

# Evolução da produção de leite em pequenos ruminantes. Polimorfismos do gene da hormona de crescimento.

Maria do Rosário Marques<sup>1</sup>, Alfredo Cravador<sup>2</sup>  
e Carlos C. Belo<sup>1</sup>

## Resumo

Os efetivos autóctones de pequenos ruminantes têm vindo a diminuir, em parte devido ao seu baixo potencial produtivo. A necessidade de encontrar formas mais expeditas de aumentar o potencial produtivo das nossas raças, e assim promover a sua manutenção e a sustentabilidade dos sistemas extensivos onde são explorados, levou à procura de marcadores moleculares, nomeadamente no gene da hormona de crescimento (*GH*), associados com a produção e qualidade do leite em pequenos ruminantes. Nas raças ovinas Churra da Terra Quente, Merino da Beira Baixa, Saloia e Serra da Estrela e caprinas Algarvia e Serrana verificou-se que o gene da *GH* é muito polimórfico, tendo sido encontrados polimorfismos específicos em algumas das raças. Os resultados sugerem que os polimorfismos do gene da *GH*, entre outros (e.g., nas caseínas), poderão vir a ser utilizados em seleção assistida por marcadores genéticos, de modo a melhorar a produção de leite sem afetar a sua qualidade. Contudo, a resposta à seleção será sempre condicionada pela prática de um correto manejo alimentar dos animais.

**Palavras-chave:** caprinos, hormona do crescimento, marcadores genéticos, ovinos.

<sup>1</sup> INRB, I.P. / L-INIA, Unidade de Investigação de Produção Animal, Quinta da Fonte Boa, 2005-048 Vale de Santarém, Portugal;  
e-mail: rosario.marques@inrb.pt; carlos.carmonabelo@inrb.pt

<sup>2</sup> IBB/CGB, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal;  
e-mail: acravad@ualg.pt

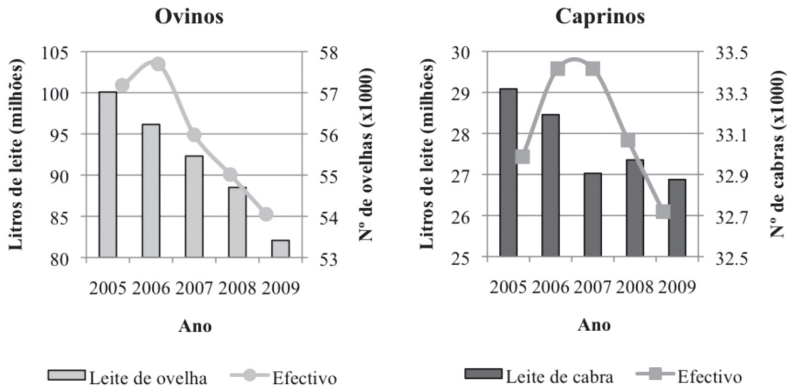
## 1. Introdução

Com este trabalho pretende fazer-se uma breve resenha da evolução dos efetivos ovinos e caprinos, evolução do potencial leiteiro e esforço investido em investigação científica no domínio da biologia molecular conducente a uma melhor compreensão dos fatores genéticos que afetam a quantidade e qualidade do leite nas raças autóctones de pequenos ruminantes.

## 2. Evolução dos Efetivos e da Produção de Leite

Nas últimas décadas a paisagem agrícola alterou-se significativamente. Diminuíram as terras aráveis e aumentou a área de “pastagens permanentes”, a qual ocupa atualmente metade da superfície agrícola útil, i.e., cerca de 1,8 milhões de hectares, 75% dos quais sem qualquer melhoramento (sementeiras, adubações). O número de efetivos pecuários decresceu, assim como o número de explorações, tendo aumentado a sua área média que contudo em 2009 era apenas de 11,9 ha (INE, 2010), refletindo a expansão dos sistemas de produção extensivos.

Em 1989 existiam em Portugal 2 912 043 ovinos em 98 901 explorações. No decurso dos anos 90, o efetivo ovino manteve-se estável (2 917 719 animais em 1999) mas diminuiu em 30% o número de explorações que se dedicava à ovinicultura, tendo o tamanho médio dos rebanhos aumentado de 29 para 42 animais. A tendência de diminuição do número de explorações manteve-se na última década (-20%), mas também se observou uma diminuição de 25% do efetivo ovino nacional que passou para 2,2 milhões de fêmeas reprodutoras. Em 1999, cerca de 20% do efetivo ovino nacional era constituído por ovinos explorados para a produção de leite e 5,5% do efetivo nacional era composto por animais das raças autóctones, sendo que as raças autóctones leiteiras (Churra da Terra Quente, Mondegueira, Saloia e Serra da Estrela) representavam 12,5% do efetivo leiteiro nacional. Desde então, verificou-se um decréscimo de 28% do efetivo leiteiro das raças autóctones, entre 1999 e 2002, e uma recuperação do efetivo entre 2002 e 2005. De 2005 para 2009 o efetivo leiteiro voltou a diminuir (-5,5%). Concomitantemente, com o decréscimo do número de animais entre 2005 e 2009 verificou-se uma diminuição de 18% da quantidade total de leite de ovelha produzida no país (de 100 091 para 82 075 milhares de litros de leite) (Fig. 1).



**Fig. 1** Evolução da produção de leite de pequenos ruminantes (www.ine.pt; acesso em 15 de março de 2011) e do efetivo das raças ovinas (Churra da Terra Quente, Mondegueira, Saloia e Serra da Estrela) e caprinas autóctones (Algarvia, Charnequeira, Serpentina e Serrana) entre 2005 e 2009 [DGV, 2007; efetivo em 2009. Fonte SPOC: www.ovinosecaprinos.com (acesso em 15 de março de 2011)].

O decréscimo do efetivo leiteiro autóctone pode em parte ser explicado pela sua substituição por raças exóticas mais produtivas, nomeadamente a Laucane, a Awassi e a Assaf, esta última introduzida em Portugal em 1987 através de animais provenientes de Espanha (Ugarte et al., 2001).

O potencial leiteiro das nossas raças ovinas autóctones não é muito elevado quando comparado com o potencial leiteiro das raças Assaf (Quadro 1) e Lacaune (Marques et al., 2010), contudo o seu leite apresenta teores mais elevados em gordura e proteína, e rendimentos queijeiros (Martins et al., 2009). Assim, a simples substituição de uma raça por outra mais produtiva, tem implicação não só ao nível do manejo dos rebanhos, mas também no rendimento queijeiro (Martins, 2006).

A produção de queijo de ovelha representou 22% da produção de queijo nacional na campanha de 2003/2004, tendo sido produzidos 578 352 kg de queijo de ovelha DOP: 129 000 kg de queijo de Nisa, 111 030 kg de queijo de Azeitão e 93 603 kg de queijo Serra da Estrela (MADR, 2007). Nesta campanha, o país exportou 8 t de queijo de ovelha vendidas em média a \$ 11 500.t<sup>-1</sup> e importou 102 t a \$ 5 833.t<sup>-1</sup> (FAOSTAT, 2011), o que torna Portugal bastante deficitário em termos de balança externa. É de notar que os queijos portugueses são mundialmente reconhecidos, atingindo persistentemente preços mais elevados nos mercados internacionais, à frente dos queijos franceses, italianos e gregos, tendo em 2008 atingido os \$ 15 714.t<sup>-1</sup>. Contudo, estes preços são inferiores aos praticados no mercado interno, o que poderá explicar, em parte, a fraca percentagem de queijo exportado.



**QUADRO 1 Produção média de leite aos 150 dias de lactação (P150d), produção média total de leite (PTOT), produção média diária de leite (PMD), duração média da lactação (DurL), teor em gordura (TG), teor em proteína (TP) e rendimento queijeiro (RQ; litros de leite.kg<sup>-1</sup> de queijo) nas raças ovinas Churra da Terra Quente (CTQ), Saloia (SA), Serra da Estrela (SE) e Assaf (AS), e na raça caprina Serrana ecótipos Transmontano (SER-Trans), Ribatejano (SER-Rib) e Jarmelista (SER-Jar).**

	Ovinos				Caprinos		
	CTQ <sup>a</sup>	SA <sup>b</sup>	SE <sup>c</sup>	AS <sup>d</sup>	SER-Trans <sup>e</sup>	SER-Rib <sup>f</sup>	SER-Jar <sup>g</sup>
<b>P150d</b> (Litros)	84	106,2	140 **	244,8	103,1	223,1	87,7
<b>PTOT</b> (Litros)	84,8	116,1	170 **	359	123,0	250,8	96,9
<b>PMD</b> (Litros)	0,556	0,67	0,83 **	1,632	0,68	1,41	0,58
<b>DurL</b> (dias)	152,5	173,4	205 **	220	181	178	167
<b>TG</b> (%)	7,9	8,7 *	7,3 ***	7,2	3,5	4,1	nd
<b>TP</b>	5,43	6,27 *	5,7 ***	5,5	3,3	3,4	nd
<b>RQ</b>	7,75	6,3 *	3,3-5,6	8,1 *	nd	nd	nd

<sup>a</sup>-Resultados de 20 471 contrastes válidos em 238 explorações (ANCOTEQ, 1999/2000).

<sup>b</sup>-Resultados de 11 009 lactações nos alavões 1999 a 2006 em 10 explorações. \* Resultados de uma exploração em dois anos consecutivos (Martins et al., 2009). <sup>c</sup>-Resultados Oficiais do Contraste Leiteiro de 1999/2000, \*\* 19 749 lactações, \*\*\* 356 lactações. <sup>d</sup>-de la Fuente et al. (2006). <sup>e</sup> Resultados de uma exploração em dois anos consecutivos (Martins et al., 2009).

<sup>f</sup>-7 084 registos. <sup>g</sup>-1 200 registos. <sup>h</sup>-1 637 registos. nd-não determinado. Fonte: SPOC (www.ovinoscaprinos.com; acesso em 15 março 2011).

O efetivo caprino é cerca de 4 a 5 vezes menor que o ovino. Em 1989 existiam 697 471 caprinos em 85 259 explorações. No decurso dos anos 90, o efetivo caprino diminuiu em 25%, tal como o número de explorações que se dedicava à caprinicultura (-42%), tendo-se mantido relativamente estável o tamanho médio dos rebanhos de 8 a 10 animais. A tendência de diminuição do efetivo caprino (-20% para 410 mil animais) e do número de explorações (-33% para 33 mil explorações) manteve-se na última década. Isto teve reflexos na quantidade de leite de cabra produzido, a qual diminuiu 7,5% (de 29 087 para 26 877 milhares de litros de leite) entre 2005 e 2009 (Fig. 1). A principal raça caprina leiteira nacional é a raça Serrana. Esta raça representa cerca de 45-50% do efetivo caprino autóctone, e a sua população (tal como a das raças caprinas autóctones em geral) manteve-se estável durante a última década (19 338 animais em 2009). Em 2009, existiam 13 077 fêmeas do ecótipo Transmontano, 3 865 do ecótipo Ribatejano, 2 191 do ecótipo Jarmelista e 205 do ecótipo Da Serra, sendo de assinalar que os diferentes ecótipos têm potenciais leiteiros bastante distintos (Quadro 1).

Tal como no caso do setor leiteiro ovino, a diminuição do efetivo caprino foi mais acentuada que a da produção de leite em si, o que se poderá dever a vários fatores, como sejam o abandono da atividade sobretudo por parte de caprinicultores cujo produto principal era a venda de cabritos; o leite de cabra ter começado a ser visto como um produto interessante, capaz de complementar o rendimento obtido com a venda dos cabritos e, o que parece ter tido mais significado, o aumento da capacidade produtiva dos animais, nomeadamente, pela introdução de raças exóticas mais produtivas tais como as Alpina, Murciano-Granadina e Saanen.

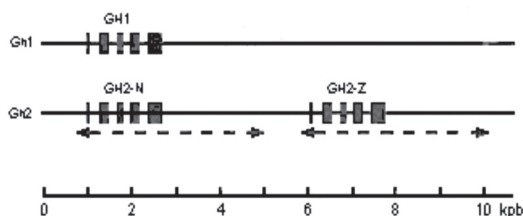
### **3. Polimorfismos do Gene da Hormona de Crescimento**

Com o desenvolvimento da biologia molecular, surgiram técnicas que, colocadas ao serviço da ciência animal, além de permitirem o controlo de fraudes, a rastreabilidade dos produtos, a caracterização de populações e a testagem de parentescos, podem também permitir a identificação de mutações em genes candidatos responsáveis por caracteres produtivos de interesse zootécnico como sejam a suscetibilidade a doenças (e.g., Scrapie; Gama et al., 2006) ou a produção e qualidade do leite. Assim, a procura de polimorfismos em genes candidatos que se pensa afetarem a produção/qualidade do leite pode contribuir para intensificar a seleção para os referidos caracteres.

Os estudos de identificação de marcadores em genes candidatos do eixo somatotropico, nomeadamente no gene da hormona do crescimento (*GH*), iniciaram-se nos anos 90 em raças ovinas e caprinas, com base no conhecimento, entretanto adquirido, sobre a fisiologia da glândula mamária. Com efeito, sabia-se que capacidade leiteira futura das fêmeas dependia do nível de desenvolvimento da glândula mamária, desde a fase fetal até ao final da gestação, bem como das taxas de secreção e morte das células mamárias ao longo da lactação e também, que o desenvolvimento da glândula mamária é controlado nutricional e hormonalmente pela hormona do crescimento (*GH*) entre outras hormonas do eixo somatotropico. Mas foi na década de 90 do século passado que Bauman e Vernon (1993) e mais tarde Etherton e Bauman (1998) mostraram que durante a lactação a *GH* é responsável pela modelação da glândula mamária no sentido duma maior taxa de síntese do leite e dum aumento da persistência da curva da lactação. Os primeiros estudos em Portugal foram realizados em ovelhas Serra da Estrela (Barracosa et al., 1994) e Churra da Terra Quente (Bastos et al., 1997).

O gene da *GH*, constituído por 5 exões (regiões codificantes) encontra-se no cromossoma 11 ovino e no cromossoma 17 caprino, estando duplicado nas duas espécies, mas não nos bovinos. Em pequenos ruminantes foram descritos dois alelos quanto ao número de cópias: o alelo *Gh1* contendo uma só cópia do gene (*GH1*) e o alelo *Gh2* no qual o gene aparece duplicado (Valinsky et al., 1990), apresentando as cópias *GH2-N* e *GH2-Z* nos ovinos (Gootwine et al., 1993; Fig. 2), e as cópias *GH2* e *GH3* nos caprinos (Yamano et al., 1988). Assim, temos 3 genótipos possíveis nas duas espécies pecuárias: o *Gh1/Gh1*, o *Gh1/Gh2* e o *Gh2/Gh2*.

Marques et al. (2006) obtiveram as seguintes frequências genotípicas: 2,2%, 15,7% e 82,0% respetivamente para os genótipos *Gh1/Gh1*, *Gh1/Gh2* e *Gh2/Gh2* na raça ovina Serra da Estrela, e verificaram que ovelhas que receberam o alelo *Gh2* dos seus progenitores produziram em média mais 26,4±7,5 litros de leite/150 dias do que as ovelhas que receberam o alelo *Gh1* (+18,6% de leite; P<0,05). Estes resultados, combinados com o facto de o alelo *Gh1* (não duplicado) ser raro nas populações Serra da Estrela (10%), Assaf e Awassi (Valinsky et al., 1990) permite supor que o alelo *Gh2* confere alguma vantagem seletiva para a produção de leite aos animais que o possuem.



**Fig. 2** Alelos *Gh1* e *Gh2* do gene da *GH* em ovinos. As caixas negras representam os exões. *GH1*, *GH2-N* e *GH2-Z* são as três cópias do gene da *GH*. As setas pontilhadas indicam a sequência duplicada (adaptado de Wallis et al., 1998).

Os resultados descritos acima levaram a supor a existência de polimorfismos genéticos específicos das diferentes cópias com impacto na produção de leite. De modo a identificá-los, numa primeira abordagem em que as diferentes cópias do gene foram consideradas conjuntamente, 7 fragmentos do gene da *GH* (Fig. 3) foram amplificados por PCR (reação em cadeia da polimerase), e depois analisados por electroforese em gel de poliacrilamida de modo a encontrar polimorfismos de conformação da cadeia monocatenária (SSCP), i.e., alterações

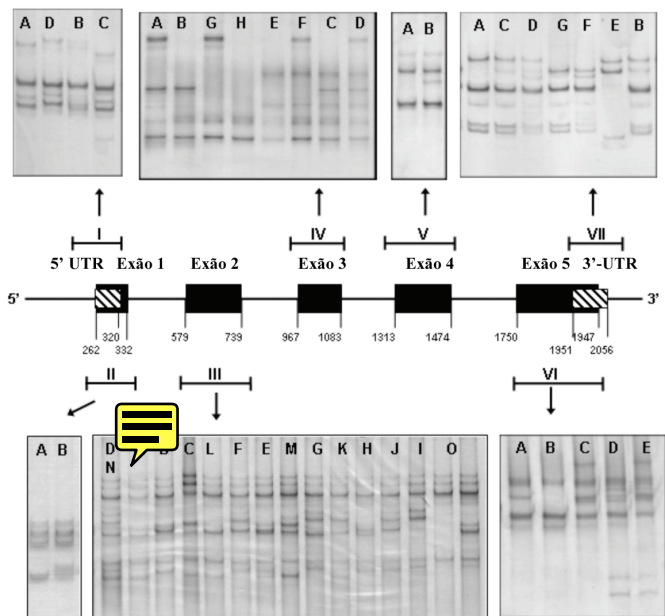
de uma ou várias bases na sequência de ADN analisada. Os primeiros SSCPs foram encontrados nas raças Churra da Terra Quente (Bastos et al., 1997, 2001), Serra da Estrela (Marques et al., 2000) e Merino da Beira Baixa (Santos et al., 2004). Verificou-se a existência de uma elevada variabilidade genética nos cinco exões e nas regiões 5' e 3' não transcritas (5' e 3'-UTR) do gene da *GH* em todas as raças estudadas, mas principalmente no exão 2 (17 padrões), no exão 3 (8 padrões) e na região 3'-UTR (7 padrões) (valores obtidos na raça Serra da Estrela; Marques, 2007; Fig. 3). Estes resultados são semelhantes aos obtidos nas raças Merino da Beira Baixa (Santos et al., 2004), enquanto na raça Saloia e Assaf o número de padrões encontrados foi menor: no exão 2 (4 e 9, respetivamente), provavelmente pelo menor número de animais analisados nestas raças (523 animais na raça Serra da Estrela *vs* 89 na Saloia e 198 na Assaf). A principal diferença entre raças relaciona-se com a ocorrência de 11 padrões no exão 5 na raça Assaf (o dobro das raças nacionais; Belo, 2004). Os resultados obtidos evidenciam a grande variabilidade genética intra (elevado n.º de padrões) e inter-racial (diferenças nas frequências dos padrões encontrados entre raças e a existência de padrões que apareceram unicamente numa raça) do gene da *GH* ovino.

Os padrões SSCP encontrados influenciam significativamente a produção de leite nas raças Serra da Estrela (exões 1, 2, 3, 4 e 5 e região 3'-UTR; Marques et al., 2003), Merino da Beira Baixa (3'-UTR; Santos et al., 2004) e Assaf (exão 1, 2 e 5; Belo, 2004), mas não na raça Saloia, possivelmente devido à grande variabilidade genética e do nível produtivo das ovelhas analisadas.

Após a obtenção de interações significativas entre padrões SSCP e a produção e qualidade do leite de ovelha, procedeu-se à caracterização dos padrões SSCP. Para isso, foram sequenciadas individualmente as cópias do gene da *GH* de ovelhas com diferentes padrões SSCP (Marques et al., 2006; Marques, 2007), o que permitiu identificar os polimorfismos responsáveis pelos padrões conformacionais nas UTRs e nos exões, assim como nas regiões intrónicas do gene da *GH*. Foram encontrados 23 polimorfismos de um único nucleótideo (SNPs) nas cópias *GH1* ou *GH2-N* e 21 na cópia *GH2-Z*, o que levou à predição de 8 variantes proteicas da *GH* nas cópias *GH2-N* (variante A presente em 91,98% das ovelhas) e de 10 na cópia *GH2-Z* (variantes mais frequentes: A – 71,89%; B – 13,29% e a E – 7,68%).

Os vários fragmentos do gene da *GH* amplificados por PCR foram analisados por electroforese em géis de poliacrilamida em condições não desnaturantes. A linha horizontal é uma representação esquemática do





**Fig. 3** Padrões SSCP dos fragmentos I (5'-UTR, exão 1), II (5'-UTR, exão 1), III (intrão 2, exão 2 e intrão 3), IV (intrão 3, exão 3 e intrão 4), 5 (intrão 4, exão 4 e intrão 5), VI (intrão 5, exão 5 e intrão 6) e VII (exão 5 e 3'-UTR) em ovelhas Serra da Estrela.

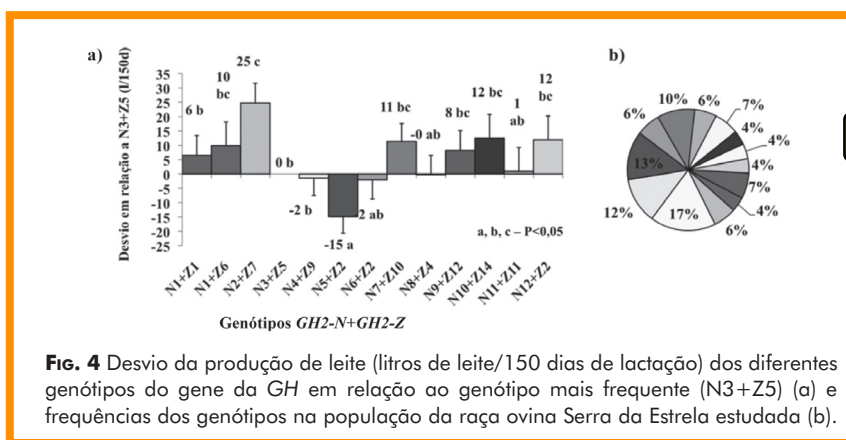
gene da *GH*. As caixas negras representam os exões e as caixas com riscas representam as UTRs. Os limites dos diferentes fragmentos estão indicados em pares de bases de acordo com as sequências publicadas (número de acesso do GenBank X12546 para os exões e 3OAR000234 para a 3'-UTR). Os diferentes padrões SSCP dentro de cada fragmento foram identificados aleatoriamente com uma letra maiúscula.

Os resultados da análise estatística revelaram a existência de associações significativas entre os polimorfismos encontrados e a produção e composição do leite (teores e produção de gordura e proteína). As ovelhas com o genótipo mais produtivo produziram mais  $39,6 \pm 7,5$  litros de leite/150 dias, com maior teor em gordura e igual teor em proteína que as ovelhas com o genótipo menos produtivo (mais 25% da produção média das ovelhas; Fig. 4).

Dos resultados obtidos na raça Serra da Estrela (Marques, 2007) concluiu-se que as cópias do gene da *GH* parecem atuar conjuntamente para modelar a produção de leite, sendo espectável, através da seleção assistida por marcadores no gene da *GH*, o aumento do nível produtivo das ovelhas, sem efeitos nefastos sobre a qualidade do leite.



Os primeiros estudos sobre o gene da *GH* caprina foram realizados na raça Serrana Transmontana (Varejão et al., 1998) e depois estenderam-se aos restantes ecótipos da raça Serrana (109 animais do ecótipo Ribatejano e 100 animais do ecótipo Jarmelista) e à raça Algarvia (97 animais) onde foram identificados diferentes padrões SSCP nos 5 exões do gene da *GH* (Malveiro, 1999; Malveiro et al., 2001; Marques et al., 2003). Os resultados da análise estatística revelaram efeitos significativos dos padrões SSCP dos exões 2 (Serrana Jarmelista), 4 (Algarvia e Serrana Ribatejana) e 5 (Algarvia) da *GH* sobre a produção de leite; dos exões 1, 4 e 5 sobre a produção de gordura na raça Algarvia; dos exões 4 e 5 sobre a produção de proteína na raça Algarvia; e dos exões 1 e 2 sobre o teor proteico na raça Serrana Ribatejana. O exão 3 de ambas as raças não apresentou qualquer efeito significativo sobre os parâmetros produtivos estudados. Os padrões observados no exão 4 foram os únicos com efeitos significativos sobre a produção de leite nas duas raças caprinas, pelo que este exão parece ser um candidato promissor para ser utilizado como marcador em programas de seleção das raças caprinas.



**Fig. 4** Desvio da produção de leite (litros de leite/150 dias de lactação) dos diferentes genótipos do gene da *GH* em relação ao genótipo mais frequente (N3+Z5) (a) e frequências dos genótipos na população da raça ovina Serra da Estrela estudada (b).

Ao contrário do que aconteceu nos ovinos, os padrões SSCP observados nas raças caprinas ainda não foram caracterizados, pelo que não se pode discernir que parte do efeito observado é devido a cada uma das cópias do gene da *GH*.

Além do gene da *GH*, outros genes do eixo somatotrófico têm sido estudados, entre eles os genes do recetor da *GH* (polimórfico na raça Merino da Beira Baixa; I. C. Santos comunicação pessoal), *Pit-1* (Churra da Terra Quente; Bastos et al., 2006) e prolactina (Ramos et al., 2009).

Procurou-se também, com sucesso, encontrar marcadores genéticos relacionados com a produção e qualidade do leite nos genes das caseínas

(Bastos et al., 2001; Bonifácio et al., 2001; Pimenta et al., 2006; Ramos et al., 2009), da  $\alpha$ -lactalbumina (Bastos et al., 2001), da  $\beta$ -lactoglobulina (Ramos et al., 2009) e da lactoferrina (Marques et al., 2008).

Especial atenção também tem sido dada a genes relacionados com a resistência a doenças como a Scrapie (gene *PrP*; Gama et al., 2006), a genes relacionados com a fertilidade das nossas raças autóctones (gene *PRNP*; Mesquita et al., 2009; Pereira et al., 2009) e ao estudo da variabilidade genética das raças autóctones portuguesas (Santos-Silva et al., 2008).

#### **4. Conclusões e Perspetivas Futuras**

A produção de alguns queijos DOP ligada às raças ovinas autóctones, como o caso do Queijo Serra da Estrela e Terrincho, só poderá expandir-se pelo aumento da produção de leite mediante o aumento do nível produtivo dos animais e/ou pelo aumento do número de animais. Os resultados desenvolvidos nas últimas décadas nas raças autóctones portuguesas sugerem que os polimorfismos do gene da *GH*, bem como os dos genes das caseínas, entre outros, poderão vir a ser utilizados na seleção assistida por marcadores genéticos, à semelhança do que já acontece com o gene *PrP*, podendo permitir o melhoramento da produção de leite sem afetar a qualidade do leite. Contudo, a resposta à seleção será sempre condicionada pela prática de um correto manejo alimentar dos animais. No sentido de avaliar o impacto do manejo alimentar das borregas durante a recria e o efeito deste no potencial leiteiro futuro de animais com diferentes genótipos *GH*, está atualmente em curso um projeto financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, cujo objetivo é a validação de polimorfismos do gene da *GH* como marcadores genéticos para produção e qualidade do leite em ovelhas Serra da Estrela.

Conjuntamente com os programas de melhoramento clássicos e a expansão da prática da inseminação artificial, a utilização destes marcadores, uma vez validados (e o baixo custo das análises favorece a aplicação desta abordagem), afigura-se como um meio de promover a produção de leite de pequenos ruminantes assente nas raças autóctones. A utilização de marcadores genéticos pelos criadores possibilita a seleção dos animais à nascença, diminuindo os custos com a recria dos reprodutores, permitindo a obtenção de um progresso genético mais rápido dos rebanhos, aumentando a rentabilidade das explorações.

## Bibliografia

- Barracosa, H.; Falaki, M.; Sneyers, M.; Massart, S.; Cravador, A.; Gomes, M.; Burny, A.; Portetelle, D.; Renaville, R. 1994. Restriction fragment length polymorphisms associated with growth hormone genes in Algarvia goat. *II Congresso Ibérico de Biotecnologia*, Vilamoura, Livro resumos, pp. 12.
- Bastos, E.; Cravador, A.; Azevedo, J.; Guedes Pinto, H. 1997. Detecção de polimorfismos conformacionais monocatenários no exão 4 do gene da hormona de crescimento (GH) com ovinos “Churra da Terra Quente”. *I Jornadas do ICETA-UTAD*, UTAD, Vila Real, Livro resumos, pp. 99.
- Bastos, E.; Cravador, A.; Azevedo, J.; Guedes-Pinto, H. 2001. Single strand conformation polymorphism (SSCP) detection in six genes in Portuguese indigenous sheep breed “Churra da Terra Quente”. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 5: 7-15.
- Bastos, E.; Santos, I.C.; Parmentier, I.; Castrillo, J.L.; Cravador, A.; Guedes-Pinto, H.; Renaville, R. 2006. Ovis aries POU1F1 gene: cloning, characterization and polymorphism analysis. *Genetica* 126: 303-314.
- Bauman, D.E.; Vernon, G. 1993. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Annual Reviews of Nutrition* 13: 437-461.
- Belo, C.C. 2004. *Promoção da gestão integrada, conservação e sustentabilidade de montados*. Relatório final do projecto E – Programa ARIPIPI, Fundação para a Ciência e Tecnologia, Lisboa.
- Bonifácio, C.; Santos, I.C.; Belo, C.C.; Cravador, A. 2001. Single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis of  $\alpha$ s1-casein, b-casein and k-casein genes in Charnequeira Portuguese indigenous goat breed. *Archivos de Zootecnia* 50: 105-111.
- de la Fuente, L.F.; Gabiña, D.; Carolino, N.; Ugarte, E. 2006. The Awassi and Assaf breeds in Spain and Portugal. *Proceedings of the 57 Annual Meeting European Association for Animal Production (EAAP)*, Antalya, Turkey.
- Etherton, T.D.; Bauman, D.E. 1998. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiological Reviews* 78: 745-761.
- FAOSTAT. 2011. *Imports/Exports: countries by commodity*. Disponível em <http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx> (acesso em: 20 março 2011).
- Gama, L.T.; Carolino, M.I.; Santos-Silva, M.F.; Pimenta, J.A.; Costa, M.S. 2006. Prion protein genetic polymorphisms and breeding strategies in Portuguese breeds of sheep. *Livestock Science* 99: 175-184.
- Gootwine, E.; Sise, J.A.; Penty, J.M.; Montgomery, G.W. 1993. The duplicated gene copy of the ovine growth hormone gene contains a PvuII polymorphism in the second intron. *Animal Genetics* 24: 319-321.
- INE. 2010. *Recenseamento geral agrícola 2009. Dados preliminares (15 dezembro 2010)*. Disponível em [www.ine.pt](http://www.ine.pt) (acesso em: 20 março 2011).
- MADR. 2007. *Leite e lactícínios. Diagnóstico sectorial*. Gabinete de Planeamento e Políticas, Lisboa, pp. 39.
- Malveiro, E. 1999. *Identificação de polimorfismos no gene da hormona de crescimento (GH) da raça caprina Algarvia. Possível associação com parâmetros produtivos*. Relatório de fim de curso, Universidade do Algarve, Faro.
- Malveiro, E.; Pereira, M.; Marques, P.X.; Santos, I.C.; Belo, C.; Renaville, R.; Cravador, A. 2001. Polymorphisms at the five exons of the growth hormone

- gene in the Algarvia goat: possible association with milk traits. *Small Ruminant Research* 41: 163-170.
- Marques, M.R. 2007. *Identification of polymorphisms and characterization of new ovine growth hormone variants associated with milk traits in "Serra da Estrela" ovine breed*. Dissertação de doutoramento, Faculdade de Engenharia e Recursos Naturais, Universidade do Algarve, Faro, 148 p.
- Marques, M.R.; Belo, A.T.; Pereira, E.A.; Martins, A.P.L.; Barata, A.; Belo, C.C. 2010. Effect of sheep breed on milk yield and composition in the geographical area of production of Nisa PDO cheese. *Options Méditerranéennes* (in press).
- Marques, M.R.; Ralha, V.M.; Belo, C.C.; Pintado, M.M.; Malcata, F.X. 2008. Effect of a SNP in the promoter region of the lactoferrin gene upon ovine milk somatic cell counts. *XXXI Conference of the International Society of Animal Genetics*, 20-24 July, Amsterdam, Netherlands, Book of abstracts.
- Marques, M.R.; Santos, I.C.; Belo, C.C.; Cravador, A. 2000. Determinação de possíveis associações entre padrões conformacionais obtidos por PCR-SSCP em três exões do gene da hormona do crescimento com parâmetros produtivos em ovelhas Serra da Estrela. *1.ª Reunião da Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais – II Congresso Ibérico Sobre Recursos Genéticos Animais*, 19-20 Outubro, EZN, Vale de Santarém, Livro resumos.
- Marques, M.R.; Santos, I.C.; Carolino, N.; Belo, C.C.; Renaville, R.; Cravador, A. 2006. Effects of genetic polymorphisms at the growth hormone gene on milk yield in Serra da Estrela sheep. *Journal of Dairy Research* 73: 394-405.
- Marques, P.X.; Pereira, M.; Marques, M.R.; Santos, I.C.; Belo, C.C.; Renaville, R.; Cravador, A. 2003. Association of milk traits with SSCP polymorphisms at the growth hormone gene in the Serrana goat. *Small Ruminant Research* 50: 177-185.
- Martins, A.P.L. 2006. *Contributo para a racionalização dos sistemas de produção de leite da área geográfica de produção do queijo de Nisa DOP: dos factores de produção à avaliação da qualidade do queijo*. Relatório final do projecto AGRO 119 inserido no Programa AGRO Medida 8.1. Desenvolvimento Experimental e Demonstração, Lisboa.
- Martins, A.P.L.; Belo, A.T.; Vasconcelos, M.M.; Fontes, A.L.; Pereira, E.A.; Belo, C.C. 2009. Characterisation of production system of Niza cheese (PDO): effect of sheep breed on milk composition and coagulation properties. *Options Méditerranéennes* A 91: 221-225.
- Mesquita, P.; Batista, M.; Marques, M.R.; Santos, I.C.; Pimenta, J.; Silva Pereira, M.; Carolino, I.; Santos Silva, F.; Oliveira Sousa, M.C.; Gama, L.T.; Fontes, C.M.; Horta, A.E.M.; Prates, J.A.M.; Pereira, R.M. 2009. Prion-like Doppel gene polymorphisms and scrapie susceptibility in Portuguese sheep breeds. *Animal Genetics* 41: 311-314.
- Pereira, R.M.; Mesquita, P.; Batista, M.; Baptista, M.C.; Barbas, J.P.; Pimenta, J.; Santos, I.C.; Marques, M.R.; Vasques, M.I.; Silva Pereira, M.; Santos Silva, F.; Oliveira Sousa, M.C.; Fontes, C.M.; Horta, A.E.M.; Prates, J.A.; Marques, C.C. 2009. Doppel gene polymorphisms in Portuguese sheep breeds: insights on ram fertility. *Animal Reproduction Science* 114, 1/3: 157-166.
- Pimenta, J.; Lopes, A.; Gama, L.; Silva, F.; Carolino, I. 2006. Detecção simultânea por método rápido de polimorfismos no gene da  $\kappa$ -caseína ( $\kappa$ -CN) caprina em raças autóctones. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 101: 269-271.

- Ramos, A.; Matos, C.; Russo-Almeida, P.; Bettencourt, C.; Matos, J.; Martins, A.; Pinheiro, C.; Rangel-Figueiredo, T. 2009. Candidate genes for milk production traits in Portuguese dairy sheep. *Small Ruminant Research* 82: 117-121.
- Santos, I.C.; Marques, M.R.; Belo, C.C.; Cravador, A. 2004. Polymorphism analysis at the growth hormone gene in "Merino da Beira Baixa" ewes. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 8: 40-41.
- Santos-Silva, F.; Ivo, R.S.; Sousa, M.C.O.; Carolino, M.I.; Ginja, C.; Gama, L.T. 2008. Assessing genetic diversity and differentiation in Portuguese coarse-wool sheep breeds with microsatellite markers. *Small Ruminant Research* 78: 32-40.
- Ugarte, E.; Ruiz, R.; Gabiña, D.; Beltrán de Heredia, D. 2001. Impact of high-yielding foreign breeds on the Spanish dairy sheep industry. *Livestock Production Science* 71: 3-10.
- Valinsky, A.; Shani, M.; Gootwine, E. 1990. Restriction fragment length polymorphism in sheep at the growth hormone locus is the result of variation in gene number. *Animal Biotechnology* 1: 135-144.
- Varejão, M.C.; Bastos, E.; Chaves, R.; Azevedo, J.; Cravador, A.; Guedes Pinto H. 1998. Single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis in the Serrana Transmontana Breed of Goats. *IV Congresso Ibérico de Biotecnologia e I Ibero-American Meeting on Biotechnology*, Guimarães, Portugal, Livro resumos, pp. 387.
- Wallis, M.; Lioupis, A.; Wallis, O.C. 1998. Duplicate growth hormone genes in sheep and goat. *Journal of Molecular Endocrinology* 21: 1-5.
- Yamano, Y.; Oyabayashi, K.; Okuno, M.; Yato, M.; Kioka, N.; Manabe, E.; Hashi, H.; Sakai, H.; Komano, T.; Utsumi, K. 1988. Cloning and sequencing of cDNA that encodes goat growth hormone. *FEBS Letters* 228: 301-304.