

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Caio Vinícius da Silva Teixeira

**METILAÇÃO GLOBAL GENÔMICA RELACIONADA À
RESISTÊNCIA A HELMINTOS GASTRINTESTINAIS EM
NOVILHOS NELORE**

Dracena

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Caio Vinícius da Silva Teixeira

**METILAÇÃO GLOBAL GENÔMICA RELACIONADA À
RESISTÊNCIA A HELMINTOS GASTRINTESTINAIS EM
NOVILHOS NELORE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas
– Unesp, Campus de Dracena como parte das
exigências para conclusão do curso.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Co-orientadora: Isabela de Almeida Cipriano

Dracena

2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Dracena



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
UNESP – CÂMPUS DE DRACENA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: **Metilação global genômica relacionada à resistência a helmintos gastrintestinais em novilhos nelore**

Modalidade: Trabalho de atividades de pesquisa

Autor: Caio Vinícius da Silva Teixeira

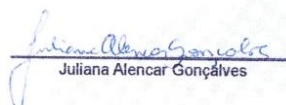
Orientador (a): Ricardo Velludo Gomes de Soutello

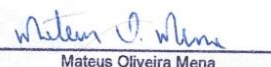
Co-orientador(es): Isabela de Almeida Cipriano

Número de Créditos: 15

Data da aprovação e correção de acordo com as sugestões da Banca: 22/07/2022


Ricardo Velludo Gomes de Soutello


Juliana Alencar Gonçalves


Mateus Oliveira Mena

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Caio Vinícius da Silva Teixeira, nascido em 14 de setembro de 1999, na cidade de Americana/SP. Filho de Luiz Carlos Teixeira e Janeti da Silva Teixeira. Ingressou no curso de graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT/UNESP), campus de Dracena, em fevereiro de 2018. Durante a graduação, participou de grupos de estudos, eventos científicos, cursos, entre outros. Em 2018, ingressou no grupo de estudos EEPPA (Equipe de Extensão e Pesquisa em Parasitologia Animal) vindo a se interessar pelos estudos em parasitologia animal, os quais originaram este trabalho de conclusão de curso.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Luiz Carlos Teixeira e minha mãe Janeti da Silva Teixeira, que me educaram e me possibilitaram essa conquista, exemplos de vida fundamentais para a minha vida pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, pela saúde e pela oportunidade de alcançar esta conquista.

Aos meus pais, por todo esforço, dedicação e esforço incondicional para que a realização deste sonho fosse possível.

Aos meus irmãos, Lucas e Heloísa, pelo amor, companheirismo e amizade.

Ao meu orientador, Prof^o Dr Ricardo Velludo Gomes de Soutello, por sua orientação, ensinamentos, paciência, confiança e todo apoio necessário.

A minha co-orientadora, Isabela de Almeida Cipriano, pelos conhecimentos compartilhados, dedicação e entusiasmo ao ajudar e orientar.

Ao grupo EEPPA pelas amizades, ensinamentos, acolhimento e carinho.

A todos amigos e familiares, pessoas fundamentais na minha vida, que contribuíram direta e indiretamente para a minha formação.

“Um homem que foge do seu medo pode descobrir que, afinal, apenas enveredou por um atalho para ir ao seu encontro.” (J.R.R. Tolkien).

RESUMO

A helmintose é responsável por causar queda na produtividade de ruminantes. O controle dos helmintos baseia-se principalmente no uso de drogas anti-helmínticas. Contudo, com o avanço da resistência anti-helmíntica faz-se necessária a busca por novas alternativas de controle. Uma alternativa é o uso de animais resistentes aos nematódeos gastrintestinais e da diversidade genética do genoma do hospedeiro. O objetivo do trabalho foi caracterizar um rebanho de 55 novilhos Nelore, identificando os animais resistentes, resilientes e suscetíveis a endoparasitas, correlacionando a metilação global do DNA desses animais com o grau de parasitismo, avaliado pela contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Essas contagens foram submetidas a análise de variância (ANOVA) para agrupamento em resistentes, resilientes e suscetíveis pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$) no programa SISVAR. O conteúdo de metilação foi analisado a partir do DNA extraído do sangue dos novilhos, por meio de kit de metilação, e a quantificação feita por leitora de microplacas. Os valores absolutos médios de absorvância dos três grupos foram submetidos à ANOVA e análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Observou-se 47,3% de animais resistentes, 34,5% de animais resilientes e 18,2% de animais suscetíveis a infecção por helmintos gastrintestinais, com contagens de 36, 134 e 419 OPG, e 0,115, 0,123 e 0,123 do DNA metilado, respectivamente. Observou-se uma relação entre a resistência à parasitas e o conteúdo da metilação do DNA. Assim, as metodologias utilizadas possibilitaram a identificação dos 55 novilhos quanto ao grau de infecção por helmintos gastrintestinais e posterior classificação quanto a resistência dos animais a esses endoparasitas. Também foi possível observar uma relação entre a resistência à parasitas e o conteúdo de metilação global do DNA.

Palavras-Chave: bovinos; epigenética; OPG

ABSTRACT

Helminthiasis is responsible for causing a drop in ruminant productivity. The control of helminths is mainly based on the use of anthelmintic drugs. However, with the advancement of anthelmintic resistance, it is necessary to search for new control alternatives. An alternative is the use of animals resistant to gastrointestinal nematodes and the genetic diversity of the host genome. The objective of this work was to characterize a herd of 55 Nelore steers, identifying resistant, resilient and susceptible animals to endoparasites, correlating the global DNA methylation of these animals with the degree of parasitism, evaluated by the egg count per gram of feces (OPG). These counts were submitted to analysis of variance (ANOVA) for grouping into resistant, resilient and susceptible by the Scott-Knott test ($p < 0.05$) in the SISVAR program. The methylation content was analyzed from the DNA extracted from the blood of the steers, using a methylation kit, and the quantification was performed using a microplate reader. The mean absolute values of absorbance of the three groups were submitted to ANOVA and analysis by Tukey's test ($p < 0.05$). It was observed 47.3% of resistant animals, 34.5% of resilient animals and 18.2% of animals susceptible to infection by gastrointestinal helminths, with counts of 36, 134 and 419 OPG, and 0.115, 0.123 and 0.123 of DNA methylated, respectively. A relationship was observed between parasite resistance and DNA methylation content. Thus, the methodologies used allowed the identification of 55 steers regarding the degree of infection by gastrointestinal helminths and subsequent classification regarding the animals' resistance to these endoparasites. It was also possible to observe a relationship between resistance to parasites and the global methylation content of DNA.

Keywords: cattle; epigenetics; OPG

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exame de contagem de ovos por grama de fezes (OPG).....	27
Figura 2 - Média geral da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) durante todo o experimento dos novilhos, distribuídos nos grupos resistentes, resilientes e suscetíveis durante o período experimental.....	30
Figura 3 - Média do ganho de peso durante todo o experimento, distribuídos nos grupos resistentes, resilientes e suscetíveis.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade de animais por grupo (N), média de ovos por grama de fezes (OPG), conteúdo de metilação global do DNA (valor absoluto de absorbância), peso inicial e final, ganho de peso, OPG inicial dos novilhos, distribuídos nos grupos resistentes, resilientes e suscetíveis.....	30
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5mC: 5-metil-citosina

DNA: ácido desoxirribonucleico

mRNA: RNA mensageiro

OPG: ovos por grama de fezes

RNA: ácido ribonucleico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Atual situação da bovinocultura de corte no Brasil.....	18
3.2 Parasitoses.....	18
3.3 Controle parasitário e resistência anti-helmíntica.....	21
3.4 Resistência a parasitas e epigenética.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Local e animais.....	26
4.2 Avaliação do parasitismo e delineamento experimental.....	26
4.3 Coleta do sangue e plasma	27
4.4 Extração do DNA.....	27
4.5 Metilação Global do DNA	28
4.6 Análise estatística.....	28
5 RESULTADOS.....	29
6 DISCUSSÃO.....	32
7 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A helmintose é uma das principais causas da queda na produtividade de ruminantes (OLIVEIRA et al., 2017), sendo causada por helmintos de diferentes filos, classes, gêneros e espécies (SOUTELLO et al., 2018). Esses endoparasitas são responsáveis por causar queda no desempenho produtivo e econômico na pecuária (CARREIRA, 2013). Em bovinos, as infecções por nematódeos gastrintestinais possuem destaque, pois agravam a redução dos índices produtivos, acarretando baixa conversão alimentar, retardo no crescimento, menor ganho de peso dos animais redução da performance reprodutiva, menor qualidade de carcaça e alterações no sistema imunológico (VENTURINI; MENEZES, 2016).

Dessa forma, o controle desses endoparasitas é de extrema importância para a produção animal e baseia-se principalmente no uso de drogas anti-helmínticas (SOUTELLO et al., 2018). Contudo, com o avanço da resistência anti-helmíntica, causada pelo uso excessivo e irracional desses fármacos (KAPLAN; VIDYASHANKAR, 2012), há necessidade de se buscar alternativas de controle afim de reduzir a seleção de helmintos resistentes às principais drogas utilizadas. Uma alternativa é o uso de animais resistentes aos nematódeos gastrintestinais e da diversidade genética do genoma do hospedeiro (SONSTERGARD; GASBARRE, 2001). No entanto, os mecanismos envolvidos no processo de resistência parasitária de um animal não são totalmente claros (SANTOS et al., 2015) principalmente devido à dependência de um grande número de células, citocinas e genes (TIZARD, 2009).

Sabe-se que, provavelmente, a resistência está ligada a herança de genes ou locos genômicos (LI et al., 2012). Entretanto, o genoma não é o único responsável pela passagem de características de uma geração à outra (FANTAPPIE, 2013). Há também a chamada epigenética, que estuda processos herdáveis, mas que não dependem estritamente da sequência do DNA (Ácido desoxirribonucleico) (LIEB et al., 2006), sendo as variações epigenéticas responsáveis por modularem a expressão dos genes (BIRD, 2007).

A metilação do DNA é um dos mecanismos mais estudados (TCHURIKOV, 2005) e consiste na adição de um radical metil à uma base

nitrogenada (PORTELA; ESTELLER, 2010), mais especificamente na posição carbono-5 do anel de citosina (5mC) situada nos dinucleotídeos CpG (TCHURIKOV, 2005). Normalmente essa metilação ocorre nas ilhas CpG (sequências de DNA com alta densidade de bases citosinas e guaninas) (PAIVA et al., 2019). Neste mecanismo, a localização que a adição ocorre no gene pode silenciá-lo, ativá-lo ou provocar a sua superexpressão (FANTAPPIE, 2013; REIS, 2015; RIVAS; TEIXEIRA; KREPISCHI, 2019).

Tendo em vista a importância do controle dos nematódeos gastrintestinais em bovinos, se faz necessário a busca por alternativas como o uso de animais resistentes aos mesmos. Assim, as pesquisas sobre mecanismos epigenéticos podem ser utilizadas como uma ferramenta para a identificação e possível seleção de animais resistentes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho foi classificar um rebanho de 55 novilhos Nelore quanto a resistência a nematódeos gastrintestinais e analisar o conteúdo de metilação global do DNA desses animais, identificando os indivíduos resistentes, resilientes e suscetíveis, relacionando a metilação com o grau de helmintose e o desempenho, avaliados durante o período de 12 meses.

2.1 Objetivos Específicos

- Classificar os animais em resistentes, resilientes e suscetíveis aos nematódeos gastrintestinais por meio do programa SISVAR;
- Avaliar o desempenho dos animais classificados em resistentes, resilientes e suscetíveis;
- Avaliar o conteúdo de metilação global do DNA de 55 novilhos e a relação entre o DNA metilado e os grupos e categorias de animais conforme o grau de infecção por helmintos e desempenho.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Atual situação da bovinocultura de corte no Brasil

A atividade pecuária no Brasil é responsável por gerar em torno de 7,5 milhões de empregos e por um faturamento anual de aproximadamente 5 bilhões de reais, contribuindo de forma significativa para o desenvolvimento socioeconômico (MOTTES et al., 2011).

O Brasil é possuidor do segundo maior rebanho do mundo com aproximadamente 260 milhões de cabeças (ANUALPEC, 2021). Por esse motivo é extremamente importante buscar por novas tecnologias que possibilitem o sucesso da exploração do gado de corte, como por exemplo: cruzamentos industriais, exigências nutricionais e alimentação mais adequada às realidades de campo, e a uma condição sanitária satisfatória do rebanho (BASTOS et al., 2018).

Nosso rebanho nacional é composto em sua maioria por zebuínos e mestiços, principalmente, para a produção de carne (SIQUEIRA et al., 2012). A base da bovinocultura de corte é formada, em sua maioria, pela raça zebuína nelore devido a sua ótima adaptação as condições tropicais, que incluem tolerância ao calor, resistência parasitária, capacidade de aproveitar pastagens com baixo valor nutricional e maior rusticidade do bezerro (ALBUQUERQUE; MERCADANTE; ELER, 2007).

O rebanho de corte tem como principal característica o sistema de criação a pasto, e dentre os fatores que contribuem para o declínio na produção e produtividade da pecuária de corte estão a alta incidência de parasitas, doenças e deficiências minerais, manejo inadequado e flutuações sazonais contínuas na disponibilidade e qualidade dos alimentos (BIANCHIN, 1987).

Com a expansão intensiva da pecuária bovina há um aumento da lotação das pastagens que juntamente com o método de pastejo contínuo, acarreta o aumento de problemas sanitários, como as helmintoses (VENTURINI; MENEZES, 2016).

3.2 Parasitoses

As parasitoses são uma das principais causas da redução de produtividade em ruminantes (OLIVEIRA et al., 2017) e possuem um impacto

negativo significativo no potencial da atividade pecuária, comprometendo os investimentos em genética do rebanho e insumos utilizados, além de reduzir o desempenho produtivo e reprodutivo dos animais, levar a um possível descarte involuntário e até mesmo morte dos mesmos (STOTZER et al., 2014).

A predominância de climas tropicais e subtropicais no Brasil favorece a ocorrência de parasitas internos e externos em bovinos (GRISI et al., 2014) por conta disso, o controle desses patógenos em bovinos é crucial para a pecuária, pois estes resultam em perdas econômicas significativas devido à diminuição do ganho de peso e rendimento da carcaça, custos associados a antiparasitários e mão de obra, transmissão de patógenos, redução na produtividade e até mesmo mortalidade (DELGADO et al., 2009; HEINZEN et al., 2012).

Os endoparasitas, em específico, causam alterações metabólicas que podem comprometer o desempenho do hospedeiro (SYKES; COOP, 1979), prejudicando o crescimento ósseo por conta da perda de minerais (como por exemplo: cálcio, fósforo e magnésio) nas fezes e urina (PEREIRA; LEITE; BIANCHIN, 2004) reduzindo a disponibilidade de nutrientes no organismo dos animais por conta da diminuição do apetite e da ingestão voluntária, e conseqüentemente digestão e absorção, ocasionando infecção do trato digestivo e comprometendo a absorção dos alimentos pelos bovinos; provocando a perda de proteínas endógenas no trato gastrintestinal, responsáveis pelas atividades do sistema imunológico e reparação dos tecidos (VENTURINI; MENEZES, 2016). Logo, bovinos com infecções parasitárias apresentam crescimento atrofiado, produção reduzida de leite e carne, e desempenho reprodutivo reduzido, e como consequência causam prejuízos aos produtores (STROMBERG et al., 2012), por conta do menor ganho de peso e rendimento de carcaça (HEINZEN et al., 2012), morbidade, mortalidade, custos com profilaxia e/ou tratamento e redução da produtividade em interação com estresse nutricional, ambiente, manejo e outros aspectos sanitários (LIMA, 2004).

As espécies de nematódeos gastrintestinais e suas prevalências variam muito de acordo com fatores topográficos, temperatura, precipitação pluviométrica, pastagem, entre outros fatores (UENO; GONÇALVES, 1998). Os ruminantes, de forma geral, são hospedeiros de diversas espécies do Filo

Nematoda (VENTURINI; MENEZES, 2016), mais especificamente da ordem Strongylida (SEQUEIRA; AMARANTE, 2001). Essa ordem é dividida em quatro superfamílias, sendo a Trichostrongyloidea a superfamília que contém os nematódeos mais comuns e patogênicos para ruminantes mantidos a pasto, eles são encontrados principalmente no abomaso e no intestino desses animais, compreendendo os seguintes gêneros: *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Dictyocaulus*, *Ostertagia*, *Oesophagostomum* e *Hyostromylus* (BOWMAN, 2010). No Brasil, diversos estudos com bovinos indicam que os principais gêneros encontrados são *Cooperia spp.*, *Haemonchus spp.*, *Oesophagostomum spp.* e *Trichostrongylus spp.* (GUIMARÃES, 1977; LIMA; GUIMARÃES; LEITE, 1985; ARAÚJO et al., 1992; LIMA, 1998; GUIMARÃES et al., 2000; SOUTELLO et al., 2007; FACHIOILLI et al., 2017; SOUTELLO et al., 2018), sendo as infecções causadas pelas espécies de *Haemonchus* consideradas as mais patogênicas, pois são parasitas hematófagos que causam debilitação no animal (BALIC; BOWLES; MEEUSEN, 2002).

Esses endoparasitas geralmente estão associados com animais a pasto (ANZIANI; FIEL, 2005), pois os fatores edáficos e as condições climáticas de alta temperatura e umidade das pastagens brasileiras são favoráveis ao parasitismo (MENDONÇA et al., 2014), propiciando, portanto, que a maioria dos bovinos seja parasitada durante todo o ano por helmintos gastrintestinais (VENTURINI; MENEZES, 2016).

As pastagens também fornecem a ligação entre as fases de vida livre e parasitária dos parasitas gastrintestinais dos animais em pastejo (WALLER, 2006). O ciclo de vida dos nematódeos é definido por mudas de cutícula antes da fase adulta, sendo elas os estágios L1, L2, L3, L4, e por fim a larva adulta imatura (URQUHART et al., 1996). Esse ciclo pode ser dividido em ciclo de vida direto, no interior do hospedeiro e outra externa, no ambiente, nas áreas fecais e de forragem (FIEL et al., 2012), tendo início pela ingestão do parasita (L3 ou forma infectante) ou pela penetração ativa através da pele, sendo que esses endoparasitas chegam ao meio exterior por meio das fezes, urina e até expectoração brônquica em alguns animais, e a eclosão pode ocorrer no ambiente ou após a ingestão pelo hospedeiro (SEQUEIRA; AMARANTE, 2001).

Santos (1973), avaliando os malefícios causados por essas helmintoses em bovinos de duas propriedades com criação extensiva na Depressão Central, constatou que os animais parasitados perderam 36,7 kg de peso vivo, significando que a incidência de helmintoses resultou em uma perda de 32% do ganho total. Grisi et al. (2014) estimaram os prejuízos devido a nematódeos gastrintestinais em bovinos chegaram aos US\$7.107,97 milhões, portanto esse parasitismo representa um problema econômico significativamente impactante no Brasil. Dessa forma, o controle das helmintoses é de grande importância para o sucesso da pecuária bovina.

3.3 Controle parasitário e resistência anti-helmíntica

O principal método de controle de helmintos é a utilização de drogas anti-helmínticas. No entanto, o uso desses produtos químicos, além do alto custo, pode prejudicar o controle futuro desses parasitas por conta do uso em grande escala que leva ao desenvolvimento da resistência aos princípios ativos utilizados (FRAGA et al., 2003). Os nematódeos gastrintestinais desenvolvem resistência aos fármacos disponíveis no mercado de forma muito rápida (MOLENTO, 2005), se tornando um problema crescente.

A resistência antiparasitária é desenvolvida pelo uso frequente de uma mesma base farmacológica (BASTOS et al., 2018), ocasionando a sobrevivência dos parasitas que deveriam ser eliminados pelo anti-helmíntico (GRAEF et al., 2013). A resistência é um fator herdado, progredindo devido à pressão de seleção e ao potencial de indivíduos resistentes se reproduzirem e produzirem indivíduos naturalmente resistentes (SOUTELLO et al., 2018).

Casos de resistência de helmintos de bovinos a anti-helmínticos não são tão comuns como ocorre com outros ruminantes, como ovinos e caprinos (SOUZA et al., 2008), no entanto, diversos estudos relatam a presença da resistência às drogas anti-helmínticas (PINHEIRO; ECHEVARRIA. 1990; PAIVA et al., 2001; COSTA et al., 2004; RANGEL et al., 2005; SOUTELLO; SENO, 2007; SOUZA et al., 2008; BORGES et al., 2013).

Um dos grandes problemas da produção animal é a resistência anti-helmíntica, uma vez que pode impedir o desenvolvimento de uma opção de tratamento farmacêutico eficaz para helmintoses em animais criados do sistema

de pastejo (GASBARRE et al., 2001; SONSTEGARD; GASBARRE, 2001; WOLSTENHOLME et al., 2004). Além da resistência aos antiparasitários, há também o alto custo proveniente dos programas de controle e insumos, diminuindo a lucratividade e a produtividade do produtor (OLIVEIRA; ALENCAR, 1990; GASBARRE; LEIGHTON; SONSTERGARD, 2001), além disso os resíduos são um grande problema para o meio ambiente e para a saúde pública (OLIVEIRA et al., 2012). Por isso, há uma busca contínua de métodos de controle a esses parasitas (LI et al., 2012), como a utilização de animais resistentes aos mesmos e de diversidade do genoma do hospedeiro (SONSTEGARD; GASBARRE, 2001).

Dessa forma, é extremamente importante buscar por novas alternativas no controle de parasitas. No Brasil, há um grande interesse na utilização de animais resistentes à parasitas e melhor adaptados às condições climáticas tropicais, portanto a seleção de animais geneticamente resistentes é uma estratégia de controle promissora, que pode ajudar a reduzir a necessidade de medicamentos antiparasitários, amenizar os prejuízos provocado pelos helmintos e os altos custos de tratamento (OLIVEIRA et al., 2012).

3.4 Resistência a parasitas e epigenética

É possível definir resistência como a capacidade de suprimir o estabelecimento e/ou desenvolvimento de uma infecção provocada por helmintos (SUAREZ; Buseti; LORENZO, 1995; GASBARRE; LEIGHTON; SONSTERGERD, 2001) e/ou a infestação causada por ectoparasitas (*Rhipicephalus microplus* e *Haematobia irritans*) (UTECH; WHARTON; KERR, 1978).

Diversos fatores podem influenciar a resistência dos animais aos parasitas, fatores tais como: condições climáticas, raça, idade, sexo, características da pelagem, imunidade e genética dos animais (BURROW; SEIFERT; HETZEL, 1991; STEELMAN et al. 1991; LIMA; PRADO; PERRI, 2002; ALENCAR; FRAGA; SILVA, 2005; OLIVEIRA et al., 2009; PRAYAGA et al., 2009; SILVA et al., 2010a; OLIVEIRA et al., 2013; PACHECO, 2015; PASSAFARO et al., 2015; NEVES et al., 2016).

Independentemente da raça, dentro de uma população de animais não selecionados para resistência parasitária, existem aproximadamente 10 a 20% de indivíduos que não precisam ou necessitam de muito pouco anti-helmíntico para que ocorra o controle dos parasitas, esses indivíduos são considerados naturalmente “resistentes”. Nessa mesma proporção existem os indivíduos que sempre apresentam alta carga parasitária em seu trato gastrintestinal, sendo eles considerados animais disseminadores de parasitas no meio ambiente, denominados “suscetíveis”. Existem ainda os indivíduos “resilientes”, são animais que não possuem resistência, mas que conseguem amenizar o efeito do parasitismo no seu desempenho produtivo (AMARANTE et al., 2004; ROCHA et al., 2004).

Os mecanismos por trás desse processo, no entanto, são complexos e ainda mal compreendidos (BIEGELMEYER et al., 2012; SANTOS et al., 2015) uma vez que dependem de um número significativo de genes, citosinas e tipos de células (TIZARD, 2009).

Sabe-se que a resistência é uma característica herdável (GASBARRE; LEIGHTON; SONSTEGARD, 2001; FRAGA et al., 2003; SHYMA; GUPTA; SINGH, 2015), mediada por grande quantidade de genes (LASELY, 1978) que possuem papel direto ou indireto na expressão de moléculas que regulam a imunidade do hospedeiro (LI et al., 2012).

A habilidade do animal em expressar resistência e adquirir uma autoimunidade varia muito de acordo com as espécies, provando que esses fatores são um controle genético, sendo comprovado em diversos estudos tendo como parâmetro examinador o OPG (ovos por grama de fezes) (GASBARRE et al., 2001). Diversos resultados de pesquisas demonstram que é possível realizar a seleção através do OPG de hospedeiros resistentes aos nematódeos gastrintestinais, além disso, esta técnica pode levar a uma diminuição significativa de larvas infectantes presente no ambiente a longo prazo, proporcionando uma menor infecção dos animais (BASSETTO et al., 2009).

A grande evidência que se tem a respeito deste controle genético pode ser demonstrada através dos valores de herdabilidade para resistência parasitária, ou seja, o quanto desta característica é herdada e transmitida para

a progênie. Em bovinos essa herdabilidade é estimada em cerca de 0,30 (GASBARRE et al., 2001). Desta forma, a seleção de bovinos resistentes a helmintoses demonstram ser a melhor alternativa para aumentar a habilidade do animal em amenizar o grau de infecção parasitária, e conseqüentemente, a uma redução de custos no controle antiparasitário, resultando em um maior retorno econômico na atividade pecuária.

Considerando que a herança dos genes que possuem importância na expressão de moléculas que regulam a imunidade do hospedeiro e controlam a patologia está ligada a resistência (LI et al., 2012), a seleção de animais resistentes pode ser uma alternativa eficiente (BIEGELMEYER et al., 2012), visto que a resistência é uma característica herdável (AMARANTE, 2004), além de diminuir expressivamente os picos sazonais na carga parasitária e no número de larvas no pasto após a seleção (PACHECO, 2015).

Por um longo período os genes foram considerados como os únicos responsáveis por transmitir as características biológicas entre gerações, no entanto, foi descoberto que variações epigenéticas também podem ser passadas a prole (FANTAPPIE, 2013).

Essas variações podem ser definidas como alterações no genoma hereditárias e reversíveis, por meio da memória celular, (TSAI; BAYLIN, 2011) que não modificam a sequência de DNA (BAKUSIC et al., 2017), representando um conjunto de eventos moleculares moduladores da expressão dos genes (BIRD, 2007). Essas modificações incluem o surgimento de metilação do DNA, alterações das histonas, entre outros mecanismos, tais como a inativação da cromatina (BRÄUTIGAM; CRONK, 2018). A metilação do DNA está entre os mecanismos mais estudados da epigenética, consistindo basicamente na adição de um radical metil à uma base nitrogenada (COSTA, 2008; PORTELA; ESTELLER, 2010). Usualmente a metilação ocorre em uma ilha CpG, que consiste em um sítio dinucleotídico (PORTEN, 2018), particularmente, na posição carbono-5 no anel de citosina, 5mC (TCHURIKOV, 2005).

A adição de um grupo metila a uma molécula de DNA pode provocar o completo silenciamento até a superexpressão de diversos genes, sendo que a modificação do padrão da metilação do DNA leva a criação de um perfil novo

que pode ativar genes que deveriam permanecer silenciados e ter um efeito significativo na vida e na saúde de um organismo (FANTAPPIE, 2013).

Tendo em vista a importância do controle dos parasitas em bovinos, se faz necessário a busca por novas alternativas para o controle de helmintos, como por exemplo, o uso de animais resistentes e o estudo da diversidade genética do genoma do hospedeiro. Dessa forma, as pesquisas sobre mecanismos epigenéticos podem ser utilizadas como uma ferramenta para a identificação e possível seleção de animais resistentes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

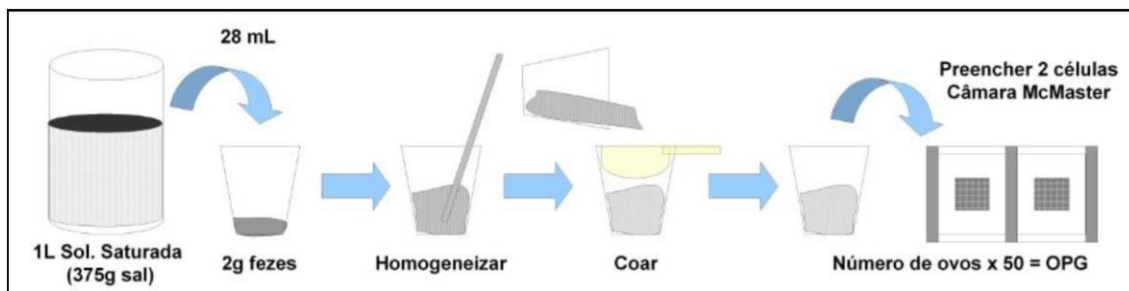
4.1 Local e animais

O experimento foi realizado no Laboratório de Parasitologia e Sanidade Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (UNESP/Câmpus de Dracena), sendo protocolado na Comissão de Ética em Uso de Animais sob o número 26/2014 na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Dracena.

Foram avaliados 55 machos bovinos da raça Nelore, com aproximadamente 18 meses de idade, com peso inicial médio de 267 kg. Os animais receberam tratamento antiparasitário seis meses antes do início das avaliações, com Fosfato de Levamisol 18,8% (Ripercol®, Zoetis), seguindo as recomendações do fabricante, para o controle de helmintos gastrintestinais e depois permaneceram sem tratamento antiparasitário até o final do experimento.

4.2 Avaliação do parasitismo e delineamento experimental

O grau de parasitismo individual dos animais foi avaliado com base em dados já coletados durante o período de um ano. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) contendo 55 tratamentos, sendo considerado cada animal como um tratamento e 13 repetições referentes aos números de coletas realizadas. Os dados utilizados para a avaliação de helmintos gastrintestinais foram coletados a cada 28 dias, sendo as contagens de ovos por grama de fezes (OPG) obtidas de acordo com a metodologia de Gordon e Whitlock, (1939) e a identificação das larvas infectantes (L3) pela técnica de Robert e O' Sullivan (1950). As larvas infectantes (L3) foram extraídas segundo Baermann (1917) e diferenciação dos gêneros feitas por meio da chave de identificação (KEITH, 1953). Simultaneamente a coleta de fezes, a cada 28 dias, todos os animais foram pesados individualmente em uma balança eletrônica digital para a avaliação do ganho de peso.



Fonte: MOLENTO; NICIURA; CHAGAS, 2011, p. 120.

Figura 1 - Exame de contagem de ovos por grama de fezes (OPG).

4.3 Coleta de sangue e plasma

Para a análise da metilação global dos animais, foi utilizado o plasma do sangue dos animais.

A coleta de sangue foi realizada por venopunção, utilizando tubos Vacutainer® de 5 mL com EDTA (ácido etilenodiaminotetracético potássio), diretamente da veia jugular esquerda dos animais. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 5 minutos, na centrífuga Celm®, extraindo o plasma e congelando-os em eppendorf.

4.4 Extração do DNA

A extração de DNA total genômico foi realizada por EasyPure® Micro Genomic DNA Kit (Transgen), sendo adicionado 50 - 250µL de plasma e 20 µL de Proteinase K em tubo de microcentrífuga e misturando bem em vortex. Em seguida foi adicionado BB14 (Binding Buffer 14) e RNA transportador ao material, misturando em vortex ou pipeta, e incubando o material à 55°C em “banho-maria” por 10 minutos. Após o preparo do material, a mistura foi transferida para uma coluna de centrifugação e o tubo foi brevemente centrifugado, descartando o sobrenadante. Ao final da centrifugação foi adicionado CB14 (Clean Buffer 14) e o material foi novamente centrifugado, repetindo essa operação mais uma vez. Na etapa seguinte, que ocorreu duas vezes, foi adicionado WB14 (Wash Buffer 14) e etanol (70%), e novamente o material foi centrifugado, descartando o sobrenadante. Ao final, a coluna foi centrifugada para remoção do WB14 residual. Posteriormente, a coluna de centrifugação foi colocada em um tubo estéril de microcentrífuga e adicionou-se-

à de Tampão de Eluição (pré-aquecido) à matriz da coluna. Após essa etapa, o material foi incubado em temperatura ambiente, e em seguida foi centrifugado para eluir o DNA genômico isolado. Esse DNA foi armazenado a - 20°C.

A quantificação e a qualidade das amostras foram realizadas com o espectrofotômetro (NanoDrop 2000 – Thermo Scientific), de acordo com Sambrook et al. (1989).

4.5 Metilação global do DNA

A análise da metilação foi realizada por meio do Imprint DNA Methylation Quantification kit (Sigma), usando tiras com poços pré-tratados com reagente ligante de DNA metilado, e utilizando anticorpo de captura sensível a metilação do DNA e um anticorpo de detecção. As amostras de DNA foram diluídas misturando essas a uma solução fixadora de DNA metilado de cada amostra de DNA, gerando reações que foram transferidas para cada poço, juntamente com o controle negativo (água ultrapura) e controle positivo (DNA metilado fornecido no kit). Os poços foram submetidos a dois processos de incubação, juntamente com o DNA as amostras foram removidas e cada poço foi lavado com solução de lavagem diluída.

Cada poço então recebeu anticorpo de captura diluído, ficando incubados a temperatura ambiente. Após a incubação, o anticorpo de captura foi removido, e cada poço foi lavado com solução de lavagem diluída, adicionando-se o anticorpo de detecção diluído, incubando-se novamente à temperatura ambiente. Após esse período o anticorpo de detecção foi removido, e cada poço foi lavado. Posteriormente, no escuro, cada poço recebeu solução reveladora, incubando antes de adicionar solução de parada. A absorbância da solução contida nos poços foi realizada em um comprimento de onda de 450nm em uma leitora de microplacas DR-200BS-NM-BI, sendo a fórmula utilizada para obtenção dos valores corrigidos: $[(A_{450} \text{ Amostra} - A_{450} \text{ Branco}) / A_{450} \text{ DNA Controle metilado} - A_{450} \text{ Branco}] \times 100$.

4.6 Análise estatística

A distribuição das contagens de OPG foi verificada pelo teste Shapiro-Wilk por meio do programa SISVAR 5.4 (Ferreira, 2014) e as contagens foram

transformadas em $\sqrt[2]{n + 0,5}$, em que o “n” é o valor das contagens. A partir das contagens de OPG, em DIC, contendo 55 tratamentos e 13 repetições referentes à cada coleta, as médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e posterior análise estatística de agrupamento pelo teste de Scott-Knott (5%), pelo programa computacional SISVAR 5.4 (Ferreira, 2014). Assim, os animais do rebanho foram, de acordo com o grau de parasitismo, agrupados em resistentes, resilientes e suscetíveis. Após tal classificação, a contagem média dos animais de cada grupo também foi submetida a ANOVA, sendo considerados três tratamentos (classificação de acordo com a resistência) e 55 repetições (cada animal sendo considerado uma repetição), e posterior análise estatística pelo programa computacional SISVAR 5.4 (Ferreira, 2014), pelo teste de Tukey (5%).

A análise estatística de metilação global do DNA, em DIC, com três tratamentos (resistente, resiliente e suscetível) e 55 repetições, utilizou os valores absolutos de absorvância, sendo as médias das diferenças de metilação entre os animais transformadas em $\sqrt[2]{n + 0,5}$ e submetidas à ANOVA, pelo programa computacional SISVAR 5.4 (Ferreira, 2014), a fim de se verificar a significância estatística entre os diferentes valores dos grupos resistentes, resilientes e suscetíveis a nematódeos gastrintestinais.

5 RESULTADOS

A tabela 1 apresenta a quantidade de animais agrupados de acordo com a quantidade de ovos por gramas de fezes (OPG), sendo: 26 animais resistentes (36 OPG), 19 resilientes (134 OPG) e 10 suscetíveis (419 OPG), com contagens médias de OPG de 36, 134 e 419, respectivamente. Para o conteúdo de metilação do DNA, os novilhos apresentaram valores médios de absorvância de 0,115 (resistentes), 0,123 (resilientes) e 0,123 (resistentes), sem diferença significativa entre os três grupos. Porém, os animais resistentes apresentaram menor quantidade de metilação em relação aos animais resilientes e suscetíveis.

Tabela 1 - Quantidade de animais por grupo (N), média de ovos por grama de fezes (OPG), conteúdo de metilação global do DNA (valor absoluto de absorbância), peso inicial e final, ganho de peso, OPG inicial dos novilhos, distribuídos nos grupos resistentes, resilientes e suscetíveis

Classificação	N	OPG Médio	Metilação DNA	Peso Inicial	Peso Final	Ganho de peso	OPG inicial
Resistentes	26	36 a	0,115	285	435	150	40 a
Resilientes	19	134 b	0,123	265	409	144	250 a
Suscetíveis	10	419 c	0,123	278	408	130	580 b
Média		140	0,119	266,84	417	154,89	210,81
CV (%)		65,36	92,8	21,39	9,04	31,92	150,16
p-valor		<0,001	0,963	0,0195	0,145	0,196	0,0001

As letras distintas na coluna apontam significância pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os grupos.

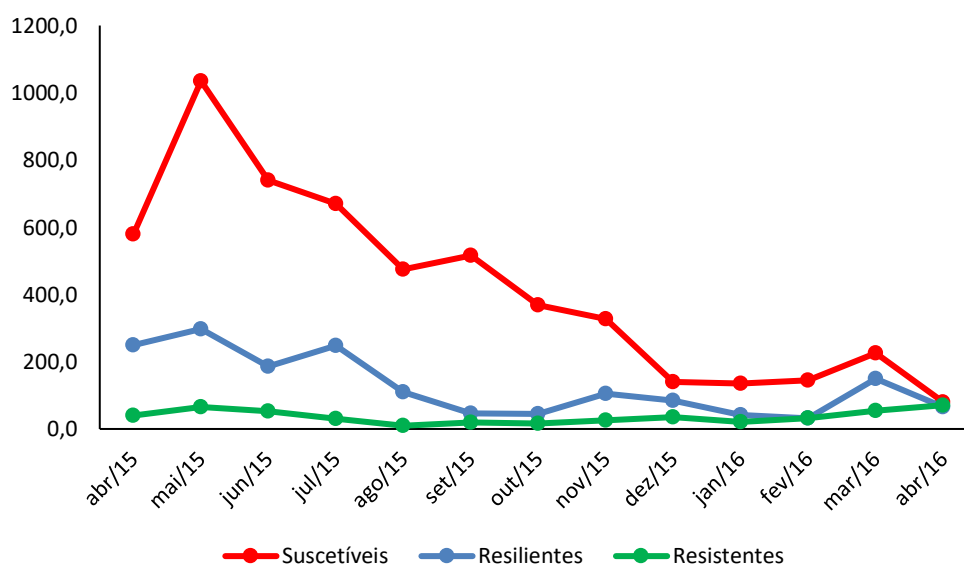


Figura 2 - Média geral da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) durante todo o experimento dos novilhos, distribuídos nos grupos resistentes, resilientes e suscetíveis durante o período experimental.

O desenvolvimento do grau de infecção por helmintos (figura 1), demonstra que todos os animais iniciaram o estudo com médias distintas de OPG, onde os suscetíveis apresentavam médias superiores; os resilientes médias medianas e os resistentes médias baixas para infecção por helmintos

gastrointestinais. Não foi observado diferença significativa entre os animais resistentes e resilientes, no entanto ambos apresentaram diferença em relação aos suscetíveis (tabela 1). Observou-se também que no decorrer do experimento, os suscetíveis mantiveram-se com contagens superiores de OPG quando comparado aos resistentes e resilientes. Ao final do período experimental os animais apresentaram médias semelhantes de OPG.

Durante o período experimental, os gêneros de helmintos encontrados por meio das coproculturas, apresentaram maior prevalência de *Haemonchus* spp. (65%), seguido por *Cooperia* spp. (25%).



Figura 3 - Média do ganho de peso durante todo o experimento, distribuídos nos grupos resistentes, resilientes e suscetíveis.

Na figura 3 é possível observar as médias dos ganhos de peso dos grupos durante todo período experimental, onde os animais resilientes iniciaram o estudo com pesos inferiores em relação aos resistentes e suscetíveis, não havendo diferença significativa entre os grupos (tabela 1). Porém, ao final do estudo, os resistentes e resilientes apresentaram pesos finais superiores em relação aos suscetíveis, estes apresentando ganho de peso de 20 kg e 14 kg a menos quando comparado com os indivíduos resistentes e resilientes, respectivamente. Entretanto, os resistentes apresentaram desempenho superior durante todo período experimental.

6 DISCUSSÃO

A classificação dos animais em relação ao grau infecção por nematódeos gastrintestinais está de acordo ao observado por Bricarello et al. (2007) em estudo realizado para animais da raça Nelore, no qual observou-se contagens médias de OPG inferiores a 50 para resistentes e contagens superiores a 400 OPG para suscetíveis. Ueno e Gonçalves (1998), também observaram contagens inferiores a 200 OPG em animais com grau leve de infecção. O OPG tende a diminuir nos animais à medida que se tornam adultos, pois os animais adquirem imunidade ao redor dos 18 meses de idade (BIANCHIN & CATTO, 2008).

Para a contagem média geral de OPG, observou-se que os valores encontrados no presente estudo ficaram próxima da encontrada para novilhos (314 OPG) na mesma região do estudo (SOUTELLO et al., 2001) e acima do relatado para animais de mesmo grupo genético (OLIVEIRA et al., 2009). Essa diferença pode estar relacionada com a genética (LEIGHTON et al., 1989; PASSAFARO et al., 2015) e com o desafio proporcionado pelo ambiente e condições climáticas de cada região (PIMENTEL NETO; FONSECA, 2002; OLIVEIRA et al., 2009). Além disso, por se tratar de 55 animais zebuínos, também justifica a obtenção de baixas contagens (O'KELLY, 1980; PEÑA et al., 2000).

Analisando os dados das coproculturas, as espécies com maior prevalência foram *Haemonchus* spp. e *Cooperia* spp. Soca et al. (2007), estudando os nematódeos gastrintestinais, também observaram maior prevalência de *Haemonchus* spp. (60%). Soutello et al. (2002) verificaram que animais sem tratamento anti-helmíntico, apresentaram maior porcentagem de larvas do gênero *Haemonchus* spp., em relação ao gênero *Cooperia* spp.

Vários estudos datados desde os anos 80 demonstram que uma elevada carga parasitária proporciona menor desempenho dos animais mantidos a pasto, cerca de 30-70 kg a menos por ano (PINHEIRO, 1985; ZOCOLLER et al., 1995; BIANCHIN, 1996). Assim como observado no estudo, visto que os suscetíveis apresentaram menor desempenho. Esses resultados corroboram com Neves (2010), em que a elevada carga parasitária influenciou na média do ganho de peso, reduzindo o desempenho dos ovinos do grupo dos suscetíveis em relação aos resistentes. No presente estudo, os resistentes e resilientes apresentaram

pesos superiores, comprovando ser de suma importância manter no rebanho estas categorias de animais, pois além da obtenção de um melhor desempenho produtivo, também ocorre a redução dos custos de controle com o uso anti-helmínticos, desta forma, alcançando um maior retorno econômico da atividade pecuária (Bricarello et al. 2007).

No presente estudo, há a possibilidade do menor grau de metilação encontrado no grupo dos animais resistentes estar ligada ao silenciamento dos genes da resistência que poderiam ser expressos, devido a metilação e desmetilação das regiões promotoras nas ilhas CpGs dos genes levarem ao silenciamento dos mesmos (Reis, 2015), sendo esta hipótese podendo ser observada também em outros estudos com bovinos (Huang et al., 2014; Osorio et al., 2016).

Há poucos relatos na literatura relacionando a resistência parasitária de bovinos e a metilação global do DNA, no entanto, é possível encontrar estudos sobre a metilação global do DNA e outros mecanismos epigenéticos em bovinos em outras áreas. Wang et al. (2019) relataram correlação significativa entre taxas globais de metilação do DNA no sangue e a produção de leite ou proteína do leite em vacas leiteiras, sendo a taxa de metilação do DNA menor no grupo de animais com alta produção de leite e maior nos animais com baixa produção de leite. Entretanto, segundo os autores é necessário aprofundar mais os estudos para averiguar se existem diferentes padrões de metilação do DNA nos diversos tipos de células sanguíneas.

A metilação do DNA é dinâmica, sendo influenciada pelo tipo de célula ou tecido, idade, exposição a estímulos ambientais e inúmeros outros fatores, assim como outros mecanismos epigenéticos (FINGERMAN et al., 2013). A influência da idade na metilação do DNA, também é relatada na literatura em outros animais. Jin et al. (2014) mostram que o nível de metilação do DNA no coração de porcos de meia idade é significativamente menor comparado com porcos jovens, sendo que esse resultado, segundo os autores, pode ser decorrente dos maiores níveis de transcrição de mRNA do DNA metil transferases 3b, podendo esse fato regular o padrão de metilação genômica de maneira específica em porcos durante o desenvolvimento. A influência da idade na metilação global também foi observada no DNA de cães (GRYZINSKA et al., 2016).

Sabe-se que a metilação do DNA é um processo que regula a expressão do gene, sendo a adição de um radical metil (-CH₃) à uma base nitrogenada (PORTELA; ESTELLER, 2010), normalmente aos nucleotídeos de DNA cisteína de dinucleotídeos CpGs (GOLDBERG; ALLIS; BERNSTEIN, 2007), ou seja, em regiões do DNA ricas em nucleotídeos, citosina e guaninas, que são agrupados em ilhas na maioria dos genes (REIS, 2015). Essa regulação da expressão gênica ocorre por conta da inibição direta dos fatores de transcrição em sequências específicas do DNA (PAIVA et al., 2019), sendo que a localização que o mecanismo ocorre no gene influencia o controle de sua expressão, podendo ser silenciado, ativado ou superexpresso (FANTAPPIE, 2013; REIS, 2015; RIVAS; TEIXEIRA; KREPISCHI, 2019).

As ilhas CpG possuem papel importante nas regiões promotoras, levando ao silenciamento de diversos genes (inibição da transcrição gênica) quando as ilhas são metiladas, ou ativando as regiões promotoras quando ocorre a desmetilação das ilhas CpG (REIS, 2015). Uma superexpressão do gene também pode ocorrer quando a metilação ocorre nas regiões codificadoras dos genes (éxons) (YANG et al. 2014).

Os resultados deste estudo proporcionam informações promissoras, devido a possibilidade da metilação global do DNA sanguíneo estar ligado a expressão de genes envolvidos na resistência parasitária, impulsionando assim a realização de estudos sobre a metilação global do DNA dos bovinos e fatores envolvidos no processo de resistência aos helmintos gastrintestinais.

7 CONCLUSÃO

As metodologias utilizadas possibilitaram a identificação dos animais quanto ao grau de infecção por helmintos. Foi possível relacionar o grau de resposta imunológica dos animais a esses parasitas com o conteúdo de metilação global do DNA, sendo estes resultados promissores, incentivando a realização de mais estudos sobre o assunto e aumentando as expectativas sobre os mecanismos epigenéticos se tornarem uma ferramenta para a seleção de bovinos resistentes a parasitas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, L. G.; MERCADANTE, M. E. Z.; ELER, J. P. Aspectos da seleção de *Bos indicus* para produção de carne. *Boletim de Indústria Animal*, Nova Odessa, v. 64, n. 4, p. 339-348, 2007.
- ALENCAR, M. M.; FRAGA, A. B.; SILVA, A. M. Adaptação de genótipos a ambientes tropicais: resistência à mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*, Linnaeus) e ao carrapato (*Boophilus microplus*, Canestrini) em diferentes genótipos bovinos. *Agrociência*, v. 9, n. 1–2, p. 579-585, 2005.
- AMARANTE, A. F. T. Resistência genética a helmintos gastrintestinais. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, 2004, 5, Pirassununga – SP. **Anais** [...]. Pirassununga - SP, 2004.p. 1-10. ANUALPEC 2021. Anuário da pecuária brasileira. São Paulo: FNP - Consultoria e Comercio,1994. Anual.
- ANZIANI, O.; FIEL, C. Resistencia de los nemátodos gastrointestinales a los antihelmínticos: Un problema emergente y relevante para la producción bovina nacional. **Estudio de la Resistencia A Los Antiparasitarios en Argentina**, p. 40–49, 2004.
- ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P.; LIMA, P. A. S.; LIMA, W. S. Avaliação de tratamentos anti-helmínticos em bezerros de bacia leiteira de Muriaé, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 7–14, 1992.
- BAKUSIC, J.; SCHAUFELI, W.; CLES, S.; GODDERIS, L. Stress, burnout and depression: A systematic review on DNA methylation mechanisms. **Journal of Psychosomatic Research**, v.92, p. 34-44, jan. 2017.
- BALIC, A.; BOWLES, V. M.; MEEUSEN, E. N. T. Mechanisms of immunity to *Haemonchus contortus* infection in sheep. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 24, p. 39- 46, 2002.
- BASSETO, C. C.; SILVA, B. F.; FERNANDES, S.; AMARANTE, A. F. T. Contaminação da pastagem com larvas de nematóides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.63-68, 2009.
- BASTOS, J. A. R.; PINTO, R.; FAUSTO, G. C.; PONTES, K. C. S.; NONATO, I. A.; CARVALHO, C. A. De. Tratamento antiparasitário em bovinos com erva de macaé (*Leonurus sibiricus*) e pau jacaré (*Piptadeniagonoacantha*): uma alternativa terapêutica. **Revista Científica UniScientiae**, v. 1, n. 2, 2018.
- BIANCHIN, I. Controles estratégicos dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte no Brasil. **Hora Veterinária**, v. 39, p. 49-53, 1987.
- BIANCHIN, I. Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte nos cerrados e o controle estratégico no Brasil. In: CONTROLE dos nematódeos gastrointestinais de bovinos. [S.l.]: EMBRAPA, 1996. p. 113-156.

BIANCHIN, I.; CATTO, J. B. Epidemiologia e alternativas de controle de helmintos em bovinos de corte na Região Central do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 15., 2008, Curitiba. Programa & Resumos. Jaboticabal: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, [2008]. (CD-ROM).

BIEGELMEYER, P.; NIZOLI, L. Q.; CARDOSO, F. F.; DIONELLO, N. J. Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Archivos de Zootecnia**, [s. l.], v. 61, n. 237, p. 1–11, 2012.

BIRD, A. Perceptions of epigenetics. *Nature*, v. 447, p. 396-398, maio 2007.

BORGES, F. A.; ALMEIDA, G.D.; HECKLER, R. P.; LEMES, R. T.; ONIZUKA, M. K. V.; BORGES, D. G. L. Anthelmintic resistance impacto on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. **Trop. Anim. Health Prod.**,v.45, p. 723-727, 2013.

BOWMAN, D. D. **Georgis Parasitologia Veterinária**. Tradução Adriana PittellaSudré. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

BRÄUTIGAM, K.; CRONK, Q. DNA Methylation and the Evolution of Developmental Complexity in Plants. **DNA Methylation and Development.**,v. 9, n. 1447, p. 1-14, out. 2018.

BRICARELLO, P. A.; ZAROS, L. G.; COUTINHO, L. L.; ROCHA, R. A.; KOOYMAN, F. N. J.; DE VRIES, E.; GONÇALVES, J. R. S.; LIMA, L. G.; PIRES, A. V.; AMARANTE, A. F.T. Field study on nematode resistance in Nelore-breed cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 272-278, 2007.

BURROW, H. M.; SEIFERT, G. W., HETZEL, D. J. S. Consequences of selection for weaning weight in Zebu, *Bos taurus* and zebu - *Bos taurus* cattle in the tropics. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 42, p. 295–307, 1991.

CARREIRA, J. P. B. Parâmetros genéticos para resistência aos carrapatos, helmintos gastrointestinais e Eimeriaspp. e perspectivas do uso de seleção em bovinos da raça Nelore. 2013. 52 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

COSTA, A. J.; OLIVEIRA, G. P.; ARANTES, T. P.; BORGES, F. A.; MENDONÇA, R. P.; SANTANA, L. F.; SAKAMOTO, C. A. M. Avaliação comparativa da ação anti-helmíntica e do desenvolvimento ponderal de bezerros tratados com diferentes avermectinas de longa ação. **A Hora Veterinária**, v.24, n.139, p.31-34, 2004.

COSTA, F.F. Non-coding RNAs, epigenetics and complexity. **Gene**, v. 410, n.1, p. 9-17, fev. 2008.

DELGADO, F. E. F.; LIMA, W.S.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P.; DOMINGUES, L. N.; WANDERLEY, R. P. B.; LEITE, P. V. B.; LEITE, R. C. Verminoses dos bovinos: percepção de pecuaristas em Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 29–33, 2009.

FACHIOLLI, D. F.; SAES, I. L.; DELLAQUA, J. V. T.; SOUSA, O. A.; PINTO, L. D.; SANTI, P. F.; YAMADA, P. H.; TARDIVO, R.; AMARANTE, A. F. T.; SOUTELLO, R.V.G. Anthelmintic treatment and supplementation in Nelore calves performance in the post-weaning period. **Semina: Ciências Agrárias**, v.38, n.3, p.1551-1560, 2017.

FANTAPPIE, M. Epigenética e memória celular. **Revista Carbono**, n. 3, 2013.
FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FIEL, C. A.; FERNÁNDEZ, A. S.; RODRÍGUEZ, E. M.; FUSÉ, L. A.; STEFFAN, P. E. Observations on the free-living stages of cattle gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, [s. l.], v. 187, n. 1–2, p. 217–226, 2012.

FINGERMAN, I. M.; ZHANG, X.; RATZAT, W.; HUSAIN, N.; COHEN, R. F.; SCHULER, G. D. NCBI Epigenomics: What's new for 2013. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. D1, p. D221–D225, 2013.

FRAGA, A. B.; ALENCAR, M. M.; FIGUEIREDO, L. A.; RAZOOK, A. G.; CYRILLO, J. N. S. G. [UNESP. Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1578–1586, 2003.

GASBARRE, L. C.; LEIGHTON, E. A.; SONSTEGARD, T. Role of the bovine immune system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology: Promotion Advancement, Preserving Tradition.**, v. 98, n. 1, p. 51–64, 2001.

GOLDBERG, A. D.; ALLIS, C. D.; BERNSTEIN, E. Epigenetics: a landscape takes shape. **Cell**, v. 128, n. 4, p. 635–638, 2007.

GORDON, H. McL; WHITLOCK, A. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. *Journal Council Scientific Industry Research Australia*, v. 12, p. 5052, 1939.

GRAEF, J.; CLAEREBOUT, E.; GELDHOF, P. Anthelmintic resistance of gastrointestinal cattle nematodes. **Vlaams Diergeneeskd Tijdschr.** v. 82, p. 113– 123, 2013.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150–156, 2014.

GRYZINSKA, M.; JAKUBCZAK, A.; LISTOS, P.; DUDKO, P.; ABRAMOWICZ, K.; JEŻEWSKA-WITKOWSKA, G. Association between body weight and age of dogs and global DNA methylation. **Med. Weter**, v.72, n.1, p.64-67, 2016.

GUIMARÃES, M. P. Desenvolvimento das helmintoses gastrintestinais em bovino de corte em pastagem no cerrado. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, p. 81, 1977.

GUIMARÃES, M. P.; RIBEIRO, M. F. B.; FACURI-FILHO, E. J.; LIMA, W. S. Strategic control of gastrointestinal nematodes in dairy calves in Florestal, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Research Communications**, v. 24, n. 1, p. 31-38, 2000.

HEINZEN, E. L.; PEIXOTO, E. C. T. M.; JARDIM, J. G.; GARCIA, R. C.; OLIVEIRA, N. T. E.; ORSI, R. O. Extrato de própolis no controle de helmintoses em bezerros. **Acta Veterinaria Brasilica**, p. 40–44, 2012.

HUANG, Y.; SUN, J.; LI, C.; WOMACK, J.E. Genome-wide DNA Methylation Profiles and Their Relationships with mRNA and the microRNA Transcriptome in Bovine Muscle Tissue (*Bos taurine*). **Scientific Reports**, v. 4, n.1, p.1-17, out. 2014.

JIN, L.; JIANG, Z.; XIA, Y.; LOU, P.; CHEN, L. Genome-wide DNA methylation changes in skeletal muscle between young and middle-aged pigs. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, p. 653, 2014.

KEITH, R. K. The differentiation of the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. *Australian Journal of Zoology*, Victoria, v. 1, n. 2, p. 223-235, 1953.

LASELY, J. F. Genetics of livestock improvement. prentice hall inc. **Englewood cliff, New Jersey**, v. 7932, p. 492, 1978.

LEIGHTON, E. A.; MURRELL, K. D.; GASBARRE, L. C. Evidence for Genetic Control of Nematode Egg-Shedding Rates in Calves. **The Journal of Parasitology**, [s. l.], v. 75, n. 4, p. 498–504, 1989.

LI, R. W., CHOUDHARY, R. K., CAPUCO, A. V., & URBAN JR, J. F. Exploring the host transcriptome for mechanisms underlying protective immunity and resistance to nematode infections in ruminants. **Veterinary Parasitology**. v. 190, p. 1-11, nov. 2012.

LI, R. W.; CHOUDHARY, R. K.; CAPUCO, A. V.; URBAN JR, J. F. Exploring the host transcriptome for mechanisms underlying protective immunity and resistance to nematode infections in ruminants. **Veterinary Parasitology**, v. 190, p. 1-11, nov. 2012.

LIEB, J. D.; BECK, S.; BULYK, M. L.; FARNHAM, P.; HATTORI, N.; HENIKOFF, S.; LIU, X. S.; OKUMURA, K.; SHIOTA, K.; USHIJIMA, T.; GREALLY, J. M. Applying whole-genome studies of epigenetic regulation to study human disease. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 114, n. 1, p. 1–15, 2006.

LIMA, L. G. F.; PRADO, Â. P.; PERRI, S. H. V. Localização preferencial e índices diferenciados de infestação da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) em bovinos da raça Nelore. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 25–32, 2002.

LIMA, W. S. Seasonal infection pattern of gastrointestinal nematodes of beef cattle in Minas Gerais State – Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 77, p. 203-214, 1998.

LIMA, W. S.; GUIMARÃES, M. P.; LEITE, A. C. R. Custo-benefício de diferentes dosificações anti-helmínticas em relação ao ganho de peso de bezerros de corte. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 20, n. 11, p. 1333–1335, 1985.

LIMA, W.S.Os inimigos ocultos da Pecuária. **DBO: Saúde Animal**, v. 816, 2004.

MENDONÇA, R. M. A.; LEITE, R. C.; LANA, A. M. Q.; COSTA, J. O.; TOTH, G. Parasitic helminth infection in young cattle raised on silvopasture and open-pasture in Southeastern Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 88, n. 1, p. 53–62, 2014.

MOLENTO, M. B. Avanços no diagnóstico e controle das helmintoses em caprinos. I Simpósio Paulista de Caprinocultura, SIMPAC. Multipress, Jaboticabal, p. 101-110, 2005.

MOLENTO, M. B.; NICIURA, S. C. M.; CHAGAS, A. C. S. Protocolos básicos de laboratório para a realização de metodologias fenotípicas e genotípicas. In: CHAGAS, A. C. S.; NICIURA, S. C. M.; MOLENTO, M. B. (Ed.) **Manual prático: metodologias de diagnóstico da resistência e de detecção de substâncias ativas em parasitas de ruminantes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p. 117-143.

MOTTES, G.S.; OLIVEIRA, S.R.; GONÇALVES, J.R; FACHINI, C. Desafios de NEVES, J. H.; COSTA, R. L. D.; MARINI, A.; SOUTELLO, R. V. G.; BARRETO, T. N. Performance of heifers from different genetic groups without anthelmintic treatment. *Veterinária e Zootecnia*, v. 23, n. 4, p. 688–695, 2016.

NEVES, M. R. M. das. **Utilização de marcadores fenotípicos para caracterização de ovinos mestiços santa Inês naturalmente infectados com nematóides gastrintestinais**. 2010. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2010. Cap. 2.

O'KELLY, J.C. Parasitism and blood composition in genetically different types of cattle grazing in a tropical environment. *Veterinary Parasitology*, v.6, p.381-390, 1980.

OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M. Resistência de bovinos de seis graus de sangue Holandês-Guzerá ao carrapato (*Boophilus microplus*) e ao berne (*Dermatobia hominis*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 127–135, 1990.

OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; CHAGAS, A. C. S.; BERALDO, M. C. D.; GIGLIOTI, R. **Estudo da resistência aos ectoparasitas e aos nematódeos gastrintestinais em bovinos da raça Nelore e cruzados**. 1. ed. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2012. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 32).

OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; CHAGAS, A. C. S.; GIGLIOTI, R.; OLIVEIRA, H. N. Gastrointestinal nematode infection in beef cattle of different genetic groups in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 166, n. 3, p. 249–254, 2009.

OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; GIGLIOTI, R.; BERALDO, M. C. D.; ANÍBAL, F. F.; CORREIA, R. O.; BOSCHINI, L.; CHAGAS, A. C. S.; BILHASSI, T. B.; OLIVEIRA, H. N. Resistance of beef cattle of two genetic groups to ectoparasites and gastrointestinal nematodes in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 197, n. 1, p. 168–175, 2013.

OLIVEIRA, P. A.; RUAS, J. L.; RIET-CORREA, F.; COELHO, A. C. B.; SANTOS, B. L.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SALLIS, E. S. V.; SCHILD, A. L.; OLIVEIRA, P. A.; RUAS, J. L.; RIET-CORREA, F.; COELHO, A. C. B.; SANTOS, B. L.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SALLIS, E. S. V.; SCHILD, A. L. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 8, p. 797–801, 2017.

OSORIO, J. S.; JACOMETO, C. B.; ZHOU Z.; LUCHINI, D.; CARDOSO, F. C.; LOOR, J. J. Hepatic global DNA and peroxisome proliferator-activated receptor alpha promoter methylation are altered in periparturient dairy cows fed rumen-protected methionine. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n.1, p. 234-244, 2016.

PACHECO, T. M. **Avaliação do desempenho e características relacionadas ao grau de infecção por helmintos de bovinos da raça nelore**. 2015. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena, Universidade Estadual Paulista, Dracena. 2015.

PAIVA, F.; SATO, M.Q.; ACUÑA, A.H.; JENSEN, J.R.; BRESSAN, M.C.R.V. Resistência a ivermectina constatada em *Haemonchus placei* e *Cooperia punctata* em bovinos. **A Hora Veterinária**, v.20, n.120, p.29-32, 2001.

PAIVA, J. T.; RESENDE, M. D. V.; RESENDE, R. T.; OLIVEIRA, H. R.; SILVA, H. T.; CAETANO, G. C.; LOPES, P. S.; SILVA, F. F. Epigenética: mecanismos, herança e 70 implicações no melhoramento animal. *Archivos de zootecnia*, v. 68, n. 262, p. 304– 311, 2019.

PASSAFARO, T. L.; CARRERA, J. P. B.; SANTOS, L. L.; RAIDAN, F. S. S.; SANTOS, D. C. C.; CARDOSO, E. P.; LEITE, R. C.; TORAL, F. L. B. Genetic analysis of resistance to ticks, gastrointestinal nematodes and *Eimeria* spp. in Nelore cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 210, n. 3, p. 224–234, 2015.

PEÑA, M.T.; MILLER, J.E.; WYATT, W. et al. Differences in susceptibility to gastrointestinal nematode infection between Angus and Brangus cattle in south Louisiana. *Veterinary Parasitology*, v.89, p.51-56, 2000.

PEREIRA, A., B.; LEITE, R. C.; BIANCHIN, I. Verminose Dos Bovinos. **Gestão Pecuária**, São Paulo, v. 31, p. 26-34, 2004.

PIMENTEL NETO, M.; FONSECA, A. H. Epidemiologia das helmintoses pulmonares e gastrintestinais de bezerros em região de baixada do Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 4, p. 148–152, 2002.

PINHEIRO, A. C. Custo benefício dos esquemas estratégicos de controle das helmintoses dos bovinos. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 3, 1985, Balneário Camburiú. **Anais...** Brasília: EMBRAPA / DDT, 1985. p. 153 – 157.

PINHEIRO, A.C.; ECHEVARRIA, F.A.M. Susceptibilidade de *Haemonchusspp* em bovinos ao tratamento anti-helmíntico com albendazole e oxfendazole. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.10, n.1/2, p.19-21, 1990.

PORTELA, A.; ESTELLER, M. Epigenetic modifications and humandisease. **Nature biotechnology**, v. 18; n. 10, p. 1057-68, out. 2010.

PORTEN, S.P. Epigenetic Alterations in Bladder Cancer. **Curr. Urol. Rep.**, v. 19, p. 102, 2018.

PRAYAGA, K. C.; CORBET, N. J.; JOHNSTON, D. J.; WOLCOTT, M. L.; FORDYCE, G.; BURROW, H. M. Genetics of adaptive traits in heifers and their relationship to growth, pubertal and carcass traits in two tropical beef cattle genotypes. **Animal Production Science**, v. 49, n. 6, p. 413–425, 2009. produção de carne bovina brasileira para exportação. 5º Congresso

RANGEL, V.B.; LEITE, R.C.; OLIVEIRA, P.R.; SANTOS Jr,E.J. Resistência de *Cooperiaspp* e *Haemonchusspp* as avermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.186- 190, 2005.

REIS, A. P. Epigenética da asma: revisão. **Brazilian Journal Allergy and Immunology**, v. 3, n. 1, p. 13–18, 2015.

RIVAS, M. P.; TEIXEIRA, A. C. B.; KREPISCHI, A. C. V. Epigenética: conceito, mecanismos e impacto em doenças humanas. **Genética na Escola**, v. 14, n. 1, p. 14–25, 2019.

ROBERT, F. H. S.; O’SULLIVAN, P. J. Methods for eggs counts and larval cultures for Strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 1, n.1, p. 99-192, 1950.

ROCHA, R. A.; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Comparison of the susceptibility of Santa Inês and Ile de France ewes to nematode parasitism around parturition and during lactation. **Small Ruminants Research**, n. 55, p. 65-75, 2004.

SAMBROOK, J.; MANIATIS, T.; FRITSH, E.F. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2.ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.

SANTOS, P.R.; BAPTISTA, A.; LEAL, L.; MOLETTA, J.; ROCHA, R. Nematódeos gastrintestinais de bovinos – Revisão. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v.14, n.24, p. 1-15, jan. 2015.

SANTOS, V. T. Avaliação dos prejuízos causados pelas helmintoses em bovinos de criação extensiva em zona rural da depressão central. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 3, n. 1, 1973.

SEQUEIRA, T.C.G.O.; AMARANTE, A.F.T. **Parasitologia animal**: animais de produção. 1 ed. Rio de Janeiro: Publicações Biométricas LTDA – EPUB, 2001. 158 p. Helminologia, p. 75-114.

SHYMA, K. P.; GUPTA, J. P.; SINGH, V. Breeding strategies for tick resistance in tropical cattle: a sustainable approach for tick control. **Journal of Parasitic Diseases: Official Organ of the Indian Society for Parasitology**, v. 39, n. 1, p. 1–6, 2015.

SILVA, A.M.; ALENCAR, M.M.; REGITANO, L.C.A.; OLIVEIRA, M.C.S. Infestação natural de fêmeas bovinas de corte por ectoparasitas na Região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.39, n.7, p.1477-1482, 2010a.

SIQUEIRA, J. B.; OBA, E.; PINHO, R. O.; GUIMARÃES, S. E. F.; NETO, T. M.; GUIMARÃES, J. D. Testicular shape and andrological aspects of young Nellore bulls under extensive farming. *Revista Brasileira Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 41, n. 3, p. 612-617, 2012.

Soca, M., Simón, L., & Roque, E. Árboles y nemátodosgastrointestinales en bovinos jóvenes: Un nuevo enfoque de las investigaciones. *Pastos y Forrajes*, 2007. 30, 1–1.

SONSTEGARD, T. S., GASBARRE, L.C. Genomic tools to improve parasite resistance. **Veterinary Parasitology** v.101, p. 387-403, 2001.

Soutello, R. V. G., Suguisawa, L., Cares, C. C. P., Pazeti, G. C. A. S., Borges, J. H. R., Brito, M. N. X., ... Moraes, D. A. N. Seleção de bovinos de corte resistentes a verminose. *Ciência Agrárias e da Saúde (Impresso)*, 2(2), 2002. 53–56.

SOUTELLO, R. V. G.; BELLO, H. J. S.; GONÇALVES, J. A.; SANCHEZ, C. A.; PIROLA, J. V. F.; TEIZEIRA, G. S. Resistência anti-helmíntica em bovinos, ovinos e equinos criados no Brasil. In: POLYCARPO, G. V.; BILLER, J. D.; FERRARI, S.; ROSAS, F. S.; MEMBRIVE, C. M. B.; VIANA, R. da S.; TOMAZ, R. S. (Eds.). **IMAST 2018 - Atualidades nas ciências agrárias**: mudanças, tendências e impactos. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2018.

SOUTELLO, R. V. G.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3/4, p. 360-364, 2007.

SOUTELLO, R. V. G.; SENO, M. C. Z.; BERGAMASCHINE, A. F.; BIANCHINI, E.; TOZI, C. R. Infestação de carrapatos em relação ao tratamento estratégico com endectocidas e suplementação proteica em novilhos. **Ciências Agrárias e da Saúde**, FEA, Andradina, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 16–22, 2001b.

SOUZA, A. P.; RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; SCHELBAUER, C. A. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.5, p.1363-1367, ago. 2008.

STEELMAN, C. D.; BROWN JUNIOR, A. H.; GBUR, E. E.; TOLLEY, G. Interactive response of the horn fly (Diptera: Muscidae) and selected breeds of beef cattle. **J. Econ. Entomol.**, v. 84, p.1275-1282, 1991.

STOTZER, E. S.; LOPES, L. B.; ECKSTEIN, C.; MORAES, M. C. M. M. De; RODRIGUES, D. S.; BASTIANETTO, E. Impacto econômico das doenças parasitárias na pecuária. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 8, n. 3, p. 198-221–221, 2014.

STROMBERG, B. E.; GASBARRE, L. C.; WAITE, A.; BECHTOL, D. T.; BROWN, M. S.; ROBINSON, N. A.; OLSON, E. J.; NEWCOMB, H. *Cooperia punctata*: Effect on cattle productivity? **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 183, n. 3, p. 284–291, 2012.

SUAREZ, V. H.; BUSETTI, M. R.; LORENZO, R. M. Comparative effects of nematode infection on *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred calves grazing on Argentina's Western Pampas. **Veterinary Parasitology**, v. 58, n. 3, p. 263–271, 1995.

SYKES, A. R.; COOP, R. L. Effects of Parasitism on Host Metabolism. In: The management and Disease Control of Sheep. **British Council and Commonwealth Agricultural Bureaux**, p. 345–57, 1979.

TCHURIKOV, N. Molecular mechanisms of epigenetics. *Biochemistry (Moscow)*, v. 70, n. 4, p. 406-423, abr. 2005.

TIZARD, I.R. **Introducción a la Inmunología Veterinaria**. 8. ed. Barcelona: Elsevier Saunders, 2009.

TSAI H, BAYLIN S. Cancer epigenetics: linking basic biology to clinical medicine. **Cell Res.**, v. 21, p. 502-517, mar.2011.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4. ed. Tokyo, Japan: Japan International Cooperation Agency, 1998.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.; JENNINGS, F. *Parasitologia Veterinária: Helmintologia Veterinária*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 223 p.

UTECH, K. B. W.; WHARTON, R. H.; KERR, J. D. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 29, n. 4, p. 885–895, 1978.

VENTURINI, T., MENEZES, L. F. G. Parasitismo na bovinocultura de corte. In: *Técnicas de manejo agropecuário sustentável*. Curitiba, PR: UTFPR Editora. p. 115–138, 2016.

VENTURINI, T.; MENEZES, L F, G. Parasitismo na bovinocultura de corte. In: PAULUS, Dalva; PARIS, Wagner. (org.) *Técnicas de manejo agropecuário sustentável*. 23. ed. Curitiba, PR: Ed. UTFPR, 2016. p. 117-138.

WALLER, P. J. Sustainable nematode parasite control strategies for ruminant livestock by grazing management and biological control. **Animal Feed Science and Technology: Feed and Animal Health.**, v. 126, n. 3, p. 277–289, 2006.

WANG, L.; SUN, H.Z.; GUAN, L. L.; LIU, J. X. Relationship of blood DNA methylation rate and milk performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.102, n.6, p.1-4, 2019.

WOLSTENHOLME, A. J.; FAIRWEATHER, I.; PRICHARD, R.; SAMSONHIMMELSTJERNA, G. V.; SANGSTER, N. C. Drug resistance in veterinary helminthes. **Trends in Parasitology**, v. 20, p. 469-476, 2004.

YANG, X.; HAN, H.; DE CARVALHO, D. D.; LAY, F. D.; JONES, P. A.; LIANG, G. Gene Body Methylation Can Alter Gene Expression and Is a Therapeutic Target in Cancer. **Cancer Cell**, v. 26, n. 4, p. 577–590, 2014.

ZOCOLLER, M. C.; STARKE, W. A.; VALÉRIO FILHO, W. V. Ganho de peso em fêmeas da raça Guzerá tratadas com diferentes épocas de aplicação de anti-helmínticos. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 9., 1995, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: CBPV, 1985. p. 124.