



Instituto Nacional de
Investigação Agrária e
Veterinária, I.P.



Raça Ovina Churra do Campo Caraterização Genética por SNPs

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.
Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Biotecnologia e Recursos Genéticos
Estação Zootécnica Nacional – Fonte Boa

Raça Ovina Churra do Campo 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.inia.pt/>



Carlos Rebelo de Andrade

Meimooacoop, Cooperativa Agrícola de Desenvolvimento Rural e Solidariedade, CRL
Estrada Nacional 233, Nº 70
6090-385 Meimoa
Penamacor
PORTUGAL

Tel.: (+351) 277 377 482 / 254 (+351) Telm.: (+351) 967 039 97
Tel.:



Tel.:

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

Tel.: +393519175572



Santos-Silva F., Carolino N., Rebelo de Andrade C., Oliveira e Sousa C., Jacob P., Carolino I. e Landi V. (2021). Raça Churra do Campo – Caracterização Genética por SNPs 2021/Dezembro. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Estação Zootécnica Nacional – Fonte Boa, Portugal.

1. INTRODUÇÃO

A caracterização genética é o primeiro passo para o delineamento de estratégias de conservação das populações. A análise de determinados marcadores moleculares possibilita obter indicadores de variabilidade que permitem evidenciar a diversidade genética intra e inter populacional, a evolução das populações e as suas relações genéticas. O advento das tecnologias de nova geração originou o desenvolvimento de *chips* de alta densidade de marcadores com polimorfismos de um só nucleótido (SNPs), que estão gradualmente a substituir os microssatélites ou *STRs* (*Short Tandem Repeats*) tradicionalmente utilizados nestes estudos. Os SNP's são variações de uma só base azotada, num determinado *locus*, na sequência de ADN. São atualmente os marcadores escolhidos 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 permitem caracterizar a sua variabilidade genética, constituindo o passo prévio para os estudos de associação genómica ou para a implementação da avaliação genómica.

As 16 raças autóctones de ovinos oficialmente reconhecidas no nosso País caracterizam-se pela rusticidade e capacidade de aproveitar recursos, contribuindo para manter o equilíbrio ambiental e combater a desertificação crescente nas zonas do interior. São raças menos produtivas do que as exóticas o que tem dificultado a sua sustentabilidade económica, aumentando o risco de abandono. Este abandono das raças autóctones, menos produtivas ou pouco seleccionadas para determinados fins, conduziu a uma diminuição significativa das populações, alcançando níveis perto da extinção, o que se pode traduzir numa ameaça real à manutenção da biodiversidade, sendo a história da raça Churra do Campo disso um “bom” exemplo.

A raça Churra do Campo representava em 1972, 2,6 % do total ovino nacional (Direção Regional de Agricultura da Beira Interior -DRABI, 2004), o que correspondia a 62215 cabeças, estando quinze anos mais tarde (1987), a sua população reduzida a 30000-40000 cabeças (Sobral et al., 1987). Em 1996, existiam apenas cerca de 400 fêmeas, com as características exigidas pelo padrão da raça, em vários rebanhos heterogéneos (DRABI, 2004) e em 1997 a DRABI, tentou criar um núcleo de recuperação da raça, com um efectivo de 16 fêmeas e 3 machos (DRABI, 2004). Contudo, em 2004, a raça

foi considerada extinta, segundo o relatório o Relatório Nacional sobre o Estado dos Recursos Genéticos Animais.

Apesar disso, ao abrigo do programa INTERREG III, a Câmara Municipal de Penamacor (CMP) em parceria com a Escola Superior Agrária de Castelo Branco (ESACB) conseguiram recuperar os animais existentes em rebanhos dispersos e em 2007, foi implementado o Livro Genealógico da raça Churra do Campo. Em 2008, com menos de 200 de fêmeas reprodutoras inscritas no Livro Genealógico, a raça foi classificada como Rara (particularmente ameaçada) segundo os critérios de estatuto de risco utilizados pela União Europeia em 2015, com base no efetivo existente em 2013 (366 fêmeas exploradas em linha pura, 19 machos reprodutores e 5 explorações) e na quantidade de material genético crioconservado no Banco Português de Germoplasma Animal, a raça ovina Churra do Campo foi considerada em risco de extinção, Grau A: Risco muito elevado de extinção.

Este estudo pretende avaliar a variabilidade genética da raça Churra do Campo (CC), 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 características de interesse.

Foram genotipadas (INATEGA, Spain) amostras de 48 indivíduos, com recurso a um chip de 50K (Axiom technology, Thermofisher) que inclui de 49897 marcadores distribuídos por todos os cromossomas.

Os indicadores obtidos permitiram determinar a diversidade genética da população CC, o seu posicionamento relativamente a outras raças ovinas Portuguesas e de outros países, e avaliar a utilidade do *chip* utilizado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se amostras de 48 animais da população CC, de 35 fêmeas e 13 machos oriundos de 8 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, seguindo-se a sua avaliação quantitativa e qualitativa através do equipamento Nanodrop. Foram preparadas alíquotas de 50 µl de ADN com

índice de pureza (OD260/OD280) entre 1,8 e 2 e concentração mínima de 17,2 ng/μl, e enviadas para o Laboratório responsável pela genotipagem (INATEGA, Espanha).

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

A primeira etapa consistiu na formatação dos dados para associar cada SNP à informação do mapa genómico ovino atualizada (OAR V3.1) e na formação de 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, os índices de biodiversidade intra e inter populacional, designadamente, a frequência do alelo menos frequente (MAF), a heterozigotia e o coeficiente de consanguinidade (F) foram estimados mediante o pacote “BITE” em R (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 and Animal Resources” desenvolvido pelo Sheep Genomics Consortium (ISGC). Como esta informação resulta do *chip* Illumina 50K, os SNPs não comuns aos do *chip* da Axiom technology, utilizado neste estudo, 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 cromossoma mitocondrial. Finalmente excluíram-se os SNPs com valores de MAF < 5% ou indisponíveis em mais de 10% na base de dados global.

3. RESULTADOS

Neste relatório são apresentadas primeiro 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 CC. Posteriormente, após as exclusões descritas, faz-se a comparação de alguns dos indicadores de diversidade genética com os de populações ovinas portuguesas e de outros países.

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

3.1.1 Controlo de Qualidade

Para validação dos SNPs que compõem o *chip* de 50K utilizado foram aplicados os critérios de Controlo de Qualidade (QC), geralmente utilizados e disponíveis na bibliografia. A avaliação global da qualidade baseou-se na “*call rate*”, que mede a proporção de genótipos atribuídos por amostra ou SNP (Zhao et al., 2018) e varia entre 0 e 1. Amostras com “*call rate*” inferior ao standard de 95-98%, comumente utilizada para *chips* comerciais (Zhao et al., 2018), devem ser excluídas das análises subsequentes.

Este estudo só considerou amostras e SNPs com *call rate* superiores a 95% e 90%, respectivamente. A taxa total de genotipagem bem-sucedida foi bastante elevada, traduzindo-se numa *call rate* média de 98,7% por SNP e por indivíduo/amostra.

Após aplicação dos filtros associados ao QC ficaram disponíveis para as análises posteriores a totalidade de indivíduos (n=48) e 42347 variantes genéticas.

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

A distribuição de genótipos bem-sucedidos por SNP e por indivíduo apresenta-se nas figuras 1A e B respetivamente. Como se pode ver nos gráficos, a maioria dos SNPs (0,823) revela mais de 99% genótipos bem-sucedidos e só em 0,177 a taxa de sucesso é inferior ou igual 98%. No caso dos indivíduos a maioria também apresentou mais de 99% de genótipos bem-sucedidos e só em 0,146 foi 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 - Distribuição da Proporção de Genótipos bem-sucedidos por SNP

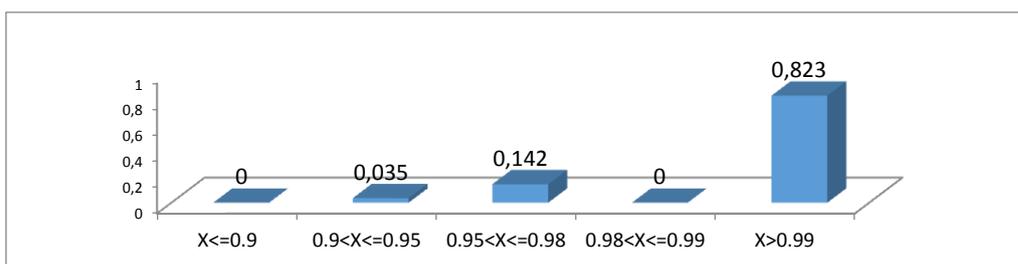
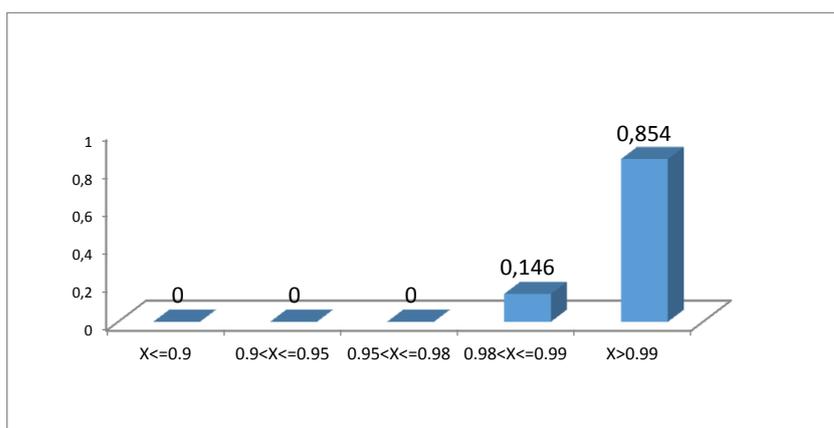


Figura 1 B - Distribuição da Proporção de Genótipos bem-sucedidos por indivíduo

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 SNP, sendo bialélicos, proporcionam menos informação por locus, situação que é compensada pela utilização de maior número de SNPs, com grande cobertura no genoma. A informação fornecida pelo chip utilizado permitiu estimar a diversidade genética, através dos parâmetros populacionais mais relevantes: Frequência do alelo menos frequente (MAF), níveis de heterozigotia e coeficiente de consanguinidade.

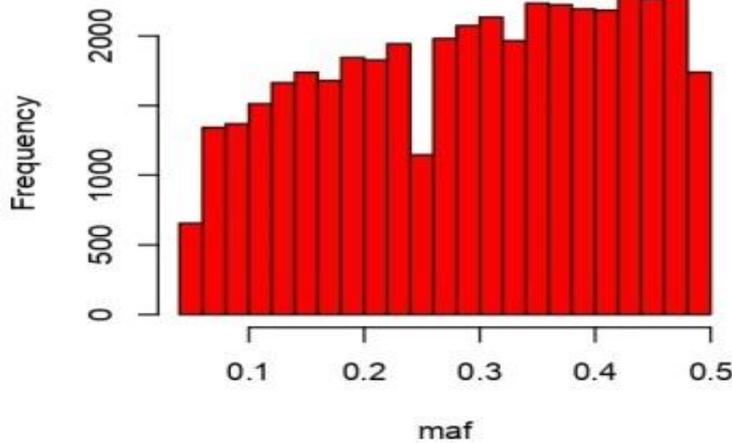
Frequência do alelo menos frequente (MAF)

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 distribuição de frequências de MAF, no conjunto dos SNPs analisado, apresentam-se nas figuras 2A e 2B.

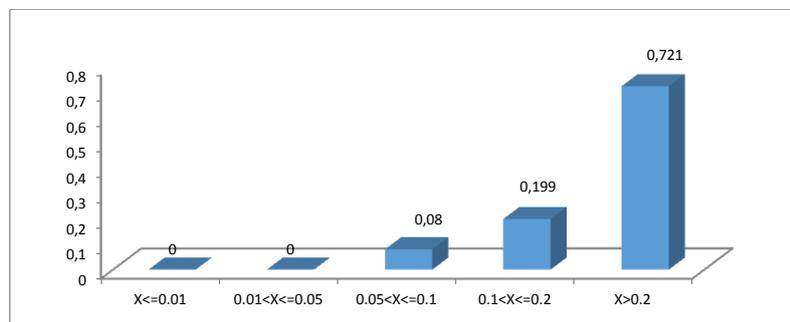
O valor de MAF variou entre um mínimo de 0.052 e um máximo de 0.5, apresentando valor médio de 0.293 e uma mediana de 0.302.

Figura 2 A - Valores de MAF dos loci SNP incluídos no Chip de 50 K para a raça C



As frequências de MAF distribuíram-se por diversas categorias das quais destacamos: $MAF \leq 0.01$, (revela SNPs com alelos fixos ou raros), $0.01 < MAF < 0.2$ (revela SNPs potencialmente informativos) e $0.2 \leq MAF \leq 0.5$ (revela SNP's muito informativos).

Figura 2 B - Distribuição de MAF dos loci SNP incluídos no Chip de 50 K para a raça CC



O padrão de distribuição de MAF na raça CC revela uma elevada proporção (0.72) de *loci* muito informativos ($MAF > 0.2$), similar ao descrito para a maioria das raças

européias ou americanas já analisadas (Kijas et al., 2012, citado por Sandenbergh, 2016). Verifica-se também que 0.0199 (20%) dos *loci* podem considerar-se potencialmente informativos ($0.01 < \text{MAF} \leq 0.2$) e não se evidenciam alelos raros na população ($\text{MAF} < 0.001$, Sandenbergh et al., 2016).

Heterozigotia Individual média por SNP e na população

A Heterozigotia depende do número de alelos e da sua frequência, sendo a heterozigotia média populacional um bom indicador da diversidade genética da população. A heterozigotia ou diversidade genética de um locus 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 indivíduo.

Diferenças significativas entre a heterozigotia esperada na população (H_e) e a heterozigotia observada (H_o), traduzida pela proporção de indivíduos heterozigóticos, indicam desvios ao EHW, que podem revelar dinâmicas populacionais como fluxo de genes, seleção, migração, deriva genética, consanguinidade (Rousset e Raymond, 1995). A heterozigotia na população CC apresenta-se na figura 3 (A, B e C).

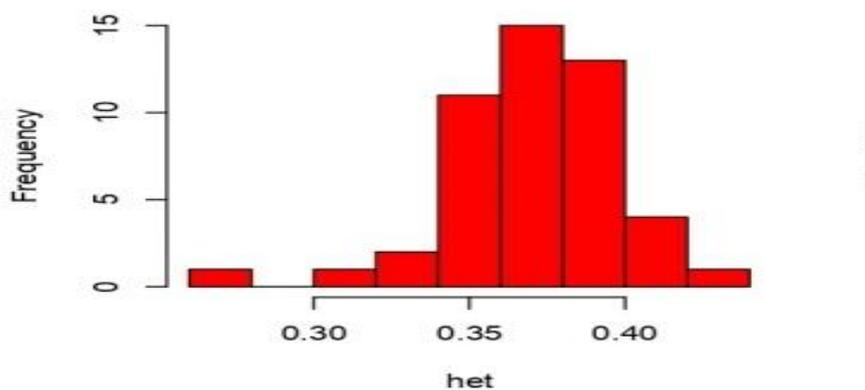
A heterozigotia individual variou entre um mínimo de 0.27 e um máximo de 0.473, com um valor médio de 0.37 (fig. 3A).

Figura 3 A. Valores individuais de Heterozigotia Observada



A maioria dos indivíduos (72.9) apresentou valores entre 0.35 e 0.40 (figura 3B), 16% entre 0.20 e 0.35 e 10.4% superiores a 0.40, o que está na ordem de valores referidos na bibliografia para raças de ovinos de outros países.

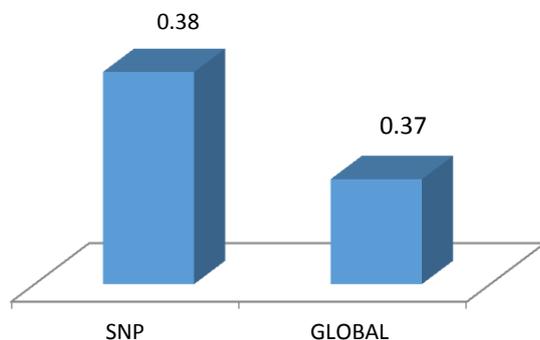
Figura 3 B Distribuição, da Heterozigotia Observada



Os valores de heterozigotia por SNP (0.38) e no global da população (0.37) foram também bastante razoáveis

Figura 3 C. Valores de Heterozigotia Observada, por SNP e na população CC

SNP e global

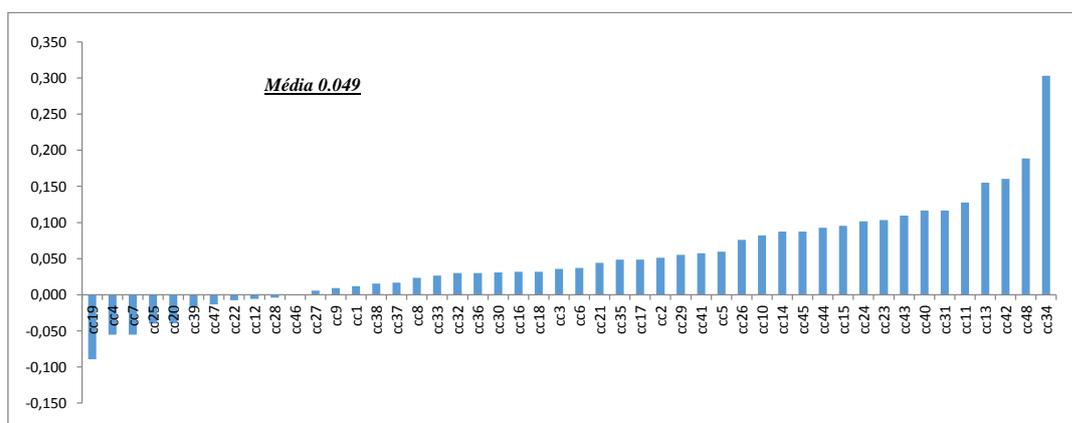


Coefficiente de Consanguinidade (F)

A consanguinidade é um indicador do grau de homozigotia da população e está na relação inversa com a heterozigotia, ou seja, o coeficiente médio de consanguinidade de uma população traduz-se pelo 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.

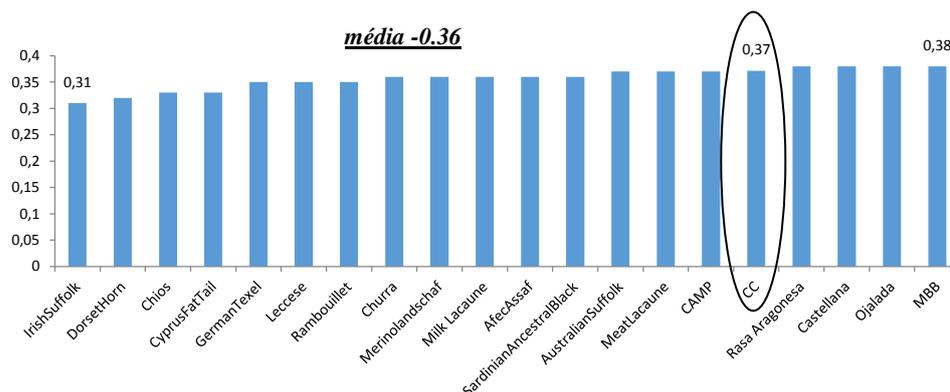
O valor médio do coeficiente de consanguinidade individual de 0.049 é razoável (figura 4), contudo observa-se alguma variabilidade individual, com valores mínimos de -0.089 a máximos de 0.30, pelo que são indicadas precauções na gestão da população de forma a evitar acasalamentos entre indivíduos com grau de parentesco elevado, com consequências negativas óbvias para a população.

Figura 4. Coeficientes de consanguinidade individual na população CC



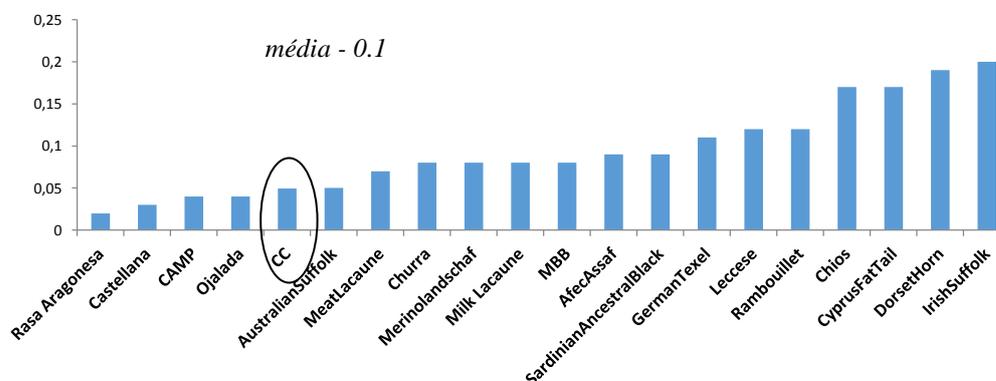
3.2 ENQUADRAMENTO DA RAÇA CC COM OUTRAS POPULAÇÕES OVINAS

Através da base de dados comum a outras populações ovinas (19) de diferentes países, conforme referido, foi possível comparar indicadores relevantes de diversidade, como a heterozigotia e coeficiente de consanguinidade da população CC e avaliar o seu posicionamento relativamente às outras populações consideradas. A figura 5 mostra a heterozigotia média na população CC e nas outras 19 populações consideradas.

Figura 5. Heterozigotia média observada em 20 populações ovinas

Neste conjunto de populações comprova-se que os níveis de heterozigotia de 0.37 da população CC podem considerar-se elevados, superiores à média global de 0.36 e similares aos de raças portuguesas como a Campaniça e o Merino da Beira Baixa e das raças Espanholas Aragonesa Castellana e Ojalada.

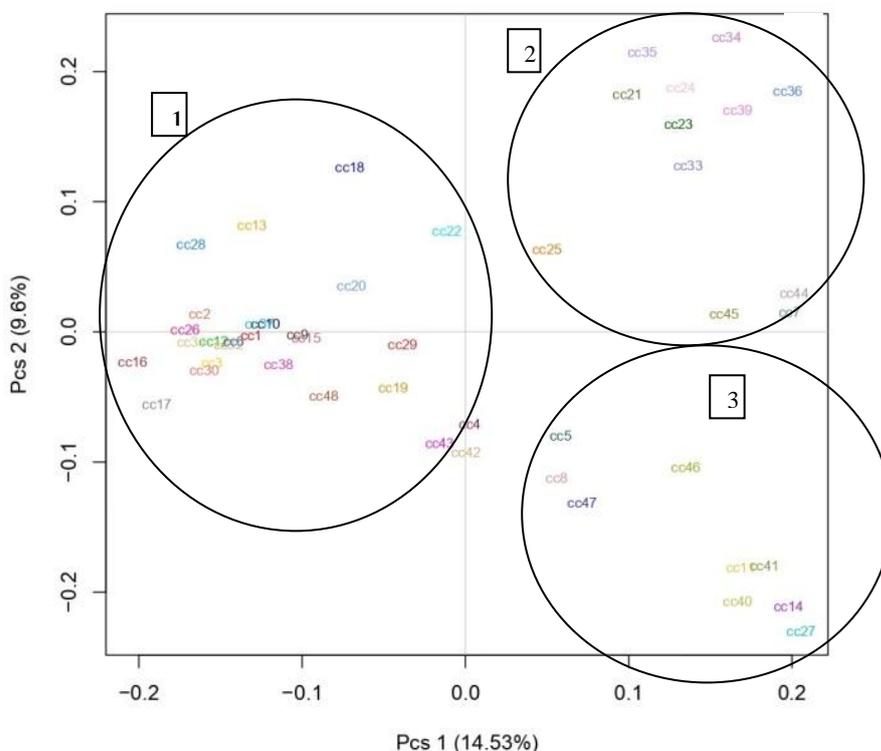
Na figura 6 apresenta-se o coeficiente de Consanguinidade F das mesmas populações.

Figura 6. Coeficientes de consanguinidade médio em 20 populações ovinas

O valor global de F para a população CC foi de 0.05, inferior à média geral (0.10) e ao estimado na maioria (15) das populações e similar ou ligeiramente superior ao das raças Espanholas anteriormente mencionadas.

População CC, Relações Genéticas e Posicionamento outras populações ovinas

Para esta avaliação fez-se primeiro uma análise em componentes principais só para os indivíduos da população CC que se apresenta na figura 7

Figura 7. Projecção dos indivíduos da população CC nas componentes principais 1 e 2

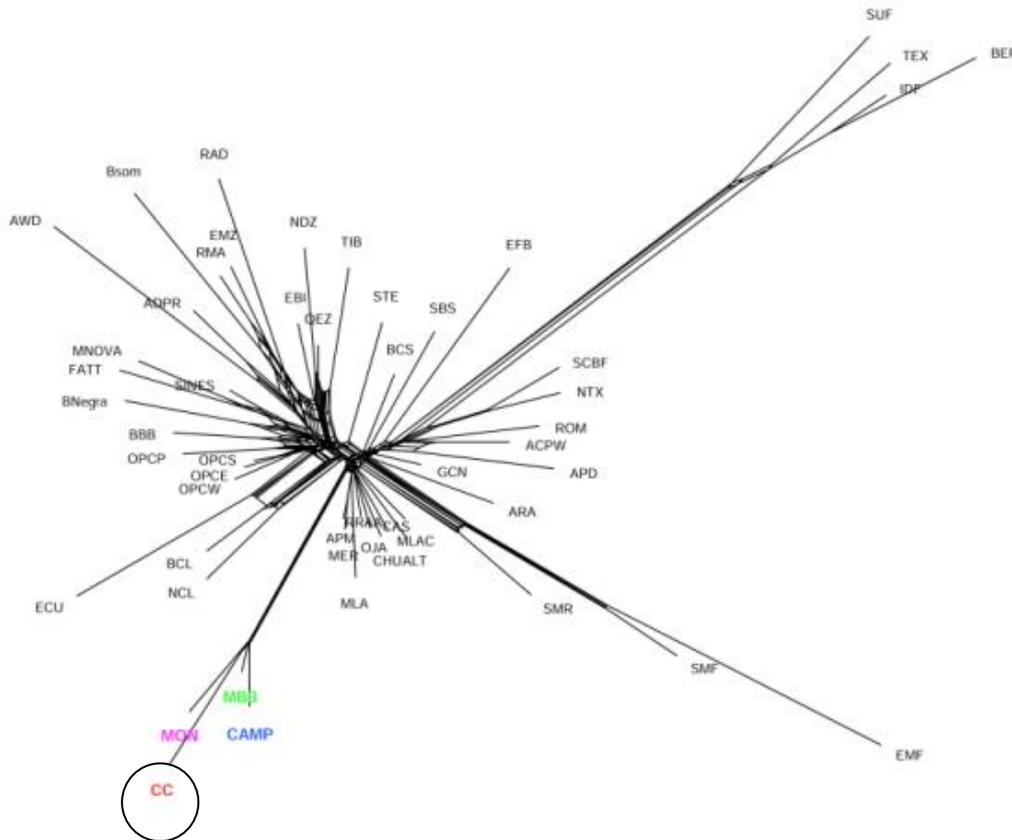
A projeção da população CC nas componentes principais 1 e 2, responsáveis respetivamente por 14.5 e 9.6% da variabilidade, mostra alguma heterogeneidade entre indivíduos. Parecem posicionar-se em 3 grupos ainda que não muito definidos. A componente 1 separa essencialmente o grupo 1, dos grupos 2 e 3, mostrando alguns indivíduos (CC4 e CC42) numa posição pouco definida. A componente 2 acrescenta informação, separando claramente os grupos 2 e 3 colocando os indivíduos do grupo 1 numa posição intermédia com cerca de metade dos indivíduos mais próximos do grupo 2 e os restantes mais próximos do grupo 3.

Distâncias genéticas entre populações internacionais de ovinos

Para a determinação das distâncias e relações genéticas da CC com outras populações ovinas estendemos a análise a 45 raças internacionais e considerámos também dados de três outras populações ovinas portuguesas que designaremos por MBB, CAMP e MON. Foi calculada a distância genética d de Reynolds e construiu-se uma árvore de distâncias

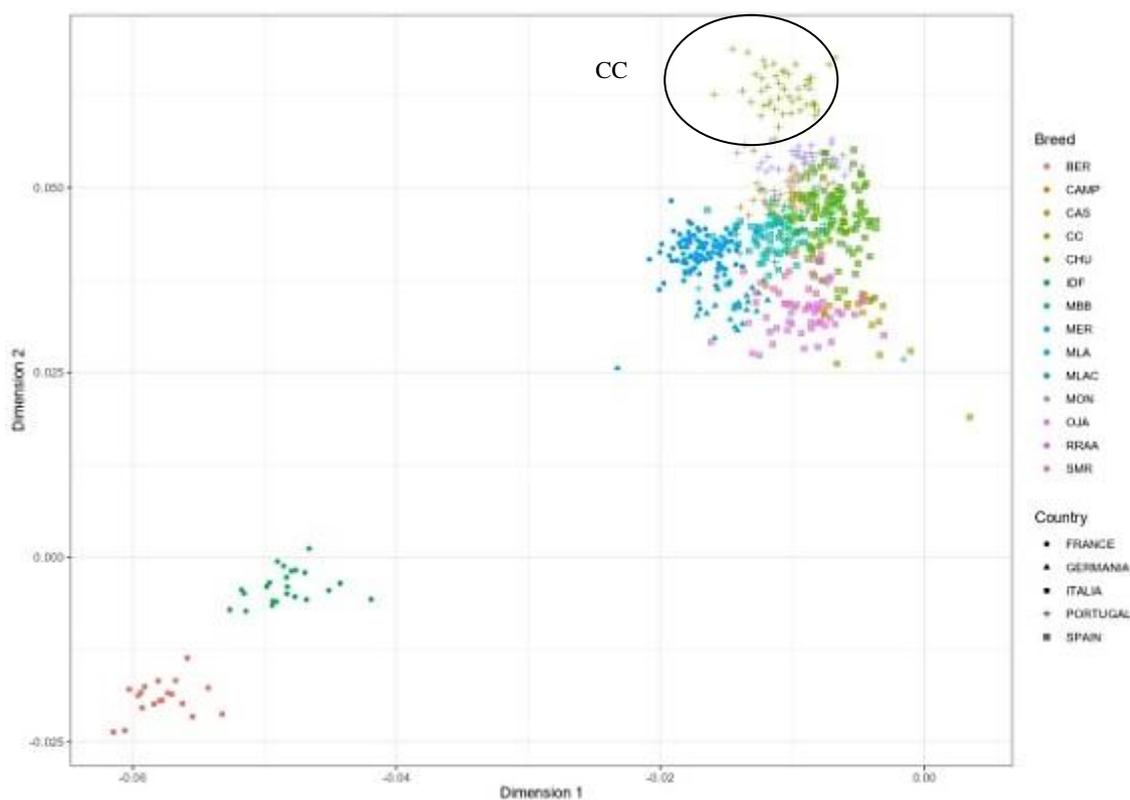
genéticas para todas as populações de ovinos internacionais e portuguesas consideradas (figura 8).

Figura 8. Dendrograma de distâncias de Reynolds para 45 populações Estrangeiras e 4 Portuguesas



No dendrograma populacional apresentado vemos claramente as populações portuguesas próximas entre si, num tronco comum distinto dos restantes. Neste tronco, os ramos tem contudo comprimentos diferentes evidenciando também diferentes distâncias entre as populações. Concretamente, a população CC está num ramo muito mais longo, evidenciando uma maior distância às suas congêneres portuguesas. O dendrograma mostra também um conjunto de raças em troncos distintos com a mesma raiz, mais próximas das populações portuguesas constituído essencialmente por raças espanholas, como a raças Aragonesa, Ojalada, Castellana, Churra, Altamurana Merino Espanhol e Polaco.

Fez-se ainda uma análise multidimensional (MDS) em componentes principais que incluiu apenas as 10 populações mais próximas (Portuguesas, Espanholas Italianas, Francesas e Alemãs). A figura 9 mostra os resultados da análise MDS para um conjunto de 14 populações (4 portuguesas e 10 Estrangeiras)

Figura 9. Análise MDS para um conjunto de 14 populações (4 portuguesas e 10 Estrangeiras)

A análise MDS mostra um grande agrupamento que inclui, ainda que com distâncias diferentes, todas as raças à exceção de duas (Ile de France e Bergamasca) bastante mais afastadas das restantes. Os indivíduos da população CC posicionam-se na extremidade superior do grupo, evidenciando, tal como anteriormente no Dendograma de Reynolds, alguma distância às outras populações do grupo, e a maior proximidade a outra raça Churra portuguesa (MON)

Sumarizando, verificamos que na população CC analisada, o conjunto de indicadores avaliados, revelam níveis de variabilidade genética apreciáveis, similares ou superiores às raças ovinas Estrangeiras, sobretudo no que diz respeito à Heterozigotia. Os indivíduos mostram alguma heterogeneidade nos coeficientes de consanguinidade F , que revelam valores elevados de consanguinidade em alguns dos indivíduos da população. Quando comparada com outras populações a CC revela maior proximidade com as suas congéneres Portuguesas especialmente com outra população Churra (Mondegueira).

4. CONCLUSÕES

A diversidade genética mediante genotipagem massiva de SNP (50K) foi estudada pela primeira vez na raça CC.

A raça apresenta níveis riqueza alélica e diversidade genética apreciáveis, comparáveis a outras populações ovinas Portuguesas e estrangeiras. Apresenta níveis médios de consanguinidade similares aos de outras populações geneticamente próximas, com evidências de alguma heterogeneidade individual a ter em conta na gestão da população. Devem ser privilegiados os acasalamentos entre animais não aparentados com baixos coeficientes de consanguinidade com o objectivo de manter a diversidade genética e controlar o aumento da consanguinidade, sobretudo considerando o historial de risco desta população.

A combinação dos dados da CC com raças ovinas de outros países forneceu informação sobre as relações filogenéticas entre as várias raças. Destacou-se maior proximidade às populações ovinas Portuguesas, especialmente à população Churra, (MON) do que com as estrangeiras, apesar de que a raça mantém alguma distancia das suas congéneres portuguesas.

Neste trabalho é ainda demonstrada a utilidade de um chip de alta densidade na genotipagem da raça CC, o que oferece grandes possibilidades para estudos futuros com vista à identificação polimorfismos em genes associados a características relevantes da raça e novas oportunidades para a investigação da dinâmica genética das populações ovinas nacionais.

5. BIBLIOGRAFIA

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

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 whole-genome 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 Merwe, 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/>

Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia e Caprinotecnia –SPOC

<http://www.ovinosecaprinos.com/campaniãhistoria.html>

Sobral, M.; Antero, C.; Borrego, J.D.; Nabais Domingos, A., (1987). Recursos Genéticos: raças autóctones - espécies ovina e caprina. Direcção Geral da Pecuária. Lisboa.

DRABI - Direcção Regional de Agricultura da Beira Interior, 2004. “Valorização dos Territórios da Europa do Sudoeste através dos Caprinos e Ovinos”. Castelo Branco.

Sobral, M.; Antero, C.; Borrego, J.D.; Nabais Domingos, A., (1987). Recursos Genéticos: raças autóctones - espécies ovina e caprina. Direcção Geral da Pecuária. Lisboa.

Teixeira, A. J. C., 1991. Contributo para a classificação etnológica dos ovinos Churros Portugueses mediante distâncias morfométricas do esqueleto cefálico e do osso. - Vila Real : [s.n.], 1991. - XI, 143 p. : il., 4 est. color. ; 29 cm

.

C.S.C. Rebello de Andrade (2012). Raça Ovina “Churra do Campo”. Caracterização da população actual. Edições IPCB. ISBN: 978-989-8196-30-9

Agradecimentos:

Agradecemos à nossa colaboradora Esperança Maurício todo o apoio e colaboração