

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa



2020

**Fátima Santos Silva, Nuno Carolino, Pedro Cardoso, Conceição Oliveira e
Sousa, Paula Jacob, Inês Carolino e Vincenzo Landi**

Raça Ovina Merino da Beira Baixa - Caracterização Genética por SNPs

Fátima Santos-Silva, Nuno Carolino, Pedro Cardoso, 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.iniaiv.pt/>



Pedro Cardoso

Ovibeira- Associação de Produtores Agropecuários
Rua José Cifuentes,
11 d/e
6000-244 CASTELO BRANCO
PORTUGAL

Tel: (+351) 284 310 350)
<https://www.ovibeira.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

Tel.: +393519175572
<https://www.uniba.it/en>



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

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

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 variabilidade que 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

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

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

A raça Merino da Beira Baixa (MBB) implementada no centro do País, na região da Beira Baixa, designadamente nos concelhos de Castelo Branco e Idanha-a-Nova, é constituída por animais de pequena estatura, utilizados na tripla função carne, leite e lã. Com base no baixo efetivo existente de cerca de 4900 fêmeas, (cerca de 4200 mantidas em linha pura) e aproximadamente 220 machos, distribuídos por cerca de 40 explorações e a na escassa quantidade de material genético crio conservado no Banco Português de Germoplasma Animal, a raça ovina Merina da Beira Baixa está considerada em risco de extinção. Contudo, estes animais perfeitamente adaptados a condições ambientais difíceis em sistemas extensivos de percurso com pouco recursos, solos pobres e clima agreste, continuam a desempenhar um papel importante na gestão do seu espaço rural e para a sustentabilidade dos criadores. O leite produzido é de excelente qualidade, com marcada influência da região e está diretamente associado aos Queijos da região de Castelo Branco reconhecidos com Denominação de Origem Protegida – DOP (Queijo de Castelo Branco DOP, Queijo Amarelo da Beira Baixa DOP e Queijo Picante da Beira DOP. Para a carne, o MBB é também usado para a produção do “Borrego da Beira” como produto IGP.

Esta situação não deixa dúvidas quanto a necessidade da preservação deste património genético e a entidade gestora do Livro Genealógico, Associação de Produtores de Ovinos do Sul da Beira – OVIBEIRA, está bastante empenhada na proteção desenvolvimento e promoção da raça e, nesse sentido, solicitou a sua caracterização genética através desta nova tecnologia tão promissora, para o conhecimento de populações e/ou genes relacionados com características de interesse.

Este estudo pretende avaliar a variabilidade genética da raça MBB, 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

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

diferenciação e relações genéticas, bem como polimorfismos relevantes que estejam associados a características de interesse.

Foram genotipados 48 animais (INATEGA, Spain), com recurso a um *chip* de (50K) (Axiom technology, Thermofisher) que consta de 49897 marcadores. O material biológico foi fornecido pela OVIBEIRA.

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

2. MATERIAL E MÉTODOS

As 48 amostras da população MBB utilizadas neste estudo foram selecionadas de um conjunto de 800, previamente processadas para outros fins e conservadas no Laboratório de Genética Molecular do INIAV- Fonte Boa (LGM). A seleção das amostras teve em conta a sua origem, utilizando o maior número possível de explorações (25), o género (22 machos e 26 fêmeas) assim como a diversidade de genótipos de análises anteriores.

A preparação e acondicionamento das amostras para a genotipagem foi efetuada no LGM: 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 e 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 de estudo.

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

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

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 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 and Animal 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 MBB. 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 MBB 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

Relatório de Caracterização Genética

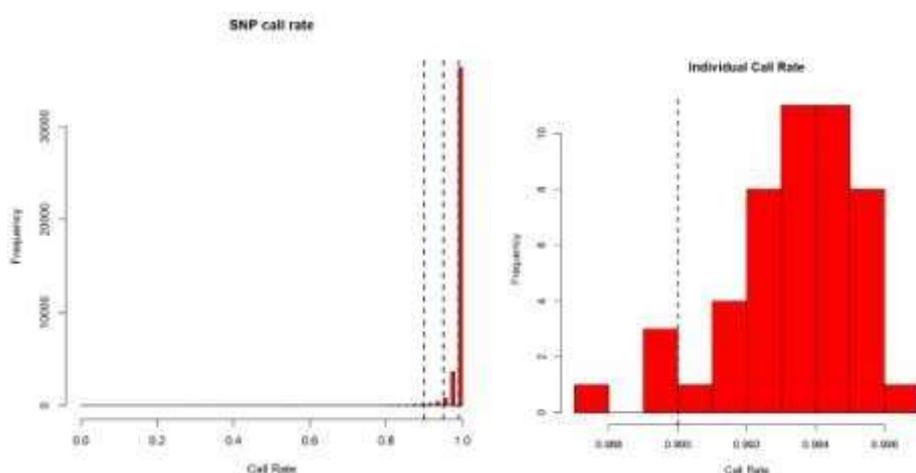
Raça Ovina Merino da Beira Baixa

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 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% comumente utilizada para *arrays* comerciais (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 42132 SNPs nas 48 amostras estudadas resultando 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 0,99057 por SNP e de 0,9906 por indivíduo (figura 1), em ambos os casos superior à *call rate* standard de 95-98% para a maioria dos *arrays* comerciais.

Figura1. Call Rate por SNP e Individual



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

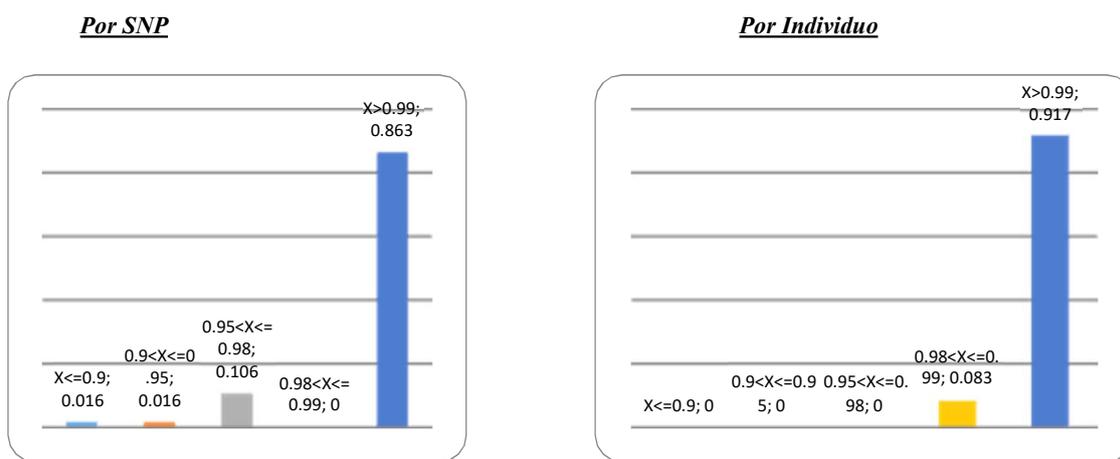
A distribuição de genótipos bem sucedidos por SNP e por indivíduo é apresentada na figura 2A e B respetivamente. A maioria dos SNPs (0.863) mostra 99% ou mais de genótipos bem sucedidos e só numa proporção de 0.016 aquela taxa é inferior ou igual 0.9%. Nos indivíduos, a situação é semelhante, a maioria (0.917), pelo menos 99% de genótipos bem-sucedidos e só em 0.083 a taxa de sucesso é inferior a 99%. Estes

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

valores revelam que o *chip* utilizado apresenta uma taxa de sucesso elevada nesta população e que foi adequada a sua utilização.

Figura 2 A e B. Distribuição da Proporção de Genótipos bem sucedidos



3.1.2 Diversidade genética

As estimativas obtidas por microssatélites e SNP não são diretamente comparáveis. Enquanto os microssatélites são altamente polimórficos (FAO, 2010) os SNP são bialélicos, pelo que proporcionam menos informação por locus, o que é compensado pelo maior número de SNPs, cobrindo grande parte do genoma com distribuição regular. 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 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, uma vez que o progresso genético dos caracteres a selecionar depende, entre outros fatores, da

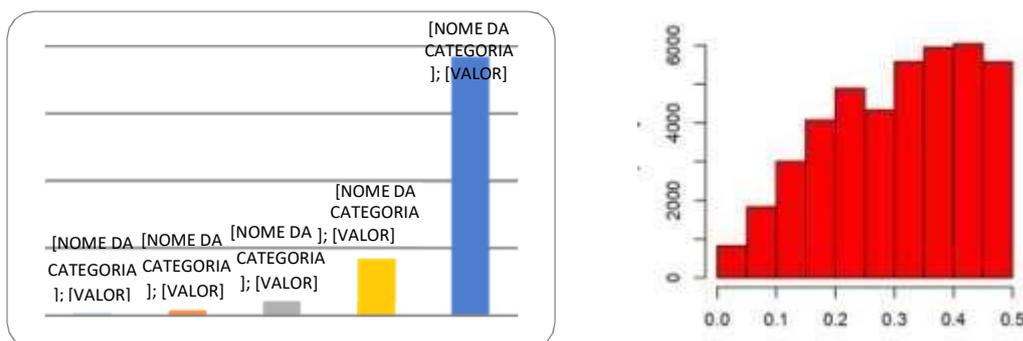
Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

variabilidade genética existente. Os valores de MAF abaixo de 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 apresentam-se nas figuras 3A e 3B. Os SNP foram distribuídos por quatro categorias de acordo com o valor de MAF: SNPs com alelos fixos ou raros ($MAF \leq 0,01$), SNPs potencialmente informativos ($0,01 < MAF < 0,2$) ou muito informativos ($0,2 \leq MAF \leq 0,5$). O conjunto dos SNPs analisados apresentou um valor médio MAF de 0.406, com um mínimo de 0 e um máximo de 0.5 (figura 3)

O padrão de distribuição de MAF na raça MBB demonstra valores de pelo menos 0.2 na maioria dos *loci* (0.769), 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 (0.005) apresentou valores de MAF inferiores a 0.001, indicativo de alelos raros na população (Sandenbergh et al., 2016). Constatou-se ainda que 0.226 (22,6%), dos *loci* podem considerar-se potencialmente informativos ($0.01 < MAF \leq 0,2$)

Figura 3 A e B. Distribuição e valores de MAF dos loci SNP incluídos no Chip de 50 K para a raça MBB



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

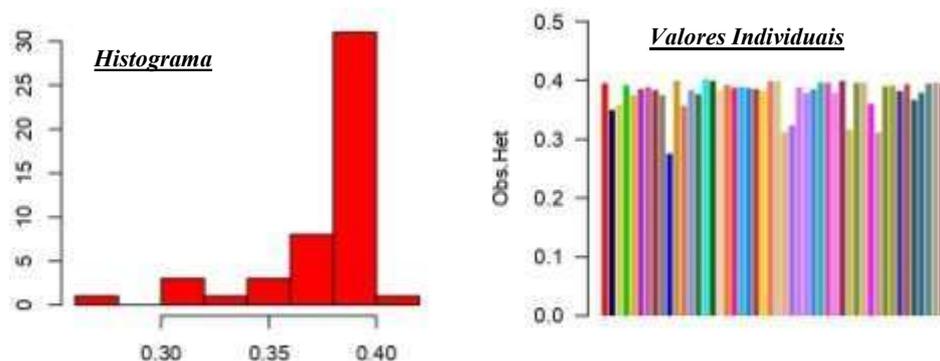
Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

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

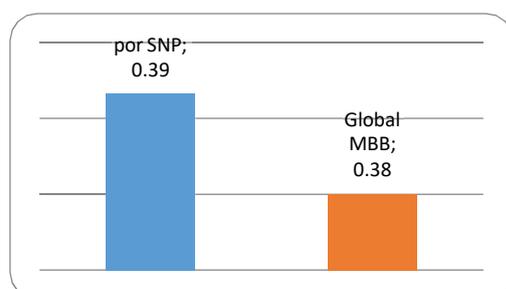
Diferenças significativas entre a heterozigotia esperada na população (H_e) e a heterozigotia observada (H_o), traduzida pela proporção de indivíduos heterozigóticos, indicam desvios do EHW, que podem revelar dinâmicas populacionais como fluxo de genes, seleção, migração, consanguinidade (Rousset e Raymond, 1995). A heterozigotia na população MBB apresenta-se na figura 4 (A e B)

Figura 4A e 4B. Distribuição e valores de Heterozigotia Observada por Indivíduo na população MBB



A heterozigotia individual variou entre 0.28 e 0.40 (fig. 4B), com um valor médio de 0.38. A maioria dos indivíduos apresentou valores entre 0.35 e 0.40 dentro da ordem de valores comumente referidos na bibliografia para raças de ovinos de outros países. A figura 5 mostra que os valores médios de heterozigotia por SNP (0.39) e no global da população (0.38), foram também bastante razoáveis.

Figura 5. Heterozigotia média por SNP e global na população



Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

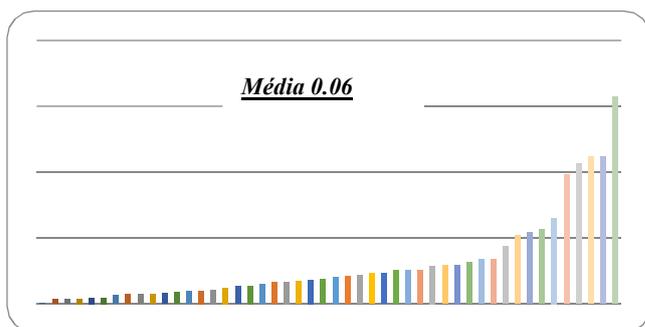
Coeficiente de Consanguinidade (F)

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-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 significativamente diferentes de 0 indicam uma deficiência de heterozigotos, o que pode dever-se a uma acumulação da consanguinidade na população.

A consanguinidade individual na população MBB é apresentada na figura 6, evidenciando um valor médio de F razoável estimado em 0.06. Contudo, existe uma grande variabilidade entre indivíduos, com valores mínimos de 0 até valores máximos de 0.32, o que sugere que deverão ser tomadas algumas precauções nos acasalamentos de indivíduos aparentados de forma a evitar que nasçam indivíduos com valores de F elevados, com consequências geralmente negativas para a população.

Figura 6. Coeficientes de consanguinidade individual na população MBB



3.3 ENQUADRAMENTO DA RAÇA MBB COM OUTRAS POPULAÇÕES OVINAS

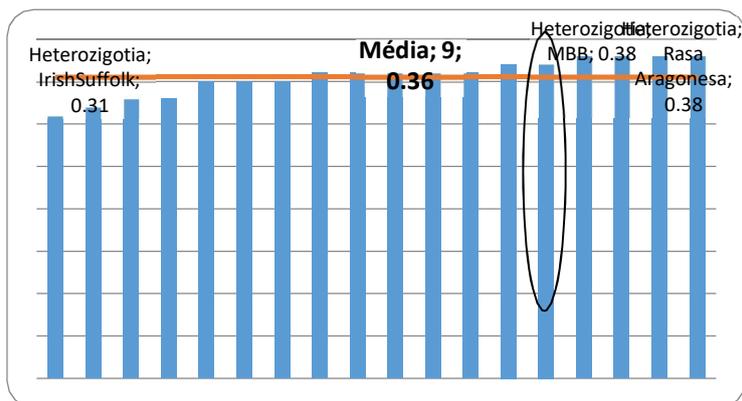
Através da base de dados comum a outras populações ovinas (17 populações) de diferentes países, conforme já referido anteriormente, foi possível comparar indicadores relevantes de diversidade, como a heterozigotia e coeficiente de consanguinidade da população MBB, e avaliar o seu posicionamento relativamente às outras populações

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

consideradas. O gráfico 7 mostra a heterozigotia média na população MBB e nas outras 17 consideradas.

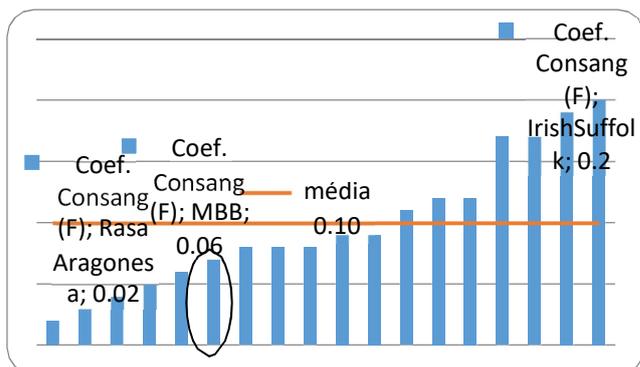
Figura 7. Heterozigotia média observada em 18 populações ovinas



Neste conjunto de populações comprova-se que os níveis de heterozigotia de 0.38, da população MBB foram bastante elevados, superiores à média global de 0.36 e similares aos de três raças Espanholas Castellana, Ojalada e Rasa Aragonesa.

No gráfico 8 apresenta-se o coeficiente de Consanguinidade F das mesmas populações.

Figura 8. Coeficientes de consanguinidade médio em 18 populações ovinas



O valor de F para a população MBB foi de 0.06, inferior aos estimados em treze das populações consideradas e à média geral de 0.1, similar ao das populações Churra, Merinolandschaf e Milk Lacaune, mas ligeiramente superior ao das três raças Espanholas anteriormente mencionadas Castellana, Rasa Aragonesa, e Ojalada.

Relatório de Caracterização Genética

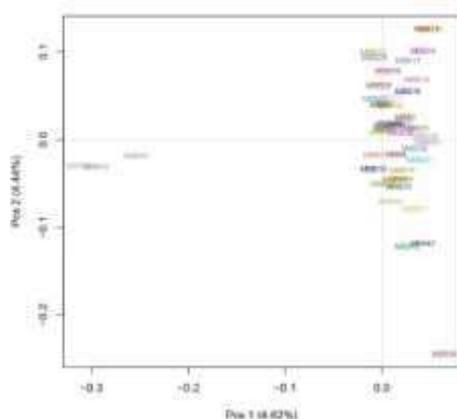
Raça Ovina Merino da Beira Baixa

População MBB. Relações Genéticas e Posicionamento outras populações ovinas

Para esta avaliação primeiro fez-se uma análise em componentes principais para a população MBB que se apresenta na figura 9

População MBB

Figura 9. Análise em componentes principais indivíduos população MBB



Nesta figura, pode ver-se que os indivíduos da população MBB se agrupam de forma homogénea na sua maioria num único grupo definido pela componente 1, responsável por 4.62% da variabilidade. Esta componente separa essencialmente 2 indivíduos (MBB33 e MBB44) dos restantes. A componente 2, responsável por 4.4% da variabilidade separa fundamentalmente um indivíduo dos restantes (MBB20).

Distâncias genéticas entre populações Europeias

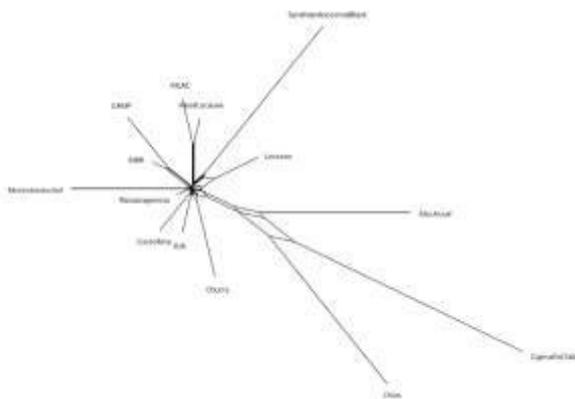
Para a determinação das distâncias e relações genéticas entre populações consideramos também dados de uma outra população de ovinos portugueses ainda em estudo (que designaremos por CAMP). Foi calculada a distância genética d de Reynolds e construiu-se uma árvore de distâncias genéticas para as populações Europeias (figura 10), que inclui também a população de ovinos portugueses referida.

A figura 10 apresenta a árvore de distâncias de Reynolds para populações Europeias e as duas populações Portuguesas.

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

Figura 10. Dendrograma de distâncias de Reynolds para populações Europeias e Portuguesas



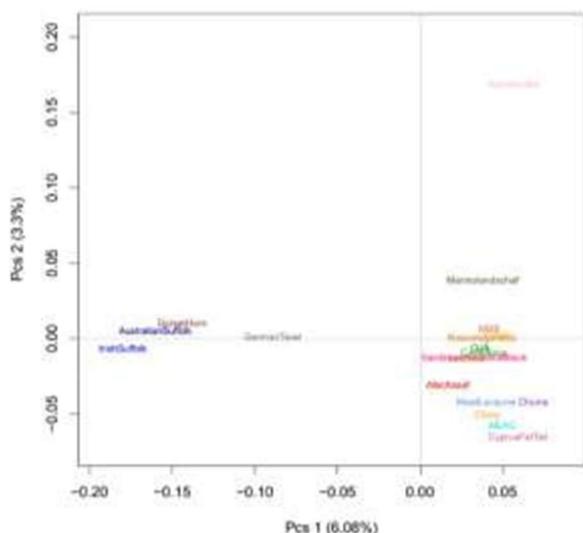
Este dendrograma populacional, mostra as duas populações Portuguesas num tronco comum distinto dos restantes, próximas entre si, ainda que com alguma distância evidenciada pelo comprimento dos respectivos ramos, (ramo MBB bastante mais

curto). 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.

Fez-se ainda uma análise multidimensional (MDS) em componentes principais mais alargada que incluiu as 17 populações de diferentes Países (figura 11).

A figura 11 mostra os resultados da análise MDS para um conjunto de 19 populações (2 portuguesas e 17 Estrangeiras)

Figura 11. 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 grupo da maioria das Europeias muito afastadas das populações Dorset Horn e Suffolk. Esta componente mostra também as raças portuguesas próximas entre si e das raças Espanholas Rasa Aragonesa,

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

Castellana, e Ojalada e um pouco mais afastadas do Merino Landchaf. A segunda componente (Psc2) separa-as essencialmente da população Rambouillet.

A população MBB revela assim, globalmente níveis de variabilidade genética razoáveis, similares ou superiores a 17 raças ovinas Estrangeiras, sobretudo no que diz respeito à Heterozigotia. Os animais são de forma geral homogéneos exceto no que diz respeito aos coeficientes de consanguinidade F que sugerem acumulação de consanguinidade em alguns dos indivíduos da população, sobretudo quando comparado com as populações Espanholas geneticamente mais próximas, Rasa Aragonesa, Ojalada e Castellana.

4. CONCLUSÕES

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

Em função dos resultados obtidos conclui-se que a raça apresenta níveis riqueza alélica e diversidade genética apreciáveis, comparáveis a um conjunto de 17 populações de ovinos de outros Países. Também são comparáveis os níveis de consanguinidade, ainda que ligeiramente mais elevados do que os observados em raças espanholas, sugerindo algumas precauções tendo em vista o controlo da consanguinidade.

Tendo em conta que a população MBB está em risco de extinção e que o acasalamento entre indivíduos aparentados poderá ocorrer nas cerca de 40 explorações desta raça, 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.

A combinação dos dados da MBB com raças ovinas de outros países forneceu informação sobre as relações filogenéticas entre as várias raças. A proximidade com raças europeias foi mais evidente para as raças Rasa Aragonesa Ojalada e Castelhana.

Neste trabalho é demonstrada a utilidade de um chip de alta densidade para a genotipagem de raça MBB, o que oferece grandes possibilidades para estudos com vista à identificação polimorfismos em genes associados a características relevantes da raça e

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

gera novas oportunidades para a investigação da dinâmica genética das populações ovinas nacionais. Para a utilização de chips de alta densidade em outras populações será conveniente fazer estudos prévios de caracterização genética como este, uma vez que, até à data, as populações ovinas portuguesas não foram incluídas no desenvolvimento de chips comerciais, o que poderá limitar a sua utilização.

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

5. BIBLIOGRAFIA

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 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/>

Relatório de Caracterização Genética

Raça Ovina Merino da Beira Baixa

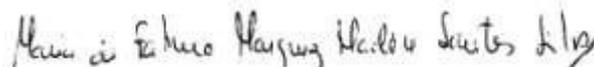
Agradecimentos

Agradecemos aos proprietários das fotografias 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)