



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO *IN VIVO* E ESTRATÉGIAS PARA
MITIGAÇÃO DAS MIOPATIAS PEITORAIS EM FRANGOS DE CORTE**

VIVIAN APARECIDA RIOS DE CASTILHO HEISS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal.

Dourados – MS

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO *IN VIVO* E ESTRATÉGIAS PARA MITIGAÇÃO DAS MIOPATIAS PEITORAIS EM FRANGOS DE CORTE

VIVIAN APARECIDA RIOS DE CASTILHO HEISS

Zootecnista

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Marie Komiyama

Co-orientadores: Prof. Dr. Rodrigo Gaófallo Garcia

Profa. Dra. Maria Fernanda de Castro Burbarelli

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal.

Dourados – MS

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

H473t Heiss, Vivian Aparecida Rios De Castilho
TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO IN VIVO E ESTRATÉGIAS PARA MITIGAÇÃO DAS
MIOPATIAS PEITORAIS EM FRANGOS DE CORTE [recurso eletrônico] / Vivian Aparecida
Rios De Castilho Heiss. -- 2024.
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Claudia Marie Komiyama.

Coorientadoras: Rodrigo Gaófalho Garcia, Maria Fernanda de Castro Burbarelli.

Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. : estresse oxidativo. 2. ecogenicidade. 3. termografia infravermelha. 4. polifenóis. 5.
miopatias peitorais. I. Komiyama, Claudia Marie. II. Garcia, Rodrigo Gaófalho. III.
Burbarelli, Maria Fernanda De Castro. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO IN VIVO E ESTRATÉGIAS PARA MITIGAÇÃO DAS MIOPATIAS PEITORAIS EM FRANGOS DE CORTE

por

VIVIAN APARECIDA RIOS DE CASTILHO HEISS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2024

Documento assinado digitalmente



CLAUDIA MARIE KOMIYAMA

Data: 14/03/2024 11:23:36-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Claudia Marie Komiyama
Orientadora – FCA/UFGD

Documento assinado digitalmente



ALEXANDRE RODRIGO MENDES FERNANDES

Data: 26/04/2024 08:18:58-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Mendes Fernandes
FCA/UFGD

Documento assinado digitalmente



DACLEY HERTES NEU

Data: 26/04/2024 16:04:41-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Dacley Hertres Neu
FCA/UFGD

Documento assinado digitalmente



ELIS REGINA DE MORAES GARCIA

Data: 26/04/2024 17:21:40-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Elis Regina de Moraes Garcia
UEMS

Documento assinado digitalmente



IBIARA CORREIA DE LIMA ALMEIDA PAZ

Data: 30/04/2024 05:12:34-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Ibiara Correia de Lima Almeida Paz
FMVZ/UNESP

Ao meu amado esposo e a minha abençoada família,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus que me deu o dom da vida e oportunidades únicas desde que nasci. Toda honra e toda glória a Ti, Senhor, por sempre preparar pessoas incríveis para me acompanhar na jornada da vida e jamais me desamparar no deserto.

Ao meu para sempre esposo Roberto F. Heiss Jr., por me amparar e muitas vezes me colocar à frente de suas próprias necessidades ao decorrer desse tempo. Sua fé em mim e companheirismo tornaram essa jornada muito mais especial. Não há palavras para expressar o quanto você é importante para minha vida. Amo você!

À minha família, minha amada mãe Ana Cleide, meu amado pai João e amado irmão Henrique, que sempre me apoiaram, acreditaram em mim e em meus sonhos, não medindo esforços para que tudo fosse possível, sobretudo à minha mãe, luz que ilumina meus caminhos! Amo vocês!

À minha orientadora Profa. Dra. Claudia Marie Komiyama. Sua motivação e expectativas são o que me deixa orgulhosa e honrada por trilharmos esse caminho juntas. Não tenho como agradecer a você, por me ajudar a entender o que a pesquisa e a avicultura brasileira podem oferecer ao mundo. Te admiro por preservar os valores familiares, por ser um desafio mantê-los concomitantes a uma carreira tão exigente. Por tudo isso e mais, sou imensamente grata por sua participação em minha formação profissional e pessoal!

À minha co-orientadora e amiga Profa. Dra. Maria Fernanda de Castro Burbarelli pela orientação e apoio incondicional durante toda a pesquisa e trabalhos realizados. Você é uma inspiração para os jovens pesquisadores e, principalmente, um modelo para homens e mulheres em perseverança, orientação e amizade. Obrigada por toda a paciência e dedicação para que o nosso trabalho fosse realizado com a mais alta qualidade, pela sua amizade e disponibilidade em todos os momentos da minha vida. Saiba que é minha co-orientadora dentro e fora da universidade!!

Ao Prof. Rodrigo Garófallo Garcia pela orientação direta no período de graduação e co-orientação nesses seis anos de pós-graduação. Você impactou na minha carreira científica de inúmeras maneiras e ajudou a moldar a profissional e ser humano que sou hoje. Obrigada por seu apoio incondicional e assistência na prática na condução de todos os meus projetos realizados até hoje.

À Profa. Dra. Fabiana Ribeiro Caldara, Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Mendes Fernandes, Prof. Dr. Leonardo de Oliveira Seno e Profa. Dra. Fabiana Cavichiolo por todo o ensinamento, colaboração para o desenvolvimento do trabalho e empréstimos laboratoriais, além do incentivo ao longo de toda minha graduação e pós-graduação.

Aos professores Dr. Paulo Henrique Braz (IFFar Campus Frederico Westphalen), Dra. Nara Cômulo (USP Campus de Pirassununga), Dra. Ibiara Almeida Paz (UNESP Campus de Botucatu) e Dra. Claudia Cardoso (UEMS) pela parceria, colaboração e execução de diversas análises fundamentais para o entendimento das respostas obtidas na condução experimental.

Às meus amigos e colegas, Felipe Cardoso, meu parceiro de todas as horas e meu amigo fofinho; Kelly Barbosa por todos esses anos de altos e baixos, amiga de todos os momentos da minha vida, torço por você de forma absurda; Bruna Barreto pelo apoio e chorrões divididos em todos esses anos, minha parceira desde a graduação; Rita Pietramale pela amizade, conselhos e tantos momentos divididos tanto na vida profissional quanto pessoal; e não menos importante agradeço a Débora Moraleco recém chegada, suas risadas e animação deixam os trabalhos mais fluídos!

Ao Núcleo de Pesquisa em Nutrição e Produção de Monogástricos, em particular ao Erique, Jacqueline, Cássia, Dani Mandú, Luana, Augusto, Jean Kaique, Letícia Garcia e João Ricardo pelas contribuições na condução dos experimentos. Sem a dedicação e compromisso de vocês não realizaríamos um experimento de qualidade.

Ao Ronaldo Marques da Silva, por ter prestado todo o manejo necessário às aves do experimento, garantindo o bem-estar das aves do início ao fim e pelas conversas e risadas divididas. Foi meu braço direito na condução experimental.

Ao Ronaldo Pasquim Araújo, por ser um profissional ímpar, está sempre prontamente disponível para atendimento dos pós-graduandos com muito carinho e respeito! Você é admirável e fundamental para a organização da PGZ/UFGD.

À Taiany Miranda Saravy pelo compartilhamento de todo seu conhecimento nas análises laboratoriais, e que nesse processo se tornou uma grande amiga.

À Adriana Hirata por toda colaboração nas análises laboratoriais e até mesmo pelos dias em que estava pronta para ajudar através das conversas e conselhos.

À Aline Silva e Gabrielly Spanivello, na época estagiárias e hoje Zootecnistas. Foi um prazer supervisionar vocês nesse período tão importante para a carreira de todas nós. Fomos um time imbatível! Obrigada, obrigada e obrigada!

A todos os funcionários terceirizados e servidores (DIMAP, FAECA, FCA) que nos auxiliaram em todas as etapas da condução pré, durante e pós experimento.

À SilvaTeam pela confiança e coparticipação para a execução do experimento do capítulo III. Obrigada por todo o suporte prestado. Vocês foram incríveis! Ansiosa pelo futuro que nos aguarda!

À empresa BRF/SA por ter concedido os pintinhos necessários para os experimentos.

À empresa Vaccinar e Agrocere Multimix pela doação dos microingredientes para formulação da ração para as aves dos experimentos.

À empresa Douraterra pela doação de produtos para formulação de ração experimental.

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela bolsa de estudos concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

À UFGD e todos os professores, técnicos por serem brilhantes exemplos de profissionais, pelos conhecimentos, respeito adquiridos e conquistados.

Deixo aqui registrado o meu carinho e agradecimento a todos vocês:

Muito obrigada!

Ama-se mais o que se conquista com esforço.

Benjamin Disraeli

BIOGRAFIA

Vivian Aparecida Rios de Castilho Heiss, nascida em 08 de outubro do ano de 1992, filha de Ana Cleide Bitencourt Rios de Castilho e João Ramos de Castilho, irmã de João Henrique Rios de Castilho, neta e filha de Doralina Luiz Bitencourt (*in memorian*), esposa de Roberto Francisco Heiss Junior. É natural de Miranda – Mato Grosso do Sul, mas Jardinense de coração e criação, cidade na qual tem enorme carinho e orgulho, pois possibilitou uma infância e adolescência saudável com maravilhosas e grandiosas memórias.

Em março de 2010, aos 17 anos, iniciou o curso de Graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados – Mato Grosso do Sul. Entre os anos de 2012 e 2015 foi bolsista no Programa de Educação Tutorial – PET Zootecnia e voluntária no Grupo de Pesquisa em Produção e Nutrição de Não-ruminantes, ambos sob coordenação do Prof. Dr. Rodrigo Garófallo Garcia. Em 2015 finalizou o curso e, no mesmo ano, iniciou sua atuação como Zootecnista assumindo vaga de Extensionista do Sistema Produtor de Ovos Férteis na BRF S.A – Unidade de Dourados/MS após a realização de estágio curricular e extracurricular. Em 2016 assumiu o cargo de Gerente de Produção de uma granja produtora de ovos férteis, parceira da mesma empresa.

Em 2018 ingressou no curso de mestrado *Stricto sensu* no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, sob orientação da Profa. Dra. Claudia Marie Komiyama, no qual cursou disciplinas obrigatórias e optativas, conduziu a pesquisa de campo com frangos de corte com ênfase no estudo das miopatias peitorais como parte da exigência do curso de Pós-graduação em Zootecnia da UFGD. Foi bolsista de mestrado, tendo recebido bolsa CAPES durante todo o período, o que possibilitou ter dedicação exclusiva para pesquisa. Em 28 de novembro de 2019 foi aprovada no Exame de Qualificação e defendeu sua dissertação no dia 27 de fevereiro de 2020, obtendo o título de Mestre em Zootecnia.

Em março de 2020 ingressou no curso de doutorado *Stricto sensu* na mesma instituição, também sob orientação da Profa. Dra. Claudia Marie Komiyama. Cursou disciplinas obrigatórias e optativas além de docência orientada aos alunos dos cursos de graduação em Agronomia e Zootecnia da FCA/UFGD. Foi bolsista pelo FUNDECT entre os anos de 2020 e 2023, bolsista CAPES de 2023 a 2024, possibilitando a condução da pesquisa de campo com nutrição de frangos de corte com ênfase no estudo das miopatias peitorais. Em 15 de junho de 2023 foi aprovada no Exame de Qualificação e procedendo à defesa de sua tese em 26 de fevereiro de 2024.

SUMÁRIO

RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	18
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	19
CAPÍTULO 1.....	21
A Systematic Review of Nutritional Strategies to Mitigate Pectoral Myopathies in Broiler Chickens	
ABSTRACT.....	22
INTRODUCTION	23
METHODOLOGY.....	26
RESULTS AND DISCUSSION	29
Crude protein, amino acid and/or energy levels.....	34
Antioxidants and different sources of minerals.....	37
Quantitative feed restriction.....	40
Food additives.....	42
CONCLUSION.....	44
REFERENCES.....	46
CAPÍTULO 2.....	52
Precision technologies for predictive diagnosis and study of the allometric growth of broiler chickens with breast myopathies	
ABSTRACT.....	53
INTRODUCTION.....	54
MATERIAL AND METHODS.....	56
Broilers and housing.....	56
Infrared termograpgy and ultrasonography.....	57
Slaughter procedure.....	58
Characterisation of myophaties and bird selection.....	59
Study of relative growth.....	60
Meat quality analysis.....	62
StatiScal analysis.....	63
RESULTS.....	64
DISCUSSION.....	71

REFERENCES.....	78
CAPÍTULO 3.....	82
Antioxidante natural a base de extrato de taninos hidrolisáveis reduz a severidade de Wooden breast e melhora o desempenho de frangos de corte	
RESUMO.....	83
INTRODUÇÃO.....	84
MATERIAL E MÉTODOS.....	86
Aves e alojamento.....	86
Desempenho zootécnico.....	89
Rendimento de carcaça e cortes e cálculo do coeficiente alométrico.....	89
Classificação das miopatias e análise de qualidade da carne.....	90
Morfometria muscular.....	91
Atividade antioxidante.....	91
Determinação do perfil de ácidos graxos.....	92
Perfil bioquímico sérico.....	93
Análises estatísticas.....	93
RESULTADOS.....	94
Desempenho zootécnico, rendimento de carcaça e cortes e alometria.....	94
Quantificação das miopatias, qualidade da carne e morfometria muscular.....	101
Status antioxidante, perfil lipídico e parâmetros bioquímicos.....	105
DISCUSSÃO.....	108
CONCLUSÃO.....	116
REFERÊNCIAS.....	117
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	125

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1. Quantification of disregarded articles according to the exclusion criteria proposed.....	26
Table 2. Nutritional strategies used in broiler nutrition described in selected articles.....	29

CAPÍTULO 2

Table 1. Descriptive statistics table.....	59
Table 2. Surface temperatures (°C) of the cranial, medial, and caudal regions of breast fillets of broilers slaughtered at 35 days of age affected or not by the myopathies white striping and wooden breast.....	63
Table 3. Allometry equations for feet, breast, wings, back, drumstick, and thigh in relation to the carcass weight of broilers slaughtered at 35 days and verification of differences in the allometry coefficient.....	64
Table 4. Allometry equations of commercial cuts of broilers in relation to carcass weight at 35 days and allometric coefficient according to the scores of white striping and wooden breast.....	65
Table 5. Value of b.....	68
Table 6. Means obtained for meat quality parameters of broilers slaughtered at 35 days of age affected by the myopathies white striping and wooden breast.....	69

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Composição das dietas experimentais de acordo com a fase produtiva em atendimento das exigências nutricionais para frangos de corte machos.....	87
Tabela 2. Rendimento de carcaça e cortes de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de extrato a base de taninos abatidos aos 42 dias de idade.....	98
Tabela 3. Equações alométricas dos cortes comerciais de frangos de corte em relação ao peso da carcaça aos 42 dias e coeficiente alométrico de acordo com os níveis de inclusão de extrato à base de taninos hidrolisáveis.	99
Tabela 4. Quantificação dos escores das miopatias peitorais em frangos de corte alimentados com diferentes níveis de extrato a base de taninos.....	100
Tabela 5. Parâmetros de qualidade da carne frangos de corte alimentados com diferentes níveis de extrato a base de taninos abatidos aos 42 dias de idade.....	101

Tabela 6. Morfometria das fibras musculares oriundas do peito de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de extrato a base de taninos.....	103
Tabela 7. Perfil de ácidos graxos do tecido muscular do peito (Pectoralis major) de frangos de corte alimentados com extrato vegetal a base de taninos hidrolisáveis avaliados aos 42 dias de idade.....	106

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figure 1. Organizational chart of the selection of articles for systematic review.....	26
Figure 2. Articles selected according to timeline.....	28

CAPÍTULO 2

Figure 1. (A) Thermographic image and surface temperature distribution of the breast muscle of broilers. (B) Representation of the procedure for recording ultrasound images in real time. (C) Ultrasound image of the breast muscle. The dotted line represents the region where echogenicity values were calculated.....	57
Figure 2. Sampling procedure for meat quality analysis from 24-post-mortem and frozen/thawed broilers breast muscles.....	61

CAPÍTULO 3

Figura 1. Consumo de ração (g) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de extrato vegetal à base de taninos hidrolisáveis.....	95
Figura 2. Ganho de peso (g) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de extrato vegetal à base de taninos hidrolisáveis.....	96
Figura 3. Conversão alimentar (g/g) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de extrato vegetal à base de taninos hidrolisáveis.....	97
Figura 4. Índice de eficiência produtiva de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de extrato vegetal à base de taninos hidrolisáveis.....	98
Figura 5. Concentração hepática, muscular e sérica do potencial antioxidante analisado pelo método de inibir DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em frangos de corte alimentados com diferentes níveis de inclusão de extrato vegetal à base de taninos hidrolisáveis. A) Avaliação aos 21 dias; B) Avaliação aos 42 dias.....	105

RESUMO

CASTILHO HEISS, V. A. R. **Técnicas de diagnóstico *in vivo* e estratégias para mitigação das miopatias peitorais em frangos de corte.** 2024. 126 p. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados.

A presente tese encontra-se dividida em três capítulos: **CAPÍTULO I** – Trata-se de uma revisão sistematizada com o objetivo de contextualizar, quantificar e qualificar as pesquisas referentes ao estudo de estratégias nutricionais para a mitigação das miopatias peitorais *White striping* e *Wooden breast*. Observou-se que diversas estratégias estão sendo empregadas pela indústria com o objetivo de mitigar a incidência das miopatias peitorais. Tais estratégias, em sua maioria, são classificadas como abordagens relacionadas à taxa de crescimento (mudança da curva de crescimento do frango) e utilização de antioxidantes dietéticos (naturais ou sintéticos). As abordagens relacionadas à curva de crescimento objetivam em manipular ou desacelerar o crescimento das aves durante toda a fase produtiva ou em uma determinada fase e, assim, reduzir a severidade das miopatias. Contudo, a maioria das manipulações dietéticas que mitigam o aparecimento e severidade das miopatias implicam no prejuízo no desempenho dos animais. **CAPÍTULO II** – O objetivo dessa pesquisa foi validar as técnicas de termografia infravermelha e ultrassonografia como ferramentas de diagnóstico preditivo das miopatias peitorais, bem como estudo do crescimento alométrico das diferentes partes do corpo e a qualidade da carne de frangos de corte acometidos pelas miopatias peitorais. Foram registradas as temperaturas superficiais do peito de 300 aves, seguindo com o registro das imagens de ultrassonografia para posteriores cálculo de ecogenicidade. As aves foram abatidas e realizados os cortes para a pesagem das partes do corpo, em seguida procedeu-se a avaliação dos peitos quanto à presença e severidade das miopatias, a partir disso foram estabelecidos nove tratamentos representados pelos graus associados das miopatias *White striping* e *Wooden breast* e peitos classificados como normais. Não houve diferença de temperaturas superficiais e valores de ecogenicidade entre peitos normais e peitos acometidos. Verificou-se que o escore mais severo do peito amaderado afeta as variáveis de qualidade da carne. **CAPÍTULO III** – O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito da adição de um blend de polifenóis (Silvafeed ATX®) no desempenho, desenvolvimento das miopatias peitorais, rendimento de carcaça, crescimento do corpo, qualidade da carne, potencial antioxidante e perfil lipídico. 1.280 pintinhos de um dia foram alojados e distribuídos em quatro tratamentos que consistiam na administração de diferentes doses de polifenóis na dieta (Controle, 250, 500 e 1.000 g/ton). O blend influenciou de forma positiva no consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e no índice de eficiência produtiva que teve seu ponto máximo em 514 g/ton. O peito obteve crescimento tardio em relação as demais partes do corpo em aves alimentadas com 500 g/ton do extrato, demonstrando a eficiência do tanino na modulação do crescimento do músculo peitoral. Esses índices estão diretamente ligados ao desenvolvimento de *Wooden breast* que obteve menores graus de severidade estimados em 652 g/ton aos 42 dias de idade. O blend de polifenóis não influenciou sobre *White striping*. O extrato promoveu a maciez da carne e status antioxidante. Ademais, o extrato influenciou sobre o perfil lipídico do músculo impactando alguns ácidos graxos específicos e diminuição das concentrações de ômega 3. Concluímos que o extrato à base de polifenóis diminuiu a ocorrência de graus mais severos de *Wooden breast* e promoveu melhora no desempenho e na maciez de carne em doses ajustadas.

Palavras-chave: estresse oxidativo, ecogenicidade, flavonóides, tanino condensado, tanino hidrolisável, termografia infravermelha.

ABSTRACT

CASTILHO HEISS, V. A. R. ***In vivo* diagnostic techniques and strategies for mitigating pectoral myopathies in broiler chickens.** 2024. 126 p. Thesis (Doctor's degree) - Faculty of Agricultural Sciences, Federal University of Grande Dourados.

This thesis is divided into three chapters: **CHAPTER I** – This is a systematized review with the aim of contextualizing, quantifying and qualifying research on nutritional strategies for mitigating White striping and Wooden breast myopathies. It was observed that several strategies are being employed by the industry with the aim of mitigating the incidence of pectoral myopathies. Most of these strategies are classified as approaches related to growth rate (change in the chicken's growth curve) and the use of dietary antioxidants (natural or synthetic). Approaches related to the growth curve aim to manipulate or slow down the growth of birds throughout the productive phase or in certain phase and, thus, reduce the severity of myopathies. However, most dietary manipulations that mitigate the appearance and severity of myopathies result in impaired animal performance. **CHAPTER II** – The aim of this study was to validate infrared thermography and ultrasound techniques as predictive diagnostic tools for pectoral myopathies, as well as to study the allometric growth of different parts of the body and the quality of meat in broiler chickens affected by pectoral myopathies. The surface temperatures of the 300 birds breast's were recorded, followed by the ultrasound images for subsequent echogenicity. The birds were slaughtered and cuts were made to weigh the body parts, then the breasts were evaluated for the presence and severity of myopathies. From this, nine treatments were established, represented by the associated degrees of White striping and Wooden breast myopathies and breasts classified as normal. There was no difference in surface temperatures and echogenicity values between normal breasts and affected breasts. The most severe score of wooden breast affects meat quality variables. **CHAPTER III** – The aim of this study was to evaluate the effect polyphenol blend (Silvafeed ATX®) on performance, pectoral myopathies, carcass yield, body growth, meat quality, antioxidant potential and lipid profile. 1,280 one-day-old chicks were housed and distributed in four treatments that consisted of the administration of different polyphenol blend doses in the diet (Control, 250, 500 and 1,000 g/ton). Polyphenol blend positively influenced feed consumption, weight gain, feed conversion and the production efficiency index, which calculated at 514 g/ton. The breast grew later than other parts of the body in birds fed with 500 g/ton of the extract, demonstrating the efficiency in modulating the growth of the pectoral muscle. These indices are directly linked to the development of Wooden breast, which obtained lower degrees of severity estimated at 652 g/ton at 42 days of age. Polyphenol blend did not influence White striping. The extract promoted meat tenderness and antioxidant status. Furthermore, the blend influenced the lipid profile of the muscle, impacting some specific fatty acids and reducing omega 3 concentrations. We concluded that the polyphenol blend reduced the occurrence of more severe degrees of Wooden breast and promoted improvements in meat performance and tenderness in adjusted doses. We concluded that polyphenol blend reduces the occurrence of severe degrees of Wooden breast and promoted improvements in performance and meat tenderness in adjusted doses.

Keywords: condensed tannin, echogenicity, flavonoids, hydrolyzable tannin, infrared thermography, oxidative stress.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

As linhagens comerciais modernas de frango de corte incorporam ganhos notáveis na economia e produção de carne a nível mundial por meio de sistemas intensivos de criação, nutrição e práticas de manejos aprimoradas. No entanto, o aumento da capacidade produtiva, rendimento de carcaça em menor tempo e maior eficiência, podem ser comprometidos pelo surgimento das degenerações musculares que afetam severamente a qualidade da carne e de seus derivados. As miopatias peitorais são degenerações que acometem o peito dos frangos de corte e que trazem muitos prejuízos para a indústria pela sua aparência repugnante quando ocorrem em graus mais severos. *White striping* e *Wooden breast*, inicialmente se desenvolvem na porção cranial do peito e, à medida que essa condição piora, espalha-se por todo músculo peitoral. A *White striping* é caracterizada pelo aparecimento de estriações brancas e *Wooden breast* é definida pela ocorrência da dureza focal ou difusa nos filés (Sihvo et al., 2014; Tijare et al., 2016). Estudiosos indicam que essas condições estejam associadas a aves com taxa de crescimento acelerada e em filés mais pesado, porém sua etiologia ainda não é definida.

Estudos indicam que a incidência dessas estejam associadas a sinais de distúrbios vasculares, hipóxia, aumento do estresse oxidativo e vias metabólicas alteradas (Mutryn et al., 2015; Abasht et al., 2016; Kuttappan et al., 2017; Papah et al., 2018). Uma das hipóteses mais aceitas pela comunidade científica é que aves de crescimento rápido requerem maior demanda metabólica e circulação sanguínea, levando ao acúmulo de resíduos metabólicos no músculo, como os radicais livres que acarretam ao estresse oxidativo (Petracci et al., 2019). Os radicais livres acumulados são altamente reativos e componentes celulares causando inflamação e distúrbios metabólicos, eventualmente causando degeneração das fibras musculares.

A partir disso, o estado de inflamação ocasionado no músculo gera regiões musculares inflamadas mais quentes em comparação as regiões musculares normais (Gavrila 1999; Boerboom et al., 2018), inferindo que as miopatias podem ser diagnosticadas com a ave viva através técnica de termografia infravermelha pela detecção de tecido lesado (áreas hiperradiantes) e regiões mais frias em tecidos com pouca circulação sanguínea ou tecido cicatrizado. Além da ultrassonografia identificar diferentes densidades dos feixes musculares ocasionado pelo processo degenerativo e regenerativo. Na produção de carne, é muito importante o aumento dos músculos na carcaça e o conhecimento da sua velocidade de deposição, pois o músculo é o que será transformado em carne. Tendo em vista que o surgimento das miopatias se tornou frequente, é importante o conhecimento sobre os impactos da presença destas alterações do músculo sobre o crescimento e desenvolvimento muscular em aves acometidas ou não por miopatias peitorais.

Outro ponto a ser observado é que ambas as miopatias, que muitas vezes ocorrem concomitantes e acredita-se que tenham o mesmo efeito desencadeante, são as duas miopatias com

maior prevalência e impactam economicamente, representando um grande desafio para os produtores e indústria. Para combater isso, diversas estratégias, nutricionais ou de manejo, estão sendo estudadas e na maioria das vezes falham na melhoria da qualidade da carne ou não são viáveis por comprometerem o desempenho e encarecerem a produção. Logo, novas abordagens nutricionais com o objetivo de diminuir ou anular a ocorrência das miopatias peitorais são de grande interesse para o seguimento.

A forte associação entre as miopatias e o estresse oxidativo como efeito desencadeante, sugerem que a mitigação bem-sucedida exigirá uma compreensão das vias metabólicas envolvidas frente ao uso de produtos com abordagens antioxidantes. Nesse sentido, a utilização de antioxidantes naturais, como os da categoria dos polifenóis, possuem efeitos interessantes na remoção de espécies reativas de oxigênio e potencial anti-inflamatório (Landete, 2013), como é o caso dos taninos, mais precisamente os hidrolisáveis e flavonóides. Justamente essas características interessantes desses fitoquímicos vão de encontro com a hipótese levantada acerca do desenvolvimento das miopatias peitorais, bem como a presença de inflamação nos tecidos acometidos (Kuttappan et al., 2013; Boerboom et al., 2018). Sabe-se que as ações dessas substâncias podem atuar de forma local (intestino) ou sistêmica dependendo da dose administrada ou componentes bioativos, ou seja, pode atuar tanto a nível do tecido muscular quanto na mucosa intestinal implicando sobre o desempenho.

Sendo assim, o objetivo geral deste trabalho foi de estudar as miopatias emergentes com a finalidade de determinar o coeficiente alométrico do crescimento das partes do corpo e estabelecer ferramentas não invasivas para o diagnóstico *in vivo* e aplicar estratégias para mitigar o surgimento e desenvolvimento das miopatias *White striping* e *Wooden breast*. Os resultados obtidos através desse primeiro estudo podem auxiliar na elucidação das vias patogênicas e desta forma contribuir para o segundo estudo envolvendo o desenvolvimento de estratégias que visem minimizar a incidência dessas miopatias ou os efeitos decorrentes deste tipo de lesão, e consequentemente atenuar as perdas econômicas do setor.

Para isso, a presente tese encontra-se dividida em três capítulos, sendo o Capítulo 1 uma revisão sistematizada que tem como título “A Systematic Review of Nutritional Strategies to Mitigate Pectoral Myopathies in Broiler Chickens” redigida, formatada e submetida conforme as diretrizes da revista *World’s Poultry Science Journal* (Qualis A1). O Capítulo 2, intitulado “Precision technologies for predictive diagnosis and study of the allometric growth of broiler chickens with breast myopathies” redigido e publicado na Revista *British Poultry Science* (Qualis A2). O capítulo 3, intitulado como “Antioxidante natural a base de extrato de taninos hidrolisáveis reduz a severidade de *Wooden breast* e melhora o desempenho de frangos de corte”.

CAPÍTULO 1

A Systematic Review of Nutritional Strategies to Mitigate Pectoral Myopathies in Broiler Chickens

World's Poultry Science Journal, ISSN: 0043-9339, Fator de impacto: 3.452, Percentil 91% (Scopus), Qualis

CAPES A2

doi: 10.1080/00439339.2024.2338350

ABSTRACT

This systematic review scrutinizes the literature on white striping and wooden breast phenomena in broiler chickens, with a specific emphasis on identifying nutritional strategies designed to alleviate these myopathies. Additionally, the review sought to ascertain whether avian welfare was compromised when nutritional interventions were employed to address pectoral myopathies. Employing the ProKnow-C methodology, a total of twenty-two research articles were meticulously selected based on pre-established inclusion and exclusion criteria, following the Knowledge Development Process – Constructivist approach. Inclusion criteria encompassed studies featuring the application of nutritional strategies, specifically evaluating their impacts on the incidence of myopathies and their broader ramifications on animal welfare. Collated data facilitated to identify various nutritional strategies, evaluating their influence on the occurrence of pectoral myopathies, with researchers predominantly focusing on either white striping or wooden breast, or concurrently investigating both conditions. Upon a comprehensive analysis of the scientific content, the selected articles were categorized according to the applied nutritional strategies, namely: levels of crude protein, amino acids, and/or energy; antioxidants and various mineral sources; quantitative dietary restriction; and food additives. Our findings revealed a multitude of strategies deployed by the industry to mitigate the incidence of pectoral myopathies. Predominantly, these strategies fell into two broad categories: those associated with growth rate alterations, involving manipulation or retardation of the birds' growth curve throughout the production phase; and those utilizing dietary antioxidants, whether natural or synthetic. Approaches related to the growth curve aimed at mitigating myopathy severity by controlling or slowing down avian growth. It is noteworthy that the scarcity of studies examining the impact of pectoral myopathies on animal welfare raises concerns that necessitate urgent attention from the scientific community.

Keywords: antioxidant, broiler nutrition, crude protein, feed restriction, white striping, wooden breast.

INTRODUCTION

Over the past six decades, the poultry industry has intensively endeavoured to enhance the growth rates and muscle development of broiler chickens, with the objective of optimizing production efficiency and maintaining competitive pricing of poultry meat (Tallentire *et al.*, 2018). However, this pursuit has inadvertently resulted in a reduction in the genetic diversities of contemporary commercial flocks, thereby raising concerns about the overall health of the avian population (Tallentire *et al.*, 2018; Hubert and Athrey, 2020). These concerns encompass a spectrum of issues such as diminished immunity, vascular insufficiency, skeletal abnormalities, heat intolerance, and the emergence of myopathies—a category of disorders recognized as challenges to meat quality (Kuttappan *et al.*, 2012a; Sihvo *et al.*, 2014; Velleman *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2019).

For more than a decade, the escalating incidence of myopathies affecting the *Pectoralis major* muscle in rapidly growing broilers has been a focal point of apprehension within the poultry industry. In the case of white striping myopathy, the presence of fatty striations running parallel to the muscle fibres enables easy identification of affected breast fillets. Histologically, these white lines manifest as lipid and connective tissue accumulations (Kuttappan *et al.*, 2013). Unlike conventional marbled fat observed in certain porcine and bovine muscles, these white striations do not result from a physiologically induced increase in lipids to enhance meat quality; rather, they signify a myodegenerative process involving increased fat and connective tissue deposition, interstitial inflammation, edema, inflammatory cell infiltration, and necrosis (Kuttappan *et al.*, 2013). Initiated in the cranial portion of the breast fillet and extending towards the wing attachment point (Ferreira *et al.*, 2014), white striping is reported by Kuttappan *et al.* (2017) as the most prevalent myopathy, affecting over 98% of birds up to 9 weeks of age, with more than 55% of evaluated breast fillets classified as moderate to severe cases.

Wooden breast, initially characterized by Sihvo et al. (2014), presents in the pectoralis major muscle with a pale, palpably firm appearance, accompanied by petechial haemorrhages and gelatinous material in severe cases. Broilers exhibiting wooden breasts often display white fatty striations akin to those observed in white striping (Kuttappan et al., 2013). Histologically, both myopathies share similarities, encompassing myodegeneration with regeneration, inflammatory cell infiltration, necrosis, fibrosis, and lipidoses (Kuttappan et al., 2013; Sihvo et al., 2014). Wooden breast, with its visual characteristics leading to consumer rejection, has been implicated in altering colour, texture, and nutritional composition in broiler chicken meat (Mudalal et al., 2015; Soglia et al., 2016a; Soglia et al., 2016b).

Researchers have concentrated on unravelling the etiology, meat quality implications, and mitigation strategies of these myopathies, considering their alarming incidence rates and substantial impact on meat quality (Griffin et al., 2018; Baldi *et al.*, 2020). Despite numerous studies exploring the etiology and molecular pathways, information on effective mitigation strategies remains insufficient and unclear due to the close correlation between myopathy incidence and bird weight.

Studies on poultry nutrition aim to identify additives or nutritional strategies to reduce myopathy incidence without compromising slaughter cuts' performance and yield. Therefore, there is an increasing necessity for quantitative and qualitative nutritional alternatives to address the causative factors of myopathies. Quantitative control techniques, such as modifying the birds' growth curve and regulating feed intake at different stages, aim to diminish myopathy occurrence and severity. Another acceptable practice involves the qualitative manipulation of nutrients, including vitamins, minerals, amino acids, and energy density in the feed (Bodle *et al.*, 2018; Cemin *et al.*, 2018).

In addition to direct challenges faced by the poultry industry regarding product quality, consumer acceptability is gaining prominence. As ultimate consumers of poultry meat

products, consumer attitudes toward myopathies should be deemed a relevant concern. Although myopathies might not pose safety risks, certain physical-chemical parameters, such as moisture, fat, and collagen content, are altered (Baldi *et al.*, 2019). Consumer acceptability of chicken meat affected by myopathies is inevitably reduced when informed about these conditions (Carvalho *et al.*, 2020), often attributed to concerns about animal "health problems," "stress," and "well-being compromise."

Increasing global attention to animal welfare among consumers underscores the need for discussions on the impact of pectoral myopathies on bird welfare. Current consumer trends, motivated by health, animal welfare, or environmental concerns, emphasize the importance of addressing these welfare parameters (Sanchez-Sabate and Sabatee, 2019). Given the complexity associated with welfare parameters, it is imperative to explore how myopathies precisely affect animal welfare. Notably, Norring *et al.* (2019) observed subtle behavioural changes in broilers affected by wooden breast, hinting at a potential link to poor gait. These findings raise concerns about the impact of myopathies on bird behaviour, walking ability, and overall welfare. Due to this growing concern for animal welfare, the question arises whether there is a relationship with pectoral myopathies, whether these myopathies cause pain or discomfort to the animal and whether the scientific community is concerned about these factors.

This systematic review presents nutritional strategies aimed at mitigating white striping and wooden breast myopathies. Additionally, the review aims to identify studies that applied these nutritional strategies and assess whether bird welfare is compromised when affected by pectoral myopathies.

METHODOLOGY

This study entailed a systematic review of white striping and wooden breast myopathies, examining the application of strategies to mitigate these issues and their impact on animal welfare. The Knowledge Development Process – Constructivist (ProKnow-C) method, adapted from Ensslin *et al.* (2010), was employed to carry out the proposed review. This methodology serves as a tool for knowledge in each field of research. It provides a rigorous and structured procedure that minimizes subjectivity and randomness in the bibliographic construction process (Afonso *et al.*, 2012). The results found in the timeframe from 2009 to March 30, 2023. The set of descriptors employed included "white striping" and "nutritional strategies"; "wooden breast" and "nutritional strategies"; "white striping" and "nutritional strategies" and "welfare"; and "wooden breast", "nutritional strategies", and "welfare".

Following the identification of relevant articles, a meticulous delimitation of results was conducted. The initial assessment involved scrutinizing publications for inclusion criteria, necessitating adherence to a scientific research model and relevance to the research topic. Titles of articles were initially observed, followed by a detailed analysis of abstracts. Only upon discerning alignment with the research theme were articles included in the preliminary analysis. The selected articles underwent further verification using the following selection criteria: studies were required to address the application of nutritional strategies and evaluate their impact on the occurrence of pectoral myopathies, alongside an examination of their implications for the well-being of the birds (Figure 1). Subsequently, the exclusion criteria outlined in Table 1 were applied to refine the selection process.

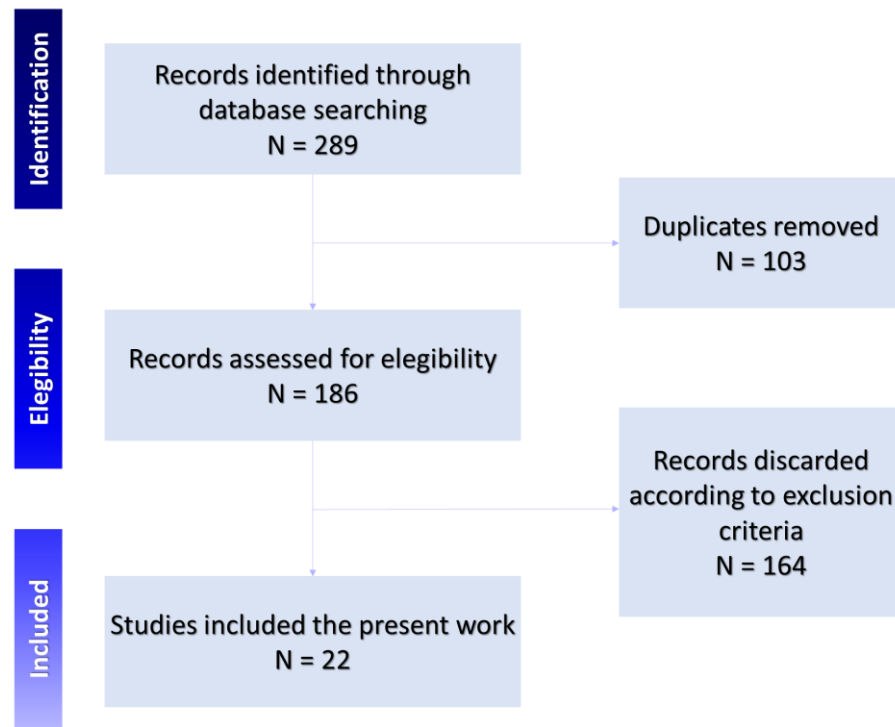


Figure 1. Organizational chart of the selection of articles for systematic review.

Table 1. Quantification of disregarded articles according to the exclusion criteria proposed.

White striping and/or Wooden breast + Nutritional strategies	
Did not address nutritional strategy	6
Addressed nutritional strategy, but not applied to myopathies	21
Did not address nutritional strategy and were not applied to the study of myopathies	14
Review articles	19
They were not research articles published in journals	37
Unable to download	7
Deleted articles	104
Selected articles	21
White striping and/or Wooden breast + Nutritional strategies + Welfare	
Did not address nutritional strategy	2
Addressed nutritional strategy, but not applied to myopathies	6
Did not address nutritional strategy and were not applied to the study of myopathies	8
Review articles	12
They were not research articles published in journals	29
Unable to download	3
Deleted articles	60
Selected articles	1

RESULTS AND DISCUSSION

Various nutritional strategies assessing their impact on the incidence of pectoral myopathies were identified. Twenty-two research articles were selected (Figure 2).

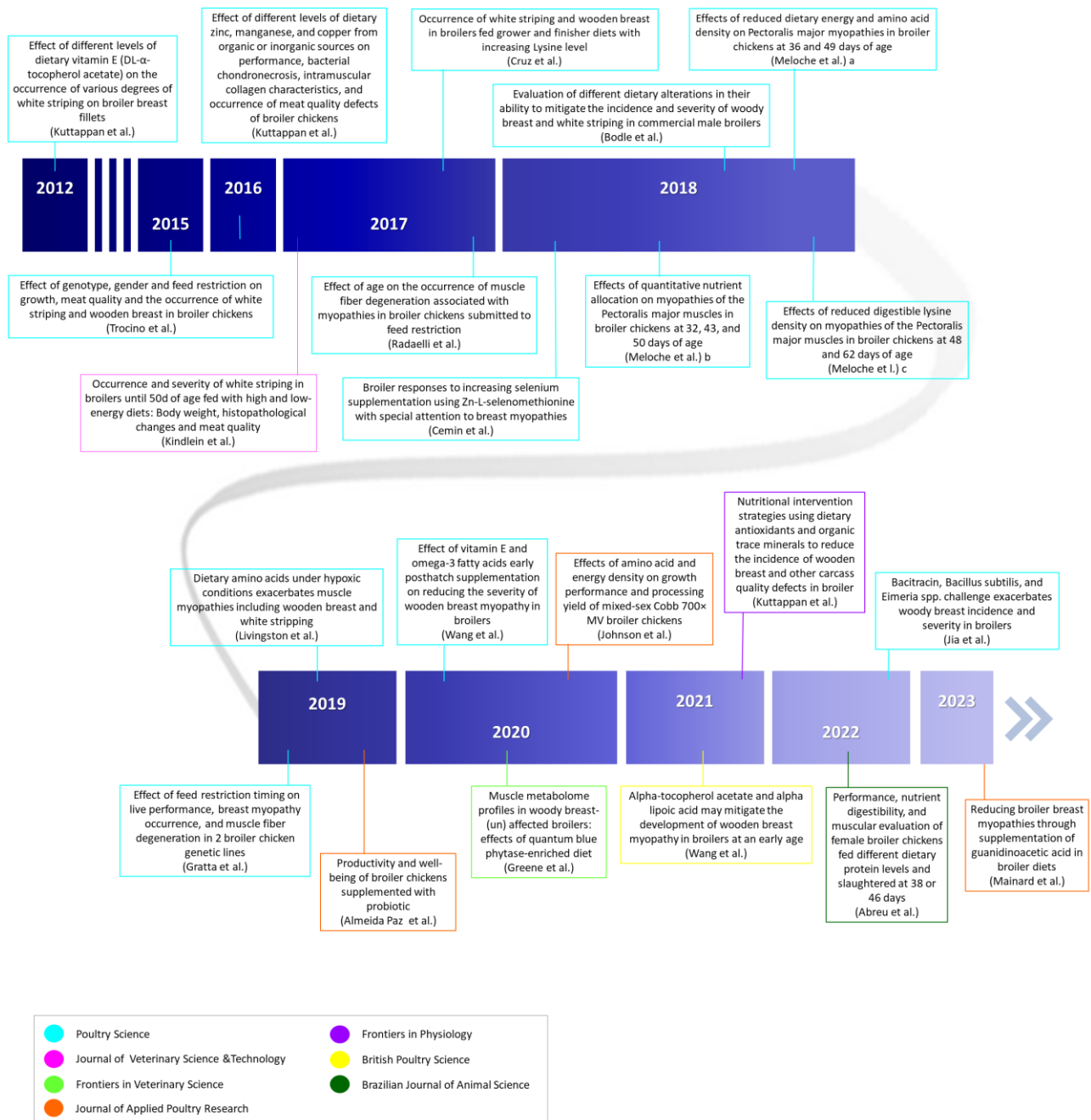


Figure 2. Articles selected according to timeline.

Upon analysing the scientific content, the articles were categorized based on the applied strategies and will be discussed as follows:

- Eight articles (36.36%) addressed the manipulation of crude protein concentrations, total amino acids, or specific amino acids (Lysine, glutamine, and arginine) in different production phases.
- Six articles (27.27%) were related to the use of antioxidant compounds or those with endogenous antioxidant support and organic and inorganic sources of minerals.
- Four articles (18.18%) indicated the implementation of some level of food restriction in different production phases to alter the growth pattern of broilers.
- Four articles (18.18%) dealt with the use of various food additives, such as phytase and guanidinoacetic acid, different levels of isolated probiotics, or growth-promoting antibiotics. Only one article evaluated the use of a nutritional strategy on the incidence of pectoral myopathies and animal welfare (Table 2).

1 **Table 2.** Nutritional strategies used in broiler nutrition described in selected articles.

Authors	Strategy	Strain	Gender	Period	Myopathies	
					WS ¹	WB ²
Crude protein, amino acid and/or energy levels						
Abreu et al. (2022)	Two levels of crude protein (19 and 21%) and three types of formulation with changing ingredients.	Cobb 500	Female	1-44 days	Yes	Yes
Johnson et al. (2020)	High, medium, and low inclusion of digestible lysine in compliance with requirements; and high (above recommended) and low (recommended standard) energy inclusion.	Cobb 700 MV	Male and Female	1-49 days	No	Yes
Livingston et al. (2019)	Glutamine and arginine supplementation (instead of glycine) at two inclusion levels.	Not mentioned	Male	1-44 days	Yes	Yes
Meloche et al. (2018a)	Supplementation of different metabolizable energy densities and all amino acids while maintaining the ratios of lysine to methionine, valine, threonine, and isoleucine.	Cobb 700	Male	1-34 days 1-48 days	Yes	Yes
Meloche et al. (2018c)	Exp I - Reduction of lysine requirements (85 and 75%) in different production phases (three phases alone or together). Exp II - 85% reduction in lysine requirements in different production phases (two phases alone or together).	Ross 708	Male	1-48 days 1-62 days	Yes	Yes
Bodle et al. (2018)	Arginine supplementation: digestible lysine above recommended, vitamin C, double the vitamin premix, 15% reduction of amino acids in the growth phase, and combining all strategies.	Not mentioned	Male	1-45 days	Yes	Yes

Quantitative food restriction

Gratta et al. (2019)	Feed restriction (supply of 80% of the ad libitum consumption) in different growth stages (early, late, or full) in two strains.	Not mentioned	Male	1-48 days	Yes	Yes
Meloche et al. (2018b)	Three food restriction programs provided 80, 90, and 95% regarding ad libitum consumption.	Ross 708	Male	1-50 days	Yes	Yes
Radaelli et al. (2017)	Feed restriction (supply of 80% of the ad libitum consumption) in the growth phase was evaluated in two strains in males and females.	Not mentioned	Male and Female	1-46 days	No	No
Trocino et al. (2015)	Feed restriction (supply of 80% of the ad libitum consumption) in the growth phase was evaluated in two strains in males and females.	Not mentioned	Male and Female	1-46 days	Yes	Yes

Food additives

Maynard et al. (2023)	Guanidinoacetic acid supplementation at 0.06% and 0.012%.	Ross 708	Male	1-55 days	Yes	Yes
Greene et al. (2020)	Myoinositol supplementation, reduction of available phosphorus, calcium, and sodium, and three levels of phytase addition.	Cobb 500	Male	1-56 days	No	Yes
Jia et al. (2022)	Bacitracin and <i>Bacillus subtilis</i> with and without health challenge (<i>Eimeria spp</i>) in males and females.	Ross 708	Male and Female	1-42 days	No	Yes
Almeida Paz et al. (2019)	Supplementation with four doses of probiotics (<i>Pediococcus acidilactici</i> and <i>Lactobacillus plantarum</i>).	Cobb Slow	Male	1-42 days	No	Yes

¹White striping; ²Wooden breast;

Crude protein, amino acid and/or energy levels

Despite the association between the occurrence of wooden breast and white striping with a greater weight of the *Pectoralis major* muscle (Mudalal *et al.*, 2015), such an effect was not observed with the supply of different levels of crude protein (Abreu *et al.*, 2022). Abreu *et al.* (2022) formulated diets with minimal cost, encompassing practical formulations with unusual ingredients (starch, corn gluten meal, and soybean hulls) and synthetic amino acids against two crude protein levels (19 and 21%). However, these diets, while maintaining similar levels of essential nutrients, were not associated with the development of the studied pectoral myopathies. Changes in the incidence and severity of wooden breast were also not found in diets with different metabolizable energy densities and digestible lysine (Johnson *et al.*, 2020).

Contrarily, Kindlein *et al.* (2017) examined the incidence and severity of white striping and histopathological changes in breast fillets from broilers aged 10 to 50 days. Their results indicated that 2.27% of the birds exhibited some degree of myopathy at ten days of age. Moreover, at 20 and 30 days, the occurrence of white striping was higher in birds fed diets with high nutritional density (3,300 kcal ME/kg and 19.56% CP) compared to those fed diets with low density (3,050 kcal ME/kg and 18.37% CP).

Using a similar strategy to that of Johnson *et al.* (2020), Meloche *et al.* (2018a) evaluated the supplementation of different densities of metabolizable energy and amino acids, maintaining specific ratios of lysine to methionine, valine, threonine, and isoleucine at different ages 1-35 (Exp. 1) and 1-49 days (Exp. 2). Broilers that received reduced density diets only in the initial phase (1-14 days with 90 and 95% of the requirements) exhibited higher incidences of severe wooden breast. However, compensatory growth occurred when feeding diets meeting the nutritional requirements, resulting in a reduced incidence of both myopathies for chickens fed 90% of the recommended dietary density from 1 to 48 days. This

compensatory intake, overcoming the 10% reduction in dietary amino acid density and metabolizable energy, led to a final weight similar to that in the control group, albeit with increased feed conversion (Meloche *et al.*, 2018a).

Building on these findings, Meloche *et al.* (2018c) hypothesized changing the trajectory of the growth curve without stimulating compensatory consumption after a qualitative restriction. They focused on altering only the concentration of a single nutrient, specifically digestible lysine, given its prominence in breast muscle composition and its common supplementation in broiler diets. Two experiments were conducted, the first evaluating a reduction in lysine requirements (85 and 75% of the requirements) for short periods in different productive phases (12-18 and 19-26 days), and the second using an 85% reduction in lysine requirements in different productive phases (12-28 and 29-40 days). The results demonstrated that reducing digestible lysine to meet 85% of the requirements in the short term positively impacted the reduction of white striping and wooden breast incidence.

Cruz *et al.* (2017) also investigated the effects of reducing dietary digestible lysine during single production phases (12-28 and 28-42 days) on the incidence of white striping and wooden breast in male broilers (Cobb 500®) slaughtered at 35 and 42 days. Diets formulated with 63 and 70% of the recommended digestible lysine requirements led to reductions in the incidence of both myopathies. However, while effective on the severity of myopathies, this strategy adversely affected breast performance and yield.

A comprehensive study by Bodle *et al.* (2018) investigated multiple nutritional strategies on the incidence of white striping, wooden breast myopathies, and bird performance from 1 to 45 days of age. The strategies included a basal diet (1) supplied in four productive phases: (2) increase in the arginine: digestible lysine ratio; (3) complement of 94.4 mg of, vitamin C/kg of feed; (4) twice the recommended inclusion of the vitamin premix; (5) 15% reduction in digestible amino acid density only in the growth phase, and (6) a combination of

the aforementioned strategies. The study revealed that increasing the arginine:digestible lysine ratio decreased the occurrence of wooden breast without affecting bird performance. This result can be justified by the higher levels of arginine in the diet that promote vasodilation through nitric oxide production (Ortega and Feria, 2010). Thus, it increases efficiency in exchanging nutrients and metabolites in the muscle tissue, promoting increased muscle fibre hypertrophy (Jobgen *et al.*, 2006; Bodle *et al.*, 2018). However, combining all the mentioned strategies and doubling the inclusion of vitamin premix did not influence the studied myopathies.

Boerboom *et al.* (2018) proposed that the hypoxia of the breast muscle tissue in birds affected by wooden breast can be improved by dietary supplementation of arginine. This supplementation decreased wooden breast without negatively impacting breast meat yield. Similarly, vitamin C supplementation was hypothesized to neutralize reactive oxygen species (ROS) and spare nitric oxide (Ortega and Feire, 2010; Bodle *et al.*, 2018), thereby reducing tissue hypoxia and the production of free radicals. Bodle *et al.* (2018) supported this hypothesis, observing a significant reduction in wooden breast in birds receiving diets supplemented with vitamin C.

Additionally, Bodle *et al.* (2018) found that a 15% reduction in amino acid requirements in the growth phase reduced the incidence and severity of wooden breast without negatively affecting breast yield and final performance. This was in line with Powell *et al.*'s (2014) assertion that reducing amino acid density in the growth phase maximizes satellite cell development, allowing muscle tissue to recover effectively.

Livingston *et al.* (2019) explored the supplementation of glutamine and arginine at varying doses, to the detriment of glycine levels, in the initial (8-14 days) and growth (15-44 days) phases. Contrary to expectations, manipulating these amino acids did not decrease the incidence of white striping and wooden breast. Instead, diets with higher doses of glutamine

may have contributed to the development of both myopathies, potentially due to increased weight gain and subsequent metabolic effects.

The study by Livingston *et al.* (2019) highlighted that in a state of hypoxia, glutamine utilization increases, leading to the accumulation of fatty acids and phospholipids, explaining the increase in white striping scores.

Antioxidants and different sources of minerals

Among the various forms of vitamin E commonly used in the poultry industry, α -tocopherol, one of its eight forms, has demonstrated efficacy in preventing oxidative damage. Pectoral myopathies affecting broiler chickens, characterized by oxidative stress resulting from accelerated metabolism in high-yielding birds, underscore the relevance of antioxidant strategies (Bilgili *et al.*, 2013; Boerboom *et al.*, 2018; Bodle *et al.*, 2018). Notably, Kuttappan *et al.* (2009) revealed white striping lesions in birds suffering from nutritional muscular dystrophy, primarily caused by vitamin E deficiency. Given this context, previous studies have explored different vitamin E inclusions and associated strategies to mitigate white striping and wooden breast myopathies (Kuttappan *et al.*, 2012b; Wang *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021).

In their investigation, Kuttappan *et al.* (2012b) tested varying levels of vitamin E inclusion (15, 50, 100, 200, and 400 IU/kg) in the diet of broiler chickens to assess white striping incidence. Although variations in frequency were observed, no consistent trend emerged. The lack of a direct effect of higher doses of vitamin E does not necessarily imply ineffectiveness; instead, it may be influenced by conditions hindering enough from reaching the muscle. The lower density of blood capillaries in fast-growing broilers' muscle fibres limits nutrient supply, including vitamin E, emphasizing the significance of tissue vascularization (Kuttappan *et al.*, 2009; Kuttappan *et al.*, 2012b).

Wang *et al.* (2020) highlighted the dependence of post-hatching muscle growth on myogenic stem cells (satellite cells), which exhibit maximum activity in the first week of life and are sensitive to nutritional changes (Velleman, 2015). Early nutrition's impact on reducing oxidative stress and inflammation in tissues affected by wooden breast was emphasized. The study proposed evaluating the effect of increasing levels of vitamin E, in the form of DL- α -tocopherol acetate (10 and 200 IU/kg), n-3 fatty acids for anti-inflammatory effects, and their combination. Results indicated that vitamin E supplementation positively influenced wooden breast occurrence, resulting in lower incidences of severe cases. While Kuttappan *et al.* (2012b) presented varying results regarding the influence of vitamin E on white striping, the high biological efficiency of DL- α -tocopherol was suggested to justify the decrease in wooden breast incidence, with its direct incorporation in cells where oxidation is initiated. In contrast, n-3 fatty acids did not exhibit a beneficial effect in reducing myopathy.

Based on these findings, Wang *et al.* (2021) further hypothesized that lipoic acid (a short-chain fatty acid) and vitamin E could effectively reduce wooden breast severity due to their inhibitory activity on pro-inflammatory cytokines. Combining vitamin E and lipoic acid during the first three weeks after birth was proposed to mitigate wooden breast development. The effects were evident through gene expression related to muscle growth, development, adipogenesis, oxidative stress, and inflammation, suggesting a reduction in *Pectoralis major* muscle degeneration.

Selenium, either alone or combined with vitamin E, is acknowledged for its role in preventing lipid peroxidation of biological membranes (Scholz *et al.*, 1994). In this context, Cemin *et al.* (2018) tested the supplementation of increasing selenium levels, employing zinc-L-selenomethionine as the sole supplemental selenium source, to assess its impact on myopathies. The authors concluded that elevated selenium levels improved broiler performance and carcass and breast yields. However, optimizing performance simultaneously

increased the severity and occurrence of white striping and wooden breast myopathies, challenging the association of pectoral myopathies with selenium levels.

Addressing the oxidative stress implicated in wooden breast development, Kuttappan *et al.* (2021) evaluated various approaches based on dietary antioxidant principles or endogenous support. Three experiments were conducted based on the premise that factors like oxidized fat in the diet and thermal stress contribute to oxidative stress in tissues, eventually leading to myopathies with more severe scores. The experiments included fresh and oxidized fat with or without synthetic antioxidants (Exp. I); combination with chelated minerals (Exp. II); and utilization of inorganic zinc, copper, manganese, and selenium sulphate; zinc sulphate, copper, chelated manganese, and inorganic selenium; chelated zinc, copper, manganese, and selenium sulphate; and inorganic selenium combined with synthetic antioxidant in heat stress situations (Exp. III).

As expected, the presence of oxidized fat was associated with reduced weight gain and increased muscle damage (more severe wooden breast scores), as fat oxidation can compromise the quality of other dietary nutrients, including protein and fat-soluble vitamins (Dibner *et al.*, 1996; Ao *et al.*, 2017). Individual or combined addition of ethoxyquin with chelated minerals resulted in improved feed conversion compared to using oxidized fat alone, accompanied by an increased incidence of normal fillets (without wooden breast). This highlighted the efficacy of combining chelated minerals with synthetic antioxidants in reducing exogenous and endogenous factors causing oxidative stress, leading to decreased wooden breast and improved bird performance (Kuttappan *et al.*, 2021). The use of chelated minerals promoted a higher incidence of normal fillets compared to birds fed with conventional mineral sources, with no significant difference in performance parameters. The authors concluded that these strategies would be more effective under greater challenges.

In alignment with the approach of Kuttappan *et al.* (2021), Sirri *et al.* (2016) investigated the impact of high or low supplementation of inorganic and organic sources of zinc, copper, and manganese in broilers, without incorporating antioxidant or oxidative challenge conditions. The study evaluated its effect on myopathy incidence by feeding diets with two mineral sources (inorganic or chelates) at two administration doses (high or low). However, the experimental diets did not demonstrate a significant influence on the severity and presence of both myopathies.

Quantitative feed restriction

The literature reveals significant variability in white striping and wooden breast scores on a macroscopic level. This variability is predominantly attributed to differences in the live weight of birds, with higher severity scores observed in birds with greater body weights and breast yields (Kuttappan *et al.*, 2013; Lorenzi *et al.*, 2014). Thus, factors influencing the rate of body growth, such as the feeding program and the sex of the birds, play a crucial role in the occurrence of myopathies.

Trocino *et al.* (2015) initiated studies examining the impact of dietary restriction (supplying 80% of *ad libitum* consumption) during the initial growth phase (13 to 21 days) on the occurrence of myopathies (white striping and wooden breast) in two genetic lines selected for standard or high breast yield, in both sexes, evaluated at 46 days of age. The authors concluded that both genetics and early feeding restrictions significantly alter performance and the growth curve. However, these differences are relatively limited in modern strains. Notably, the sex of the birds and early feeding restrictions exert substantial effects on performance and, consequently, the occurrence of myopathies.

Radaelli *et al.* (2017) investigated the impact of dietary restriction during the first growth period (13 to 21 days) on histological changes associated with myopathies in two

genetic lines (selected for standard or high breast yield) in both sexes, at different slaughter ages (14, 21, 28, 35, and 46 days). The study revealed that muscle fibre degeneration indicative of white striping and wooden breast occurs early in broilers, with a significant increase after 28 days, observed in nearly all animals evaluated at 46 days, irrespective of sex and lineage. Feed restriction limited muscle degeneration, as birds did not fully express their growth capacity during the restriction period (13-21 days). Post-restriction, birds exhibited compensatory gains and developed histologically observed lesions.

Subsequently, Meloche *et al.* (2018b) implemented three feed restriction programs providing 85%, 90%, and 95% of ad libitum consumption from 1 to 50 days of age. The results indicated that altering the growth curve through quantitative restriction to 95% decreased the incidence of wooden breast at 33 and 43 days and white striping at 43 and 50 days, impacting performance. The remaining restriction levels did not further reduce the occurrence of myopathies.

In a similar line of inquiry, Gratta *et al.* (2019) assessed the effect of *ad libitum* feeding or feed restriction during the early (13 to 23 days) or late (27 to 37 days) growth phases on performance, slaughter and carcass characteristics, meat quality, and myopathy incidence in two genetic lineages. While macroscopic reductions in myopathy severity were not observed, histologically identified muscle fibre degeneration did occur. Notably, the study underscored the effectiveness of Meloche *et al.*'s (2018b) feed restriction levels (85% to 95%) in reducing white striping and wooden breast severity at various ages (33, 43, and 50 days). Comparisons were drawn between these results and the worsening white striping incidence caused by compensatory consumption in animals initially restricted and slaughtered at 46 days, as reported by Trocino *et al.* (2015). Gratta *et al.* (2019) concluded that both the timing and intensity of a feed restriction program should be carefully considered to manipulate the growth curve favourably for the reduction of myopathies.

Food additives

Delving into issues related to amino acids, particularly the manipulation of arginine levels in the diet influencing myopathy occurrence, Maynard *et al.* (2023) hypothesized the symbiotic action of guanidinoacetic acid and arginine in creatine formation. Creatine, crucial for energy metabolism, is endogenously produced in skeletal tissue. This action is considered a potential strategy to mitigate myopathies. Thus, the authors aimed to evaluate guanidinoacetic acid supplementation (0%, 0.06%, and 0.12%) on myopathy incidence in chickens slaughtered at 56 days. Although no effect on breast yield was observed, the highest level of acid supplementation demonstrated a reduction in the incidence of wooden breast and white striping without deleterious effects on performance. On the contrary, it promoted improved feed conversion.

Taking a different approach, Greene *et al.* (2020) explored phytase supplementation to reduce wooden breast occurrence using a metabolomics mass spectrometry approach. The experiment involved three diets: a basal diet meeting requirements, addition of 0.30% Myo-inositol (a B-complex vitamin), and a negative control with reduced phosphorus, calcium, and sodium supplemented with 500, 1000, and 2000 FTU/kg. High-dose (1000 and 2000 FTU) phytase supplementation reduced the severity of wooden breast by approximately 5% compared to the basal diet. The phytase's effect seems mediated by increased expression of oxygen-sensitive genes, enhancing blood oxygenation in the pectoral muscle, thereby reducing hypoxia. However, the authors emphasized the need for further studies to define phytase's mechanism of action in modulating the metabolomics profile that improves wooden breast incidence.

Despite an incomplete understanding of wooden breast etiology, molecular biology studies reveal changes in oxidative stress responses, metabolic biosynthesis, and pathways

related to inflammation contributing to its development (Mutryn *et al.*, 2015; Zambonelli *et al.*, 2016). Studies primarily focus on dietary programs regulating nutritional metabolism, reducing oxidative stress, and mitigating inflammatory reactions (Bodle *et al.*, 2018; Livingston *et al.*, 2019).

Dietary effects manifest at the intestinal level, the organ responsible for nutrient digestion and absorption. Consequently, sub-therapeutic doses of antibiotics or probiotics are utilized to promote chicken intestinal health. Jia *et al.* (2022) hypothesized that the *Eimeria spp.* challenge with the antibiotic bacitracin and the probiotic *Bacillus subtilis* would impact gut health, bird performance, and wooden breast incidence. The study revealed that antibiotic additives and *Eimeria spp.* increased wooden breast development in broiler chickens. The authors explained this by compensatory gains during the recovery phase after the sanitary challenge. Probiotic supplementation increased wooden breast incidence in male broilers without affecting performance. Moreover, the results affirmed that wooden breast incidence rises with chicken age and that a higher growth rate correlates with a higher incidence.

Almeida Paz *et al.* (2019) assessed white striping incidence in birds fed probiotics, asserting that animals raised in low-stress conditions prevent myopathy incidence. Probiotics can produce various effects on the animal's body, ranging from disease prevention to stress reduction, promoting animal well-being, particularly when using strains producing neurotransmitters (Cerdó *et al.*, 2017; Almeida Paz *et al.*, 2019). Thus, the authors evaluated the impact of different doses of the probiotic *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum* on broilers slaughtered at 42 days. The study found a higher incidence of wooden breast in broilers fed twice the recommended probiotic dose, with no influence on weight gain at the experimental period's end.

According to Cerdó *et al.* (2017), probiotic evaluations aiming solely to enhance production rates are outdated. The quest for products benefiting both productivity and animal

welfare should be prioritized. In this context, Almeida Paz *et al.* (2019) presented the sole study identified by this systematic search evaluating productive parameters, myopathies, and animal welfare. The researchers assessed behavioural well-being parameters, such as the catch test, approximation test, and latency to lie. The probiotic significantly improved broiler welfare, exhibiting better results in behavioural tests, suggesting lower injury rates and improved carcass quality. However, the study only included white striping incidence as an additional parameter without further exploration and correlation with animal welfare.

CONCLUSION

The examined articles provide valuable insights into nutritional strategies applicable in broiler diets, offering significant contributions to future studies aimed at mitigating the incidence of pectoral myopathies. These strategies predominantly fall under categories related to the growth rate, involving alterations in the chicken growth curve, and the utilization of dietary antioxidants, whether natural or synthetic.

Strategies associated with the growth curve aim to manipulate or decelerate bird growth throughout the productive phase, intending to reduce the severity of myopathies due to the observed positive correlation between muscle growth and myopathy incidence. Noteworthy successes have been observed in studies implementing feed restriction, nutrient density reduction, and lysine reduction in the growth phase. However, careful implementation is imperative to avoid compromising animal performance. Improper application may not only fail to reduce myopathy incidence and severity but may also negatively impact overall animal productivity.

Similarly, approaches centred on the use of antioxidants exhibit variability and occasional confusion regarding their effects on growth, slaughter weight, and yield, making definitive conclusions challenging. Asserting the effectiveness of a specific nutritional or

dietary strategy in reducing muscular myopathies requires careful consideration, as these interventions can directly influence animals' weight gain.

There is a growing demand for research to comprehensively assess the effects of nutritional strategies on both the incidence of pectoral myopathies and animal welfare. Currently, there is a dearth of research reports substantiating that myopathies do not induce pain and stress in animals, which are fundamental welfare principles. Given the heightened importance of animal welfare in modern poultry farming, comprehensive investigations are crucial to inform and guide industry practices.

Author contribution

All authors contributed equally to the writing of this research.

Disclosure statement

The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Founding

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) and Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) - Finance Code 001.

REFERENCES

- Abreu, A. R. C., I. C. S. D. Araújo, D. P. Vaz, M. M. Saldanha, D. D. O. Fontes, P. A. Leão, and L. J. C. Lara. 2022. "Performance, nutrient digestibility, and muscular evaluation of female broiler chickens fed different dietary protein levels and slaughtered at 38 or 46 days". *Brazilian Journal of Animal Science* 51: e20210151. doi: 10.37496/rbz5120210151
- Afonso, M. H. F., J. V. Souza, S. R. Ensslin, and L. Ensslin. 2012. "Como construir conhecimento sobre o tema de pesquisa? Aplicação do processo proknow-c na busca de literatura sobre avaliação do desenvolvimento sustentável". *Revista de Gestão Social e Ambiental* 5 (2): 47- 62. doi: 10.24857/rgsa.v5i2.424
- Almeida Paz, I. C. D. L., I. C. Lima Almeida, L. T. La Vega, E. L. Milbradt, M. R. Borges, G. H. C. Chaves, and R. L. Andreatti Filho. 2019. "Productivity and well-being of broiler chickens supplemented with probiotic". *Journal of Applied Poultry Research* 28 (4): 930-942. doi:10.3382/japr/pfz054
- Ao, T., L. M. Macalintal, M. A. Paul, A. J. Pescatore, R. M. Delles, A. H. Cantor, and K. A. Dawson. 2017. "Effects of dietary supplementation of organic minerals on the performance of broiler chicks fed oxidised soybean oil". *Journal of applied animal nutrition* 5: e13. doi:10.1017/jan.2017.10
- Baldi, G., F. Soglia, and M. Petracci. 2020. "Current status of poultry meat abnormalities". *Meat and Muscle Biology* 4 (2): 1-7. doi: 10.22175/mmb.9503
- Baldi, G., F. Soglia, L. Laghi, S. Tappi, P. Rocculi, S. Tavaniello, and M. Petracci. 2019. "Comparison of quality traits among breast meat affected by current muscle abnormalities". *Food Research International* 115: 369-376. doi: 10.1016/j.foodres.2018.11.020.
- Bilgili, S. F. 2013. "Broiler chicken myopathies: II. Woody breast." *Worthw Oper Guidel Suggest*, 1.
- Bodle, B. C., C. Alvarado, R. B. Shirley, Y. Mercier, and J. T. Lee. 2018. "Evaluation of different dietary alterations in their ability to mitigate the incidence and severity of woody breast and white striping in commercial male broilers". *Poultry Science* 97 (9): 3298-3310. doi: 10.3382/ps/pey166
- Boerboom, G., T. Van Kempen, A. Navarro-Villa, and A. Pérez-Bonilla. 2018. "Unraveling the cause of white striping in broilers using metabolomics". *Poultry Science* 97 (11): 3977-3986. doi: 10.3382/ps/pey266
- Brose, S. A., A. L. Marquardt, and M. Y. Golovko. 2014. "Fatty acid biosynthesis from glutamate and glutamine is specifically induced in neuronal cells under hypoxia". *Journal of neurochemistry* 129 (3): 400-412. doi: 10.1111/jnc.12617
- Carvalho, L. M., S. Ventanas, L. S. Olegario, M. S. Madruga, and M. Estévez. 2020. "Consumers awareness of white-striping as a chicken breast myopathy affects their

- purchasing decision and emotional responses”. *LWT* 131: 109809. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109809
- Cemin, H. S., S. L. Vieira, C. Stefanello, L. Kindlein, T. Z. Ferreira, and A. K. Fireman. 2018. “Broiler responses to increasing selenium supplementation using Zn-L-selenomethionine with special attention to breast myopathies”. *Poultry Science* 97 (5): 1832-1840. doi: 10.3382/ps/pey001.
- Cerdó, T., A. Ruíz, A. Suárez, and C. Campoy. 2017. “Probiotic, prebiotic, and brain development”. *Nutrients* 9 (11): 1247. doi: 10.3390/nu9111247.
- Chen, L. R., M. M. Suyemoto, A. H. Sarsour, H. A. Cordova, E. O. Oviedo-Rondón, M. Wineland, and L. B. Borst. 2019. “Temporal characterization of wooden breast myopathy (“woody breast”) severity and correlation with growth rate and lymphocytic phlebitis in three commercial broiler strains and a random-bred broiler strain”. *Avian Pathology* 48 (4): 319-328. doi: 10.1080/03079457.2019.1598541
- Cruz, R. F. A., S. L. Vieira, L. Kindlein, M. Kipper, H. S. Cemin, and S. M. Rauber. 2017. “Occurrence of white striping and wooden breast in broilers fed grower and finisher diets with increasing lysine levels”. *Poultry Science* 96 (2): 501-510. doi: 10.3382/ps/pew310
- Dibner, J. J., C. A. Atwell, M. L. Kitchell, W. D. Shermer, and F. J. Ivey. 1996. “Feeding of oxidized fats to broilers and swine: effects on enterocyte turnover, hepatocyte proliferation and the gut associated lymphoid tissue”. *Animal feed Science and technology* 62 (1): 1-13. doi: 10.1016/S0377-8401(96)01000-0
- Ensslin, L., S. R. Ensslin, R. T. O. Lacerda, and J. E. Tasca. 2010. “ProKnow-C, Knowledge Development Process Constructivist: processo técnico com patente de registro pendente junto ao INPI”. Rio de Janeiro: INPI.
- Erian, I., and C. J. Phillips. 2017. “Public understanding and attitudes towards meat chicken production and relations to consumption”. *Animals* 7 (3): 20. doi: 10.3390/ani7030020
- Fan, J., J. J. Kamphorst, J. D. Rabinowitz, and T. Shlomi. 2013. “Fatty acid labeling from glutamine in hypoxia can be explained by isotope exchange without net reductive isocitrate dehydrogenase (IDH) flux”. *Journal of Biological Chemistry* 288 (43): 31363-31369. doi: 10.1074/jbc.M113.502740
- Ferreira, T. Z., R. A. Casagrande, S. L. Vieira, D. Driemeier, L. and Kindlein. 2014. “An investigation of a reported case of white striping in broilers”. *Journal of Applied Poultry Research* 23 (4): 748-753. doi: 10.3382/japr.2013-00847
- Gratta, F., M. Birolo, R. Sacchetto, G. Radaelli, G. Xiccato, C. Ballarin, and A. Trocino. 2019. “Effect of feed restriction timing on live performance, breast myopathy occurrence, and muscle fiber degeneration in 2 broiler chicken genetic lines”. *Poultry Science* 98 (11): 5465-5476. doi: 10.3382/ps/pez352.
- Greene, E., R. Cauble, A. E. Dhamad, M. T. Kidd, B. Kong, S. M. Howard, and S. Dridi. 2020. “Muscle metabolome profiles in woody breast-(un) affected broilers: effects of

- quantum blue phytase-enriched diet”. *Frontiers in Veterinary Science* 7: 458. doi: 10.3389/fvets.2020.00458
- Griffin J. R., L. Moraes, M. Wick, and M. S. Lilburn. 2018. “Onset of white striping and progression into wooden breast as defined by myopathic changes underlying Pectoralis major growth. Estimation of growth parameters as predictors for stage of myopathy progression”. *Avian pathology* 47 (1): 2-13. doi: 10.1080/03079457.2017.1356908.
- Hubert, S. M., and G. Athrey. 2020. “Energy metabolism and sources of oxidative stress in wooden breast-a review”. *F1000Research* 9: 319. doi: 10.12688/f1000research.23296.1
- Jia, L., X. Zhang, X. Li, W. Schilling, E. D. Peebles, A. S. Kiess, and L. Zhang. 2022. “Bacitracin, Bacillus subtilis, and Eimeria spp. challenge exacerbates woody breast incidence and severity in broilers”. *Poultry Science* 101 (1): 101512. doi: 10.1016/j.psj.2021.101512
- Jobgen, W. S., S. K. Fried, W. J. Fu, C. J. Meininger, and G. Wu. 2006. “Regulatory role for the arginine–nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates”. *The Journal of nutritional biochemistry* 17 (9): 571-588. doi: 10.1016/j.jnutbio.2005.12.001
- Johnson, C. A., T. Duong, R. E. Latham, R. B. Shirley, and J. T. Lee. 2020. “Effects of amino acid and energy density on growth performance and processing yield of mixed-sex Cobb 700× MV broiler chickens”. *Journal of Applied Poultry Research* 29 (1): 269-283. doi: 10.1016/j.japr.2019.10.014
- Kindlein, L., T. Z. Ferreira, D. Driemeier, V. P. D. Nascimento, S. L. Vieira, L. E. F. D. D. Moraes, and R. D. Sainz. 2017. “Occurrence and severity of white striping in broilers until 50d of age fed with high and low-energy diets: body weight, histopathological changes and meat quality”. *Journal of Veterinary Science and Technology*, 8 (6): 1000478. doi: 10.4172/2157-7579.1000478
- 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”. *Poultry Science* 88 (447): 136-137.
- Kuttappan, V.A., V. B. Brewer, J. K. Apple, P. W. Waldroup, and C. M. Owens. 2012a. “Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets”. *Poultry Science* 91: 2677–2685. doi: 10.3382/ps.2012-02259
- Kuttappan, V. A., S. D. Goodgame, C. D. Bradley, A. Mauromoustakos, B. M. Hargis, P. W. 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”. *Poultry Science* 91 (12): 3230-3235. doi: 10.3382/ps.2012-02397
- Kuttappan, V. A., H. L. Shivaprasad, D. P. Shaw, B. A. Valentine, B. M. Hargis, F. D. Clark, and C. M. Owens. 2013. “Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles”. *Poultry Science* 92 (2): 331-338. doi: 10.3382/ps.2012-02646
- Kuttappan, V. A., C. M. Owens, C. Coon, B. M. Hargis, and M. Vazquez-Anon. 2017. “Incidence of broiler breast myopathies at 2 different ages and its impact on selected

- raw meat quality parameters". *Poultry Science* 96 (8): 3005-3009. doi: 10.3382/ps/pex072
- Kuttappan, V. A., M. Manangi, M. Bekker, J. Chen, and M. Vazquez-Anon. 2021. "Nutritional intervention strategies using dietary antioxidants and organic trace minerals to reduce the incidence of wooden breast and other carcass quality defects in broiler birds". *Frontiers in Physiology*, 12: 663409. doi: 10.3389/fphys.2021.663409
- Livingston, M. L., P. R. Ferket, J. Brake, and K. A. Livingston. 2019. "Dietary amino acids under hypoxic conditions exacerbates muscle myopathies including wooden breast and white striping". *Poultry Science* 98 (3): 1517-1527. doi: 10.3382/ps/pey463
- Lorenzi, M., S. Mudalal, C. Cavani, and M. Petracci. 2014. "Incidence of white striping under commercial conditions in medium and heavy broiler chickens in Italy". *Journal of Applied Poultry Research* 23 (4): 754-758. doi: 10.3382/japr.2014-00968
- Maynard, C. J., D. S. Nelson, S. J. Rochell, and C. M. Owens. 2023. "Reducing broiler breast myopathies through supplementation of guanidinoacetic acid in broiler diets". *Journal of Applied Poultry Research* 32 (1): 100324. doi: 10.1016/j.japr.2022.100324
- Meloche, K. J., B. I. Fancher, D. A. Emmerson, S. F. Bilgili, and W. A. Dozier III. 2018a. "Effects of reduced dietary energy and amino acid density on Pectoralis major myopathies in broiler chickens at 36 and 49 days of age". *Poultry Science* 97 (5): 1794-1807. doi: 10.3382/ps/pex454
- Meloche, K. J., B. I. Fancher, D. A. Emmerson, S. F. Bilgili, and W. A. Dozier III. 2018b. "Effects of quantitative nutrient allocation on myopathies of the Pectoralis major muscles in broiler chickens at 32, 43, and 50 days of age". *Poultry Science* 97 (5): 1786-1793. doi: 10.3382/ps/pex453
- Meloche, K. J., B. I. Fancher, D. A. Emmerson, S. F. Bilgili, and W. A. Dozier III. 2018c. "Effects of reduced digestible lysine density on myopathies of the Pectoralis major muscles in broiler chickens at 48 and 62 days of age". *Poultry Science* 97 (9): 3311-3324. doi: 10.3382/ps/pey171
- Mudalal, S., M. Lorenzi, F. Soglia, C. Cavani, and M. Petracci. 2015. "Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat". *Animal* 9 (4): 728-734. doi: 10.1017/S175173111400295X
- Mutryn, M. F., E. M. Brannick, W. Fu, W. R. Lee, and B. Abasht. 2015. "Characterization of a novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNA-sequencing". *BMC Genomics* 16 (1): 1-19. doi: 10.1186/s12864-015-1623-0
- Norring, M., A. Valros, J. Valaja, H-K. Sihvo, K. Immonen and E. Puolanne. 2019. "Wooden breast myopathy links with poorer gait in broiler chickens." *Animal* 13 (8): 1690-1695. doi: 10.1017/S1751731118003270
- Petracci, M., F. Soglia, M. Madruga, L. Carvalho, E. Ida, and M. Estévez. 2019. "Wooden-breast, white striping, and spaghetti meat: causes, consequences and

- consumer perception of emerging broiler meat abnormalities”. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 18 (2): 565-583. doi: 10.1111/1541-4337.12431
- Powell, D. J., D. C. McFarland, A. J. Cowieson, W. I. Muir, and S. G. Velleman. 2014. “The effect of nutritional status on myogenic gene expression of satellite cells derived from different muscle types”. *Poultry Science* 93 (9): 2278-2288. doi: 10.3382/ps.2013-03810
- Radaelli, G., A. Piccirillo, M. Birolo, D. Bertotto, F. Gratta, C. Ballarin, and A. Trocino. 2017. “Effect of age on the occurrence of muscle fiber degeneration associated with myopathies in broiler chickens submitted to feed restriction”. *Poultry Science* 96 (2): 309-319. doi: 10.3382/ps/pew270
- Sanchez-Sabate, R., and J. Sabaté. 2019. “Consumer attitudes towards environmental concerns of meat consumption: A systematic review”. *International journal of environmental research and public health*, 16 (7): 1220. doi: 10.3390/ijerph16071220
- Scholz, R. W., A. K. Saini, P. C. Reddy, and C. C. Reddy. 1994. “Dietary vitamin E and selenium effects on resistance to oxidative stress in rat liver mitochondria”. *Biochemistry and molecular biology international*, 34 (6): 1215-1225.
- Sihvo, H. K., K. Immonen, and E. Puolanne. 2014. “Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers”. *Veterinary pathology* 51 (3): 619-623. doi: 10.1177/0300985813497488.
- Sirri, F., G. Maiorano, S. Tavaniello, J. Chen, M. Petracci, and A. Meluzzi. 2016. “Effect of different levels of dietary zinc, manganese, and copper from organic or inorganic sources on performance, bacterial chondronecrosis, intramuscular collagen characteristics, and occurrence of meat quality defects of broiler chickens”. *Poultry Science* 95 (8): 1813-1824. doi: 10.3382/ps/pew064.
- Soglia, F., L. Laghi, L. Canonico, C. Cavani, and M. Petracci. 2016a. “Functional property issues in broiler breast meat related to emerging muscle abnormalities”. *Food Research International*, 89 (3): 1071-1076. doi: 10.1016/j.foodres.2016.04.042.
- Soglia, F., S. Mudalal, E. Babini, M. Di Nunzio, M., Mazzoni, F. Sirri, and M. Petracci. 2016b. “Histology, composition, and quality traits of chicken Pectoralis major muscle affected by wooden breast abnormality”. *Poultry Science* 95 (3): 651-659. doi: 10.3382/ps/pev353.
- Tallentire C. W., I. Leinonen, and I. Kyriazakis. 2018. “Artificial selection for improved energy efficiency is reaching its limits in broiler chickens”. *Scientific Reports* (8): 1168. doi: 10.1038/s41598-018-19231-2
- Trocino, A., A. Piccirillo, M. Birolo, G. Radaelli, D. Bertotto, E. Filiou, and G. Xiccato. 2015. “Effect of genotype, gender and feed restriction on growth, meat quality and the occurrence of white striping and wooden breast in broiler chickens”. *Poultry Science*, 94 (12): 2996-3004. doi: 10.3382/ps/pev296

- Velleman, S. G. 2015. "Relationship of skeletal muscle development and growth to breast muscle myopathies: a review". *Avian Diseases* 59 (4): 525-531. doi: 10.1637/11223-063015-Review.1
- Velleman, S. G., D. L. Clark, and J. R. Tonniges. 2018. "The effect of the wooden breast myopathy on sarcomere structure and organization". *Avian Diseases* 62 (1): 28-35. doi: 10.1637/11766-110217-Reg.1.
- Wang, J., D. L. Clark, S. K. Jacobi, and S. G. Velleman. 2020. "Effect of vitamin E and omega-3 fatty acids early posthatch supplementation on reducing the severity of wooden breast myopathy in broilers". *Poultry science* 99 (4): 2108-2119. doi: 10.1016/j.psj.2019.12.033
- Wang, J., D. L. Clark, S. K. Jacobi, and S. G. Velleman. 2021. "Alpha-tocopherol acetate and alpha lipoic acid may mitigate the development of wooden breast myopathy in broilers at an early age". *British Poultry Science* 62 (5): 749-758. doi: 10.1080/00071668.2021.1927985
- Zambonelli, P., M. Zappaterra, F. Soglia, M. Petracci, F. Sirri, C. Cavani, and D. Davoli. 2016. "Detection of differentially expressed genes in broiler pectoralis major muscle affected by White Striping–Wooden Breast myopathies". *Poultry Science* 95 (12): 2771-2785. doi: 10.3382/ps/pew268

CAPÍTULO 2

Precision technologies for predictive diagnosis and study of the allometric growth of broiler chickens with breast myopathies

All procedures of this study are in accordance with the ethical standards for scientific research. They were approved by the Ethics Committee on the Use of Animals CEUA of the Federal University of Grande Dourados (protocol CEUA/UFGD 12/2019).

British Poultry Science, ISSN: 1466-1799 (*online*) Impact factor: 2,429, Percentile 78% (Scopus), Qualis

CAPES A2

doi: 10.1080/00071668.2022.2128989

ABSTRACT

1. An experiment was carried out to validate techniques as predictive diagnostic tools for breast myopathies and to study the allometric growth of distinct parts of the body and meat quality of broilers affected by breast myopathies.
2. Infrared thermography was performed at 35 days of age. The surface temperatures of breasts of 300 birds were recorded, followed by ultrasound imaging.
3. The birds were slaughtered and the cuts were made to weigh the body parts. Then, the breasts were evaluated as for the presence and severity of myopathies, from which nine treatments were established represented by the associated degrees of the myopathies white striping and wooden breast and breasts classified as normal.
4. There was no difference in surface temperatures and echogenicity values between normal breasts and breasts affected by myopathies. At 35 days of age few fillets classified as normal were found.
5. The breast presented a late growth in relation to the body, showing that, regardless of characteristic lesions of myopathies, the chickens presented the physiological growth patterns already established in the study of animal science.
6. The most severe score of wooden breast affects meat quality variables.

Keywords: echogenicity, infrared thermography, meat quality, relative growth, superficial temperature, ultrasound.

INTRODUCTION

Genetic evolution in poultry production has provided an exacerbated increase in the growth of myofibers, causing blood flow restriction and lack of circulating oxygen (Mudalal et al. 2015; Kuttappan et al. 2017), which in turn triggers a process of muscle ischemia (Joiner et al. 2014; Papah et al. 2018). These changes may be easily identified by the consumer because of color and consistency. The myopathy white striping is commonly observed in breasts and thighs and the myopathy wooden breast is generally observed in breasts of broilers, although lesions characteristic of this anomaly have been reported on thighs and legs (Sihvo 2019). Studies have been carried out in order to identify the causes of such muscle changes; however, their etiology and pathogenesis are currently unknown and there are no studies proving that both myopathies share the same etiology (Velleman & Clark 2015; Sihvo et al. 2018; Kuttappan et al. 2021).

Sihvo et al. (2017) reported that changes caused by wooden breast may develop in very young birds, starting with a focal lesion in birds with approximately ten days of age and advancing to a chronic and diffuse phase that affects the whole breast muscle (Sihvo et al. 2018). According to Petracci et al. (2019), thicker and heavier breast fillets are correlated with the occurrence and severity of white striping. However, the highest average fillet weights are not only affected by white striping but also by wooden breast, or both simultaneously (Baldi et al. 2019).

Although some studies have determined the allometric coefficients of carcass parts of broilers over time (Chodová & Tumová, 2013; Van der Klein et al. 2017; Tickle et al. 2018), there is not enough information about the allometric growth of carcasses affected by breast myopathies associated with different scores of the conditions. It becomes increasingly necessary to know the growth and development of the body and the characteristics of carcasses of chickens affected by these myopathies, for they are related to body weight. The

allometric study of growth allows estimating the pattern of development of cuts of economic importance in birds, being therefore an accurate tool for prediction of body parts. In addition, chicken breast has a relatively high economic value in some markets, and information on how this body part grows is extremely valuable. Furthermore, breast myopathies have a major impact on the quality of breast meat and impair its added value.

Both wooden breast and white striping initially develop in the cranial portion of the breast and, as this condition worsens, it becomes diffuse, that is, it spreads throughout the breast muscle. The state of inflammation caused in the muscle emerges from an oxidative stress that arises from the state of hypoxia (Papah et al. 2017; Boerboom et al. 2018; Kuttappan et al. 2021); thus, the inflamed muscle regions tend to be hotter (Gavrila 1999) compared to muscle regions that do not present muscle anomalies.

In human medicine, there are studies (Brioschi et al. 2005) reporting that infrared imaging may be useful for the evaluation of simpler muscle injuries because there is an increase in radiation on the injured tissue, while hyporadiant areas suggest delayed healing. Given this assumption, technology allows us to detect localized areas of increased heat production due to possible inflammation or decreases in heat production due to low blood flow and degenerative processes (Eddy et al. 2001). These findings (Eddy et al. 2001; Brioschi et al. 2005) corroborate statements that emphasize that muscles affected by myopathies are characterized by a state of severe hypoxia, which leads to oxidative stress, subsequent tissue inflammation, and finally myodegeneration (Boerboom et al. 2018; Petracci et al. 2019).

Applications of non-destructive techniques, such as infrared thermography, are required when there is a need to identify a muscle anomaly. In this sense, using the high-frequency sound waves of the ultrasound equipment, it is assumed that it is possible to detect changes in the density of muscle bundles and that breasts affected by myopathies show

differences in echogenicity (gray scale) in relation to normal breasts, since there are studies that found a greater echogenicity in images obtained from muscles affected by congenital myopathies and muscular dystrophy (Scholten et al. 2003; Pillen et al. 2009; Simões et al. 2018).

Infrared thermography and ultrasonography are interesting tools as methods to evaluate breast myopathies *in vivo* in male broilers (Castilho et al. 2021), showing that further studies on the temperature gradient are necessary considering the three regions of breast muscles (cranial, medial, and caudal) in order to correlate myopathies scores to surface breast temperatures, since the lesions start in the cranial part with lower scores. In view of the above, this study aims to evaluate the surface temperature of breast muscle in the cranial, medial, and caudal regions, evaluate the use of ultrasound as a predictive method, study the relative body growth through allometry coefficients and study the meat quality of broilers affected by the myopathies white striping and wooden breast associated with different scores of the conditions.

MATERIAL AND METHODS

Broilers and housing

All procedures of this study are in accordance with the ethical standards for scientific research. They were approved by the Ethics Committee on the Use of Animals CEUA of the Federal University of Grande Dourados (protocol CEUA/UFGD 12/2019).

The experiment was carried out in an experimental aviary that has 56 boxes, with an area of 4.5 m² each, a pendulum drinker, a tubular feeder, and equipment for temperature control by positive and negative pressure. The initial heating was performed using a 250 W infrared lamp for each box. The light program was 23 hours of continuous light in the first week and intermittent light in the other periods. The photoperiod was gradually reduced until

11 days of life, when the birds were subjected to 18 hours of light and luminous intensity of 22 lumens per m².

300 male and female day-old chicks of the Cobb 500® lineage were housed after initial weighing and uniformization of weights with a variation of $\pm 5\%$. The rearing density of birds was 14 birds/m² until 35 days of age. The experimental diets were supplied *ad libitum*. Diets are based on soybean and corn meal, according to the productive phase of birds, considering five breeding phases: pre-initial, initial, growth I, growth II, and final, thus meeting the nutritional requirements of Rostagno et al. (2017). The other management practices were adopted following the lineage manual.

Infrared Thermography and Ultrasonography

Infrared thermography was performed at 35 days of age. The surface temperature of the breast of all 300 birds was recorded using a Testo® thermographic camera, model 868. Thermographic images were obtained covering the entire length of the birds' chest. The images were processed using the Testo® IRSoft software using 30 randomly selected points on the surface of the breast in each of its portions (cranial, medial, and caudal) (Figure 1A). The emissivity adopted was 0.95 (Nääs et al. 2010).

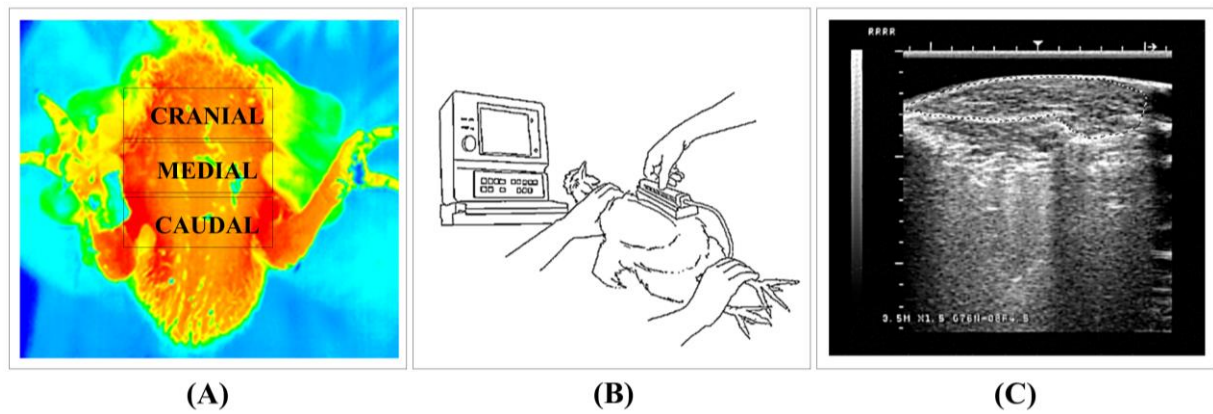


Figure 1. (A) Thermographic image and surface temperature distribution of the breast muscle of broilers. (B) Representation of the procedure for recording ultrasound images in real time. (C) Ultrasound image of the breast muscle. The dotted line represents the region where echogenicity values were calculated.

To record the images we used the methodology described by Castilho et al. (2021), adapted from Oviedo-Rondo'n et al. (2007), who performed ultrasound images in broilers (Figure 1B). The ultrasound images were obtained using an Aloka SSDN500 ultrasound equipment equipped with a 13-cm linear probe, 3.5 MHz frequency, and standoff. The echogenicity values were determined using a gray scale applied to the selected region of the *pectoralis major* and *minor* muscles without the surrounding fascia (Figure 1C).

Slaughter procedure

At 35 days, the birds were slaughtered to evaluate the breasts as for the presence and severity of myopathies and selection for later allometric analyses. The birds were subjected to an eight-hour fast in the aviary. The birds were sacrificed by cervical dislocation followed by section of jugular veins and carotid arteries and bled for three minutes. The carcasses were scalded in a water tank at 58°C for two minutes, followed by automatic plucking of carcasses. Evisceration and removal of feet and heads after plucking was carried out manually. After evisceration of carcasses, the carcasses were cooled in water for 12 minutes in a *pre-chiller* at

10 to 18°C and in a *chiller* for 18 minutes at 0 to 2°C.

Characterization of myopathies and bird selection

After cooling, the breasts were subjected to boning and separated to study myopathies. Breasts were classified into one of four scores of white striping (WS). Zero or normal Score indicates the fillet that did not show any striping; score 1 or moderate means fine striations, usually smaller than 1 mm thick but apparently visible on the fillet surface; Score 2 or severe means wide streaks 1 to 2 mm thick, very visible on the fillet surface; and Score 3 or extreme means thick streaks greater than 2 mm thick, covering almost the entire surface of the fillet.

The wooden breast (WB) in breast fillets was identified through manual palpation after birds were slaughtered (Tijare et al. 2016). The severity score was classified as described by Sihvo et al. (2017). The breasts were classified in one of the three scores of wooden breast. Score 0 or normal: fillet presenting normal color and consistencies, Score 1 or moderate: fillet consistency hardened and the color pale in the cranial area, and Score 2 or severe: muscle hardened and pale with white streaks along the surface.

There were fillets with normal characteristics, fillets only with white striping, fillets only with wooden breast, and fillets with white striping and wooden breast associated with different scores. In this way, the different classifications meant the treatments:

- Normal fillets did not present any type of lesion (N);
- Fillets with only white striping (WS);
- Fillets with only wooden breast (WB);
- Score 1 of white striping and Score 1 of wooden breast (WS1WB1);
- Score 2 of white striping and Score 1 of wooden breast (WS2WB1);
- Score 3 of white striping and Score 1 of wooden breast (WS3WB1);
- Score 1 of white striping and Score 2 of wooden breast (WS1WB2);

- Score 2 of white striping and Score 2 of wooden breast (WS2WB2);
- Score 3 of white striping and Score 2 of wooden breast (WS3WB2).

After slaughtering and classifying breasts according to myopathies scores, a descriptive statistics table was prepared also counting the number of animals per score and the number of birds forwarded for the selection of surface temperatures evaluated (Table 1).

For the selection of breast fillets which would be analyzed and based on the classification according to scores and both myopathies, birds were randomly selected according to the score and the analyses of surface temperature, echogenicity, weights of commercial cuts, and meat quality. It should be noted that animals with no myopathies are currently scarce when raised under ideal conditions, such as those provided in the present study.

Study of relative growth

The allometric equations of the study of relative growth were determined from the weight of commercial cuts such as breast, back, wings, thigh, drumstick, wings, back and feet, as well as the weight of the cooled carcass without feet and head.

To obtain the breast, the wings and back were removed by cutting at the junction of the vertebral and sternal ribs. The dorsum was obtained through a parallel cut along each side of the spine through the vertebral ribs up to the base of the ilium and along the outer edge of the pelvic bones. The entire back consists of the complete backbone, ilium, and pelvic bones with attached flesh and skin. The wings were obtained by cutting the joint between the humerus and the backbone and consisted of three parts: the humerus, which connects the wing to the bird's body; the second part, which contains the bones of the radius and ulna; and finally the third part is the tip of the wing, which contains the metacarpal bones and phalanges.

1 **Table 1.** Descriptive statistics table.

	Normal	WS	WB	WS1WB1	WS2WB1	WS3WB1	WS1WB2	WS2WB2	WS3WB2
N	8	11	16	109	18	8	93	54	13
LW Max (kg)	2.158	2.456	2.544	2.956	2.532	2.422	2.818	2.844	2.610
LW Min (kg)	1.716	1.794	1.660	1.594	1.828	1.876	1.356	1.790	1.878
LW±SD (kg)	1.98±0.12	2.09±0.19	2.03±0.22	2.14±0.26	2.11±0.21	2.12±0.21	2.26±0.27	2.33±0.28	2.38±0.22
Max Breast W (kg)	0.644	0.674	0.770	0.888	0.822	0.726	0.910	0.940	0.891
Min Breast W (kg)	0.494	0.554	0.460	0.444	0.519	0.640	0.395	0.475	0.603
Breast W±SD (kg)	0.57±0.05	0.61±0.04	0.61±0.08	0.63±0.08	0.63±0.08	0.64±0.07	0.70±0.1	0.73±0.1	0.76±0.09
No. Selected	8	10	14	19	15	8	15	18	13

- 2 Normal: Normal fillets did not present any type of lesion; WS: white striping; WB: wooden breast; WS1WB1: Score 1 of white striping and Score 1 of wooden breast;
- 3 WS2WB1: Score 2 of white striping and Score 1 of wooden breast; WS3WB1: Score 3 of white striping and Score 1 of wooden breast; WS1WB2: Score 1 of white striping
- 4 and Score 2 of wooden breast; WS2WB2: Score 2 of white striping and Score 2 of wooden breast; WS3WB2: Score 3 of white striping and Score 2 of wooden breast .

The thigh, drumstick, and feet constitute the entire leg of the bird. Through a cut in the joint between the metatarsal and the tibia, the feet were separated from the complete leg. To separate the thigh and drumsticks, the cut was performed at the joint between the tibia and the femur, separating two distinct commercial cuts. The part containing the femur corresponds to the drumstick and the other part containing the tibia contains the thigh.

Meat quality analysis

After the characterization of myopathies, the boneless breast fillets were cooled and analyzed 24 hours *postmortem*. Boneless fillets were weighed, followed by breast size measurements using a digital caliper according to the methodology of Mudalal et al. (2014), which measures the width, length, and thickness of fillets (cm) (Figure 2). The pH measurement was performed using a Text 205 digital pH meter (calibrated with buffer solutions at pH 4.0 and 7.0 + 0.05/25 °C).

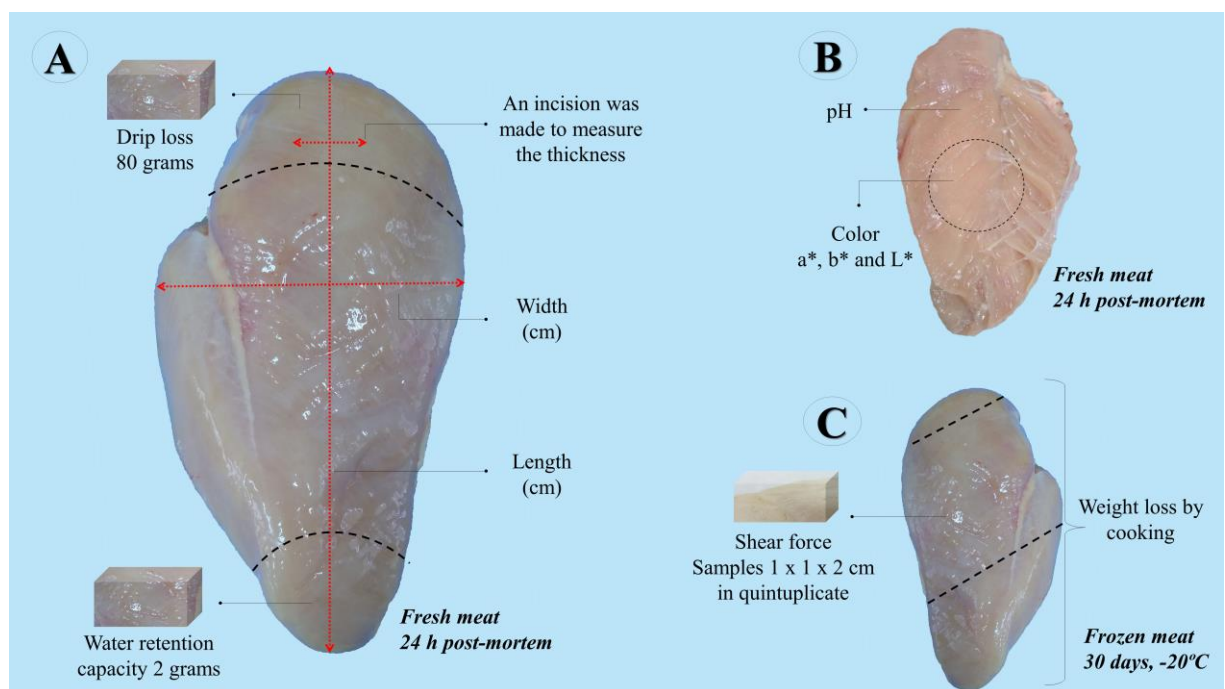


Figure 2. Sampling procedure for meat quality analysis from 24-post-mortem and frozen/thawed broilers breast muscles.

Breast color was determined using a portable Minolta CR 400 colorimeter, calibrated in the CIELab system, and the parameters L* (luminosity), a* (red content), and b* (yellow content) were evaluated. In evaluations of water retention capacity (WRC), cubic samples of chicken breast meat of 2.0 grams were weighed on an analytical balance and placed under a weight of 10 kg, remaining there for a period of five minutes (Hamm, 1960). To determine drip loss, samples of 80 grams of the *pectoralis major* muscle were weighed in an analytical balance. Each sample was placed in a mesh suspended inside a plastic package with a lid for a period of 48 hours at 4°C to determine loss by exudation according to the methodology described by Mudalal et al. (2015).

For weight loss by cooking, the samples of breast fillets were previously thawed in a refrigerator at 5 °C, then packed in plastic packaging and cooked in water bath at 85°C for 30 minutes until reaching a final internal temperature of 75 to 80 °C (Honikel, 1987). Then, the shear force was determined using the TA.XT plus texturometer (Stable Micro Systems). The samples were cut into parallelepipeds of 1 x 1 x 2 cm in quintuplicate. The results were expressed as kg/force/cm², and the blade descent speed was 200 mm/minute.

Statistical analysis

The data were tested for normality of residues and homogeneity of variances. Subsequently, they were subjected to analysis of variance using the MIXED procedure of the SAS (SAS 9.3). The means of all treatments were compared with each other using the Tukey test. A comparison of means of groups that presented myopathies with the normal group (control) was also carried out using Dunnet's test. In all analyses performed, the level of significance adopted was 5%.

The study of relative growth of the cuts in relation to the full carcass was carried out

using the power equation: $Y = a X^b$, logarithmically transformed into a linear model: $\ln Y = \ln a + b \ln X + \ln e_i$ (Huxley, 1932). Where:

Y = Weight of each commercial cut (chest, legs, wings, and back);

X = Adjusted cold carcass weight;

a = Intercept of the logarithm of linear regression over Y and “ b ”;

b = Relative growth coefficient or allometry coefficient;

e_i = Multiplicative error.

The analyses conducted to obtain the allometric coefficients were performed using the Statistical Analysis System (SAS, 1996). To verify the hypothesis $b=1$, the Student t test was performed ($\alpha= 0.05$ and $\alpha= 0.01$). If $b = 1$, the growth was called isogonic, indicating that the rates of development of “ X ” and “ Y ” were similar within the considered growth interval. When $b \neq 1$, the growth was called heterogonic: positive ($b > 1$) means an organ of late development, or negative ($b < 1$) means an organ of early development.

RESULTS

There were no significant differences for temperatures in different regions of chicken breasts regarding different scores of myopathies. The myopathies white striping and wooden breast or their combination (in different scores) did not affect breast temperatures in the cranial, medial, and caudal regions and the echogenicity values (Table 2).

When all samples were evaluated together, we identified by t test that the allometry coefficients of the analyzed sections obtained a heterogonic growth ($b \neq 1$), that is, the growth of each analyzed part was different from the growth of the body. (Table 3). According to the equations, there was a negative heterogonic growth ($b < 1$), that is, an early development of wings, back, drumsticks, and thigh. Feet and breasts had a positive heterogonic growth ($b > 1$), that is, a late growth in relation to carcass development.

- 1 **Table 2.** Surface temperatures (°C) of the cranial, medial, and caudal regions of breast fillets of broilers slaughtered at 35 days of age affected or not by the
2 myopathies white striping and wooden breast.

	Normal	WS	WB	WS1WB1	WS2WB1	WS3WB1	WS1WB2	WS2WB2	WS3WB2	MSE	P
Cranial	38.64	38.47	38.09	38.38	38.62	37.92	38.20	38.26	38.26	0.066	0.3984
Medial	38.72	38.50	38.54	38.68	38.81	38.27	38.46	38.48	38.55	0.066	0.8488
Caudal	38.77	38.58	38.47	38.66	38.73	38.32	38.47	38.49	38.58	0.061	0.8975
Echogenicity	130.77	130.73	131.07	131.24	136.66	129.00	132.14	134.7	135.91	0.074	0.2751

- 3 Normal: Normal fillets did not present any type of lesion; WS: white striping; WB: wooden breast; WS1WB1: Score 1 of white striping and Score 1 of wooden breast;
4 WS2WB1: Score 2 of white striping and Score 1 of wooden breast; WS3WB1: Score 3 of white striping and Score 1 of wooden breast; WS1WB2: Score 1 of white striping
5 and Score 2 of wooden breast; WS2WB2: Score 2 of white striping and Score 2 of wooden breast; WS3WB2: Score 3 of white striping and Score 2 of wooden breast . *Tukey*
6 *test* (P<0.05).

Table 3. Allometry equations for feet, breast, wings, back, drumstick, and thigh in relation to the carcass weight of broilers slaughtered at 35 days and verification of differences in the allometry coefficient.

Cut	Equation	t test (Ho:b=1)	R ²
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.1955 + 1.2051 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7529
Breast	$\ln \text{ Breast} = -1.0019 + 1.1712 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8821
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.2292 + 0.7651 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7880
Back	$\ln \text{ Back} = -1.6562 + 0.7425 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7662
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.8011 + 0.9792 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7662
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.0492 + 0.9462 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7650

ln: Logarithmic transformation to a linear equation;

PCRaj: Adjusted chilled carcass weight;

t test: indicates whether hypothesis H0 was accepted or rejected (Significance at 0.05)

R² - indicates how much the equation is adapted to the data.

When the allometry coefficients were analyzed according to the treatments derived from the combinations of the myopathy involvement scores of white striping and wooden breast, we observe different growth behaviors (Tables 4 and 5). For the fillets classified as normal, we found that only the drumstick and thigh had non-significant b values, showing isogonic growth ($b = 1$), that is, when the analyzed part has a similar growth as the body. On the other hand, feet, breast, wings, and Back had a significant b value, showing heterogonic growth ($b \neq 1$), with feet and breast being of late growth ($b > 1$) and wings and back of early growth ($b < 1$).

Table 4. Allometry equations of commercial cuts of broilers in relation to carcass weight at 35 days and allometric coefficient according to the scores of white striping and wooden breast.

	Equation	t test (Ho:b=1)	R ²
Regular fillet			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.1870 + 1.1983 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.6971
Breast	$\ln \text{ Breast} = -1.0653 + 1.3012 \ln \text{ PCRaj}$	0.0074	0.7240
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.1411 + 0.5942 \ln \text{ PCRaj}$	0.0369	0.5433
Back	$\ln \text{ Back} = -1.7245 + 0.9128 \ln \text{ PCRaj}$	0.0127	0.6723

Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.6353 + 0.5679 \ln \text{ PCRaj}$	0.2467	0.2154
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.0331 + 0.9523 \ln \text{ PCRaj}$	0.1058	0.3763
White striping			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.5301 + 2.0168 \ln \text{ PCRaj}$	0.0410	0.7984
Breast	$\ln \text{ Breast} = -0.9368 + 1.0865 \ln \text{ PCRaj}$	0.0152	0.8939
Wings	$\ln \text{ Wings} = -1.7227 + 0.4644 \ln \text{ PCRaj}$	0.1500	0.5525
Back	$\ln \text{ Back} = -1.4898 + 0.2165 \ln \text{ PCRaj}$	0.8136	0.0216
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.9583 + 1.3714 \ln \text{ PCRaj}$	0.0558	0.7550
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.4808 + 1.9368 \ln \text{ PCRaj}$	0.0258	0.8501
Wooden breast			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.1491 + 1.1869 \ln \text{ PCRaj}$	0.0018	0.7713
Breast	$\ln \text{ Breast} = -0.9552 + 1.0630 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.9580
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.306 + 0.9573 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.9103
Back	$\ln \text{ Back} = -1.5773 + 0.7251 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7646
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.9060 + 1.2367 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8599
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.1379 + 1.1804 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.9301
WS1 WB1			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.2352 + 1.3464 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8002
Breast	$\ln \text{ Breast} = -1.0151 + 1.1753 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8909
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.2669 + 0.8709 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7951
Back	$\ln \text{ Back} = -1.7047 + 0.8504 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.6256
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.6973 + 0.7320 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.6700
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.0435 + 0.9990 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8314
WS2 WB1			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.2253 + 1.2549 \ln \text{ PCRaj}$	0.0002	0.6643
Breast	$\ln \text{ Breast} = -0.9668 + 1.0820 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8461
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.1508 + 0.5676 \ln \text{ PCRaj}$	0.0019	0.5382
Back	$\ln \text{ Back} = -1.6748 + 0.8004 \ln \text{ PCRaj}$	0.0006	0.6125
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.9249 + 1.2698 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8557
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.0037 + 0.8710 \ln \text{ PCRaj}$	0.0012	0.5670
WS3 WB1			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.4019 + 1.5203 \ln \text{ PCRaj}$	0.0067	0.8696
Breast	$\ln \text{ Breast} = -0.9217 + 1.0484 \ln \text{ PCRaj}$	0.0008	0.9539
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.1994 + 0.7210 \ln \text{ PCRaj}$	0.0162	0.7994
Back	$\ln \text{ Back} = -1.6151 + 0.7116 \ln \text{ PCRaj}$	0.0026	0.9179
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.8567 + 1.0087 \ln \text{ PCRaj}$	0.0097	0.8434

Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.2364 + 1.2654 \ln \text{ PCRaj}$	0.0049	0.8880
WS1 WB2			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.2817 + 1.3131 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.6970
Breast	$\ln \text{ Breast} = -0.9226 + 1.051 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7945
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.2727 + 0.8487 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7823
Back	$\ln \text{ Back} = -1.7169 + 0.8462 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.6587
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.9519 + 1.2425 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8123
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.0126 + 0.8293 \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7224
WS2 WB2			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.1220 + 1.0793 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7593
Breast	$\ln \text{ Breast} = -0.9262 + 1.0683 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8700
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.2962 + 0.8595 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8983
Back	$\ln \text{ Back} = -1.8287 + 0.9917 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.6906
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.7115 + 1.0641 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.7366
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.1220 + 0.8274 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8625
WS3 WB2			
Feet	$\ln \text{ Feet} = -3.1712 + 1.1481 \ln \text{ PCRaj}$	0.0044	0.5359
Breast	$\ln \text{ Breast} = -1.1453 + 1.4535 \ln \text{ PCRaj}$	<.0001	0.8210
Wings	$\ln \text{ Wings} = -2.1849 + 0.6636 \ln \text{ PCRaj}$	0.0014	0.6180
Back	$\ln \text{ Back} = -1.510 + 0.4419 \ln \text{ PCRaj}$	0.0316	0.3552
Drumstick	$\ln \text{ Drumstick} = -1.6561 + 1.1179 \ln \text{ PCRaj}$	0.0138	0.4375
Thigh	$\ln \text{ Thigh} = -2.0372 + 0.9023 \ln \text{ PCRaj}$	0.0034	0.5578

ln: Logarithmic transformation to a linear equation;

PCRaj: Adjusted chilled carcass weight;

t test: indicates whether hypothesis H0 was accepted or rejected (Significance at 0.05)

R² - indicates how much the equation is adapted to the data.

Treatment cuts of breast fillets with macroscopic lesions of white striping (WS) showed isogonic growth only for wings, back, and thigh ($b = 1$). Feet, breast, and thigh showed a late growth ($b > 1$). On the other hand, the animals affected by wooden breast (WB) showed heterogonic growth for all parts; feet, breast, drumstick, and thigh had a late growth ($b > 1$) and wings and back had an early growth ($b < 1$).

For all WS scores associated with WB, we found that the value of b was significant, showing heterogonic growth for all parts. For the WS1WB1 treatment, feet and breast showed

a less intense growth ($b > 1$), while the other parts showed an accelerated growth ($b < 1$). As for WS2WB1, WS1WB2, WS2WB2, and WS3WB2, feet, breast, and drumstick showed positive heterogonic growth ($b > 1$), that is, late growth; on the other hand, wings, back, and thigh showed a negative heterogonic growth ($b < 1$), called early growth. Finally, with the score WS3WB1, only wings and back showed early growth ($b > 1$), and feet, breast, drumstick, and thigh had a late growth ($b < 1$).

No changes were observed in meat quality parameters, such as length and width of breast of broilers affected or not by breast myopathies (Table 6). However, breasts affected by score 2 WB, regardless of WS score, are heavier and thicker, as well as breasts affected by the more severe score of white striping (WS3) associated with WB1. The same behavior occurs when we compare these treatments with breasts classified as normal.

The fillets affected by WS1WB2 had a lower red content when compared to breasts classified as normal and isolated white striping and wooden breast. Likewise, there was an influence of myopathies on the analysis of cooking loss, in which fillets affected with the most severe WB score (score 2), regardless of the WS score, had greater losses when compared to normal fillets. When comparing the treatments among themselves, fillets affected by WB2, regardless of the WS severity score, had greater losses in the cooking process when compared to normal, WB, and isolated WB fillets. On the other hand, breasts affected by WB1 associated with different WS scores had intermediate losses, that is, they were equal to normal fillets, WB and isolated WS; at the same time, they did not differ from breast fillets with associated WS and WB in different scores. For the parameters of pH, L* content, b*, water retention capacity, drip loss, and shear force, no significant differences were observed between breasts affected by myopathies or compared to fillets without myopathies.

Table 5. Value of b.

Treatment	Carcass Cuts					
	Foot(b±SD)	Breast (b±SD)	Wings (b±SD)	Back (b±SD)	Drumstick (b±SD)	Thigh(b±SD)
	P-value	P-value	P-value	P-value	P-value	P-value
Normal	1.198±0.322 <0.0001	1.301±0.327 0.0074	0.594±0.222 0.0369	0.921±0.262 0.0127	0.567±0.442 0.2467	0.952±0.500 0.1058
WS	2.016±0.585 0.0410	1.086±0.216 0.0152	0.464±0.241 0.1500	0.216±0.841 0.8136	1.371±0.451 0.0558	1.936±0.469 0.0258
WB	1.186±0.244 0.0018	1.063±0.076 <0.0001	0.957±0.113 <0.0001	0.725±0.152 0.0020	1.236±0.188 0.0003	1.180±0.122 <0.0001
WS1 WB1	1.346±0.163 <0.0001	1.175±0.099 <0.0001	0.870±0.107 <0.0001	0.850±0.159 <0.0001	0.732±0.124 <0.0001	0.999±0.109 <0.0001
WS2 WB1	1.254±0.247 0.0002	1.082±0.127 <0.0001	0.567±0.145 0.0019	0.800±0.176 0.0006	1.269±0.144 <0.0001	0.871±0.211 0.0012
WS3 WB1	1.520±0.294 0.0067	1.048±0.115 0.0008	0.721±0.180 0.0162	0.711±0.106 0.0026	1.008±0.217 0.0097	1.265±0.224 0.0049
WS1 WB2	1.313±0.223 <0.0001	1.051±0.138 <0.0001	0.848±0.115 <0.0001	0.846±0.157 <0.0001	1.242±0.154 <0.0001	0.829±0.132 <0.0001
WS2 WB2	1.079±0.151 <0.0001	1.068±0.103 <0.0001	0.859±0.072 <0.0001	0.991±0.165 <0.0001	1.064 ±0.123 <0.0001	0.827±0.106 <0.0001
WS3 WB2	1.148±0.322 <0.0001	1.453±0.204 <0.0001	0.663±0.157 0.0014	0.441±0.179 0.0316	1.117±0.245 0.0138	0.902±0.242 0.0034
GENERAL	1.575±0.133 <0.0001	1.063±0.049 <0.0001	0.712±0.042 <0.0002	0.710±0.053 <0.0001	0.912±0.052 <0.0001	0.918±0.049 <0.0002

Significance t test at 0.05

DISCUSSION

In the present study, we analyzed the surface temperature of breasts of broilers in the cranial, medial, and caudal regions by infrared thermography and the intensity of echogenicity, measured through ultrasound images, as predictive diagnostic tools of the breast myopathies white striping and wooden breast. We also evaluated allometric growth and meat quality of birds affected by associated breast myopathies in different scores. We emphasize

that the slaughter of the birds was carried out at 35 days of age in order to find the largest possible amount of fillets classified as normal or severe. Since if slaughter took place at 21 or 28 days of age, we might not find fillets with such severe ratings. And if they were slaughtered at 42 days, we would not find fillets classified as normal.

The infrared thermography technique is being increasingly used as an auxiliary tool in the diagnosis of diseases/abnormalities in animal science. By capturing abnormal heat waves from the animal body, it is possible to diagnose or even assess the development in the animal, as it is a non-invasive tool (Eddy et al. 2001; Castilho et al. 2021). Since the skin surface temperature correlates with the local body temperature, this technology may allow obtaining reliable information about the actual thermal status, thus improving the diagnosis of muscle injuries.

There are hypotheses that as breast myopathies develop, the body reacts with local inflammatory processes caused by muscle degeneration and oxidative stress (Pettracci et al. 2019), leading to an increase in local temperature. The response to the stress caused by the degeneration of muscle fibers is tissue regeneration, which is often inefficient due to the lack of vascularization for the distribution of nutrients and/or even the speed of the degenerative process. Due to this, wound healing occurs, leading to the accumulation of connective tissue and resulting in lower temperature at the healed site due to a lower concentration of muscle fibers and blood circulation.

Ambient temperature is one of the most crucial factors that affect surface temperature. Its control must be ensured during the use of the equipment to avoid the effects of different thermoregulatory adjustments, such as heat loss and heat gain processes (Viegas et al. 2020). As the ambient temperature increases, some physical processes decrease their effectiveness to facilitate the loss of body heat.

In the present study, there was no difference in the surface temperatures of breasts of

chickens affected by myopathies, regardless of the score of the macroscopic lesion, even in an environment with adequate temperature (24.1 °C and 65% RH). Surface temperature data cannot always explain the amount of heat due to an eventual increase in core temperature in a given environment. Even with efficient infrared imaging and minimal contact with birds, the literature still describes that there may be limited advantages regarding the accuracy of the technique (Case et al. 2012).

Histologically, the involvement of these muscle disorders has distinct characteristics between scores. As the myopathies score increases, there is a significant increase in lesions and connective tissue and adipose tissue infiltrate (Kuttappan et al. 2013). Furthermore, histological and histochemical analyses of breast muscle with the presence of white striping showed that white striations are composed of adipose tissue (Bailey et al. 2015). Kuttappan et al. (2013) observed an increase in fat content with a decrease in protein content as the myopathies scores increased.

In this sense, through high-frequency sound waves of ultrasound it is possible to capture the sound reflexes in structures inside the body and produce images of various tissues. Previous studies have already shown that there is a strong correlation between the findings of muscle biopsy and the intensity of echogenicity, since the infiltration of fat and fibrous tissue are responsible for an increase in wave reflection, resulting in higher echogenicity intensities (Reimers et al. 1993; Pillen et al. 2009).

The results found in this research do not show differences in the expected echogenicity values among the different scores of both myopathies. These results are contrary to what we expected. We expected an increase in echogenicity values according to the evolution of lesions characteristic of myopathies, such as increased fibrosis and fat infiltration, according to the histological lesions Sihvo et al. (2014) and Velleman et al. (2017). The main point to be considered is that, with the birds' advancing age, the diameter and area of the muscle fiber

increase. This increases the distance between the reflective surfaces and the number of reflections per square centimeter decreases; consequently, this causes a decrease in echogenicity in healthy tissues (Scholten et al. 2003), the opposite of what we found in this research, since there was no difference in echogenicity values between breasts affected by myopathies and breasts classified as normal.

In addition, the transducer used for muscle ultrasonography should ensure a good penetration of waves in the tissue (low frequency) and a good spatial resolution (high frequency) (Scholten et al. 2003). In this study, the 3.5 MHz transducer may not have ensured enough tissue penetration into the breast muscle of broilers, limiting the use of this technique under these conditions. Taking into account the anatomy and depth of the muscle *pectoralis major*, it is clear that further research needs to be carried out to identify which frequency of the transducer is ideal for performing ultrasound imaging in broilers.

Kuttappan et al. (2013) observed that body weight is absolutely linked to the development of these lesions, and that the occurrences increase according to live weight and, consequently, advancing age. This hypothesis can be supported by Petracci et al. (2019). The authors describe that the physiology of the *pectoralis major* muscle must be taken into account, since its surprising development may compress the pectoral artery, further decreasing oxygenation and transport of nutrients to the muscle. Given this, it is plausible that there is a strong relation between the development and weight of birds and the occurrence and severity of myopathic injuries in skeletal muscle.

Allometric coefficients provided direct information on body development. Higher values of the coefficient b indicated a late growth (higher relative weights according to increases in body weight). The allometry coefficient of the breast and feet obtained a positive heterogonic growth ($b > 1$), demonstrating that the feet and breast develop at a slower rate in all birds regardless of the presence of lesions characteristic of myopathies or in breasts

classified as normal. This factor may be because the physiological factor of animal growth and development, in which muscle tissue presents its greatest development after birth, showing a later growth compared to bones; it prevails until maturity, then becoming the main constituent of weight gain. The growth of bone tissue after birth is small, developing early and remaining constant throughout the life of the animal (Luchiari Filho 2000).

According to the body's growth and development curve, the supporting tissues develop at a faster pace since the distribution of nutrients is carried out according to the needs and the activity of each tissue. It is evident that there is a degree of maturity in each part of the body as a function of age (Luchiari Filho 2000). Breast muscle deposition continues at a rapid rate, presumably in response to increased body weight. The back and the wings, on the other hand, approach a plateau. Therefore, this physiological information corroborates the data found in the present study, since wings and back showed an early growth in relation to the growth of the whole body.

Studies have claimed that accelerated breast growth increases the metabolic demand associated with rapid bird growth, thus increasing the incidence of diseases, economic losses, welfare loss, and myopathies (Kuttappan et al. 2016). According to Huber (2018), genetic selection for the accumulation of lean mass and proportion of breast muscles forces young chickens to production from the first day of life; probably due to the immaturity of these animals, there are limitations in the allocation of resources (energy, nutrients). Soon after the egg hatches, the allocation of these resources for production already takes place at high intensity in order to provide selective muscle growth, while the flow of these resources for maintenance is probably reduced due to a limitation in their availability. Thus, no matter how much they were allocated to the maximum to the chest muscle, the vascularization of this muscle is not fully developed due to the rapid growth rate of these animals (Huber 2018).

Mudalal et al. (2015) found that the appearance of wooden breast was associated with

heavier fillets, indicating that chickens with superior breast development are more likely to develop muscle abnormalities. These findings corroborate those of the present study because, according to the means of live weight of birds, thickness and breast weight, unaffected birds had the lowest weight and thickness (Tables 1 and 6). The birds with breasts classified as normal grow more homogeneously, with the growth of the thigh and drumstick equal to that of the body growth. While the foot and breast present an early growth, wings and back grow late.

When the fillets have an intermediate and severe myopathy scores, practically all parts that have more muscle (protein) show a delayed growth, although the breast represents the part most affected by myopathies. Thus, all parts with a greater amount of muscle growing in an accelerated way may overload the metabolism, requiring a greater supply of nutrients. However, blood vessels do not support this load, leading to hypoxia, which will consequently increase muscle injuries.

An analogy that we may make is about the relationship between the growth of thighs and drumsticks with the scores of compromise of breasts. When we observe normal fillets, the growth of thighs and drumsticks is isogonic, that is, it follows the rhythm of growth of the body; for isolated WS, the drumstick presents an isogonic growth, while the thigh presents a late growth. Isolated WB involvement presents late growth for both parts. Thus, further studies are interesting in order to verify possible injuries in drumsticks and thighs and to correlate them with breast injuries. Sihvo (2019) described that, occasionally, other muscles may be affected by white striping and wooden breast injuries; the affected birds showed macroscopic and histological lesions similar to woody breast in the biceps femoris muscle, located on the thigh. The focal lesion found was slightly pale, poorly demarcated, and of a slightly hardened consistency. It showed a diffuse lesion in the breast muscle. Very similar changes have also been reported in the anterior muscle *Latissimus dorsi*, located in the cranial

portion of the dorsum in broiler chickens (Zimmermann et al. 2012).

Concerning the variables related to meat quality, we observe that the red content (a*) of breasts affected by WS1WB2 presented a lower content compared to both myopathies alone (WB and WS). This variable can be influenced by the fat content due to the incidence of myopathies; however, this variable was not evaluated in the present study. In addition, both myopathies are due to degenerative processes of muscle fibers, affecting the amount of muscle fibers. Consequently, there is a lower concentration of myoglobins, which is related to the red content (Ramos & Gomide 2007).

Cooking loss is commonly used to measure liquid loss as a result of protein denaturation and decomposition of cell membranes during cooking. In the present study, regardless of the score of white striping, breasts affected by lesions with score 2 wooden breast present greater losses during the cooking process compared to normal fillets. These results are similar as those found by Malila & Juthawut (2018), who reported that broiler breasts showed higher cooking losses as the severity scores of the myopathies white striping and wooden breast increased. Petracci et al. (2013) demonstrated that myopathies have a surprising effect, with greater losses during cooking. On the contrary, Kuttappan et al. (2013) did not find major changes in the quality of cooked meat.

We conclude that ultrasound and infrared thermography are promising predictive tools. However, further arrangements on functionality and factors that affect its accuracy must be taken into account. For example, a transducer with more frequency than the one used in this study may reveal more information about the development of breast myopathies.

In addition, the allometric growth of distinct parts of the body of chickens affected or not by myopathies present a physiological growth and a development behavior already established in animal science studies. Thus, we can observe that the chickens that presented breasts classified as normal and affected by the mildest to the most severe scores of both

myopathies have the same growth pattern. We emphasize that, when the score of involvement of wooden breast presented by fillets was severe, the breast was not the only part that presented a late growth; the other parts also presented a large number of muscles. Further studies correlating the classification of breast myopathies with the presence of lesions characteristic of myopathies in the drumsticks and thighs, together with information on growth behavior, may provide relevant information on the subject.

Finally, there is a difference in the qualitative aspects of meat as the myopathy severity scores increased. However, all changes in meat quality variables with the data found in the literature show that both myopathies may exert different consequences on the quality and characteristics of chicken breast meat.

It is noteworthy that the low amount of breast fillets classified as normal. This finding may have played an important role in the results found. Thus, more in-depth studies with larger numbers of samples should be performed.

REFERENCES

- Bailey, R. A., K. A. Watson, S.F. Bilgili and†S. Avendano. 2015. “The genetic basis of Pectoralis major myopathies in modern broiler chicken lines.” *Poultry Science* 94(12): 2870-2879. doi: 10.3382/ps/pev304
- Baldi, G., F. Soglia, L. Laghi, S. Tappi, P. Rocculi, S. Travaniello, D. Prioriello, R. Mucci, G. Maiorano, M. Petracci. 2019. “Comparison of quality traits among breast meat affected by current muscle abnormalities.” *Food Research International* 115: 369-376. doi: 10.1016/j.foodres.2018.11.020
- Boerboom, G., T. Kempen, A. Navarro-Villa and A. Pérez-Bonilla. 2018. “Unraveling the cause of white striping in broilers using metabolomics.” *Poultry science* 97 (11): 3977-3986. doi: 10.3382/ps/pey266
- Brioschi, M. L., S. Abramavicus and C. F. Corrêa. 2005. “Valor da imagem infravermelha na avaliação da dor.” *Revista Dor* 6 (1): 514-24.
- Case, L.A., B.J. Wood and S.P. Miller. 2012. “The investigation of ultrasound technology to measure breast muscle depth as a correlated trait to breast meat yield in turkey (*Meleagris gallapavo*).” *Journal of Animal Science*, 90(10): 3410–3417. doi: 10.2527/jas.2011-4822
- Castilho, V. A. R., C. M. Komiyama, M. F. C. Burbarelli, A. R. M. Fernandes, R. G. Garcia, D. K. Barbosa, B.B. Przybulinski et al. 2021. “Techniques for in vivo assessment of myopathies in broiler chicken breasts using a biopsy as a support tool.” *Avian Pathology* 50(6), 477-489. doi: 10.1080/03079457.2021.1970107
- Chodová, M. and E. Tumová. 2013. “The effect of feed restriction on meat quality of broiler rabbits: A review.” *Scientia Agriculturae Bohemica* 44 (1): 55-62. doi:10.7160/sab.2013.440109
- Eddy, A. L., L. M. Van Hoogmoed and J. R. Snyder. 2001. “The role of thermography in the management of equine lameness.” *The veterinary journal* 162 (3): 172-181. doi: 10.1053/tvjl.2001.0618
- Gavrila, D. 1999. “A análise visual do movimento humano: pesquisa, visão computacional e compreensão de imagem.” *Artigos de Ciência Veterinária* (13): 82-98.
- Hamn, R. 1960. “Biochemistry of meat hydration.” *Advances in Food Research* 10: 335-443.
- Honikel, K. O. 1987. Influence of chilling on meat quality attributes of fast glycolysing pork muscles.” In: Evaluation and control of meat quality in pigs. Springer, Dordrecht, 273-283.
- Huber, K. 2018. “Invited review: resource allocation mismatch as pathway to disproportionate growth in farm animals – prerequisite for a disturbed health.” *Animal*, 12(03): 528–536. doi: 10.1017/S1751731117002051
- Huxley, J.S. 1932. *Problems of relative growth*. London: Methuen.
- Joiner, K. S., G. A. Halmin, R. J. Lien, S. F. Bilgili. 2014. “Evaluation of capillary and myofiber density in the pectoralis major muscles of rapidly growing, high-yield broiler chickens during increased heat stress.” *Avian diseases* 58 (3): 377-382. doi: 10.1637/10733-112513-Reg.1
- Kuttappan, V. A., M. Manangi, M. Bekker, J. Chen and M. Vazquez-Anon. 2021. “Nutritional Intervention Strategies Using Dietary Antioxidants and Organic Trace Minerals to Reduce the

- Incidence of Wooden Breast and Other Carcass Quality Defects in Broiler Birds”. *Frontiers in Physiology* 12: 663409. doi: 10.3389/fphys.2021.663409
- Kuttappan, V. A., C. M. Owens, C. Coon, B. M. Hargis, and M. Vazquez-Añon. 2017. “Incidence of broiler breast myopathies at 2 different ages and its impact on selected raw meat quality parameters.” *Poultry Science* 96: 3005–3009. doi: 10.3382/ps/pex072
- Kuttappan, V.A., B.M. Hargis and C. M. Owens. 2016. “White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: A review.” *Poultry Science* 95(11): 2724–2733. doi: 10.3382/ps/pew216
- Kuttappan, V.A., G.R. Huff, W.E. Huff, B.M. Hargis, J.K. Apple, C. Coon and C. M. Owens. 2013. “Comparison of hematologic and serologic profiles of broiler birds with normal (NORM) and severe (SEV) degrees of WS in breast fillets.” *Poultry Science* 92(2): 339–345. doi: 10.3382/ps.2012-02647
- Luchiari Filho, A. 2000. *Pecuária da carne bovina*. A. Luchiari Filho: Brazil.
- Malila, Y. and U. Juthawut. 2018. “Monitoring of white striping and wooden breast cases and impacts on quality of breast meat collected from commercial broilers (*Gallus gallus*).” *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 31(11): 1807-1817. doi: 10.5713/ajas.18.0355
- Mudalal, S., E. Babini, C. Cavani and M. Petracci. 2014. “Quantity and functionality of protein fractions in chicken breast fillets affected by white striping.” *Poultry science* 93(8): 2108-2116. doi: 10.3382/ps.2014-03911
- Mudalal, S., M. G. Lorenzi, F. Soglia, C. Cavani, and M. Petracci. 2015. “Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat.” *Animal* 9 (4): 728-734. doi: 10.1017/S175173111400295X
- Nääs, I. A., C. E. B. Romanini, D. P. Neves, G. R. Nascimento and R. A. Vercellino. 2010. “Broiler surface temperature distribution of 42 day old chickens.” *Scientia Agricola* 67(5): 497-502.
- Oviedo-Rondo’n, E.O., J. Parker and S. Clemente-Hernandez. 2007. “Application of real time ultrasound technology to estimate in vivo breast muscle weight of broiler chickens.” *British Poultry Science*, 48(2): 154–161. doi: 10.1080/00071660701247822
- Papah, M. B., E. M. Brannick, C. J. Schmidt and B. Abasht. 2018. “Gene expression profiling of the early pathogenesis of wooden breast disease in commercial broiler chickens using RNA-sequencing.” *Plos One* 13:e0207346. doi: 10.1371/journal.pone.0207346
- Papah, M. B., E. M. Brannick, C. J. Schmidt and B. Abasht. 2017. “Evidence and role of phlebitis and lipid infiltration in the onset and pathogenesis of Wooden breast disease in modern broiler chickens.” *Avian Pathology* 46 (6): 623–643. doi: 10.1080/03079457.2017.1339346
- Petracci, M., F. Soglia, M. Madruga, L. Carvalho, E. Ida and M. Estevez. 2019. “Wooden-breast, White striping, and Spaghetti meat: Causes, Consequences and consumer perception of emerging broiler meat abnormalities.” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 18 (2): 565–583. doi: 10.1111/1541-4337.12431
- Petracci, M., S. Mudalal, A. Bonfiglio and C. Cavani. 2013. “Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens.” *Poultry Science*, 92(6): 1670–1675. doi: 10.3382/ps.2012-03001

- Pillen, S., R.O. Tak, M.J. Zwarts, M.M.Y. Lammens, K. N. Verrijp and I. M. P. 2009. "Skeletal muscle ultrasound: Correlation between fibrous tissue and echo intensity." *Ultrasound in Medicine & Biology* 35(3): 443–446. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2008.09.016
- Ramos, E. M., L. A. M. Gomide. 2007. *Avaliação da qualidade de carnes: fundamento e metodologias*. UFV, Brazil.
- Reimers, K., C.D. Reimers, S. Wagner, I. Paetzke and D.E. Pongratz. 1993. "Skeletal muscle sonography: a correlative study of echogenicity and morphology." *Journal of Ultrasound and Medicine*, 12(2): 73–77. doi: 10.7863/jum.1993.12.2.73
- Rostagno, H.S.; L.F.T. Albino, M.I. Hannas, J.L. Donzele, N.K. Sakomura, F.G. Perazzo et al. 2017. "Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos." 4ª edição, Viçosa, MG: UFV.
- Scholten, R.R., S. Pillen, A. Verrips, and M. J. Zwarts. 2003. "Quantitative ultrasonography of skeletal muscles in children: Normal values." *Muscle Nerve* 27(6): 693–698. doi: 10.1002/mus.10384
- Sihvo, H.K., K. Immonen and E. Puolanne. 2014. "Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers." *Veterinary Pathology* 51(3): 619–623. doi: 10.1177/0300985813497488
- Sihvo, H.K., N. Airas, J. Lindén and E. Puolanne. 2018. "Pectoral vessel density and early ultrastructural changes in broiler chicken wooden breast myopathy." *Journal of comparative pathology* 161 (1):10. doi: 10.1016/j.jcpa.2018.04.002
- Sihvo, Hanna-Kaisa. 2019. "Pathology of wooden breast myopathy in broiler chickens." PhD diss. University of Helsinki.
- Simões, C.T., S.L. Vieira, C. Stefanello, L. Kindlein, T. Ferreira, A. Favero and B. Xavier. 2020. "An in vivo evaluation of the effects of feed restriction regimens on wooden breast using ultrasound images as a predictive tool." *British poultry science* 61(5): 583-589. doi: 10.1080/00071668.2020.1764909
- Tickle, P. G., J. R. Hutchinson and J. R. Codd. 2018. "Energy allocation and behaviour in the growing broiler chicken." *Scientific reports* 8 (1): 1-13. doi: 10.1038/s41598-018-22604-2
- Tijare, V. V., F. L. Yang, V. A. Kuttappan, C. Z. Alvarado, C. N. A. Coon and C. M. Owens. 2016. "Meat quality of broiler breast fillets with white striping and woody breast muscle myopathies." *Poultry Science* 95 (9): 2167–2173. doi: 10.3382/ps/pew129
- Van der Klein, S. A. S., F. A. Silva, R. P. Kwakkel and M. J. Zuidhof. 2017. "The effect of quantitative feed restriction on allometric growth in broilers." *Poultry Science* 96 (1): 118-126. doi: 10.3382/ps/pew187
- Velleman, S. G., D. L. Clark and J. R. Tonniges. 2017. "Fibrillar collagen organization associated with broiler wooden breast fibrotic myopathy." *Avian diseases* 61(4), 481-490. doi: 10.1637/11738-080217-Reg.1
- Velleman, S.G. and D. L. Clark. 2015. "Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles." *Avian Diseases* 59 (3): 410–418. doi: 10.1637/11097-042015-Reg.1

- Viegas, F., M.T.D. Mello, S.A. Rodrigues, C.M.A. Costa, L.D.S.N. Freitas, E.L. Rodrigues and A. Silva. 2020. "The use of thermography and its control variables: a systematic review." *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 26(1): 82-86. doi: 10.1590/1517-869220202601217833
- Zimmermann F. C., L; C. B. Fallavena, C. T. P. Salle, H. L. S. Moraes, R. A. Soncini, M. K. Barreta and V. P. Nascimento. 2012. "Downgrading of heavy broiler chicken carcasses due to myodegeneration of the Interior latissimus dorsi: Pathologic and epidemiologic studies." *Avian Diseases* 56(2): 418-421. doi: 10.1637/9860-072111--Case.1

CAPÍTULO 3

***Blend* de polifenóis como antioxidante natural reduz a severidade de Wooden breast e melhora o desempenho de frangos de corte**

Projeto aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Grande Dourados (CEUA/UFGD) sob protocolo de nº 02/2022.

RESUMO

Realizou-se uma pesquisa com frangos de corte em que foram avaliados o efeito de diferentes níveis de um *blend* de polifenóis sob o nome comercial Silvafeed ATX® no desempenho zootécnico, desenvolvimento das miopatias peitorais *Wooden breast* e *White striping*, rendimento de carcaça e cortes, crescimento alométrico do corpo, parâmetros de qualidade da carne, morfometria muscular, potencial antioxidante e perfil lipídico. Foram utilizados 1.280 pintinhos da linhagem Ross AP91® alimentados com dietas isoenergéticas e isoproteicas a base de milho e farelo de soja. As dietas foram distribuídas em quatro tratamentos, sendo dieta basal (Controle) e três dietas com a inclusão de diferentes níveis de polifenóis: 250, 500 e 1.000 g/ton. Quanto maior o nível de adição do *blend*, menor o consumo de ração e maior o ganho de peso, influenciando positivamente sobre a conversão alimentar e índice de eficiência produtiva que teve seu ponto máximo em 514 g/ton. O rendimento da carcaça não foi influenciado pelas diferentes dosagens administradas, porém destaca-se que o peito obteve crescimento tardio em relação as demais partes do corpo em aves alimentadas com 500 g/ton do *blend*, demonstrando sua eficiência na modulação do crescimento do músculo peitoral através da ação dos compostos bioativos presentes em sua fórmula. Tal resultado corrobora com o ajuste na densidade e número de fibras musculares observadas pela avaliação de morfometria muscular. Esses índices estão diretamente ligados ao desenvolvimento de *Wooden breast* que obteve grau de severidade diminuído conforme houve o aumento dos níveis de tanino aos 21 dias e, menores graus de severidade estimado em 652 g/ton aos 42 dias de idade. Os polifenóis não influenciaram sobre *White striping*. O *blend* diminuiu a perda de peso no cozimento e influenciou de forma positiva sobre a força de cisalhamento, contribuindo para maior a maciez da carne. Além disso, a adição de polifenóis resultou em melhores *status* antioxidantes no plasma, tecido muscular e hepático comprovando sua ação sobre a neutralização dos radicais livres e inibindo danos aos tecidos acometidos pelo estresse oxidativo, como é o caso do músculo peitoral. Ademais, o produto influenciou sobre o perfil lipídico do músculo impactando alguns ácidos graxos específicos e diminuição das concentrações de ômega 3. Essas variações podem estar relacionadas com a interação entre os processos metabólicos da síntese de ácidos graxos e os compostos do extrato impactando ainda na capacidade de absorção dos lipídios e até mesmo no microbioma intestinal. Concluímos que o *blend* de polifenóis diminuiu a ocorrência de graus mais severos de *Wooden breast* e promoveu melhora no desempenho e na maciez de carne em doses ajustadas.

Palavras-chave: ácido elágico, ácido gálico, estresse oxidativo, flavonóides, qualidade da carne, tanino condensado, tanino hidrolisável.

INTRODUÇÃO

As miopatias peitorais acarretam em condenações das carcaças e cortes comerciais nobres de frangos de corte causando perdas econômicas para o setor. A *Wooden breast* é caracterizada pela dureza do músculo peitoral, podendo ser observadas nos filés crus e a sua severidade pode ocorrer apenas em regiões focais ou distribuídas ao longo de todo o filé com e sem a presença de material viscoso com petéquias ou pequenas hemorragias (Sihvo et al., 2014). Já a miopatia *White striping*, chamada de “estriação branca”, caracteriza-se pelas linhas brancas que ocorrem paralelamente as fibras musculares, visualizadas com facilidade na carne crua, encontrada principalmente no peito e músculos da coxa (Kuttappan et al., 2016; Cruz et al., 2017). Além da caracterização macroscópica, existem estudos no aspecto microscópico dessas alterações musculares e de como podem afetar a qualidade do produto. Histologicamente, essas miopatias têm sido caracterizadas pela presença de miodegeneração, necrose, fibrose, lipidose e alterações regenerativas no músculo *Pectoralis major* (Kuttappan et al., 2013).

Acredita-se que essas miopatias estejam correlacionadas ao rápido crescimento das aves (Petracci et al., 2019), de modo que a seleção para o rápido crescimento e desenvolvimento do peito, provavelmente resultou no comprometimento de suprimento sanguíneo e de oxigênio do tecido muscular (hipóxia grave) (Boerboom et al., 2018; Papah et al., 2018; Sihvo et al., 2018). Esta condição resulta em um limitado suprimento sanguíneo para o músculo, reduzindo a oxigenação e o transporte de nutrientes e, consequentemente, acarretando danos celulares, visto que o deslocamento de produtos metabólicos residuais também pode ser prejudicado (Velleman, 2015; Papah et al., 2017; Sihvo et al., 2017).

Há indícios de que o tecido muscular, na tentativa de superar o estado de hipóxia, aumenta o fluxo sanguíneo por meio da síntese de óxido nítrico que pode exacerbar e acelerar o desenvolvimento do estresse oxidativo. Esse ambiente pró-oxidativo contribui para a

inflamação do tecido e a miodegeneração (Boerboom et al., 2018). A ligação entre a ocorrência de ambas as miopatias peitorais e o estresse oxidativo ainda não são bem definidos, no entanto, estudos têm mostrado níveis de marcadores oxidativo mais altos em frangos acometidos tanto por *White striping* quanto por *Wooden breast* (Abasht et al., 2016; Soglia et al., 2016).

É plausível a ideia de que os animais que possuam maior taxa de crescimento e metabolismo acelerado sejam mais susceptíveis ao estresse oxidativo devido à intensa produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Estevez & Petracci, 2019). Contudo, não se sabe até que ponto a manipulação dietética poderia reduzir o estresse oxidativo e a incidência dessas degenerações musculares, tão comuns nos peitos dos frangos de corte. Nesse sentido, existe a necessidade de novas abordagens nutricionais, de preferência naturais para a alimentação dos animais. O cenário mundial abre novas oportunidades para pesquisas sobre os fitoquímicos na produção avícola, que tem mostrado bons efeitos no desempenho e saúde intestinal de animais de produção (Choi et al., 2022).

Hoje, os aditivos fitogênicos estão recebendo mais atenção devido a sua bioatividade potencial, incluindo os polifenóis (Abdel-Moneim et al., 2020; Batiha et al., 2020) quebrando o paradigma de possuírem baixa disponibilidade e má absorção. Os compostos polifenólicos estão presentes em iversas partes das plantas incluindo folhas, sementes, flores e frutos (Abdel-Moneim et al., 2020). Esses compostos são apresentandos nas plantas e categorizados em duas formas: Não-flavonóides como liganas, estilbenos e ácidos fenólicos (taninos); e flavonóides como flavonas, flavonóis, flavanóis, flavanonas, isoflavonóis e antocianinas (Surai et al., 2014). De maneira geral, estudos atuais têm demonstrado os benefícios destas substâncias no organismo devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anti-mutagênicas, além da modulação de funções enzimáticas (Panche et al., 2016; Gouveia et al., 2022).

A hipótese da presente pesquisa baseia-se no pressuposto de que a suplementação da dieta de frangos de corte com um *blend* de polifenóis pode influenciar na ocorrência e desenvolvimento das miopatias peitorais através da sua atuação como neutralizadores dos radicais livres, inibindo ou diminuindo o estresse oxidativo, reduzindo a severidade ou mitigando as miopatias peitorais. Adicionalmente, há a hipótese de que o efeito antioxidante dos polifenóis pode promover o desempenho, além de influenciar positivamente na qualidade da carne.

Portanto, o estudo teve como objetivo avaliar a utilização de diferentes níveis de extrato vegetal rico em polifenóis, na dieta de frangos de corte a partir de um dia de vida sobre o desempenho zootécnico, crescimento alométrico das partes do corpo, incidência das miopatias *White striping* e *Wooden breast*, parâmetros de qualidade da carne, morfometria muscular, potencial antioxidante e perfil lipídico.

MATERIAL E MÉTODOS

Aves e alojamento

O experimento foi conduzido de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) registrado sob protocolo de número 02/2022.

O experimento foi conduzido no aviário experimental de frangos de corte do setor de avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias na Universidade Federal da Grande Dourados (FCA/UFGD). O aviário possui sistema de pressão negativa para controle da ambiência e boxes equipados com bebedouro pendular e comedouro tubular. O aquecimento inicial foi feito com a utilização de campânula elétrica com lâmpadas infravermelhas de 250 W, sendo uma para cada box. O programa de luz adotado forneceu 23 horas de luz na primeira semana de forma contínua, e o fotoperíodo foi diminuído gradativamente até os 11 dias, momento em

que as aves foram submetidas a 18 horas de luz de forma intermitente e intensidade luminosa de 22 lúmens por m².

Foram utilizados 1.280 pintinhos de um dia de idade, machos da linhagem Ross AP91[®] criados em densidade de 14 aves/m². As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado e as dietas experimentais foram distribuídas em esquema de tratamentos estruturados em níveis, sendo compostas por uma dieta basal (Controle) e três dietas com a inclusão de diferentes níveis de um *blend* de polifenóis em substituição ao inerte: 250, 500 e 1.000 g/ton, com oito repetições, com 40 aves cada. O extrato vegetal é um *blend* de aditivos aromatizantes rico em polifenóis, flavonóides e taninos; fornecido em pó sob o nome de Silvaeed ATX[®] (SilvaTeam, San Michele Mondovì CN – Itália). As rações fornecidas foram a base de milho e farelo de soja, atendendo as exigências nutricionais de Rostagno et al. (2017), fornecidas *ad libitum* e formuladas de acordo com as fases produtivas pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8-21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) (Tabela 1). As demais práticas de manejo foram adotadas conforme o manual da linhagem.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais de acordo com a fase produtiva em atendimento das exigências nutricionais para frangos de corte machos em 100 kg de ração.

Ingredientes	Pré-inicial	Inicial	Crescimento	Final
Milho	42,859	46,260	53,138	62,820
Farelo de soja	46,214	42,750	35,593	27,675
Óleo de soja	5,096	5,863	6,182	5,003
Fosfato bicálcico	2,332	2,133	1,822	1,471
Calcário	0,763	0,721	0,557	0,425
Sal	0,489	0,473	0,449	0,421
DL-Metionina	0,351	0,327	0,286	0,229
L-Lisina	0,106	0,224	0,179	0,217
L-Treonina	0,060	0,059	0,064	0,059
Cloreto de colina	0,080	0,080	0,080	0,080
Bacitracina de zinco	0,050	0,050	0,050	-
Premix vitamínico ¹	0,300	0,030	0,300	0,300

Premix mineral ²	0,300	0,030	0,300	0,300
Inerte	1,000	1,000	1,000	1,000
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Atendimento das Exigências, %				
EM, kcal/kg	3.000	3.100	3.200	3.250
Proteína bruta	25,010	23,750	21,040	18,290
Cálcio	1,029	0,911	0,758	0,606
Fósforo disponível	0,553	0,525	0,458	0,383
Sódio	0,210	0,210	0,201	0,191
Lisina	1,369	1,366	1,161	1,008
Metionina	0,667	0,627	0,558	0,473
Metionina + Cistina	1,011	0,955	0,856	0,742
Treonina	0,905	0,852	0,763	0,661

¹Suplemento vitamínico Agrocere Optmix® níveis de inclusão a cada 100 kg de ração: Ácido fólico (mín.) 225,000 mg; Ácido pantotênico (mín.) 3,00 g; Biotina (mín.) 24,00 mg; Niacina (mín.) 12,000 g; Vitamina A (mín.) 2.400.000,00 UI; Vitamina B1 (mín.) 900,00 mg; Vitamina B12 (mín.) 5.400,00 µg; Vitamina B2 (mín.) 1.800,00 mg; Vitamina B6 (mín.) 975,00 mg; Vitamina D3 (mín.) 750.000,00 UI; Vitamina E (mín.) 4.500,00 UI; Vitamina K3 (mín.) 750,00 mg.

²Suplemento mineral Agrocere Optmix® níveis de inclusão a cada 100 kg de ração: Cobre (mín.) 1.890,00 mg; Ferro (mín.) 15,75 g; Iodo (mín.) 378,00 mg; Manganês (mín.) 21,00 g; Selênio (mín.) 90,00 mg; Zinco (mín.) 18,90 g.

Desempenho zootécnico

O desempenho do lote foi avaliado de forma cumulativa (1-7 dias, 1-21 dias, 1-35 dias e 1-42 dias) e analisou-se o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e índice de eficiência produtiva. Para isso, foram realizadas as pesagens semanais de 100 % das aves para cálculo do ganho de peso, ração fornecida e sobra da ração para o cálculo do consumo de ração. A conversão alimentar foi baseada nos parâmetros de consumo alimentar e ganho de peso. O índice de eficiência produtiva (IEP) foi calculado com base no ganho de peso diário (kg), viabilidade (%) e conversão alimentar.

Rendimento de carcaça e cortes e cálculo do coeficiente alométrico

Os abates foram realizados aos 21, 28, 35 e 42 dias de idade. Todas as aves foram pesadas e foram selecionadas duas aves por repetição (16 aves por tratamento) com variação de $\pm 5\%$ do peso médio, para avaliação do rendimento da carcaça e cortes e análises dos parâmetros de qualidade da carne, bem como da incidência das miopatias peitorais (*White striping* e *Wooden breast*). Antes do abate, as aves foram submetidas ao jejum alimentar de oito horas. O abate consistiu em deslocamento cervical seguido de secção das veias jugulares e artérias carótidas, sangria, escaldagem, depenagem automática, evisceração manual, pré-resfriamento, resfriamento e processo de gotejamento.

As carcaças foram pesadas evisceradas quentes e resfriadas após o processo de gotejamento e encaminhadas para a sala de corte, onde foram pesados os peitos com osso, coxas e sobrecoxas, asas e dorso para o cálculo do rendimento de carcaça e corte. Por meio do peso vivo de cada ave e peso de sua carcaça e cortes, foram avaliados os seguintes rendimentos (%): Carcaça quente e carcaça resfriada sem pés e sem cabeça calculados em relação ao peso vivo; e, pernas (coxas e sobrecoxas), peito com pele e com osso, peito desossado sem pele, asas e dorso foram calculados em relação ao peso de carcaça resfriada.

As equações para o estudo do crescimento relativo, ou coeficiente alométrico, foram determinadas a partir dos pesos dos cortes comerciais (peito, coxa e sobrecoxa, asas, dorso e pés, peso da carcaça resfriada sem pés e cabeça), conforme metodologia descrita por Castilho et al. (2022).

Classificação das miopatias e análise de qualidade da carne

Após o resfriamento, os peitos desossados foram classificados quanto aos escores das miopatias aos 21, 28, 35 e 42 dias de idade. Para *White striping* considerou-se um dos quatro escores estabelecidos por Kuttappan et al. (2012). Considerou-se Grau 0 (normal) os filés que não apresentaram estrias brancas; Grau 1 (moderado) os filés que apresentaram linhas com

menos de 1 mm de espessura; Grau 2 (severo) os filés que apresentaram linhas com espessura de 1 a 2 mm; e, Grau 3 (Extremo) quando apresentaram faixas espessas maiores que 2 mm distribuídas por toda a superfície do filé.

A condição *Wooden breast* foi classificada através da palpação manual ao longo de toda a superfície do filé conforme adaptado de Sihvo et al. (2017), sendo Grau 0 (normal) filés que apresentaram cor e consistência normais; Grau 1 (moderado) filés que apresentaram consistência endurecida e coloração pálida em pontos focais; Grau 2 (grave) em que os filés apresentaram característica endurecida de forma difusa e coloração pálida; e, Grau 3 (severo) filés que se apresentaram severamente endurecido com a presença de material viscoso e petéquias hemorrágicas. A classificação de ambas as miopatias foram realizadas por avaliador devidamente treinado. Após a classificação das miopatias, os filés foram armazenados a temperatura de 5 °C por 24 horas e então submetidos às análises de qualidade da carne, sendo dimensionamento dos filés (comprimento, largura e espessura) conforme descrito por Mudalal et al. (2014); pH 24 horas; Cor da carne objetiva (Van Laack et al., 2000); Capacidade de retenção de água de acordo com Hamm (1960); *Drip loss* conforme descrito por Rasmussen & Anderson (1996); Perda de peso por descongelamento/ Perda de peso por cozimento Honikel, 1987); e, força de cisalhamento (Komiya et al., 2009). A padronização da amostragem de cada filé foi realizada conforme descrito por Castilho et al. (2022).

Morfometria muscular

Foram coletados fragmentos do músculo peitoral maior de uma ave por repetição, totalizando oito aves por tratamento para confecção das lâminas para as análises de morfometria aos 21, 28, 35 e 42 dias de idade. A coleta do material biológico e processamento das lâminas foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Castilho et al. (2021). Foram obtidas 10 fotomicrografias por amostra por meio de microscópio binocular Precision[®] P207BI com câmera BEL Engineering[®] Eureka 1.3 acoplado a um microcomputador e

analisadas com o auxílio do software Image Proplus[®]. Foram realizadas as análises de contagem do número de fibras/campo que representa a quantidade de fibras na área de secção transversal; medidas do diâmetro das fibras (μm) que representa a média da medida do maior diâmetro de cada fibra muscular/campo; área das fibras (μm^2) representada pela mensuração média da área de cada fibra muscular/campo; e, a área ocupada por fibra/campo (%) que representa a porcentagem de área ocupada por fibras musculares por área de secção transversal estimada pela soma da área das fibras musculares, excluindo as áreas livres.

Atividade antioxidante

Foram coletadas amostras de plasma, 3 g do fígado e músculo *Pectoralis major* de cinco aves por tratamento aos 21 e 42 dias de idade e armazenadas em freezer à temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e posteriormente liofilizadas. Para avaliação do potencial antioxidante, as amostras de fígado e músculo foram liofilizadas, trituradas e extraídos com 5 ml de hexano por 30 minutos em ultrassom. Após esse período, realizou-se a filtração e o extrato hexânico foi seco em capela de exaustão. O resíduo sólido da amostra foi extraído pelo mesmo método empregando acetato de etila e posteriormente etanol. Após a secagem, todos os filtrados foram unidos, obtendo-se uma amostra única. Tal amostra foi solubilizada em etanol e submetida a análise de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). O plasma foi analisado empregando diretamente a amostra sem prévia extração. Para analisar a capacidade de inibir DPPH, foram adicionados 3 ml de DPPH 0,1 mM em diferentes concentrações das amostras em triplicata. A absorbância a 517 nm foi determinada em espectrofotômetro. A porcentagem de inibição foi calculada conforme descrito por Kumaran & Joel Karunakaran (2006).

Determinação do perfil de ácidos graxos

Foram utilizadas amostras de músculo coletadas aos 42 dias, fazendo-se a extração da fração lipídica da amostra segundo Bligh & Dyer (1959). Foram pesados 60 mg da fração lipídica extraída e, em seguida, foram submetidas à metilação segundo Maia & Rodriguez-Amaya (1993), visando à preparação para a análise por cromatografia gasosa.

A análise dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi realizada em cromatógrafo gasoso (Termo), equipado com detector de ionização de chama, injetor “Split/splitless”, coluna capilar de sílica fundida contendo polietilenoglicol como fase estacionária (DB-Wax, 30 m x 0,25 mm, J&W Scientific), nas seguintes condições cromatográficas: temperatura do injetor 250 °C; temperatura da coluna 180 °C durante 20 minutos, programada a 2 °C por minuto até 220 °C; temperatura do detector 260 °C, gás de arraste hidrogênio com fluxo de 1,0 mL/min., gás “make-up” nitrogênio a 20 mL/min. e volume de injeção de 1 µL. Para a identificação dos ácidos graxos compararam-se os tempos de retenção com os dos padrões ésteres metílicos (Sigma-Aldrich), enquanto a quantificação foi realizada pela normalização de área expressando-se o resultado em percentual de área de cada ácido sobre a área total de ácidos graxos.

Perfil bioquímico sérico

As amostras foram coletadas através de punção da veia ulnar com seringas heparinizadas de uma ave por repetição, totalizando oito aves por tratamento aos 42 dias de idade. Em seguida, as amostras foram imediatamente centrifugadas para a separação do soro (4.000 rpm por 10 minutos), e então, congeladas a -80 °C até o momento das análises bioquímicas sanguíneas. Para análise de alterações clínicas relacionadas a danos musculares foram avaliados os níveis de Alanina aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST) e Lactato. Os testes bioquímicos foram processados em espectrometria (BioPlus 200) de acordo com o indicado pelo fabricante dos kits comerciais (GoldAnalisa®). Os níveis de

lactato foram medidos no sangue pelo equipamento Accutrend Plus Roche[®] utilizando as tiras BM-Lactate[®].

Análises estatísticas

Para todos os resultados foram verificadas as premissas estatísticas de normalidade de resíduos e homogeneidade de variâncias com uso testes de Shapiro Wilk e Levene, respectivamente. Os resultados foram posteriormente submetidos a análise de variância utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (SAS, versão 9.4, SAS Institute Inc, Cary, NC, EUA). Para os resultados de rendimento e peso vivo dos animais foram utilizados no modelo matemático como covariável. Quando o modelo estatístico foi significativo, as estimativas das diferentes inclusões do extrato foram submetidas a análise de regressão polinomial. Os modelos para determinação do comportamento das variáveis tiveram como base a significância de cada parâmetro da equação, o valor do coeficiente de determinação e a consonância do nível estimado. O coeficiente de determinação foi considerado alto (0,70 a 1,00), moderado (0,40 a 0,69) e baixo (0,00 a 0,39). Para todas as análises foi considerado o nível de 5% de significância.

Os resultados obtidos para avaliações de miopatias foram resultados de escores, portanto, esses resultados não têm distribuição normal. Assim, utilizou-se a teoria de modelos lineares generalizados proposta por Nelder & Wenderburn (1972) e aplicou-se o procedimento SAS GLIMMIX (SAS, 2003). A distribuição dos resultados foram GAMMA, assumindo-se que os resíduos têm comportamento exponencial. Para obter os coeficientes e interceptos das regressões, foi utilizado o comando SOLUTION do procedimento GLIMMIX. Para comparar as médias pelo teste “lsmeans”, as “estimativas” obtidas foram utilizadas em funções de “ligação inversa” e ajustes (linhas pdiff ilink) do procedimento GLIMMIX.

O estudo do crescimento relativo dos cortes foi realizado mediante a equação potência, $Y = a X^b$, transformada logaritmicamente em um modelo linear, $\ln Y = \ln a + b \ln X + \ln e_i$ (Huxley, 1932; Castilho et al., 2022; Santos et al., 2023).

RESULTADOS

Desempenho zootécnico, rendimento de carcaça e cortes e alometria

O consumo de ração apresentou comportamento linear decrescente nos acumulados de 1-21, 1-35 e 1-42 dias de idade, ou seja, quanto maior o nível de polifenóis na dieta menor foi o consumo de ração (Figura 1).

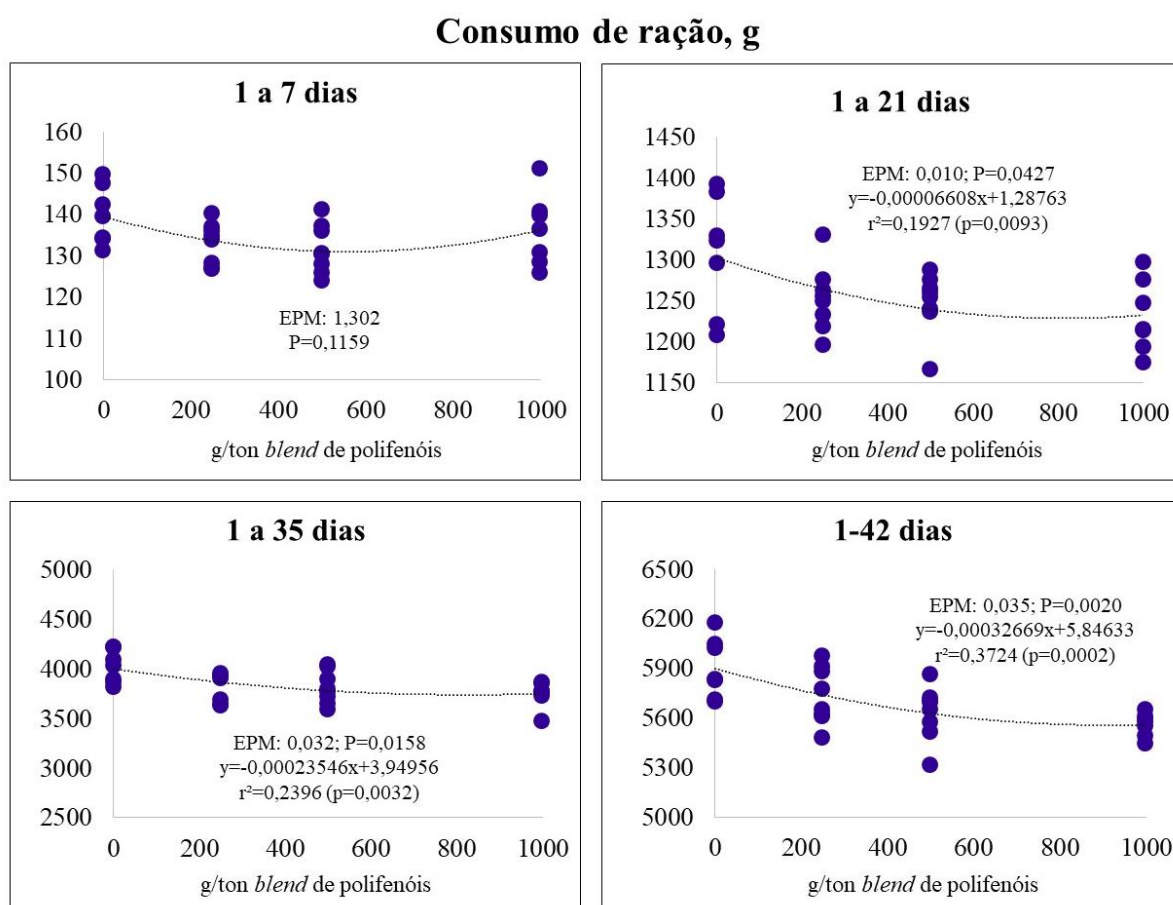


Figura 1. Consumo de ração (g) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de polifenóis.

Na fase inicial (1 a 21 dias), a variável ganho de peso apresentou comportamento linear crescente com o aumento da inclusão de polifenóis, enquanto que na fase final (1 a 42 dias) apresentou comportamento quadrático com estimativa de ponto máximo de 3,620 kg atingido no nível de 664 g/ton (Figura 2).

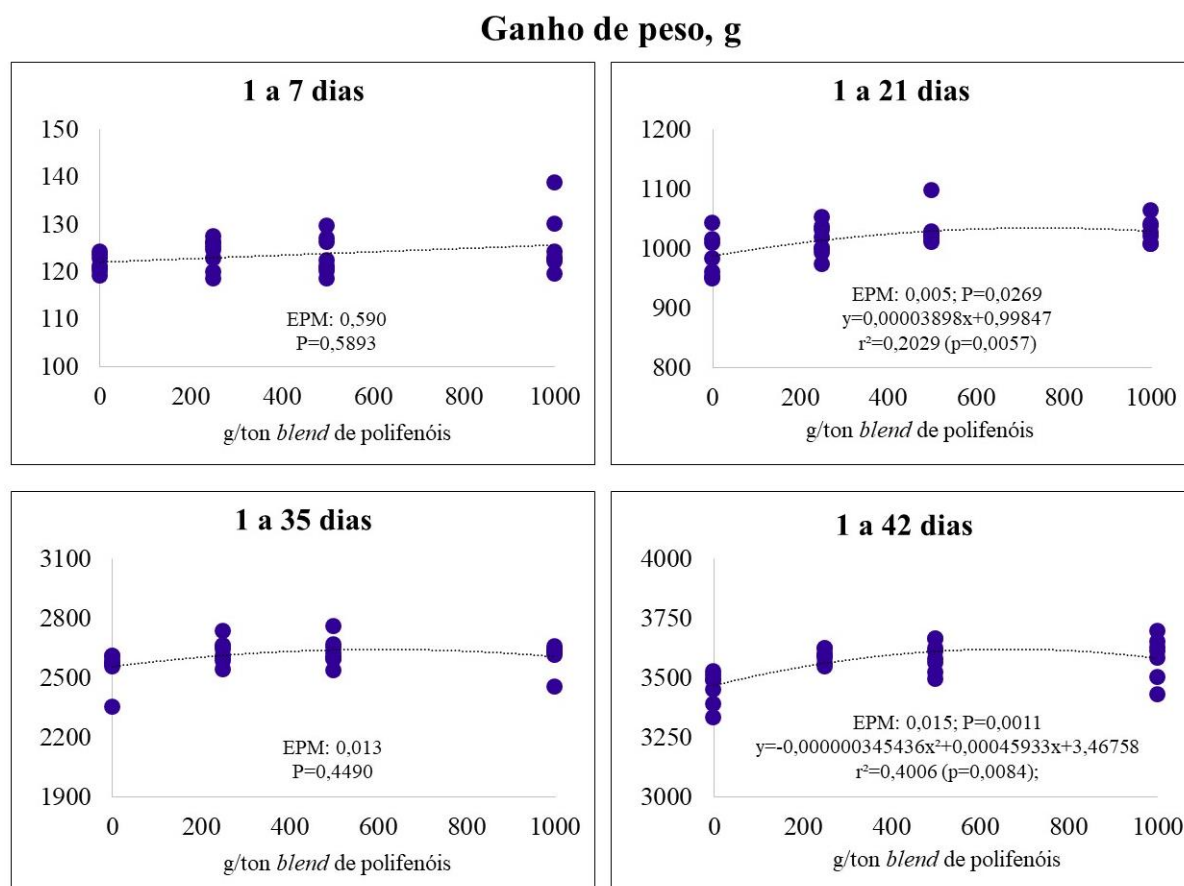


Figura 2. Ganho de peso (g) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de polifenóis.

A variável conversão alimentar apresentou comportamento quadrático de acordo com a equação de regressão, visto que apresentou ponto mínimo em 633, 778, 722 e 763 g/ton de inclusão do extrato nas fases pré-inicial, inicial, crescimento e final com conversões estimadas em 1,09, 1,18, 1,41, e 1,53, respectivamente (Figura 3).

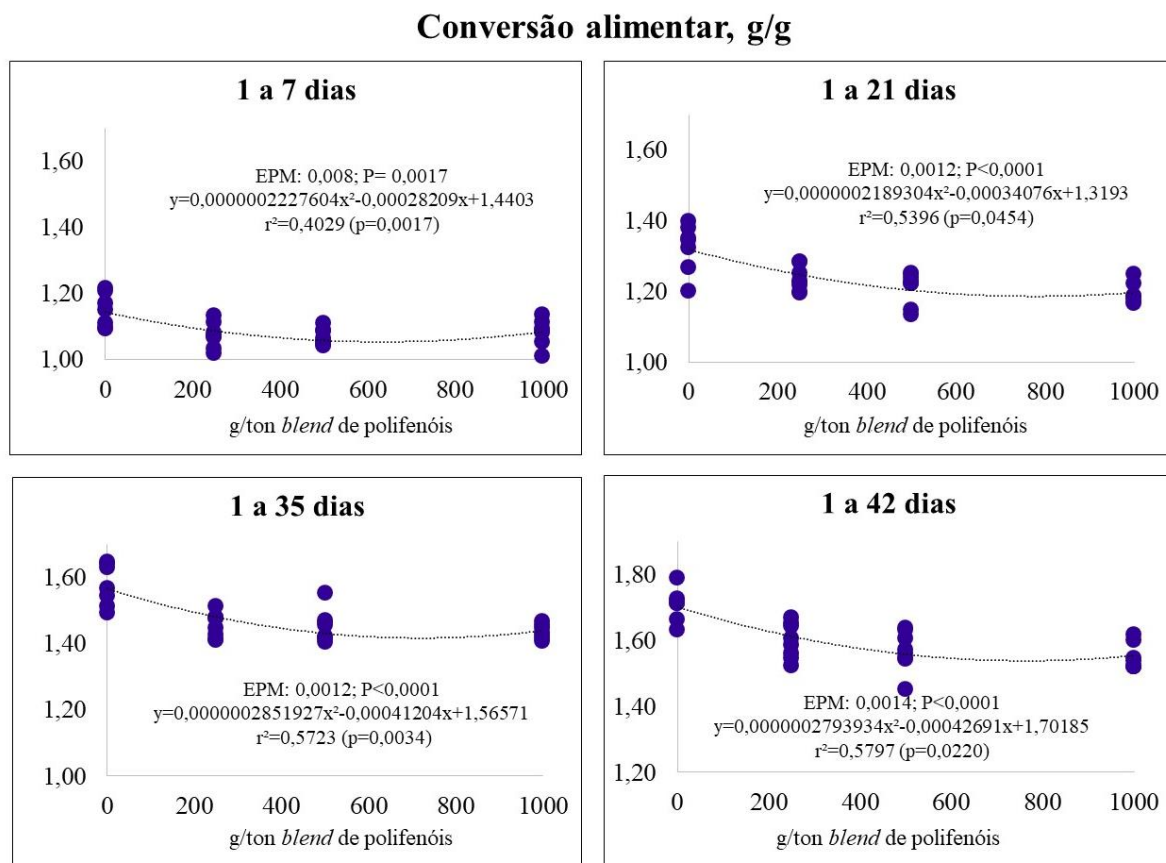


Figura 3. Conversão alimentar de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de polifenóis.

O índice de eficiência de produção (IEP) apresentou efeito quadrático de acordo com a equação de regressão, visto que a estimativa de máxima inclusão foi dada em 580, 519 e 514 g/ton nas fases pré-inicial, inicial e final respectivamente (Figura 4), e esses melhores índices foram estimados em 157 (pré-inicial), 359 (inicial) e 477 (final).

Índice de Eficiência Produtiva

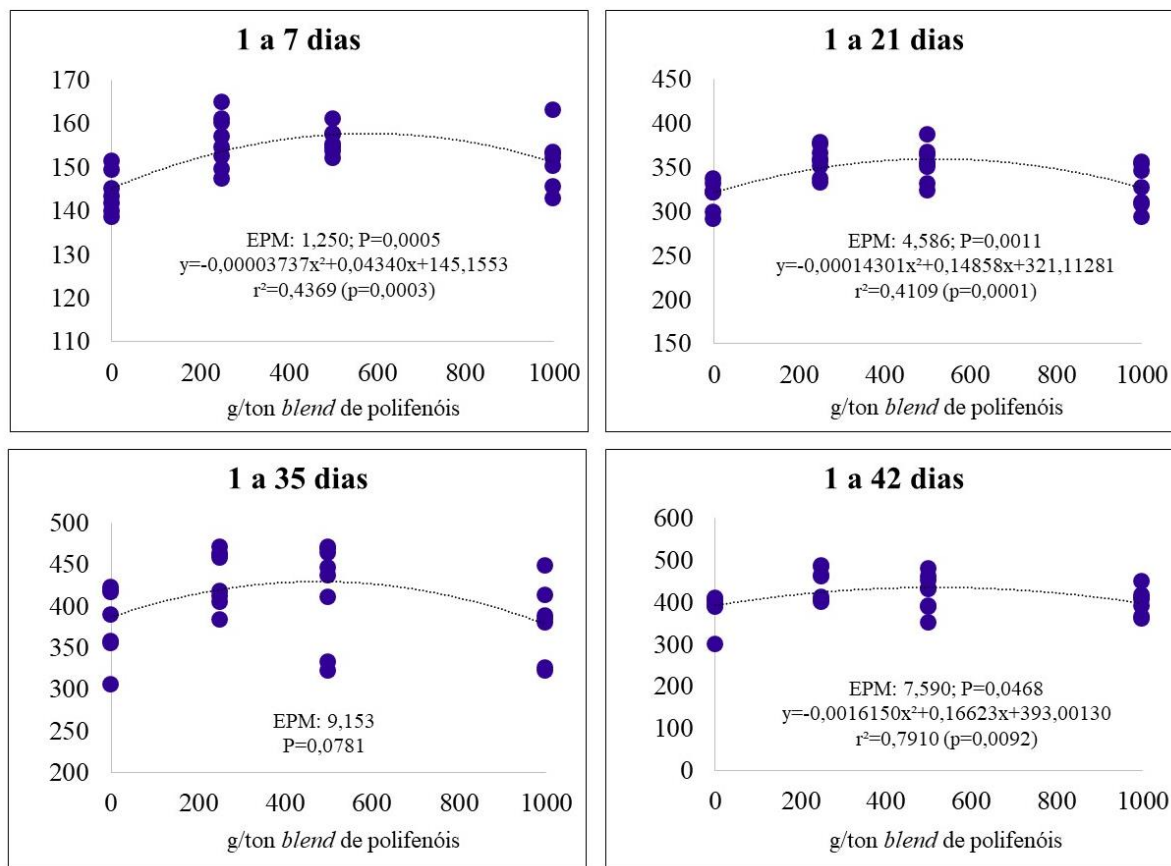


Figura 4. Índice de eficiência produtiva de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de polifenóis.

Os parâmetros de rendimento de carcaça e cortes com osso e desossados dos frangos de corte foram avaliados aos 21, 28, 35 e 42 dias de idade e não foram influenciados pela adição extrato vegetal rico em polifenóis na dieta, com exceção ao rendimento do dorso aos 42 dias (Tabela 2). O peso do dorso demonstrou comportamento linear decrescente, porém o coeficiente de determinação foi muito baixo, ou seja, a equação não explica a variação dos dados de forma satisfatória.

Tabela 2. Rendimento de carcaça e cortes de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de polifenóis aos 42 dias de idade.

	Níveis de inclusão do extrato, g/ton				EPM ¹	P ²
	0	250	500	1.000		
Peso vivo, kg	3,444	3,346	3,350	3,321	0,018	0,0909
Rendimento, %						
Carcaça quente	81,154	81,144	81,985	80,771	0,226	0,2750
Carcaça resfriada	81,801	81,930	82,760	81,579	0,211	0,2071
Peito com osso	42,656	47,726	42,448	42,435	0,269	0,9748
Pernas com osso	26,127	26,416	26,403	26,603	0,140	0,7253
Peito sem osso	35,435	35,487	35,371	35,453	0,253	0,9988
Pernas sem osso	18,440	18,788	18,623	18,333	0,133	0,6459
Asas	9,914	9,265	9,139	9,368	0,054	0,5035
Dorso	17,648	16,957	17,193	16,639	0,180	0,2731

¹Erro padrão da média; ²Resultados foram estatisticamente significativos a nível de $p < 0,05$; Dorso: $y = -0,00003547x + 0,48822$ $r^2 = 0,0945$ ($p = 0,0164$).

Com relação aos coeficientes do crescimento alométrico, para a dieta basal (controle), sem a inclusão de polifenóis, verificamos que apenas o dorso apresentou valor de b não significativo apresentando crescimento isogônico ($b = 1$), ou seja, quando a parte analisada tem crescimento semelhante ao corpo (Tabela 3). Em contrapartida o peito, pernas e asas obtiveram valor de b significativo e apresentaram crescimento heterogônico ($b \neq 1$), quando a parte cresce de forma distinta do restante do corpo. O peito e asas apresentaram crescimento precoce ($b < 1$) e as pernas crescimento tardio ($b > 1$).

Tabela 3. Coeficiente alométrico de frangos de corte abatidos aos 42 dias de idade alimentados com dietas contendo diferentes níveis de polifenóis.

Cortes	Equação	Teste t (Ho:b=1)	b±SD	R ²
Controle				
Peito	$\ln_{\text{peito}}=0,87653\ln\text{PCRajlog}-0,73684$	0,0036	$0,87653\pm 0,243$	0,5192
Pernas	$\ln_{\text{pernas}}=1,35947\ln\text{PCRajlog}-1,69675$	0,0001	$1,35947\pm 0,240$	0,7268
Asas	$\ln_{\text{asas}}=0,61711\ln\text{PCRajlog}-1,98321$	0,0194	$0,61777\pm 0,228$	0,3777
Dorso	$\ln_{\text{dorso}}=0,95973\ln\text{PCRajlog}-1,68313$	0,0649	$0,95973\pm 0,472$	0,2559
250 g/ton				
Peito	$\ln_{\text{peito}}=0,81453\ln\text{PCRajlog}-0,67101$	0,0060	$0,81453\pm 0,251$	0,4274
Pernas	$\ln_{\text{pernas}}=0,49858\ln\text{PCRajlog}-0,83058$	0,0083	$0,48958\pm 0,162$	0,4027
Asas	$\ln_{\text{asas}}=0,28949\ln\text{PCRajlog}-1,66604$	0,1111	$0,28949\pm 0,170$	0,1712
Dorso	$\ln_{\text{dorso}}=2,28583\ln\text{PCRajlog}-3,04390$	0,0009	$2,28583\pm 0,543$	0,5582
500 g/ton				
Peito	$\ln_{\text{peito}}=1,31950\ln\text{PCRajlog}-1,17563$	0,0014	$1,31950\pm 0,332$	0,5295
Pernas	$\ln_{\text{pernas}}=0,65310\ln\text{PCRajlog}-0,97504$	0,0409	$0,65310\pm 0,290$	0,2658
Asas	$\ln_{\text{asas}}=1,09953\ln\text{PCRajlog}-2,48829$	0,0041	$1,09953\pm 0,321$	0,4555
Dorso	$\ln_{\text{dorso}}=0,67209\ln\text{PCRajlog}-1,42540$	0,2766	$0,67209\pm 0,593$	0,0839
1.000 g/ton				
Peito	$\ln_{\text{peito}}=0,69884\ln\text{PCRajlog}-0,53317$	0,0045	$0,69884\pm 0,200$	0,5030
Pernas	$\ln_{\text{pernas}}=0,37654\ln\text{PCRajlog}-0,70117$	0,0342	$0,37654\pm 0,157$	0,3224
Asas	$\ln_{\text{asas}}=0,55864\ln\text{PCRajlog}-1,92507$	0,0376	$0,55864\pm 0,239$	0,3128
Dorso	$\ln_{\text{dorso}}=5,05244\ln\text{PCRajlog}-5,87934$	<0,0001	$5,05244\pm 0,628$	0,8435

ln: Transformação logarítmica para uma equação linear; PCRaj: Peso da carcaça resfriada ajustada; teste t: indica se a hipótese H0 foi aceita ou rejeitada (significância a 0,05); R² - indica o quanto a equação está adaptada aos dados.

A inclusão de 250 g/ton de polifenóis promoveu peito e pernas com comportamento heterogônico negativo (crescimento precoce), enquanto dorso obteve crescimento heterogônico positivo (crescimento tardio) e asas crescimento isogônico (b=1). Já os frangos alimentados com inclusão de 500 g/ton do extrato apresentaram peito e asas com crescimento positivo (tardio), pernas com crescimento negativo (precoce) e dorso crescimento isogônico. A dose de 1.000 g/ton de polifenóis obteve como resposta peito, pernas e asas com crescimento precoce e dorso tardio.

Quantificação das miopatias, qualidade da carne e morfometria muscular

Aos 21 dias, a miopatia *Wooden breast* apresentou comportamento linear decrescente, ou seja, o grau de severidade da miopatia diminuiu conforme houve o aumento dos níveis do *blend* (Tabela 4). Não houve influência da adição do extrato sobre a incidência de *White striping*.

Tabela 4. Quantificação dos escores das miopatias peitorais em frangos de corte alimentados com diferentes níveis de polifenóis.

	Níveis de inclusão do extrato, g/ton				P ¹
	0	250	500	1,000	
21 dias					
WS	0,833(0,092)	0,750(0,080)	1,00(0,080)	0,928(0,086)	0,1579
WB	1,076(0,247)	0,751(0,254)	0,492(0,254)	0,636(0,234)	0,0127
28 dias					
WS	1,241(0,197)	1,156(0,212)	1,218(0,212)	1,313(0,197)	0,7779
WB	1,571(0,132)	1,625(0,124)	1,625(0,124)	1,714(0,132)	0,8960
35 dias					
WS	1,720(0,313)	1,713(0,335)	1,713(0,335)	1,649(0,313)	0,9915
WB	2,512(0,278)	2,176(0,294)	2,363(0,294)	2,012(0,278)	0,2139
42 dias					
WS	1,857(0,188)	1,625(0,176)	1,750(0,176)	1,571(0,188)	0,7022
WB	2,525(0,326)	1,760(0,351)	1,885(0,351)	2,025(0,326)	0,0211

¹Resultados foram estatisticamente significativos a nível de $p < 0,05$; Valores () são o erro padrão da média de cada valor estimado pelo modelo de transformação; WB (21 dias): $Y = -0,00038X + 0,8967$ a/b (erro padrão dos coeficientes de determinação): 0,00001 ($p = 0,0070$); WB (42 dias): $y = 0,0000009516X^2 - 0,00126X + 1,8876$ a/b: 0,00005 ($p < 0,0001$)

A miopatia *Wooden breast*, aos 42 dias, demonstrou comportamento quadrático conforme a equação de regressão, com ponto de inflexão mínimo estimado para o nível de 652 g/ton de inclusão do extrato vegetal à base de polifenóis.

Os parâmetros de qualidade da carne analisados aos 21, 28 e 35 dias não foram influenciados pela utilização do *blend* de polifenóis (resultados não mostrados). Aos 42 dias, a análise de perda de peso por cocção (PPC) apresentou comportamento linear decrescente (Tabela 5), visto que quanto maior foi a inclusão de polifenóis menores foram os valores de perda de peso no processo de cozimento. Além disso, a análise de força de cisalhamento demonstrou comportamento quadrático com estimativa de ponto mínimo no nível de 609 g/ton de extrato.

Tabela 5. Parâmetros de qualidade da carne frangos de corte abatidos aos 42 dias de idade alimentados com diferentes níveis de polifenóis.

Parâmetros	Níveis de inclusão do extrato, g/ton				EPM ¹	P ²
	0	250	500	1.000		
Peso filé ³ , kg	0,395	0,370	0,393	0,389	0,005	0,3943
Comprimento, cm	18,47	18,36	18,30	18,43	0,066	0,8141
Largura, cm	10,09	10,09	9,77	9,68	0,788	0,1426
Espessura, cm	4,39	4,25	4,23	4,28	0,429	0,5235
pH	5,89	5,93	5,98	5,88	0,017	0,1147
L*	49,99	50,12	49,50	49,50	0,826	0,0529
Cor a*	2,07	2,24	2,39	2,39	0,266	0,6364
b*	6,30	6,55	6,18	6,18	0,676	0,5774
CRA ⁴ , %	33,70	32,20	33,00	32,67	0,388	0,5924
Drip loss, %	4,01	3,53	3,74	3,12	0,124	0,0903
PPD ⁵ , %	4,09	3,73	3,09	3,37	0,195	0,3110
PPC ⁶ , %	23,41	20,99	21,50	19,09	0,516	0,0580
FC ⁷ , kgf/cm ²	2,24	1,84	1,99	1,98	0,049	0,0406

¹Erro padrão da média; ²Resultados foram estatisticamente significativos a nível de $p < 0,05$; ³Peso do filé direito resfriado; ⁴Capacidade de retenção de água; ⁵Perda de peso por descongelamento; ⁶Perda de peso por cocção; ⁷Força de cisalhamento; PPC: $y = -0,00378x + 22,88951$ $r^2 = 0,1167$ ($p = 0,0008$); FC: $y = 0,0000007989x^2 - 0,00097459x + 2,17653$ $r^2 = 0,1317$ ($p = 0,0440$)

Em relação à morfometria do tecido muscular, observa-se que aos 21 dias, o número de fibras por campo, diâmetro e área das fibras apresentaram comportamento linear, visto que

o número de fibras por campo demonstrou um comportamento crescente conforme houve o aumento da inclusão de polifenóis na dieta das aves, enquanto diâmetro e área das fibras apresentaram comportamento decrescente (Tabela 6).

Aos 42 dias de idade, o número de fibras apresentou comportamento linear crescente conforme houve o aumento do nível de polifenóis na dieta. De forma correlata, a área das fibras foi decrescendo à medida que houve o aumento da quantidade de polifenol. Não houveram diferenças significativas para as variáveis de morfometria muscular analisadas aos 28 e 35 dias de idade.

Tabela 6. Morfometria das fibras musculares oriundas do peito de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de polifenóis.

Morfometria	Níveis de inclusão do extrato, g/ton				EPM ¹	P ²
	0	250	500	1,000		
21 dias						
Número de fibras/campo	110,14	119,46	133,54	148,67	3,25	<0,0010
Diâmetro das fibras, µm	67,28	65,95	61,99	59,12	0,92	0,0033
Área das fibras, µm²	2.385	2.322	2.174	1.790	57,11	0,0002
Área ocupada por fibras/campo, %	70,46	41,41	72,70	72,21	0,60	0,6109
28 dias						
Número de fibras/campo	59,14	61,29	60,04	59,16	1,07	0,8869
Diâmetro das fibras, µm	93,20	92,51	88,88	91,71	0,92	0,3361
Área das fibras, µm²	3.930	3.933	4.112	3.962	107,45	0,9201
Área ocupada por fibras/campo, %	67,50	66,58	67,74	68,88	0,49	0,4490
35 dias						
Número de fibras/campo	46,00	45,41	45,08	45,09	0,67	0,9689
Diâmetro das fibras, µm	107,25	99,31	100,10	100,57	1,38	0,1639
Área das fibras, µm²	5.432	5.124	5.332	5.110	105,23	0,6815
Área ocupada por fibras/campo, %	61,50	62,59	65,52	63,14	0,67	0,1860
42 dias						
Número de fibras/campo	23,81	28,00	28,16	39,04	1,50	0,0011
Diâmetro das fibras, µm	124,47	118,82	115,55	116,62	2,26	0,5494
Área das fibras, µm²	7.906	7.203	6.987	5.535	258,74	0,0082
Área ocupada por fibras/campo, %	50,23	54,63	54,32	53,33	0,82	0,2238

¹Erro padrão da média; ²Resultados foram estatisticamente significativos a nível de $p < 0,05$;

21 dias: Número de fibras: $Y=0,03922x+110,8614$ $r^2=0,6465$ ($p<0,0001$); Diâmetro das fibras (21 dias): $y=-0,0086x+67,34455$ $r^2=,3835$ ($p=0,0004$); Área das fibras: $y=-0,61480x+2439,92836$ $r^2=0,5150$ ($p<0,0001$);

42 dias: Número de fibras: $y=0,01464x+23,29944$ $r^2=0,6465$ ($p=0,0002$); Área das fibras: $y=-2,29274x+7914,34994$ $r^2: 0,3490$ ($p=0,0012$)

Status antioxidante, perfil lipídico e parâmetros bioquímicos

O potencial antioxidante do plasma foi influenciado pela adição dos polifenóis na dieta, visto que as variáveis analisadas aos 21 e 42 dias apresentaram comportamento quadrático com ponto de máxima inclusão para o nível de 978 g/ton aos 21 dias e, além do intervalo testado aos 42 dias conforme estimado pela equação de regressão (Figura 5).

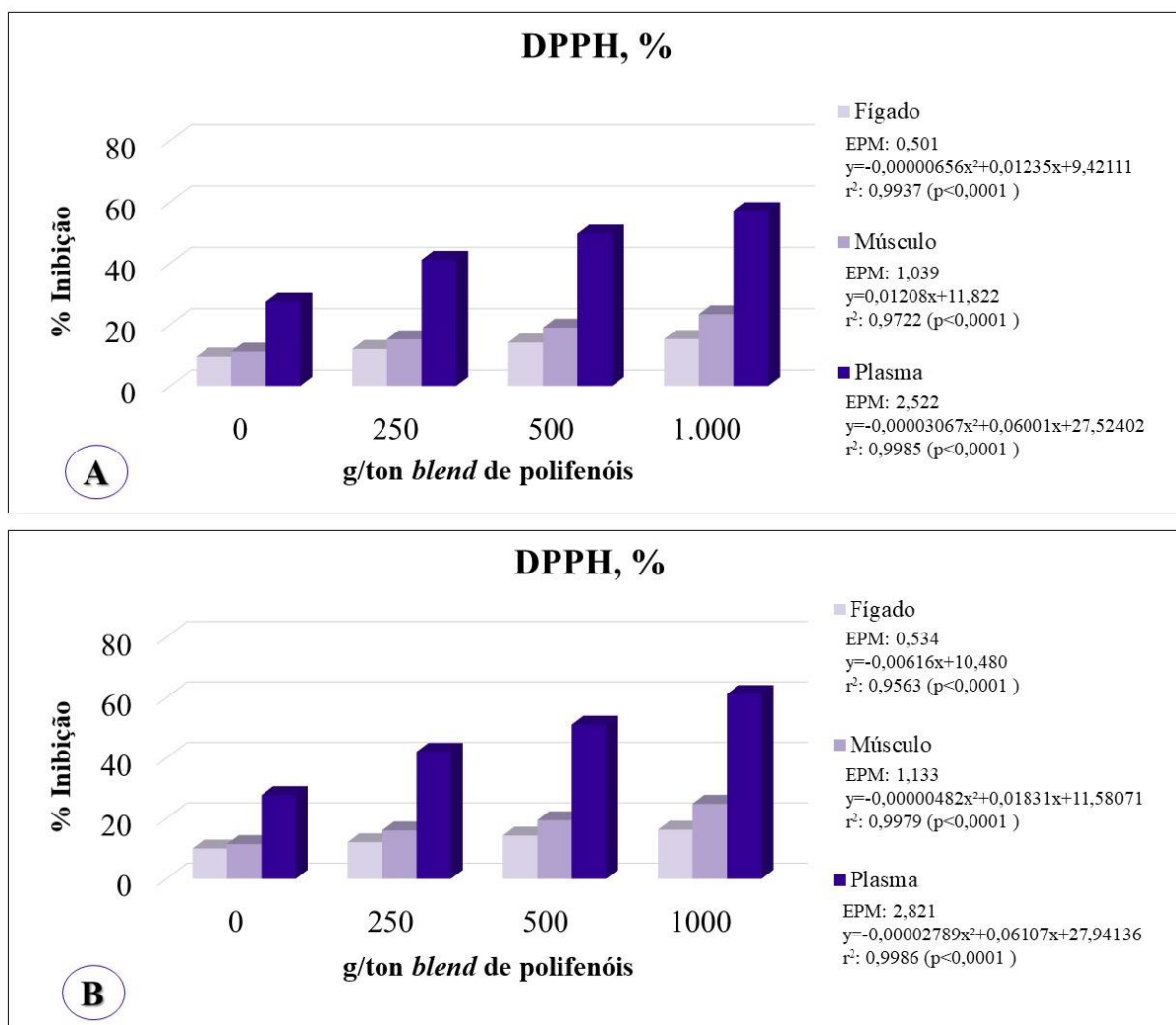


Figura 5. Concentração hepática, muscular e sérica do potencial antioxidante analisado pelo método de inibir DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em frangos de corte alimentados com diferentes níveis de inclusão de polifenóis. A) Avaliação aos 21 dias; B) Avaliação aos 42 dias.

No músculo do peito, a inibição de DPPH obteve comportamento linear crescente aos 21 dias e comportamento quadrático com ponto de máxima fora do intervalo testado aos 42 dias de idade. Em relação ao tecido oriundo do fígado dos frangos, observou-se que a variável avaliada como potencial antioxidante apresentou comportamento quadrático com ponto de máxima inclusão de polifenóis estimada em 941 g/ton aos 21 dias e, comportamento linear crescente no tecido hepático das aves aos 42 dias de idade, ou seja, quanto maior o nível de inclusão do produto melhor a atividade antioxidante do tecido.

O ácido cáprico (C10:0) e ácido graxo α -linolênico (C18:3 ω 3) apresentaram comportamento linear decrescente com o aumento da inclusão de polifenol. Enquanto o ácido palmitoleico (C16:1) apresentou comportamento linear crescente, ou seja, com maiores concentrações nos músculos de aves alimentadas com maiores quantidades de polifenóis. O ácido graxo dihomo- γ -linolênico (C20:3 ω 6) apresentou comportamento quadrático com ponto máximo de 460 g/ton de inclusão do extrato de acordo com a equação de regressão. O ácido graxo linolênico conjugado – CLA (C18:2) apresentou comportamento quadrático com a máxima dosagem estimada em 329 g/ton de polifenóis. Já o total de ácidos graxos ômega 3 apresentou comportamento linear decrescente com o aumento da inclusão de polifenóis.

Tabela 7. Perfil de ácidos graxos do tecido muscular do peito (*Pectoralis major*) de frangos de corte alimentados com polifenóis avaliados aos 42 dias de idade.

Ácidos graxos ¹		Níveis de inclusão aos 42 dias				EPM	P
		0	250	500	1000		
Cáprico	(C10:0)	0,110	0,106	0,100	0,100	0,001	<0,0001
Láurico	(C12:0)	0,208	0,208	0,206	0,204	0,001	0,6949
Mirístico	(C14:0)	0,544	0,536	0,534	0,544	0,006	0,9173
Palmítico	(C16:0)	21,908	21,770	21,816	21,740	0,026	0,0932
Heptadecanoico	(C17:0)	0,358	0,354	0,360	0,354	0,002	0,8350
Estearico	(C18:0)	0,750	0,728	0,736	0,762	0,005	0,1616
Araquídico	(C20:0)	0,140	0,130	0,144	0,136	0,002	0,3170
Miristoleico	(C14:1)	0,192	0,202	0,186	0,196	0,002	0,1524
Palmitoleico	(C16:1)	1,644	1,676	1,756	1,734	0,012	0,0004
Oleico	(C18:1) ω9	28,138	28,306	28,727	28,262	0,034	0,3655
Linoleico	(C18:2) ω6	37,442	37,490	37,432	37,460	0,029	0,9202
α-linolênico	(C18:3) ω3	3,406	3,468	3,272	3,308	0,025	0,0088
Linolêico conjugado	(C18:2)	0,297	0,272	0,298	0,304	0,003	<0,0001
Dihomo-γ-linolênico	(C20:3) ω6	0,106	0,100	0,100	0,108	0,001	0,0036
Araquidônico	(C20:4) ω6	2,350	2,376	2,368	2,370	0,012	0,9086
Pentadecanóico	(C15:0)	0,152	0,150	0,144	0,148	0,001	0,5495
Eicosanóico	(C20:1)	0,314	0,316	0,318	0,320	0,003	0,9449
Eicosadienóico	(C20:2)	0,504	0,486	0,504	0,512	0,003	0,0622
Eicosatrienóico	(C20:3) ω3	1,300	1,300	1,314	1,298	0,005	0,7955
Eicosapentaenóico	(C20:5) ω3	0,144	0,136	0,140	0,140	0,001	0,5014
Total saturados		24,170	23,872	24,040	23,988	0,043	0,0909
Total insaturados		75,646	76,254	76,036	75,980	0,043	0,0909
Monoinsaturados		30,288	30,500	30,532	30,512	0,04	0,0956
Poliinsaturados		45,542	45,628	45,428	45,500	0,038	0,3290
Total ω3		4,850	4,904	4,726	4,746	0,023	0,0097
Total ω6		40,692	40,724	40,702	40,754	0,032	0,9257
Total ω9		30,096	30,298	30,346	30,316	0,039	0,0949
Insaturados/saturados		3,137	3,189	3,160	3,168	0,007	0,0940
Poliinsaturados/saturados		1,884	1,911	1,889	1,896	0,004	0,1536
ω6/ω3		8,392	8,308	8,613	8,589	0,042	0,1310

¹Ácidos graxos apresentados em percentual calculados em relação a quantificação de ácidos graxos totais. ²Erro padrão da média; ³Resultados foram estatisticamente significativos a nível de $p < 0,05$;

Ácido cáprico $y = -0,00001006x + 0,10840$ $r^2 0,5762$ ($p < 0,0001$); Ácido palmitoleico $y = 0,00009440x + 1,6612$ $r^2 0,4063$ ($p = 0,0001$); Ácido α-linolênico $y = -0,00013737x + 3,42360$ $r^2 0,2160$ ($p = 0,0015$); Ácido linolêico conjugado $y = 0,00000004404454x^2 - 0,00002906x + 0,2908$ $r^2 0,3245$ ($p = 0,0002$); Ácido dihomο-γ-linolênico $y = 0,00000002981818x^2 - 0,00002745x + 0,10573$ $r^2 0,5540$ ($p = 0,0004$); Total ω3 $y = -0,00013966x + 4,8676$ $r^2 0,2448$ ($p = 0,0087$).

Não foram observadas diferenças significativas sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos de ALT (Alanina aminotransferase), AST (Aspartato aminotransferase) e níveis de lactato (dados não mostrados).

DISCUSSÃO

A adição dietética do blend de polifenóis não afetou o ganho de peso e consumo de ração durante a fase pré-inicial. No entanto, pintos de corte alimentados com dietas suplementadas melhoraram significativamente todos os parâmetros de desempenho nas fases inicial e de crescimento e, de fato, no período geral, indicando uma utilização eficiente dos nutrientes. Em contraste, observa-se que outro estudo utilizando um composto de taninos oriundos da Castanheira (*Castanea sativa*) não encontraram efeitos significativos no ganho de peso corporal e na conversão alimentar em frangos (250 ou 500 mg/kg) (Jamroz et al., 2009). Adicionalmente, Zhou et al. (2019) afirmam que o efeito positivo da utilização de flavonóides dependem de dosagens ajustadas. Estas ações aparentemente opostas implicam que os benefícios potenciais de flavonóides e taninos dependem das concentrações efetivas de moléculas bioativas que atingem o epitélio, bem como da presença ou ausência de metabólitos produzidos pela microbiota intestinal para terem efeito sobre o desempenho. Portanto, as doses corretas suplementadas na ração são de grande importância para produzir efeitos benéficos em frangos, mas também dependeriam das características da microbiota e padronização do extrato vegetal.

A inclusão do blend de polifenóis na dieta no período de 1 a 42 dias de vida resultou em bons parâmetros produtivos, em que as melhores inclusões foram estimadas entre 514 e 664 g/ton, para ganho de peso e índice de eficiência produtiva, respectivamente, demonstrando que as aves não se adaptaram com níveis mais altos. No entanto, essas propriedades tóxicas dos taninos foram demonstradas quando os taninos foram incluídos nas

dietas em mais de 7,5 g/kg, com base no ácido tânico, padrão de taninos hidrolisáveis, e estudos atuais provaram que quantidades adequadas de taninos, a base de ácido tânico variando de 0,5 g/kg a 5 g/kg em aves poderia melhorar o desempenho e a saúde intestinal devido às suas potenciais funções antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (Kubena et al., 2001; Masék et al., 2014; Starcevic et al., 2015; Cengz et al., 2017). Da mesma forma, observa-se que doses mais elevadas de flavonóides possam ser prejudiciais ao desempenho (Króliczewska et al., 2017; Zhou et al., 2019).

De forma positiva, a suplementação do blend de polifenóis promoveu diferença no padrão de crescimento das diferentes partes do corpo dos frangos de corte (Tabela 3). Destaca-se o crescimento do peito por ser a carne mais nobre das aves, somente a inclusão de 500 g/ton promoveu crescimento tardio do músculo. Como não houve diferença entre os níveis de tanino na dieta nos parâmetros de rendimento do peito aos 42 dias de idade (Tabela 2), sugere-se que houve ganho compensatório para esses animais, ou seja, não houve diminuição na deposição de proteína no músculo peitoral, apenas foi ajustada e o tecido depositado de forma mais tardia. Isso pode estar ligado com os achados sobre a quantificação dos escores de severidade da miopatia *Wooden breast*, visto que a dosagem de 654 g/ton promoveu a diminuição da severidade desta miopatia.

Os resultados sobre o crescimento e desenvolvimento do tecido muscular encontrados em nosso estudo pode ser justificado pelas funções mioprotetoras que alguns compostos polifenólicos como ácido gálico, ácido elágico e urolitina possuem. Tais ações podem ser descritas como: 1) aumento da função mitocondrial e biogênese; 2) indução de enzimas antioxidantes, proteção contra disfunção mitocondrial; 3) aumento da angiogênese muscular, capacidade energética e função contrátil; e, 4) aumento da síntese proteica, diferenciação dos miotubos e hipertrofia das fibras musculares (Daglia et al., 2014; Cione tal., 2019; Lai et al., 2021; Sharifi-Rad et al., 2022). Os mecanismos bioquímicos precisos pelos quais os

compostos polifenólicos podem exercer ações protetoras nas células musculares esqueléticas não são totalmente compreendidos e são objeto de pesquisas em andamento (Ticinesi et al., 2023). Sendo assim, suas funções protetoras podem ser a nível intracelular, por meio de interação direta ou indireta com fatores transcricionais como Coativador gama 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PGC-1 α), Fator respiratório nuclear 1 (Nrf1), Fator de transcrição mitocondrial A (TFAM), ou reguladores miogênicos como miogenina, Fator miogênico 5 (Myf5) e Proteína 1 de determinação de mioblastos (MyoD) (Nikawa et al., 2021).

Diante disso, um ponto importante a ser observado, é que blend de polifenóis utilizados no presente estudo se trata de um padrão de taninos condensados, hidrolisáveis e flavonóides. Ressalta-se que os elagitaninos, uma classe de taninos hidrolisáveis, quando hidrolisados liberam uma molécula de açúcar e inúmeras moléculas de ácido gálico e ácido elágico (Lamy et al., 2016). O ácido gálico é facilmente absorvível na corrente sanguínea (Manach et al., 2005), enquanto o ácido elágico é caracterizado por possuir baixa biodisponibilidade devido à forte afinidade por proteínas e má absorção (Seeram et al., 2004).

Contudo, um estudo realizado por Espín et al. (2007), os autores descrevem que quando os elagitaninos entram no jejuno, ocorre sua hidrólise e a quantidade de ácido elágico e derivados aumenta, sendo então metabolizados pela microbiota intestinal, produzindo uma nova classe de compostos, como urolitina, uma substância que melhora a saúde celular, promove a mitofagia e a função mitocondrial, além de combater distúrbios relacionados aos músculos e cérebro (D'Amico et al., 2021). Complementa-se que os metabolizadores intestinais de ácido elágico podem produzir urolitina A ou urolitina B (Garcia-Villalba et al., 2022), dois compostos com funções mioprotetoras (Rodríguez et al., 2017a; Liu et al., 2022; Singh et al., 2022). A urolitina A, em particular, foi eficazmente comprovada na melhoria da força e resistência muscular (Liu et al., 2022; Singh et al., 2022), contudo as funções

biológicas dos compostos bioativos dependem de seus metabólitos produzidos pelo metabolismo intestinal e hepático (Luca et al., 2020), deixando claro que a saúde intestinal tem papel fundamental no aproveitamento desses compostos. Ademais, para uso dos benefícios da ingestão dietética de suplementos elagitaninos a nível muscular, os indivíduos devem possuir microbioma intestinal com quantidades representativas de *Akkermansia muciniphila* e *Lactobacillus* spp., (Biagi et al., 2016; Badal et al., 2020), visto que a primeira é associada ao desenvolvimento muscular (Bressa et al., 2017) e a segunda está associada ao aumento da massa e força muscular (Prokopidis et al., 2023). A partir desses resultados levantamos a necessidade de mais estudos relacionados a administração do blend de polifenóis e o microbioma intestinal.

Estudos comprovaram que a urolitina B possui efeito androgênico no músculo esquelético sem qualquer impacto negativo no desenvolvimento do restante do corpo (Rodriguez et al., 2017a; Rodriguez et al., 2017b). De acordo com dados *in vitro*, a urolitina B estimulou a síntese proteica e diminuiu a degradação proteica (Rodriguez et al., 2017a). Além disso, esse metabólito oriundo do ácido elágico possui efeito anti-inflamatório diminuindo a expressão de algumas citocinas, incluindo interleucina-6 (IL-6), interferon γ (IFN- γ), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-4 (IL-4) e interleucina-1 β (IL-1 β) (Chen et al., 2021). Um estudo realizado por Xing et al. (2021) verificaram que as expressões de mRNA de IL-6, IL-1 β e TNF- α estavam aumentadas em músculos acometidos por Wooden breast. A TNF- α , por exemplo, implica em condições de perda muscular devido à inibição da regeneração muscular, mantendo as células satélites no estágio de proliferação e inibindo a diferenciação (Coletti et al., 2005). A presença de IL-1 β atua como um fator predisponente para a regeneração muscular atenuada, e a inibição da IL-1 β promove a diferenciação muscular (Cohen et al., 2015). Portanto, a regulação da expressão das citocinas inflamatórias

não apenas melhora a lesão inflamatória do tecido, mas também promove a fase regenerativa do músculo afetado pelo peito amadeirado.

Somado a isso, elagitaninos e o ácido elágico contêm hidroxilas fenólicas que atuam na estabilização de diferentes ROS, devido à sua capacidade de doar radicais H^+ e de permanecer estáveis, apresentando alto e persistente efeito antioxidante *in vitro* e *in vivo*, conferindo uma ação interessante contra ROS (Galano et al., 2014; Karakurt et al., 2016; Gontijo et al., 2019). Desse modo, os polifenóis podem induzir seletivamente a expressão gênica de enzimas antioxidantes por meio da modulação de vias de sinalização sensíveis ao redox, inibindo a peroxidação lipídica, extinguindo os radicais livres de oxigênio (Puiggros et al., 2005; Liu et al., 2020) e influenciando sobre o desenvolvimento muscular e das miopatias peitorais.

Adicionalmente, o estresse oxidativo desempenha um papel patogênico em doenças inflamatórias (Hussain et al., 2016), como o caso das alterações musculares *White striping* e *Wooden breast*, por isso é extremamente importante avaliar os efeitos dos taninos na capacidade antioxidante de frangos de corte. Como descrito anteriormente, levantamos a hipótese de que o blend de polifenóis poderia impactar de forma positiva sobre a incidência das miopatias peitorais através da diminuição do estresse oxidativo. Uma vez que, a nível molecular, estudos de expressão gênica e metabolômica confirmam que essa seria a principal característica que desencadearia o acometimento pelas miopatias peitorais (Abasht et al., 2016; Clark & Velleman, 2016; Papah et al., 2018).

Segundo essa linha de raciocínio, observa-se que a utilização de polifenóis e flavonóides na dieta influenciou de forma positiva o potencial antioxidante plasma, músculo e fígado dos frangos avaliados pelo método de inibição de DPPH (Figura 5). O radical DPPH é considerado um bom indicador para mensuração de potencial antioxidante amplamente utilizado nos mais diversos tecidos e substâncias, como extratos vegetais, compostos

químicos e alimentos (Nwachukwu et al., 2021), sendo utilizado para medir a capacidade de neutralização dos radicais livres, fortemente associados ao envelhecimento celular e causar danos aos tecidos ocasionados pelo estresse oxidativo (Baliyan et al., 2022).

Dessa forma, observamos que no plasma, houve maior capacidade antioxidante quando comparados aos demais tecidos. O composto fenólico possui forte capacidade antioxidante, que está relacionado a presença de um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxila, que podem se combinar com radicais livres para formar radicais fenoxilas. Esta estrutura é a responsável por conferir as propriedades antioxidantes (Sieniawska, 2015; Hoyos-Martinez et al., 2019; Liu et al., 2023). Nesse sentido, o blend de polifenóis também pode mitigar a oxidação lipídica ao inibir a formação de espécies reativas de oxigênio e quelantes de íons metálicos que catalisam as reações de oxidação (Zeng et al., 2019). Esta ação antioxidante ajuda a preservar a qualidade e a estabilidade dos alimentos ricos em lipídios.

Outro fator que corrobora com os achados da curva de crescimento e incidência das miopatias, é a morfometria do tecido muscular peitoral, que nos mostra que quanto maior o nível de inclusão do blend menor é a área das fibras, compensando o menor calibre das fibras musculares e com um maior número. Estes resultados justificam o motivo de não haver prejuízos no ganho de peso do animal e rendimento de carcaça e cortes em aves com 42 dias ao abate e mesmo assim, as aves desenvolveram músculos peitorais acometidos por escores menos severos de *Wooden breast*. Tais achados são justificados pela ação mioprotetora dos compostos oriundos da hidrólise dos compostos previamente descritas.

Logo, os fatores apresentados até aqui, podem estar correlacionados com a forma de desenvolvimento do músculo peitoral frente a melhora do nível de maciez da carne e diminuição da perda de peso por cozimento, ou seja, os filés com menores severidade de *Wooden breast* deram origem a carne mais macia no presente estudo. Uma diminuição

significativa no conteúdo de proteína e um aumento no colágeno em músculos acometidos pela miopatia do peito amadeirado têm sido amplamente relatados, e essas mudanças estão provavelmente relacionadas à miodegeneração progressiva, deposição de tecido conjuntivo intersticial e fibrose (Sihvo et al., 2014; Soglia et al., 2016; Baldi et al., 2019; Li et al., 2023). Esse achado corrobora com vários estudos que mostraram que *Wooden breast* severo resulta em aumento dureza da carne, perda de gotejamento e também aumento da perda de umidade no cozimento de produtos cárneos (Chatterjee et al., 2016; Tijare et al., 2016; Kuttappan et al., 2017; Brambila et al., 2018). Além disso, fibras musculares relativamente grandes são responsáveis pela textura grosseira e indesejável na carne cortada transversalmente (Joo et al., 2013).

Em tratando-se da qualidade do produto oriundos dos frangos estão também incluídos os ácidos graxos, visto que a utilização de aditivos alimentares naturais altera o perfil lipídico da gordura intramuscular (Jachimowicz et al., 2022) e pode impactar diretamente na qualidade da carne e nas propriedades organolépticas. A administração de taninos já demonstrou modificar a composição lipídica dos produtos de origem animal (Minieri et al., 2016; Liu et al., 2020). A análise de nosso estudo demonstrou impacto em ácidos graxos específicos, como palmitoleico (C16:1), α -linolênico (C18:3), linolêico conjugado (C18:2) e dihomog γ -linolênico (C20:3), além da diminuição das concentrações de ácidos graxos do tipo ômega 3, conforme houve o aumento dos níveis de inclusão do blend de polifenóis (Tabela 7). Tais variações podem estar relacionadas com a interação entre os processos metabólicos envolvidos na síntese desses ácidos graxos e os compostos do extrato e sua capacidade de absorção dos lipídios da dieta. Entretanto, a redução dos ácidos graxos ômega-3 pode promover maior tempo de vida de prateleira dos produtos cárneos em função da redução dos ácidos de cadeia longa. Esses dados indicam que estudos sobre as vias metabólicas podem elucidar a ação desses compostos sobre o organismo animal.

Foi demonstrado que os taninos e flavonóides influenciam o metabolismo lipídico de várias maneiras, como por exemplo, os taninos reduzem a absorção lipídica no intestino através da formação de complexos tanino-lipídio (Furlan et al., 2015), alterando as propriedades físicas dos lipídios e afetando potencialmente sua biodisponibilidade e funcionalidade. O efeito hipotrigliceridêmico das proantocianidinas encontradas na madeira do castanheiro, estão relacionadas com a absorção reduzida dos lipídios pelos enterócitos, acarretando ao aumento da excreção fecal de colesterol (Tebib et al., 1994). Além disso, podem modular o metabolismo lipídico alterando a expressão gênica e a atividade enzimática envolvida na lipogênese, lipólise e síntese de colesterol (Fang et al., 2022; Molino et al., 2023).

Outra hipótese é que os compostos bioativos liberados na hidrólise dos polifenóis podem influenciar diretamente a microbiota intestinal e, correspondentemente, a microbiota intestinal pode modular direta ou indiretamente a absorção, a biodisponibilidade e a biotransformação dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) ômega-3 (Druart et al., 2015). Algumas espécies microbianas, como *Bacillus proteus* ou *Lactobacillus plantarum*, convertem os precursores de PUFA α -linolênico (18:3n-3) em linoleico conjugado (C18:2) que são então posteriormente hidrogenados a ácidos graxos saturados (ácido esteárico, C18:0), reduzindo assim a composição de PUFAs ômega 3 (Blanchard et al., 2013).

CONCLUSÃO

O blend de polifenóis Silvafeed® ATX diminuiu a incidência da miopatia *Wooden breast* aos 21 e 42 dias de idade, provavelmente pela sua ação antioxidante a nível sistêmico comprovado pelo potencial antioxidante avaliados nos diferentes tecidos, além da modulação no crescimento do tecido muscular do peito em resultado da ação dos metabólitos da hidrólise do ácido elágico presente no composto. A suplementação promoveu melhora do desempenho

(consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar) dos animais nas diferentes fases produtivas com melhor índice de eficiência produtiva para a dose de 514 g/ton do extrato aos 42 dias de idade, além de promover a melhora na maciez da carne ao final do período.

Financiamento

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) - Código Financeiro 001.

REFERENCIAS

- Abasht, B., Mutryn, M. F., Michalek, R. D., & Lee, W. R. (2016). Oxidative stress and metabolic perturbations in wooden breast disorder in chickens. *PloS one*, 11(4), e0153750.
- Abasht, B., Mutryn, M. F., Michalek, R. D., & Lee, W. R. (2016). Oxidative stress and metabolic perturbations in wooden breast disorder in chickens. *PloS one*, 11(4), e0153750.
- Abdel-Moneim, A. M. E., Shehata, A. M., Alzahrani, S. O., Shafi, M. E., Mesalam, N. M., Taha, A. E., ... & Abd El-Hack, M. E. (2020). The role of polyphenols in poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1851-1866.
- Batiha, G. E. S., Magdy Beshbishy, A., Wasef, L., Elewa, Y. H., Abd El-Hack, M. E., Taha, A. E., ... & Tufarelli, V. (2020). *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC.: A review on chemical constituents and biological activities. *Applied Sciences*, 10(8), 2668.
- Badal, V. D., Vaccariello, E. D., Murray, E. R., Yu, K. E., Knight, R., Jeste, D. V., & Nguyen, T. T. (2020). The gut microbiome, aging, and longevity: a systematic review. *Nutrients*, 12(12), 3759.
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326.
- Biagi, E., Franceschi, C., Rampelli, S., Severgnini, M., Ostan, R., Turrone, S., ... & Candela, M. (2016). Gut microbiota and extreme longevity. *Current Biology*, 26(11), 1480-1485.
- Blanchard, H., Pédrone, F., Boulier-Monthéan, N., Catheline, D., Rioux, V., & Legrand, P. (2013). Comparative effects of well-balanced diets enriched in α -linolenic or linoleic acids on LC-PUFA metabolism in rat tissues. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 88(5), 383-389.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.
- Boerboom, G., van Kempen, T., Navarro-Villa, A., & Pérez-Bonilla, A. (2018). Unraveling the cause of white striping in broilers using metabolomics. *Poultry Science*, 97(11), 3977-3986.
- Brambila, G. S., Bowker, B. C., Chatterjee, D., & Zhuang, H. (2018). Descriptive texture analyses of broiler breast fillets with the wooden breast condition stored at 4 C and -20 C. *Poultry science*, 97(5), 1762-1767.
- Bressa, C., Bailén-Andrino, M., Pérez-Santiago, J., González-Soltero, R., Pérez, M., Montalvo-Lominchar, M. G., ... & Larrosa, M. (2017). Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women. *PloS one*, 12(2), e0171352.
- Castilho, V. A. R. D., Komiyama, C. M., Burbarelli, M. F. C., Fernandes, A. R. M., Garcia, R. G., Barbosa, D. K., ... & Leonardo, R. L. (2021). Techniques for in vivo assessment of myopathies in broiler chicken breasts using a biopsy as a support tool. *Avian Pathology*, 50(6), 477-489.

- Castilho, V. A. R., Komiyama, C. M., Burbarelli, M. F. C., Fernandes, A. M., Garcia, R. G., Seno, L. O., ... & Serpa, F. C. (2022). Precision technologies for predictive diagnosis and study of the allometric growth of broiler chickens with breast myopathies. *British Poultry Science*, 64(2), 204-213.
- Cengiz, Ö., Köksal, B. H., Tatlı, O., Sevim, Ö., Ahsan, U., Bilgili, S. F., & Önoğlu, A. G. (2017). Effect of dietary tannic acid supplementation in corn-or barley-based diets on growth performance, intestinal viscosity, litter quality, and incidence and severity of footpad dermatitis in broiler chickens. *Livestock Science*, 202, 52-57.
- Chatterjee, D., Zhuang, H., Bowker, B. C., Sanchez-Brambila, G., & Rincon, A. M. (2016). Instrumental texture characteristics of broiler pectoralis major with the wooden breast condition. *Poultry science*, 95(10), 2449-2454.
- Chen, P., Chen, F., Lei, J., & Zhou, B. (2021). Gut microbial metabolite urolithin B attenuates intestinal immunity function in vivo in aging mice and in vitro in HT29 cells by regulating oxidative stress and inflammatory signalling. *Food & function*, 12(23), 11938-11955.
- Choi, J., & Kim, W. K. (2020). Dietary application of tannins as a potential mitigation strategy for current challenges in poultry production: A review. *Animals*, 10(12), 2389.
- Choi, J., Liu, G., Goo, D., Wang, J., Bowker, B., Zhuang, H., & Kim, W. K. (2022). Effects of tannic acid supplementation on growth performance, gut health, and meat production and quality of broiler chickens raised in floor pens for 42 days. *Frontiers in Physiology*, 13, 2661.
- Cione, E., La Torre, C., Cannataro, R., Caroleo, M. C., Plastina, P., & Gallelli, L. (2019). Quercetin, epigallocatechin gallate, curcumin, and resveratrol: from dietary sources to human microRNA modulation. *Molecules*, 25(1), 63.
- Cires, M. J., Wong, X., Carrasco-Pozo, C., & Gotteland, M. (2017). The gastrointestinal tract as a key target organ for the health-promoting effects of dietary proanthocyanidins. *Frontiers in nutrition*, 3, 57.
- Clark, D. L., & Velleman, S. G. (2016). Spatial influence on breast muscle morphological structure, myofiber size, and gene expression associated with the wooden breast myopathy in broilers. *Poultry Science*, 95(12), 2930-2945.
- Cohen, T. V., Many, G. M., Fleming, B. D., Gnocchi, V. F., Ghimbovschi, S., Mosser, D. M., ... & Partridge, T. A. (2015). Upregulated IL-1 β in dysferlin-deficient muscle attenuates regeneration by blunting the response to pro-inflammatory macrophages. *Skeletal muscle*, 5(1), 1-21.
- Coletti, D., Moresi, V., Adamo, S., Molinaro, M., & Sassoon, D. (2005). Tumor necrosis factor- α gene transfer induces cachexia and inhibits muscle regeneration. *Genesis*, 43(3), 120-128.
- Cruz, R. F. A., Vieira, S. L., Kindlein, L., Kipper, M., Cemin, H. S., & Rauber, S. M. (2017). Occurrence of white striping and wooden breast in broilers fed grower and finisher diets with increasing lysine levels. *Poultry Science*, 96(2), 501-510.
- D'Amico, D., Andreux, P. A., Valdés, P., Singh, A., Rinsch, C., & Auwerx, J. (2021). Impact of the natural compound urolithin A on health, disease, and aging. *Trends in molecular medicine*, 27(7), 687-699.

- Daglia, M., Di Lorenzo, A., F Nabavi, S., S Talas, Z., & M Nabavi, S. (2014). Polyphenols: well beyond the antioxidant capacity: gallic acid and related compounds as neuroprotective agents: you are what you eat!. *Current pharmaceutical biotechnology*, 15(4), 362-372.
- Druart, C., Bindels, L. B., Schmaltz, R., Neyrinck, A. M., Cani, P. D., Walter, J., ... & Delzenne, N. M. (2015). Ability of the gut microbiota to produce PUFA-derived bacterial metabolites: Proof of concept in germ-free versus conventionalized mice. *Molecular nutrition & food research*, 59(8), 1603-1613.
- Espín, J. C., González-Barrio, R., Cerdá, B., López-Bote, C., Rey, A. I., & Tomás-Barberán, F. A. (2007). Iberian pig as a model to clarify obscure points in the bioavailability and metabolism of ellagitannins in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10476-10485.
- Estevez, M., & Petracci, M. (2019). Benefits of magnesium supplementation to broiler subjected to dietary and heat stress: improved redox status, breast quality and decreased myopathy incidence. *Antioxidants*, 8(10), 456.
- Fang, J., Zeng, L., He, Y., Liu, X., Zhang, T., & Wang, Q. (2022). Effects of dietary tannic acid on obesity and gut microbiota in C57BL/6J mice fed with high-fat diet. *Foods*, 11(21), 3325.
- Furlan, A. L., Jobin, M. L., Pianet, I., Dufourc, E. J., & Géan, J. (2015). Flavanol/lipid interaction: a novel molecular perspective in the description of wine astringency & bitterness and antioxidant action. *Tetrahedron*, 71(20), 3143-3147.
- Galano, A., Francisco Marquez, M., & Pérez-González, A. (2014). Ellagic acid: an unusually versatile protector against oxidative stress. *Chemical research in toxicology*, 27(5), 904-918.
- García-Villalba, R., Giménez-Bastida, J. A., Cortés-Martín, A., Ávila-Gálvez, M. Á., Tomás-Barberán, F. A., Selma, M. V., ... & González-Sarriás, A. (2022). Urolithins: a comprehensive update on their metabolism, bioactivity, and associated gut microbiota. *Molecular nutrition & food research*, 66(21), 2101019.
- Gontijo, A. V., G Sampaio, A. D., Koga-Ito, C. Y., & Salvador, M. J. (2019). Biopharmaceutical and antifungal properties of ellagic acid-cyclodextrin using an in vitro model of invasive candidiasis. *Future microbiology*, 14(11), 957-967.
- Gouveia, H. J., Urquiza-Martínez, M. V., Manhães-de-Castro, R., Costa-de-Santana, B. J., Villarreal, J. P., Mercado-Camargo, R., ... & Guzmán-Quevedo, O. (2022). Effects of the treatment with flavonoids on metabolic syndrome components in humans: A systematic review focusing on mechanisms of action. *International journal of molecular sciences*, 23(15), 8344.
- Hamm, R. 1960. Biochemistry of meat hydration. *Advances in Food Research*, [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60141-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60141-X)
- Honikel, K. O. 1987. Influence of chilling on meat quality attributes of fast glycolysing pork muscles. Evaluation and control of meat quality in pigs, https://doi.org/10.1007/978-94-009-3301-9_21

- Hoyos-Martínez, P. L., Merle, J., Labidi, J., & Charrier-El Bouhtoury, F. (2019). Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *Journal of Cleaner Production*, 206, 1138-1155.
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016). Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Huxley, J. (1993). Problems of relative growth. *Foundations of Natural History*, 276-21.
- Jachimowicz, K., Winiarska-Mieczan, A., & Tomaszewska, E. (2022). The impact of herbal additives for poultry feed on the fatty acid profile of meat. *Animals*, 12(9), 1054.
- Jamroz, D., Wiliczekiewicz, A., Skorupińska, J., Orda, J., Kuryszko, J., & Tschirch, H. (2009). Effect of sweet chestnut tannin (SCT) on the performance, microbial status of intestine and histological characteristics of intestine wall in chickens. *British poultry science*, 50(6), 687-699.
- Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat science*, 95(4), 828-836.
- Karakurt, S., Semiz, A., Celik, G., Gencler-Ozkan, A. M., Sen, A., & Adali, O. (2016). Contribution of ellagic acid on the antioxidant potential of medicinal plant *Epilobium hirsutum*. *Nutrition and cancer*, 68(1), 173-183.
- Komiyama, C. M., Mendes, A. A., Takahashi, S. E., Moreira, J., Borba, H. B. A., Leonel, F. R., ... & Balog Neto, A. (2009). Qualitative characteristics of products produced with pale and normal broiler chicken meat. *Food Science and Technology*, 29, 38-45.
- Kubena, L. F., Byrd, J. A., Young, C. R., & Corrier, D. E. (2001). Effects of tannic acid on cecal volatile fatty acids and susceptibility to *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks. *Poultry Science*, 80(9), 1293-1298.
- Kumaran, A. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food chemistry*, 97(1), 109-114.
- Kuttappan, V. A., Brewer, V. B., Apple, J. K., Waldroup, P. W., & Owens, C. M. (2012). Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poultry Science*, 91(10), 2677-2685.
- Kuttappan, V. A., Hargis, B. M., & Owens, C. M. (2016). White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: a review. *Poultry Science*, 95(11), 2724-2733.
- Kuttappan, V. A., Owens, C. M., Coon, C., Hargis, B. M., & Vazquez-Anon, M. (2017). Incidence of broiler breast myopathies at 2 different ages and its impact on selected raw meat quality parameters. *Poultry Science*, 96(8), 3005-3009.
- Kuttappan, V. A., Shivaprasad, H. L., Shaw, D. P., Valentine, B. A., Hargis, B. M., Clark, F. D., ... & Owens, C. M. (2013). Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. *Poultry Science*, 92(2), 331-338.
- Lamy, E., Pinheiro, C., Rodrigues, L., Capela-Silva, F., Lopes, O., Tavares, S., & Gaspar, R. (2016). Determinants of tannin-rich food and beverage consumption: oral perception vs. psychosocial aspects.

- Landete, J. M. (2013). Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(7), 706-721.
- Lipiński, K., Mazur, M., Antoszkiewicz, Z., & Purwin, C. (2017). Polyphenols in monogastric nutrition—a review. *Annals of Animal Science*, 17(1), 41-58.
- Liu, H. S., Mahfuz, S. U., Wu, D., Shang, Q. H., & Piao, X. S. (2020). Effect of chestnut wood extract on performance, meat quality, antioxidant status, immune function, and cholesterol metabolism in broilers. *Poultry science*, 99(9), 4488-4495.
- Liu, S., D'Amico, D., Shankland, E., Bhayana, S., Garcia, J. M., Aebischer, P., ... & Marcinek, D. J. (2022). Effect of urolithin A supplementation on muscle endurance and mitochondrial health in older adults: a randomized clinical trial. *JAMA network open*, 5(1), e2144279-e2144279.
- Liu, S., Wang, K., Lin, S., Zhang, Z., Cheng, M., Hu, S., ... & Si, H. (2023). Comparison of the Effects between Tannins Extracted from Different Natural Plants on Growth Performance, Antioxidant Capacity, Immunity, and Intestinal Flora of Broiler Chickens. *Antioxidants*, 12(2), 441.
- Liu, S., Wang, K., Lin, S., Zhang, Z., Cheng, M., Hu, S., ... & Si, H. (2023). Comparison of the Effects between Tannins Extracted from Different Natural Plants on Growth Performance, Antioxidant Capacity, Immunity, and Intestinal Flora of Broiler Chickens. *Antioxidants*, 12(2), 441.
- Lou, W., Chen, Y., Ma, H., Liang, G., & Liu, B. (2018). Antioxidant and α -amylase inhibitory activities of tannic acid. *Journal of food science and technology*, 55, 3640-3646.
- Luca, S. V., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Skalicka-Woźniak, K., Aprotosoiaie, A. C., & Trifan, A. (2020). Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(4), 626-659.
- Maia, E. L., & Rodriguez-Amaya, D. B. (1993). Evaluation of a simple and inexpensive method for the methylation of fatty acid with lipids of various fish species. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 53(2).
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- Mašek, T., Starčević, K., & Mikulec, Ž. (2014). The influence of the addition of thymol, tannic acid or gallic acid to broiler diet on growth performance, serum malondialdehyde value and cecal fermentation. *European Poultry Science/Archiv für Geflügelkunde*, 78.
- Minieri, S., Buccioni, A., Serra, A., Galigani, I., Pezzati, A., Rapaccini, S., & Antongiovanni, M. (2016). Nutritional characteristics and quality of eggs from laying hens fed on a diet supplemented with chestnut tannin extract (*Castanea sativa* Miller). *British poultry science*, 57(6), 824-832.
- Molino, S., Francino, M. P., & Henares, J. Á. R. (2023). Why is it important to understand the nature and chemistry of tannins to exploit their potential as nutraceuticals? *Food Research International*, 113329.

- Monteiro, J. M., Albuquerque, U. P. D., Araújo, E. D. L., & Amorim, E. L. C. D. (2005). Tannis: from chemistry to ecology. *Química Nova*, 28, 892-896.
- Mudalal, S., Babini, E., Cavani, C., & Petracci, M. (2014). Quantity and functionality of protein fractions in chicken breast fillets affected by white striping. *Poultry science*, 93(8), 2108-2116.
- Nelder, J. A., & Wedderburn, R. W. (1972). Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society: Series A (General)*, 135(3), 370-384.
- Nikawa, T., Ulla, A., & Sakakibara, I. (2021). Polyphenols and their effects on muscle atrophy and muscle health. *Molecules*, 26(16), 4887.
- Nwachukwu, I. D., Sarteshnizi, R. A., Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. (2021). A concise review of current in vitro chemical and cell-based antioxidant assay methods. *Molecules*, 26(16), 4865.
- Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tannins of constant structure in medicinal and food plants—hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules*, 16(3), 2191-2217.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47.
- Papah, M. B., Brannick, E. M., Schmidt, C. J., & Abasht, B. (2017). Evidence and role of phlebitis and lipid infiltration in the onset and pathogenesis of Wooden Breast Disease in modern broiler chickens. *Avian Pathology*, 46(6), 623-643.
- Papah, M. B., Brannick, E. M., Schmidt, C. J., & Abasht, B. (2018). Gene expression profiling of the early pathogenesis of wooden breast disease in commercial broiler chickens using RNA-sequencing. *PLoS One*, 13(12), e0207346.
- Papah, M. B., Brannick, E. M., Schmidt, C. J., & Abasht, B. (2018). Gene expression profiling of the early pathogenesis of wooden breast disease in commercial broiler chickens using RNA-sequencing. *PLoS One*, 13(12), e0207346.
- Parisi, F., Mancini, S., Mazzei, M., Forzan, M., Turchi, B., Perrucci, S., ... & Paci, G. (2018). Effect of dietary supplementation of a mix of chestnut and quebracho tannins on intestinal morphology, bacterial load, *Eimeria* spp oocyst excretion and immune response after vaccination in rabbits. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 13(3), 94-103.
- Pasch, H., Pizzi, A., & Rode, K. (2001). MALDI-TOF mass spectrometry of polyflavonoid tannins. *Polymer*, 42(18), 7531-7539.
- Petracci, M., Soglia, F., Madruga, M., Carvalho, L., Ida, E., & Estévez, M. (2019). Wooden-breast, white striping, and spaghetti meat: causes, consequences and consumer perception of emerging broiler meat abnormalities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 565-583.
- Puiggròs, F., Llópiz, N., Ardévol, A., Bladé, C., Arola, L., & Salvadó, M. J. (2005). Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(15), 6080-6086.

- Ramah, A., Yasuda, M., Ohashi, Y., Urakawa, M., Kida, T., Yanagita, T., ... & El-Shewy, E. A. (2020). Different doses of tannin reflect a double-edged impact on broiler chicken immunity. *Veterinary immunology and immunopathology*, 220, 109991.
- Rasmussen, A. J., & Andersson, M. (1996). New method for determination of drip loss in pork muscles. In *Proceedings 42nd international congress of meat science and technology*, Lillehammer (pp. 286–287), 1–6.
- Ricci, A., Lagel, M. C., Parpinello, G. P., Pizzi, A., Kilmartin, P. A., & Versari, A. (2016). Spectroscopy analysis of phenolic and sugar patterns in a food grade chestnut tannin. *Food Chemistry*, 203, 425-429.
- Rodriguez, J., Caille, O., Ferreira, D., & Francaux, M. (2017b). Pomegranate extract prevents skeletal muscle of mice against wasting induced by acute TNF- α injection. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(4), 1600169.
- Rodriguez, J., Pierre, N., Naslain, D., Bontemps, F., Ferreira, D., Priem, F., ... & Francaux, M. (2017a). Urolithin B, a newly identified regulator of skeletal muscle mass. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 8(4), 583-597.
- Rostagno, H. S.; Albino, L. F. T.; Hannas, M. I.; Donzele, J. L.; Sakomura, N. K.; Perazzo, F. G.; Saraiva, A.; Teixeira, M. L.; Rodrigues, P.B.; Oliveira, R.F.; Barreto, S.L.T.; Brito, C. O.. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos. 4ª edição, Viçosa, MG: UFV, 488 p., 2017.
- Santos, F. A., Komiyama, C. M., Castilho Heiss, V. A., Burbarelli, M. F., Garcia, R. G., Barbosa, D. K., ... & de Sena Gandra, E. R. (2023). Allometric coefficient in broilers and development of white striping and wooden breast myopathies. *Czech Journal of Animal Science*, 68(5).
- Seeram, N. P., Lee, R., & Heber, D. (2004). Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. *Clinica chimica acta*, 348(1-2), 63-68.
- Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., & Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular nutrition & food research*, 53(S2), S310-S329.
- Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Castillo, C. M. S., Caroca, R., Lazo-Vélez, M. A., Antonyak, H., ... & Cho, W. C. (2022). Ellagic acid: A review on its natural sources, chemical stability, and therapeutic potential. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022.
- Si, H., Lai, C. Q., & Liu, D. (2021). Dietary epicatechin, a novel anti-aging bioactive small molecule. *Current Medicinal Chemistry*, 28(1), 3-18.
- Sieniawska, E. (2015). Activities of tannins—From in vitro studies to clinical trials. *Natural Product Communications*, 10(11), 1934578X1501001118.
- Sihvo HK, Immonen K, Puolanne E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. *Veterinary Pathology*. 2014; (51): 619–623.
- Sihvo, H. K., Airas, N., Lindén, J., & Puolanne, E. (2018). Pectoral vessel density and early ultrastructural changes in broiler chicken wooden breast myopathy. *Journal of comparative pathology*, 161, 1-10.

- Sihvo, H. K., Lindén, J., Airas, N., Immonen, K., Valaja, J., & Puolanne, E. (2017). Wooden breast myodegeneration of pectoralis major muscle over the growth period in broilers. *Veterinary Pathology*, 54(1), 119-128.
- Singh, A., D'Amico, D., Andreux, P. A., Fouassier, A. M., Blanco-Bose, W., Evans, M., ... & Rinsch, C. (2022). Urolithin A improves muscle strength, exercise performance, and biomarkers of mitochondrial health in a randomized trial in middle-aged adults. *Cell Reports Medicine*, 3(5).
- Soglia, F., Mudalal, S., Babini, E., Di Nunzio, M., Mazzoni, M., Sirri, F., ... & Petracci, M. (2016). Histology, composition, and quality traits of chicken Pectoralis major muscle affected by wooden breast abnormality. *Poultry Science*, 95(3), 651-659.
- Starčević, K., Krstulović, L., Brozić, D., Maurić, M., Stojević, Z., Mikulec, Ž., ... & Mašek, T. (2015). Production performance, meat composition and oxidative susceptibility in broiler chicken fed with different phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6), 1172-1178.
- Surai, P. F. (2014). Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 98(1), 19-31.
- Tebib, K., Bitri, L., Besançon, P., & Rouanet, J. M. (1994). Polymeric grape seed tannins prevent plasma cholesterol changes in high-cholesterol-fed rats. *Food Chemistry*, 49(4), 403-406.
- Ticinesi, A., Nouvenne, A., Cerundolo, N., Parise, A., & Meschi, T. (2023). Accounting Gut Microbiota as the Mediator of Beneficial Effects of Dietary (Poly) phenols on Skeletal Muscle in Aging. *Nutrients*, 15(10), 2367.
- Ticinesi, A., Nouvenne, A., Cerundolo, N., Parise, A., & Meschi, T. (2023). Accounting Gut Microbiota as the Mediator of Beneficial Effects of Dietary (Poly) phenols on Skeletal Muscle in Aging. *Nutrients*, 15(10), 2367.
- Tijare, V. V., Yang, F. L., Kuttappan, V. A., Alvarado, C. Z., Coon, C. N., & Owens, C. M. (2016). Meat quality of broiler breast fillets with white striping and woody breast muscle myopathies. *Poultry Science*, 95(9), 2167-2173.
- Van Laack, R. L. J. M., Liu, C. H., Smith, M. O., & Loveday, H. D. (2000). Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poultry Science*, 79(7), 1057-1061.
- Velleman, S. G. (2015). Relationship of skeletal muscle development and growth to breast muscle myopathies: a review. *Avian Diseases*, 59(4), 525-531.
- Xing, T., Pan, X., Zhang, L., & Gao, F. (2021). Hepatic oxidative stress, apoptosis, and inflammation in broiler chickens with wooden breast myopathy. *Frontiers in physiology*, 12, 659777.
- Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., & Li, F. (2020). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition*, 6(2), 115-123.
- Zeng, X., Du, Z., Sheng, Z., & Jiang, W. (2019). Characterization of the interactions between banana condensed tannins and biologically important metal ions (Cu²⁺, Zn²⁺ and Fe²⁺). *Food Research International*, 123, 518-528.

Zhou, Y., Mao, S., & Zhou, M. (2019). Effect of the flavonoid baicalein as a feed additive on the growth performance, immunity, and antioxidant capacity of broiler chickens. *Poultry science*, 98(7), 2790-2799.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo envolveu o estudo das miopatias emergentes com a finalidade de determinar o coeficiente alométrico do crescimento das partes do corpo e estabelecer ferramentas não invasivas para o diagnóstico *in vivo* das miopatias e aplicar estratégias para mitigar o surgimento e desenvolvimento das miopatias *White striping* e *Wooden breast*. Essa pesquisa contribui para o meio científico de forma a aumentar as alternativas de ferramentas, técnicas e estratégias que possam ser adotadas com o propósito de avaliar a ocorrência das miopatias em frangos de corte, bem como auxiliar em seu entendimento sobre a etiologia e estratégias de mitigação.

A ultrassonografia e a termografia infravermelha demonstraram ser ferramentas preditivas promissoras. Contudo, mais arranjos sobre a funcionalidade e fatores que afetam a sua acurácia devem ser levados em consideração. Por exemplo, um transdutor com maior frequência do que o utilizado nesse estudo pode revelar mais informações sobre o desenvolvimento muscular nesse caso. Além disso, pode-se verificar que o crescimento alométrico das diferentes partes do corpo dos frangos acometidos ou não pelas miopatias apresentam comportamento de crescimento e desenvolvimento fisiológicos já estabelecidos no estudo da ciência animal.

O produto utilizado pode ser utilizado de forma versátil, sendo adicionados como pré-misturas ou diretamente na ração, bem como na ração peletizada, conforme já vem sendo suplementado na dieta de diferentes espécies animais exercendo influência antioxidante. Dessa forma, estabelecemos níveis adequados de inclusão de extratos vegetais a base de taninos hidrolisáveis (Silvafeed® ATX, SilvaTeam, San Michele Mondovì CN – Italia) em dietas de frangos de corte com o objetivo de inibir ou diminuir a incidência dos graus de acometimento das miopatias peitorais *Wooden breast* e *White striping*.

A utilização de taninos hidrolisáveis demonstrou ser de grande interesse para a cadeia produtiva, pois melhorou o desempenho dos frangos de corte, promoveu a maciez da carne, melhorou o perfil antioxidante a nível sistêmico, contudo, sua dose deve ser utilizada com cautela para não prejudicar os parâmetros de desempenho. Sobretudo, os taninos hidrolisáveis diminuem a incidência de graus mais severos da miopatia *Wooden breast*, podendo contribuir para a queda na condenação de carcaças realizadas pela indústria quando animais são acometidos em graus mais severos causando aspecto repugnante. Apesar de ser um produto com ênfase na melhora da qualidade dos produtos e no desempenho dos animais de criação, possui grande potencial de ser aplicado com o objetivo de mitigação da miopatia de peito amadeirado.

Para melhor entendimento sobre as vias metabólicas relacionadas aos compostos bioativos presentes no tanino hidrolisável da Castanheira é necessário estudo mais aprofundado acerca de sua

influência no microbioma intestinal, e deixar claro como o microbioma pode influenciar nos processos digestivos e absorptivos dessas substâncias. Indo mais além, torna-se fundamental o estudo sobre as vias metabólicas nos diferentes tecidos pela análise metabolômica e como essas vias podem ser modificadas e/ou influenciadas pelos compostos bioativos, esclarecendo diretamente como essas substâncias modificam o perfil de crescimento do tecido muscular que impactou na diminuição de escores severos de peito amadeirado.

As excelentes respostas obtidas nesse estudo indagam novos questionamentos e novas hipóteses. Como por exemplo, qual a ação desses compostos quando utilizados em dosagens ajustadas na formulação de rações para melhorar não apenas a utilização da dieta, mas também melhorar o estado de saúde e a resistência ao estresse devido a sua contribuição para melhoria da saúde intestinal. E se pode, potencialmente, trazer efeitos benéficos ao bem-estar animal através da nutrição da mucosa intestinal, visto que essa biomodulação tem efeitos sobre os neurotransmissores, como a serotonina, por ser produzida em até 90% por células do epitélio intestinal. Ou seja, além de aumentar a eficiência produtiva pode, conseqüentemente, melhorar os parâmetros de sustentabilidade da criação de frangos de corte. Tal parâmetro pode ser medido através do estudo da ecoeficiência que alinha o desempenho econômico com o desenvolvimento sustentável através da mensuração de possíveis impactos ambientais por meio da ferramenta de análise do ciclo de vida.

Observa-se que a promoção da saúde intestinal e equilíbrio do estado redox promovido por esses compostos determina em grande parte a saúde das aves, mas também influencia no ambiente em que os animais estão alocados e vice-versa, impactando no bem-estar, produção dos animais e sobretudo no que é dissipado para o meio ambiente. Com base nisso, destacamos a inter-relação do bem-estar dos animais de produção, produtividade, sustentabilidade e a suplementação antioxidante como estratégia nutricional promissora.