

INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO *BOS INDICUS* NA ATIVIDADE DE CALPASTATINA E NA TEXTURA DA CARNE DE NOVILHOS ABATIDOS NO SUL DO BRASIL¹

RUBENSAM, Jane M.², FELÍCIO, Pedro E. de³ & TERMIGNONI, Carlos⁴

RESUMO

Amostras de contrafilé (músculo *L. dorsi*) provenientes de 26 bovinos, sendo 14 Polled Hereford (HH), sete 3/4Hereford 1/4Nelore (3/4H1/4N) e cinco 5/8Hereford 3/8Nelore (5/8H3/8N), machos castrados, abatidos aos dois anos de idade, foram coletadas 24 h após o abate e analisadas quanto à atividade de calpastatina e textura, tanto no 1º dia *post mortem* quanto após um período de maturação de 10 dias a 2º C. A atividade de calpastatina foi determinada pelo ensaio de inibição da m-calpaína e a textura através da força de cisalhamento (Warner-Bratzler). A carne de novilhos 5/8H3/8N apresentou, no 1º dia, maiores ($p < 0,05$) atividade de calpastatina e força de cisalhamento do que a carne de novilhos HH e 3/4H1/4N. Não foram detectadas diferenças ($p > 0,05$) entre os grupos HH e 3/4H1/4N para as mesmas características. Após 10 dias, houve uma diferença na atividade de calpastatina, porém não significativa ($p > 0,05$), entre o grupo 5/8H3/8N (1,57U/g) e os demais (HH=1,23U/g; 3/4H1/4N=1,35U/g), e diferença significativa entre os grupos HH e 5/8H3/8N para força de cisalhamento (3,67 e 5,00kg, respectivamente). Conclui-se que a atividade de calpastatina determinada 24 h *post mortem* pode ser útil para a previsão da textura da carne, maturada ou não, em programas de melhoramento genético, e que a participação crescente do genótipo *Bos indicus* nos rebanhos da Região Sul, a par das conhecidas vantagens zootécnicas, poderá resultar em carne de pior textura.

Palavras-chave: carne bovina, *Bos indicus*, cruzamentos, textura, calpastatina

Referência::

RUBENSAM, J.M.; FELÍCIO, P.E. de; TERMIGNONI, C. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas SP, v.18, n.4, p.405-409, 1998.

¹ Parte da tese de doutorado da primeira autora, na FEA-Unicamp.

² Professora adjunta da UFRGS e bolsista PICD-CAPES no período de 1993-95.

³ FEA-Unicamp, Depto. de Tecnologia de Alimentos, CP 6121, 13.083-970 Campinas SP.

⁴ UFRGS – Inst. de Biociências, Depto de Bioquímica e Centro de Biotecnologia, Porto Alegre RS.

SUMMARY

EFFECTS OF THE BOS INDICUS GENOTYPE ON CALPASTATIN ACTIVITY AND TEXTURE OF BEEF FROM STEERS SLAUGHTERED IN THE SOUTH OF BRAZIL. Boneless rib steaks (*L. dorsi* muscle) from 26 two years old steers, 14 Polled Hereford, seven 3/4Hereford 1/4Nelore (3/4H1/4N) and five 5/8Hereford 3/8Nelore (5/8H3/8N), were collected 24 hs after slaughter and analysed for calpastatin activity and texture at the 1st day *post mortem* and at the 10th day of aging at 2° C. Calpastatin activity was determined by m-calpain inhibition assay and texture by shear force (Warner-Bratzler). Beef from 5/8H3/8N steers showed higher ($p<0.05$) calpastatin activity and shear force values than beef from HH and 3/4H1/4N steers in the 1st day. No differences ($p>0.05$) were detected in the same traits between groups HH and 3/4H1/4N. After 10 days of aging, there was a difference in calpastatin activity, although non-significant ($p>0.05$), amongst group 5/8H3/8N (1.57U/g) and the others (HH=1.23U/g; 3/4H1/4N=1.35U/g), and a significant difference in shear force between groups HH and 5/8H3/8N (3.67 and 5.00kg, respectively). It was concluded that the calpastatin activity determined 24 hs post mortem can be useful to predict the texture of beef, aged or not, in genetic improvement programs. Also, the increasing participation of *Bos indicus* genotype in the South Region herds of cattle, besides the productivity advantages, may result in beef of lower texture quality.

Key words: beef, *Bos indicus*, crossbreeding, texture, calpastatin

1 – INTRODUÇÃO

Pesquisas recentes têm evidenciado que as proteases neutras ativadas pelo íon cálcio, denominadas calpaínas, são parcialmente responsáveis pela proteólise *post mortem*, que conduz a um aumento progressivo da maciez da carne, e têm despertado grande interesse porque essa característica é um dos mais importantes atributos da qualidade sensorial da carne bovina (8,10).

Entretanto, apesar do importante papel das calpaínas na maturação, é o efeito inibidor de proteólise da calpastatina, igualmente ativada pelo íon cálcio livre no sarcoplasma, determinado 24 horas *post mortem*, que apresenta maior

correlação com a maciez da carne conservada sob refrigeração (5,7,8,18,19).

A pior textura da carne de *Bos indicus* (zebuíno, origem indiana) relativamente à de *Bos taurus* (taurina, origem europeia) tem sido bem documentada (1,3,11,12, 13,14,15).

Há, também, constatações de que a participação crescente de genes de *Bos indicus* em cruzamentos com *Bos taurus*, diminui consideravelmente a maciez da carne (1,9,15,16) devido à maior atividade de calpastatina na carne de *Bos indicus* e suas cruzas (7,8,19).

Na pecuária de corte brasileira, os cruzamentos entre as raças zebuínas, principalmente Nelore, e as taurinas, estão encontrando inúmeros adeptos entre os criadores que visam benefícios da heterose no aumento da produtividade de rebanhos zebuínos da Região Centro-Oeste e Sudeste, e da resistência ao calor e aos ectoparasitos nos rebanhos taurinos da Região Sul do Brasil (9).

Prevê-se, portanto, uma provável melhoria da maciez da carne bovina nas duas primeiras regiões, pela introdução de genes de *Bos taurus*, como foi assinalado por NORMAN (11) em estudos com a raça Canchim (5/8Charolês 3/8Zebu) que apresentou valores de força de cisalhamento, maciez e preferência geral intermediários, porém, mais próximos do Charolês do que dos zebuínos Nelore e Guzerá. Por outro lado, na Região Sul, estes cruzamentos poderiam prejudicar a maciez da carne produzida.

Neste trabalho, desenvolvido no Sul do Brasil, foi estudada a influência da participação do genótipo de *Bos indicus* nas cruzas 3/4Hereford 1/4Nelore (3/4H1/4N) e 5/8Hereford 3/8Nelore (5/8H3/8N), comparativamente à raça

Hereford (HH), na força de cisalhamento e na atividade de calpastatina da carne no 1º e no 10º dia *post mortem*.

2 – MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Obtenção e tratamento das amostras de carne

Foram utilizadas 4 amostras de contrafilé (músculo *L. dorsi*), de 2,5 cm de espessura, retiradas da meia carcaça esquerda, entre a 10ª e 13ª costelas, em torno de 24 h após o abate, de 26 bovinos, machos castrados, sendo 14 da raça Polled Hereford (HH), sete cruzados 3/4Hereford 1/4Nelore (3/4H1/4N) e cinco cruzados 5/8Hereford 3/8Nelore (5/8H3/8N), oriundos da Fazenda Guatambu, Grupo Delta G, localizada no município de Dom Pedrito, RS. Os animais, pertencentes a grupos contemporâneos, foram mantidos em pastagem cultivada até serem abatidos com 24 meses de idade, de setembro de 1995 a janeiro de 1996, em matadouro-frigorífico comercial com Inspeção Federal, localizado a aproximadamente 100 km de Porto Alegre, RS.

As amostras eram identificadas, embaladas em sacos de polietileno e transportadas em caixa de isopor com gelo até os Laboratórios do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. No laboratório, iniciava-se imediatamente a determinação da atividade de calpastatina em uma das 4 amostras de contrafilé, coletadas de cada bovino, porque o congelamento e o tempo *post mortem* afetam a estabilidade da calpastatina (6).

As amostras destinadas à maturação, eram acondicionadas em embalagens plásticas de alta barreira ao oxigênio, à vácuo, e conservadas a 2º C por 10 dias no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da

Faculdade de Veterinária da UFRGS. Todas as amostras destinadas à análise de textura objetiva foram congeladas e estocadas a -20° C para posterior descongelamento e determinação da força de cisalhamento.

2.2 – Determinação da atividade de calpastatina

Uma unidade de atividade de m-calpaína é definida como a quantidade de enzima que hidrolisa caseína provocando aumento de uma unidade (1,0) de absorvância (278_{nm}) nas condições do ensaio. Uma unidade de calpastatina é definida como a quantidade que inibe uma unidade de m-calpaína.

Esta análise foi realizada segundo a técnica descrita por SHACKELFORD et al. (15). Exatamente 10 g de carne (músculo *L. dorsi*), livre de tecido conjuntivo (gordura e colágeno fisicamente separáveis), eram homogeneizados com 30 ml de solução Tris-HCl (Tri[hidroximetil]aminometano) 100 mM (Sigma), contendo EDTA (ácido etilenodinitrotetracético) 10 mM (Merck), 2-mercaptoetanol 10 mM, E-64 (trans-epoxisuccinil-L-leucilamido) 0,02 mM (Sigma), ovomucóide 10 mg/100 ml (Sigma) e PMSF (fenilmetilsulfonilfluoreto), concentração final de 2 mM (Sigma), pH 8,3, em homogeneizador Tekmar.

Após a homogeneização em 3 ciclos de 30 segundos com intervalos de 30 segundos, em banho de gelo, as amostras eram centrifugadas a $30.000 \times g$ por 2 horas. A seguir, o sobrenadante era dialisado por 18 horas contra solução Tris-HCl 40 mM, EDTA 0,5 mM, pH 7,35. Após a diálise, o material era transferido para uma série de 5 tubos de ensaio (aproximadamente 7ml cada um), os quais eram aquecidos em banho-maria a 95° C durante 15 minutos e resfriados em banho de gelo por 15 minutos.

Em seguida, o material era transferido para tubos de 50ml e centrifugado a 30.000 x g por 30 minutos. O volume do sobrenadante final era filtrado em 4 camadas de gaze e lã de vidro, sendo anotado o volume do filtrado, a seguir denominado extrato de carne.

A determinação da atividade de calpastatina das amostras (d) era realizada em triplicatas, verificando a inibição da hidrólise de caseína por uma preparação padrão de m-calpaína. Alíquotas (de 0,1 a 0,5ml) dos extratos de carne eram diluídas com solução Tris-HCl 40 mM, EDTA 0,5 mM, 2-mercaptoetanol 10 mM, pH 7,35, até completar 1 ml. A estas alíquotas eram adicionados 10 µl da preparação de m-calpaína e cloreto de cálcio 5 mM, adicionado por último porque a m-calpaína torna-se ativa em presença de íons cálcio. Eram feitos: um controle branco (b) no qual a m-calpaína era substituída por tampão; um controle (c) para determinar a atividade da preparação de m-calpaína e um controle (e) para descontar a atividade de outras peptidases presentes no extrato de carne.

No controle (e), a adição de EDTA 10 mM assegurava a inibição da m-calpaína. Adicionava-se a todos os tubos 1ml da solução substrato (caseína Hammersten 7mg/ml, Merck, Tris 100 mM, contendo azida sódica 1 mM, Merck, pH 7,5). Imediatamente após a adição de CaCl₂, agitavam-se os tubos para homogeneizar a mistura que era incubada em banho-maria a 25° C por 60 minutos. O ensaio era interrompido pela adição de 2ml de ácido tricloroacético 5%.

Após, os tubos de ensaio eram centrifugados (500 x g, 30 min., temperatura ambiente) e a absorvância (278_{nm}) do sobrenadante determinada. A

atividade de calpastatina (Acal) das amostras era, então, calculada da seguinte forma: $Acal/ml = (c - b) - [(d - b) - e] \div \text{volume das amostras}$. Finalmente, calculava-se a atividade de calpastatina por grama de carne (6).

2.3 – Determinação da textura da carne

A textura foi avaliada através da medida de força de cisalhamento em equipamento de Warner-Bratzler. As amostras eram descongeladas em refrigerador a 7° C durante 24 horas. Após, eram assadas em forno elétrico pré-aquecido a 170° C até que a temperatura interna atingisse 70° C. Neste momento, as amostras eram retiradas do forno e resfriadas em refrigerador a 7° C por 24 horas, conforme WHIPPLE et al. (19). Da parte central de cada amostra, foram retirados seis cilindros de 1,27cm de diâmetro, no sentido das fibras musculares. Calculou-se, então, a média das seis leituras da força de cisalhamento de cada amostra de contrafilé (m. *L. dorsi*).

2.4 – Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância do programa GIVENS descrito por FRIES (2), comparando-se as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Para as estimativas dos coeficientes de correlação, utilizou-se o programa CORREL01, desenvolvido no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia da UFRGS.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias e desvios padrão de atividade de calpastatina (U/g) e de força de cisalhamento (kg), determinadas no 1° e 10° dia após o abate, de bovinos HH, 3/4H1/4N e 5/8H3/8N são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1. Atividade de calpastatina e força de cisalhamento do contrafilé de novilhos de três diferentes genótipos: Médias (\pm DP) por grupo e tempo *post mortem*.

| | HH n=14 | 3/4H1/4N n=7 | 5/8H3/8N n=5 | p |
|----------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|----|
| Calpastatina (U/g carne) | | | | |
| 1 ^o dia | 1,67 ^a \pm 0,22 | 1,79 ^{ab} \pm 0,32 | 2,65 ^c \pm 0,66 | ** |
| 10 ^o dia | 1,23 ^a \pm 0,26 | 1,35 ^a \pm 0,34 | 1,57 ^a \pm 0,20 | ns |
| Força de cisalhamento (kg) | | | | |
| 1 ^o dia | 6,10 ^a \pm 1,24 | 6,41 ^{ab} \pm 0,94 | 8,12 ^c \pm 1,10 | * |
| 10 ^o dia | 3,67 ^a \pm 0,65 | 4,10 ^{ab} \pm 0,72 | 5,00 ^b \pm 0,88 | ** |

^{abc} Médias com superescritos diferentes na mesma linha diferem ($p < 0,05$).

* ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$); ns = não significante ($p > 0,05$).

A atividade de calpastatina de contrafilé de novilhos HH, igual a 1,67, no 1^o dia, foi superior aos resultados encontrados por WHIPPLE et al. (19) e WHEELER et al. (18), 1,36 e 1,22U/g de carne, respectivamente. Entretanto, SHACKELFORD et al. (14) registraram valor superior para bovinos HH, 2,63U/g. Em outro experimento, SHACKELFORD et al. (15) encontraram valores superiores para a mesma raça, em dois grupos de animais estudados, 2,80 e 2,61U/g de carne.

Amostras de músculo *L. dorsi* de bovinos 5/8H3/8N apresentaram atividade de calpastatina igual a 2,65U/g de carne (1^o dia), valor superior a 1,96 U/g encontrado por WHIPPLE et al. (19) em carne de bovinos 5/8 HerefordxAngus 3/8Sahiwal.

A atividade de calpastatina de 1,79 U/g, determinada um dia após o abate, para bovinos 3/4H1/4N, não diferiu ($p > 0,05$) da média obtida para novilhos HH (1,67U/g), indicando que animais 3/4H1/4N podem apresentar valores semelhantes de atividade de calpastatina do músculo *L. dorsi* e, como

conseqüência, força de cisalhamento semelhante à de novilhos HH ($p>0,05$), conforme já foi assinalado por outros autores (1,16).

A maior proporção de genes zebuínos em novilhos 5/8H3/8N afetou significativamente a atividade de calpastatina, determinada no 1º dia *post mortem* no músculo *L. dorsi*, sendo superior ($p<0,05$) à de bovinos HH e 3/4H1/4N. Estes resultados estão de acordo com WHIPPLE et al. (19).

Não se detectou diferença ($p>0,05$) na atividade de calpastatina entre os três grupos genéticos após 10 dias de maturação, mas notou-se uma tendência de aumento com a maior participação do genótipo *Bos indicus*.

Também não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias de força de cisalhamento dos grupos HH e 3/4H1/4N tanto no 1º como no 10º dia *post mortem*. Este resultado é semelhante ao encontrado por GALLINGER et al. (3), que avaliaram a textura de músculo *L. dorsi* de bovinos HH e 3/4Hereford 1/4Brahman, tanto no 3º dia *post mortem* como após 7 dias de maturação. SHERBECK et al. (16) encontraram diferença significativa entre os valores de força de cisalhamento de músculo *L. dorsi* de bovinos HH e 3/4H1/4B, após 6 e 18 dias de maturação. Entretanto, esses autores verificaram que novilhos 3/4H1/4B produziram carne com textura comparável à de Hereford, indicando, desta forma, que novilhos com 25% de genótipo *Bos indicus* poderiam ser incluídos no Programa de Carne Hereford Certificada sem riscos de um decréscimo significativo da maciez.

As médias de força de cisalhamento de contrafilé dos 3/4H1/4N e 5/8H3/8N, no 1º dia *post mortem*, diferiram entre si ($p<0,05$) evidenciando que a

maior proporção de genes zebuínos causa um aumento da força de cisalhamento, como constatado por outros autores (1,10,16,17,18). A média de força de cisalhamento no 10^o dia para os 3/4H1/4N, de 4,10kg, situou-se entre as médias 3,67 e 5,00 kg, encontradas para novilhos HH e 5/8H3/8N, respectivamente. Estes valores, que diferiram entre si significativamente ($p < 0,01$), foram inferiores aos obtidos por GALLINGER et al. (3) em novilhos Hereford-Angus, 3/4Angus1/4Brahman e 5/8Angus3/8Brahman (5,06, 5,62 e 9,08kg, respectivamente), após um período de maturação de 7 dias a 1^o C.

NORMAN (11), estudando a maciez da carne de tourinhos Nelore, Guzerá, Canchim e Charolês, atribuiu a pior textura da carne de zebuínos e, possivelmente do Canchim, em relação ao Charolês, aos maiores diâmetros médios de fibra e feixes de fibras musculares e às menores proporções de colágeno solúvel nas amostras de carne de músculos *L. dorsi* e *Semimembranosus*. Seria interessante, nesse caso, realizar estudos complementares para se estabelecer a relação entre essas características e a atividade de calpastatina que, segundo GOLL et al. (4), está envolvida no processo de crescimento muscular.

Na Tabela 2 são apresentadas as médias e os desvios padrão das medidas de atividade de calpastatina e força de cisalhamento das amostras agrupadas por tempo *post mortem*. A maturação da carne por um período de 10 dias exerceu influência significativa ($p < 0,01$) sobre a atividade de calpastatina e força de cisalhamento, as quais sofreram declínio à medida que aumentou o período *post mortem* resultando em carne mais macia após a maturação, como já

havia sido assinalado por outros autores (7,8).

Tabela 2. Atividade de calpastatina e força de cisalhamento de contrafilés no 1º e 10º dia: Médias dos três genótipos (\pm DP) por tempo *post mortem*.

| | 1º dia | 10º dia |
|----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Calpastatina (U/g carne) | 1,88 \pm 0,52 ^a | 1,33 \pm 0,30 ^b |
| Força de cisalhamento (kg) | 6,60 \pm 1,35 ^a | 4,00 \pm 0,86 ^b |

^{a,b} Médias com superescritos diferentes na mesma linha, diferem ($p < 0,001$).

A força de cisalhamento no 1º dia *post mortem* (6,60kg) foi semelhante à registrada por CROUSE et al. (1), igual a 6,95kg, em trabalho que incluiu bovinos provenientes de cruzamento entre as raças Hereford e Angus, ambas taurinas, e suas cruzas com zebuínos Brahman ou Sahiwal, com participação crescente do genótipo de *Bos indicus*.

Após 10 dias de maturação, a média de força de cisalhamento foi igual a 4,00kg, semelhante aos valores de 4,62 e 3,90 kg encontrados por CROUSE et al. (1) e SHERBECK et al (16), respectivamente, em estudos que avaliaram a influência das raças zebuínas sobre características de produção e qualidade de carcaça e carne de cruzamentos entre raças taurinas e zebuínas.

WHIPPLE et al. (19), estudando as bases biológicas da maciez da carne bovina, concluíram que a atividade de calpastatina constituiu-se em importante característica de predição de textura. Os autores encontraram coeficiente de correlação igual a 0,66 entre atividade de calpastatina e força de cisalhamento, determinados no 1º dia *post mortem*. No presente trabalho, obteve-se uma

correlação significativa entre a atividade de calpastatina do 1º dia após o abate com a textura, medida tanto no 1º como no 10º dia *post mortem*, conforme consta da Tabela 3, indicando que carnes com alta atividade de calpastatina no 1º dia após o abate apresentam maior força de cisalhamento, ou seja, são menos macias, mesmo após a maturação.

Tabela 3. Coeficientes de correlação entre os valores de atividade de calpastatina e força de cisalhamento de contrafilé no 1º e 10º dia *post mortem*.

| | Calpastatina (U/g carne) | Força de cisalhamento (kg) | |
|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------|
| | 10º dia | 1º dia | 10º dia |
| Calpastatina 1º dia | 0,39 | 0,59** | 0,51* |
| Calpastatina 10º dia | | 0,50* | 0,46* |
| Força de cisalhamento 1º dia | | | 0,56** |

*($p < 0,05$); **($p < 0,01$).

Embora o coeficiente de correlação entre os valores da atividade de calpastatina, do 1º dia e no 10º dia *post mortem*, não tenha alcançado significância estatística ($r=0,39$, $p > 0,05$), seu valor, positivo, indica que a proteólise em carnes com alta atividade de calpastatina no 1º dia *post mortem* foi menos extensa durante o período de maturação, o que está de acordo com o que foi relatado por KILLEFER e KOOHMARAIE (5).

4 – CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que:

- a atividade de calpastatina determinada 24 h *post mortem* poderá ser útil para a previsão da textura da carne, maturada ou não, em programas de melhoramento genético;

- à medida que a participação do genótipo *Bos indicus*, em cruzamentos com bovinos *Bos taurus*, ultrapassa 25%, a atividade de calpastatina e a força de cisalhamento do contrafilé (músculo *L. dorsi*) aumentam resultando em carne de pior textura, ou seja, mais dura;
- a participação crescente do genótipo *Bos indicus* nos rebanhos da Região Sul, a par das conhecidas vantagens zootécnicas, poderá resultar em carne de pior textura.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CROUSE, J.D.; CUNDIFF, L.V.; KOCH, R.M.; KOOHMARAIE, M.; SEIDEMAN, S.C. Comparisons of *Bos indicus* and *Bos taurus* inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. *Beef Research, Progress Report n.4*, p.125-127, 1993.
2. FRIES, L.A. GIVENS – Um sistema de análises estatísticas de dados não balanceados por microcomputador. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1, Brasília. *Anais....*, Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.299, 1987.
3. GALLINGER, M.M.; MARCELIA, M.; GARCIA, P.T.; LASTA, J.; ZANELLI, M. & GONZALEZ, B. Meat quality of zebu cross-bred: sensory and mechanical evaluation. In: *Proceedings of 38th ICoMST*, Clermont-Ferrand, França, 1992, p. 45-48.
4. GOLL, D.E.; OTSUKA, Y.; NAGAINIS, P.A.; SHANNON, J.D.; SATHE, S.K.; MUGURUMA, M. Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass. *Journal of Food Biochemistry* v. 7, p. 137-177, 1983.
5. KILLEFER, J.; KOOHMARAIE, M. Bovine skeletal muscle calpastatin: cloning, sequence analysis and steady-state mRNA expression. *J. Anim. Sci.*, v. 72, p. 606-614, 1994.
6. KOOHMARAIE, M. Quantification of Ca⁺²-dependent protease activities by hydrophobic and ion-exchange chromatography. *J. Anim. Sci.*, v. 68, p. 659-665, 1990.
7. KOOHMARAIE, M. The role of Ca²⁺ - dependent proteinases (calpains) in *post mortem* proteolysis and meat tenderness. *Biochimie*, v. 74, p. 239-245, 1992.

8. KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat ageing. **Meat Sci.**, v.36, p. 93 – 104, 1994.
9. LEAL, J.J.B. Cruzamento sistemático e uso de raças sintéticas. Associação Nacional de Criadores “Herd Book Collares”, Pelotas RS, Set. 1994. (Jornal dos Criadores, Ano II, n.15, p. 14-15).
10. MORGAN, J.B. Tenderness problems and potential solutions. In: **The Final Report of the National Beef Quality Audit – 1991**, 1992. p. 180-187.
11. NORMAN, G.A. Effect of breed and nutrition on the productive traits of beef cattle in South-east Brazil: Part 3 – Meat Quality. **Meat Sci.**, v.6, n.2, p. 79-96, 1982.
12. PEROBELLI, Z.V.; MULLER, L. & RESTLE, J. Estudo da qualidade das carcaças e da carne de vacas de descarte de dois grupos genéticos. **Ciência Rural**, v.24, n. 3, p. 613-616, 1994.
13. RAMSEY, C.B.; COLE, J.W.; MEYER, B.H.; TEMPLE, R.S. Effects of type and breed of British, zebu and daity cattle on production, palatability and composition. II. Palatability differences and cooking losses as determined by laboratory and family panels. **J. Anim. Sci.**, v. 22, n. 4, p.1001-1008, 1963.
14. SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; MILLER, M.F.; CROUSE, J.D.; REAGAN, J.O. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **J. Anim. Sci.**, v. 69, p. 171-177, 1991.
15. SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E.; ROHRER, G.A.; SAVELL, J.W. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine post rigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner Bratzler shear force, retail product yield and growth rate. **J. Anim. Sci.**, v. 72, p. 857-863, 1994.
16. SHERBECK, J.A.; TATUM, J.D.; FIELD, T.G.; MORGAN, J.B.L SMITH, G.C. Feedlot performance, carcass traits and palatability traits of Hereford and Hereford x Brahman steers. **J. Anim. Sci.**,v. 73, p. 3613-3620, 1995.
17. SHERBECK, J.A.; TATUM, J.D.; FIELD, T.G.; MORGAN, J.B.L SMITH, G.C. Effect of phenotypic expression of Brahman breeding on marbling and tenderness traits. **J. Anim. Sci.**, v.74, p.304-309, 1996.
18. WHEELER, T.L.; SAVELL, J.W.; CROSS, H.R.; LUNT, D.K.; SMITH, S.B. Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 68, p. 4206-4220, 1990.

19. WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M.; DIKEMAN, M.E.; CROUSE, J.D.; HUNT, M.C.; KLEMM, R.D. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 68, p. 2716-2728, 1990.

6 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem: - o apoio do Dr. M. Koohmaraie, do U.S. Meat Animal Research Center, que proporcionou treinamento à primeira autora no seu laboratório em Clay Center, Nebraska, nas determinações de atividade de calpastatina; - o suporte financeiro parcial do Grupo Delta G e Fundatec, - a colaboração da estagiária Leandra Franciscato Campos, do curso de Química da UFRGS, na execução das análises laboratoriais.