

Bioquímica muscular, maciez da carne e melhoramento das raças zebuínas¹

Fernando Gondim²

Resumo – A baixa maciez da carne zebuína restringe seu acesso a importantes mercados. Tal característica é atribuída a uma maior atividade muscular da calpastatina na carne de zebu do que na de gado taurino. Essa proteína interfere no processo de proteólise *post mortem*, prejudicando o amaciamento da carne. Existem diferenças bioquímicas entre os tipos de fibras que constituem 95% da massa muscular. A composição percentual das fibras oxidativas e glicolíticas influencia a qualidade das carnes e explica sua variação. Inovações tecnológicas contribuem para a melhoria da qualidade da carne, e conhecer a tipologia muscular do gado zebu é indispensável para entender as razões de sua “dureza”. Incentivos aplicados à produção de carne zebuína de qualidade contribuem para o melhoramento bovino e o desenvolvimento da pecuária de corte nacional. A insuficiente quantidade de propriedades brasileiras habilitadas para exportação de carne de qualidade para a Europa resulta no incompleto cumprimento do acordo comercial por meio de cotas Hilton (10.000 t/ano), e é resultado do desinteresse dos produtores em arcar com os custos da rastreabilidade. Uma aliança mercadológica que envolva representantes de ministérios, indústria e produtores pode contribuir para a melhoria das relações comerciais dentro da cadeia produtiva, aumentar o número de propriedades habilitadas para a exportação e fomentar o melhoramento das raças zebuínas.

Palavras-chave: cotas Hilton, fibras musculares, gado zebu, pecuária de corte, rastreabilidade bovina.

Muscle biochemistry, meat tenderness and improvement of zebu cattle breeds

Abstract – Low tenderness of the meat of zebu cattle restricts its access to important markets. This characteristic is attributed to a higher muscular activity of calpastatin in zebu meat than in taurine meat. This protein interferes with the process of postmortem proteolysis, thus damaging the process of meat tenderness. There are biochemical differences between the types of fibers comprising 95% of muscle mass. The percentage composition of muscle oxidative and glycolytic fibers influences meat quality and explains the variation. Technological innovations contribute to improving the qual-

¹ Original recebido em 23/7/2013 e aprovado em 14/8/2013.

² Médico-veterinário, doutor em Bioquímica pela Unicamp, assessor da Diretoria Executiva da Embrapa, Embrapa Sede, sala 116, Parque Estação Biológica, Av. W3 norte (final). CEP 70770-901, Brasília, DF. E-mail: fernando.gondim@embrapa.br

ity of the meat; and knowing muscle typology of zebu cattle is essential to understanding the reasons for its “toughness”. Incentives to produce quality beef from zebu cattle contribute to the improvement of beef cattle and to the development of beef cattle production in Brazil. Insufficient number of Brazilian farms licensed to export quality meat to Europe results in incomplete fulfillment of the trade agreement through Hilton quota (10,000 metric tons/year), and is the result of a lack of interest of producers in paying for the traceability costs. A marketing alliance involving representatives of ministries, industry and producers could contribute to the improvement of business relationships within the commodity chain, could license additional farms for export, and encourage the improvement of zebu breeds.

Keywords: Hilton quota, muscle fibers, zebu cattle, beef cattle production, bovine traceability.

Introdução

A cadeia produtiva da carne bovina brasileira vive surtos recorrentes de crise ligada diretamente à qualidade da carne, especialmente à sua vertente extrínseca em que a rastreabilidade do produto ao longo da cadeia produtiva é um real desafio a ser vencido. Outro gargalo mercadológico relacionado à vertente intrínseca da qualidade do produto é a maciez. A genética do rebanho bovino nacional, essencialmente zebuino, é responsabilizada pela baixa maciez de sua carne. Essa estigmatização dificulta uma maior agregação de valor ao produto final, e é um dos fatores que limitam uma ampliação das cotas brasileiras de carne bovina de alta qualidade, direcionadas para o mercado europeu (cotas Hilton). Apenas 10.000 toneladas de cortes nobres desse tipo de carne são exportadas anualmente, sendo remunerada a US\$ 7.500/tonelada. Em 2013, apenas 3.000 toneladas foram exportadas. A maior parte das exportações brasileiras de carne bovina é comercializada fora das especificações do tratado comercial, sendo remuneradas a US\$ 2.500/tonelada.

Evidencia-se a necessidade de contínuos investimentos em pesquisas que resultem em melhoramento genético do rebanho bovino zebuino nacional, e consequentemente em melhoria na qualidade intrínseca de sua carne, especialmente do atributo maciez. Novas metodologias que tipifiquem e padronizem tanto carcaças quanto produtos cárneos são valiosas ferramentas para agregação de valor e parametrização negocial entre os elos da cadeia produtiva. O melhor

exemplo disso é a tipificação de carcaça. Para tanto, este artigo discute a qualidade de carnes, apresentando metodologia aplicável à seleção genética do atributo maciez e sugerindo ações gerenciais voltadas para o melhoramento das raças zebuínas e o desenvolvimento da pecuária de corte nacional.

A bovinocultura de corte brasileira

A produção de gado de corte no Brasil tem como base a utilização de matéria-prima proveniente do gado zebuino, puro e mestiço, da raça Nelore. O Nelore é a raça mais importante tanto em volume de produção quanto em produtividade em pastagens tropicais. Contudo, embora os zebuínos sejam os animais que melhor se adaptam às condições tropicais – principalmente naquelas regiões onde o estresse térmico e os ecto e endoparasitas limitam a produtividade das raças taurinas –, o cruzamento do gado zebuino com raças taurinas, objetivando ganhos de produtividade (precocidade) e qualidade (maciez), mostrou-se necessário, tendo-se originado o denominado cruzamento industrial. Tanto os criatórios de gado puro Nelore quanto os dos mais diversos cruzamentos dessa raça com raças europeias estão distribuídos por todo o território nacional, especialmente na faixa tropical central.

O sistema de manejo tradicional ainda predominante em nosso país é o extensivo, em que animais inteiros, geralmente sem suplementação e mantidos em pasto, são abatidos em uma idade média de abate de 30 a 36 meses.

A associação dessas características – predominância de sangue zebu, animais inteiros criados em pastagens e idade elevada de abate – termina por favorecer a produção de carcaças com pouca gordura de cobertura e com dianteiros mais desenvolvidos e proporcionalmente mais pesados que os traseiros; isso resulta em menor rendimento em cortes nobres e maior produção de carne de dianteiro (de menor valor), além de favorecer alterações qualitativas, como carne mais escura e dura, e marmorização ausente ou escassa (FELICIO, 1999).

Diante desses diagnósticos, no final da década de 1980, foram implantadas modificações no sistema de produção para obter carcaças com maior acabamento (maior cobertura de gordura) e oriundas de gado mais jovem. Essas novas diretrizes visavam resolver o problema da falta de maciez de carne bovina nacional. Entretanto, essa expectativa não se confirmou, e os zebuínos, mesmo quando abatidos mais cedo e com boa cobertura adiposa na carcaça, ainda não apresentavam valor de maciez da carne comparável aos padrões taurinos (ORMENESE, 1995). Esses achados corroboram a tese de que a “qualidade” (tipologia) das fibras musculares é o fator determinante da maciez.

Nos últimos anos, o aumento das exportações de carne fresca – e, concomitantemente, das exigências quanto ao fornecimento de carnes e carcaças com melhores características qualitativas (cor, maciez e suculência) e quantitativas (maior rendimento de carcaça e de cortes traseiros) – forçou a indústria frigorífica a empreender uma busca por animais mais jovens que pudessem ser abatidos com 24 a 30 meses de vida, que tivessem bom acabamento e que fossem potenciais produtores de carne de qualidade.

O aumento na demanda por carne de qualidade motivou iniciativas públicas e privadas com o objetivo de estimular a produção de bovinos jovens, tendo resultado no estabelecimento dos programas de Novilho Precoce. Na busca por precocidade, inúmeros cruzamentos raciais com o gado zebu foram e ainda são testados. Atualmente, múltiplos arranjos raciais, compos-

tos de várias proporções de sangue puro taurino, constituem uma grande parcela do rebanho de corte brasileiro.

Essa multiplicidade genotípica e fenotípica do plantel bovino nacional é um promissor campo para o melhoramento zootécnico. Composições de sangue zebuínico e taurino, com diferenciada e adequada adaptabilidade, podem ser trabalhadas para diversas regiões do Brasil e proporcionar maior produtividade. Também é uma promissora área de pesquisa em melhoramento da qualidade da carne focada na qualidade do tecido muscular. Nessa área, a descoberta crescente e a aplicação criteriosa de marcadores de características desejáveis já são utilizadas como critério de seleção. Portanto, um portfólio de marcadores precisa ser desenvolvido para o direcionamento da seleção genética do gado de corte, visando a uma melhoria qualitativa da carne brasileira.

No Brasil, a USP de Ribeirão Preto, SP, dentro do Programa de Melhoramento Genético da Raça Nelore (PMGRN) da Associação Nacional de Criadores e Pesquisadores (ANCP), adotou, em 2002, a avaliação ecográfica do músculo *Longissimus dorsi* (contrafilé), denominada área de olho de lombo, como critério de seleção zootécnica aplicável no melhoramento da qualidade da carcaça do gado Nelore. Foi criada uma diferença esperada na progênie (DEP) de touros da raça Nelore para essa característica, e os resultados dessas DEPs foram incluídos no Sumário de Touros Anual da ANCP. Essas iniciativas resultaram em notável aprimoramento zootécnico, especialmente quanto à precocidade, alcançado pela raça Nelore nas últimas décadas, o que resultou em aumento de produtividade.

A maciez da carne

Vários fatores estão envolvidos no processo de amaciamento da carne. Esses fatores podem ser separados em dois grandes grupos: fatores *ante mortem* e fatores *post mortem*. Entre os fatores *ante mortem* que comprovadamente atuam sobre a maciez da carne, destacam-se a

raça ou genótipo, alimentação, idade, sexo, aplicação de promotores de crescimento e manejo pré-abate. Entre os fatores *post mortem*, podem-se citar aqueles inerentes ao abate industrial, como o resfriamento e a consequente velocidade de queda de pH muscular, já que o frio interfere diretamente nos processos bioquímicos *post mortem* responsáveis pela transformação de músculos em carne (FELÍCIO, 1997).

Fatores tecnológicos que influenciam a maciez

O processamento convencional das carcaças bovinas inclui sua refrigeração logo depois do abate no intuito de se atingirem temperaturas de 7 °C na massa muscular antes de a carne ser processada para a comercialização. Esse resfriamento, embora seja uma exigência da legislação brasileira para garantir a segurança higiênico-sanitária das carnes, resulta em uma contração excessiva dos sarcômeros (unidade funcional contrátil do tecido muscular) em virtude do resfriamento em fase pré-rigor, resultando em uma carne mais dura. Para prevenir esse fenômeno, chamado de *cold shortening* (encurtamento pelo frio), utilizam-se habitualmente dois processos, a refrigeração retardada e a estimulação elétrica das carcaças (TAYLOR, 2003).

Influências fenotípicas

A carne de animais inteiros que apresentam características sexuais secundárias, embora o conteúdo de colágeno nos músculos não varie consideravelmente entre os machos inteiros e os castrados, apresenta menor quantidade de colágeno solúvel que a dos castrados, o que parcialmente justifica a carne mais dura. Uma maior cobertura de gordura nos animais castrados, que proporciona um resfriamento mais lento das carcaças e redução dos efeitos negativos do resfriamento rápido, favorece o amaciamento da carne, e provavelmente exerce maior efeito sobre a maciez final da carne do que a castração propriamente dita. Em animais mais velhos, observa-se uma diminuição da solubilidade do

colágeno com o avanço da idade. A granulometria, ou textura, nos animais machos apresenta um aspecto mais grosseiro, determinando uma maciez invariavelmente inferior à das fêmeas (HUFF-LONERGAN et al., 1995).

Influências genéticas e ambientais

Entre os fatores *ante mortem* que determinam a textura do tecido muscular, a raça à qual pertence a espécie de interesse econômico é importante, pois possui alta correlação com a maciez da carne. Contudo, animais pertencentes à mesma raça podem apresentar diferenças significativas na maciez de seu tecido muscular depois do processamento industrial (KOOHMA-RAIE et al., 2003).

Historicamente, a carne de animais de genética zebuína é identificada como dura. A seleção das raças zebuínas – inicialmente natural e, posteriormente, manipulada pelo homem – sempre ocorreu em total liberdade, em amplas pastagens. Comparando-se com as raças precoces de bovinos norte-americanos e europeus, o gado zebu sempre foi abatido com idade mais avançada. Uma menor deposição de gordura nas carcaças e a não ocorrência de gordura intramuscular (marmorização) favorecem o resfriamento mais rápido das massas musculares, provocando o encurtamento dos sarcômeros e o endurecimento da carne (TAYLOR, 2003). É importante lembrar que a ausência de marmoreio em zebuínos é uma característica inata e ancestral que lhes permite melhor termorregulação em seu habitat natural tropical.

A diferença de maciez entre as carnes frescas de origem zebuína, de origem taurina e de seus cruzamentos é devida a vários fatores, como acabamento, grau de marmoreio, e quantidade e tipo de tecido conjuntivo. Entretanto, o mais importante fator determinante da maciez é a degradação enzimática das proteínas miofibrilares (MALTIN et al., 2003). Portanto, considera-se que as características morfológicas e metabólicas do tecido muscular são o fator determinante

da maciez e devem ser o alvo preferencial da pesquisa científica na área da ciência de carnes.

O efeito do genótipo zebuino sobre a maciez da carne bovina

As justificativas científicas quanto à dureza comparativa da carne zebuina são bastante controversas. Foi demonstrado que o músculo de gado zebuino apresenta uma mais alta expressão da proteína calpastatina, comparado ao do gado taurino (MALTIN et al., 2003). Essa proteína inibe a atividade da calpaína, uma enzima que é considerada a maior responsável pelo processo de proteólise *post mortem*, que está descrito na seção “A proteólise do músculo”. A calpastatina apresenta alta atividade inibitória tanto em carne proveniente de gado zebuino puro quanto de mestiço. Segundo Taylor (2003), tanto maior será a dureza da carne quanto maior for a concentração de sangue zebuino nos mestiços de corte.

Uma revisão bibliográfica sobre o instigante tema da seleção genética bovina focada em fatores determinantes da maciez da carne revelou importantes resultados, mostrados a seguir.

Importantes e pioneiros estudos que correlacionam a maciez da carne de gado com a genética taurina e zebuina foram realizados por Whipple et al. (1990) e Shackelford et al. (1991) e concluíram que carnes com mais de 50% de sangue zebu apresentavam mais alta dureza do que aquelas provenientes de cruzamentos com menos de 50% de sangue zebu. O fator apontado como principal envolvido era a elevada atividade (no período de 24 horas *post mortem*) da calpastatina (inibidora da calpaína). Nesses estudos foi demonstrado que a atividade da calpaína foi responsável por até 44% das variações na maciez da carne dos dois grupos de bovinos.

Whipple et al. (1990) sugeriram que a seleção para genótipos ou cruzamentos de *Bos taurus indicus* com baixa atividade de calpastatina seria importante para melhorar a maciez de carnes zebuinas. Shackelford et al. (1994) observaram que a herdabilidade dos níveis de calpastatina é alta ($h = 0,65$) e que a correlação genética entre

nível de calpastatina e força de cisalhamento (índice de maciez internacionalmente adotado) é de 50%, indicando que a seleção genética contra altos níveis de calpastatina poderia resultar em melhoria de maciez.

Em outro trabalho, foi estudado o efeito da variação genética sobre: a marmorização, a atividade da calpastatina 24 horas depois do abate e a maciez da carne. Foi observado que os animais 3/8 *Bos taurus indicus* (obtidos das raças Braford, Red Brangus e Simbrah) apresentavam diferenças significativas em marmoreio (infiltração de tecido adiposo entre as fibras do tecido muscular) e atividade de calpastatina quando comparados com animais *Bos taurus taurus*. Entretanto, não ocorreu variação na maciez (O’CONNOR et al., 1997). Esse resultado demonstra a pouca significância do marmoreio como determinante da maciez, o que leva a um questionamento quanto à conveniência da seleção genética de raças zebuinas para buscar um aumento no marmoreio muscular, visto que essa é uma característica típica de raças taurinas de clima temperado.

A carne tropical é naturalmente magra na porção muscular, sendo praticamente desprovida de “marbling” (marmoreio). Eventualmente é excessivamente magra. Entretanto, tem bom acabamento de gordura subcutânea (FELÍCIO, 1999). Essa característica – distribuição da gordura na musculatura da carne zebuina – proporciona ao consumidor, para alguns cortes carnes, a possibilidade de optar por ingeri-la ou não. Essa é uma opção que a carne marmoreada não oferece.

Perspectivas quanto ao melhoramento da qualidade da carne bovina

Quaisquer que sejam as estratégias metodológicas traçadas para a obtenção do melhoramento da qualidade da carne bovina, dois tópicos bem distintos e sugeridos em polos opostos da cadeia produtiva deveriam ser considerados: a melhoria na qualidade da matéria-

prima e o aperfeiçoamento da tecnologia de processamento industrial da carne.

A ênfase dessa nova metodologia é sobre a análise das características bioquímicas do tecido muscular, tendo como seu marcador a tipologia das fibras musculares. Ou seja, preconiza-se a análise comparativa dos diversos tipos de fibras musculares, por meio da quantificação percentual das diversas isoformas da proteína miosina, cuja maior ou menor expressão tecidual pode ser usada como um marcador do metabolismo muscular, podendo este ser oxidativo ou glicolítico (seção “A tipagem muscular em bovinos”).

A pesquisa científica na área da ciência de carnes tem se dedicado ao estudo comparativo do efeito dos genótipos zebuino (*Bos taurus indicus*) e taurino (*Bos taurus taurus*) sobre a maciez da carne. Contudo, ainda não existe uma suficiente literatura baseada em estudos com a carne de zebuínos brasileiros.

Foi identificada variação genética aditiva para características da carne, em especial a maciez, em bovinos das raças zebuínas no Brasil (SAINZ et al., 2005), justificando a inclusão dessas características ou de características a elas relacionadas nos programas de avaliação genética e de melhoramento genético da raça no País.

A seleção contra a calpastatina vem sendo sugerida já há algum tempo, e trabalhos como o de Shackelford et al. (1994) têm avaliado a possibilidade de selecionar contra a calpastatina. Esse grupo de pesquisadores, ao trabalhar com hipótese de que a seleção contra elevados índices de atividade da calpastatina poderia levar a uma melhora na maciez da carne, direcionou uma pesquisa para determinar a herdabilidade da expressão da calpastatina e sua correlação genética com a maciez (força de cisalhamento), e encontrou valores de 0,65 e 0,53, respectivamente. Os autores concluíram que a seleção para reduzir os níveis de atividade de calpastatina poderia resultar em carne mais macia. Contudo, estudo recente demonstrou que uma isoforma muscular da calpaína, a calpaína 3 (p94), não é inibida pela calpastatina (OUALI; TALMANT, 1990).

Segundo Maltin et al. (2003), não existe um gene para a maciez, mas um processo bioquímico que resulta em maciez.

Diferentemente do marcador calpastatina – uma única proteína que age sobre um dos sistemas enzimáticos –, a identificação e quantificação de fibras musculares resulta em uma determinação de fenótipos celulares distintos, pois as fibras do tipo I diferem geneticamente das fibras do tipo II (FLYCK; HOPPELER, 2003). Consequentemente, todo o metabolismo dessas fibras apresenta marcantes diferenças (Tabela 1). Conforme está descrito a seguir, apenas três isoformas de uma única proteína, a miosina, identificam o tipo da fibra muscular, sendo um preciso marcador da tipologia muscular.

Um exemplo bem-sucedido de seleção genética, voltada para a qualidade da carne, que considera haver uma correlação entre a tipologia muscular e a maciez é a suinocultura (LEBRET et al., 1999).

Portanto, como pouco se conhece – praticamente são desconhecidas – sobre as características bioquímicas do tecido muscular do gado zebu brasileiro, investimentos em pesquisa nas áreas de bioquímica, proteômica e genômica dos tecidos bovinos podem resultar em novas tecnologias aplicáveis à bovinocultura de corte.

Histologia e bioquímica do músculo esquelético

Estrutura

A textura muscular é determinada por três categorias de proteínas: as proteínas do tecido conjuntivo, que é composto principalmente por colágeno, elastina, reticulina e mucopolissacarídeos da matriz; as proteínas miofibrilares, como actina, miosina e tropomiosina; e as proteínas sarcoplasmáticas.

Diferenças moleculares resultam em uma diferenciação macroscopicamente visível, em que vários músculos esqueléticos podem ser classi-

Tabela 1. Características bioquímicas e metabólicas dos quatro tipos de fibras musculares de mamíferos adultos, e a distribuição relativa dos principais substratos metabólicos. Variações espécie-específicas ocorrem invariavelmente.

Característica metabólica	Tipos de fibra muscular			
	I	IIA	IIX	IIB
Isoforma de miosina	<i>MyHC I</i>	<i>MyHC IIa</i>	<i>MyHC IIx</i>	<i>MyHC IIb</i>
Velocidade	+	++	+++	++++
Capacidade oxidativa	++++	+++	++	+
Tamanho	++	++	+++	++++
Fadiga	Resistente	Intermediária	Intermediária	Sensível
Cor	Vermelha	Intermediária	Intermediária	Branca
Glicogênio (substrato)	+	?	+++	++++
Lípido (substrato)	+++	?	?	?

Obs.: o símbolo (?) indica que a distribuição relativa dos metabólitos ainda não está bem esclarecida e exige mais investigações.

Fonte: Chang e Fernandes (1997).

ficados em músculos brancos e vermelhos. Os músculos vermelhos diferenciam-se dos brancos essencialmente pela alta concentração de ferro contido nas globinas, especialmente na mioglobina. São músculos ricos em fibras oxidativas que possuem grande quantidade de mitocôndrias.

As fibras musculares

Uma classificação bastante simples dessas fibras musculares está baseada na sua velocidade de contração, que determina uma diferenciação de duas subpopulações de fibras, sendo uma de contração lenta (tipo I) e uma de contração rápida (tipo II). As fibras do tipo I são capazes de se contraírem repetidamente com uma força moderada. Utilizam preferencialmente ácidos graxos como fonte de energia, são mais finas, e são muito resistentes à fadiga. Já a contração das fibras do tipo II é capaz de produzir muito mais força, pois essas fibras são mais grossas. Contudo, as fibras do tipo II possuem baixa resistência à fadiga, e são ricas em glicogênio (PETTE; STARON, 2001).

A velocidade máxima de encurtamento de uma única fibra muscular está diretamente relacionada às isoformas de miosina (*MyHCs*) que nela

predominam e à inervação eferente terminal dessa fibra (FLYCK; HOPPELER, 2003). Na fibra do tipo I predomina a isoforma *MyHC I*, enquanto na fibra do tipo II predomina a isoforma *MyHCs II*.

Em mamíferos foram caracterizados quatro tipos básicos de fibras musculares: as fibras do tipo I, que são lentas, oxidativas, aeróbias e expressam a *MyHC I*; e as fibras do tipo II – subdivididas em IIA, IIB e IIX –, que expressam diferentes isoformas da proteína miosina (Tabela 1) As fibras IIA são glicolíticas, aeróbias, rápidas, medianamente resistentes à fadiga e expressam a isoforma *MyHC IIa*. As fibras IIB são glicolíticas anaeróbias, rápidas, conseguem sustentar a força por muito pouco tempo e expressam a isoforma *MyHC IIb* (BAR; PETTE, 1988; PETTE; STARON, 1990; SCHIAFFINO; REGGIANI, 1994). Em músculos de ratos e camundongos, e também em lhamas, equinos e bovinos, uma quarta isoforma de *MyHC* e, conseqüentemente, um quarto tipo de fibra foram encontrados. A *MyHC IIx* é expressa nesses animais e configura a fibra muscular do tipo IIX, que possui características metabólicas e funcionais intermediárias entre as fibras IIA e IIB (CHANG; FERNANDES, 1997; LARSSON et al., 1991).

O músculo esquelético é um tecido extremamente heterogêneo e possui a capacidade de adaptar-se quando estimulado por diversos fatores, como variações na atividade contrátil; fornecimento de substrato energético; e alterações em fatores ambientais e exercício (FLYCK; HOPPELER, 2003).

O confinamento, diferentemente da livre movimentação em amplos espaços, pode resultar em aumento na expressão das isoformas rápidas (*MyHC IIa* e *IIx*) e, conseqüentemente, em aumento na proporção de fibras dos mesmos tipos, enquanto o pastoreio é uma forma de exercício aeróbico que provoca um aumento nas fibras do tipo I. Já o trabalho de força induz a um aumento nas fibras do tipo II.

Dessa forma, a existência de várias isoformas de *MyHC* significa que as propriedades das fibras musculares podem ser alteradas em resposta a diversos estímulos, por meio da reconstrução das miofibrilas com novas *MyHCs* de atividade mais apropriada para a situação. Porém, mudanças de tipos de fibras são possíveis apenas dentro de uma faixa limitada de adaptabilidade, que é característica para diferentes músculos, raças e espécies.

A tipagem de fibras musculares

A tipagem de fibras musculares leva em consideração características bioquímicas, histoquímicas e funcionais. As técnicas qualitativas para a atividade enzimática da mATPase (GUTH; SAMAHA, 1970), para a NADH diaforase (DUBOWITZ; BROOKE, 1973) e a imunohistoquímica (RIVERO et al., 1996) possibilitam a identificação individualizada de cada tipo de fibra. Contudo, a tipagem por meio de técnicas histoquímicas apresenta imprecisões quanto à exata caracterização bioquímica das fibras musculares (PICARD et al., 2003).

Além da tipagem das fibras musculares, outras técnicas permitem a quantificação do conteúdo dos diversos tipos de miosina do tecido muscular: por meio da eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) e, mais recen-

temente, do método de ELISA (BARREY et al., 1995). A expressão das *MyHCs* também pode ser estudada por meio de *immunoblotting* (RIVERO et al., 1999) e hibridização *in situ* (CHANG; FERNANDES, 1997). Todas essas técnicas constituem um repertório de técnicas para o estudo da plasticidade muscular.

A tipagem muscular em bovinos

O músculo esquelético bovino é composto de três tipos puros de fibras musculares, as fibras dos tipos I, IIA e IIB, que expressam, respectivamente, as isoformas da cadeia pesada de miosina *MyHC I*, *MyHC IIa* e *MyHC IIb*. A isoforma *MyHC IIx* também é expressa em pequena quantidade (Figura 1). Essa isoforma é abundante em roedores. Apesar de a técnica histoquímica para a mATPase ter sido desenvolvida na década de 1970 (BROOKE; KAISER, 1970), não existe na literatura nenhuma publicação que descreva a tipologia muscular de qualquer raça zebuína nacional. Os experimentos que descrevem características intrínsecas da carne zebuína foram feitos, em sua grande maioria, na raça Brahma e seus mestiços.

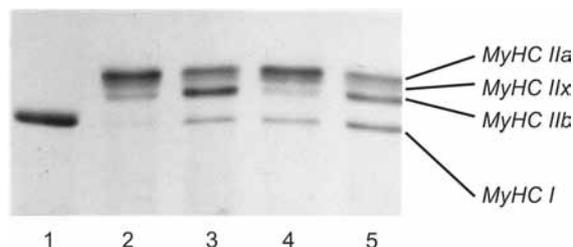


Figura 1. Isoforma de miosina (*MyHCs*) em músculos de bovinos taurinos adultos.

Obs.: 1- masseter; 2- semitendinoso; 3- tríceps braquial; 4- longissimus torácico; 5- bíceps femoral.

Fonte: Picard et al. (1999).

A bioquímica da carne

O metabolismo muscular e a qualidade da carne

Depois do abate, a atividade metabólica residual do músculo provoca a degradação do

glicogênio em lactato, que se dissocia em ácido láctico. Além de provocar grande abaixamento do pH, uma alta concentração intracelular de glicogênio é responsável por uma alta capacidade de retenção de água. Os lipídeos intramusculares também contribuem para a manutenção da suculência da carne e proporcionam sabor. O estado redox dos pigmentos musculares é responsável por diversas tonalidades de cor, enquanto o colágeno contribui para a textura da carne.

A contribuição dos diversos metabólitos musculares na determinação das propriedades

organolépticas da carne está esquematizada na Figura 2. Neste esquema, a responsabilidade pela maciez da carne é preponderantemente atribuída às fibras musculares.

A influência da tipologia muscular sobre a qualidade da carne

A carne de diversos músculos de uma carcaça apresenta intrínsecas diferenças de qualidade. Algumas dessas diferenças são consequências de variações nas quantidades e

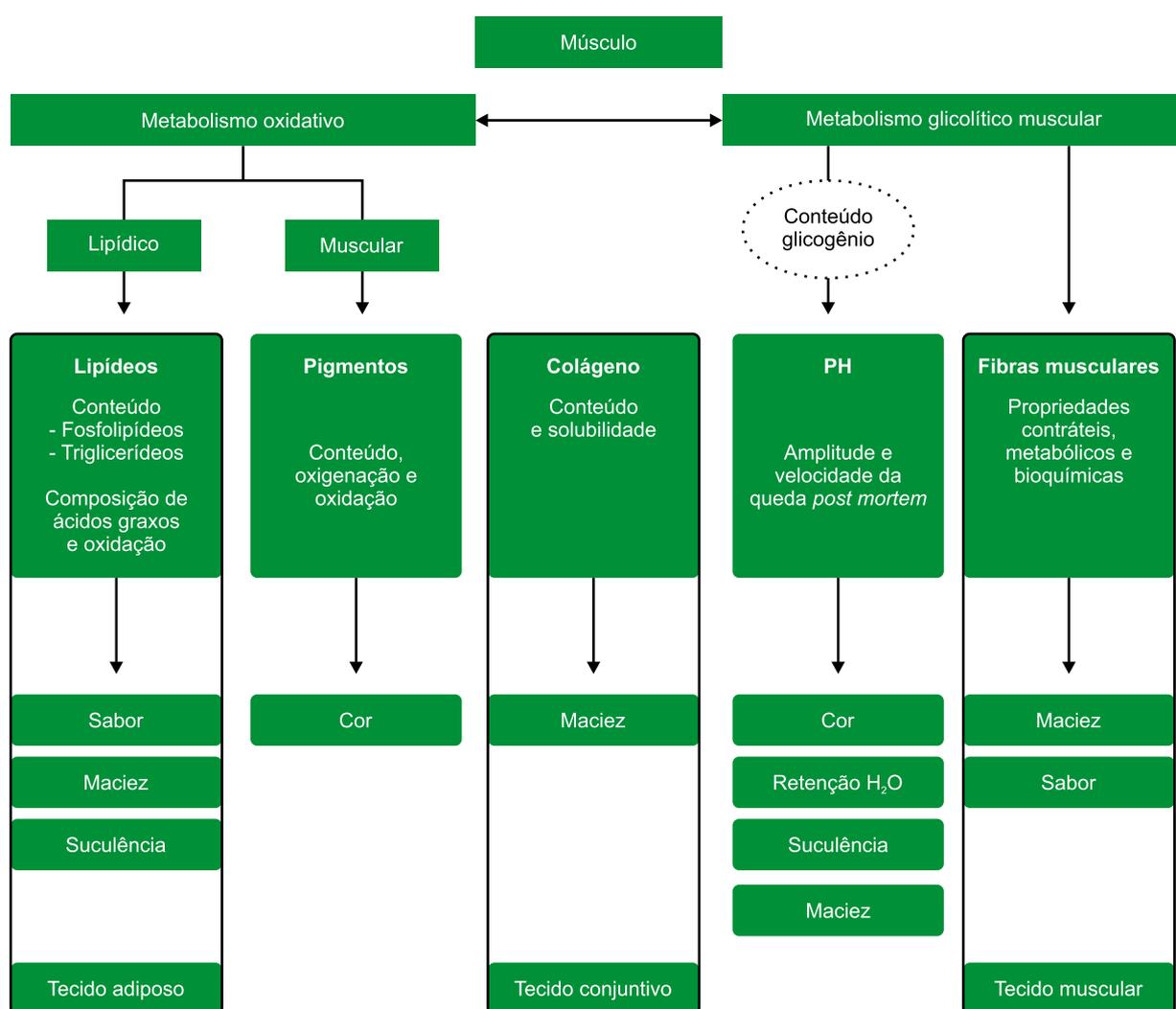


Figura 2. Relações entre o metabolismo energético muscular, os tecidos componentes e as características musculares determinantes da qualidade organoléptica da carne.

Fonte: modificado de Hocquette et al. (2000).

tipos de colágeno. Entretanto, a mais importante causa dessas variações na qualidade da carne é a composição percentual relativa dos diversos tipos de fibras que constituem 95% da massa muscular (LEBRET et al., 1999; HOCQUETTE et al., 2000). As fibras vermelhas oxidativas e brancas glicolíticas possuem marcantes diferenças metabólicas e bioquímicas que influenciam a qualidade da carne. As mais importantes diferenças são: a velocidade e a extensão da queda do pH *post mortem*; as concentrações de lipídeos, antioxidantes (como a vitamina E), glicogênio e intermediários glicolíticos; e diversas atividades enzimáticas músculo-específicas, como as proteases (CHANG; FERNANDES, 1997).

No tecido muscular, as isoformas de *MyHC* são consideradas marcadores dos diversos tipos de fibras, pois a atividade de ATPase da cadeia pesada da miosina está diretamente ligada à velocidade de contração da fibra muscular, e indiretamente relacionada com o metabolismo energético intracelular. As fibras do tipo II, especialmente a do tipo IIX, em outras espécies de interesse zootécnico, especialmente os suínos, estão relacionadas à maciez da carne (LEBRET et al., 1999). Portanto, conhecer a tipologia muscular do gado zebu é uma ferramenta metodológica indispensável para elucidar as razões da “dureza” intrínseca de caráter hereditário da carne desse gado.

Em suínos foi demonstrado que o cruzamento de raças com alta concentração de fibras do tipo IIX, e cuja carne é macia, com outras raças que apresentam menor maciez da carne (menos fibras tipo IIX) é uma estratégia que resulta em melhoria na qualidade da carne (LEBRET et al., 1999).

Raças bovinas que apresentam músculo duplo, como a Belgian Blue, trazem uma deleção do gene responsável pela expressão da proteína miostatina. Essa mutação tem como consequência a hipertrofia, por hiperplasia, das fibras musculares, e essa é a mais marcante característica dessas raças, que pode ser explicada pela alta porcentagem relativa das fibras do tipo II, especialmente a do tipo IIX (TAYLOR, 2003),

e que certamente está relacionada à alta maciez de sua carne.

Evidências bioquímicas da influência da tipologia muscular sobre a maciez da carne

- As fibras musculares do tipo II apresentam maior atividade *post mortem* da calpaína (OUALI; TALMANT, 1990), favorecendo a proteólise e o amaciamento.
- As fibras tipo II apresentam maior conteúdo de glicogênio (HOCQUETTE et al., 2000), favorecendo o abaixamento do pH, liberando cálcio e ativando as proteases.
- O glicogênio é uma molécula hidratada que proporciona à fibra do tipo II uma maior retenção de água, que muito provavelmente está relacionada à succulência da carne.
- As fibras tipo II (IIA), em equinos, apresentam maior expressão da enzima óxido nítrico sintase, cujo produto, óxido nítrico, modula a abertura dos canais de cálcio do retículo sarcoplasmático, ativando a proteólise, e pode estar relacionado ao amaciamento (GONDIM, 2004; GONDIM et al., 2005).
- Os discos Z dos sarcômeros das fibras do tipo I são mais espessos que os das fibras do tipo II (USTUNEL; DEMIR, 1997). Essa diferença pode significar uma proteólise mais demorada.
- A baixa atividade da miostatina em bovinos, responsável pela ocorrência do músculo duplo, cuja maciez é elevada, acarreta uma alta ocorrência de fibras do tipo II em sua musculatura (SHARMA et al., 2001).
- A musculatura esquelética de animais jovens – uma carne que apresenta alta

maciez – possui uma alta quantidade de fibras do tipo IIX (BARREY, 1994).

- A musculatura de animais velhos – carne que apresenta dureza – apresenta alta quantidade de fibras oxidativas do tipo I (BARREY, 1994).
- Na espécie equina foi diagnosticada uma alta herdabilidade para as fibras do tipo I (BARREY et al., 1999).

A proteólise do músculo

Fatores *ante mortem*, especialmente as reservas de glicogênio e cálcio, atuam de maneira direta ou indireta sobre os sistemas enzimáticos musculares endógenos. São quatro os sistemas enzimáticos já estudados e que estão envolvidos na proteólise da carne.

O principal mecanismo ou sistema relacionado com a maciez é o das calpaínas, tiol proteínases produzidas pelos músculos na forma de proenzimas e que são ativadas pelo cálcio. Esse sistema é absolutamente dependente de cálcio e é constituído por três isoenzimas principais, conhecidas por: μ -calpaína ou calpaína tipo I (enzima que requer baixos níveis – μM – de cálcio); m -calpaína ou calpaína tipo II (enzima que requer níveis mais elevados – $m\text{M}$ – de cálcio); e calpaína III, que não é inibida pela calpastatina (OUALI; TALMANT, 1990).

Um segundo sistema é o das catepsinas, que também são, em sua maioria, tiol proteínases pertencentes à família das papaínas, e que permanecem retidas no interior dos lisossomos. Uma importante característica dessas catepsinas é que elas atuam até em pH mais baixo ($\text{pH} < 6,0$) que aquele das calpaínas, e não só degradam proteínas miofibrilares, como também atuam sobre as proteínas do tecido conjuntivo (colágeno), o que pode indicar um sinergismo entre os dois sistemas (MALTIN et al., 2003).

O terceiro sistema conhecido é o complexo multicatalítico de proteínases (MCP), que atua preferencialmente em peptídeos, em pH neutro ou alcalino, e à temperatura de 45°C , apresen-

tando, por isso, pouca importância (MALTIN et al., 2003).

O quarto sistema é composto pelas metaloproteínases (MMP). Essas enzimas são responsáveis pela degradação do colágeno. O aumento *post mortem* de sua atividade é desejável e está relacionado à maciez da carne (MALTIN et al., 2003).

O efeito das proteases sobre a maciez da carne

As calpaínas são enzimas citosólicas e estão livres no sarcoplasma. Logo depois do abate, os níveis citosólicos de cálcio começam a se elevar em virtude da liberação de íons cálcio (Ca^{2+}) do retículo sarcoplasmático que ativa as calpaínas.

Uma proteína que está relacionada à proteólise da carne e que já foi suficientemente bem estudada é a desmina. A desmina é responsável pelo alinhamento dos discos Z, e também liga os miofilamentos aos costameres da sarcolema. Outra proteína sarcomérica que sofre uma ação proteolítica das calpaínas é a titina. A titina une a linha Z à linha M, e é constituída por duas porções. Uma parte da proteína está intimamente associada ao filamento grosso sarcomérico composto por miosina, e a outra liga a extremidade do filamento grosso à linha Z. Essa porção da titina possui grande elasticidade.

O radical livre óxido nítrico (NO), um sinalizador celular descoberto em 1992 (BRETT, 2003), cujo estudo resultou em um prêmio Nobel de medicina, é um importante regulador da contração muscular. No músculo esquelético, o NO produzido pela isoforma neuronal da enzima óxido nítrico sintase (nNOS) se liga aos receptores de rianodina dos canais de cálcio do retículo sarcoplasmático, provocando sua abertura. A liberação de cálcio por meio desse mecanismo certamente favorece a proteólise. Um estudo comparativo entre a tipagem muscular em equinos e a expressão da nNOS mostrou que, nessa espécie, assim como ocorre em ratos, as fibras do tipo IIA apresentam maior expressão

dessa enzima (GONDIM, 2004; GONDIM et al., 2005).

Por que a carne zebuína é comparativamente “dura”?

O principal argumento com comprovação científica, e com resultados obtidos também em gado brasileiro, é uma mais alta atividade da calpastatina no músculo do gado zebu (RUBENSAM et al., 1998). Entretanto, a calpaína 3 não é inibida pela calpastatina (SPENCER; MELLGREN, 2002). A baixa maciez da carne zebuína também pode ser explicada pela idade de abate, determinada por ausência ou baixa precocidade, que determina um aumento no número de ligações cruzadas termoestáveis do colágeno muscular (SHACKELFORD et al., 1994). Contudo, a quantidade e a solubilidade do colágeno apresentam dados contraditórios, pois Whipple et al. (1990) demonstraram não ocorrer essa diferenciação entre taurinos e zebuínos.

O emprego da metodologia de tipagem muscular no estudo da qualidade de carnes trabalha com a hipótese de que uma característica – proporção dos diversos tipos de fibras musculares – determina o baixo grau de maciez da carne zebuína.

Considerações finais

Um programa nacional de incentivo à produção de carne de qualidade tanto para a exportação quanto para o consumo interno deve incorporar o atributo extrínseco da rastreabilidade. A desejada e necessária disseminação da adesão à rastreabilidade bovina patrocinada pelo Mapa, e exigida pelos mercados que melhor remuneram, é fator determinante de acesso a esses mercados. Entretanto, a adesão ao Serviço Brasileiro de Rastreabilidade da Cadeia Produtiva de Bovinos e Bubalinos (Sisbov) – e a consequente aprovação como Estabelecimento Rural Aprovado (ERA) – impõe altos custos ao produtor, que se queixa da falta de garantia de justa remuneração futura.

O desejável sucesso dos programas privados de pagamento de prêmio por qualidade pressupõe diferenciada remuneração para o “Boi Europa”, cujas carcaças rastreadas poderiam/deveriam obter melhor remuneração, caso houvesse o atrelamento do programa Sisbov ao mecanismo das cotas Hilton, operacionalizado pelo MDIC. Dessa forma, a rastreabilidade seria um mecanismo retroalimentador do sistema, sendo construído dentro de elos e em duplo sentido na cadeia, não só oferecendo ao consumidor garantia de qualidade, mas também oferecendo ao produtor garantia de melhor e justa remuneração de suas carcaças tipificadas e exportadas. Sem uma compensatória justificativa financeira, não haverá suficiente adesão à rastreabilidade e, conseqüentemente, haverá baixa habilitação de propriedades para a exportação.

A habilitação para exportação é concedida à propriedade (ERA), enquanto as cotas, aos frigoríficos. Um mecanismo de redistribuição/compensação das cotas Hilton entre as ERAs poderia servir de instrumento “harmonizador” da cadeia, favorecendo o total cumprimento da cota brasileira de 10.000 toneladas e fomentando a seleção genética das raças zebuínas. Uma aliança mercadológica que envolva ministérios (Mapa e MDIC) e entidades representativas de produtores e indústrias (CNA e Abiec, por exemplo) poderia ser incluída na agenda de discussões, em curso, para a criação do Conselho Nacional da Carne Bovina. Os efeitos advindos de inovações tecnológicas a montante e inovações institucionais a jusante, sobre a cadeia da carne bovina, contribuiriam para a construção dessa aliança. É um desafio nacional.

Referências

- BÄR, A.; PETTE, D. Three fast myosin heavy chain in adult rat skeletal muscles. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 235, n. 1/2, p. 153-155, Aug. 1988.
- BARREY, E. Propriétés contractiles des fibres musculaires et performance physique chez les cheval. **INRA Productions Animales**, v. 7, n. 1, p. 41-53, 1994.
- BARREY, E.; VALETTE, J. P.; JOUGLIN, M.; BLOUIN, C.; LANGLOIS, B. Heritability of percentage of fast myosin

- heavy chains in skeletal muscles and relationship with performance. **Equine Veterinary Journal**, Cambridge, v. 31, n. 530, p. 289-292, 1999.
- BARREY, E.; VALETTE, J. P.; JOUGLIN, M.; PICARD, B.; GEAY, Y.; ROBELIN, J. Enzyme-linked immunosorbent assay for myosin heavy chains in the horse. **Reproduction Nutrition Development**, Les Ulis, v. 35, n. 6, p. 619-628, 1995.
- BREDDT, D. S. Nitric oxide signaling specificity – the heart of the problem. **Journal of Cell Science**, Cambridge, v. 116, n. 1, p. 9-15, 2003.
- BROOKE, M. H.; KAISER, K. K. Muscle fiber types: how many and what kind? **Archives of Neurology**, Chicago, v. 23, n. 4, p. 369-379, 1970.
- CHANG, K. C.; FERNANDES, K. Developmental expression and 5' end cDNA cloning of the porcine 2x and 2b myosin heavy chain genes. **DNA and Cell Biology**, Roslin, v. 16, n. 12, p. 1429-1437, 1997.
- DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. H.; NEVILLE, H. E. **Muscle Biopsy: a modern approach**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1973.
- FELÍCIO, P. E. Fatores ante e post mortem que influenciam na qualidade da carne bovina. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C. de; FARIA, V. P. (Ed.). **Produção do novilho de corte**. Piracicaba: Fealq/USP, 1997. p.79-97.
- FELÍCIO, P. E. Uma análise crítica, porém otimista da carne bovina do Brasil Central agropecuário. In: ENCONTRO NACIONAL DO BOI VERDE A PECUÁRIA SUSTENTÁVEL, 1., 1999, Uberlândia. **Anais...** [Uberlândia: Prefeitura Municipal de Uberlândia, 1999?]. p. 111-119.
- FLYCK, M.; HOPPELER, H. Molecular basis of skeletal muscle plasticity-from gene to form and function. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Berlin**, v. 146, p. 159-216, 2003.
- GONDIM, F. J. **Adaptações bioquímicas em fibras musculares esqueléticas de equinos treinados para enduro: correlação entre tipagem muscular e expressão da isoforma neuronal da óxido nítrico sintase**. 2004. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- GONDIM, F. J.; MODOLO, L. V.; CAMPOS, G. E. R.; SALGADO, I. Neuronal nitric oxide synthase is heterogeneously distributed in equine myofibers and highly expressed in endurance trained horses. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 69, n. 1, p. 46-52, 2005.
- GUTH, L.; SAMAHA, F. J. Procedure for histochemical demonstration of actinomyosin ATPase. **Experimental Neurology**, Nova Iorque, v. 28, n. 2, p. 365-367, 1970.
- HOCQUETTE, J. F.; ORTIGUES-MARTY, I.; DAMON, M.; HERPIN, P.; GEAY, Y. Métabolisme énergétique des muscles squelettiques chez les animaux producteurs de viande. **INRA Productions Animales**, Versailles, v. 13, n. 3, p. 185-200, 2000.
- HUFF-LONERGAN, E.; PARRISH, F. C.; ROBSON, R. M.; Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 4, p. 1064-1073, 1995.
- KOOHMARAIE, M.; VEISETH, E.; KENT, M. P.; SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L. Understanding and managing variation in meat tenderness. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD-ROM.
- LARSSON, L.; EDSTROM, L.; LINDEGREN, B.; GORZA, L.; SCHIAFFINO, S. MHC composition and enzyme-histochemical and physiological properties of a novel fast-twitch motor unit type. **American Journal of Physiology. Cell Physiology**. Bethesda, v. 261, n. 1, p. 93-101, 1991.
- LEBRET, B.; LEFAUCHEUR, L.; MOUROT, J. La qualité de la viande de porc: influence des facteurs d'élevage non génétiques sur les caractéristiques du tissu musculaire. **INRA Productions Animales**, Saint-Gilles, v. 12, n. 1, p. 11-28, 1999.
- MALTIN, C.; BALCERZACK, D.; TILLEY, R.; DELDAY, M. Determinants of meat quality: tenderness. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 62, n. 2, p. 337-347, 2003.
- O'CONNOR, S. F.; TATUM, J. D.; WULF, D. M.; GREEN, R. D.; SMITH, G. C. Genetic effects on beef tenderness in Bos indicus composite and Bos Taurus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 7, p. 1822-1830, 1997.
- ORMENESE, F. M. **Efeito do processo Tender Tainer® de maturação sob pressão na maciez da carne bovina**. 1995. 99 f. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- OUALI, A.; TALMANT, A. Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. **Meat Science**, Barking, v. 28, n. 4, p. 331-348, 1990.
- PETTE, D.; STARON, R. S. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. **Reviews on Physiological Biochemistry and Pharmacology**. Berlin, v. 116, p. 1-76, 1990.
- PETTE, D.; STARON, R. S. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. **Histochemistry and cell biology**, v. 115, n. 5, p. 359-372, 2001.
- PICARD, B.; BARBOIRON, C.; DURIS, M. P.; GAGNIÉRE, H.; JURIE, C.; GEAY, Y. Electrophoretic separation of

- bovine muscle myosin heavy chain isoforms. **Meat Science**, Barking, v. 53, n. 1, p. 1-7. 1999.
- PICARD, B.; JURIE, C.; CASSAR-MALEK, I.; HOCQUETTE, J. F. Typologie et ontogenèse des fibres musculaires chez le bovin. **INRA Productions Animales**, Saint-Gille, v. 16, n. 2, p. 125-131, 2003.
- RIVERO, J. L.; SERRANO, A. L.; BARREY, E.; VALETTE, J. P.; JOUGLIN, M. Analysis of myosin heavy chains at the protein level in horse skeletal muscle. **Journal of muscle research and cell motility**, London, v. 20, n. 2, p. 211-21, 1999.
- RIVERO, J. L.; TALMADGE, R. J.; EDGERTON, V. R. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in equine skeletal muscle and the Influence of training. **Anatomical Record**, Philadelphia, v. 246, n. 2, p. 195-207, 1996.
- RUBENSAM, J. M.; FELÍCIO, P. E.; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo *Bos indicus* na atividade de calpastatina e na textura da carne de novilhos abatidos no sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 405-409, 1998.
- SAINZ, R. D.; MAGNABOSCO, C. de U.; MANICARDI, F.; ARAUJO, F.; LEME, P. R.; LUCHIARI, A.; MARGARIDO, R.; PEREIRA, A. S. C.; GUEDES, C. de F. Projeto OB-Choice: genética para melhorar a qualidade da carne brasileira. In: SEMINÁRIO DA MARCA OB, 3., 2005, Cuiabá. **Anais...Cuiabá: OMB**, 2005. ., p.1-17. 1 CD-ROM.
- SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 77, n. 2, p. 493-501, 1994.
- 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 postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 2, p. 857-863, 1994.
- 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. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 1, p. 171-177, 1991.
- SHARMA, M.; LANGLEY, B.; BASS, J.; KAMBADUR, R. Myostatin in muscle growth and repair. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, Indianapolis, v. 29, n. 4, p. 155-158, 2001.
- SPENCER, M. J.; MELLGREN, R. Overexpression of a calpastatin transgene in mdx muscle reduces dystrophic pathology. **Human Molecular Genetics**, Oxford, v. 11, n. 21, p. 2645-2655, 2002.
- TAYLOR, R. G. Meat Tenderness: theory and practice. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 49., 2003, Campinas.. **Anais...**, Campinas, 2003. p. 56-66, 2003. ICoMST.
- USTUNEL, I.; DEMIR, R. A histochemical, morphometric and ultrastructural study of gatrocnemious and soleus muscle fiber type composition in male and female rats. **Acta Anatomica**, v. 158, n.4, p. 279-286, 1997.
- 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. **Journal of animal Science**, Champaign, v. 68, p. 2716-2728, 1990.
-