal (NORM); B) moderado (MOD), e C) severo (SEV).....	30
Figura 4 -	Análise morfométrica de corte transversal de tecido muscular do peito de frango de corte utilizando-se o software Image Pro-Plus® demonstrando a área mensurada.....	32
Figura 5 -	Representação esquemática do sistema-teste multifuncional M42 sobreposto a fotomicrografia das fibras musculares.....	33

LISTA DE ILUSTRAÇÕES ARTIGO 1

Figura 1 -	Músculo do peito (<i>Pectoralis major</i>) de frango de corte de consistência firme e difusa, exibindo estrias musculares de <i>white striping</i> classificadas, macroscopicamente, como de grau severo (SEV).....	38
Figura 2a -	Miopatia degenerativa (<i>white striping</i>) em frango de corte classificada como de grau severo. Secção longitudinal do músculo da porção lateral do peito: necrose de miofibra (asterisco) difusa e acentuada. HE. Obj. 20x.....	40
Figura 2b -	Figura 2b - Miopatia degenerativa (<i>white striping</i>) em frango de corte classificada como de grau moderado. Secção longitudinal do músculo da porção lateral do peito: necrose de miofibra (asterisco) multifocal moderado. Em ambos os graus (MOD e SEV) com infiltrado de macrófagos, poucos heterófilos e fagocitose de restos de miofibras (seta). HE. Obj. 20x.....	40
Figura 3a -	Figura 3a – Miopatia degenerativa (<i>white striping</i>) em frango de corte classificada como de grau severo. Secção transversal do músculo da porção lateral do peito: necrose de miofibras (asterisco) difusa e acentuada, com infiltrado de macrófagos, poucos heterófilos e fagocitose de restos de miofibras (seta). HE. Obj. 20x.....	41
Figura 3b -	Miopatia degenerativa (<i>white striping</i>) em frango de corte classificada como de grau moderado. Secção transversal do músculo da porção lateral do peito: necrose de miofibras (asterisco) moderada multifocal, com infiltrado de macrófagos, poucos heterófilos e fagocitose de restos de miofibras (seta). HE. Obj. 20x.....	41
Figura 3c -	Miopatia degenerativa (<i>white striping</i>) em frango de corte classificada como de grau moderado. Secção transversal do músculo na porção lateral do peito com somente necrose das	

	miofibras (asterisco). HE. Obj. 20x.....	41
Figura 4 -	Miopatia degenerativa (<i>white striping</i>) em frango de corte da linhagem Cobb 500 com 42 dias de idade. Secção transversal do músculo da porção lateral do peito sem proliferação de tecido conjuntivo. Tricômico de Masson.....	41

LISTA DE ILUSTRAÇÕES ARTIGO 2

- Figura 1 - Músculos de peitos (*Pectoralis major*) de frangos de corte classificados, macroscopicamente, com grau de severidade de *white striping*: normal (A) e severo (B)..... 49
- Figura 2 - Fotomicrografia de corte histológico do músculo *Pectoralis major* de frango de corte abatido aos 42 dias de idade sem estriações esbranquiçadas (grau normal)..... 50

LISTA DE TABELAS ARTIGO 2

Tabela 1 -	Teste F e seus valores de P, indicando o efeito do tratamento sobre as variáveis morfológicas estudadas considerando o modelo linear.....	51
Tabela 2 -	Peso, diâmetro mínimo e densidade de volume da fibra muscular nos diferentes graus de <i>white striping</i> (WS).....	52
Tabela 3 -	Matriz de correlação entre as variáveis densidade de volume parcial (Vv), área total, densidade e diâmetro mínimo de fibras musculares.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
FOG	Fibra muscular de contração rápida classificada como Oxidativa-Glicolítica
FG	Fibra muscular de contração rápida classificada como Glicolítica
HE	Hematoxilina-Eosina
NORM	Normal
MOD	Moderado
SEV	Severo
SISBI	Sistema Brasileiro de Inspeção
SO	Fibra muscular de contração lenta classificada como Oxidativa
UBABEF	União Brasileira de Avicultura

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
	2.1 Programas de melhoramento do rendimento genético em frangos de corte.....	18
	2.2 Descrição anatomofisiológica do músculo <i>Pectoralis major</i> de frangos de corte.....	20
	2.3 Alterações anatômicas em frangos de corte.....	24
	2.3.1 <i>White striping</i>	25
3	OBJETIVOS	28
	3.1 Objetivo geral.....	28
	3.2 Objetivos específicos.....	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
	4.1 Amostragem.....	29
	4.1.1 Experimento 1.....	29
	4.1.2 Experimento 2.....	29
	4.2 Avaliação macroscópica do músculo <i>Pectoralis major</i>	30
	4.3 Análise histológica do músculo <i>Pectoralis major</i>	30
	4.3.1 Análises morfométricas: morfometria quantitativa.....	31
	4.4 Análises estatísticas.....	33
5	ARTIGO CIENTÍFICO 1: Histopatologia do músculo <i>Pectoralis major</i> de frangos de corte acometidos com <i>white striping</i>	35
6	ARTIGO CIENTÍFICO 2: Estudo histomorfométrico do músculo peitoral de frangos de corte acometidos com diferentes graus de <i>white striping</i>	46
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
	REFERÊNCIAS	59
	ANEXO A - Cópia da instrução aos autores do periódico <i>Journal of Applied Poultry Research</i>	67

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frangos de corte e o maior exportador de carne de frango, tendo atingido uma produção de 12,645 milhões de toneladas no ano de 2012. Nesse contexto, a região sul é responsável por mais de 73% das exportações de carne de frango do Brasil (UBABEF, 2013). Além disso, o consumo *per capita* nacional desta carne apresentou um aumento de 33,14% entre 2002 (33,8 kg/hab/ano) e 2012 (45 kg/hab/ano).

As razões para este aumento da produção, exportação e consumo da carne são atribuídas à imagem de um produto saudável, sendo a carne considerada magra e rica em proteína, ao aumento da disponibilidade de produtos processados e ao preço relativamente baixo comparado à carne de outras espécies (PETRACCI, BIANCHI e CAVANI, 2009).

Seguindo este crescimento a indústria avícola objetiva, através do aprimoramento na seleção genética de linhagens de frangos de corte, produzir animais com maiores taxas de crescimento muscular (VELLEMAN *et al.*, 2003). Sendo assim, em virtude do tipo de criação, em escala industrial, o melhoramento genético possibilitou o desenvolvimento de carcaças mais magras, mais pesadas, de baixa deposição de gordura e alto rendimento muscular, principalmente nos cortes nobres como as coxas e o peito (NOGUEIRA, 2005).

Com este aumento das taxas de crescimento e do tamanho dos músculos, a ocorrência de alterações anatômicas em frangos de corte, em especial óssea e muscular, vem adquirindo importância cada vez maior, contribuindo para o surgimento de perdas significativas na cadeia avícola.

Dentre as alterações musculares presentes na carne de frango, destaca-se uma miopatia que se caracteriza pelo aparecimento de vários graus de estrias esbranquiçadas no músculo *Pectoralis major*, as quais seguem a direção da fibra muscular, sendo chamada de *white striping*. Observada principalmente no músculo peitoral *in natura*, estas estriações também podem ser visualizadas nos músculos *Pectoralis minor* e *iliotibialis* (KUTTAPPAN *et al.*, 2012a; 2013a).

A etiologia da *white striping* ainda é desconhecida, porém sugere-se estar relacionada com o aumento da taxa de ganho de peso e com a idade da ave. Estudos

recentes encontraram que a severidade desta condição aumenta em frangos abatidos com oito semanas de vida quando comparados a seis semanas (BAUERMEISTER *et al.*, 2009). Também tem sido demonstrado que, devido ao maior peso corporal, machos possuem maior incidência desta miopatia, apresentando-a de uma forma mais severa (KUTTAPPAN *et al.*, 2009).

No Brasil, esta condição tem sido aparente em matadouros-frigoríficos, aumentando sua frequência à medida que as aves processadas aumentam de peso corpóreo. Ferreira e Kindlein (2013) verificaram relação positiva do peso do filé *versus* a incidência e severidade de *white striping*. Os autores analisaram peitos de frango com peso inferior e superior a 310g e concluíram que, das amostras com maior peso, 12,65% apresentaram estriações de grau severo e 82,27% de grau moderado, em contrapartida aos cortes de peso abaixo de 310g, que apresentaram incidência dos graus severo e moderado de 3,08 e 84,62%, respectivamente.

Até o presente momento poucos são os relatos de alterações nos atributos de qualidade de carne que sejam afetados pelo aparecimento destas estriações no músculo peitoral das aves, porém Kuttappan *et al.* (2012a) verificaram que a intenção de compra pelo consumidor decresceu significativamente (50%) com o aparecimento de qualquer grau de *white striping*, sendo a recusa atribuída a aparência gordurosa do produto.

Seguindo a tendência de maior peso ao abate com conseqüente aumento do rendimento muscular da carne de peito, esta alteração tende a se tornar cada vez mais frequente na linha de produção de frangos de corte, sendo de suma importância o maior aprofundamento sobre esta condição e, conforme Dubowitz *et al.* (2013), a avaliação das alterações nas fibras musculares é fundamental para a interpretação de qualquer base patológica, como esta miopatia.

Para tanto, este trabalho teve como objetivos caracterizar histopatologicamente a miopatia *white striping* em diferentes graus de severidade no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte e as características morfométricas das fibras musculares, bem como avaliar a incidência desta condição em frangos de corte da linhagem Cobb aos 42 dias de idade.

Sendo assim, o presente documento está dividido em 3 sessões:

Na sessão I, apresenta-se uma revisão bibliográfica sobre o assunto.

Na sessão II apresenta-se um artigo científico em que se analisou histopatologicamente o músculo *Pectoralis major* de frangos de corte acometidos com *white striping*.

Na sessão III, apresenta-se um artigo científico com foco nas análises histológicas quantitativas das fibras do músculo *Pectoralis major* de frangos de corte da linhagem Cobb com 42 dias de idade acometidos com diferentes graus de *white striping*.

E, por fim, apresentam-se as considerações finais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Programas de melhoramento genético em frangos de corte

Na avicultura, os ciclos de criação são muito curtos em comparação com outras espécies de produção de carne, o que permitiu que a genética evoluísse rapidamente nas últimas décadas (HAVENSTEIN, FERKET e QURESHI, 2003).

Em 1930, um frango demorava 105 dias para atingir 1,5 kg, apresentando uma conversão alimentar de 3,5, esta tendo diminuído para 1,91 em 1957 e alcançando 1,62 em 2001 (HAVENSTEIN, FERKET e QURESHI, 2003). De acordo com Mitchell (1999 apud MACRAE *et al.*, 2007), aos 42 dias de idade um frango de corte possui um peso médio de 2,2 kg, tendo consumido somente 1,82g de alimento para alcançar 1,00g de ganho de peso/dia.

Segundo Triches *et al.* (2004 apud VOILÀ e TRICHES, 2013), o aumento do consumo da carne de frango está associado a quatro fatores básicos: a) substituição das carnes vermelhas; b) melhor capacidade de coordenação da cadeia agroindustrial do frango, aliado ao baixo preço relativo às outras carnes; c) grande aceitação da carne de frango pela maioria da população, e d) crescentes ganhos de produtividade na indústria da carne de frango em relação as melhorias tecnológicas, além do constante desenvolvimento dos programas de seleção genética que objetivam o aumento do rendimento da carcaça destes animais.

A seleção genética de frangos de corte com características de produção desejáveis, incluindo incremento do rendimento muscular, em especial do músculo *Pectoralis major*, e redução da gordura abdominal tem sido extremamente bem sucedida (MACRAE *et al.*, 2007), produzindo linhagens com altas e rápidas taxas de crescimento muscular, aumentando o músculo peitoral e resultando em um aumento do número e diâmetro das fibras musculares (IWAMOTO, ONO e TAKAHARA, 1993; REMIGNON *et al.*, 1994, 1995; BURKE e HENRY, 1997; VERDIGLIONE e CASSANDRO, 2013).

Autores verificaram que este crescimento muscular difere em frangos de corte e aves poedeiras, sugerindo que, nos animais destinados a produção de carne, a taxa de síntese protéica nos músculos do peito é maior e a taxa de degradação protéica nos

músculos do peito e das pernas é menor, quando comparado às poedeiras. Assim, o peso corpóreo do frango de corte tende a ser duas a três vezes maior do que de uma ave poedeira da mesma idade, devido à maior deposição de proteína nas partes comestíveis da carcaça, principalmente no músculo peitoral (GONZALES e SARTORI, 2002).

Apesar da taxa de crescimento, da conversão alimentar e da quantidade de musculatura terem aumentado em razão dos programas de seleção para frangos de corte, a qualidade da carne foi alterada (DRANSFIELD e SOSNICKI, 1999), o que resultou na criação de condições que favoreçam a susceptibilidade às alterações metabólicas e a mudanças na estrutura celular do músculo esquelético, tanto morfológicas como bioquímicas.

Soike e Bergmann (1997) observaram que frangos de corte de linhagens genéticas com maior desenvolvimento de massa muscular na região do peito e maior velocidade de crescimento apresentaram redução na capacidade oxidativa da musculatura, apresentando quase 100% de fibras brancas (anaeróbicas, FG).

De acordo com Sosnick (1994), o aumento da massa muscular, associado às condições sedentárias das aves leva a uma significativa diminuição do gradiente de pressão arteriovenosa e a consequente diminuição do fluxo sanguíneo capilar, comprometendo o fornecimento de nutrientes bem como a purificação dos metabólicos produzidos pelas fibras musculares. Esta deficiência induz a distúrbios iônicos, como a regulação do cálcio necessário à contração muscular, tendo como consequência o aparecimento de processos inflamatórios, necróticos e miopatias.

Segundo diversos autores, a seleção genética resultou em um aumento na tendência de miopatias espontâneas ou geradas pelo estresse (lesão muscular) (SANTE *et al.*, 1991; LE BIHAN-DUVAL, MILLET e REMIGNON, 1999; MITCHELL, 1999 SANDERCOCK *et al.*, 2001; MACRAE *et al.*, 2007). Como consequência disto, por razões comerciais, os músculos da região do peito são os mais susceptíveis a apresentarem alterações histopatológicas (SOIKE e BERGMANN, 1998).

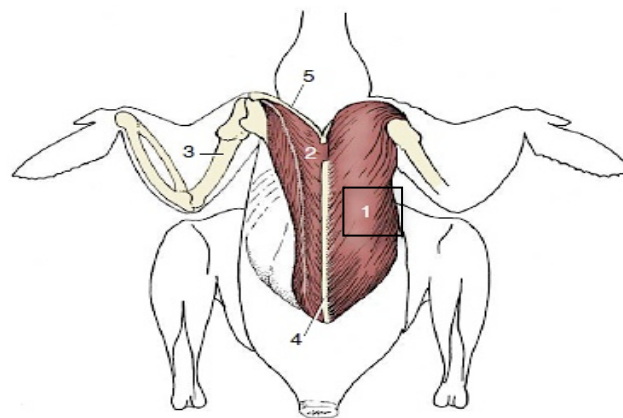
2.2 Descrição anatomofisiológica do músculo *Pectoralis major* de frangos de corte

O músculo peitoral das aves é composto pelos músculos *Pectoralis major* e *supracoracoideus*. O *Pectoralis major* é o principal contribuinte do aumento de rendimento muscular em frangos de corte, e a seleção para maiores rendimentos de peito possui diferentes respostas no *Pectoralis major* quando comparado ao *supracoracoideus* (ZAPATA *et al.*, 2012).

O *Pectoralis major* é o músculo mais volumoso do corpo da ave formando, em parte, a massa carnosa associada com o peito. É o maior músculo do voo, tendo a porção torácica, como principal função, tracionar a asa cranialmente e, ao mesmo tempo, baixar a borda de comando da asa inteira, além de representar o maior componente muscular responsável pela força do movimento de descida e, da potência do movimento rítmico do bater de asas (DYCE e WENSING, 2010). Ele tem origem na quilha do esterno e da clavícula, seguindo diretamente para a superfície ventral do tubérculo dorsal do úmero. Localiza-se dorsalmente ao rádio e seu curto tendão passa subcutâneamente sobre a superfície craniodorsal da articulação do carpo e termina na extremidade proximal do osso metacárpico (DYCE e WENSING, 2010).

Anatomicamente, este músculo é dividido em três porções: torácica, de maior massa muscular; propatagial, associada com o tensor propatagial; e abdominal representada como um feixe muscular cutâneo composto de dois feixes musculares (subcutâneo torácico e abdominal) (Figura 1) (VANDEN BERGE, 1975).

Figura 1 - Localização anatômica do músculo *Pectoralis major*



Fonte: Dyce e Wensing (2010)

1. *Pectoralis major*; 2. *Supracoracoideus*; 3. Úmero; 4. Esterno; 5. Clavícula

A iniciação e o crescimento muscular implicam, automaticamente em: (1) síntese das moléculas complexas de proteínas que são específicas para o tecido e a secreção de seus componentes necessários (aminoácidos); (2) alinhamento preciso das proteínas específicas no elemento estrutural peculiar do músculo (fibras), e (3) diferenciação subsequente e desenvolvimento das fibras de acordo com o tipo e função do músculo (LAWRIE, 2005).

Metabolicamente, existem dois tipos de músculos esqueléticos: o vermelho e o branco. O vermelho é constituído predominantemente por fibras oxidativas e o branco por fibras glicolíticas (PRATA e FUKUDA, 2001). Em razão das diferenças nas propriedades metabólicas e contráteis entre as fibras musculares, elas dividem-se, histoquimicamente, em fibras dos tipos I ou SO (metabolismo oxidativo e de contração lenta), IIA ou FOG (metabolismo oxidativo-glicolítico e de contração rápida) e IIB ou FG (metabolismo glicolítico e de contração rápida) (PETER *et al.*, 1972; BANKS, 1992).

Nas galinhas e frangos de corte, o músculo peitoral tem predominantemente FG e FOG e, histologicamente, apresenta-se com uma baixa densidade de capilares sanguíneos e mitocôndrias intracelulares. Já os músculos vermelhos da coxa e sobrecoxa são ricamente vascularizados e possuem um grande número de mitocôndrias e maior presença de fibras do tipo SO e FOG. Esta distribuição de fibras musculares em um determinado músculo, nas diferentes espécies animais e indivíduos, são adaptações funcionais aos seus diversos tipos de atividade (GONZALES e SARTORI, 2002).

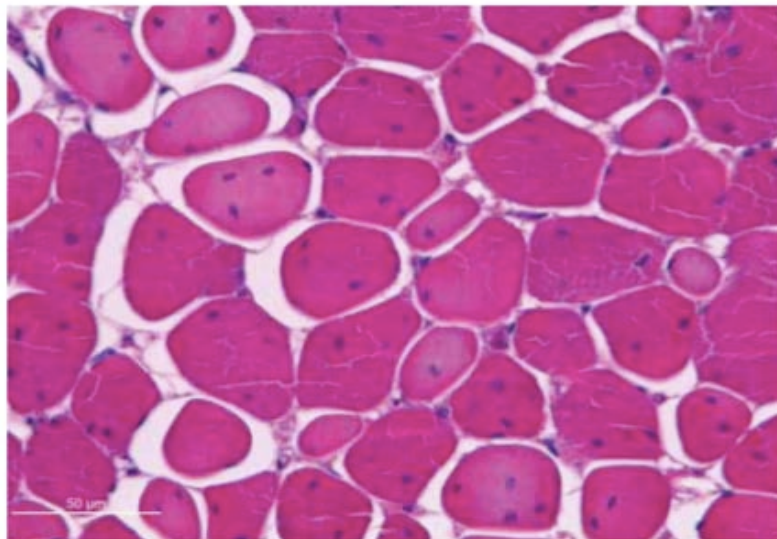
Madeira *et al.* (2006) concluíram que machos apresentam maior massa muscular e musculatura mais glicolítica que as fêmeas, e que a maior massa muscular das aves selecionadas para altas taxas de crescimento está relacionada ao aumento na área dos três tipos de fibras musculares (SO, FOG e FG). Remignon *et al.* (1994), estudando frangos de corte machos de diferentes idades e pesos vivos, concluíram que o músculo *Pectoralis major* é inteiramente composto por fibras glicolíticas do tipo IIB e, em duas linhagem selecionadas, nem a distribuição do tipo de fibra nem os três tipos de isoformas rápidas de miosina se diferenciaram.

Como a maioria dos músculos esqueléticos, o músculo peitoral maduro da ave é similar ao dos mamíferos, contendo os mesmos tipos de proteínas contráteis (miosina, actina e as suas proteínas associadas), arranjadas de tal modo que lhe confere uma

aparência estriada. Esta aparência das fibras musculares deve-se à disposição em série dos sarcômeros dentro das organelas especializadas para a contração, as miofibrilas (PRATA e FUKUDA, 2001).

Histologicamente, a fibra muscular esquelética caracteriza-se por ser uma célula alongada com uma extremidade ligeiramente afilada ou arredondada. A maioria das fibras musculares possui entre um (1) e 40 μm de comprimento e variam de 10 a 100 μm de diâmetro (Figura 2). Estas células são multinucleadas e estriadas, sendo os núcleos localizados na periferia da célula, exceto em peixes cuja localização é central (BANKS, 1992).

Figura 2 – Fotomicrografia de corte histológico transversal (visualização do diâmetro das fibras) do músculo *Pectoralis major* de um frango de corte com 21 dias de idade. HE. Obj. 40x.



Fonte: Quadros (2012)

Os mecanismos que regulam o número, tipo e tamanho das fibras musculares são fundamentais para o entendimento do desenvolvimento muscular e são definidos em dois períodos distintos: pré e pós-natal (GONZALES e SARTORI, 2002). Primeiro, na fase embrionária, estabelece-se o número de fibras musculares através de células precursoras que determinam a expressão de genes músculos-específicos, caracterizando uma situação de hiperplasia e, posteriormente, no período pós-eclosão, ocorre o desenvolvimento das fibras musculares caracterizando um processo celular chamado de

hipertrofia destas fibras, principalmente através do acréscimo de proteína e núcleos originados da proliferação e fusão de células satélites (CHIST e BRAND-SABERI, 2002). Esses núcleos adicionais são formados por mitose e pela fusão das células satélites. Conforme descrito por Kennedy *et al.* (1988), o mesmo processo ocorre em aves submetidas a esforço muscular onde, além da hipertrofia, foi possível verificar a formação de novas fibras no músculo *Anterior latíssimus dorsi*.

Tal fato foi confirmado por Remignon *et al.* (1994, 1995) que, ao estudar frangos de corte com diferentes taxas de crescimento (rápido e lento), demonstraram que os animais de crescimento rápido possuíam o músculo *Anterior latíssimus dorsi* com até 20% a mais de fibras, assim como um aumento do diâmetro destas fibras (área transversal) em comparação com os de crescimento mais lento.

Ainda que não haja crescimento considerável em número de fibras musculares após a eclosão, um aumento no conteúdo de DNA é observado no crescimento pós-eclosão devido à atividade das células satélite (MAURO, 1961). De acordo com Picard *et al.* (2010), este aumento de massa muscular no período pós-natal é atingido pela hipertrofia das fibras existentes em razão da fusão das células satélites com as fibras musculares. Sendo assim, a alteração nas taxas de atividade mitótica das células satélite tende a ser uma explicação para o aumento no número de núcleos da fibra muscular à medida que as aves crescem. Moss e Leblond (1971) concluíram que a atividade mitótica das células satélite responde por todos os núcleos incorporados em fibras musculares normais após o nascimento.

Pesquisas desenvolvidas por Soike e Bergmann (1998), Mills (2001), Scheuermann (2004b), Macrae *et al.* (2006), Felício *et al.* (2008) e Petracci *et al.* (2013b) observaram que, na seleção para linhagens de alto crescimento, as fibras musculares obtiveram aumentos no tamanho, diâmetro e comprimento, sendo esta diferença associada ao aumento no número de fibras gigantes, as quais possuem áreas de secção transversal três (3) a cinco (5) vezes maiores que as normais, embora isto possa ser resultado de uma contração severa (fibras hipercontráteis) (ABERLE e STEWART, 1983; REMIGNON *et al.*, 1994, 1995; GUERNEC *et al.*, 2003 *apud* BERRI *et al.*, 2007; DRANSFIELD e SOSNICKI, 1999; REMIGNON *et al.*, 2000).

Além do diâmetro, linhagens de rápido crescimento possuem maior densidade de fibras musculares quando comparadas às de crescimento lento (SCHEUERMANN *et al.*, 2004a; PETRACCI *et al.*, 2013a).

Conforme Macrae *et al.* (2006), o aumento do tamanho, diâmetro e densidade da fibra muscular em conjunto com o inadequado suprimento capilar podem induzir um estresse metabólico intermediário devido à grande distância para difusão do oxigênio, metabólitos e eliminação de resíduos, sendo estes fatos negativamente relacionados à qualidade da carne, atributo que, em conjunto com os componentes nutricionais, está entre as principais preocupações dos consumidores com relação às características da carne de frango (DRANSFIELD e SOSNICKI, 1999; DUCLOS, BERRI e LE BIHANDUVAL, 2007; ZHANG *et al.*, 2012).

Entretanto, as consequências desta hipertrofia da fibra muscular na qualidade da carne de frangos de corte ainda não recebe a devida atenção. Poucos estudos foram feitos com foco nas consequências de tais melhorias na composição da carcaça sobre as propriedades sensoriais e funcionais na carne para posterior processamento (BERRI *et al.*, 2007).

2.3 Alterações anatômicas em frangos de corte

Para a avicultura, as condenações de carcaças representam uma das maiores causas de prejuízo econômico, pois toneladas de carne são diariamente descartadas no processo de abate em decorrência de lesões anatômicas e tecnopatias (ZIMERMANN, 2008; FERREIRA, SESTERHENN e KINDLEIN, 2012). Em perus e frangos de corte, o aperfeiçoamento da *performance* produtiva tem desencadeado alguns efeitos negativos na miologia e tecido ósseo destes animais (DRANSFIELD e SOSNICKI, 1999; BESSI, 2006).

Gonzales e Sartori (2002) descreveram que alterações patológicas ocorrem principalmente nos músculos que apresentam um grande número de fibras FG, como é o caso do *Pectoralis major*, as quais sofrem um processo degenerativo. Este processo inicia com modulações de fibras FOG em FG, seguidas de alterações degenerativas e perda da função das fibras. Autores sugerem que as alterações quantitativas são mais relevantes para uma degeneração distrófica hereditária de frangos de corte do que as

alterações qualitativas (ASHMORE e DOERR, 1971; BARNARD *et al.*, 1982; ISHIMOTO, GOTO e KUROIWA, 1988).

Conforme Dubowitz *et al.* (2013), a avaliação das alterações nas fibras musculares são fundamentais para a interpretação de qualquer base patológica. Em normalidade, as fibras musculares possuem formato poligonal, porém em situações patológicas, como em distrofias musculares, elas podem apresentar um formato arredondado.

De acordo com Petracci e Cavani (2012), os maiores problemas de qualidade de carne em frangos de corte estão associados à Miopatia Peitoral Profunda e a *White Striping*, ambas afetando a aparência do produto final.

2.3.1 *White striping*

A miopatia *white striping* caracteriza-se pelo aparecimento de vários graus de estrias esbranquiçadas na superfície do músculo *Pectoralis major* de frangos de corte as quais seguem a direção da fibra muscular (BAUERMEISTER *et al.*, 2009; KUTTAPPAN *et al.*, 2009).

Macroscopicamente, categoriza-se esta condição de acordo com o grau de estriações presentes no músculo peitoral em: normal (NORM), sem estriações aparentes; moderado (MOD), estriações visíveis no músculo e inferiores a um (1) mm de espessura, e severo (SEV), com estriações superiores a um (1) mm e facilmente observadas na superfície do músculo (KUTTAPPAN *et al.*, 2009).

Estudos anteriores mencionaram a presença de estrias esbranquiçadas no músculo peitoral de frangos de corte e, ocasionalmente, no músculo da perna, semelhante às descritas na ocorrência de *white striping*, entretanto, esta alteração foi associada à condição de distrofia muscular induzida pela deficiência nutricional de vitamina E na dieta das aves (DAM, PHANG e SONDERGAARD, 1952; SCOTT *et al.*, 1955; MACHLIN e SHALKOP, 1956; MACHLIN e PEARSON, 1956; NESHEIM, LEONARD e SCOTT, 1959; FERGUSON *et al.*, 1964; BUNYAN *et al.*, 1967; NETKE *et al.*, 1969; KLASING, 2008).

Porém, em pesquisa realizada por Kuttappan *et al.* (2012c), estudou-se a similaridade da aparência entre animais acometidos com *white striping* e distrofia

muscular nutricional ocasionada pela deficiência de vitamina E, concluindo que o nível de vitamina E na dieta não está associado com a ocorrência de *white striping* no músculo peitoral de frangos de corte.

Petracci *et al.* (2013a), estudando a incidência desta miopatia em criações comerciais de frangos de corte na Itália, analisaram 28.000 aves oriundas de 56 lotes e encontraram uma incidência total de 12% de frangos acometidos com *white striping*, sendo 8,9% classificados com grau moderado e 3,1% de grau severo.

Com o objetivo de estudar a relação entre a severidade de *white striping* e o crescimento de frangos de corte, Bauermeister *et al.* (2009) verificaram aumento da incidência e da severidade desta miopatia com o aumento do peso vivo e do peso dos filés de peito, tendo também aumentado a severidade nos animais abatidos com oito semanas de idade quando comparados aos abatidos com seis semanas.

As causas da formação de *white striping* são desconhecidas, mas avaliações histológicas demonstraram que esta alteração é usualmente associada à degeneração muscular e alterações miopáticas abaixo da área com estriação, como perda das estriações transversais, variabilidade no tamanho da fibra, degeneração flocular/vacuolar e lise das fibras, mineralização moderada, regeneração, infiltração de células mononucleares, lipidose, inflamação intersticial e fibrose (KUTTAPPAN *et al.*, 2011 e 2013b; PETRACCI *et al.*, 2013b). De acordo com Kuttappan *et al.* (2011), há um significativo aumento de lesões degenerativas e necróticas, além de fibrose e lipidose, a medida em que o grau de *white striping* aumenta, tendo os autores classificado as alterações apresentadas como um caso de distrofia muscular idiopática.

Com relação ao perfil hematológico e sorológico dos frangos de corte acometidos com *white striping*, Kuttappan *et al.* (2013c) não encontraram diferenças em vários parâmetros hematológicos, porém foram observados aumentos nos níveis séricos de creatina quinase, alanina transaminase, aspartato aminotransferase e lactato desidrogenase nos animais cujos músculos foram classificados como de grau severo. Estes resultados, segundo os autores, sugerem que não há infecção sistêmica ou inflamatória associada ao grau severo de *white striping*. O aumento do nível sérico das enzimas confirma uma lesão muscular associada com miopatia degenerativa nos animais de grau severo.

Conforme Kuttappan *et al.* (2012b), o aumento das taxas de crescimento resulta em maior incidência de frangos de corte acometidos com *white striping*, e os vários graus desta miopatia estão associados com alterações na composição química destes filés de peito. Corroborando com esta afirmativa, em outro trabalho, Kuttappan *et al.* (2013b) observaram acréscimo no teor de gordura muscular e decréscimo de proteína, conforme o aumento do grau de *white striping*, concluindo que estas alterações histopatológicas indicam uma miopatia degenerativa que pode estar associada com a taxa de crescimento das aves.

Avaliando as características físico-químicas de filés de peito de aves acometidas com *white striping*, Kuttappan *et al.* (2013a) aferiram as dimensões dos filés (comprimento, largura, espessura cranial e caudal), o pH, a cor (L*[luminosidade], a*[tom de vermelho] e b* [tom de amarelo]), a perda de peso por cocção e a força de cisalhamento e concluíram que o grau de *white striping* não influenciou ($P>0,05$) os valores de pH, L*, a*, perda de peso por cocção e força de cisalhamento. Entretanto, nas amostras consideradas de grau severo de *white striping* foram observados aumentos significativos na espessura cranial e no tom de amarelo (b*), o que pode comprometer a qualidade estética do produto comercializado.

De acordo com Kuttappan *et al.* (2012a), este fenômeno de etiologia desconhecida está afetando a aceitação do consumidor com relação à severidade da mesma no filé do peito. O estudo relata que 50% dos consumidores consultados não comprariam a carne que apresentasse filetes de estrias de graus moderado ou severo. Dentre os problemas relacionados à carne de aves, acredita-se que, similarmente a suínos, a incidência de problemas de coloração na carne ocorre em 5-40% das carcaças e compromete a aparência geral do produto final, atributo de grande valia para os europeus e para os consumidores mais exigentes.

Sendo assim, em razão do pouco conhecimento a respeito desta miopatia e por afetar o aspecto visual de um dos cortes de maior valor comercial da carne de frangos, torna-se de suma importância um maior aprofundamento desta condição.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Caracterizar histopatologicamente a miopatia *white striping* em diferentes graus de severidade no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte da linhagem Cobb abatidos aos 42 dias de idade.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar as características microscópicas do músculo *Pectoralis major* com diferentes graus de *white striping*.
- Estudar a morfometria das fibras musculares de peitos de frangos de corte acometidos com os diferentes graus de *white striping*.
- Avaliar a incidência desta miopatia em frangos de corte de linhagem comercial abatidos aos 42 dias de idade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem

Para o presente estudo, foram conduzidos dois experimentos, ambos realizados em um matadouro-frigorífico de aves sob inspeção do Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI) localizado no município de Morro Reuter, Rio Grande do Sul.

4.1.1 Experimento 1

No primeiro experimento, realizado em dezembro de 2011 (verão), as amostras foram selecionadas a partir de um lote de 25.520 frangos de corte, machos, da linhagem Cobb 500, abatidos aos 42 dias de idade. O peso vivo médio dos animais foi de $3,2 \pm 0,2$ kg. O critério para coleta das amostras foi a presença de estriações esbranquiçadas no músculo *Pectoralis major*, sugestivas aos graus moderado e severo da miopatia *white striping*, perfazendo um total de 30 amostras coletadas (15 amostras/grau). Após a coleta dos músculos *Pectoralis major*, as amostras foram fixadas em formalina tamponada a 10% para realização de análises histopatológicas.

4.1.2 Experimento 2

Para o segundo experimento foram coletados, em novembro de 2012 (verão), aleatoriamente, 144 peitos de frangos de corte de um lote de 14.400 animais, machos, da linhagem Cobb, abatidos aos 42 dias de idade para análise macroscópica do músculo *Pectoralis major* e classificação quanto ao grau de severidade de *white striping*. Após a avaliação e cálculo da incidência, foram selecionados 30 fragmentos musculares (10 amostras/grau [normal, moderado e severo]) para a realização de análises histomorfométricas.

4.2 Avaliação macroscópica do músculo *Pectoralis major*

Em ambos os experimentos, a classificação macroscópica foi realizada baseando-se na avaliação visual de estriações esbranquiçadas posicionadas em paralelo das fibras musculares no músculo *Pectoralis major*, sugestivas a miopatia *white striping*. Categorizaram-se os filés baseando-se no grau de severidade desta condição conforme descrito por Kuttappan *et al.* (2009) em: normal (NORM), sem estriações aparentes; moderado (MOD), estriações visíveis no músculo e inferiores a um (1) mm de espessura, e em severo (SEV), com estriações superiores a um (1) mm e facilmente observadas na superfície do músculo, de acordo com o demonstrado na Figura 3.

Figura 3 – Classificação de *white striping* no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte. A) normal (NORM); B) moderado (MOD), e C) severo (SEV).



Fonte: Kuttappan *et al.* (2012a)

4.3 Análise histológica do músculo *Pectoralis major*

As análises histológicas foram realizadas no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As amostras de músculo já fixadas foram seccionadas transversalmente em aproximadamente cinco (5) mm de espessura, desidratadas em séries de etanol em concentrações crescentes (30-100%), diafanizadas em solução de álcool mais xilol (1:1) e em xilol (3x) e incluídas em parafina. Posteriormente, seccionaram-se os blocos em cortes de três (3) μm de espessura com o uso de um micrótomo Leica RM 2125RT e procedeu-se a coloração das lâminas com

Tricrômico de Masson (tecido conjuntivo) e com Hematoxilina-Eosina (tecido muscular), de acordo com Luna (1968).

Conforme descrito por Dubowitz *et al.* (2013), esta técnica de coloração para tecido muscular permite a visualização de toda a estrutura tecidual com relação a morfologia geral das fibras permitindo analisar seu diâmetro, arquitetura, forma e tamanho, além de analisar núcleos, tecido adiposo e fibroso, a presença de células inflamatórias e vacúolos e de componentes vasculares e neurais.

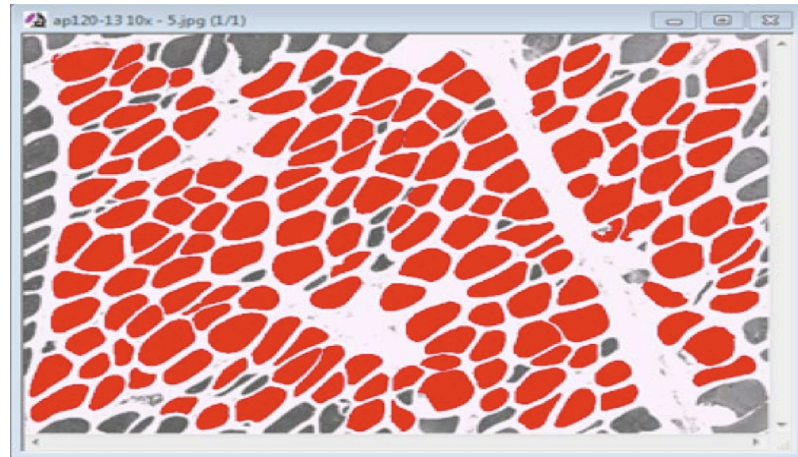
O exame das lâminas foi realizado em microscopia de luz com objetiva em microscópio Leica ICC50 HD com câmera acoplada utilizando-se as objetivas de 20x, para o primeiro experimento, e de 10x, para o segundo experimento.

4.3.1 Análises morfométricas: morfometria quantitativa

Para as análises de morfometria (área, densidade e diâmetro mínimo da fibra muscular e densidade do volume parcial) de cada fragmento transversal muscular coletado, foram realizados cortes semi-seriados de três (3) μm de espessura com espaçamento de cinco (5) cortes utilizando-se o micrótomo Leica RM 2125RT, totalizando 10 cortes por amostra e posteriormente corados pelo método de Hematoxilina-Eosina. As lâminas foram fotografadas utilizando-se o microscópio Leica ICC50 HD na objetiva de 10x acoplado a um Sistema Analisador de Imagem Computadorizada da Leica (Digital Image Processing and Analysis Software for Professional Microscopy – Qwin V3).

As mensurações das fibras foram medidas conforme Dubowitz e Brooke (1984) a partir da análise de imagem computadorizada utilizando-se o software Image Pro-Plus[®] versão 6.0 com uma restrição de borda e no tamanho de área de 3.000 a 20.000 pixels (após convertido em cm^2), conforme demonstrado na Figura 4. Anterior a esta análise, foi necessária a realização de um ajuste nas imagens para a remoção de artefatos da coloração utilizando o software Photoshop[®], objetivando uma melhor visualização das fibras musculares.

Figura 4 – Análise morfométrica de corte transversal de tecido muscular do peito de frango de corte utilizando-se o software Image Pro-Plus® demonstrando a área mensurada. Obj 10x.



Com o intuito de complementar as informações obtidas com as análises morfométricas de área e diâmetro mínimo da fibra muscular, utilizou-se a estereologia, técnica morfométrica usada para quantificar estruturas tridimensionais a partir de cortes bidimensionais (MANDARIM-DE-LACERDA, 1995).

A densidade de volume parcial (V_v) das fibras musculares de cada amostra, a partir de análises estereológicas, foi realizada por meio da sobreposição, utilizando o sistema-teste multifuncional M42 (WEIBEL, 1979), conforme demonstrado na Figura 5. Esse sistema-teste conta com 42 pontos testes, fotocopiado em uma transparência e sobreposto sobre cada ponto da secção selecionada. O volume parcial das fibras musculares foi expresso como porcentagem e obtido pelo número de pontos testes que caíam sobre a superfície das fibras musculares e o número total de pontos na grade. O volume parcial foi obtido pela equação mostrada a seguir:

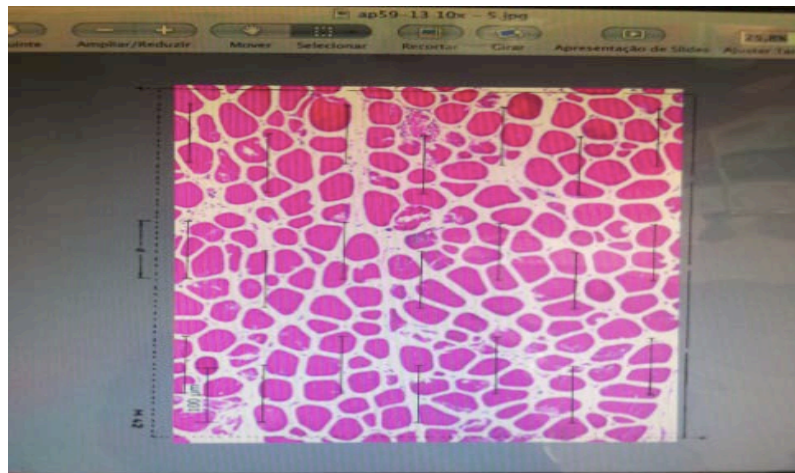
$$V_v = \Sigma P (\text{FIBRA MUSCULAR}) / \Sigma P (\text{VOLUME REFERENCIAL}) \cdot 100$$

Em que:

ΣP (fibra muscular) = número de pontos do sistema teste caindo sobre a camada específica;

ΣP (volume referencial) = número total de pontos na grade.

Figura 5 - Representação esquemática do sistema-teste multifuncional M42 sobreposto a fotomicrografia das fibras musculares. Obj 10x.



4.4 Análises estatísticas

Os dados foram analisados usando Análise de variância ANOVA sendo considerados os graus de *white striping*. Cada ave foi considerada como uma unidade experimental. No primeiro experimento (artigo 1), foram estimados os escores médios para cada grau de *white striping* (MOD e SEV) e para cada característica histopatológica (I- somente necrose , II- necrose calcificada e III- necrose com mineralização calcificada) e as diferenças significativas foram calculadas por meio do Teste Tukey ($P < 0,05$). No segundo experimento (artigo 2), a análise exploratória dos dados foi obtida através da estimativa da matriz de correlação. Além disso, foi realizada Análise de Variância em Modelo de Regressão Linear Simples considerando os efeitos mistos para investigar os efeitos do tratamento sobre as variáveis morfométricas (densidade do volume parcial, área total, densidade de fibras e diâmetro mínimo das fibras musculares) segundo a fórmula abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + \beta X_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Em que: Y_{ijk} é a variável dependente, i ($= 1, 2, 3$) são os tratamentos, j ($= 1, \dots, 30$) são os animais, e k ($= 1, \dots, 10$) são as repetições das imagens. Além disto, μ é a média geral, α_i é o efeito fixo associado ao tratamento (i), γ_j é o efeito aleatório associado ao animal (j), β é o coeficiente de regressão para a relação entre a variável dependente e o

peso do peito do animal (co-variável). X_{ijk} é o peso do corpo e ϵ_{ijk} é o erro. Foi suposto que os efeitos aleatórios e erros são independentes e distribuídos em normalidade segundo $\gamma_j \sim N(0, \tau)$ e $\epsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$.

Após, para analisar a significância da regressão, foi realizado o procedimento de comparação pareada múltipla utilizando o teste de Tukey (5%). As análises foram realizadas no Software Estatístico R (R CORE TEAM, 2013), utilizando os procedimentos matemáticos nlme (PINHEIRO *et al.*, 2013) e multcomp (HOTHORN, BRETZ e WESTFALL, 2008).

5 ARTIGO CIENTÍFICO 1

Histopatologia do músculo *Pectoralis major* de frangos de corte com *white striping*

Histopathology of the Pectoralis major muscle with white striping in broilers

T.Z. Ferreira, R.A. Casagrande, S.L. Vieira, D. Driemeier and L. Kindlein.

RESUMO

Relatos do aparecimento de *white striping* em peitos de frangos de corte estão aumentando e gerando preocupações ao setor avícola, ocasionando impactos negativos na aceitação do consumidor. Este estudo objetivou caracterizar macro e microscopicamente a condição de *white striping* de diferentes graus de severidade em peitos de frangos de corte Cobb 500 abatidos aos 42 dias de idade. Os peitos de 2.512 carcaças de frangos com *white striping* foram coletados e classificados macroscopicamente de acordo com o grau de severidade das estriações em moderado (MOD) e severo (SEV), sendo posteriormente analisados histologicamente. A avaliação microscópica demonstrou uma miopatia degenerativa nos graus MOD e SEV, entretanto as amostras de grau MOD (7,38%) apresentaram somente necrose ou necrose multifocal moderada, enquanto que as de grau SEV (2,46%) apresentaram necrose difusa e acentuada. Não foi observado proliferação de tecido conjuntivo em nenhum dos graus de *white striping* analisados, caracterizando este caso como de ocorrência aguda.

Palavras chave: fibra muscular, peitos de frangos de corte, necrose, tecido conjuntivo.

Este artigo foi submetido ao Periódico *Journal of Applied Poultry Research*

ABSTRACT

Market reports of white striping in broiler breast fillets have been increasing which has generated concerns on the broiler meat industry regarding negative impacts on consumer acceptance. This study was conducted to characterize macro - and microscopically the condition of white striping at varying degrees of severity on Cobb 500 broiler breast fillets slaughtered at 42 days of age. Carcasses of 2,512 broilers presenting white striping were slaughtered and macroscopically classified according to the degree of severity of the striations as moderate (MOD) and severe (SEV) being further histologically evaluated. Microscopical evaluation demonstrated a degenerative myopathy in both moderate and severe cases, but 75% of those breast fillets were classified as MOD. Typically, the samples classified macroscopically as MOD (7,38%) degree showed microscopically necrosis only or moderate multifocal necrosis, while the classified as SEV (2,46%) showed necrosis diffuse and strong. The proliferation of connective tissue was not observed for either of the degrees of white striping investigated, characterizing this profile as an acute occurrence.

Key words: broiler breast fillet, connective tissue, muscle fiber, necrosis.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frangos de corte e o maior exportador desta carne, tendo produzido em 2012 cerca de 12,645 milhões de toneladas [1]. A avicultura permite rápida evolução genética com foco em aprimoramento do rendimento muscular [2].

A seleção genética para frangos de corte tem sido contínua nas últimas décadas, o que gerou enormes melhorias na *performance*, bem como na conformação corpórea. Atualmente, a proporção do músculo peitoral de frangos de corte é muito maior do que a massa corporal (cerca de 3,5 vezes) quando comparados a frangos sem quaisquer seleção genética desde 1930 [3]. Ainda assim, o melhoramento das linhagens continua, visando aumento de rendimentos do músculo do peito de frangos de corte.

Plantas processadoras de frangos de corte relatam o recente aumento do aparecimento de diferentes graus de estrias esbranquiçadas no músculo do peito de frangos de corte, sendo chamada de *white striping* [4]. Esta condição também está sendo diretamente associada à idade e ao peso vivo da ave, caracterizando-se como uma distrofia muscular de etiologia desconhecida [5-7].

A estriação branca caracterizada como *white striping* normalmente se inicia na porção cranial do peito perto da junção da asa. Com a evolução da condição, as estriações se tornam mais aparentes [6]. Pesquisas histológicas do tecido acometido com estas estriações esbranquiçadas revelam um aumento de células adiposas e de tecido conjuntivo infiltrado nas áreas de degeneração das fibras musculares [4,8,9].

A severidade desta condição pode ser classificada com base no aspecto visual do músculo peitoral de frangos de corte e classificada com base no grau de severidade em normal (NORM), moderado (MOD) e severo (SEV) [4].

O presente estudo objetivou caracterizar macro e microscopicamente a condição de *white striping* de diferentes graus de severidade em peitos de frangos de corte da linhagem Cobb 500 abatidos aos 42 dias de vida e avaliar a fase evolutiva desta miopatia.

MATERIAL E MÉTODOS

Frangos de corte Cobb 500, machos, com 42 dias de idade, com peso médio de 3,2 ± 0,2 kg, foram abatidos em um matadouro-frigorífico localizado no município Morro Reuter/RS/Brasil. De um total de 25.250 aves processadas, 2.512 apresentaram algum grau de *white striping* (9,84%, MOD e SEV), as quais foram coletadas para avaliações posteriores.

A classificação macroscópica das carcaças (n = 2,512) foi mensurada de acordo com o grau de severidade das estriações aparentes no músculo peitoral em: normal (NORM), moderada (MOD) e severa (SEV) [6]. Os filés classificados como MOD exibiam estriações < um (1) mm de espessura e visíveis na superfície, enquanto que os filés classificados como SEV exibiam linhas esbranquiçadas paralelas às fibras musculares tendo uma espessura superior a um (1) mm e facilmente visível na superfície do músculo (Figura 1) [6,10].

Figura 1 - Músculo do peito (*Pectoralis major*) de frango de corte de consistência firme e difusa, exibindo estrias musculares de *white striping* classificadas, macroscopicamente, como de grau severo (SEV).



As amostras do músculo *Pectoralis major* foram coletadas após a etapa de gotejamento do processo de abate, fixadas em formalina tamponada a 10% e enviadas ao setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para exame histopatológico. As porções musculares da região crânio-ventral e da superfície lateral foram seccionadas em aproximadamente cinco (5) mm de espessura, desidratadas em séries de soluções de etanol em concentrações crescentes (30-100%), diafanizadas em solução de álcool mais xilol (1:1) e em xilol (3x) e incluídas em parafina. Foram coletadas duas porções musculares de cada amostra. Posteriormente, os blocos foram seccionados [11] em cortes de três (3) μm de espessura e procedeu-se a coloração das lâminas com Hematoxilina-Eosina (HE) para análise das características histopatológicas e da evolução desta miopatia dividindo-a em III fases de necrose dos tecidos. As lâminas também foram coradas com Tricrômico de Masson para análise de proliferação de tecido conjuntivo. O exame das lâminas foi realizado em microscopia de luz [12] utilizando-se o microscópio Leica ICC50 HD com objetiva de 20x.

Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando a análise de variância ANOVA, sendo considerados os graus de *white striping*. Foram estimados escores médios para cada grau de *white striping* (MOD e SEV) e para cada fase de evolução do processo avaliado

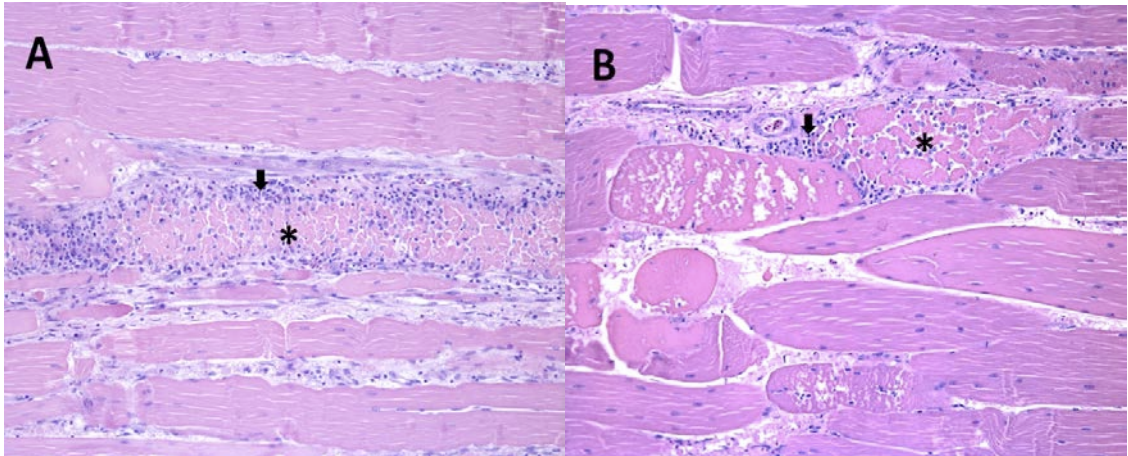
histologicamente (somente necrose, necrose multifocal e necrose difusa e acentuada) e as diferenças significativas foram calculadas utilizando o Teste Tukey ($P < 0,05$) [13]. Cada ave foi considerada como uma unidade experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um total de 2.512 (9,84%) carcaças analisadas, 1.884 (7,38%) apresentaram, macroscopicamente, o músculo peitoral (*Pectoralis major*) com presença de *white striping* de grau moderado (MOD) e 628 (2,46%) carcaças consideradas de grau severo (SEV). Percentuais similares foram verificados por Petracci *et al.* [14] estudando a incidência desta miopatia em criações comerciais de frangos de corte na Itália, quando os autores analisaram 28.000 aves oriundas de 56 lotes e encontraram uma incidência total de 12% de frangos acometidos com *white striping*, sendo 8,9% classificados com grau moderado e 3,1% de grau severo.

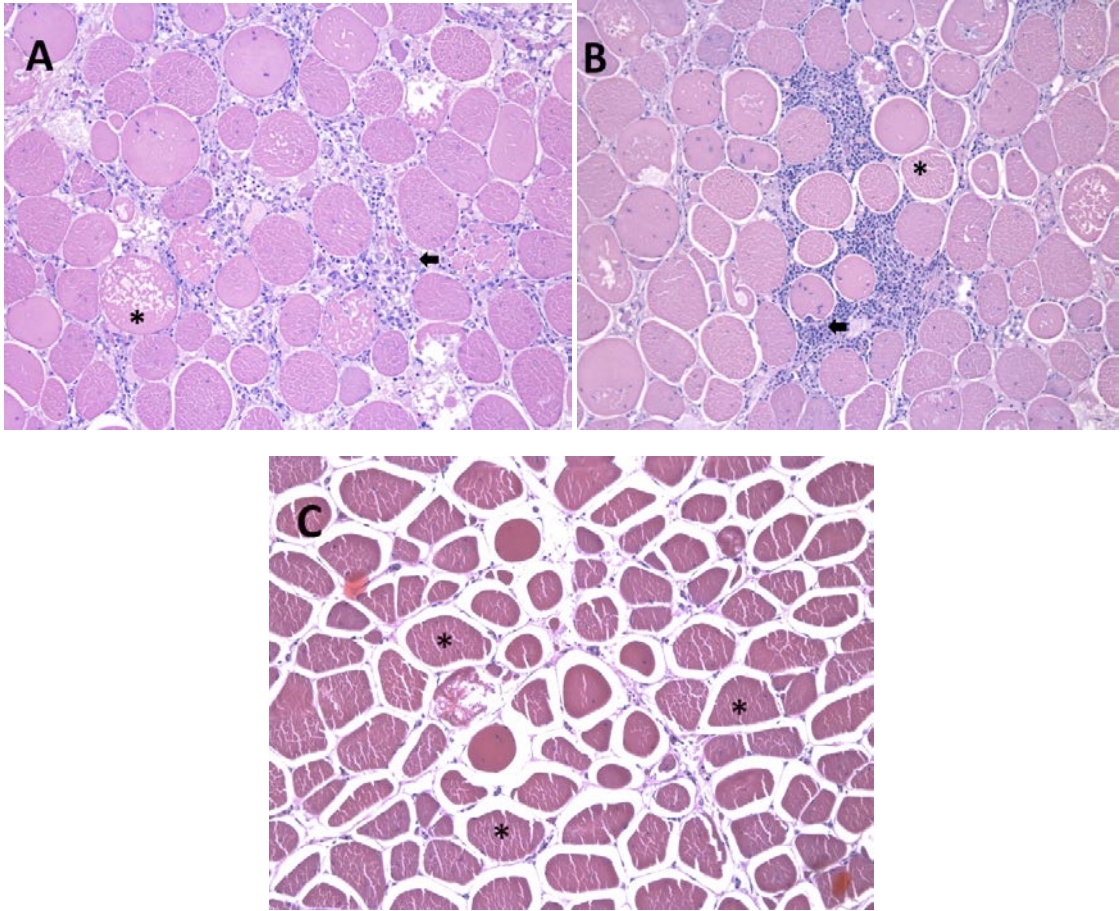
Na avaliação histopatológica da musculatura peitoral, observou-se miopatia degenerativa, sendo caracterizada tanto nos graus moderado (Figura 2b) como severo (Figura 2a), na porção lateral, por necrose flocular e hialina (difusas acentuadas) de miofibras com infiltrado de macrófagos e poucos heterófilos, fagocitose de restos de miofibras, com regeneração de algumas delas e miócitos com vacuolização sarcoplasmática.

Figura 2a - Miopatia degenerativa (*white striping*) em frango de corte classificada como de grau severo. Secção longitudinal do músculo da porção lateral do peito: necrose de miofibra (asterisco) difusa e acentuada. Figura 2b - Miopatia degenerativa (*white striping*) em frango de corte classificada como de grau moderado. Secção longitudinal do músculo da porção lateral do peito: necrose de miofibra (asterisco) multifocal moderado. Em ambos os graus (MOD e SEV) com infiltrado de macrófagos, poucos heterófilos e fagocitose de restos de miofibras (seta). HE. Obj. 20x.



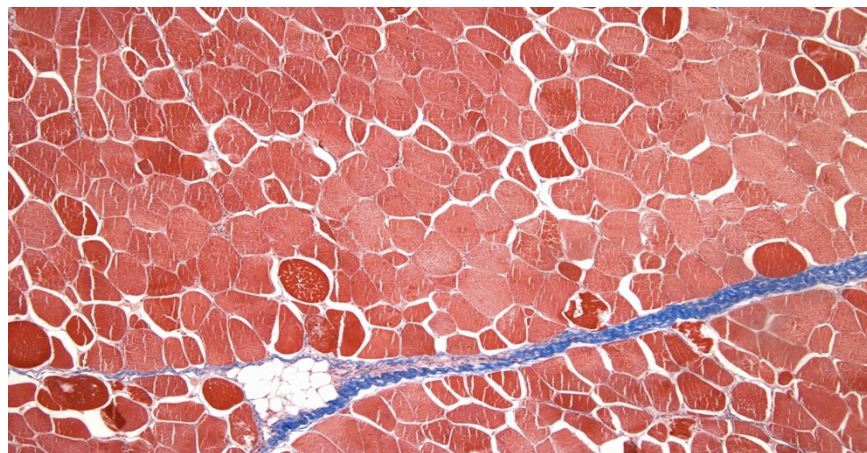
Na porção ventral dos peitos de ambos os graus MOD (Figura 3b e 3c) e SEV (Figura 3a), foi observado necrose flocular e hialina (difusas acentuadas) de miofibras, infiltrado de macrófagos, linfócitos e poucos heterófilos, com fagocitose de restos de miofibras, apresentando algum grau de regeneração destas e miócitos com vacuolização sarcoplasmática.

Figura 3a – Miopatia degenerativa (*white striping*) em frango de corte classificada como de grau severo. Secção transversal do músculo da porção lateral do peito: necrose de miofibras (asterisco) difusa e acentuada. Figura 3b - Miopatia degenerativa (*white striping*) em frango de corte classificada como de grau moderado. Secção transversal do músculo da porção lateral do peito: necrose de miofibras (asterisco) moderada multifocal. Figura 3c - Miopatia degenerativa (*white striping*) em frango de corte classificada como de grau moderado. Secção transversal do músculo na porção lateral do peito com somente necrose das miofibras (asterisco). Em ambos graus (MOD e SEV) com infiltrado de macrófagos, poucos heterófilos e fagocitose de restos de miofibras (seta). HE. Obj. 20x.



Nas lâminas coradas com Tricrômico de Masson não foi evidenciada proliferação de tecido conjuntivo (Figura 4) em nenhum dos graus de *white striping*.

Figura 4 - Miopatia degenerativa (*white striping*) em frango de corte da linhagem Cobb 500 com 42 dias de idade. Secção transversal do músculo da porção lateral do peito sem proliferação de tecido conjuntivo. Tricrômico de Masson. Obj. 20x.



Em frangos de corte, a seleção para taxa de crescimento e rendimento de peito pode não afetar significativamente o tipo de fibra presente no músculo, porém ocasiona o aumento no diâmetro e comprimento das fibras musculares [15]. Alterações no tipo das fibras são ocasionadas principalmente por distrofias musculares [16].

Miopatias degenerativas semelhantes às descritas são encontradas em intoxicações por ionóforos [17-19], na intoxicação pela planta tóxica *Senna occidentalis* [20] e pela deficiência de vitamina E/selênio, entretanto estudos recentes [21] não atribuíram as causas desta condição aos diferentes níveis destes nutrientes na dieta de frangos de corte.

Objetivando padronizar o manejo alimentar, os animais do presente estudo receberam dietas isoenergéticas e isoproteicas, segundo recomendações das tabelas nutricionais brasileiras para alimentação de aves e suínos [22]. Em razão disto, pode-se desconsiderar a hipótese de intoxicação por ionóforos, no qual seu achado histopatológico é caracterizado pelo tecido muscular apresentar necrose flocular e hialina, infiltrado de macrófagos e fibras musculares em processo de regeneração [18,19, 23].

Corroborando com estudos anteriores, os cortes histológicos obtidos nos graus MOD e SEV apresentaram degeneração miofibrilar, porém não foi observado atrofia das fibras como já relatado [5,7]. Adicionalmente, dados literários [5] descrevem aumento na proporção de estrias esbranquiçadas no músculo peitoral de frangos abatidos com oito semanas de vida quando comparados aos com seis semanas, sugerindo, assim, que a ocorrência de estriações está correlacionada com a idade e com o peso ao abate das aves.

Em contraposto com dados literários [5], não foi observada, em ambos os graus de severidade, proliferação de tecido conjuntivo nas secções histológicas coradas com Tricrômico de Masson, podendo esta ser encontrada com o avanço da idade dos animais.

Tendo em vista que os animais estudados no presente trabalho possuíam idade inferior ao relatado na literatura, e considerando que, quanto maior o período das fases de crescimento e desenvolvimento animal, as fibras de colágeno tendem a se tornarem progressivamente maiores e mais fortes [24], assumindo uma característica de cronicidade.

CONCLUSÕES

1. Por ser um fenômeno de etiologia desconhecida, a *white striping* é um problema emergente na avicultura, sendo recentes as pesquisas relacionadas.
2. Baseado nos resultados atingidos por este estudo, pode-se concluir que a presença de *white striping* causa mudanças na integridade da fibra muscular nos graus MOD e SEV, apresentando degeneração miofibrilar e, nos casos severos, necrose difusa e acentuada. Contudo não foi evidenciada a proliferação de tecido conjuntivo em frangos de corte com 42 dias de idade.
3. A condição de *white striping* em peitos de frangos de corte da linhagem Cobb abatidos aos 42 dias de idade, analisados neste estudo, pode ser caracterizada como de ocorrência aguda.

REFERÊNCIAS

1. UBABEF – União Brasileira de Avicultura. 2012. Informe UBABEF: Dados do setor. http://www.abef.com.br/Imagens/informe_UBABEF_9.jpg. Acesso em 23 de janeiro de 2013.
2. Havenstein, G. B., P. R. Ferret, and M. A. Qureshi. 2003. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult. Sci.* 82:10 1500-1508.
3. Schmidt, C. J., M. E. Persia, E. Feierstein, B. Kingham and W. W. Saylor. 2009. Comparison of a modern broiler line and a heritage line unselected since the 1950s. *Poult. Sci.* 88:2610-2619.
4. Kuttappan, V. A., V. B. Brewer, F. D. Clark, S. R. McKee, J. F. Meullenet, J. L. Emmert, and C. M. Owens. 2009. Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets. *Poult. Sci.* 88 (Suppl.1):447P (Abstr.).
5. Bauermeister, L. J., A. U. Morey, E. T. Moran, M. Singh, C. M. Owens, and S. R. McKee. 2009. Occurrence of White Striping in chicken breast fillets in relation to broiler size. *Poult. Sci.* 88 (Suppl. 1):33. (Abstr.).

6. Owens, C. M., and S. L. Vieira. 2012. White Striping in Broiler Breast Meat. Pages 83-88 in *Broiler Carcass Quality - An approach from the production sites*. Zinpro Corp, São Paulo, SP.
7. Petracci, M., and C. Cavani. 2012. Muscle Growth and Poultry Meat Quality Issues. *Nutrients*. 4:1-12.
8. Kuttappan V. A., H. L. Shivaprasad, B. M. Hargis, F. D. Clark, S. R. McKee and C. M. Owens. 2011a. Histopathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. *Poult. Sci.* 90:160 (Abstr.).
9. Kuttappan, V. A., V. B. Brewer, P. W. Waldroup and C. M. Owens. 2011b. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poult. Sci.* 90:660 (Abstr.).
10. Kuttappan, V. A., Y. S. Lee, G. F. Erf, J. F. C. Meullenet, S. R. McKee, and C. M. Owens. 2012a. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. *Poult. Sci.* 91:1240-1247.
11. Microtome Leica RM 2125RT, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Germany.
12. Microscope Leica ICC50 HD, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Germany.
13. SAS Institute. 2000. *SAS/STAT Guide for Personal Computers*. Version 8.2 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
14. Petracci, M. *et al.* 2013a. Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci.* 92(6): 1670-1675.
15. Berri, C., E. Le Bihan-Duval, M. Debut, V. Santé-Lhoutellier, E. Baéza, V. Gigaud, Y. Jégo, and M. J. Duclos. 2007. Consequence of muscle hypertrophy on characteristics of Pectoralis major muscle and breast meat quality of broiler chickens. *Journal of Animal Science*. 85: 2005-2011.
16. Wilson, B. W., P. S. Nieberg, R. J. Buhr, B. J. Kelly, and F. T. Schultz. 1990. Turkey muscle growth and focal myopathy. *Poult Sci.* 69:1553-1562.
17. Chalmers, G. A. 1981. Monensin toxicity in broiler chickens. *Canadian Veterinary Journal*. 22: 21-22.
18. Hanrahan, L. A., D. E. Corrier, and S. A. Naqi. 1981. Monensin toxicosis in broiler chickens. *Veterinary Pathology*. 18:665-671.

19. Dowling, L. 1992. Ionophore toxicity in chickens: A review of pathology and diagnosis. *Avian Pathology*. 21:3 355-368.
20. Machlin, L. J., and W. T. Shalkop. 1956. Muscular degeneration in chickens fed diets low in vitamin E and sulfur. *J. Nutr.* 60:87-96.
21. Kuttappan, V. A., S. D. Goodgame, C. D. Bradley, A. Mauromoustakos, B. M. Hargis, P. M. Waldroup, and C. M. Owens. 2012b. Effect of different levels of dietary vitamin E (DL- α -tocopherol acetate) on the occurrence of various degrees of white striping on broiler breast fillets. *Poult Sci.* 91:3230-3235.
22. Rostagno, H. S. 2005. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Zootecnia.
23. Pavarini S. P., M. P. Soares, P. M. Bandarra, D. C. Gomes, M. B. Bandinelli, C. E. F. Cruz, and D. Driemeier. 2011. Mortes súbitas em bovinos causadas por *Amorimia exotropica* (Malpighiaceae) no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(4):291-296.
24. McCormick, R. J. 1999. Extracellular Modifications to Muscle Collagen: Implications for Meat Quality. *Poult. Sci.* 78:785-791.

6 ARTIGO CIENTÍFICO 2

Estudo histomorfométrico do músculo peitoral de frangos de corte acometidos com diferentes graus de *white striping*

Histomorphometric studies on the occurrence of various degrees of white striping in broiler breast fillets

Ferreira, T.Z., L.E. Moraes, L. Lorscheitter, S.L. Vieira, D. Driemeier,
R. Machado Neto and L. Kindlein

RESUMO

A miopatia *white striping* caracteriza-se pelo aparecimento de estriações esbranquiçadas na superfície do filé de peito de frangos de corte. O presente estudo teve como objetivo analisar as características histomorfométricas das fibras musculares do músculo *Pectoralis major* de frangos de corte da linhagem Cobb 500 abatidos aos 42 dias de vida com diferentes graus de severidade de *white striping*. Filés de peito representativos para cada grau (normal [NORM], moderado [MOD] e severo [SEV]) foram coletados (n=30), e realizaram-se análises morfométricas bidimensionais (área total, diâmetro e densidade de fibras musculares) e tridimensionais (densidade do volume parcial do tecido muscular). A análise exploratória dos dados foi obtida através da matriz de correlação, ANOVA da Regressão e Tukey (5%). Foram observadas maiores densidades de fibra muscular ($p=0,004$) e menores diâmetros ($p<0,001$) nos graus MOD e SEV quando comparados aos NORM, entretanto o volume parcial não apresentou diferença, provavelmente devido à diminuição do diâmetro associado ao aumento do número das fibras nos graus MOD e SEV. Conforme os resultados, pode-se concluir que as fibras acometidas com *white striping* demonstraram o início de um processo de regeneração muscular, de característica hiperplásica.

Palavras-chave: fibra muscular, frangos de corte, morfometria, *white striping*.

Este artigo será submetido ao Periódico *Poultry Science*

ABSTRACT

The myopathy white striping is characterized by the occurrence of white striations on the surface of broiler breast fillets. This study aimed analyze the histomorphometric characteristics of the Pectoralis major muscle on Cobb 500 broiler breast fillets slaughtered at 42 days of age with white striping at varying degrees of severity. Representative breast fillets from each degree (normal [NORM], moderate [MOD] and severe [SEV]) were collected (n=30) and dimensional morphometric analysis (area, muscle fiber diameter and density) and three-dimensional (partial volume of muscle tissue) were analyzed. Exploratory analysis of the data was conducted through the correlation matrix, Regression ANOVA and Tukey's (5%). Higher densities of muscle fiber ($p=0.004$) and small diameters ($p<0.001$) were observed in the MOD and SEV degrees compared to NORM, however the partial volume was didn't show statistical significance, probably due to the decrease in the diameter associated with an increase in the number of fibers on MOD and SEV degrees. According to the results, we can conclude that muscle fibers with white striping showed the beginning of a muscle regeneration process with hyperplastic characteristics.

Key words: broilers, morphometry, muscle fiber, white striping.

INTRODUÇÃO

A aparência visual é o primeiro e mais importante atributo avaliado pelo consumidor no momento de decisão de compra de um produto alimentício, sendo qualquer alteração neste quesito um risco de perda econômica ao setor.

O aparecimento de estriações esbranquiçadas na superfície do músculo peitoral de frangos de corte, referidas como *white striping*, está causando preocupações na indústria avícola em razão da redução da aceitação do consumidor perante esta carne. De acordo com Kuttappan *et al.* [1], 50% dos entrevistados alegam que não comprariam o filé de peito de frango se este apresentasse qualquer grau desta condição.

A etiologia da *white striping* ainda não foi esclarecida, mas sabe-se que esta miopatia está associada à altas taxas de crescimento e aves de maior peso [2,3].

O aumento do peso de abate dos frangos de corte está correlacionado ao melhor rendimento muscular destes animais em decorrência do sucesso dos programas de seleção genética, principalmente no músculo *Pectoralis major*, que pode ser associado ao aumento de tamanho das fibras musculares. Aves comerciais possuem maior diâmetro das fibras musculares quando comparadas com linhagens tradicionais [4-6].

Os mecanismos que regulam o número, tipo e tamanho das fibras musculares são fundamentais para o entendimento do desenvolvimento muscular. Problemas de qualidade da carne podem ser resultantes de mudanças estruturais, morfométricas e bioquímicas do tecido muscular, com conseqüente alteração nas fibras musculares [7-9].

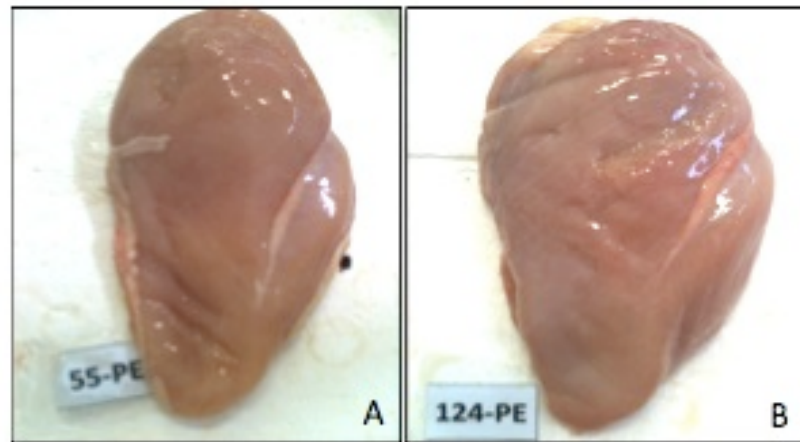
O presente estudo teve como objetivo analisar as características histomorfométricas das fibras musculares do músculo *Pectoralis major* de frangos de corte da linhagem Cobb 500 abatidos aos 42 dias de vida com diferentes graus de *white striping*.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 1.440 frangos de corte Cobb 500, machos, com 42 dias de idade, com peso médio de $3,2 \pm 0,2$ kg, foram abatidos em um matadouro-frigorífico localizado no município Morro Reuter, RS/Brasil.

Aleatoriamente, coletou-se 144 animais (10%) na linha de abate para avaliação macroscópica do músculo peitoral das aves de acordo com o grau de severidade de *white striping* em normal (NORM), moderado (MOD) e severo (SEV), conforme proposto por Kuttappan *et al.* [10]. Segundo esta categorização, os filés classificados como NORM não apresentam estriações, os filés de grau MOD exibem estriações visíveis na superfície com espessura inferior a < 1 mm, enquanto que os filés classificados como SEV exibem linhas esbranquiçadas paralelas às fibras musculares tendo uma espessura superior a 1 mm e facilmente visíveis na superfície do músculo (Figura 1).

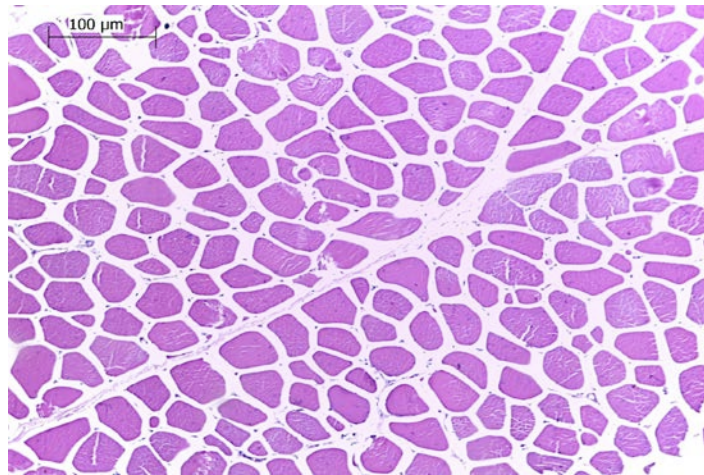
Figura 1 - Músculos de peitos (*Pectoralis major*) de frangos de corte classificados, macroscopicamente, com grau de severidade de *white striping*: normal (A) e severo (B).



Posteriormente as avaliações macroscópicas, foram selecionados 30 filés de peito, desossados e sem pele (10 unidades experimentais para cada grau [normal, moderado e severo]) e removidas porções de aproximadamente cinco (5) mm do músculo *Pectoralis major* no sentido transversal da fibra muscular. Em seguida, os fragmentos coletados foram fixados em formalina tamponada a 10%, desidratados com etanol em concentrações crescentes (30-100%), diafanizados e incluídos em parafina.

De cada fragmento muscular coletado, foram obtidos 10 cortes histológicos por amostra, a partir de cortes semi-seriados de três (3) μm de espessura, com espaçamento de cinco (5) cortes, com auxílio de um micrótomo Leica modelo RM 2125RT, posteriormente corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE). Realizou-se o exame das lâminas em microscopia de luz, utilizando-se o microscópio Leica ICC50 HD com câmera acoplada na objetiva de 10x (Figura 2). De cada corte, foi digitalizada uma imagem, perfazendo um total de 300 imagens analisadas.

Figura 2 – Fotomicrografia de corte histológico transversal do músculo *Pectoralis major* de frango de corte abatido aos 42 dias de idade sem estriações esbranquiçadas (grau normal). HE. Obj 10x.



As análises morfométricas de área total, densidade de fibra muscular e diâmetro mínimo médio para avaliação do grau de desenvolvimento das fibras musculares [11] foram realizadas através do software Image Pro-Plus[®] versão 6.0 com uma restrição de borda e no tamanho da área de 3.000 a 20.000 pixels (após convertido em cm²), após ajuste prévio em software Photoshop[®] para remoção de artefatos da coloração, objetivando uma melhor visualização das fibras musculares. A densidade de volume parcial (V_v, %) das fibras musculares de cada amostra, a partir de análises estereológicas, foi realizada por meio da sobreposição, utilizando-se o sistema-teste multifuncional M42 [12], segundo a equação: $V_v = \Sigma P (\text{fibra muscular}) / \Sigma P (\text{volume referencial}) \times 100$.

Análise Estatística

A análise exploratória dos dados foi realizada através da estimativa da matriz de correlação. Além disso, foi realizada Análise de Variância com uso de Modelo de Regressão Linear Simples considerando os efeitos mistos para investigar os efeitos do tratamento sobre as variáveis morfométricas (densidade do volume parcial, área total, densidade de fibras e diâmetro mínimo das fibras musculares).

O peso do peito foi colocado como co-variável nas análises em razão de estudos prévios demonstrarem a sua influência na ocorrência de *white striping* [2, 10, 13].

Após, para analisar a significância da regressão, foi realizado o procedimento de comparação múltipla pareada utilizando o teste de Tukey (5%). As análises foram

realizadas no Software Estatístico R [14], utilizando os procedimentos matemáticos nlme [15] e multcomp [16].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos na equação de regressão (Tabela 1), foram encontradas diferenças significativas para as seguintes medidas morfométricas: densidade do volume parcial ($p = 0,003$), densidade da fibra ($p = 0,004$) e diâmetro mínimo de fibras ($p < 0,001$).

Tabela 1 – Teste F e seus valores de P, indicando o efeito do tratamento sobre as variáveis morfométricas estudadas considerando o modelo linear. ($H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3 = 0$).

Variáveis morfométricas	Valor de F	Valor de P
Volume parcial (%)	0,462	0,635
Área Total (cm ²)	7,124	0,003
Densidade (Fibras / cm ²)	6,820	0,004
Diâmetro mínimo de fibras (µm)	11,827	<0,001

Embora a área total e a densidade de fibras por campo analisado tenham apresentado diferença significativa entre os diferentes graus de *white striping* (0,003 e 0,004), a densidade do volume parcial, medida tridimensional, não apresentou diferença (0,635). Isto pode ser explicado, pois, segundo valores médios das variáveis apresentadas na Tabela 2, o diâmetro mínimo das fibras dos peitos acometidos com a miopatia diminuiu em comparação ao valor do diâmetro de peitos considerados normais, já a densidade de fibras aumentou. Assim, foi evidenciado um maior número de fibras, o que caracteriza um processo de regeneração muscular.

Tal hipótese foi observada por Kuttappan *et al.* [17], os quais atribuíram que o aumento da taxa de crescimento da ave associado aos graus de severidade de *white striping* podem promover um excessivo aumento do comprimento ou isquemia das fibras musculares, ocasionando o aparecimento de lesões musculares e o início da regeneração tecidual. O tecido muscular estriado não possui capacidade mitótica, porém

pode se recompor após danos físicos consideráveis devido à presença de células satélites que possuem capacidade de dividir-se mitoticamente e resultar em hiperplasia.

De acordo com Gonzales e Sartori [18], ao ocorrer alterações estruturais musculares, as células satélites de fibras saudáveis atravessam a lâmina basal e reparam fibras vizinhas, podendo ocorrer um processo de hiperplasia muscular.

Conforme descrito por Kennedy *et al.* [19], o mesmo processo ocorre em aves submetidas a esforço muscular onde foi possível verificar a formação de novas fibras no músculo *Anterior latíssimus dorsi*. Tal fato foi confirmado por Remignon *et al.* [20, 21] que demonstraram que os animais de crescimento rápido apresentaram até 20% mais número de fibras no músculo *Anterior latíssimus dorsi*.

Como demonstrado na Tabela 2, não houve diferença significativa entre os peitos de graus de severidade moderado (MOD) e severo (SEV) em nenhuma das medidas morfométricas estudadas. Entretanto, ambos os graus apresentaram diferença nas variáveis de diâmetro mínimo da fibra, densidade de fibra e área muscular total, quando comparadas às amostras classificadas sem presença de *white striping* (NORM).

Tabela 2 – Peso, diâmetro mínimo e densidade de volume da fibra muscular nos diferentes graus de *white striping* (WS).

Grau	Peso do	Diâmetro	Densidade	Área total	Volume
WS	peito (g)*	mín. fibra	(fibras/cm²)	(cm²)	parcial (%)
		(µm)			
NORM	290,5 ± 17,5	20,84 ± 0,72 ^a	375,44 ± 42,01 ^a	0,44 ± 0,05 ^a	47,61 ± 4,6
MOD	305,5 ± 43,6	19,23 ± 1,17 ^b	456,70 ± 71,70 ^b	0,38 ± 0,04 ^b	45,76 ± 7,0
SEV	335,5 ± 23,6	19,11 ± 1,18 ^b	460,84 ± 67,78 ^b	0,37 ± 0,04 ^b	45,24 ± 7,2

^{ab} Significa que cada grau de *white striping* com letras diferentes possui diferença significativa ($P < 0,05\%$). NORM = grau normal; MOD = grau moderado; SEV = grau severo de *white striping*. *co-variável.

Os resultados mostram maior densidade (número de fibras/cm²) ($p=0,004$) nos peitos acometidos com *white striping* (456,70 ± 71,70; 460,84 ± 67,78; MOD; SEV, respectivamente) quando comparados aos peitos classificados como normais (375,44 ± 42,01). Este aumento da densidade das fibras musculares em uma fase pós-eclosão pode

ser originário da migração de células satélites ao sítio da lesão muscular e consequente divisão mitótica destas células reparadoras [18].

Além disto, os valores dos diâmetros das fibras musculares (μm) dos graus moderado ($19,23 \pm 1,17$) e severo ($19,11 \pm 1,18$) foram menores ($p < 0,001$) que os encontrados nos peitos sem esta miopatia ($20,84 \pm 0,72$). Os dados corroboram com Zhao *et al.* [22] que, ao estudarem frangos de corte de diferentes linhagens e idades, encontraram diâmetros de $23,7 \pm 1,6$ e $42,5 \pm 1,2 \mu\text{m}$ e densidades de $780,4 \pm 42,9$ e $446,3 \pm 57,9$ fibras/ cm^2 , respectivamente. Conforme Sifre *et al.* [23], há uma estreita relação entre as medidas de diâmetro e densidade da fibra muscular, sendo que quanto menor o diâmetro, maior a densidade. Resultado confirmado no presente estudo ao encontrar um valor de correlação negativo entre estas variáveis (-0,54) (Tabela 3).

Os autores supracitados também atribuíram à diferença na densidade da fibra encontrada em peitos de frangos de corte de diferentes linhagens, pela provável diferença no conteúdo de fosfolipídeos presentes no sarcolema das células dos músculos com maior densidade de fibra, fato que ainda precisa ser estudado.

Em frangos de corte, a seleção para crescimento tem demonstrado aumento no peso do músculo em animais com a mesma idade devido ao aumento do número e tamanho das fibras [21, 24, 25]. Entretanto, de acordo com Prentis *et al.* [26], o tamanho da fibra possui uma maior representatividade que o número de fibras na determinação do tamanho muscular. Não obstante, um estudo feito por Scheuermann *et al.* [25] sugeriu que o aumento no número de fibras musculares também pode contribuir para o aumento do rendimento do peito mesmo que confirmado que a hipertrofia da fibra seja um fator essencial para um aumento no volume muscular. No presente estudo, não foi encontrada diferença significativa para o volume parcial (%) de tecido muscular entre os diferentes graus de *white striping*.

Visando determinar as medidas morfométricas que apresentaram correlação entre si, realizou-se uma análise exploratória dos dados através da estimativa da matriz de correlação (Tabela 3).

Tabela 3 – Matriz de correlação entre as variáveis densidade de volume parcial (Vv), área total, densidade e diâmetro mínimo de fibras musculares.

	Peso (g)	Vv (%)	Área Total (cm²)	Densidade (fibras / cm²)	Diâmetro mín. fibra (µm)
Peso (g)	1	-0,06	-0,17	0,15	0,02
Vv (%)	-	1	0,19	-0,29	0,06
Área total (cm²)	-	-	1	-0,43	0,55
Densidade (fibras / cm²)	-	-	-	1	-0,54
Diâmetro mín. fibra (µm)	-	-	-	-	1

De acordo com os resultados da Tabela 3, há uma correlação positiva entre o diâmetro mínimo da fibra com a área total de fibra muscular (0,55), o que indica que quanto menor o diâmetro, menor a área total, corroborando com os dados numéricos apresentados na Tabela 2.

Entretanto, foi verificada correlação negativa entre a densidade de fibras e o volume parcial (-0,29), indicando que o aumento da quantidade de fibras pode diminuir o volume parcial deste tecido. No presente estudo esta variável (Vv) não apresentou diferença entre os graus de miopatia, provavelmente porque houve diminuição de diâmetro das fibras associado ao aumento do número de fibras em resposta a injúria sofrida pelo tecido muscular, mantendo o volume parcial do tecido muscular. Esta manutenção dos valores de volume parcial de tecido muscular, determinadas por estereologia, pode sugerir não haver substituição de tecido muscular por tecido conjuntivo ou adiposo, caracterizando o início de processo de regeneração celular.

Cabe salientar que outros estudos [2] evidenciaram proliferação de tecido conjuntivo em filés de peito de seis (6) e oito (8) semanas acometidos com *white striping* de grau severo. Os autores atribuíram esta substituição tecidual ser consequência da cronicidade da miopatia e que provavelmente alteraria o volume parcial de tecido muscular. Estes dados são contraditórios na literatura, pois existem estudos que não evidenciaram proliferação de tecido conjuntivo nesta condição (Ferreira *et al.* dados não publicados).

CONCLUSÃO

1. A condição de *white striping* apresentou alteração nas características morfométricas das fibras musculares do músculo *Pectoralis major* de frangos de corte da linhagem Cobb 500 abatidos aos 42 dias de vida.
2. Os graus moderado e severo de *white striping* não apresentaram diferenças nas características morfométricas das fibras do músculo *Pectoralis major*.
3. Conforme os resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que as fibras acometidas com os graus moderado e severo de *white striping* demonstram o início de um processo de regeneração muscular, de característica hiperplásica.

REFERÊNCIAS

1. Kuttappan, V. A., Y. S. Lee, G. F. Erf, J. F. C. Meullenet, S. R. McKee, and C. M. Owens. 2012a. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. *Poult. Sci.* 91:1240-1247.
2. Bauermeister, L. J., A. U. Morey, E. T. Moran, M. Singh, C. M. Owens, and S. R. McKee. 2009. Occurrence of White Striping in chicken breast fillets in relation to broiler size. *Poult. Sci.* 88 (Suppl. 1):33. (Abstr.).
3. Kuttappan, V. A., S. D. Goodgame, C. D. Bradley, A. Mauromoustakos, B. M. Hargis, P. M. Waldroup, and C. M. Owens. 2012b. Effect of different levels of dietary vitamin E (DL- α -tocopherol acetate) on the occurrence of various degrees of white striping on broiler breast fillets. *Poult. Sci.* 91:3230-3235.
4. Soike, D., Bergmann, V. 1997. Performance-dependent health disorders in poultry with special reference to differences in muscle characteristics between layer- and meat type chickens. *International Conference On Production Diseases in Farm Animals*, 9:186.
5. Mills, L.J. 2001. Skeletal muscle characteristics of commercial and traditional strains of turkey. Ph.D. Thesis, University of Manchester.
6. Macrae, V.E. *et al.* 2006. Skeletal muscle fibre growth and growth associated myopathy in the domestic chicken (*Gallus domesticus*). *Brit. Poult. Sci.* 47(3):264-272.

7. Wilson, B. W., P. S. Nieberg, R. J. Buhr, B. J. Kelly, and F. T. Schultz. 1990. Turkey muscle growth and focal myopathy. *Poult. Sci.* 69:1553-1562.
8. Sosnicki, A.A., Wilson, B.W. 1991. Pathology of turkey skeletal muscle: implications for the poultry industry. *Food Structure*, 10 (4):317-326.
9. Velleman, S.G. *et al.* 2003. Effect of selection for growth rate on muscle damage during turkey breast muscle development. *Poult. Sci.* 82(7):1069-1074.
10. Kuttappan, V. A., V. B. Brewer, F. D. Clark, S. R. McKee, J. F. Meullenet, J. L. Emmert, and C. M. Owens. 2009. Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets. *Poult. Sci.* 88 (Suppl.1):447P (Abstr.).
11. Dubowitz, V. *et al.* 2013. *Muscle biopsy – A practical approach*. 4rd ed, London: Saunders Elsevier, 572p.
12. Wilson, B.W. *et al.* 1990. Turkey muscle growth and focal myopathy. *Poult. Sci.* 69(9):1553-1562.
13. Ferreira, T.Z.; Kindlein, L. 2013. Ocorrência de white striping em peitos de frangos de corte de diferentes pesos. XII Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, 27:218-219.
14. R Core Team. 2013. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
15. Pinheiro, J., D. Bates, S. DebRoy, D. Sarkar and the R Development Core Team. 2013. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-113.
16. Hothorn, T., F. Bretz, and P. Westfall. 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biom. J.* 50:346-363.
17. Kuttappan, V.A. *et al.* 2013b. Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. *Poult. Sci.* 92(2):331- 338.
18. Gonzales, E.; Sartori, J.R. 2002. Crescimento e metabolismo muscular. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP.
19. Kennedy, J.M. *et al.* 1988. Nascent muscle fibre appearance in overloaded chicken slow-tonic muscle. *American Journal Anatomic*, 181(2):203-215.
20. Remignon, H. *et al.* 1994. Effects of divergent selection for body weight on three skeletal muscle characteristics in the chicken. *Brit. Poult. Sci.* 35(1):65-67.

21. Remignon, H. *et al.* 1995. Selection for rapid growth increases the number and the size of muscle fibers without changing their typing in chickens. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 16(2):95-102.
22. Zhao, G.P. *et al.* 2011. Comparison of breast muscle meat quality in 2 broiler breeds. *Poult. Sci.* 90:2355-2359.
23. Sifre, L., P. Berge, E. Engel, J.F. Martin, and J. Culioli. 2005. Influence of the spatial organization of the perimysium on beef tenderness. *J. Agric. Food Chem.* 53:8390-8399.
24. Burke, W. H., Henry, M. H. 1997. Characteristics of the pectoralis superficialis and semimembranosus of broiler stain chickens, bantam chickens, and the reciprocal crosses. *Poult. Sci.* 76(5):767-773.
25. Scheuermann, G.N. *et al.* 2004. Comparison of chicken genotypes: Myofiber number in pectoralis muscle and myostatin ontogeny. *Poult. Sci.* 83(8):1404-1412.
26. Prentis, P. F., R. K. Penney, and G. Goldspink. 1984. Possible use of an indicator muscle in future breeding experiments in domestic fowl. *Br. Poult. Sci.* 25:33-41.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, foram estudadas as características histopatológicas de frangos de corte aos 42 dias acometidos com graus moderado e severo de *white striping* e sua incidência, além das possíveis alterações histomorfológicas que esta condição pode causar nas fibras musculares.

Com os resultados deste trabalho, pode-se concluir que:

1. Histopatologicamente, a presença de *white striping* causa mudanças na integridade da fibra muscular nos graus moderado e severo, apresentando degeneração miofibrilar e, nos casos severos, necrose difusa e acentuada.
2. Não foi evidenciada a proliferação de tecido conjuntivo em frangos de corte com 42 dias de idade acometidos com diferentes graus de *white striping*, sugerindo que esta condição é de caráter agudo.
3. Foi verificada maior incidência de peitos acometidos com o grau MOD (75%) quando comparado ao grau SEV.
4. Histomorfometricamente verificou-se maior densidade de fibras, menor área de tecido muscular e menor diâmetro das fibras nos músculos *Pectoralis major* de frangos acometidos com *white striping* (MOD e SEV) quando comparado aos peitos sem esta condição (NORM).
5. Pode-se concluir que as fibras musculares com os graus de severidade moderado e severo de *white striping* demonstraram o início de um processo de regeneração muscular, de característica hiperplásica.
6. São necessárias novas pesquisas específicas analisando as verdadeiras alterações celulares e os processos de degeneração e regeneração celular que ocorrem na formação desta condição, além de possíveis distúrbios iônicos geradores de alterações bioquímicas decorrentes desta miopatia.

REFERÊNCIAS

- ABERLE, E.D.; STEWART, T.S. Growth of fiber types and apparent fiber number in skeletal muscle of broiler- and layer- type chickens. **Growth**, Philadelphia, v. 47, n. 2, p. 35-144, 1983.
- ASHMORE, C.R.; DOERR, L. Post natal development of fibers types in normal and dystrophic skeletal muscle of the chick. **Experimental Neurology**, Orlando, v. 30, n. 3, p. 431-446, Mar, 1971.
- BANKS, W.J. Tecido muscular. *In*: **Histologia veterinária aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992. p.215-236.
- BARNARD, E.A. *et al.* Fibre types in chicken skeletal muscles and their changes in muscular dystrophy. **The Journal of Physiology**, London, v. 331, p. 333-354, Oct, 1982.
- BAUERMEISTER, L.J. *et al.* Occurrence of white striping in chicken breast fillets in relation to broiler size. **Poultry Science**, Champaign, v. 88 (Suppl.1), n. 33. (Abstr.). 2009.
- BERRI, C. *et al.* Consequence of muscle hypertrophy on characteristics of pectoralis major muscle and breast meat quality of broiler chickens. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.85, n. 8, p. 2005-2011, Aug, 2007.
- BESSI, W. Welfare of broilers: A review. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n.3, p. 455-466, Sept, 2006.
- BUNYAN, J. *et al.* Lysosomal enzymes and vitamin E deficiency. **British Journal of Nutrition**, London, v. 21, p. 137-145, 1967.
- BURKE, W.H.; HENRY, M.H. Characteristics of the pectoralis superficialis and semimembranosus of broiler stain chickens, bantam chickens, and the reciprocal crosses. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 5, p. 767-773, May, 1997.
- CHALMERS, G.A. Monensin toxicity in broiler chickens. **Canadian Veterinary Journal**. Toronto, v.22, n.1, p. 21-22, 1981.
- CHIST, B.; BRAND-SABERI, B. Limb muscle development. *In*: **The International Journal of Developmental Biology**, Vizcaya, v. 46, n. 7, p. 905-914, 2002.
- DAM, H.; PHANGE, I.; SONDERGAARD, E. Muscular degeneration (white striation of muscles) in chicks reared on vitamin E deficient, low fat diets. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, Copenhagen, v.31, n.2, p. 172-184, 1952.
- DOWLING, L. 1992. Ionophore toxicity in chickens: A review of pathology and diagnosis. **Avian Pathology**, London, v. 21, n.3, p. 355-368, Sept, 1992.

DRANSFIELD, E.; SOSNICKI, A. Relationship between muscle growth and poultry quality. **Poultry Science**, Champaign, v. 78, n. 5, p. 743-746, May, 1999.

DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. **Muscle biopsy – A modern approach**. London: Saunders, 1984. 472p.

DUBOWITZ, V. *et al.* **Muscle biopsy – A practical approach**. 4th ed, London: Saunders Elsevier, 2013. 572p.

DUCLOS, M.J.; BERRI, C.; LE BIHAN-DUVAL, E. Muscle growth and meat quality. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v. 16, n.1, p. 107-112, 2007.

DYCE, K.M.; WENSING, C.J.G. Anatomy of birds. *In: _____*. (Ed.). **Textbook of veterinary anatomy**. 4.ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2010. Cap. 37. P.784-813.

FELÍCIO, A.M. *et al.* Associação genética entre peso de peito e diâmetro de fibras musculares em frangos. **45^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Lavras, Julho, 2008.

FERGUSON, T.M. *et al.* Muscular dystrophy in avian species. **Texas Report on Biology and Medicine**, Galveston, v. 22 (Suppl. 1), p. 910-912, Dec, 1964.

FERNANDES, J.I.M. *et al.* Effect of arginine on the development of the pectoralis muscle and the diameter and the protein: deoxyribonucleic acid rate of its skeletal myofibers in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 7, p. 1399-1406, July, 2009.

FERREIRA, T.Z.; KINDLEIN, L. Ocorrência de white striping em peitos de frangos de corte de diferentes pesos. *In: XII Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos*, Gramado, v. 27, n. 218-219, 4p, Abril, 2013.

GUERNEC, A. *et al.* Muscle development, insulin-like growth factor-I and myostatin mRNA levels in chickens selected for increased breast muscle yield. **Growth Hormone & IGF Research**, Edinburgh, v.13, n.1, p.8-18, Feb, 2003.

GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e metabolismo muscular. *In: MACARI, M; FURLAN, R.L.; GONZALES,E. (Ed.). Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. Cap.21, p. 279-297.

HANRAHAN, L.A.; CORRIER, D.E.; NAQI, S.A. Monensin toxicosis in broiler chickens. **Veterinary Pathology**, Cary, v.18, n. 5, p. 665-671, Sept, 1981.

HAVENSTEIN, G.B.; FERKET, P.R.; QURESHI, M.A. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 10, p. 1500-1508, Oct. 2003.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrical Journal**, Weinheim, v. 50, n. 3, p. 346-363, Jun, 2008.

ISHIMOTO, S.; GOTO, I.; KUROIWA, Y. Early morphological changes in the striated muscles in normal and dystropic chickens. **Journal of Comparative Pathology**, Liverpool, v. 98, n.1, p.69-79, Jan, 1988.

IWAMOTO, H.; ONO, Y.; TAKAHARA, H. Breed differences in the histochemical properties of the *M. Pubo-ischeo-femoralis Pars Medialis* myofibre of domestic cocks. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 34, n. 2, p. 309-322, May, 1993.

KENNEDY, J.M. *et al.* Nascent muscle fibre appearance in overloaded chicken slow-tonic muscle. **American Journal Anatomic**, Philadelphia, v. 181, n. 2, p. 203-215, Feb, 1988.

KLASING, K.C. Nutritional diseases. In: Saif *et al.* (Ed.) **Diseases of Poultry**. 12th, Ames, IA. 2008, p. 1027-1052.

KUTTAPPAN, V.A. *et al.* Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets. **Poultry Science**, Champagnain, v.88 (Suppl.1), n. 447 (Abstr.). 2009.

KUTTAPPAN V.A. *et al.* Histopathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. **Poultry Science**, Champaign, v.90, n.160 (Abstr.). 2011a.

KUTTAPPAN, V.A. *et al.* Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, Champagne, v. 90:660 (Abstr.), 2011b.

KUTTAPPAN, V.A. *et al.* Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. **Poultry Science**, Champaign, v.91, n. 5, p. 1240-1247, May. 2012a.

KUTTAPPAN, V.A. *et al.* Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 10, p. 2677-2685, Oct. 2012b.

KUTTAPPAN, V.A. *et al.* Effect of different levels of dietary vitamin E (DL- α -tocopherol acetate) on the occurrence of various degrees of white striping on broiler breast fillets. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 12, p. 3230-3235, Dec. 2012c.

KUTTAPPAN, V.A. *et al.* Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, v. 92, n. 3, p. 811-819, Mar, 2013a.

KUTTAPPAN, V.A. *et al.* Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n.2, p. 331- 338, Feb, 2013b.

KUTTAPPAN, V.A. *et al.* Comparison of hematologic and serologic profiles of broiler birds with normal and severe degrees of white striping in breast fillets. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 2, p. 339-345, Feb, 2013c.

LAWRIE, R.A. **Ciência da Carne**, 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 382p.

LE BIHAN-DUVAL, E.; MILLET, N.; REMIGNON, H. Broiler meat quality: effect of selection for increased carcass quality and estimates of genetic parameters. **Poultry Science**, Champaign, v. 78, n.6, p. 822-826, June, 1999.

LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 13. ed. New York: McGraw-Hill, 258p, 1968.

MACHLIN, L.J.; PEARSON, P. Studies on utilization of sulfate sulfur for growth of the chicken. Proceedings of the Society for Experimental Biology Medicine, New York, v. 93, n.2, p. 204-206, Nov, 1956.

MACHLIN, L.J.; SHALKOP, W.T. Muscular degeneration in chickens fed diets low in vitamin E and sulfur. *Journal of Nutrition*, cidade, v. 60, n.1, p. 87-96, Sept, 1956.

MACRAE, V.E. *et al.* Skeletal muscle fibre growth and growth associated myopathy in the domestic chicken (*Gallus domesticus*). **British Poultry Science**, Edinburgh. v. 47, n. 3,p. 264-272, June. 2006

MACRAE, V.E. *et al.* A comparison of breast muscle characteristics in three broiler great-grandparent lines. **Poultry Science**, Champaign, v.86, n. 2, p. 382-385, Feb, 2007.

MADEIRA, L.A. *et al.* Morfologia das fibras musculares esqueléticas de frangos de corte de diferentes linhagens criados em sistemas de confinamento e semiconfinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.6, p.2322-2332, Nov/Dez, 2006

MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Estereologia. *In: _____*. (Ed.). **Métodos quantitativos em morfologia**. Rio de Janeiro: Eduerj, 1995. Cap. 3, p. 123

MAURO A. Satellite cell of skeletal muscle fibres. **Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, Baltimore, v. 9, p. 493-495, Feb, 1961.

MCCORMICK, R.J. Extracellular Modifications to Muscle Collagen: Implications for Meat Quality. **Poultry Science**, Champaign, v.78, n. 5, p.785–791, May, 1999.

MILLS, L.J. **Skeletal muscle characteristics of commercial and traditional strains of turkey**. Ph.D. Thesis, University of Manchester. 2001

MITCHELL, M.A. Muscle abnormalities—pathophysiological mechanisms, in: RICHARDSON, R.I. & MEAD, G.C. (Eds) **Poultry Meat Science**, Poultry Science Symposium Series, p. 65-98, Wallingford, CAB International. 1999

MOSS, E. P.; LEBLOND C. P. Satellite cells as the source of nuclei in muscle of growing rats. **Anatomical Records**, New York, v. 170, n. 4, p. 421-436, Aug, 1971.

NESHEIM, M.C.; LEONARD, S.L.; SCOTT, M.L. Alterations in some biochemical constituents of skeletal muscle of vitamin E-deficient chicks. **British Journal of**

Nutrition, London, v. 68, p. 359-369, 1959.

NETKE, S.P. *et al.* Muscular dystrophy in chicks fed crystalline amino acid diets. **British Journal of Nutrition**, London, v. 99, p. 315-319, 1969.

NOGUEIRA, E. A importância da lisina para frangos de corte, 2005. Disponível em: <[http://www.lisina.com.br/upload/Materia_lisina_Jornal%20Nossa%20Terra\(1\).pdf](http://www.lisina.com.br/upload/Materia_lisina_Jornal%20Nossa%20Terra(1).pdf)>. Acesso em: 15 de dez. de 2013.

OWENS, C.M.; VIEIRA, S.L. Estriação branca em carne de peito de frangos de corte. *In*: VIEIRA, S.L. (Ed.). **Qualidade de carcaça de frangos de corte – Uma avaliação a partir dos locais de produção**. 2. ed. São Paulo: Zinpro Corp, 2012. Cap. 4, p. 83-88.

PAVARINI S.P. *et al.* Mortes súbitas em bovinos causadas por *Amorimia exotropica* (Malpighiaceae) no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.31, n. 4, p. 291-296, Abril, 2011.

PRATA, L.F.; FUKUDA, R.T. **Fundamentos de Higiene e Inspeção de Carnes**. Jaboticabal: FUNEP, 2001, 326p.

PETER, J.B. *et al.* Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in Guinea pig and rabbits. **Biochemistry**, Washington, v.11, n.14, p.2627-2633, July, 1972.

PETRACCI, M.; BIANCHI, M.; CAVANI, C. The European perspective on pale, soft, exudative conditions in poultry. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 7, p. 1518-1523, July, 2009.

PETRACCI, M.; CAVANI, C. Muscle Growth and Poultry Meat Quality Issues. **Nutrients**, Basel, v. 4, n.1, p. 1-12, Jan, 2012.

PETRACCI, M. *et al.* Occurrence of white striping under comercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 6, p. 1670-1675, June, 2013a.

PETRACCI, M. *et al.* Comparison of breast muscle traits and meat quality characteristics in 2 commercial chicken hybrids. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 9, p. 2438-2447, Sept, 2013b.

PICARD, B. *et al.* Skeletal muscle proteomics in livestock production. **Briefings in Functional Genomics & Proteomics**, Oxford, v. 9, n. 3, p. 259-278, May, 2010.

PINHEIRO, J.; BATES, D.; DEBROY, S; SARKAR, D. R Development Core Team. **nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models**. R package version 3.1-113. 2013.

PRENTIS, P. F.; PENNEY, R. K.; GOLDSPINK, G. Possible use of an indicator muscle in future breeding experiments in domestic fowl. **British Poultry Science**, Endimburg, v. 25, n.1, p.33-41, Jan, 1984.

QUADROS, T.C.O. **Rendimento, qualidade, morfometria do músculo peitoral (Pectoralis major) e desempenho de frangos de corte em resposta às dietas formuladas com diferentes níveis de lisina digestível.** Jaboticabal: UNESP, 2012. 92p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013.

REMIGNON, H. *et al.* Effects of divergent selection for body weight on three skeletal muscle characteristics in the chicken. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 35, n. 1, p. 65-67, March, 1994.

REMIGNON, H. *et al.* Selection for rapid growth increases the number and the size of muscle fibers without changing their typing in chickens. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, London, v.16, n. 2, p.95-102, April, 1995.

REMIGNON, H. *et al.* Occurrence of giant myofibers according to muscle type, pre or post-rigor state and genetic background in turkeys. **Meat Science**, v. 56, n. 4, p. 337-343, Dec, 2000.

ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** 2.ed. Viçosa: UFV, 2005.

SANDERCOCK, D.A. *et al.* Acute heat stress-induced alterations in blood acid-base status and skeletal muscle membrane integrity in broiler chickens at two ages: implications for meat quality. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, n. 4, p. 418-425, April, 2001.

SANTE, V. *et al.* Post mortem evolution in the pectoralis superficialis muscle from two turkey breeds: relationship between pH and colour changes. *In: 37th International Congress of Meat Science Technology*, Kulmbach, Germany. Wagening Acad. Publ., p. 465-468, Netherlands, 1991.

SCHEUERMANN, G.N. *et al.* Comparison of chicken genotypes: Myofiber number in pectoralis muscle and myostatin ontogeny. **Poultry Science**, Champaign, v.83, n.8, p.1404-1412, Aug, 2004a.

SCHEUERMANN, G.N. Alteração na quantidade e qualidade da carne de aves através da manipulação das fibras musculares. *In: Conferência Apinco De Ciência e Tecnologia Avícolas*, Santos, v.2, p.165-178, 2004b.

SCHMIDT, C. J. *et al.* Comparison of a modern broiler line and a heritage line unselected since the 1950s. **Poultry Science**, Champaign, v.88, n. 12, p.2610-2619, Dec, 2009.

SIFRE, L. et al. Influence of the spatial organization of the perimysium on beef tenderness. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 21, p. 8390-8399, Oct, 2005.

SOIKE, D.; BERGMANN, V. Performance-dependent health disorders in poultry with special reference to differences in muscle characteristics between layer- and meat type chickens. *In: International Conference On Production Diseases in Farm Animals*, Berlin, v. 9, p.186, Sept., 1997

SOIKE, D.; BERGMANN, V. Comparison of skeletal muscle characteristics in chicken breed for meat or egg production. I. Histological and electron microscope production. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 45, n. 3, p. 161-167, April, 1998.

SOSNICKI, A.A. Focal myonecrosis effects in turkey muscle tissue. *In: 46th Annual Reciprocal Meat Conference*, Chicago, v. 46, p. 97-102, 1994.

SOSNICKI, A.A.; WILSON, B.W. Pathology of turkey skeletal muscle: implications for the poultry industry. **Food Structure**, v. 10, n. 4, p. 317-326, 1991.

SCOTT, M.L. *et al.* Studies on vitamin E in poultry nutrition. **British Journal of Nutrition**, London, v. 56, p. 387-402, 1955.

STICKLAND, N.C. Microstructural aspects of skeletal muscle growth. *In: 2nd Dummerdorf Muscle Workshop—Muscle Growth and Meat Quality*. Rostock, p. 1–9, 1995.

TRICHES, D.; CALDART, W. L.; SIMAN, R.F.; STÜLP, V. J. A cadeia produtiva da carne de frango da região da serra gaúcha: Uma análise da estrutura de produção e mercado. *In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural*, Ribeirão Preto, USP, v. 1, Set, 2004

UBABEF – União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2013. Disponível em: <http://www.abef.com.br/ubabef/publicacoes_relatoriosanuais.php>. Acesso em: 05 dez. 2013.

VANDEN BERGE, J.C. Miology. *In: Getty, R. (Ed.). The anatomy of the domestic animals*. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 1975, v.2, cap. 61, p. 1802-1848.

VELLEMAN, S.G. *et al.* Effect of selection for growth rate on muscle damage during turkey breast muscle development. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 7, p. 1069-1074, July. 2003

VELLEMAN, S.G.; NESTOR, K.E. Effect of selection for growth rate on myosin heavy chain temporal and spatial localization during turkey breast muscle development. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 9, p.1373-1377, Sept, 2003.

VERDIGLIONE, R.; CASSANDRO, M. Characterization of muscle fiber type in pectoralis major muscle of slow-growing local and commercial chicken strains. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 9, p. 2433-2437, Sept, 2013.

VOILÀ, M.; TRICHES, D. A cadeia de frango: uma análise dos mercados brasileiro e mundial de 2002 a 2010. Disponível em: <https://www.ucs.br/site/midia/arquivos/TD_44_JAN_2013_1.pdf>. Acesso em 13 dez. 2013.

ZHAO, G.P. *et al.* Comparison of breast muscle meat quality in 2 broiler breeds. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, n. 10, p. 2355-2359, Oct, 2011.

ZAPATA, I. *et al.* Comparative proteomic characterization of the sarcoplasmic proteins in the pectoralis major and supracoracoideus breast muscle in 2 chicken genotypes. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 7, p. 1654-1659, July, 2012.

ZHANG, L. *et al.* Effect of monochromatic light stimuli during embryogenesis on muscular growth, chemical composition, and meat quality on breast muscle in male broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 4, p. 1026-1031, April, 2012.

ZIMERMANN, F.C. **Miopatia dorsal cranial em frangos de corte: caracterização anatomopatológica colheita e análise de dados.** Porto Alegre: UFRGS, 2008. 83 p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008

WEIBEL, E.R. Stereological methods. *In*: _____ (Ed.). **Practical methods for biological morphometry.** New York: Academic Press, v.1, p. 375-376, 1979.

WILSON, B.W. *et al.* Turkey muscle growth and focal myopathy. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n. 9, p. 1553-1562, Sept, 1990.

ANEXO A

Cópia da instrução aos autores do periódico Journal of Applied Poultry Research

©2013 Poultry Science Association, Inc.

Journal of Applied Poultry Research: Instructions to Authors¹

Editorial Policies and Procedures

The mission of *Journal of Applied Poultry Research* (JAPR) is to provide practical, reliable, and timely information to those whose livelihoods are derived from the commercial production of poultry and those whose research benefits this sector; address topics of near-term application based on appropriately designed studies and critical observations; encourage scientific approaches to practical problem solving; and present information comprehensible to a broad readership.

By submission of a manuscript, the authors guarantee to the journal that the work described has not been published before (except in the form of an abstract or as part of a published lecture, review, thesis, or dissertation); that it is not under consideration for publication elsewhere; and that its publication has been approved by all coauthors, if any; as well as by the responsible authorities at the institute where the work has been carried out. Appropriate identification of previously published preliminary reports should be provided in a title page footnote. Translations of an article into other languages for publication require approval by the editor-in-chief. Opinions or views expressed in papers published by JAPR are those of the authors and do not necessarily represent the opinion of the Poultry Science Association (PSA) or the editor-in-chief.

Before manuscripts are submitted, authors should have them read critically by others well versed in English to facilitate review; all co-authors should approve the manuscript before its submission to the journal.

Contact Information for Journal Staff

For information on the scientific content of the journal, contact the editor-in-chief, Dr. Jesse Grimes, North Carolina State University, Department of Poultry Science, Box 7608, Raleigh, NC 27695 (e-mail: jesse_grimes@ncsu.edu).

For assistance with ScholarOne Manuscripts, manuscript submission and copyright forms, or page charge and offprint orders, contact Shanna Miller, headquarters office, 1800 South Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820 (FAX: 217-378-4083; shannam@assochoq.org).

For permissions or other information contact Susan Pollock, managing editor, Headquarters Office, Poultry Science Association, 1800 South Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820, (telephone: 217-356-7641; FAX: 217-378-4083; journals@assochoq.org).

Care and Use of Animals

Authors must make it clear that experiments were conducted in a manner that avoided unnecessary discomfort to the animals by the use of proper management and laboratory techniques. Experiments shall be conducted in accordance with the principles and specific guidelines presented in *Guidelines for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching*, 3rd ed., 2010 (Federation of Animal Science Societies, 1800 South Oak St., Suite 100, Champaign, IL 61820); and, if applicable, *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (United States Department of Human Health and Services, National Institutes of Health, Publication Number ISBN 0-309-05377-3, 1996); or *Guide to the Care and Use of Experimental Animals*, 2nd ed., Vol. 1, 1993 (Canadian Council on Animal Care). Methods of killing experimental animals must be described in the text. In describing surgical

¹Updated December 2012.

procedures, the type and dosage of the anesthetic agent must be specified. Intraabdominal or intrathoracic invasive surgery requires anesthesia. This includes caponization. The editor-in-chief of JAPR may refuse to publish manuscripts that are not compatible with these guidelines. If rejected solely on that basis, however, the paper may be resubmitted for reconsideration when accompanied by a written verification that a committee on animal care in research has approved the experimental design and procedures involved.

Types of Articles

Research Reports. Most papers published in JAPR are research reports. The journal emphasizes the importance of good scientific writing and clarity in presentation of the concepts, apparatus, and sufficient background information that would be required for thorough understanding by scientists in other disciplines. The results of experiments published in JAPR must be replicated, either by replicating treatments within experiments or by repeating experiments.

In addition to research reports, other types of papers appear in the journal:

Field Reports. Field reports will be published when adequate background is available and conclusions can be supported by quantifiable laboratory or diagnostic results. The manuscript should follow the format outlined in the Style and Form. It should include a section titled Field Report in which the observations are explained and discussed under subheadings of Materials and Methods and Results and Discussion. Authors are encouraged to include subheadings for all major areas in this section.

Review Articles. Articles submitted to this section may cover new developments in a field, describe the evolution of a currently accepted management practice, propose changes in management based on current research, or describe procedures. Clear distinctions should be made between firmly established practices and unresolved questions. Articles should begin with a concise description of the topic, followed by a critical evaluation of the important references. Review articles, whether solicited or unsolicited, will be subject to a stringent review process.

Review articles should follow the general format outlined in the Style and Form when appropriate and include brief subheadings to separate main ideas. The title page should use the appropriate format and include a summary and statement of primary audience. Review articles may include tables, figures, and photographs. A Conclusions and Applications section should be included in most cases.

The use of copyrighted materials must be by permission of the copyright holder. Authors are responsible for obtaining copyright permissions and sending them to the managing editor.

Symposium and Workshop Articles. Manuscripts presented at the annual meeting as part of a symposium or workshop may be submitted with prior agreement by the editor-in-chief. These submissions will be subject to peer review and may be accepted or rejected in the same manner as other submissions. The format may be similar to reviews, research reports, or field reports, as outlined in the Style and Form.

Letters and Commentaries. The journal accepts letters, book reviews, and other free-form communications (used to correct errors, provide clarification, or offer other points of view on pertinent issues). Submissions may be edited in consultation with the author.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Authors should submit their papers online to our web-based submission and review system (<http://mc.manuscriptcentral.com/japr>). Detailed instructions for submitting electronically are provided online at that site. Authors who are unable to submit online should contact the editorial office (shamama@asochq.org) for assistance.

Copyright Agreement

When a manuscript is accepted for publication, the authors agree to transfer copyright to the publisher, that the manuscript will not be published elsewhere in any language without the consent of the copyright holders, that written permission of the copyright holder has been obtained by the authors for material used from other copyrighted sources (including tables, graphs, figures, and illustrations), and that any costs associated with obtaining this permission are the authors' responsibility.

The Manuscript Submission and Copyright Release Form (available on the JAPR Web site: <http://japr.fass.org/misc/ifaora.dtl>) must be completed and filed with the editorial office for each paper submitted; faxed copies are acceptable. The copyright agreement is included in the Manuscript Submission and Copyright Release form and must be completed by all authors before publication can proceed. The corresponding author is responsible for obtaining the signatures of co-authors. Authors who are not permitted to release copyright, such as federal employees, must still sign and return the form with a statement of the reason for not releasing the copyright.

REVIEW OF MANUSCRIPTS

The journal uses a two-stage review process. All manuscripts will first receive a preliminary review to ensure appropriateness for the journal. The second review will be a more detailed scrutiny by individuals knowledgeable in the specific subject area of the paper. Additional examination of the manuscript will be made by the editors.

The review process will be stringent. Names of authors will be made known to reviewers; reviewers may contact the authors directly with questions, suggestions, and comments if such contact will improve the paper or streamline the review process. The subject editors will handle all initial correspondence with authors during the review process; the editor-in-chief will notify the author of the final decision to accept or reject.

PRODUCTION OF PROOFS

Accepted manuscripts are forwarded to the editorial department for preparation for typesetting. At this point, a technical editor may contact the authors for missing information or table or figure revisions. The manuscript is then typeset, figures are reproduced, and author proofs are prepared.

Proofs

Author proofs of all manuscripts will be sent to the corresponding author indicated on the title page of the manuscript. Proofs should be read carefully, because the responsibility for proofreading is with the authors.

Corrections to the proof should be made neatly and clearly in the margins of the proof or in the pdf by using the notes/comments and text insertion/strikeout features in Adobe Acrobat or Reader. Galley proofs should be faxed (217-378-4083) to PSA headquarters. Proofs should be corrected and returned within 3 working days.

Editor queries appear in the text, within brackets and in boldface type. Queries should be answered on the galley proof; failure to do so may delay publication.

Publication Charges and Offprints

Two options are available for the publication of articles in this journal: conventional page charges and Open Access (OA).

Conventional Page Charges. The current charge for publication is \$60 per printed page (or fraction thereof) in the journal if at least one author is a current professional member of PSA. If no author is a member of PSA, the publication charge is \$85 per journal page.

OA. For authors who wish to publish their papers OA (freely available without subscription when the issue is posted online), authors will pay the OA fee when proofs are returned to the editorial office. Charges for OA are \$2,400 if at least one author is a current professional member of PSA; the charge is \$3,100 when no author is a professional member.

Offprints and Color Charges. Offprints may be ordered at an additional charge. Authors who submit articles containing color illustrations are responsible for paying the additional charge for color printing, including the printing of any reprints they order, and must agree in writing prior to publication to pay the additional charges (http://japr.fass.org/misc/JAPR_ColorChargeAgreement.pdf). When the galley proof is sent, the author is asked to complete an offprint order indicating the number of offprints desired and the name of the institution, agency, or individual responsible for publication charges.

MANUSCRIPT PREPARATION: STYLE AND FORM

Preparing the Manuscript File

Manuscripts should be submitted in Microsoft Word and should be double-spaced with lines and pages numbered consecutively using Times New Roman font at 12 points. All special characters (e.g., Greek, math, symbols) should be inserted using the symbols palette available in this font. Complex math should be entered using MathType or another equation editor. Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscripts (not placed in the text). Failure to follow these instructions may result in immediate rejection of the manuscript.

Metric or English units (or both) are acceptable. Authors should use units appropriate for the intended audience. Energy content of feeds will be expressed as calories.

Headings

Major Headings. Major headings are centered, boldface, in all capital letters, and consist of SUMMARY, DESCRIPTION OF PROBLEM, MATERIALS AND METHODS, RESULTS AND DISCUSSION, CONCLUSIONS AND APPLICATIONS, and REFERENCES AND NOTES.

Major headings in review articles, field reports, and symposium articles may vary from those listed here, but should include SUMMARY, CONCLUSIONS AND APPLICATIONS, and REFERENCES AND NOTES.

First Subheadings. First subheadings are boldface and italic, on a separate line beginning at the left margin, and have the first letter of each important word capitalized. Text that follows a first subheading should be in a new paragraph.

Second Subheadings. Second subheadings begin the first line of a paragraph. They are indented, boldface, italic, and followed by a period. The first letter of each important word is capitalized. The text follows immediately after the final period of the subheading.

Title Page

- The title should be indicative of the content. It should capture the interest of all who might benefit from information in the manuscript. However, the length of the title should be kept to a minimum.

- Address and affiliation of authors (listed by first name or initials, middle initial, and last name) should be included. Indicate to whom correspondence should be directed by means of a footnote, with the notation "Corresponding author: (e-mail address)" at the bottom of the title page.
- List 3 to 8 key words or phrases to identify the most important subjects covered by the paper.
- The running title should be 30 characters or less, including spaces.
- Statement of primary audience. To determine appropriateness for the journal and to assist in selecting reviewers, the author should indicate clearly what sector(s) within the poultry community (e.g., flock supervisors, nutritionists, quality assurance personnel, researchers, plant managers, veterinarians) could benefit most from the content of this article.

Summary

The Summary (12 to 16 lines) is not an abstract. It is intended to give readers with diverse backgrounds a general appreciation of the manuscript contents. It should be written so that even those not directly interested in the topic will enjoy reading at least this section to keep abreast of areas other than their own. This section should not include details of materials and methods or a detailed review of the results. Keep the summary free-flowing, giving the reader a general, not specific, idea of what the study revealed. Do not include reference citations in the summary.

Description of Problem

This section will acquaint the reader with the problem, citing field experiences where appropriate. Readability is of utmost importance. Detailed literature reviews may not be appropriate for this section. A more extensive citation of references should be included in the Results and Discussion or References and Notes section. This section should end with a statement of the objective(s) of the study.

Materials and Methods

The author(s) should clearly establish in the Materials and Methods section why the problem was approached in a particular way. The rationale for including each treatment should be clearly stated. Detailed laboratory and bird management procedures should be described in the References and Notes section and not in the Materials and Methods section. Sources of stock, equipment, and materials should be listed in the References and Notes section and referred to in text by citation number.

A brief statement of the statistical methods should be included, with more detailed descriptions placed in the References and Notes section.

In manuscripts using several treatments, a description of treatments should be included as Table 1.

Results and Discussion

This section begins with observed results and their interpretation. Descriptive subheadings may precede all major paragraphs and changes in subject emphasis. This section should discuss specifically how findings address the problem described in the Description of Problem section and how they are related to published works.

Statements regarding statistically significant differences between treatments in results should be included in the text, tables, and figures. Statements regarding differences should be avoided unless they are supported by statistical analyses and meet the stated level of probability (e.g., $P < 0.05$).

Conclusions and Applications

Conclusions and recommendations of the author(s) should be listed numerically. Each statement should be clear, concise, and without discussion. Authors are encouraged to summarize their significant findings, to identify further research needs, and to describe the constraints, economics, and other factors associated with using the results in scientific or commercial applications. Do not include references in this section.

References and Notes (with Acknowledgments)

References and notes should be cited in text, by number within an editorial bracket (e.g., [1]). In the References and Notes section, citations should be listed in the order they appear and are numbered in the text (not alphabetically). Authors are encouraged to use reference management software (e.g., EndNote or Reference Manager) to facilitate renumbering or inserting references by the editor or inserting references during the revision process. Manuscripts may be returned to authors *before* review for renumbering of references if not cited in numerical order. Include details such as statistical analysis; detailed procedures; sources of birds, instruments, or items; details of designed instruments; a literature review; and other tangential matters.

Cite acknowledgments at the end of this section in a subsection called *Acknowledgments*. These entries are not numbered.

Tables

Number tables consecutively according to the citation in the text. Tables must be created using the MS Word table feature and inserted in the manuscript after the references section. Each table must be placed on a separate page and must have a clear descriptive heading so that the meaning of the data will be understandable without reference to the text. Indicate footnotes to tables with numbers, beginning with 1. Statistical notation should be made with lowercase and uppercase superscript letters or with asterisks, as appropriate. Statistical notation should place the superscript "a" on the largest mean. Probability values may be indicated as follows: * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$, and † $P \leq 0.10$. Consult a recent issue of the journal for examples of tables.

Figures

- *Figure Size.* Prepare figures at the final size for publication. Figures should be created at the final publication size of 7 cm wide (2.75 inches) or 14 cm wide (5.5 inches).
- *Font Size.* Ensure that all type within the figure and axis labels is readable at the final publication size. A minimum type size of 8 points (after reduction) should be used.
- *Fonts.* Use Helvetica or Times New Roman. Symbols may be inserted using the Symbol palette in Times New Roman.
- *Line Weight.* For line graphs, use a minimum stroke weight of 1 point for all lines. If multiple lines are to be distinguished, use solid, long dash, short dash, and dotted lines. Avoid the use of color, gray, or shaded lines because these will not reproduce well. Lines with different symbols for the data points may also be used to distinguish curves.
- *Axis Labels.* Each axis should have a description and a unit. Units may be separated from the descriptor by a comma or parentheses, and should be consistent within a manuscript.
- *Shading and Fill Patterns.* For bar charts, use different fill patterns if needed (e.g., black, white, gray, diagonal stripes). Avoid the use of multiple shades of gray because they will not be easily distinguishable in print.
- *Symbols.* Identify curves and data points using the following symbols only: □, ■, ○, ●, ▲, ▼, △, ▽, 0, ◆, †, or ×. Symbols should be defined in a key on the figure if possible.

- *File Format.* Figures can be submitted in Word, PDF, EPS, TIFF, and JPEG. Avoid PowerPoint files and other formats. For the best printed quality, line art should be prepared at 600 ppi. Grayscale and color images and photomicrographs should be at least 300 ppi.
- *Grayscale Figures.* If figures are to be reproduced in grayscale (black and white), submit in grayscale. Often color will mask contrast problems that are apparent only when the figure is reproduced in grayscale.
- *Color Figures.* If figures are to appear in color in the print journal, files must be submitted in CMYK color (not RGB).
- *Photomicrographs.* Photomicrographs must have their unmagnified size designated, either in the caption or with a scale bar on the figure. Reduction for publication can make a magnification power designation (e.g., 100 \times) inappropriate.
- *Caption.* The caption should provide sufficient information so that the figure can be understood without excessive reference to the text. All author-derived abbreviations used in the figure should be defined in the caption.
- *General Tips.* Avoid the use of 3-dimensional bar charts unless essential to the presentation of the data. Use the simplest shading scheme possible to present the data clearly. Ensure that data, symbols, axis labels, lines, and the key are clear and easily readable at the final publication size.

Color Charge. The cost to publish in color in the print journal is \$995 per page of color; a surcharge for offprints will also be assessed. At the time of submission on ScholarOne Manuscripts, authors will be asked to approve color charges for figures that they wish to have published in color in the print journal. Color versions of figures will be included in the online PDF and full-text article at no charge.

Sample References

NOTE: The headings that appear above the following sample references and notes are for clarification in these instructions, but they are not used in an actual paper, except for *Acknowledgments*.

Journal Article

Damsky, L. M., and F. W. Hill. 1952. Application of the chromic oxide indicator method to balance studies with growing chicks. *J. Nutr.* 47:449–459.

Snow, J. L., M. W. Douglas, and C. M. Parsons. 2003. Phytase effects on amino acid digestibility in molted laying hens. *Poult. Sci.* 82:474–477.

Witter, R. L., and I. M. Gimeno. 2006. Susceptibility of adult chickens, with and without prior vaccination, to challenge with Marek's disease virus. *Avian Dis.* 50:354–365. doi:10.1637/7498-010306R.1

Monograph

NRC. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Dissertation

Heskett, E. A. 2003. Efficacy of a recombinant herpes virus of turkeys vector vaccine, expressing genes to Newcastle disease virus and Marek's disease virus, in chickens and turkeys against exotic Newcastle disease virus challenge. PhD Diss. Univ. Florida, Gainesville.

Trade Publication

Wilgus, H. S. 1973. Temperature-programmed feeding schedules and other means of conserving protein in market turkey production. *Feedstuffs* 45(27):27–31.

Book or Chapter in Book

AOAC International. 2007. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Rev. 2. AOAC Int., Gaithersburg, MD.

Whittow, G. C. 1976. Regulation of body temperature. Pages 146–173 in *Avian Physiology*. P. D. Sturkie, ed. Springer-Verlag, New York, NY.

Proceedings

Hruby, M., J. C. Rozema, and E. E. M. Pierson. 2004. Nutritional strategies to meet the challenge of feeding poultry without antibiotic growth promotants. Pages 3–5 in Proc. 2nd Mid-Atlantic Nutr. Conf., Timonium, MD. Univ. Maryland, College Park.

Federal Register

USDA, Plant and Animal Health Inspection Service. 2004. Blood and tissue collections at slaughtering and rendering establishments, final rule. 9CFR, part 71. Fed. Regist. 69:10137–10151.

Laboratory Procedure

The extract was added to 30 mL of hexane, made to 100 mL with 10% aqueous Na_2SO_4 .

Personal Communication

Wilson, H. R. 2005. Univ. Florida, Gainesville. Personal communication.

Proprietary Product

Incubator, Petarvina, Zulte, Belgium.

Avizyme TX, Fimfeed International, Marlborough, Wiltshire, UK.

Thymol, 99% purity, Acros Organics, Geel, Belgium.

Statistical Procedure

If a note has an embedded reference, the reference is cited by number (as in the text) or parenthetically within the note:

Data were analyzed by ANOVA with flock as the independent variable. When differences among flocks were significant, means were separated using Duncan's multiple range test (SAS User's Guide, 2001, Version 8 ed., SAS Institute Inc., Cary, NC). Pearson product-moment correlation coefficients were calculated between average percentage cracks from each flock recorded every week and average values for egg-specific gravity, breaking strength, percentage shell, shell thickness, and shell weight per unit of surface area. Significance implies $P < 0.05$.

Statistical Software

SAS User's Guide. 2001. Version 8 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

US Patent

El Halawani, M. E., and I. Rosenboim. 2004. Method to enhance reproductive performance in poultry. Univ. Minnesota, assignee. US Pat. No. 6,766,767.

Website

Dyro, F. M. 2005. Arsenic. WebMD. Accessed Feb. 2006. <http://www.emedicine.com/neuro/topic20.htm>.

Acknowledgments

The advice and technical assistance of Thomas Jones (affiliation, location) are acknowledged.

Abbreviations

The following abbreviations may be used without definition in the *Journal of Applied Poultry Research*. Phrases do not require "r". Chemical symbols and 3-letter abbreviations for amino acids do not need definition. Other abbreviations should be defined at first use in the summary and the main text, as well as in each table or figure in which they appear. Abbreviations are boldface at first use in the main text. Abbreviations should not be used in the manuscript title, running title, or to begin a paragraph or sentence. They can be used in section headings if previously defined. This list appears inside the back cover of each issue of the journal.

ADF	acid detergent fiber
ADFI	average daily feed intake
ADG	average daily gain
AME	apparent metabolizable energy
AME _N	nitrogen-corrected apparent metabolizable energy
ANOVA	analysis of variance
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BSA	bovine serum albumin
BW	body weight
°C	Celsius
cDNA	complementary DNA
CF	crude fiber
cfa	colony-forming units (following a numeral)
CI	confidence interval
CP	crude protein
cpm	counts per minute
CV	coefficient of variation
d	day
df	degrees of freedom
DM	dry matter
DNA	deoxyribonucleic acid
EDTA	ethylenediaminetetraacetate
EE	ether extract
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
°F	Fahrenheit
FCR	feed conversion ratio
FE	feed efficiency
ft	foot
g	gram
gal	gallon
G:F	gain-to-feed ratio
GLM	general linear model
h	hour

HEPES	<i>N</i> -(2-hydroxyethyl)piperazine- <i>N</i> '-2-ethanesulfonic acid
HPLC	high-performance (high-pressure) liquid chromatography
ICU	international chick units
Ig	immunoglobulin
IL	interleukin
i.m.	intramuscular
in.	inch
i.p.	intraperitoneal
IU	international units
i.v.	intravenous
kcal	kilocalorie
L	liter (also capitalized with any combination, e.g., mL)
lb	pound
L:D	hours of light:hours of darkness in a photoperiod
LSD	least significant difference
m	meter
μ	micro
<i>M</i>	molar
ME	metabolizable energy
ME _N	nitrogen-corrected metabolizable energy
MHC	major histocompatibility complex
mRNA	messenger ribonucleic acid
min	minute
mo	month
MS	mean squares
<i>n</i>	number of observations
<i>N</i>	normal
NAD	nicotinamide adenine dinucleotide
NADH	reduced form of NAD
NDF	neutral detergent fiber
NRC	National Research Council
NS	not significant
PBS	phosphate-buffered saline
PCR	polymerase chain reaction
ppm	parts per million
<i>r</i>	correlation coefficient
r^2	coefficient of determination, simple
R^2	coefficient of determination, multiple
RH	relative humidity
RIA	radioimmunoassay
RNA	ribonucleic acid
rpm	revolutions per minute
s	second
SAS	Statistical Analysis System
s.c.	subcutaneous
SD	standard deviation
SE	standard error
SEM	standard error of the mean
SNP	single nucleotide polymorphism
SRBC	sheep red blood cells
TBA	thiobarbituric acid

T cell	thymic-derived cell
TME	true metabolizable energy
TME _n	nitrogen-corrected true metabolizable energy
TSAA	total sulfur amino acids
USDA	United States Department of Agriculture
UV	ultraviolet
vol/vol	volume to volume
vs.	versus
wt/vol	weight to volume
wt/wt	weight to weight
wk	week
yr	year

SNP Nomenclature

The increasing number of SNP association studies and the improvements in chicken genome annotation require a standardized SNP nomenclature for unequivocal and correct SNP identification. Additionally, information regarding the SNP investigated should be easily accessible in a publicly available database. Therefore, all relevant SNP included in a study should be listed with their unique RefSNP (rs) or submitted SNP (ss) number (if rs number is not yet available) as indicated in the public domain NCBI dbSNP database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>). If the SNP investigated do not yet have an entry in the NCBI dbSNP database, the authors of the manuscript are responsible for submitting all the required information to NCBI (see <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) for depositing the SNP into this database and obtaining a unique ss number for the SNP. In the text of the manuscript, use of the rs/ss number of the SNP or an alternative standardized nomenclature is recommended.

Supplemental Information (Online)

The following information is available online and is updated regularly. Please refer to these pages when preparing a manuscript for submission.

Journal Title Abbreviations. A list of standard abbreviations for common journal titles is available online (<http://japr.fass.org/misc/ifora.dtl>).

SI Units. The following site (National Institute of Standards and Technology) provides a comprehensive guide to SI units and usage: <http://physics.nist.gov/Pubs/SP811/contents.html>

ScholarOne Manuscripts Instructions. Manuscripts are submitted online (<http://mc.manuscriptcentral.com/poa>). Full user instructions for using the Manuscript Central system are available online; click the "Get Help Now" link on the top right of the main page (<http://mc.manuscriptcentral.com/poa>).