

Efeitos epigenéticos decorrentes de estresse térmico em bovinos leiteiros: Revisão

Epigenetic effects resulting from heat stress in dairy cattle: Review

Elaine Santana Gonçalves[1], Michelli Pereira[2], Elizângela Guedes[3]

[1]Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem-Estar Animal, UNIFENAS, **Endereço:** Rodovia MG 179, Km 0, Alfenas, MG. CEP 37132-440. E-mail: elainesantanagoncalves@gmail.com, ORCID: 0000-0003-2225-8443.

[2]Mestranda, Programa de Pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem-Estar Animal, UNIFENAS, **Endereço:** Rodovia MG 179, Km 0, Alfenas, MG. CEP 37132-440. E-mail: michellipr1981@gmail.com, ORCID: 0000-0002-1203-8757.

[3]Doutora e Discente do Programa de Pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem-Estar Animal, UNIFENAS. **Endereço:** Rodovia MG 179, Km 0, Alfenas, MG. CEP 37132-440. E-mail elizangela.guedes@unifenas.br , ORCID: 0000-0003-4044-950X

Resumo

Em bovinos leiteiros fatores ambientais como temperatura e luz exercem efeitos dramáticos na reprodução, produção, sanidade e bem-estar dos animais, seja durante o perído gestacional ou após o parto. Nesse sentido, estudos têm sugerido que tais fatores possam afetar padrões epigenéticos, e consequentemente a regulação da expressão gênica, bem como na saúde e desempenho de sua progênie. Esta revisão tem como objetivo caracterizar os efeitos



epigenéticos do estresse térmico sobre bovinos leiteiros, de forma a fornecer bases sólidas para à adoção de medidas de bem-estar animal e aumento da produtividade. A discussão fornece evidências de que o estresse térmico tem efeitos profundos nas vacas seja durante o período pré como pós-parto, gerando alterações epigenéticas que podem influenciar sua prole e seus índices produtivos. É necessário a implantação de estratégias que possibilitem ambientes com condições adequadas de temperatura e umidade relativa do ar, aliando o bem-estar animal à produção animal eficiente.

Palavras-chave: vaca, leite, epigenética, bem-estar animal, ambiência.

1. Introdução:

As influências do ambiente sobre o embrião nos estádios iniciais de desenvolvimento em bovinos leiteiros geram efeitos notáveis. Alguns fatores são associados a condições ambientais sendo este o fator mais importante que afeta a termorregulação dos animais (Godyń et al., 2019). A sensibilidade bovina ao estresse térmico pelo calor exerce efeitos negativos na reprodução, produção, saúde e bem-estar dos animais, seja durante o perído gestacional ou após o parto.

O estresse térmico pelo calor tem sido descrito como um dos principais fatores relacionados a perdas embrionárias em bovinos. Períodos de calor intenso ou elevação atípica da temperatura e umidade do ar resultam em estresse térmico, afetando a produção e reprodução (Pereira et al., 2013).

Os fatores ambientais não exercem efeito direto sobre o genoma, ou seja, não modificam a sequência de DNA, entretanto podem influenciar sobre a forma com que o genoma se expressa. Nesse sentido, estudos sugerem que efeitos ambientais externos durante a concepção, gestação e até mesmo no período pós-natal inicial, podem afetar padrões epigenéticos, e

consequentemente a regulação da expressão gênica, bem como a saúde e o desempenho da progênie na idade adulta (Franco, 2016; Skinner, 2011).

Fatores como nutrição, lactação simultânea, nível de produção de leite, estresse térmico e ocorrência de doença durante a embriogênese podem impedir que a prole expresse totalmente seu potencial genético (Franco, 2016; Laporta et al., 2020; Skinner, 2011).

Embora os processos epigenéticos sejam altamente conservados entre todas as espécies, os epigenomas específicos são divergentes entre as espécies, podendo ainda, ocorrer modificações devido à exposição ambiental direta em períodos críticos no desenvolvimento do organismo (Feeney, Nilsson & Skinner, 2014; Skinner, Manikkam & Guerrero-Bosagna, 2010;).

O epigenoma possui capacidade de se replicar e ser transmitido durante a proliferação celular através do processo mitótico, caracterizando estabilidade mitótica. A capacidade de manter um epigenoma específico após a mitose é, em parte, como diferentes tipos de células mantêm estados diferenciados e facilitam um processo normal de desenvolvimento (Skinner, 2011).

Os principais fatores epigenéticos envolvidos são a metilação de DNA (predominantemente em dinucleotídeos CpG), alterações pós-traducionais (PTMs) de histonas como metilação, acetilação, fosforilação, ubiquitinação, alguns RNAs não codantes (ncRNAs) e remodelação de cromatina (Franco, 2016; Triantaphyllopoulos, Ikonomopoulos & Bannister, 2016).

Esta revisão tem como objetivo caracterizar os efeitos epigenéticos do estresse térmico sobre bovinos leiteiros, de forma a fornecer bases sólidas para à adoção de bem-estar animal e aumento da produtividade.



2.1 Estresse térmico no desempenho de vacas leiteiras

As melhorias na produção animal aumentaram não só a produtividade dos animais domésticos, mas também sua sensibilidade a altas temperaturas em decorrência de sua maior carga de calor interno (Collier et al., 2018).

O estresse é definido como um evento ou condição externa que produz tensão no sistema biológico, promovendo mudanças nos mecanismos de temperatura corporal, taxa metabólica, produtividade, conservação ou dissipação de calor do indivíduo. O estresse térmico, por sua vez, é desencadeado quando as condições ambientais excedem a temperatura crítica superior ou inferior dos animais domésticos, exigindo aumento no metabolismo basal para lidar com a situação (Collier et al., 2018).

O embrião pré-implantação é suscetível ao estresse térmico, sendo este um dos principais fatores responsáveis pelo complexo mecanismo de infertilidade em vacas em lactação submetidas ao estresse térmico. Tais efeitos deletérios sobre a fertilidade são descritos como maiores em animais com alta produção de leite (De Barros & Paula-Lopes, 2018).

Hansen (2007) sugere que o estresse térmico aja sobre os folículos das vacas, promovendo oócitos de menor capacidade de fertilização, redução na capacidade de alcançar o estádio de blastocisto, com aumento na taxa de apoptose celular, e redução da qualidade embrionária (Hansen et al., 2014), e caso haja a fertilização, os embriões passam a ter desenvolvimento anormal.

Durante gestação, pode haver o comprometimento do desenvolvimento placentário, o que resulta em hipóxia fetal, desnutrição e, eventualmente, retardo do crescimento fetal. Ainda, vacas em estresse térmico durante o final da gestação apresentam crescimento mamário prejudicado e diminuição da produção de leite na lactação subsequente, além de falha na transferência da imunidade passiva ao filhote (Tao & Dahl, 2013).



Estudos demonstraram que bezerros leiteiros expostos ao estresse térmico durante a gestação tiveram falha na transferência imunológica passiva devido uma menor absorção de IgG (Laporta et al., 2017**;** Tao et al., 2012), diminuição da proteína plasmática total, alterações no hematócrito e resposta imune celular comprometida (Tao et al., 2012). O período seco, intervalo onde não há lactação, ocorre o crescimento da glândula mamária e a renovação celular, influenciando a produção futura de leite. O estresse térmico durante esta fase afeta o desenvolvimento da glândula mamária antes do parto e exerce efeitos residuais no metabolismo no início e nas subsequentes lactações (Tao & Dahl, 2013). Monteiro et al., (2016), em análise de dados de cinco anos de estudo sobre estresse térmico pelo calor no período seco, sugere que vacas sob estresse tiveram taxa de 4,1% de natimortos, enquanto que vacas resfriadas não apresentaram natimortos.

Vacas sob estresse térmico reduzem o consumo de alimentos, ocorrendo a hipofunção da tireóide e maior energia é gasta para eliminar o excesso de calor corporal, reduzindo a produção de leite (Baccari júnior, 2002; Pinarelli, 2003). Além da redução da quantidade, também há alteração na composição do leite, com redução na porcentagem de gordura no leite (Baccari Júnior, 2002), nos teores de gordura, proteína e cálcio (Titto, 1998), lactose, ácido cítrico e potássio (Ceballos et al., 2009).

2.2 O estresse térmico como fator epigenético

No primeiro terço da gestação, durante a fase de desenvolvimento embrionário e fetal até a formação de todos os tecidos do organismo, o genoma das células embrionárias passa por uma cascata de etapas genéticas com uma ampla reprogramação epigenética que impactam os estágios de transcrição, diferenciação e desenvolvimento celular (De Barros & Paula-Lopes, 2018; Skinner, 2011). Este desenvolvimento dependente entre outros fatores, do ambiente em

que o embrião se desenvolve, que associado ao estresse pelo calor poderá induzir a modificações no metabolismo e também estresse celular no embrião (Baumgard et al., 2011; Hansen, Denicol & Dobbs, 2014).

Inicialmente se diferenciam em uma cromatina de gametas para se tornarem células tronco pluripotentes. Num segundo momento, se reprogramam para iniciarem o processo de diferenciação celular para formação dos diferentes tecidos de um novo organismo. No caso das células germinativas primordiais, estas são epigeneticamente "desprogramadas" para então se diferenciarem em células precursoras dos gametas (De Barros & Paula-Lopes, 2018; Heard & Martienssen, 2014; Skinner, 2011).

Essa reprogramação é necessária para remover assinaturas epigenéticas adquiridas durante o desenvolvimento ou impostas pelo meio ambiente. Entretanto, caso haja falha as marcas epigenéticas podem ser retidas e transmitidas de uma geração para a seguinte (Heard & Martienssen, 2014).

Os mecanismos envolvidos na replicação do epigenoma durante a mitose são conhecidos por metilação de DNA e pequenos RNAs, entretanto existe informação limitada para modificações de histonas e estrutura da cromatina. A metilação de DNA consiste na adição de um radical metil à base citosina na fita de DNA, fato que geralmente promove a repressão da transcrição (Bird, 2002).

Acredita-se que a metilação do DNA de mamíferos ocorra no início do desenvolvimento pelas metiltransferases *DNMT3A* e *DNMT3B* e depois copiados para células somáticas pela DNA metiltransferase de manutenção *DNMT1* (Bird, 2002). Essa metilação ocorre na fita de DNA parental durante a síntese de DNA da fase S sob ação da DNA metiltransferase (DNMT). Há metilação da fita de DNA recém-sintetizada para replicar o padrão de metilação do DNA parental. Já os RNAs não codantes agem independentemente das sequências de DNA ou RNA, atuando como componentes epigenéticos para alterar a expressão gênica. As "ilhas" de RNA

não codantes da sequência de DNA são replicadas por meio da síntese normal de DNA para ter estabilidade mitótica desses RNAs não codantes (Skinner, 2011; Turner, 2000).

Nos mamíferos, a metilação ocorre predominantemente em dinucleotídeos *CpG* que pode ser metilado ou desmetilado por fatores ambientais. A transcrição embrionária, por sua vez, pode causar a exclusão da maquinaria de metilação do DNA. Dessa forma, sugere-se que a transmissão da metilação ou desmetilação se dá em função específica da memória celular em desenvolvimento do gene embrionário. A metilação permite também a criação de ilhas *CpG* que são competentes para a transcrição durante o desenvolvimento. O envolvimento da metilação do DNA na inativação de elementos transponíveis também pode ser devido à sua capacidade de estabilizar o desligamento transcricional organizado por outros sistemas (Bird, 2002).

Dessa forma, quando a fêmea gestante é submetida a um ambiente tóxico há alteração na metilação do DNA que podem ser transmitidos às gerações subsequentes através da linha germinal. Todas as células somáticas derivadas desta linhagem germinativa terão uma mudança em seu epigenoma e, conforme a diferenciação celular, uma mudança correspondente na atividade do genoma e transcriptomas irão promover estados de doença ou variação fenotípica (De Barros & Paula-Lopes, 2018). Assim, mesmo uma exposição no início da formação embrionário ou fetal, o epigenoma modificado continuará a alterar a expressão do gene e a população de células (Skinner, 2011).

Essa herança epigenética transgeracional também tem o potencial de ser adaptativa e, em alguns casos, pode até responder aos desafios ambientais com implicações importantes para a hereditariedade, reprodução e evolução (Heard & Martienssen, 2014).

Autores sugerem que o estresse térmico exerça efeitos diretos nas células germinativas do feto em desenvolvimento, podendo levar à alteração do fenótipo das filhas e, possivelmente, das netas (De Barros & Paula-Lopes, 2018; ; Feeney et al., 2014 **;** Skinner, 2011).

A exposição do embrião ao estresse térmico antes da sua implantação pode desencadear alterações moleculares e adaptativas que impedem um desenvolvimento embrionário normal: alteração em seu citoesqueleto, nos níveis de cálcio intracelular, na função mitocondrial e indução da apoptose. Devido essa susceptibilidade, o estresse térmico muda o padrão de genes impressos paternalmente, causa microtúbulos e reorganização dos microfilamentos, aumenta a produção de espécies reativas ao oxigênio (ROS), redução potencial de membrana mitocondrial (MMP), e aumenta a taxa de fragmentação de DNA e apoptose do embrião. No entanto, à medida que os embriões avançam através das divisões de clivagem, há aquisição gradual de termotolerância que se sobrepõe à ativação do genoma zigótico e à capacidade do embrião de ativar a cascata apoptótica como um mecanismo de controle de qualidade para remova os blastômeros danificados (De Barros & Paula-Lopes, 2018).

Embriões precoces com estágio de dois ou de quatro células são muito suscetíveis a choque térmico e não respondem da mesma forma aos sinais pró-apoptóticos. Consequentemente altos níveis de metilação e desacetilação do DNA impedem a ação de fatores pró-apoptóticos, bloqueando a apoptose celular. Assim, caso o embrião se desenvolva, seu epigenoma também se torna mais resistente a modificações induzidas por estresse térmico. Tanto a hipometilação de DNA como a hipoacetilação de histona H3K9, também afeta os mecanismos de resposta antioxidante e ao estresse térmico em decorrência da expressão gênica alterada (De Barros & Paula-Lopes, 2018).

Outra resposta embrionária ao estresse térmico é a elevação na produção de espécies reativas ao oxigênio (ROS), levando ao desequilíbrio do estado redox e ao estresse oxidativo e causando alterações nas estruturas celulares, comprometendo o desenvolvimento embrionário para a etapa de formação de blastocisto. Nesse sentido, estudos sugerem também a regulação epigenética do mecanismo de defesa (De Barros & Paula-Lopes, 2018).

Laporta et al. (2017, 2020) demostraram que o estresse térmico no final da gestação exerce

efeitos negativos sobre o desempenho pós-natal de bezerros e da vaca, seja sobre a sobrevivência dos bezerros ao primeiro parto, a duração da vida produtiva, o crescimento e atividade dos bezerros, incluindo a produção de leite e seu rendimento. Ainda segundo autor, tais efeitos podem persistir por várias gerações, uma vez que também formam observaram alterações na segunda geração. Skibiel et al. (2018) sugerem que padrões alterados de metilação do DNA podem contribuem para respostas inflamatórias intensificadas e estresse oxidativo entre bovinos sob estresse térmico no útero.

Outra combinação do efeito direto do estresse térmico no período seco sobre a hipertermia fetal está na função placentária prejudicada, que gera um ambiente com restrição de nutrientes no útero limitando o crescimento fetal. As mudanças no ambiente intrauterino materno levam a concentrações sanguíneas mais baixas de hormônios placentários circulantes, afetando um comprometimento da função placentária, reduzindo o fluxo o sanguíneo da placenta e inibindo a distribuição eficaz de nutrientes para o bezerro levando a uma redução do peso do bezerro ao nascer em torno de 9% (Dado-senn, Laporta & Dahl, 2020)

A termorregulação da progênie também é alterada pós-natal, levando a uma disparidade na promoção de homeostase térmica do bezerro após o nascimento. Respostas termorregulatórias como respiração e frequência cardíaca, temperatura retal, corporal e cutânea foram observadas no estudos de Dado-senn, Laporta & Dahl (2020) com vacas maduras em lactação, constatando que os bovinos expostos ao estresse térmico pré-natal e, em seguida, estressados pelo calor resultaram em um aumento da temperatura da pele sugerindo maior resfriamento condutivo que reduziria a temperatura corporal central e a taxa de suor, melhorando a termotolerância na maturidade e a capacidade de dissipação de calor para manter a temperatura corporal central, mas talvez ao custo do desempenho lactacional. Embora estes dados sejam um ganho de seleção na obtenção de animais mais adaptados às

condições de estresse térmico pelo calor, a redução no desempenho produtivo pode levar a animais com menores tempo no rebanho.

Vacas submetidas a condições de estresse térmico, apresentam redução no consumo de alimentos acarretando em balanço energético negativo (BEN). Como consequência, há elevação da utilização de glicose pelas células, diminuindo sua utilização como fonte de energia para manutenção da produção de leite. Este processo também exerceria influência sobre a fertilidade, pois o ovócito, o embrião e o feto utilizam a glicose como fonte de energia, e a taxa de clivagem e o desenvolvimento dos blastocistos são reduzidos quando mantidos em ambientes com baixo teor de glicose (Bilby et al., 2009).

O fígado e a glândula mamária são regulados por mecanismos epigenéticos que podem ser alterados por estresse por calor (Skibiel et al., 2018). Tanto o desenvolvimento mamário como síntese do leite são regulados por processos de metilação do DNA dentro das células epiteliais mamárias. Skibiel et al. (2018) identificaram aproximadamente 400 genes que foram diferencialmente metilados e aproximadamente 100 genes expressos de forma diferente entre bovinos sob estresse térmico *in utero* e resfriados *in utero*, colaborando com a teoria do efeito do estresse térmico na metilação do DNA.

Nesse sentido, extrapolando, de acordo com Rijnkels et al. (2010) existe uma relação inversa entre metilação do DNA ou modificação na cromatina (histonas) e a expressão do gene da proteína do leite. Estudos demonstraram que durante o desenvolvimento e a diferenciação celular da glândula mamária fatores ambientais promovem alterações na cromatina, que adquire uma conformação mais aberta. Além disso, ocorrem mudanças tanto no *looping* entre os elementos reguladores como na matriz nuclear. Adicionalmente, padrões epigenéticos distintos foram identificados em subpopulações de células progenitoras e do tronco da glândula mamária. Tais evidências sugerem o papel da epigenética no desenvolvimento e função mamária.

A metilação também desempenha um papel fundamental na diferenciação hepática e proliferação de hepatócitos. Em experimento conduzido por Skibiel et al. (2018) bezerros nascidos de mães estressadas pelo calor durante o final da gestação tinham um maior número de células hepáticas. O autor também evidenciou várias vias e funções biológicas foram alteradas epigeneticamente pela exposição *in utero* ao estresse térmico, tais como função imunológica, expressão de gene e proteína, incluindo modificações pós-transcricionais e pós-tradução, e processos celulares.

O estresse calórico materno durante o período seco, afeta negativamente metabolismo hepático, a função imune celular e a produção de leite na lactação subsequente (Tao et al, 2011, 2014). Também há aumento da resposta à insulina de todo o corpo do bezerros após o desmame, sugerindo a possibilidade de lipogênese acelerada e deposição de gordura no início da vida. Estudos sugerem que essa condição possa resultar em um fenótipo metabolicamente ineficiente, com maior concentração de insulina no plasma após o nascimento e depuração de glicose mais rápida durante um teste de tolerância a glicose e um desafio de insulina (Tao & Dahl, 2013; Tao et al., 2014).

Assim como o fígado, a glândula mamária também é regulada por mecanismos epigenéticos que podem ser alterados pelo estresse térmico. A metilação global do DNA dentro das células epiteliais mamárias parece desempenhar um papel na diferenciação e manutenção das células mamárias (Skibiel et al., 2018) .

O estresse térmico durante o período seco diminuiu taxa de proliferação das células mamária, reduzindo a produção de leite, redução da lactose e proteína do leite (Baumgard et al., 2011; Tao et al., 2011). Skibiel et al. (2018) ao avaliar a microestrutura da glândula mamária observaram que filhas de vacas sob estresse térmico no final da gestação, apresentaram o mesmo número de alvéolos glandulares, porém, a área foi 46% menor em relação às filhas de vacas em temperaturas mais baixas. Também foi observado que vacas que passaram por estresse

térmico, ainda na fase intrauterina, apresentaram maior proporção de tecido conectivo, o que pode explicar seu menor desempenho na produção de leite. Mudanças epigenéticas na glândula mamária de novilhas de primeira lactação foram observadas até três anos após a exposição ao estresse térmico durante a gestação.

Ainda, estudos realizados por Monteiro et al., (2014), com vacas resfriadas e vacas submetidas ao estresse por calor no período seco demostraram não haver alterações na composição do colostro produzido, entretanto apesar da vaca sob estresse térmico produzir colostro de boa qualidade, o seu bezerro terá menor competência para adquirir a imunidade passiva e será menos resistente aos desafios ambientais.

3. Conclusão

A discussão fornece evidências de que o estresse térmico tem efeitos profundos nas vacas seja durante o período pré como pós-parto, gerando alterações epigenéticas que podem influenciar sua prole e seus índices produtivos.

Dessa forma é correto afirmar a necessidade de investimentos em instalações e em estratégias que possibilitem ambientes com condições de temperatura e umidade relativa do ar favoráveis, aliando o bem-estar animal à produção animal eficiente.

Referências

Baccari Júnior, F. (2002). Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes. EDUEL, Londrina. 142 p.

Bilby, T. R.; Tatcher, W.W.; Hansen, P.J. (2009). Estratégias farmacológicas, nutricionais e de manejo para aumentar a fertilidade de vacas leiteiras sob estresse térmico. Anais *XIII Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos*, Uberlândia, MG.

Bird, A. DNA methylation patterns and epigenetic memory (2002) 16(1), 6-21. *Genes and Development*. https:// doi.org/10.1101/.

Ceballos, L. S., Moralesa, E. R., Adarvea, G. T., Castro, J. D., Martínez, L. P. & Sampelayo, M. R. S. (2009). Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(1) 322-329.

Baumgard, L. H., Wheelock, J. B., Sanders, S. R., Moore, C. E., Green, H. B., Waldron, M. R., & Rhoads, R. P. (2011). Postabsorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows1. *Journal of Dairy Science*, *94*(11), 5620–5633. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4462

Dado-Senn, B., Laporta, J., & Dahl, G. E. (2020). Carry over effects of late-gestational heat stress on dairy cattle progeny. *Theriogenology*, *154*, 17–23. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.012

Godyń, D., Herbut, P., & Angrecka, S. (2019). Measurements of peripheral and deep body temperature in cattle – A review. *Journal of Thermal Biology*, *79*, 42–49. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.11.011

Hansen, P. J., Denicol, A. C., & Dobbs, K. B. (2014). Maternal embryokines that regulate development of the bovine preimplantation embryo. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *38*(6), 589–598. https://doi.org/10.3906/vet-1405-96

Monteiro, A. P. A., Guo, J. R., Weng, X. S., Ahmed, B. M., Hayen, M. J., Dahl, G. E., Bernard, J. K., & Tao, S. (2016). Effect of maternal heat stress during the dry period on growth and metabolism of calves. *Journal of Dairy Science*, *99*(5), 3896–3907. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10699

Monteiro, A. P. A., Tao, S., Thompson, I. M., & Dahl, G. E. (2014). Effect of heat stress during late gestation on immune function and growth performance of calves: Isolation of altered colostral and calf factors. *Journal of Dairy Science*, *97*(10), 6426–6439. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7891

De Barros, F. R. O.; Paula-Lopes, F. F. (2018). Cellular and epigenetic changes induced by heat stress in bovine preimplantation embryos. Molecular *Reproduction and Development*, 85(11), 810–820. https://doi.org/10.1002/mrd.23040

Feeney, A.; Nilsson, E.; Skinner, M. K. (2014). Epigenetics and transgenerational inheritance in domesticated farm animals. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5(1), 1-7, https://link.springer.com/articles/10.1186/2049-1891-5-48

Franco, M. M. (2017). Epigenética no melhoramento genético e reprodução animal. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 25 (1-2), 75–80.

Hansen, P. J. (2007). Manejo da vaca de leite durante o estresse calórico para aumento da eficiência reprodutiva. Anais XI Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos. Uberlândia, MG.

Heard, E.; Martienssen, R. A. (2014). Transgenerational epigenetic inheritance: Myths and Mechanisms. *Cell Press*. 157(1), 95-109. http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.045

Laporta, J. et al. (2017) In utero exposure to heat stress during late gestation has prolonged effects on the activity patterns and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 100(4), 2976–2984.

Laporta, J. et al.(2020) Late-gestation heat stress impairs daughter and granddaughter lifetime performance. *Journal of Dairy Science*, 103(8), 7555–7568.

Pereira, M. H. C. et al. (2013). Timed artificial insemination programs during the summer in lactating dairy cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an estrogen/progesterone-based protocol. *Journal of Dairy Science*, 96 (11), 6904–6914.

Pinarelli, C. (2003). The effect of heat stress on milk yield. *Latte.* 28 (12), 36-38.

Rijnkels, M. et al. (2010) The epigenetic landscape of mammary gland development and functional differentiation. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 17(1), 85-100, https://link.springer.com/article/10.1007/s10911-010-9170-4

Skibiel, A. L., et al. (2018). In Utero Heat Stress Alters the Offspring Epigenome. *Scientific Reports*,8(1), 14609. www.nature.com/scientificreports/

Skinner, M. K. (2011) Environmental epigenetic transgenerational inheritance and somatic epigenetic mitotic stability. *Epigenetics*. 6(7), 838-842.



Skinner, M. K.; Manikkam, M.; Guerrero-bosagna, C. (2010) Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 21(4), 214-22. http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2009.12.007.

Tao, S. et al. (2011) Effect of heat stress during the dry period on mammary gland development. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 5976–5986. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4329

Tao, S.; Monteiro, A. P. A.; Thompson, I.M.; Hayen, M.J.; Dahl, G.E. (2012) Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and imune function of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 95(12):7128-36. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5697

Tao, S.; Dahl, G. (2013). Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *Journal of Dairy Science*. 96(7):4079-93. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6278

Titto, E.A.L. (1998) Clima: Influência na produção de leite. Anais Simpósio Brasileiro de Ambiência na Produção de Leite, Piracicaba: FEALQ.

Triantaphyllopoulos, K. A.; Ikonomopoulos, I.; Bannister, A. J. (2016). Epigenetics and inheritance of phenotype variation in livestock. *Epigenetics and Chromatin*. 9(1), 1-18. https://doi.org/10.1186/s13072-016-0081-5

Turner, B. M. (2000). Histone acetylation and an epigenetic code. *BioEssays*, 22(9)836–845. https://doi.org/10.1002/1521-1878(200009)22:9<836::AID-BIES9>3.0.CO;2-X