

Raça Ovina Campaniça



2020

Fátima Santos Silva, Nuno Carolino, Claudino Matos, Conceição Oliveira e Sousa, Paula Jacob, Inês Carolino e Vincenzo Landi

INIAV – Polo de Investigação de Santarém - Fonte Boa, 2005 – 048 Vale de Santarém

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt Página 1 de 16

Laboratório de Genética Molecular - Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos



Raça Ovina Campaniça - Caraterização Genética por SNPs

Fátima Santos-Silva, Nuno Carolino, Conceição Oliveira e Sousa Paula Jacob e Inês Carolino

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. Estação Zootécnica Nacional Polo de Investigação da Fonte Boa Fonte Boa, 2005-048 Vale de Santarém PORTUGAL

Tel: (+351) 243767313 Telm: (+351) 910804516 fatima.santossilva@iniav.pt https://www.iniav.pt/



Acos Associação de Agricultores do Sul

Rua Cidade de São Paulo, Apartado 296 7801-904 Beja PORTUGAL

Tel: (+351) 284 310 350)

https://www.acos.pt/



Vincenzo Landi

Animal Breeding and Genetics
Department of Veterinary Medicine
University of Bari "Aldo Moro"
SP. 62 per Casamassima km. 3, 70010 Valenzano (BA).-ITALY

Laboratório de Genética Molecular - Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos

Tel.: +393519175572

https://www.uniba.it/en



INIAV – Polo de Investigação de Santarém - Fonte Boa, 2005 – 048 Vale de Santarém

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt Página 2 de 16



Raça Ovina Campaniça

Santos-Silva F., Carolino N., Matos C., Oliveira e Sousa C., Jacob P., Carolino I. e Landi V. (2020). Raça Campaniça – Caracterização Genética por SNPs 2020/Dezembro. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Estação Zootécnica Nacional – Fonte Boa, Portugal.

Página 3 de 16 Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt



Raça Ovina Campaniça

1. INTRODUÇÃO

O primeiro passo para a conservação das populações é sua caracterização, por meio de indicadores de variabilidade que permitem evidenciar a diversidade genética intra e inter populacional, a evolução das populações e as suas relações genéticas. A análise de determinados marcadores moleculares possibilita obter os indicadores de variabilidade pretendidos. Os microssatélites ou STRs (Short Tandem Repeats) têm sido extensivamente utilizados neste tipo de estudos, contudo o advento das tecnologias de nova geração originou o desenvolvimento de chips de alta densidade de outro tipo de marcadores, designadamente os polimorfismos de um só nucleótido (SNPs). Estes constituem variações na sequência de ADN, que afetam uma só base azotada num determinado *locus*, sendo atualmente os marcadores preferidos para este tipo de estudos pois a sua genotipagem massiva permite identificar milhares de polimorfismos distribuídos em todo o genoma, possibilitando não só a identificação de indivíduos, como a de genes associados a características de interesse ou doenças. A análise destes chips numa população revela polimorfismos, que originam indicadores de variabilidadeque possibilitam caracterizar a população o que constitui o passo prévio para estudos de associação genómica.

Portugal apresenta uma enorme diversidade de recursos genéticos animais representado por 50 raças autóctones de espécies pecuárias, na sua maioria em risco. A preocupação crescente em preservar este património genético levou a que sucessivos Programas de Desenvolvimento Rural, como o PDR2020, disponibilizassem medidas de apoio e promoção destas raças e dos seus produtos, como incentivo às associações de criadores a desenvolver ações ligadas à sustentabilidade das mesmas.

As 16 raças autóctones de ovinos oficialmente reconhecidas no nosso País encontram-se distribuídas de Norte a Sul do território Continental e caracterizam-se sobretudo pela rusticidade e capacidade de aproveitar recursos, contribuindo para manter o equilíbrio ambiental e combater a desertificação crescente nas zonas do interior. Na generalidade são raças menos produtivas do que as raças exóticas lentamente selecionadas e

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt Página 4 de 16



Raça Ovina Campaniça

especializadas, estando por isso, maioritariamente em estado de risco de extinção, pelo que a sua proteção é fundamental.

A ovelha Campaniça (CAMP) alvo deste estudo tem o seu solar de origem no "Campo Branco", no Baixo Alentejo. A rusticidade é a sua maior virtude, fruto de uma melhoria genética resultante de, desde sempre, se selecionarem para reprodutores os animais mais resistentes e não necessariamente os de maiores potencialidades produtivas (Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia e Caprinotecnia – SPOC)

Os animais, de estatura baixa, ainda que em tempos utilizados na tripla função, carne leite e lã, são atualmente criados essencialmente para a produção de carne. O Livro Genealógico da raça foi instituído em 1987 e é atualmente da responsabilidade da Associação de Agricultores do Sul – ACOS.

Os ovinos da raça Campaniça encontram-se distribuídos pelos concelhos de Barrancos, Beja, Castro Verde, Mértola, Serpa, Vidigueira, e Loulé. Nestas explorações, o sistema tradicional de produção extensivo, tendo vindo a ser gradualmente substituído por um regime mais equilibrado, com recurso à suplementação alimentar nas épocas de escassez, à melhoria das pastagens e à sua utilização racional, através do parqueamento. Em 2015, de acordo com o Regulamento de Desenvolvimento Rural adotado pela Comissão Europeia e com as condições estabelecidas em Portugal para aplicação do estatuto de risco de abandono, no âmbito das exigências e objetivos do Programa de Desenvolvimento Rural 2014-2020, com base no efetivo existente e com a quantidade escassa de material genético crioconservado no Banco Português de Germoplasma Animal, a raça ovina Campaniça foi considerada como em risco de extinção, grau C – menor risco de extinção (Carolino et al., 2020).

Este estudo pretende avaliar a variabilidade genética da raça CAMP, através da análise de informação genómica obtida por genotipagem de alta densidade de SNPS (*chip* de 50K) e a qualidade/utilidade do *chip* nesta população. Posteriormente, prevê-se conseguir mais informação desta e de outras populações que permita evidenciar a sua diferenciação e relações genéticas, bem como polimorfismos relevantes que estejam associados a caraterísticas de interesse.



Raça Ovina Campaniça

Foram genotipados 48 animais no Laboratório de Genética da INATEGA (Spain), com recurso a um *chip* de 50K (Axiom technology, Thermofisher) que inclui 49897 marcadores SNP. O material biológico foi fornecido pela ACOS e preparado no LGM-INIAV, Fonte-Boa.

Os indicadores obtidos permitiram determinar a diversidade genética da população CAMP e o seu posicionamento relativamente a raças ovinas de outros países, e avaliar autilidade do *chip*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo utilizaram-se 48 amostras da população CAMP, tendo em conta o género,14 machos e 36 fêmeas e a proveniência, 4 explorações

A preparação e acondicionamento das amostras para a genotipagem foi efetuada no LGM-INIAV, Fonte-Boa. O ADN foi extraído com recurso a um Kit comercial, segundo as recomendações do fabricante, seguindo-se a sua avaliação quantitativa e qualitativa através do equipamento Nanodrop. Posteriormente, foram preparadas alíquotas de 50 μl de ADN com um índice de pureza (OD260/OD280) entre 1,8 y 2 e uma concentração superior a 17,2 ng/μl. Este material foi enviado para o Laboratório (INATEGA, Espanha) responsável pela genotipagem.

A análise estatística dos resultados foi realizada com a colaboração do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade de Bari "Aldo Moro", através do Doutor Vincenzo Landi, utilizando-se para o efeito diverso *software* disponível para este tipo deestudo.

A primeira etapa consistiu na formatação dos dados para associar cada SNP à informação do mapa genómico ovino atualizada (OAR V3.1) e formar uma base de dados para comparação com dados genómicos de outras raças, utilizando o software Plink v1.9 (Purcell et. al., 2007). Os parâmetros da qualidade da genotipagem, osíndices de biodiversidade intra e inter populacional, designadamente, a frequência do



Raça Ovina Campaniça

alelo menos frequente (MAF), a heterozogotia e o coeficiente de consanguinidade (F) foram estimados mediante o pacote de R "BITE" (Milanesi *et al.* 2017).

Para a comparação de resultados entre raças foi utilizada informação pública de raças ovinas, disponível na base de dados do projeto internacional "Sheep HapMap andAnimal Resources" desenvolvido pelo Sheep Genomics Consortium (ISGC)

Como esta informação resulta do *array* Illumina 50K (ferramenta de referência para estudos de genómica de ovelhas) os SNPs não comuns aos dois *arrays*, foram previamente filtrados. Depois, foram excluídos os SNPs sem posição definida no mapa (cromossoma e posição no cromossoma), todos os SNPs não autossómicos (localizados nos cromossomas X e Y), assim como os SNPs associados ao cromossomamitocondrial. Finalmente excluíram-se os SNPs com uma proporção do alelo menos frequente (MAF) inferior a 5% e SNPs com mais de 10% de dados em falta na base de dados global.

3. RESULTADOS

Neste trabalho são apresentados os resultados obtidos para os indicadores de qualidade do *chip*, seguidos dos indicadores de diversidade e variabilidade para o conjunto dos 49702 marcadores utilizados para caracterizar a população ovina CAMP.Posteriormente, após as exclusões descritas, faz-se a comparação de alguns indicadores de diversidade genética com os obtidos noutras populações ovinas de outros países.

3.1 CONTROLO DE QUALIDADE DOS MARCADORES E DIVERSIDADE GENÉTICA NA POPULAÇÃO CAMP ESTUDADA

3.1.1 Controlo de Qualidade

Foram aplicados diferentes critérios de controlo de qualidade geralmente utilizados e disponíveis na bibliografia. O controlo de qualidade, tanto para amostras, como para SNPs (para validação dos SNPs que compõem o *chip* de 50K utilizado) baseou-se na "*call rate*" por ser geralmente considerado um bom parâmetro para avaliar globalmente



Raça Ovina Campaniça

a qualidade. A "call rate" mede a proporção de genótipos atribuídos para uma amostra ou SNP (Zhao et al., 2018) e varia entre 0 e 1. Amostras com "call rate" inferior ao standard de 95-98% comummente utilizada para arrays comercias (Zhao et al., 2018) devem ser excluídas das análises subsequentes. Este estudo só considerou as amostras e SNPs que apresentaram call rate superiores a 95% e 90%, respetivamente.

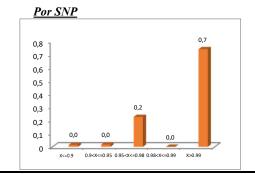
Após aplicação dos filtros associados aos critérios de qualidade de 42132 SNPs nas 48 amostras estudadas, resultaram para análise 49702 SNPs.

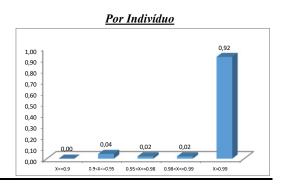
A taxa total de genotipagem bem-sucedida, ou seja, a proporção de genótipos sem dados inválidos foi bastante elevada, traduzida por uma *call rate* média de 0,9906 por SNP e por individuo superior à *call rate* standard de 95-98% para a maioria dos *arrays* comerciais.

Distribuição da proporção de genótipos bem-sucedidos (por SNP) e por individuo

As distribuições de genótipos bem-sucedidos por SNP e por indivíduo são apresentadas na figura 1A e B respetivamente. A maioria dos SNPs (0,741) mostra mais de 99% genótipos bem-sucedidos e só numa proporção de 0,015 daquela taxa é inferior ou igual 99%. A maioria dos indivíduos (0,92) apresenta também mais de 99% de genótipos bem-sucedidos e só em 0,08 a taxa de sucesso é inferior ou igual 99%. Estes valores revelam que o *chip* utilizado apresenta uma taxa de sucesso elevada nesta população e que foi adequada a sua utilização.

Figura 1 A e B. Distribuição da Proporção de Genótipos bem-sucedidos





INIAV – Polo de Investigação de Santarém - Fonte Boa, 2005 – 048 Vale de Santarém

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt Página 8 de 16

Laboratório de Genética Molecular - Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos



Raça Ovina Campaniça

3.1.2 Diversidade genética

As estimativas obtidas por microssatélites e SNP não são diretamente comparáveis. Os microssatélites são marcadores altamente polimórficos (FAO, 2010) enquanto os SNPs são bialélicos, pelo que proporcionam menos informação por locus, mas esta situação é compensada pelo maior número de SNPs utilizado, cobrindo grande parte do genoma. De acordo com a informação fornecida pelo chip utilizado, foram estimados diversos parâmetros populacionais relevantes. A diversidade genética foi estimada através do parâmetro (MAF), dos níveis de heterozigotia e do coeficiente de consanguinidade.

Frequência do alelo menos frequente (MAF)

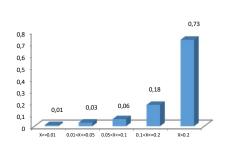
O valor de MAF dá indicação da qualidade e regularidade da amplificação dos dois alelos de cada SNP e da variabilidade da população. Valores elevados de MAF indicam maior diversidade genética, essencial para o estabelecimento de programas de conservação ou para a implementação de uma estratégia de seleção eficaz. Valores de MAF inferiores a 0,01 indicam marcadores pouco informativos, enquanto valores de MAF superiores a 0,3 indicam marcadores muito informativos. Os valores e distribuiçãode frequências de MAF apresentam-se nas figuras 2B e A na qual destacamos ascategorias: SNPs com alelos fixos ou raros (MAF \leq 0,01), SNPs potencialmente informativos (0,01 \leq MAF \leq 0,2) ou muito informativos $(0.2 \le MAF \le 0.5)$. O conjunto dos SNPs analisados apresentou um valor médio MAF de 0,406, com um mínimo de 0 eum máximo de 0,5 (figura 2)

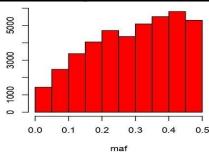
Página 9 de 16 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt



Raça Ovina Campaniça

<u>Figura 2 A e B. Distribuição e valores de MAF dos loci SNP incluídos no Chip de 50K utilizado na raça CAMP</u>





O padrão de distribuição de MAF na raça CAMP demonstra valores de pelo menos 0.2 na maioria dos loci (0.73), semelhantes aos da maioria das raças europeias e americanas, (Kijas et al., 2012, citado por Sandenbergh, 2016), considerados portanto muito informativos. Do total de SNPs considerados, apenas uma proporção muito pequena (0.01) apresentou valores de MAF inferiores a 0.001, indicativo de alelos raros na população (Sandenbergh et al., 2016). Constatou-se ainda que 0.26 (26%), dos loci podem considerar-se potencialmente informativos $(0.01 < MAF \le 0.2)$

Heterozigotia Individual média por SNP e na população

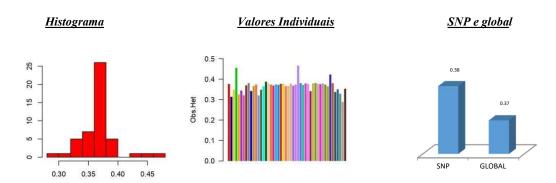
A heterozigotia representa a variabilidade genética na população e depende do número de alelos e da sua frequência. A heterozigotia média populacional é um bom indicador da diversidade genética da população. A heterozigotia ou diversidade genética de um locus na população corresponde à proporção de indivíduos heterozigóticos para esse locus que é suposto encontrar na população, se esta estiver em equilíbrio de Hardy- Weinberg (EHW). A heterozigotia individual indica a proporção de SNPs heterozigotos em cada individuo

Diferenças significativas entre a heterozigotia esperada na população (He) e a heterozigotia observada (Ho), traduzida pela proporção de indivíduos heterozigóticos, indicam desvios do EHW, que podem revelar dinâmicas populacionais, tais como, fluxo de genes, seleção, migração, consanguinidade (Rousset e Raymond, 1995). A heterozigotia da população CAMP apresenta-se na figura 3 (A, B e C).



Raça Ovina Campaniça

Figura 3 A e B e C. Distribuição, valores de Heterozigotia Observada por Indivíduo SNP e na população CAMP



A heterozigotia individual variou entre 0,29 e 0,47 (fig. 3B), com um valor médio de 0,37. A maioria dos indivíduos apresentou valores entre 0,35 e 0,40 (figura 3A) dentro da ordem de valores comummente referidos na bibliografía para raças de ovinos de outros países. Os valores de heterozigotia por SNP (0,38) e no global da população (0,37) foram também bastante razoáveis.

Coeficiente de Consanguinidade (F)

A consanguinidade é um indicador do grau de homozigotia da população e está na relação inversa com a heterozigotia, ou seja, a consanguinidade de uma população traduz-sepelo decréscimo proporcional, relativamente à população-base, da proporção indivíduos heterozigóticos. A consanguinidade de uma população pode ser quantificada como o coeficiente médio de consanguinidade dos indivíduos dessa população

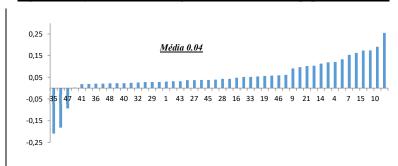
O coeficiente de Consanguinidade (F) pode variar entre 0 e 1. Valores de F positivos e significativamente diferentes de 0 revelam deficiência de heterozigotos na população, que pode dever-se a uma acumulação da consanguinidade.

O coeficiente de consanguinidade individual (figura 4) evidencia um valor médio de F razoável (0,04). Observa-se contudo uma variabilidade entre indivíduos, com valores inferiores a 0 a valores máximos de 0,25, o que sugere que deverão ser tomadasalgumas precauções na gestão dos acasalamentos de forma a evitar nascimentos de indivíduos com valores de F elevados, com consequências negativas para a população.



Raça Ovina Campaniça

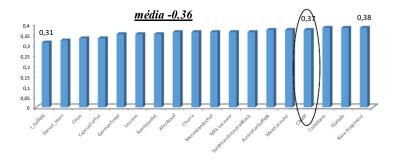
Figura 4. Coeficientes de consanguinidade individual na população CAMP



3.3 ENQUADRAMENTO DA RAÇA CAMP COM OUTRAS POPULAÇÕES OVINAS

Através da base de dados comum a outras populações ovinas (17) de diferentes países, conforme referido, foi possível comparar indicadores relevantes de diversidade, como a heterozigotia e coeficiente de consanguinidade da população CAMP, e avaliar o seu posicionamento relativamente às outras populações consideradas. A figura 5 mostra a heterozigotia média na população CAMP e nas outras 17 consideradas.

Figura 5. Heterozigotia média observada em 18 populações ovinas



Neste conjunto de populações, comprova-se que os níveis de heterozigotia de 0,37 da população CAMP podem considerar-se elevados, superiores à média global de 0,36 e similares aos das raças Espanholas Castellana, Ojaleda e Rasa Aragonesa.

Na figura 6 apresenta-se o coeficiente de Consanguinidade F das mesmas populações.

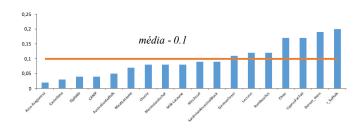
Laboratório de Genética Molecular - Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos INIAV – Polo de Investigação de Santarém - Fonte Boa, 2005 – 048 Vale de Santarém

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt Página 12 de 16



Raça Ovina Campaniça

Figura 6. Coeficientes de consanguinidade médio em 18 populações ovinas



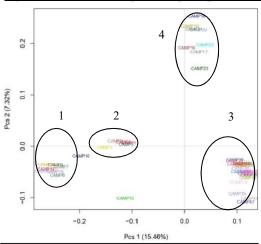
O valor global de F para a população CAMP foi de 0,04, inferior à média geral (0,1), e ao estimado na maioria das populações (14) e similar ou ligeiramente superior ao das raças Espanholas anteriormente mencionadas, com os níveis de heterozigotia mais elevados.

População CAMP, Relações Genéticas e Posicionamento em relação a outras populações ovinas

Para esta avaliação primeiro fez-se uma análise em componentes principais para a população CAMP que se apresenta na figura 7

População CAMP

Figura 7. Análise em componentes principais indivíduos população CAMP



Nesta figura, pode ver-se que os indivíduos da população CAMP mostram alguma heterogeneidade, posicionando-se em 4 grupos: 1, 2 3 e 4. A componente 1, responsável por 15.46% da variabilidade separa essencialmente o grupo 3, do grupo 1, mostrando os

Laboratório de Genética Molecular - Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos INIAV – Polo de Investigação de Santarém - Fonte Boa, 2005 – 048 Vale de Santarém

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt Página 13 de 16



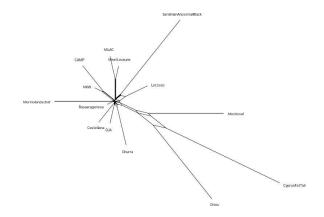
Raça Ovina Campaniça

grupo 2 e 4 numa posição intermédia. A componente 2, responsável por 7.3% da variabilidade acrescenta informação, separando o grupo 4 dos restantes. Os grupos 3 e 4 aparecem assim com uma separação mais evidente dos outros, determinada pelas duas componentes principais. Os grupos 1 e 2 surgem com maior proximidade entre si que os restantes. Esta situação pode dever-se a um efeito da exploração pois verificámos que em cada grupo os animais pertenciam à mesma exploração.

Distâncias genéticas entre populações Europeias

Para a determinação das distâncias e relações genéticas entre populações consideramos também dados de uma outra população de ovinos portugueses ainda em estudo (que designaremos por MBB). Foi calculada a distância genética d de Reynolds e construi-se uma árvore de distâncias genéticas para as populações Europeias (figura 8), que inclui também a população CAMP, objeto deste relatório.

Figura 8. Dendrograma de distâncias de Reynolds para populações Europeias e Portuguesas



Este dendrograma populacional, mostra as duas populações Portuguesas num tronco comum distinto dos restantes, próximas entre si, ainda que com alguma distância evidenciada pelo comprimento dos respetivos ramos, (ramo CAMP bastante

mais longo). As raças Espanholas Rasa Aragonesa Ojalada e Castellana, em três troncos distintos com a mesma raiz, revelam bastante proximidade às populações Portuguesas. O "tronco português" está entre os troncos correspondentes ao Merino Landchaf e às raças Lacune e muito afastado (em troncos opostos e muito distantes) de outras raças europeias como a Chios, a Cyprus Fat Tail ou a Afec-Assaf (variedade da raça Assaf altamente prolífica - https://doi.org/10.1186/s12711-017-0296-3).

Laboratório de Genética Molecular - Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos INIAV – Polo de Investigação de Santarém - Fonte Boa, 2005 – 048 Vale de Santarém

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt
Página 14 de 16

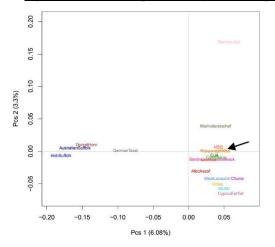


Raça Ovina Campaniça

Fez-se ainda uma análise multidimensional (MDS) mais alargada, em componentes principais, que incluiu as 17 populações de diferentes Países (figura 9).

A figura 9 mostra os resultados da análise MDS para um conjunto de 19 populações (2 portuguesas e 17 estrangeiras)

Figura 9. Análise MDS para um conjunto de 19 populações (2 portuguesas e 17 Estrangeiras)



A primeira componente da análise MDS (Pcs1), responsável por 6,08% da variabilidade genética inclui as raças Portuguesas no grupoda maioria das Europeias muito afastadas de populações como a Dorset Horn e a Sufolk. Esta componente mostra também as raças portuguesas próximas entre si e das raças Espanholas Rasa Aragonesa, Castellana, e

Ojalada e separa-as essencialmente da população Rambouillet.

O conjunto de indicadores avaliados revela globalmente níveis de variabilidade genética apreciáveis na população CAMP, similares ou superiores aos de 17 raças ovinas Estrangeiras, sobretudo no que diz respeito à heterozigotia. Os animais incluídos nesta análise mostram heterogeneidade entre si, no que diz respeito aos coeficientes de consanguinidade F e alguns apresentam valores levados.



Raça Ovina Campaniça

4. CONCLUSÕES

A diversidade genética na raça CAMP foi estudada pela primeira vez através de dados de genotipagem massiva de SNP (50K)

A raça apresenta níveis riqueza alélica e diversidade genética apreciáveis, comparáveis a um conjunto de 17 populações de ovinos de outros Países. Os indivíduos da população CAMP revelam heterogeneidade entre si. Os níveis médios de consanguinidade, similares aos de outras populações geneticamente próximas, revelam heterogeneidade individual a ter em conta na gestão dos acasalamentos. O acasalamento de animais com grau de parentesco elevado deverá ser evitado, com o objetivo de manter a diversidade genética e controlar o aumento da consanguinidade, sobretudo considerando que apopulação CAMP está em risco de extinção .

A combinação dos dados da CAMP com os de raças ovinas de outros países forneceu informação sobre as relações filogenéticas entre as várias raças. Destacou-se a proximidade com outra população ovina Portuguesa. Relativamente às raças europeias, a proximidade foi mais evidente para as raças espanholas Rasa Aragonesa, Ojalada e Castelhana.

Neste trabalho é demonstrada a utilidade de um chip de alta densidade para a genotipagem de raça CAMP, o que oferece grandes possibilidades para estudos com vista à identificação polimorfismos em genes associados a características relevantes da raça, bem como para a implementação da avaliação genómica da raça e gera novas oportunidades para a investigação da dinâmica genética das populações ovinas nacionais.

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt Página 16 de 16



Raça Ovina Campaniça

5. BIBLIOGRAFIA

Carolino N., Vitorino A., Carolino I., Santos-Silva F., Pereira de Matos, C. e Silveira M. (2020). Raça ovina Campaniça - Caracterização Genética por Análise Demográfica – 2020. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Estação Zootécnica Nacional - Fonte Boa, Portugal.

FAO., 2010. La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura

http://www.fao.org/docrep/011/a1250s/a1250s00.htm

Kijas, J.W., Lenstra, J.A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L.R., San Cristobal, M., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., Gietzen, K., Paiva, S., Barendse, W., Ciani, E., Raadsma, H., McEwan, J., Dalrymple, B. & other members of the International Sheep Genomics Consortium, 2012. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. PLoS One Biol. 10, e1001258. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258

Milanesi M., Capomaccio S., Vajana E., Bomba L., Garcia J.F., Ajmone-Marsan P. & Colli L. (2017) BITE: an R package for biodiversity analyses. *bioRxiv*, 181610 https://doi.org/10.1101/181610

Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., De Bakker, P.I.W., Daly, M.J. & Sham, P.C., 2007. PLINK: A tool set for wholegenome association and population-based linkage analyses. Am. J. Hum. Genet. 81, 559-575. https://doi.org/10.1086/519795

Zhao S., Jing W., Samuels, David C., Sheng, Q., Shyr Y., and Yan Guo., 2018). Strategies for processing and quality control of Illumina genotyping arrays. Briefings in Bioinformatics, 19(5), 2018, 765–775

https://doi.org/10.1093/bib/bbx012

Rousset, F., e Raymond, M., (1995). An exact test for population differentiation Michel Raymond Evolution Vol. 49, No. 6 (Dec., 1995), pp. 1280-1283 https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1995.tb04456.x

Sandenbergh, L., Cloete, S.W.P., Roodt-Wilding R., Snyman M.A., & A.E. Bester-van der Merwe1, 2016. Evaluation of the OvineSNP50 chip for use in four South African sheep breeds. South African Journal of Animal Science 2016, 46 (No. 1) https://doi.org/10.4314/sajas.v46i1.11.

Sheep HapMap and Animal Resources (https://www.sheephapmap.org/hapmap.php)
International Sheep Genomics Consortium (ISGC) https://www.sheephapmap.org/

Laboratório de Genética Molecular - Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos INIAV – Polo de Investigação de Santarém - Fonte Boa, 2005 – 048 Vale de Santarém

Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt Página 17 de 16



Raça Ovina Campaniça

Agradecimentos

Agradecemos aos proprietários das fotografías e à Ruralbit a sua disponibilização

Agradecemos ao nosso colega e amigo Vincenzo Landi a sua valiosa e desinteressada colaboração na análise estatística dos dados sem a qual a realização deste relatório não teria sido possível neste momento.

Fonte-Boa, 28/12/2020 A Técnica Responsável

(Maria de Fátima Marquez Madeira Santos Silva)

Main a Fahure Hargung Hadou Sintes Like

Laboratório de Genética Molecular - Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos INIAV – Polo de Investigação de Santarém - Fonte Boa, 2005 – 048 Vale de Santarém Telf.: 243 767300 e-mail: fatima.santossilva@iniav.pt

Página 18 de 16