

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Mecanismo epigenéticos na reprodução, fertilidade e
desenvolvimento bovino**

Lucas de Souza Rosa

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como parte dos requisitos para obtenção do título
de Engenheiro Agrônomo

Piracicaba

2020

Lucas de Souza Rosa

**Mecanismo epigenéticos na reprodução, fertilidade e
desenvolvimento bovino**

Orientador: Prof. Dr. ROBERTO SARTORI FILHO

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como parte dos requisitos para obtenção do título
de Engenheiro Agrônomo

Piracicaba

2020

AGRADECIMENTOS

Ao legado de Luiz Vicente de Souza Queiroz, cujos frutos abençoam nossa pátria,

Aos professores desta Escola, que diligentemente nos conduziram ao saber

Ao povo paulista, cujo esforço susteve a Universidade

À minha família e meus ancestrais, a quem tudo devo

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho para todos aqueles interessados em conhecer as importantes minúcias epigenéticas da vida, sua incrível potencialidade e inexoráveis implicações na realidade pecuária.

EPÍGRAFE

“Se os pais são fortes, os filhos serão fortes.”

(Licurgo, fundador de Esparta)

SUMÁRIO

RESUMO.....	
ABSTRACT.....	
1. INTRODUÇÃO.....	
2. OBJETIVO.....	
3. METODOLOGIA.....	
4. CONCEITUAÇÃO.....	
5. MECANÍSTICA DAS BASES MOLECULARES.....	
6. REVISÃO DE ESTUDOS.....	
7. ENTREVISTA DIRECIONADA.....	
8. CONCLUSÕES.....	
9. REFERÊNCIAS.....	

RESUMO

Mecanismos epigenéticos na reprodução, fertilidade e desenvolvimento bovino

Diante das novas descobertas da área da epigenética, pesquisas foram feitas com o objetivo de determinar a correlação de marcações do epigenoma com alterações na expressão gênica, cujos potenciais consequências no fenótipo são de interesse científico e pecuário.

O presente trabalho trata de uma revisão bibliográfica de artigos relacionados ao tema e uma entrevista com profissionais relacionados à produção pecuária sobre percepções fenotípica e de desenvolvimento bovino com íntima correlação à atividade epigenética.

Palavras-chave: Epigenética bovina, reprodução assistida, marcas epigenéticas, epigenoma

ABSTRACT

Epigenetic mechanisms in reproduction, fertility and development of cattle

Due to the new findings on the epigenetic field, researches have been made with the aim to discover the relationship between marks of the epigenome and alterations in the gene expression, whose potentials for the phenotype may be of animal husbandry and scientific interest.

The present work consists in a bibliographic review of articles with the subject of bovine epigenetic and an interview with professionals related to these areas of study concerning their personal perception of phenotypes and bovine development factors closely related to epigenetic activity.

Keywords: Bovine epigenetics, bovine assisted reproduction, epigenome, epigenetic marks

1 – INTRODUÇÃO

As recentes descobertas dos mecanismos epigenéticos aprimoraram significativamente a compreensão da expressão gênica e os mecanismos de sua natureza, que excedem o modelo mendeliano. As primeiras expectativas do estudo epigenético neste século, crescentes após os desenvolvimentos inconclusivos do Projeto Genoma Humano que esperavam encontrar nos *loci* dos genes todas as respostas biológicas, consistiam, principalmente em explicar os fatores do desenvolvimento celular tumoral, problemas nas recombinações gaméticas, desenvolvimento embrionário defeituoso (sendo estes três temas muito importantes para a ciência da reprodução assistida), síndromes e, em geral, desordens metabólicas comuns aos seres vivos, de caráter potencialmente herdável através de mecanismos mitóticos, meióticos ou transgeracionais. Ao decorrer dos estudos dos mecanismos epigenéticos as hipóteses científicas foram confirmando-se na correlação entre os marcadores epigenéticos e as expressões fenotípicas avaliadas, dando respaldo àquilo que consistia em somente especulações teóricas não comprovadas pelas passadas gerações de geneticistas. Assim, uma nova fronteira do estudo da genética abria-se para a comunidade científica, especialmente àqueles relacionados ao estudo da fertilidade e reprodução humana ou animal (Niciura et al., 2015).

A crescente realidade do emprego de tecnologias de reprodução assistida na produção pecuária trouxe especulações científicas correspondentes às premissas já demonstradas sobre as condições epigenéticas das células germinativas decorrentes do uso dos métodos de inseminação artificial, manipulação de óvulos e produção de embriões, utilizados tanto em seres humanos ou nos muitos testes com roedores, indagando se os mecanismos ativados ou inativados nos ambientes artificiais das biotecnologias utilizadas seriam os mesmos dos ambientes orgânicos dos seres vivos, e por conseqüências, se a configuração alteradas das marcações do epigenoma ocasionaria alguma forma prejudicial a expressão gênica do ser (Skinner et al.,

2008). A partir desta discussão, inúmeros artigos e experimentos científicos avaliaram tais condições, seja na expressão fenotípica subsequente ou através do sequenciamento gênico com comparações de marcadores epigenéticos, trazendo o entendimento a grande relevância deste estudo para as práticas de reprodução zootécnica e cuidados na criação dos animais de interesse (Niciura et al., 2015). A compreensão desta área de estudo correlata à genética firma-se principalmente através da análise dos marcadores epigenéticos, resultados de toda a complexa rede de mecanismos de ativação/inativação gênica, determinantes, por exemplo, para importantes recursos bioquímicos definidores das relações metabólicas do animal e de seus órgãos com o ambiente, sendo já corretamente correlacionados para determinar fatores como o pH do Rúmen, composição nutricional e organoléptica do leite, perfil hormonal, atividade transcriptômica, hábitos comportamentais, bem-estar animal, fertilidade da progênie, qualidade das células reprodutivas e quaisquer expressões fenotípicas detectáveis pelas atuais tecnologias (Xie et al., 2011).

Sendo grande o potencial do estudo epigenético para o melhoramento animal, abrangentes os focos de pesquisa a serem propostos, e, tendo muito das conclusões científicas obtidas destes estudos implicações diretas para práticas de reprodução ou de criação animal, considero necessário uma ampla e atual revisão bibliográfica do tema, bem como uma pesquisa que possa aferir o estado atual da compreensão deste assunto pelos profissionais das áreas da pecuária e reprodução assistida de animais.

2 - OBJETIVO

Intenta a presente monografia de Trabalho de Conclusão de Curso realizar uma revisão de literatura sobre o tema de “Mecanismos epigenéticos na reprodução, fertilidade e desenvolvimento bovino”, para maior disseminação e compreensão deste tema na comunidade científica de ciências agronômicas em âmbito nacional. Com o respaldo teórico dos consensos científicos da biologia desta área de estudo, o presente trabalho põe-se a realizar também uma pesquisa sobre o conhecimento geral de profissionais de ramos relacionados a esta linha de estudo através de um formulário enviado a produtores de pecuária, centros de reprodução assistida de animais e veterinários, e, por último, determinar as possibilidades de futuras pesquisas desta área.

3 – METODOLOGIA

Serão estudados os principais mecanismos epigenéticos conhecidos e analisados os principais trabalhos científicos sobre a temática, em ordem de relevância e atualidade, definido pelo impacto na comunidade científica por cada qual causado, cujas interpretações irão compor as explicações teóricas da monografia, objetivando, assim, o desenvolvimento de conclusões e raciocínios lógicos pertinentes ao assunto.

A apresentação dos argumentos dos estudos será guiada pelas seguintes importâncias:

- 1 - Relação com as Tecnologias de Reprodução Assistida e protocolos de Inseminação Artificial;
- 2 – Importância para a melhoria de práticas pecuárias e agronômicas
- 3 – Discussão sobre as possibilidades de pesquisa e futuros desenvolvimentos da área
- 4 – Profundidade científica da pesquisa

Quanto à pesquisa a ser realizada com profissionais de áreas pertinentes à área da epigenética bovina, esta será feita através de um questionário *online* a ser enviado para os diversos entrevistados. A interpretação dos resultados será posteriormente feita.

A partir de todas estas informações relacionadas, serão feitas conclusões sobre as tendências de futuras pesquisas na área de epigenética bovina.

4 – CONCEITUAÇÃO

A epigenética é essencialmente definida como os processos de alteração da expressão gênica ocasionados por alterações bioquímicas e estruturais na cromatina, promovidas por atividades dos componentes integrantes de suas funcionalidades, sem a ocorrência direta de mutações na base do DNA.

Esta definição implica, naturalmente, na capacidade de alteração do fenótipo pelas marcações epigenéticas, e estas, estudadas a seguir, são uma complexa rede de ativação e inativação das sequências gênicas capazes de interagir entre si e com o ambiente celular.

A etimologia do termo, neologismo cunhado nos anos 40 por Conrad Waddington, denota uma influência de ordem superior na expressão gênica (“epi” em grego significando “acima”), que pode conduzir o desenvolvimento e diferenciação celular.

Eventos epigenéticos notórios e de grande relevância ao desenvolvimento de seres vivos compreendem os seguintes tópicos: a inativação do cromossomo X nas fêmeas humanas através de uma densa compactação (Panning et al., 1998), objetivando uma dosagem gênica harmônica na transcrição; a aparição de marcas epigenéticas aberrantes em células cancerígenas, fator que demonstra sua coadunação com eventos mutagênicos, por vezes oriundos de processos de epimutação (Gicquel et al., 2005); a capacidade transgeracional de herança da configuração do epigenoma dos progenitores, além das capacidades de transmissão mitótica e meiótica na replicação e recombinação das células; a diferenciação ou desdiferenciação celular, sendo a primeira natural no desenvolvimento biológico, com especial atividade a partir da fecundação e embriogênese, e a segunda, importante para estudos de células-tronco e cânceres, este último vale-se também deste processo, possibilitado por alterações no padrão epigenético celular.

Uma das perguntas iniciais a serem feitas para a compreensão da epigenética é: como a célula do zigoto fecundada, vindo a tornar-se o embrião, portadora de todo o código genético do indivíduo recém-criado, pode gerar uma multiplicidade de tipos celulares?

Esta pergunta simples foi respondida de forma diferente ao longo dos séculos, partindo desde princípios pré-formacionistas, no qual o zigoto seria de uma constituição completa quanto ao fenótipo do vindouro ser, havendo somente de expressar sua natureza ao longo do tempo, independente de condições ambientais, passando para visões mais acuradas de base evolucionista, no qual compreendia-se que o código genético base daria início à vida, diferenciando-se, então, nos diversos tecidos por ordem exclusiva da transcrição e tradução, para chegar, finalmente, em uma percepção mais sofisticada na qual demonstra-se como estruturas genéticas podem ser alteradas pela operação de seus componentes organizadores influenciados por condições ambientais.

A seleção da expressão gênica ocorre por dois fatores, uma própria da sequência de uma linhagem genética específica, relacionado ao tecido e a uma formação comum, conduzido por fatores de transcrição específicos, cujos promotores tratam de ativar ou silenciar a expressão de genes particulares, e a segunda, de natureza epigenética, que em um contexto de informações maiores expressa-se em marcas epigenéticas no genoma.

A epigenética trata-se de mecanismos de ativação ou silenciamento de partes do genoma herdáveis ao longo do desenvolvimento celular ou linhagem de descendentes, majoritariamente reguladores de processos de diferenciação celular, operados também de forma especial na formação gamética e embrionária, de potencial relativo às mudanças ambientais em diferentes níveis biológicos e sociais. A compreensão científica deste processo mostra como as estruturas e reações bioquímicas presentes na transcrição do genoma em RNA, na modificação de componentes da tradução e as variações da cromatina podem ser alteradas por processos denominados epigenéticos, ocasionando mudanças fenotípicas aparentes até a sutilezas no

metabolismo dos órgãos e tecidos. Tais mudanças podem ocorrer tanto a um ser vivo durante sua existência como podem ser herdadas aos descendentes, excedendo as reprogramações comuns aos processos de formação de gametas, desenvolvimento embrionário e gestação. A genética clássica mendeliana prevê somente mutações gênicas nas sequências de bases e recombinações gaméticas como as causadoras das variações das expressões fenotípicas, porém, a epigenética identifica como o fator ambiental pode desencadear mecanismos de regulação da expressão gênica passíveis de serem herdados e da consequente expressão do fenótipo.

Os inícios dos estudos desta área remetem à década de 1940, quando Conrad Hal Waddington, procurando entender os mecanismos de controle gênico no desenvolvimento embrionário, realiza experimentos com *Drosophila melanogaster* nos quais eram identificadas alterações fenotípicas herdáveis decorrentes de mudanças ambientais e/ou alelos mutagênicos. Estudando o fenótipo no qual estavam ausentes veias transversais nas asas deste inseto, Conrad descobre que a causa para esta condição poderia ser explicada tanto por um alelo mutante ou por exposição da pupa a um choque térmico quente. Assim, Waddington identifica como um estímulo externo foi sucedido por uma alteração fenotípica que manteve-se ao longo das gerações descendentes através de um gene estável, denominando o processo como *assimilação genética*. De forma semelhante, outro experimento, realizado com esta mesma espécie, que consistia na exposição de embriões à substância éter, um fenótipo aberrante de tórax duplo e quatro asas, diferentemente das duas asas comuns a todos insetos *Diptera*, fora gerado com capacidade transgeracional em linhagens selecionadas. Concluiu-se que, mesmo havendo alguma sugestão de um efeito *lamarckiano*, a justificativa principal era a propagação de um novo fenótipo originado por um alelo estabilizado dos genes, induzidos por estímulo ambiental. A partir destas novas percepções, pavimentou-se os primeiros caminhos do estudo da epigenética.

O gradual esclarecimento do fator epigenético em seres de ordens superiores, como os mamíferos, desenvolveu-se também pelas

indagações sobre as diferenças fenotípicas de gêmeos monozigóticos ao longo do desenvolvimento, notavelmente em doenças e até mesmo comportamentos sociais (Bell et al., 2011).

Outra evidencia recente deste mecanismo está na aparente modificação fenotípica ocasionada pela feralização de porcos domésticos, no qual estes ganham novamente seus hábitos selvagens, cerdas espessas e diferentes feromônios. Considerando as linhagens suínas domésticas resultados de milênios de atividade pecuária, justificava-se as diferenças fenotípicas entre os porcos selvagens dos domésticos unicamente por ordem da seleção genética dos sucessivos cruzamentos selecionados interespecíficos, porém, com as recentes aparições de rebanhos de javalis selvagens em áreas não endêmicas de sua expansão originária, como na América do Sul, provam que as alterações fenotípicas são relativas também às respostas da regulação genética relativa ao ambiente. Um estudo conduzido na China (Li, et al. 2016) comparou a sequência gênica H19, responsável por desenvolvimento muscular, entre linhagens de porcos domésticos com raças selvagens de diversos biomas e provou que, mesmo estando sem significativas mutações ao longo do processo evolutivo, as diferenças dos padrões de metilação desta região de genes são responsáveis pelas mudanças fenotípicas de diferenciação racial.

Outro caso bem conhecido em humanos trata-se da tendência de desordens metabólicas como diabetes em filhos de pais obesos, pois os hábitos destes desencadearam a metilação de genes que regulavam de forma sadia a produção de insulina e hormônios como a grelina, sinalizador do apetite (Farias et al., 2018). Entende-se também que a ocorrência de cânceres seja resultado de ausência ou corrupção dos mecanismos epigenéticos.

Havendo os esforços de melhoramento genético animal nas últimas décadas explorados extensivamente os alelos de linhagens selecionadas e mapeando os genótipos favoráveis às atividades humanas, o estudo da epigenética mostra-se como uma nova fronteira para descobrir as possibilidades da expressão genética dos seres vivos com possíveis implicações para nossa realidade.

Finalizando esta conceituação, o entendimento de que domesticação não se trata de uma rua sem saída para a evolução das espécies corrobora-se pelos mecanismo epigenéticos.

5 – MECANÍSTICA DAS BASES MOLECULARES

Os mecanismos epigenéticos conhecidos são a metilação e desmetilação do DNA, alterações de ligações das histonas, através de fosforilação, metilação e acetilação e ocorrências de RNA não-codante, majoritariamente micro RNA, cujas consequências são alterações na expressão gênica, passíveis de serem herdadas ou não, a formação do imprinting genômico, sem consequências diretas na promoção de mutações na cadeia gênica original.

A seleção da expressão gênica ocorre por dois fatores, uma própria da sequência genética de uma linhagem celular específica, relacionado ao tecido em formação, sendo conduzido por fatores de transcrição específicos pré-estabelecidos nos eventos de replicação, e a segunda, de natureza epigenética, que em um contexto de informações ambientais maiores expressa-se em marcas epigenéticas no genoma cujos promotores tratam de ativar ou silenciar a expressão de genes particulares, relacionando-se também com a formação comum do ambiente tecidual vizinho.

Tratando a seguir das marcações epigenéticas, menciono uma analogia de Marnie Blewitt oportuna para compreendê-las, que é associá-las com marcas de pontuação gramatical, pelas quais se faz compreensível a disposição e formatação das palavras, separadas por espaços, pontuações e acentuações, pois o código genético é disposto em um ordenamento pelo epigenoma.

Metilação

A metilação trata-se de um mecanismo de inibição da expressão gênica ocasionada pela adição de um grupo metil à região do DNA, sucedida pela DNA *de novo* metiltransferase (DNMT1, responsável pela manutenção da metilação, e DNMT3a e DNMTb, presentes no processo de diferenciação de células embrionárias) que obteve um grupo metil de moléculas SAME (S-Adenosil metionina). Em mamíferos, principalmente, observa-se que as maiorias das ilhas de nucleotídeos CpG, Citosina

ligada a Guanina por meio de um fosfato, estão sob efeito de metilação. Sua ocorrência nas ilhas de CpG está associada com uma formação de cromatina condensada, que juntamente de outros fatores silenciadores exercem função repressora da transcrição.

A desmetilação, processo reverso a este, também ocorre em equilíbrio necessário para o desenvolvimento saudável do ser vivo, sendo esta promovida pela enzima de translocação TET, muito presente nas reprogramações e gestação, relacionada a 5-hidroximetilcitosina, que retorna os nucleotídeo à conformação original.

Regiões intergênicas e elementos repetitivos são também são alvos importantes da metilação cujo objetivo também serve, ao silenciar o gene, para evitar recombinações ilegítimas.

Processos de metilação podem desencadear ocorrências de epimutação, na qual uma citosina metilada (5-metil-citosina) transforma-se em timina após perder a ligação com o grupo amina.

Sabe-se que o desbalanço destes mecanismo ocasiona ou agrava tumores cancerígenos, em sua maioria sucedidos em condições gerais de hipometilação e metilação de genes supressores de tumor. A identificação de padrões de metilação disruptivos é indicativo de cânceres em muitos dos casos.

Modificações das zonas caudais das histonas e da cromatina

As histonas são estruturas proteicas que condensam ou liberam a fita do DNA sendo esta sua função susceptível à causa epigenética. Passível das reações de acetilação, ubiquitinação, fosforilação e metilação nas histonas H1, H2a, H2b, H3 e H4, formadoras do octâmero do nucleossomo, sua ação permissiva desenrola a fita do código genético e a ação repressiva o condensa.

As regiões de suas estruturas passíveis do mecanismo epigenético são suas zonas caudais N-terminal, que ao exceder o nucleossomo dispõe-se para ligações químicas e se torna acessível para proteínas da cromatina. Sua carga eletrostática positiva devido à lisina e arginina tem afinidade com a fita do DNA, fator naturalmente correlato com a

condensação do código genético, sendo somente alteradas quando enzimas da cromatina ligam-se das várias formas nesta terminação. As histonas, quando vistas em um ordenamento conjunto (Figura 1), promovem alterações na cromatina, cujas variações são relativas em maior intensidade às fases de replicação e recombinação celular. Há para este ordenamento da cromatina disposições das histonas em fibras senoidais que agrupadas por proteínas de Scaffold geram as conformações de cromatina bem visíveis e agrupadas como em fases da metáfase

Devido a numerosa quantidade de condições epigenéticas das histonas e suas diversas categorias, referem-se como o Código das Histonas a interação promovida na expressão gênica pela modificação de sua interação com a fita do DNA. Este código tem importante correlação com a epigenética e mostra-se muito relativo a condições ambientais tais como o ciclo circadiano. (Whitelaw et al., 2016)



(Figura 1. Fonte: *University of Tennessee and ORNL researchers Ada and Don Olins discovered the nucleosome by electron microscopy in the 1970s, publishing their results in a 1974 issue of Science. Image credit: Ada Olins and Donald Olins, University of Tennessee/Oak Ridge Graduate School of Biomedical Sciences*)

RNA's não codificantes

Os RNA's não codificantes são mecanismos de regulação gênica pós-transcricional pois funcionam como entreposto da primeira transcrição

ao RNA mensageiro que resultará na expressão proteica. Há mais de trinta e cinco mil destes já identificados com suas específicas atuações, dentre estes, os long non-coding RNA's, por exemplo, estão relacionados na inativação do cromossomo sexual X, e os micro RNA's, compostos por vinte e dois nucleotídeos, atingem os mais diversos alvos, direcionando enzimas para sítios do genoma. Outros, tais como os piRNA's direcionam o maquinário epigenético.

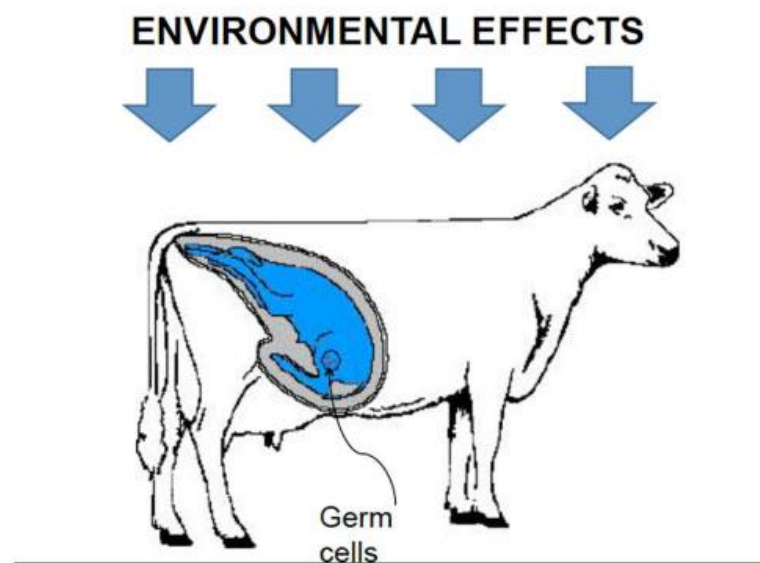
Estudos da reprodução identificaram que muitos RNA's não-codantes atrelam-se ao espermatozóide quando este passa pelo epidídimo, conferindo a cada um características diferenciadas (Smith, 2012).

6- REVISÃO DE ESTUDOS

Início as análises dos trabalhos pela revisão “The use of epigenetic phenomena for the improvement of sheep and cattle” de Goddard e Whitelaw, 2014, no qual discute-se como o conhecimento adquirido em epigenética pode contribuir para a melhoria de índices zootécnicos, como o ganho genético.

As mudanças epigenéticas consideradas pelos autores como mais importantes ao melhoramento animal são as de caráter transgeracional, visando a formação de linhagens cujos tratamentos ambientais de potencial alterador do padrão epigenético favoreçam uma expressão fenotípica desejada e que possivelmente acumulem tais características ao longo das gerações por efeito de assimilação genética, porém tais eventos são difíceis de detecção em mamíferos de grande porte, tendo somente sido evidenciadas em experimentos com transgenes em ratos obtidos por cruzamentos endogâmicos e estendendo-se a poucas gerações descendentes (Goddard et al., 2014). As marcas da epigenese ocorridas ao longo do ciclo de vida do mamífero são majoritariamente perdidas nos eventos de reprogramação epigenética das células espermáticas, dos oócitos e no desenvolvimento do embrião, isto porque são necessárias grandes transformações celulares no ciclo reprodutivo e gestação, demandando expressões genéticas altamente específicas ou transitórias. As marcas epigenéticas que superam tais processos são, portanto, transgeracionais e sabe-se que muitas destas tem um perfil de epimutação, principalmente na transformação de citosinas metiladas em timinas (Goddard et al., 2014). Heranças transgeracionais ocorrem quando a descendência, que não participou dos eventos ambientais iniciais que desencadearam as mudanças das marcas epigenéticas, continua a manifestar em seu fenótipo a expressão desta regulação gênica específica. Sendo assim, se considerarmos uma fêmea (F0) cuja alteração epigenética de interesse tenha ocorrido durante a gestação de sua prole (F1), a segunda geração decorrente (F2) ainda não será considerada como

afetada por um evento transgeracional, pois estava biologicamente relacionada a seu ascendente que estava sendo gestado, tornando somente uma geração posterior (F3) possível para a ocorrência transgeracional (Figura 2). Quanto à ocorrência deste evento em linhagem paterna, a primeira geração (F1) obtida pelo espermatozóide do ancestral (F0) com a marca epigenética não considera-se como relativa ao efeito transgeracional mas somente a geração posterior (F2) (Skinner, 2008).



(Figura 2. Extraído do site: The Beef Site, “Epigenetics: A new Challenge in the Post-Genomic Era”, 17 de abril de 2012.)

Michael K. Skinner em “Environmental epigenetics and epigenetic inheritance in domestic animals”, 2020, destaca para espécies de interesses pecuários evidências epigenéticas importantes (Tabela 1).

Para bovinos é citada a correlação da síntese lipídica e produção de leite com marcas epigenéticas, sendo que perfis metilados eram oriundos de tecidos infectados por *Escherichia coli* e *Streptococcus uberis* ou ocorriam ciclicamente pela fim do período de lactação (Ibeagha-Awemu e Zhang, 2015), gerando também, em ambos os casos, o silenciamento do gene da Alfa-Caseína S1 (Vanselow et al., 2009). Relativo também ao período de lactação, é citado Gonzalez-Recio et al., em 2012, que partindo do pressuposto de que o período lactante implica em maiores estresses metabólicos, possivelmente

comprometedores à gestação, realizou um experimento com 40.065 vacas Holstein para avaliar efeitos transgeracionais em novilha gestadas durante a lactação, no qual analisava a diferença da razão gordura/proteína no leite na primeira lactação, da produção total (kg) e da longevidade com as de novilhas de primogênicas. As análises estatísticas demonstraram que um pequeno decréscimo médio de menos 56 kg de leite na produção total da vida da vaca, menos 16 dias de longevidade e menos eficiência metabólica na razão gordura/proteínas havendo acréscimo de 0,42%, foram determinados para as bezerras gestadas por progenitoras em lactação postas em comparação com as crias primogênicas, de mães naturalmente não lactantes. O diferente nível dos fatores observados não indica qualquer perda à produção pecuária de forma significativa mas demonstra o potencial negativo da ocorrência de estresses metabólicos durante a gravidez para as novilhas e da possível consequência epigenética.

Skinner continua esta seção sobre a correlação das marcas epigenéticas com doenças, já amplamente estudadas em modelos com roedores, porém em menor quantidade para bovinos. Foi identificado marcas epigenéticas aberrantes em crias com LOS (Large offspring syndrome), cuja ocorrência é maior nos seres obtidos por reprodução assistida ou processos de clonagem de Transferência Nuclear de Célula Somática (Kruip e den Daas, 1997). Os padrões de metilação diferem entre os embriões controle conduzidos no útero (Figura 3), embriões fecundados *in vitro* e obtidos por TNCS, fator intimamente correlato com o sucesso das respectivas gestações e a qualidade da vida da progênie obtida.



(Figura 3. Fonte: Research Gate. Gestação de feto bovino)

A partir disto, discute-se nesta revisão diferentes intensidades de expressões gênicas específicas em embriões obtidos de oócitos frescos e de congelados. Observou-se que nos oócitos congelados, comparados com os oócitos frescos, ocorreu em decréscimo a expressão dos genes *HMGN3a*, cuja função é de ligação na cromatina, e *HDAC1*, produtor de uma enzima que promove a desacetilação das histonas (Barkess et al., 2012) e aumento na expressão de *STAT3*, fator de transcrição, *DNMT3b*, fixadores de grupos metil ao código genético e *SMARCAL1*, regulador da transcrição através de alterações na cromatina. Nos embriões obtidos pelos oócitos congelados, a taxa de clivagem foi menor em comparação aos obtidos por oócitos frescos. Esta taxa é indicativo de viabilidade do embrião (Chen et al., 2016).

Sabe-se também que a morfocin tica apresentada na clivagem do embrião *in vitro*   indicativo de danos ao DNA, consumo de substratos do meio de cultura, secreção de metabólitos, viabilidade celular, secreção de metabólitos, atividade enzimática e perfis transcriptômicos (Milazzotto et al., 2016).

Como esta revisão citada compila também experimentos com outras espécies domésticas, cito a seguir experimentos que a meu ver compreendem linhas de pesquisa interessantes para o estudos equivalentes ou semelhantes do epigenoma de bovinos.

Em suínos, espécie muito estudada para entender efeitos epigenéticos de respostas diretas devido às similaridades fisiológicas com humanos, demonstrou-se que a exposição neonatal de leit as a compostos estrog nicos está associado com menores taxas de gestações bem sucedidas na maturidade (Tarleton., 2001). Para a produção de bovinos, eventos como erros de tratamentos veterinários nos quais haja a introdução de hormônios estrog nicos em novilhas em período não estipulado em protocolos de fertilidade ou casos semelhantes de confusões de tratamentos hormonais, exposição do bovino   xenoestr genos, compostos também encontrados em algumas

moléculas de herbicidas, podem ser linhas de pesquisa a serem desenvolvidas inspiradas nas conclusões do modelo experimental deste estudo com suínos.

Em estudos com ovinos, ruminantes cujos modelos científicos aproximam-se mais dos bovinos, experimentos quanto ao efeito da hipernutrição de ovelhas em períodos de 50 dias pré-concepcionais até uma semana pós-concepção, bem como nos períodos finais da gestação, demonstraram que a progênie F1 apresentava maiores índices de gordura visceral e maior tendência a alimentar-se em excesso, isto apenas em fêmeas, indicando uma influência epigenética exclusiva ao sexo feminino (Zhang et al., 2011). Este estudo pode indicar-nos cuidados especiais com a nutrição de gestantes, especialmente primíparas, que não estando lactantes podem ter uma susceptibilidade maior aos efeitos da hipernutrição.

Estudos com rebanhos avícolas demonstraram uma forte correlação entre a metilação de genes da glândula timo do sistema imunológico com resistência à doença viral de Marek, cujos produtos são linfomas e inflamações de nervos. Estes genes quando pouco metilados, como observado em uma cultura celular após a introdução de inibidores de metilação, apresentam capacidade de retardar os efeitos da infecção viral, mostrando assim uma potencialidade de intervenção médica epigenética para terapias de doenças contagiosas (Luo et al., 2011). A partir deste estudo, podemos especular que manejos nutricionais a bovinos que disponham mais ou menos grupos metil na dieta podem ter efeito benéfico em terapias preventivas de doenças do gado, tal como febre aftosa ou infecções virais

Tabela 1. Tradução parcial da seção de artigos de bovinos relevantes dispostos em tabela “Epigenética ambiental e heranças epigenéticas em animais domésticos” (Skiller et al., 2020)

Bovinos	Contexto	Referência
Ambiental pré-natal impactam bezerra e sua produção de leite”	Mudanças epigenéticas na progênie em resposta ao ambiente	(Engmann, 2019)
Embriões produzidos <i>in vitro</i> e clonados: Efeitos na gestação, parto e progênie	Mudanças epigenéticas através de tecnologias de reprodução assistida	(Kruip e den Daas, 1997)
Características pós-natal em bezerros obtidos por transferência nuclear de célula somática	Mudanças epigenéticas através de tecnologias de reprodução assistida	(Garry et al., 1996)
Efeito de lactação materna durante gestação	Influência ambiental da lactação relacionado a herança epigenética	(Gonzalez-Recio et al., 2012)
Eventos de metilação do DNA relacionados com a supressão do gene da proteína do leite durante a involução da glândula mamária	Regulação epigenética ambiental da lactação	(Singh et al., 2009)
Conservação de metilação durante reprogramação epigenética de mamíferos: eventos aberrantes em embriões clonados	Mudanças epigenéticas através de tecnologias de reprodução assistida	(Dean et al., 2001)
Re-metilação do DNA no entorno de intensificadores de STAT5 no promotor de alfa-S1-caseína e seu silenciamento está associado a infecções agudas de mastite	Regulação ambiental epigenética da lactação	(Vanselow et al., 2006)
Perfil transcriptômico de mastite induzida por <i>Streptococcus uberis</i> revela diferenças na expressão gênica entre células mamárias e em cultura celular	Regulação ambiental epigenética da lactação	(Swanson et al., 2009)

Em “In utero heat stress decreases calf survival and performance through the first lactation” (Estresse térmico intrauterino diminui a sobrevivência de bezerros e performance através da primeira lactação) demonstra-se que bezerros nascidos de vacas expostas a temperaturas elevadas durante as últimas seis semanas da gravidez nascem com menor peso corporal e sistema imunológico comprometido quando comparados aos do tratamento controle em condições resfriadas. Conduzidas em parcelas de ambiente controlado ou exposto ao verão da Flórida, EUA, e tendo seus bezerros submetidos aos mesmos protocolos de nutrição de colostro, os dados comprovam de maneira significativa a premissa.

De maneira semelhante o estudo “Heat stress responses in spermatozoa: Mechanisms and consequences for cattle Fertility” (Rahman et al., 2018) (Resposta de estresse térmico em espermatozoides e consequências para a fertilidade bovina) uma revisão afirma que mesmo desconhecendo qual parte da espermatogênese é mais susceptível a temperaturas elevadas para os órgãos escrotais, muitos dados endossam que a qualidade espermática determinada pela motilidade, tamanho estrutural, integridade e longevidade é significativamente reduzida pelas condições ambientais estressantes que desencadeiam disrupções das marcas epigenéticas normais. Quanto à implicações de fertilidade em descendentes, corrobora a sensibilidade dos processos de diferenciação fetal o estudo “Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring” (Mossa et al., 2013) (Subnutrição pré-natal e gestacional em vacas prejudica desenvolvimento do ovário e cardiovascular em descendentes) no qual vacas taurinas prenhas de bezerras submetidas à subnutrição no primeiro trimestre da gestação parem suas crias com uma contagem de folículos antrais reduzida, que conseqüentemente gera um menor número de óvulos produzidos, mesmo sendo observados com padrões de viabilidade e qualidade normais, e maior pressão arterial quando comparadas às crias fruto de condições normais. Sendo iguais as bezerras no fenótipo exterior, dimensões equiparáveis e comportamentos iguais, a explicação de que as

alterações epigenéticas causadas pela subnutrição em períodos de diferenciação fetal justificam-se por diferenças em padrões de metilação encontrados nos genes destas dos tecidos analisados.

Já neste estudo "Epigenetic disorders and altered gene expression after use of assisted reproductive technologies in domestic cattle." (Urrego et al., 2014) (Desordens epigenéticas e expressão gênica alterada após o uso de tecnologias reprodutivas em gado doméstico), uma revisão bibliográfica, foram analisadas informações sobre tais alterações, trazendo resultados conclusivos para métodos de clonagem como Transferência Nuclear de Célula Somática, cuja viabilidade embrionária é muito comprometida por marcas epigenéticas aberrantes, e suposições relevantes para métodos de superovulação, maturação *in vitro* de oócitos e manipulação de esperma, que mesmo promovendo a reprodução dos gametas, traz consigo alterações no epigenoma, principalmente no perfil de metilação, que possivelmente tem impactos no desenvolvimento do indivíduo.

No estudo de revisão bibliográfica "Epigenetics: a possible role in acute and transgenerational regulation of dairy cow milk production" (Singh et al., 2011), os mecanismos epigenéticos estudados relativos à função das células do tecido epitelial mamário demonstram que a regulação dos genes de expressão das proteínas do leite é variável de acordo com a condição fisiológica e sanitária da vaca, tendo seus maiores níveis de metilação durante infecções de mastite ou pelo natural decréscimo do período de lactação. Outros fatores ambientais importantes citados na obra são: níveis nutricionais, fotoperíodo, estresse térmico, quadro hormonal, em especial os fatores autócrinos e parácrinos do tecido mamário, patologias e práticas de manejo estimulantes, como a ordenha. Análises cromossômicas por microarrays em tecidos mamários de roedores e bovinos demonstraram vários caminhos de sinalização celular reguladores dos inícios e términos de períodos lactantes ou secos.

7 – ENTREVISTA COM PROFISSIONAIS

A entrevista realizada com produtores pecuários, engenheiros agrônomos e médicos veterinários sobre correlações epigenéticas com fenótipos e desenvolvimentos do bovino, empiricamente ou cientificamente percebidos, foi baseada na revisão bibliográfica anteriormente descrita. Cada questão traz um raciocínio relacionado ao estudo epigenético demonstrado em artigos já realizados ou em suposições ainda não avaliadas cientificamente.

Este formulário pode ser acessado online pelo link:

<https://forms.gle/mAYYBhyRwgQwqy636>

Pelo período de um mês esta entrevista foi divulgada em redes sociais, fóruns de pecuária e contatos individuais de profissionais de interesse contabilizando 15 respostas individuais. Assim, das respostas obtidas, há discussões e conclusões a serem feitas, principalmente quanto à fundamentação teórica das perguntas e suas consequências práticas. Conclusivamente, através desta experiência de entrevista individual direcionada, percebi um grande potencial de obter resultados reveladores sobre questões práticas da pecuária, especialmente se a condução desta entrevista for transmitida por insituições ou empresas de grande notoriedade e estiver correlacionada com um banco de dados de índices zootécnicos.

Assim, transcrevo o conteúdo desta entrevista direcionada em seis seções, embasamento científico e resultados pertinentes:

- Seção 1: Introdução

As novas informações que o estudo epigenético revelou podem contribuir significativamente para programas de melhoramento genético animal e o entendimento de acontecimentos relacionados às linhagens selecionadas.

O presente questionário procura saber a percepção dos entrevistados sobre o assunto, possíveis observações, experiências, o interesse científico e o econômico relacionado.

(Direcionado a centros de reprodução de bovinos, médicos veterinários, pecuaristas, professores e pesquisadores da área e assuntos relacionados.)

Caso queira mais informações básicas do assunto, acesse aqui:

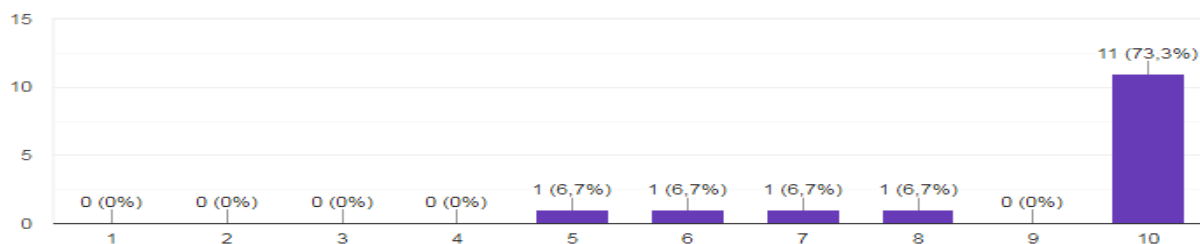
<https://developingchild.harvard.edu/translation/o-que-e-epigenetica/> ”

- Seção 2:

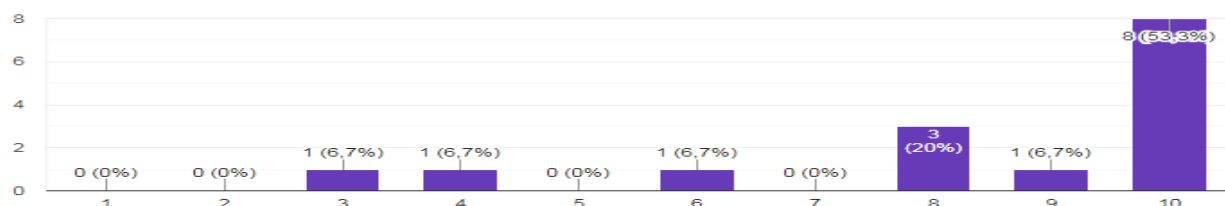
Fatores Epigenéticos

A reprodução, a gestação, o nascimento do bezerro e a cria são momentos determinantes para a composição epigenética, que geralmente conserva-se durante toda a vida do ser vivo, podendo até ser passada para sua descendência. Dentre os fatores abaixo, responda quais, segundo suas experiências, parecem os mais impactantes, tanto de forma positiva quanto negativa, em uma escala de 0 a 10:

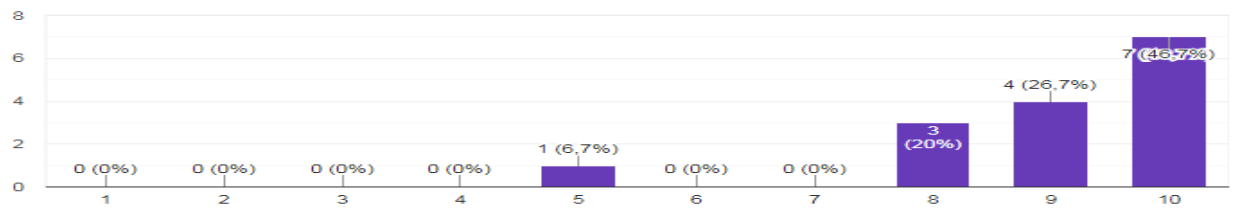
- Qualidade da alimentação da vaca na pré-concepção



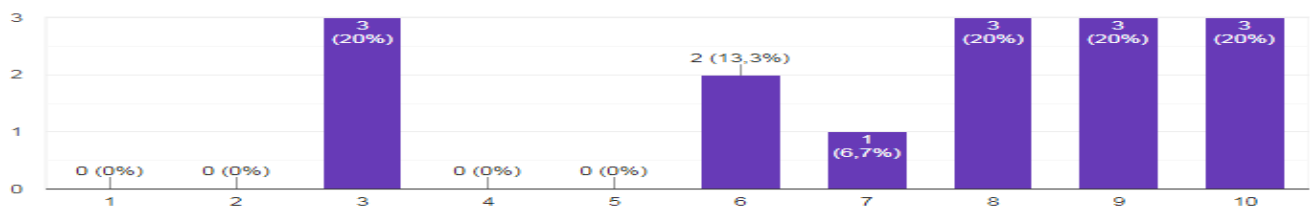
- Saúde do touro reprodutor e qualidade do sêmen



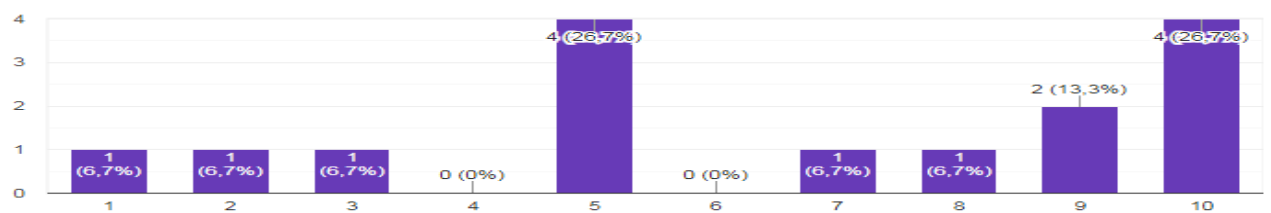
- Uma gestação com nutrição adequada



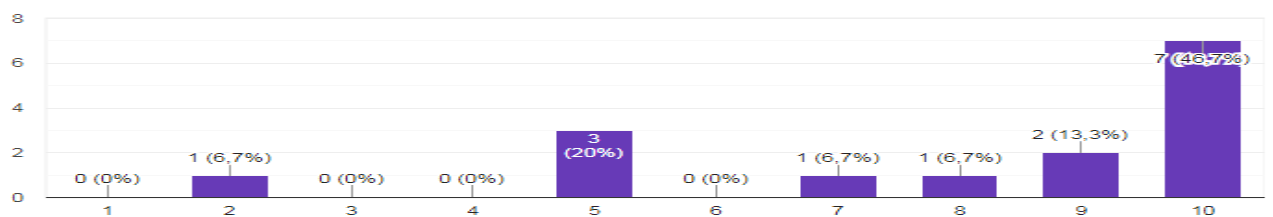
- A ocorrência de eventos traumáticos durante a gravidez e a gestação



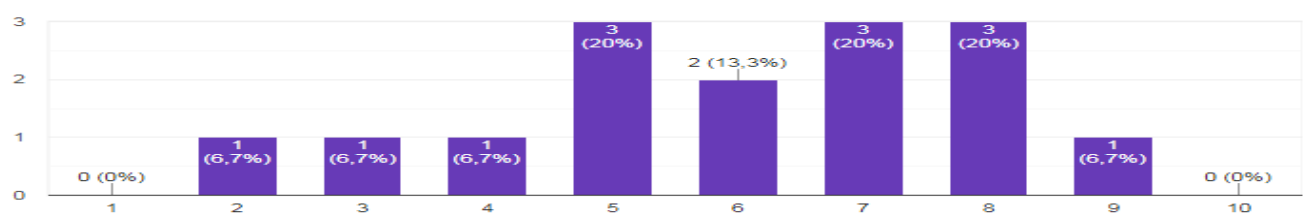
- A convivência do bezerro com a vaca durante o primeiro mês após a gestação



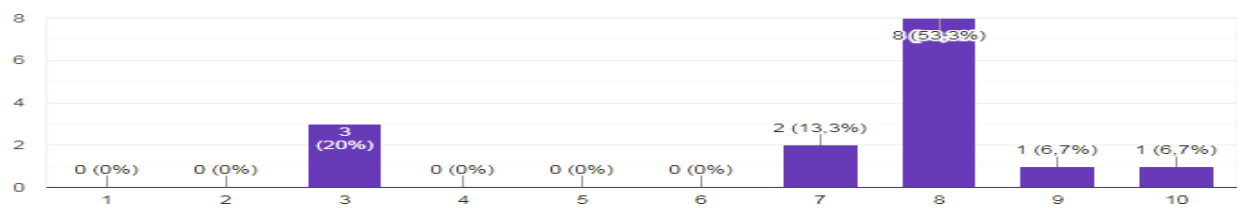
- Uma nutrição balanceada e abundante no início do desenvolvimento do bezerro



- Interação social saudável da vaca gestante com o rebanho



- Interação social saudável do bezerro com a vaca



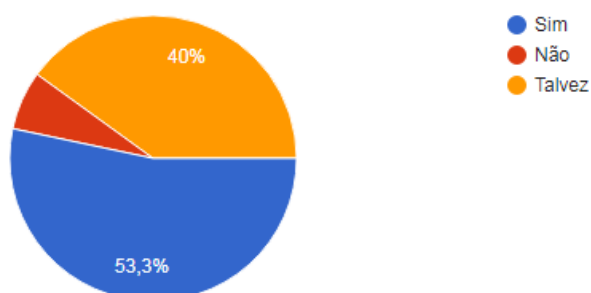
Interpretação dos dados:

Há uma percepção sólida dentre os entrevistados sobre a importância de manejos nutricionais e sanitários do touro e da vaca desde períodos pré-concepcionais, o que relaciona-se com as observações feitas pelos estudos epigenéticos previamente citados, porém questões com interações sociais não são totalmente consideradas relevantes, fator que mostra a importância de conduzir pesquisas nesta área.

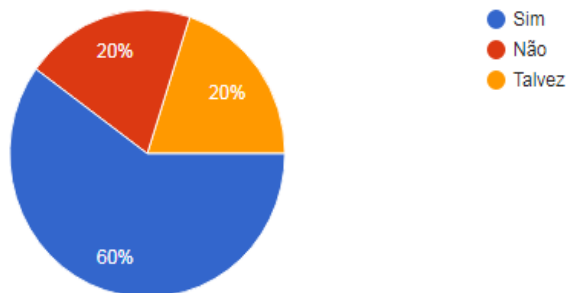
Seção 3: Tecnologias de reprodução assistida

A eficiência das tecnologias de reprodução assistida é limitada por eventos alterações das marcações epigenéticas decorrentes do ambiente artificial e dos estresses durante intervenção dos instrumentos humanos. Para a superar ou corrigir estes limitantes, com você considera as alternativas a seguir:

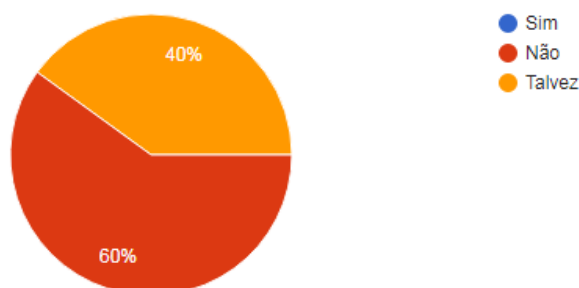
- Criar ambientes de cultura para as células reprodutivas capazes de gerar marcações epigenéticas semelhantes àquelas que ocorrem naturalmente, valendo-se do uso de substâncias químicas.



- Uso mínimo de intervenções nos órgãos reprodutivos do animal.



- Não há a necessidade. Basta realizar os procedimentos de reprodução assistidas tantas vezes quanto necessário até o sucesso do embrião pois o rendimento é compensatório.



Interpretação dos dados:

Há uma postura de prudência quanto ao uso das tecnologias de reprodução assistida na visão dos entrevistados, muito correlata com o comportamento de produtores pecuários brasileiros no geral. Esta postura pode ser benéfica em termos agrônômicos pois constroem uma percepção de que o uso tecnológico em si somente não é o determinante para o sucesso do rebanho mas deve acompanhar boa qualidade dos níveis mais básicos da produção pecuária.

- Seção 4: Protocolos Hormonais

A modulação hormonal de vacas foi um grande avanço no aumento das taxas reprodutivas dos rebanhos, possibilitando maior fertilidade e períodos entre os partos mais curtos. O uso dos hormônios sintéticos altera a expressão fisiológica das glândulas de forma majoritariamente temporária, operando sobretudo em seus receptores especializados.

Durante sua experiência com modulação hormonal de vacas para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), foi alguma vez observado o aumento da necessidade das doses aplicadas ao longo das gestações da vaca ou nos protocolos utilizados nas filhas destas? Ou então ocorreu uma resposta mais branda ao uso dos hormônios?



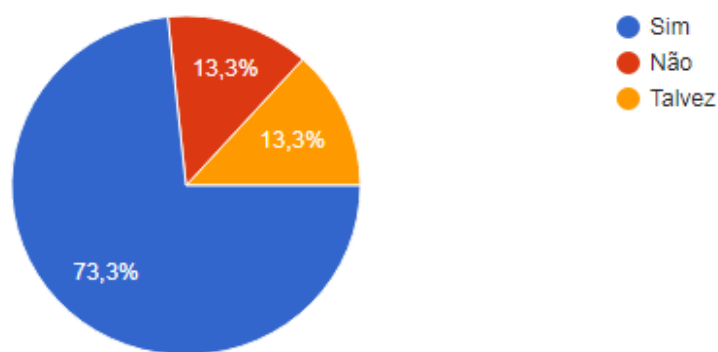
Interpretação dos dados:

Sabendo que o uso de hormônios sintéticos em mamíferos pode diminuir a sensibilidade dos diversos receptores específicos e promover alterações nos sistemas de sinalização de produção hormonal, a suposição científica desta questão do formulário intentava reconhecer alguma percepção dos entrevistados sobre o uso contínuo dos moduladores da reprodução de vacas. A hipótese epigenética proposta era a de que a injeção dos protocolos hormonais poderia diminuir a sensibilidade fisiológica da vaca aos hormônios, demandando assim maiores quantidades dos fármacos durante a vida da fêmea bovina e de suas descendentes, afetadas então por um efeito epigenético transgeracional e possivelmente relativo à linhagem materna.

- Seção 5: Fatores Ambientais

Eventos ambientais estressantes tem a capacidade de alterar o padrão epigenético do ser vivo. Exemplo disso foi a fome holandesa ocorrida no final da Segunda Guerra Mundial, na qual foi evidenciado como a desnutrição da geração deste período desencadeou alterações epigenéticas reguladoras da expressão de genes do metabolismo da insulina e lipogênese, contribuindo, assim, para desordens metabólicas na descendência, como a obesidade.

Estudos de epigenética em ratos demonstraram que o convívio materno para o filhote capacita-o tornar-se mais resiliente à estresses ambientais. Você pensa, empiricamente ou cientificamente, que um bezerro ou bezerra que tenha convivido mais tempo com a mãe tem uma maior capacidade de processar os estresses ambientais e ser mais produtivo?



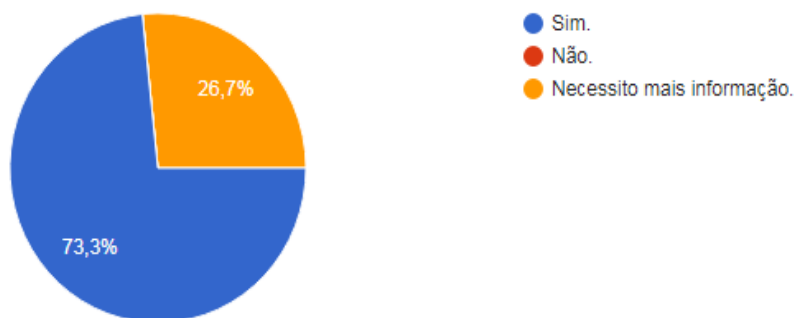
Interpretação dos dados:

A percepção de um ambiente social enriquecido pela presença materna é algo favorável na visão dos entrevistados. Considerando as dinâmicas dos rebanhos, principalmente na pecuária de alta produtividade, nos quais o convívio vaca e filhote nem sempre é grandemente favorecido, uma pesquisa que determine-se a influência deste período pós-natal no desenvolvimento da vida do bezerro(a) e possivelmente nos descendentes destes tem impacto no desenvolvimento bovino, índices econômicos poderiam ser gerados e novas propostas de manejo de rebanho feitas.

- Seção 6: Potencial econômico

A compreensão desta nova área da genética abre novas possibilidades de intervenções. Exemplo disso são ramos da indústria farmacêutica que já confeccionam drogas de impacto epigenético, utilizadas principalmente para o tratamento de cânceres do sangue, promovendo alterações gerais de padrões de metilação aberrante, porém, sabe-se que o uso destes tratamentos ainda é restrito e incerto. Portanto, mais esforços nesta área são necessários para o surgimento de produtos e tratamentos epigenéticos.

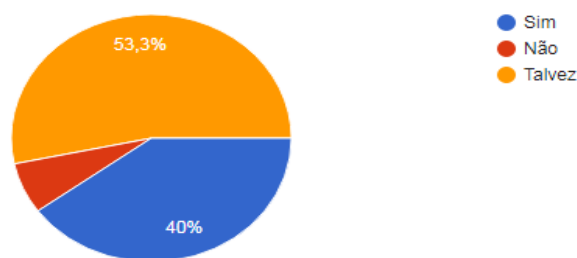
Considerando que as atuais linhagens de melhoramento genético animal já estão próximas de terem o potencial genético amplamente explorado para a produção pecuária, substâncias ou tratamentos ambientais que gerem marcações epigenéticas favoráveis para a expressão gênica desejada podem ser uma nova fronteira para o aumento de produtividade. Você teria o interesse de usar estas futuras tecnologias em seu rebanho?



Interpretação dos dados:

A recepção de tecnologias benéficas sempre é desejada e diante da novidade da área epigenética gera-se também uma curiosidade adicional. Cabe agora aos cientistas desenvolvedores de tecnologias trazer soluções para setores da sociedade, como intervenções benéficas na produção pecuária e a reprodução assistida.

Caso seja criado um aplicativo sobre manejo de ruminantes que relaciona as raças utilizadas com um perfil nutricional específico, condições ambientais favoráveis e disposição social do rebanho tendo como fundamento científico estudos sobre epigenética, você teria o interesse de comprá-lo?



Interpretação dos dados:

A pergunta sobre esta possibilidade de negócio recebeu uma tendência neutra e positiva demonstrando que diante de uma área científica recentemente comprovada produtos resultantes desta descoberta deverão dialogar com as dúvidas e demandas dos interessados para provar-se no mercado.

8 -CONCLUSÕES

A epigenética é determinante para a expressão gênica dos seres vivos e o conhecimento dos fatores que alteram seus padrões possibilitam melhores manejos reprodutivos para a obtenção de indivíduos de fenótipos superiores para a produção pecuária. Atentar, portanto, para a natureza evolutiva de cada espécie e raça e as demandas ambientais que cada qual exige para suas melhores expressões é necessário para o melhor estabelecimento do rebanho. Os estudos citados corroboram conhecimentos gerais da pecuária, por vezes negligenciados fazendas afora, sugerem que suposições minuciosas sobre alterações gênicas ocasionadas por produtos químicos, hormônios e biotecnologias podem ser corroboradas ou desmotivadas por análises sérias de marcações epigenéticas, e podem ser, assim, o início de uma nova fronteira de desenvolvimento fármacos e métodos veterinários capazes de promover mudanças desejáveis na tradução proteica.

Espera-se que a epigenética traga respostas a questionamentos sobre manejos nutricionais ótimos a cada linhagem bovino, de acordo com sua composição racial, o potencial terapêutico do uso de dietas específicas, métodos de disposição do rebanho com convívio social enriquecido, criação de métodos e substâncias que tornem a reprodução assistidas mais estável e produtiva, respostas a compostos químicos utilizados pelo homem na condução da forragem e lavouras que nutrem os bovinos e consequências à longo prazo e intergeracionais do uso de hormônios indutores de prenhez ou anabólicos para touros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Artigos

- BELL, Jordana T.; SPECTOR, Tim D. A twin approach to unraveling epigenetics. **Trends in Genetics**, v. 27, n. 3, p. 116-125, 2011.
- CHEN, Huanhuan et al. Effects of oocyte vitrification on epigenetic status in early bovine embryos. **Theriogenology**, v. 86, n. 3, p. 868-878, 2016.
- ENGMANN, Olivia. Dairy cows—an opportunity in the research field of non-genetic inheritance?. **Environmental epigenetics**, v. 4, n. 2, p. dvy014, 2018.
- FARIAS, Keylha et al. Epigenética E Sua Influência no Desenvolvimento da Obesidade. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. S 01, p. Trab372, 2018.
- GARRY, F. B. et al. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer
- GODDARD, Michael E.; WHITELAW, Emma. The use of epigenetic phenomena for the improvement of sheep and cattle. **Frontiers in genetics**, v. 5, p. 247, 2014.
- GICQUEL, Christine et al. Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver-Russell syndrome. **Nature genetics**, v. 37, n. 9, p. 1003-1007, 2005.
- GONZÁLEZ-RECIO, Oscar; UGARTE, Eva; BACH, Alex. Trans-generational effect of maternal lactation during pregnancy: a Holstein cow model. **PLoS One**, v. 7, n. 12, p. e51816, 2012.
- KRUIP, Th AM; DEN DAAS, J. H. G. In vitro produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring. **Theriogenology**, v. 47, n. 1, p. 43-52, 1997.
- LI, Mingzhou et al. An atlas of DNA methylomes in porcine adipose and muscle tissues. **Nature communications**, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2012.
- LI, Cencen et al. Molecular microevolution and epigenetic patterns of the long non-coding gene H19 show its potential function in pig domestication and breed divergence. **BMC evolutionary biology**, v. 16, n. 1, p. 87, 2016.

- MILAZZOTTO, Marcella Pecora et al. Early cleavages influence the molecular and the metabolic pattern of individually cultured bovine blastocysts. **Molecular Reproduction and Development**, v. 83, n. 4, p. 324-336, 2016.
- MONTEIRO, A. P. A. et al. In utero heat stress decreases calf survival and performance through the first lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 10, p. 8443-8450, 2016.
- MAHER, Eamonn R.; AFNAN, Masoud; BARRATT, Christopher L. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: epigenetics, imprinting, ART and icebergs?. **Human Reproduction**, v. 18, n. 12, p. 2508-2511, 2003.
- MOSSA, Francesca et al. Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. **Biology of Reproduction**, v. 88, n. 4, p. 92, 1-9, 2013.
- PANNING, Barbara; JAENISCH, Rudolf. RNA and the epigenetic regulation of X chromosome inactivation. **Cell**, v. 93, n. 3, p. 305-308, 1998.
- RIVERA, Rocío Melissa. Consequences of assisted reproductive techniques on the embryonic epigenome in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 32, n. 2, p. 65-81, 2020.
- SKINNER, Michael K. What is an epigenetic transgenerational phenotype?: F3 or F2. **Reproductive toxicology**, v. 25, n. 1, p. 2-6, 2008.
- cloning. **Theriogenology**, v. 45, n. 1, p. 141-152, 1996.
- SINGH, K. et al. Epigenetics: a possible role in acute and transgenerational regulation of dairy cow milk production. **Animal: an international journal of animal bioscience**, v. 6, n. 3, p. 375, 2012.
- SIRARD, M. A. The influence of in vitro fertilization and embryo culture on the embryo epigenetic constituents and the possible consequences in the bovine model. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 8, n. 4, p. 411-417, 2017.
- SMITH, Lawrence Charles et al. Developmental and epigenetic anomalies in cloned cattle. **Reproduction in domestic animals**, v. 47, p. 107-114, 2012. TARLETON, Becky J.; WILEY, Anne A.; BARTOL,

Frank F. Neonatal estradiol exposure alters uterine morphology and endometrial transcriptional activity in prepubertal gilts. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 21, n. 2, p. 111-125, 2001.

SWANSON, K. M. et al. Transcriptome profiling of Streptococcus uberis-induced mastitis reveals fundamental differences between immune gene expression in the mammary gland and in a primary cell culture model. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, p. 117-129, 2009.

THOMPSON, Ryan P.; NILSSON, Eric; SKINNER, Michael K. Environmental epigenetics and epigenetic inheritance in domestic farm animals. **Animal Reproduction Science**, p. 106316, 2020.

URREGO, Rodrigo; RODRIGUEZ-OSORIO, Nélica; NIEMANN, Heiner. Epigenetic disorders and altered gene expression after use of assisted reproductive technologies in domestic cattle. **Epigenetics**, v. 9, n. 6, p. 803-815, 2014.

VANSELOW, Jens et al. DNA-remethylation around a STAT5-binding enhancer in the α S1-casein promoter is associated with abrupt shutdown of α S1-casein synthesis during acute mastitis. **Journal of molecular endocrinology**, v. 37, n. 3, p. 463-477, 2006.

XIE, Nina et al. Novel epigenetic techniques provided by the CRISPR/Cas9 system. **Stem cells international**, v. 2018, 2018.

WHITELAW, Nadia C.; WHITELAW, Emma. How lifetimes shape epigenotype within and across generations. **Human molecular genetics**, v. 15, n. suppl_2, p. R131-R137, 2006.

ZHANG, S. et al. Periconceptional nutrition and the early programming of a life of obesity or adversity. **Progress in biophysics and molecular biology**, v. 106, n. 1, p. 307-314, 2011.

Livros Consultados

BLEWITT, Marnie. **Epigenetic control of gene expression**. 2012.

FRANCIS, Richard. **Epigenética: como a ciência está revolucionando o que sabemos sobre hereditariedade**. Editora Schwarcz-Companhia das Letras, 2015.

JABLONKA, Eva; LAMB, Marion J. **Evolution in four dimensions, revised edition: Genetic, epigenetic, behavioral, and symbolic variation in the history of life.** MIT press, 2014.

NICIURA, Simone Cristina Méo; SARAIVA, Naiara Zoccal. **Epigenética: bases moleculares, efeitos na fisiologia e na patologia, e implicações para a produção animal e a vegetal.** São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2015., 2015.