

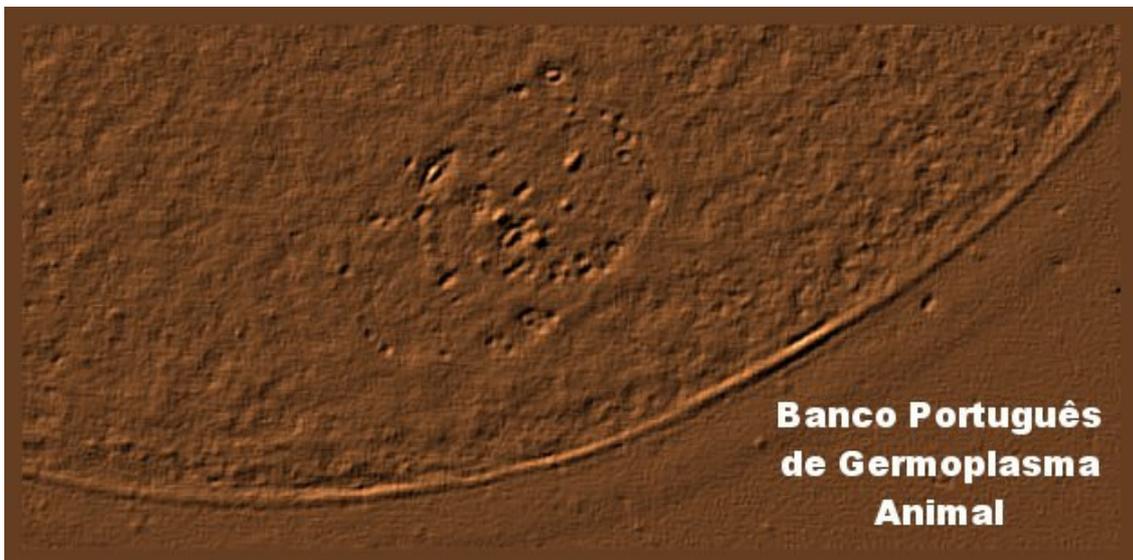


RELATÓRIO FINAL

Programa AGRO Medida 8, Acção 8.1

Projecto 438 / 2003090023163

BANCO PORTUGUÊS DE GERMOPLASMA ANIMAL



Vale de Santarém, 29 de Fevereiro de 2008

RELATÓRIO FINAL

Objectivos gerais

O presente projecto pretendeu promover um conjunto de acções sistemáticas e coordenadas visando o estabelecimento de um Banco Português de Germoplasma Animal das espécies bovina, ovina, caprina e suína, de forma a garantir:

- a caracterização da diversidade genética existente;
- a salvaguarda de material genético das raças autóctones, permitindo a sua possível recuperação no futuro;
- a manutenção da variabilidade genética intra-racial;
- a promoção, sensibilização e divulgação do património genético autóctone.

I – Identificação

Programa AGRO, Medida 8.1, Projecto 438 / 2003090023163:
“Banco Português de Germoplasma Animal”

Chefe de Projecto – ex-INIAP, ex-EZN	<i>Inv Coord António Eduardo Monteiro Horta</i>
Responsável pela participação DGV	<i>Dr António João Leitão Alegre</i>
Responsáveis pela participação da ex-DRAEDM	<i>Dr Nuno Manuel da Cunha Salvador Eng Afonso Manuel Rocha da Silva Eng^a Ana Maria Barata da Silva</i>
Responsável pela participação ex-DRAAL	<i>Doutor Carlos Manuel Varela Bettencourt</i>
Responsável pela participação UE	<i>Dra Elisa Maria Varela Bettencourt</i>

II – Período coberto pelo relatório

Este relatório apresenta as actividades desenvolvidas entre 1 de Janeiro de 2004 e 31 de Dezembro de 2007, no âmbito do referido projecto.

III – Actividades desenvolvidas por entidade participante

Entidade ex-INIAP, ex-EZN (INRB)

Objectivos desta entidade

- a) Responsabilidade na gestão administrativa e técnico-científica do projecto;
- b) Criopreservação de sémen e de embriões nas raças caprinas (Bravia, Charnequeira e Serrana) e ovinas (Churra Badana, Churra Bragançana, Churra Mirandesa, Churra do Campo, Churra da Terra Quente, Mondegueira, Bordaleira EDM, Serra da Estrela, Saloia e Merino Beira Baixa);
- c) Extração/criopreservação de ADN (em colaboração com o parceiro (2)) e sua caracterização em todos os animais;
- d) Responsabilidade na criação e manutenção da base de dados contendo toda a informação sobre o tipo, origem, local de armazenamento e identificação do material biológico criopreservado;
- f) Manutenção de animais vivos das raças de pequenos ruminantes.

a) Gestão administrativa do projecto

1. *Processo de contratação do Bolseiro Técnico de Investigação:*

Iniciou-se em *26 de Janeiro de 2004* com a proposta do júri e pedido de abertura do concurso. Pela classificação obtida, e não tendo havido reclamações por parte de nenhum dos candidatos, foi seleccionado o candidato Helder Manuel Mota Alves (Bacharel), cujo plano de trabalhos foi elaborado em *12 de Abril*. A Bolsa do Técnico de Investigação teve início efectivo a *1 de Maio* de 2004. Este técnico exerceu as suas funções até 31 de Dezembro de 2006.

2. *Assinatura do contrato do projecto:*

Depois de termos sido notificados da decisão de aprovação do Projecto em *27 de Fevereiro* no valor de 361.800 Euros, o contrato de atribuição de ajudas foi efectivamente assinado em *30 de Abril* de 2004.

3. *Solicitações de adiantamento de financiamento e de alteração orçamental:*

Em 4 de Maio de 2004 foi solicitado ao Gestor da medida 8.1, o adiantamento de 30% do montante global do projecto, correspondente a 108 540 € a distribuir na mesma proporção relativa por todas as entidades participantes. Na mesma data, foi solicitada a alteração do orçamento da entidade EZN relativamente aos recursos humanos, consistindo na transferência de verbas sobreavaliadas dos recursos humanos (início de contratação em Maio e não em Janeiro) para aquisição de bens e serviços e respectiva adequação para os anos seguintes. Em 5 de Maio, a Direcção da EZN é notificada destas alterações e informada da distribuição dos montantes relativos ao adiantamento a distribuir por cada entidade participante. Devido aos atrasos verificados no financiamento de algumas entidades (Direcções Regionais), em Setembro de 2005 foi solicitado adiamento da execução financeira do 1º ano para 31 de Março de 2006 bem como o pedido de prorrogação do final do projecto até 31 de Dezembro de 2007,

4. *Início dos Financiamentos:*

Entidade EZN – 1º adiantamento transferido em *31 de Maio de 2004*.
Financiamento regularizado.

Entidades DGV e UE – 1º adiantamento transferido durante o 2º semestre de 2004.
Financiamento regularizado

Entidades DRAEDM e DRAAL – 1º Adiantamento transferido somente no 2º semestre de 2005, por impasse administrativo na transferência das verbas.

5. *Redefinição de compromissos para viabilizar o BPGA:*

Perante um novo enquadramento do centro de IA de S. Torcato, local de colheita de sêmen e pêlos (ADN) das raças do norte, o qual foi cedido à FERA pela DRAEDM, realizou-se em Abril de 2006 na EZN, uma reunião que envolveu os responsáveis da DGV, da EZN, da DRAEDM e da FERA. Clarificou-se a

continuidade do trabalho para o BPGA não só no âmbito do presente projecto como se acordou que seriam desenvolvidos esforços para a sua manutenção e continuidade no futuro, tendo-se reconhecido ser importante que a sua gestão se mantenha com o formato organizacional proposto neste projecto tendo em atenção as previsíveis alterações orgânicas das entidades envolvidas. Assim, ficou acordado que a EZN/INIA, a DGV, e as Direcções Regionais actualmente envolvidas, constituirão o núcleo de base da organização e gestão do BPGA tal como se apresenta actualmente, não excluindo a futura integração de outras Direcções Regionais e encorajando-se a colaboração das associações de criadores. Com base nestes pressupostos, a DRAEDM estabeleceu já um protocolo de colaboração com a FERA onde, clarificando responsabilidades, se viabilizou o trabalho inicialmente proposto para o centro de S. Torcato no âmbito deste projecto.

6. *Visita de acompanhamento ao projecto:*

Em Outubro de 2006 deslocou-se à EZN um grupo de avaliadores nomeados pelo INIAP para proceder à monitorização intercalar dos trabalhos desenvolvidos até ao presente no âmbito deste projecto. Desta missão de acompanhamento resultou um relatório do grupo de avaliação onde são salientados os aspectos fortes e fracos e recomendações tidas como apropriadas. Entre estas salienta-se a necessidade de garantir suporte financeiro futuro para as acções de melhoria das condições técnicas de armazenamento do material criopreservado, da sua manutenção, da definição da organização do BPGA e regras de utilização do material criopreservado. Os peritos ficaram satisfeitos com o trabalho realizado e com as perspectivas do trabalho ainda em curso.

7. *Reuniões entre as entidades participantes*

Realizaram-se 8 reuniões semestrais com os responsáveis das entidades participantes para elaboração dos relatórios intercalares, programação das actividades e para a elaboração do presente relatório.

b) *Actividade técnico-científica*

- 1 – Foi efectuada a adequação das instalações para os pequenos ruminantes dadores de sémen e embriões para o BPGA. Foi adquirido o equipamento previsto no projecto incluindo um sistema de monitorização das temperaturas e níveis de azoto nos contentores, como sugerido pelo relatório da visita de acompanhamento.
- 2 - Foram estabelecidos contactos com os secretários técnicos das Associações das raças às quais incumbiu à EZN colher sémen e embriões, conforme os critérios estabelecidos para aquisição dos animais (ovinos: Churra Badana, Churra da Terra Quente, Churra Galega Mirandesa, Churra Galega Bragançana, Bordaleira, Merino da Beira Baixa, Mondegueira, Serra da Estrela, Saloia e Algarvia. Caprinos: Serrana, Bravia, Charnequeira e Algarvia).
- 3 – Ainda no 1º semestre de 2004, foram adquiridos 25 animais à Associação da Raça Churra da Terra Quente que, por razões sanitárias não puderam permanecer na EZN. Em consequência disso estes animais foram abatidos para consumo.

- 4 – Por informação dos secretários técnicos das raças Churra da Terra Quente, Churra Badana, Churra, Galega Bragançana e Mondegueira, não foram encontradas explorações com estatuto sanitário que permitissem ser criados na EZN, razão pela qual não foi recolhido material destas raças. Das raças Mondegueira e Churra do Campo, foi recolhido sémen a um animal de cada raça em Castelo Branco.
- 5 – Existem neste momento 167 animais vivos (92 ovinos e 75 caprinos) de um total de 213 adquiridos (20 baixas por morte e 25 animais da raça Churra da Terra Quente abatidos por razões sanitárias). Estão incluídos 3 machos e 3 fêmeas de um núcleo de caprinos explorados na serra do Montesinho, não homologados como raça (Quadro 1).
- 6 – Na EZN, desde o início das sessões de colheita de sémen em 19 de Outubro de 2004 e até ao presente, foram armazenadas em azoto líquido 4934 doses de sémen de ovino (de 39 machos) e 5946 de caprino (de 35 machos). Os resultados discriminados por espécie, raça e indivíduo encontram-se nos Quadros 2 e 3. O protocolo de congelação de sémen de ovinos e caprinos são apresentados no anexo técnico.
- 7 – *Cobrição natural*: De Outubro a Dezembro de 2007, as fêmeas ovinas e caprinas foram cobertas por machos das respectivas raças oriundos de explorações diferentes com o objectivo de aumentar o número de animais dadores no futuro.

Quadro 1. Existências de animais adquiridos pela EZN (Adquiridos com a colaboração das respectivas Associações detentoras dos livros genealógicos)

Espécie	Raça	Aquisição	Machos	Fêmeas	Total	
Caprinos	Bravia	29-07-2004	15	10	25	
		23-06-2005		3	3	
		<i>Baixas por morte</i>	4/9/04 -1 2005 -1 8/11/05 -1 30/7/06 -2 21/10/06 -1		Fev 05 -1 28/5/05 -3	-10
	Serrana	29-03-05	3	3	6	
		28-3-05		3	3	
		18-4-05	4	4	8	
		Oferta (EZN) Nasc 2005	6 1		6 1	
		<i>Baixas por morte</i>	31/3/06 -2 13/11/06 -1 9/1/07 -2		21/12/6 -1	-6
	Algarvia*	19-05-2005	14	9	23	
		Oferta 19/5/2005 DRAALG	1	1	2	
Charnequeira	04-08-2005	3	4	7		
	EZN Out 2006	4		4		
Montesinho **	29-07-2005	3	3	6		
Ovinos	Churra Galega Mirandesa	09-07-2004	12	8	20	
		<i>Morte 29-8-05</i>	-1		-1	
	Serra da Estrela	06-05-05	6	8	14	
		Oferta EZN	3		3	
		<i>Mortes: 9-11-05</i>		-1	-1	
		<i>1-04-06</i>	-1		-1	
		<i>Dez 07</i>		-1	-1	
	Saloia	Oferta EZN	4	1	5	
		<i>Mortes</i>	-1		-1	
	Churra Algarvia*		15	10	25	
Bordaleira entre o Douro e Minho	08/07/2005	7	10	17		
Merino da Beira Baixa	04-08-2005	3	2	5		
Totais adquiridos	<i>Caprinos</i>		54	37	91	
	<i>Ovinos</i>		48	49	97	
	Total		102	86	188	
Totais existentes	<i>Caprinos</i>		43	32	75	
	<i>Ovinos</i>		45	47	92	
	Total		88	79	167	

* Alojados no CEBA (DRAAL) ** Núcleo de caprinos da serra do Montesinho

Quadro 2. Sémen criopres. de ovinos

Raça / Id	Nº animais	Doses
Churra G Mir:	10	1 767
Chmi 2	1	204
Chmi 3	1	212
Chmi 4	1	29
Chmi 5	1	193
Chmi 6	1	265
Chmi 8	1	235
Chmi 9	1	258
Chmi 10	1	132
Chmi 11	1	47
Chmi 12	1	192
Saloio	2	363
Salo 1	1	263
Salo 2	1	100
Serra da Estrela	13	1 369
Sres 1	1	260
Sres 2	1	185
Sres 3	1	124
Sres 4	1	226
Sres 5	1	4
Sres 6	1	21
Sres 7	1	38
Sres 8	1	221
Sres 9	1	44
Sres 10	1	24
Sres 11	1	30
Sres 25	1	43
Sres 26	1	134
Merino Beira Baixa	5	503
Mrbb 1	1	20
Mrbb 2	1	260
Mrbb 3	1	198
Mrbb 4	1	18
Mrbb 8	1	7
Bordaleira Entre Douro e Minho	7	898
Bedm 1	1	28
Bedm 2	1	86
Bedm 3	1	231
Bedm 4	1	192
Bedm 5	1	222
Bedm 6	1	115
Bedm 7	1	24
Churra do campo	1	16
*Chcp 1	1	16
Mondegueira	1	18
*Mndg 1	1	18
Total	39	4 934

* Colheitas em Castelo Branco

Quadro 3. Sémen criopreservado de caprinos:

Raça	Nº animais	Doses
Bravia	14	2 175
Brav 1	1	188
Brav 2	1	103
Brav 3	1	131
Brav 4	1	213
Brav 5	1	139
Brav 6	1	103
Brav 7	1	219
Brav 8	1	53
Brav 9	1	203
Brav 10	1	100
Brav 11	1	204
Brav 13	1	192
Brav 14	1	152
Brav 15	1	175
Serrano	12	2 029
Serr 1	1	127
Serr 2	1	109
Serr 3	1	181
Serr 4	1	199
Serr 5	1	144
Serr 6	1	122
Serr 7	1	174
Serr 8	1	225
Serr 9	1	191
Serr 12	1	214
Serr 13	1	168
Serr 14	1	175
Charnequeiro	6	1 206
Charn 1	1	124
Charn 3	1	215
Charn 4	1	207
Charn 5	1	236
Charn 6	1	209
Charn 7	1	215
Montesinho	3	536
Mont 1	1	207
Mont 2	1	129
Mont 3	1	200
TOTAL	35	5 946

8 – *Recolha de embriões*: Em Novembro e Dezembro de 2005 foram superovuladas 7 fêmeas ovinas da raça Churra Galega Mirandesa. Obteve-se uma resposta superovulatória geralmente fraca e óocitos e embriões de qualidade duvidosa, pelo que uma nova a técnica de superovulação foi implementada no 2º semestre de 2006 (Quadro 4). Até ao presente e de acordo com os quadros 4-6 efectuaram-se tratamentos de superovulação em 7 fêmeas da raça ovina Churra Galega Mirandesa, 3 fêmeas da raça caprina Bravia e 4 fêmeas da raça Serrana. Após a recolha de embriões, foram congelados por vitrificação um total de 20, 10 e 41 embriões respectivamente para cada uma das raças (Quadros 5 e 6).

Quadro 4 – Superovulação e colheita de embriões na raça Churra Galega Mirandesa

Fêmea	Material recolhido	Embriões criopreservados
CHMI 16	4 M	4 M
CHMI 17	1 jBL	1 jBL
CHMI 18	6 Ooc	
CHMI 20	2 M + 1 BL	2 M + 1 BL
CHMI 21	1 jM + 1 M compacta	1 jM + 1 M compacta
CHMI 22	1 EB 2 CEL + 1 EB 3 CEL + 1 M + 3 Ooc	1 M
CHMI 23	5 M + 2 M COMPACTAS + 2 jBL	7 M + 2 jBl
TOTAL	31	20

Ooc - oócito; EB – embrião M – mórula; BL - blastocito

Quadro 5 – Superovulação e colheita de embriões na raça Bravia

Fêmea	Material recolhido	Embriões criopreservados
BRAV 18	2 Bl + 6 Ooc	2 Bl
BRAV 20	11 Ooc	
BRAV 21	4 Bl + 4 M + 1 Ooc	4 M + 4Bl
TOTAL	28	10

Ooc - oócito; EB – embrião M – mórula; BL - blastocito

Quadro 6 – Superovulação e colheita de embriões na raça Serrana

Fêmea	Material recolhido	Embriões criopreservados
SERR 16	4 M + 1 JbL + 7 Bl	4 M + 1 JbL + 7 Bl
SERR 17	2 M + 5 Bl + 1 jBl + 2Ooc	2 M + 5 Bl + 1 jBl
SERR 22	7 M + 4 Bl + 1Ooc	8 M + 4 Bl
SERR 25	9 M + 2 Ooc + 2 degenerados	9 M
TOTAL	47	41

Ooc - oócito; EB – embrião M – mórula; BL - blastocito

9 – *Monitorização das temperaturas nos contentores*: Conforme reportado no último relatório intercalar, estudou-se a adaptação um equipamento para monitorização da temperatura nos contentores de azoto líquido visando implementar um sistema de segurança das amostras armazenadas.

Adaptou-se uma sonda térmica à tampa do contentor, medindo a temperatura no seu interior a cerca de 15 cm da boca. A sonda é conectada a uma interface com um cartão de memória onde as temperaturas a cada minuto são registadas em ficheiro compatível com Excell. Neste registo encontra-se a data, a hora e a temperatura medida pela sonda.

Medições realizadas durante um mês permitiram confirmar que este sistema é capaz de detectar subidas de temperatura ao nível da tampa relacionadas com a diminuição dos níveis de azoto no contentor. Foi possível detectar igualmente todas as operações de abertura da tampa para manipulação do sémen ou enchimento do contentor com LN2. O sistema permitiu ainda detectar erros no encerramento da tampa devido a deficiente adaptação dos canisteres após manipulação dos mesmos. Este sistema permite estar ligado em permanência a um computador pessoal e, através de software próprio, enviar mensagens de SMS para um telefone sempre que a temperatura suba acima de valores críticos comprometendo a segurança das amostras.

Será possível ter vários contentores ligados ao mesmo software de monitorização, registo e alarme. De acordo com as sugestões feitas pelo perito da visita de acompanhamento ao projecto, deverá ser dada prioridade para a implementação de um sistema de segurança que salvaguarde a integridade das amostras criopreservadas. Para os contentores que são utilizados na EZN e noutros núcleos do BPGA, a solução estudada permitirá atingir este desiderato.

Com base nestes testes e nas orientações emanadas no relatório intercalar de acompanhamento ao projecto, o gabinete Gestor do AGRO deu a devida autorização para a aquisição deste equipamento para a EZN, que não estava inicialmente previsto.

10 – *Caracterização genética (Departamento de Genética da EZN)*:

Foram recolhidas amostras de sangue e pêlo de todo o efectivo ovino e caprino pertencente ao BPGA que se encontra até ao momento na EZN assim como dos animais situados na Herdade da Abóbada. Foram ainda incorporadas ao Banco amostras das raças Merino Branco (6), Mondegueira (3) e “Churra do Campo” (4).

A extracção e avaliação quantitativa e qualitativa de DNA está completa para todas as amostras existentes até ao momento. De cada amostra foi retirada uma aliquota com um volume de cerca 100 microlitros e desta foi ainda preparada uma aliquota de trabalho. As duas réplicas estão armazenadas separadamente em caixas de esferovite e congeladas em dois laboratórios diferentes da EZN. Todas as caixas estão já catalogadas com identificação exterior do conteúdo. Preparou-se também um índice com a identificação de todo o material e indicação da sua localização.

Neste momento já se procedeu à amplificação de 11 loci microsatélite para todos os animais das raças caprinas Serrana, Serpentina, Bravia, Montesinho, e ovinas Merino da Beira Baixa, Saloia, Charnequeira, Merino Preto, Bordaleira, Churra

Algarvia e Churra Mirandesa. Estão já optimizadas mais dois conjuntos de 7 microssatélites que se preve analisar durante este semestre.

Amostras para genotipagem dos seguintes animais (sangue e pêlo):

Espécie	Raça	Localização	Machos	Femêas
Ovinos	Saloia	EZN	2	
“	Serra da Estrela	EZN	10	7
“	Bordaleira de Entre e Minho	“	7	10
“	Merino da Beira Baixa	“	9	2
“	Churra Galega Mirandesa	“	12	8
“	Merino Preto	Herdade da Abóbada	7	12
“	Churra Algarvia	Herdade da Abóbada	15	9
	Merino Branco		6	
	Mondegueira		3	
	Churra do Campo		4	
Caprinos	Bravia	EZN “	13	9
	Serrana	EZN “	12	10
	Montesinho	EZN “	3	3
	Charnequeira	EZN “	3	3
	Serpentinas	Herdade da Abóbada	11	12
	Algarvias	Herdade da Abóbada	15	10
		Total	120	95

11 - Relativamente a missões, o projecto suportou a inscrição de 3 técnicos da equipa da EZN no 15th International Congress of Animal Reproduction, que teve lugar em Porto Seguro-Brasil, de 8 a 12 de Agosto de 2004. Foram pagas parte das despesas, por haver interesse óbvio na actualização de conhecimentos com utilidade ao desenvolvimento das acções programadas. Cada um destes técnicos apresentou um trabalho efectuado no âmbito de outros projectos mas cujos resultados se relacionam com as técnicas que irão ser utilizadas no AGRO 438.

12 - Foram efectuadas reuniões a 1-Julho de 2004, 26 de Janeiro de 2005, 30 de Junho de 2005, 26 de Janeiro de 2006, 3 de Julho de 2006, 30 de Janeiro de 2007, 6 de Julho de 2007 e 21 de Fevereiro de 2008, com todas as entidades participantes, para informação sobre as actividades desenvolvidas, preparação dos relatórios e programação das actividades futuras. A reunião de 30 de Janeiro de 2007 foi efectuada nas instalações do pólo do BPGA em Braga, tendo-se aproveitado para todos os parceiros conhecerem as novas instalações que servirão para o armazenamento do material criopreservado neste pólo.

13 – *Acções de divulgação*: Houve uma acção de apresentação, promoção e esclarecimento dos objectivos do BPGA junto do público e criadores de pequenos ruminantes, durante a 41ª Feira Nacional de Agricultura em Santarém (7 de Junho-2004). Consistiu numa palestra proferida pelo responsável do projecto (António Horta) integrada no “Colóquio – Pequenos ruminantes em Portugal – Recursos genéticos a preservar” (cópia da apresentação constante no 1º relatório de progresso). Neste colóquio participaram igualmente outros elementos da equipa, abordando aspectos que se relacionam com matérias de interesse para o próprio projecto (EZN - Ramiro Mascarenhas e Nuno Carolino, UE - Elisa Bettencourt e DRAAL - Carlos Bettencourt). O programa pode ser consultado em: <http://www.ovinosecaprinos.com/programa.html>

- Foram apresentados vários trabalhos com interesse para a tecnologia utilizada neste projecto a eventos científicos realizados em Setembro e Outubro de 2005 (Congresso da ESDAR em Múrcia-Espanha, International Symposium on Comparative Advantages for Typical Animal Products from the Mediterranean Áreas - EZN, FEZ, FAO, CIHEAM; Congresso de Ciências Veterinárias – SPCV) cujos trabalhos foram apresentados em anexo no 4º relatório de progresso.
- Submeteram-se trabalhos ao congresso da ESDAR / Set 2006 / Eslovénia, os quais foram aceites pela respectiva comissão científica. Para a apresentação destes trabalhos, que foram realizados em colaboração com outros projectos em curso no Departamento de Reprodução da EZN, o presente projecto financiou a viagem da Doutora Sandra Cavaco Gonçalves e a inscrição do Doutor Pedro Barbas (a apresentação dos títulos destas e outras publicações, em anexo ao 5º relatório tendo sido enviados os trabalhos no mês de Setembro de 2006).
- A 8 de Junho de 2007 foi realizada uma acção de divulgação na Feira Nacional de Agricultura – CNEMA - Santarém, integrada no seminário promovido pela EZN: “Produção animal sustentável – Contributo da EZN”, com as seguintes apresentações: AEM Horta “Banco Português de Germoplasma Animal”; JP Barbas “Conservação de sémen (BPGA)”; RNL Pereira “Conservação de embriões (BPGA)”.
- As publicações são descritas em anexo.

14 - Como acção de promoção e divulgação, foi criada uma página Web onde constam os objectivos do projecto e onde serão incluídas informações pertinentes sobre o mesmo: <http://horta.0catch.com/bpga/>

Entidade DGV-DSRA

Objectivos desta entidade:

- a) Criopreservação de sémen em todas as raças bovinas, colaborando com o parceiro DRAEDM nas raças bovinas do norte (Barrosã, Cachena, Minhota, Mirandesa, Maronesa, Arouquesa) e com os parceiros DRAAL e UE na raça Alentejana, Mertolenga e Garvonesa;
- b) Criopreservação de embriões nas raças Cachena e Garvonesa em colaboração com os parceiros DRAEDM, DRAAL e UE;
- c) Colaboração com os parceiros EZN, DRAAL e UE na criopreservação de sémen e embriões de ovinos e caprinos;
- d) Recolha de pelos/sangue nos machos bovinos em que colheram sémen;
- e) Extracção/criopreservação de ADN (em colaboração com o parceiro EZN) de todos os bovinos.

Trabalho efectuado

Desde o primeiro semestre de 2004 que o processo de criopreservação de sémen de bovinos das raças autóctones destinado ao Projecto, foi desenvolvido com inteira colaboração das Associações de Criadores que são gestoras dos Livros Genealógicos.

A escolha de animais para colheita de sémen foi da responsabilidade do Secretário Técnico do Livro, segundo os critérios do valor genético com base no regulamento do LG, respeitando o mais possível a diversidade genética.

Acolheita e o processamento do sémen até à congelação foi efectuada quer em Centro de Colheita de Sémen (CCS), quer em exploração.

Os animais foram submetidos a avaliação sanitária com análises serológicas em laboratório de referência (L.N.I.V.) antes da colheita de sémen. ou em caso de impossibilidade, era efectuada colheita de sangue no dia da colheita de sémen. Em caso de não conformidade com o plano sanitário previamente proposto, o lote de sémen era destruído.

Os procedimentos de avaliação de qualidade do sémen bem como o protocolo de diluição-congelação foram os utilizados pelo CCS da DGV-DSRA, para o sémen destinado a distribuir em programas de melhoramento genético das raças bovinas.

A identificação do sémen, contido em palhinhas de 0,25 cc, foi feita por gravação com equipamento de jacto de tinta, reconhecido desde há longo tempo de grande resistência ao processo de congelação a temperatura de 196° negativos em azoto líquido.

A identificação é alfanumérica, permitindo dos seguintes dados: Nome do touro, Raça, Nº de identificação oficial (SNIRB), Data da colheita, Código do CCS e País.

Os registos bem como toda a informação sobre qualquer animal, incluindo os registos genealógicos, encontram-se em ficheiros informáticos.

A recolha e congelação de sémen que consta do Quadro 1, foi feita quase totalmente pelo grupo de trabalho da DGV-DSRA em colaboração com as entidades participantes do Projecto: ex.DRAEDM e ex.DRAAL, que enfrentaram algumas dificuldades logísticas no decurso do Projecto.

RESULTADOS DO PROJECTO AGRO 438-BPGA (Sémen de Bovinos Autóctones)

Quadro 1 - Apresentação por raça, nº de animais e nº de doses congeladas

RAÇAS	ANO 2004		ANO 2005		ANO 2006		ANO 2007		TOTAL PROJECTO	
	Total		Total		Total		Total		ANIMAIS	SÉMEN
	Anim.	Sémen	Anim.	Sémen	Anim.	Sémen	Anim.	Sémen		
Alentejana 2	7	1.853	10	3.078	3	512	2	400	22	5.843
Arouquesa 1	7	2.595	-		-		10	1.925	17	4.520
Barrosã 1	-		14	4.044	6	1.200	3	368	23	5.612
Cachena 1	-		7	1.575	-		12	2.644	19	4.219
Garvonesa 2	-		4	1.093	5	940	-		9	2.033
Marinhoa 1	-		-		-		-			
Maronesa 1	-		-		6	1.325	12	2.328	18	3.653
Mertolenga 2	8	2.046	8	2.116	10	1.960	3	600	29	6.722
Minhota 1	2	560	-		8	2.127	8	1.676	18	4.363
Mirandesa 1	3	838	1	318	-		-		4	1.156
Preta 2	10	2.403	5	891	-		4	924	19	4.212
TOTAL	37	10.295	49	13.115	38	8.064	54	10.865	178	42.339

Nota: Alguns animais das raças assinalados com:

- (1) em colaboração com a ex-DRAEDM
- (2) em colaboração com a ex-DRAAL.

Quadro 2 - Doses armazenadas anteriormente ao Projecto, passíveis de integrar o BPGA

RAÇAS	Número de animais	Total de doses de sémen
Alentejana	8	2.556
Arouquesa	5	1.933
Barrosã	16	4.689
Cachena	0	0
Garvonesa	0	0
Marinhoa	0	0
Maronesa	0	0
Mertolenga	1	25
Minhota	7	2.874
Mirandesa	14	2.576
Preta	9	2.417
TOTAL	60	17.070

LABORATÓRIO DE GENÉTICA (DGV - DSRA)

RAÇAS	Sangue e Pêlos	Só Pêlos	Só Sangue	TOTAL
Alentejana	21	7	2	30
Algarvia	4			4
Arouquesa	7			7
Barrosã	17	1	8	26
Cachena	5	2		7
Garvonesa	9		5	14
Marinhoa				
Maronesa	2	2	5	9
Mertolenga	30	6	5	41
Minhota	12	6		18
Mirandesa	3	1		4
Preta	4	4		8
TOTAL	114	29	25	168

As amostras de pelo e sangue destes animais estão colhidas, identificadas e crioconservadas. A extração de DNA está a ser realizada de acordo com os mesmos procedimentos da EZN.

Entidade ex-DRAEDM, DRAP-NORTE

Objectivos desta entidade

- a) Criopreservação de sémen em colaboração com o parceiro DGV nas raças bovinas do Norte (Barrosã, Cachena, Minhota, Mirandesa, Maronesa, Arouquesa);
- b) Criopreservação de embriões da raça Cachena em colaboração com o parceiro DGV;
- c) Biópsias de pele e recolha de pelos nos machos bovinos em que colhem sémen (com a DGV);
- d) Manutenção de machos suínos da raça Bísaro.

Até ao primeiro semestre de 2006, a participação da ex. DRAEDM neste projecto foi condicionada pela indisponibilidade dos recursos financeiros previstos ao abrigo deste projecto. As acções desenvolvidas consubstanciaram-se no seguinte:

- Identificação dos bovinos a submeter a colheita de sémen para o BPGA.
- Colaboração com a DGV nas colheitas de sémen a animais das raças Cachena, Barrosã, Minhota e Mirandesa.
- Participação numa acção de divulgação (SPREGA, Ponte de Lima) com a presença de dois elementos da equipa: “Caracterização espermática de touros das raças Barrosão e Maronês. Algumas relações com as biometrias e crescimento”. 2ª Reunião da Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais - IV Congresso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animais - Ponte de Lima 15, 16 e 17 de Setembro de 2004 (anexo II do 2º relatório intercalar).
- Celebração de um protocolo de prestação de serviços entre a ex. DRAEDM e a FERA, uma vez que o MAPF cedeu à FERA, sob a forma de contrato do comodato e por um período de dez anos, nos termos do disposto na alínea b) do nº 2 e do nº3 do artigo decimo primeiro e no artigo decimo terceiro, ambas da lei Orgânica do Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e das Pescas (hoje Ministério da Agricultura, Pescas e Florestas) republicada em anexo ao Decreto-Lei nº 246/2002, de 8 de Novembro, as referidas instalações, a exploração agrícola anexa e os respectivos equipamentos. Este acordo de prestação de serviços, tem 3 anos de validade de acordo com o período de execução do projecto e visa, de uma forma coerente e integrada, garantir a conservação ex-situ, estabelecendo um pólo do Banco Português de Germoplasma Animal.
- Criopreservação de sémen, em colaboração da DGV, de animais das raças bovinas do Norte (Barrosã, Cachena, Minhota, Mirandesa, Maronesa, Arouquesa);
- Manutenção de machos suínos da raça Bísaro.

A partir do 2º semestre de 2006 foi possível, por transferência interna, vir a contar com a colaboração de dois colegas da ex-DRAEDM, para a implementação do pólo do BPGA.

Na continuação do projecto AGRO 438 e em complementaridade com o projecto INTEREG III A “Conservação, Recuperação e Melhoria dos Recursos das Espécies Pecuárias da Zona Transfronteiriça” (CRMZ), procedemos à adaptação de uma parte do edifício do Banco Português de Germoplasma Vegetal (BPGV), com o objectivo de

criar condições para o funcionamento de um pólo do Banco Português de Germoplasma Animal, para o que foram desenvolvidas diversas acções:

1. Melhoria do sistema de segurança, relacionado com a monitorização do nível de oxigénio na atmosfera e com o sistema de extracção de ar;
2. Melhoria do sistema de segurança de todo o edifício;
3. Acção de formação sobre o manuseamento de azoto líquido;
4. Apetrechamento deste pólo do BPGA com vários equipamentos, dos quais realçamos:
 - a. Contentores de azoto líquido e respectivos acessórios (alarme e base rolante);
 - b. Câmara de fluxo laminar;
 - c. Termoacumulador;
 - d. Lupa microscópica;
 - e. Sistema de aquecimento para lupa e microscópio;
 - f. Impressora de código de barras;
 - g. Leitores de códigos de barras.
5. Acção de formação na Xenética Fontao (Lugo-Espanha), com vista a garantir a melhoria das competências dos técnicos afectos a este pólo do BPGA.
6. Implementação de um sistema de identificação e gestão do material genético conservado através de etiquetas de código de barras.

Foi criada uma aplicação informática para gerir o fluxo de amostras de material genético a conservar neste pólo do BPGA e permitir uma leitura integrada de toda a informação disponível sobre os recursos genéticos animais. A informação incorporada foi obtida no âmbito deste projecto, sendo também complementada por dados resultantes do projecto INTEREG IIIA (CRMZR) e pela base de dados da AMIBA.

Pretendemos ainda organizar uma acção de demonstração sobre a utilização de etiquetas de códigos de barras na identificação, registo e gestão do material genético conservado, para o que pretendemos convidar os parceiros do projecto, a FERA e associações de criadores de bovinos da região norte.

De referir que neste momento as condições de conservação ex-situ instaladas no edifício do BPGV permitem dar o devido seguimento aos objectivos propostos neste projecto. (fotos em <http://picasaweb.google.com/pacheco.filipe/BancoDeGermoplasmaAnimal>)

Criopreservação de sémen em colaboração da DGV das raças bovinas do Norte

Os resultados referentes ao sémen congelado para as raças bovinas do Norte encontram-se indicados nos quadros apresentados pela entidade DGV.

Os resultados gerais obtidos com este projecto consubstanciam-se, essencialmente, numa estrutura criada, o pólo do BPGA em Merlim-Braga, bem como na consolidação de um processo de trabalho em conjunto com a FERA e as Associações de Criadores, testemunhando o interesse colectivo na conservação dos recursos genéticos animais.

Sinopse das actividades previstas e realizadas pela ex-DRAEDM

Previsto	Execução
a) Criopreservação de sémen em colaboração com o parceiro DGV nas raças bovinas do Norte (Barrosã, Cachena, Maronesa, Minhota, Mirandesa, Arouquesa);	Executado (ver em baixo), com base no protocolo estabelecido entre a FERA e a DRAEDM,
b) Criopreservação de embriões da raça Cachena em colaboração com o parceiro DGV;	Não executado devido aos cortes do financiamento inicialmente solicitado pelo projecto.
c) Biópsias de pele e recolha de pelos nos machos bovinos em que colheram sémen;	Executado (DGV)
d) Manutenção de machos da raça Bísaro.	Executado.

Previsto	Execução
<p><i>“No âmbito deste projecto pretende-se fazer a colheita de 200 doses de sémen a 20 touros da raça Maronesa, 20 touros da raça Mirandesa, 10 touros da raça Barrosão, 10 touros da raça Cachena, 10 touros da raça Minhota, do Norte de Portugal, num total de 20.000 amostras, isto é 14.000 mini-palhinhas de sémen. Além da colheita vai fazer-se o seu processamento, embalagem e armazenamento”.</i></p>	<p>De Dezembro de 2006 a Novembro de 2007, foram realizadas no Centro de Inseminação Artificial de Bovinos de S. Torcato 120 colheitas de sémen, com o apoio técnico-científico da DGV, das quais resultaram 34.514 doses de sémen de touros das raças Arouquesa, Barrosã, Cachena, Maronesa e Minhota (Quadro 1 e 2). Este processo, contemplou o despiste prévio das doenças de pesquisa obrigatória, treino dos touros, colheita, processamento e embalagem de sémen (palhinhas de 0,25cc).</p> <p>No 1º Semestre de 2005, a DGV (DSRA) efectuou colheitas de sémen em 5 touros da raça Barrosã, 1 da Mirandesa e 1 da Cachena (519, 318 e 300 doses, respectivamente). Relativamente ao previsto, ultrapassou-se o nº de doses de sémen bem como o nº de animais da raça Cachena sujeitos a colheita. Porém, não foi possível realizar colheita de sémen em animais da raça Mirandesa. Em contrapartida, foram obtidas 6.947 doses de sémen de touros da raça Arouquesa. Finalmente, não foi possível por em prática o armazenamento, porque o material genético se encontra ainda armazenado pela DGV.</p>

Entidades ex-DRAAL, DRAPAL e
Universidade de Évora (UE)

Objectivos da entidade DRAAL

- a) Criopreservação de sémen e embriões nas raças ovinas (Churra Algarvia, Campaniça, Merino Branco e Merino Preto) e caprinas (Serpentina e Algarvia), em colaboração com os parceiros EZN e UE;
- b) Criopreservação de sémen das raças bovinas Alentejana, Mertolenga e Garvonesa, em colaboração com os parceiros DGV e UE;
- c) Criopreservação de embriões da raça Garvonesa em colaboração com os parceiros DGV e UE;
- d) Criopreservação de sémen em suínos (Alentejano e Bísaro) em colaboração com o parceiro UE;
- e) Colheita de pêlos/sangue nos machos e fêmeas das raças em que intervierem.

Objectivos da entidade UE

- a) Criopreservação de sémen e embriões das raças ovinas (Churra Algarvia, Campaniça, Merino Branco e Merino Preto) e caprinas (Serpentina e Algarvia), em colaboração com os parceiros EZN e DRAAL;
- b) Criopreservação de sémen das raças bovinas Alentejana, Mertolenga e Garvonesa, em colaboração com os parceiros DGV e DRAAL;
- c) Criopreservação de embriões da raça Garvonesa em colaboração com os parceiros DGV e DRAAL;
- d) Criopreservação de sémen em suínos (Alentejano e Bísaro) em colaboração com o parceiro DRAAL;
- e) Colheita de pêlos/sangue nos machos e fêmeas das raças em que intervierem;

Nota introdutória:

Na medida em que todas as actividades desenvolvidas foram executadas em parceria com a entidade UE, o relatório final será apresentado em conjunto.

A reduzida taxa de execução do projecto deste último ano, no qual estava previsto atingir os objectivos propostos, prende-se com dificuldades de ordem administrativa da DRAPAL, nomeadamente a passagem ao quadro de mobilidade de pessoal e dificuldades de tesouraria. A redução do quadro de pessoal da DRAPAL interferiu assim directamente com o trabalho prático a desenvolver, nomeadamente por condicionar o treino dos animais para colheita de sémen e a própria manutenção dos animais no Centro de Testagem e recolha de sémen e embriões.

As graves dificuldades de tesouraria da DRAPAL impossibilitaram também seriamente a aquisição de material, indispensável para o funcionamento em conjunto das duas entidades, nomeadamente no que concerne a aquisição do congelador de embriões bem como os produtos hormonais, indispensáveis para realização dos tratamentos de superovulação (FSH), os quais foram maioritariamente adquiridos com o orçamento da UE. Além disso torna-se importante de referir que, da equipa de técnicos e investigadores inicialmente proposta para executar as tarefas destas duas instituições,

apenas se mantiveram 3 elementos, já que dois dos técnicos da DRAPAL deixaram de exercer funções nesta instituição.

No último trimestre de 2007 procedeu-se à aquisição de material com vista à execução de novos tratamentos de superovulação e congelação de sémen o qual deverá ser utilizado no decorrer do primeiro semestre de 2008, visando a criopreservação de sémen e embriões das raças em falta.

Execução Financeira:

A taxa de execução financeira da ex-DRAAL foi bastante reduzida por dificuldades de tesouraria desta instituição e pelos atrasos ao financiamento devido a problemas de ordem administrativa.

A Universidade de Évora executou dentro do previsto todas as despesas orçamentadas.

Assim, de acordo com as limitações referidas foi possível executar apenas parte dos objectivos propostos, os quais são apresentados seguidamente.

Criopreservação de sémen

No referente às raças ovinas foi criopreservado sémen de 16 machos da raça Merina Preta, num total de 2133 doses e de 19 machos da raça Merina Branca, num total de 1351 doses (Tabela 1).

Nas raças caprinas apenas foi criopreservado sémen da raça Serpentina. A não criopreservação de sémen da raça Campaniça, deveu-se ao facto de, encontrando-se os animais na Herdade de Vale Formoso, onde não existem condições para se efectuar o processamento e criopreservação de sémen, não ter sido possível de serem transportados e mantidos no Centro de Recolha na Herdade da Abobada, pelas razões acima expostas.

Aos carneiros da raça Churra e bodes da raça Algarvia, apesar das dificuldades inerentes ao seu treino, nomeadamente por terem sido adquiridos animais jovens muito pouco manuseados anteriormente à sua entrada no Centro, foram efectuadas, conforme descrito em relatório anterior algumas colheitas na época de Primavera. Dada a grande falta de líbido dos animais nessa época e a reduzida qualidade do sémen obtido, não foram criopreservadas estas amostras, tendo-se optado por o fazer no segundo semestre de 2007, acção inviabilizada pelo exposto anteriormente.

Para a criopreservação de sémen de suíno estava prevista a vinda de um técnico de da Universidades de Múrcia, a qual não foi possível pelas restrições financeiras descritas

TABELA 1. TOTAL DE DOSES DE SÉMEN CRIOPRESERVADO DE OVINO E CAPRINO

RAÇA	N.º DE MACHOS	N.º TOTAL DE DOSES
Merina Preta	16	2 133
Merina Branca	19	1 351
Campaniça	1	33
Serpentina	16	691
TOTAL	52	4 208

Criopreservação de embriões

No referente à criopreservação de embriões foram efectuadas várias sessões de superovulação nas diferentes raças. A grande variabilidade da resposta superovulatória que se sabe existir em pequenos ruminantes e a existência de falhas de fertilização impossibilitou a obtenção do número desejado de embriões em cada raça.

Este facto foi sobretudo evidente na raça Churra Algarvia, da qual, apesar se terem realizado duas sessões de superovulação (2 grupos de 10 animais) não foi possível criopreservar nenhum embrião. Também as cabras de raça Algarvia apresentaram uma baixa resposta superovulatória e elevadas falhas de fertilização, sendo que dos 10 animais superovulados em duas sessões, apenas cerca de 50% apresentaram resposta superovulatória.

Pelas razões expostas anteriormente não foi possível criopreservar embriões das raças Campaniça e Merina Branca. Os embriões criopreservados de cada raça encontram-se discriminados na Tabela 2.

Assim foram criopreservados 161 embriões da raça Merina Preta, de 29 dadoras; 41 embriões da raça ovina Algarvia, 7 dadoras; 93 embriões da raça Serpentina, 14 dadoras.

TABELA 2: TOTAL DE EMBRIÕES CRIOPRESERVADOS DE OVINO E CAPRINO

RAÇA	N.º DE FÊMEAS	N.º TOTAL DE EMBRIÕES
Merina Preta	29	161
Ovina Algarvia	7	41
Serpentina	14	93
TOTAL	50	295

Estágios realizados

No decorrer do Projecto realizaram-se vários estágios finais da Licenciatura em Medicina Veterinária, os quais se encontram discriminados seguidamente.

- Criopreservação de sémen e embriões em caprinos de raça Serpentina. João Caseiro; Universidade de Évora, 2007
- Criopreservação de sémen de ovino. Ema Roque; Universidade de Évora, 2007
- Transferência embrionária. Patrícia Martins; Universidade de Évora, 2006
- Comparação de índices reprodutivos em duas épocas (Primavera/Outono) em ovelhas da raça Merina Preta superovuladas. Catarina Manito; Universidade de Évora, 2005
- Superovulação em ovinos da raça Merina Preta. Sónia Fernandes; Universidade de Évora, 2005
- Avaliação de machos. André Preto; Universidade de Évora, 2004

Accões de divulgação, trabalhos publicados e apresentados em comunicação oral pelas duas entidades

Bettencourt EMV, Bettencourt CMV, Chagas e Silva JN, Ferreira P, Matos CP, Romão RJ, Rocha A (2008). Pregnancy, lambing and embryo survival rates after transfer of Portuguese Black Merino embryos cryopreserved with three different protocols. Submetido à revista Small Ruminant Research em Janeiro de 2008.

Bettencourt EM, Bettencourt CM, Chagas e Silva J, Ferreira P, Manito CI, Matos CM, Romão RJ, Rocha A (2008) Effect of season and gonadotrophin preparation on superovulatory response and embryo quality in Portuguese Black Merinos Small Ruminant Research; 74: 134-139

Bettencourt EM (2007). Criopreservação de embriões de ruminantes. Comunicação oral apresentada no VI Simpósio da Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal 16, 17 e 18 de Março Évora. Livro de comunicações pp 40-50.

Bettencourt EM, Bettencourt CM, Silva NC, Ferreira P, Manito CI, Matos CM, Romão R, Rocha A (2006). Superovulatory response of Portuguese black merino ewes varies with FSH source, but not with season. *Reproduction in Domestic Animals* 41 (4): 310-310 Agosto 2006

Bettencourt EM, Bettencourt CM, Matos CM, Romão RJ, Manito CI (2004) Ovulação múltipla e transferência embrionária em ovinos da raça Merina Preta. 2ª Reunião da Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais, IV Congresso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animais. pp 45-46.

Bettencourt EMV, Bettencourt CMV (2004). Aplicação de tecnologias reprodutivas em programas de conservação e melhoramento genético. Encontro organizado pela Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia e Caprinotecnia, FERIA Nacional da Agricultura, Santarém (Palestra não publicada)

Bettencourt CMVB, Horta AEM, Leitão Alegre AJ, Salvador NMC, Bettencourt EMV, Matos CAP, Gama, L.T. (2003). Banco Português de Germoplasma Animal. Resumo de Comunicação. VI Congresso Iberoamericano de Razas Criollas y Autóctonas. Recife Brasil.

Bettencourt CMV, Bettencourt EMV, Romão RP, Matos CAP (2003). Parâmetros Reprodutivos da Raça Ovina Merina Branca. Resumo de Comunicação. VI Congresso Iberoamericano de Razas Criollas y Autóctonas, Recife Brasil.

IV - Metas alcançadas e desvios em relação à programação

Entidade	Execução (%) (a)	Execução financeira em 31 de Dez de 2008 (b)		
		Despesa Euros	Taxa de execução (%)	Justificação (c)
EZN	> 75	188 750,60	99,9	
DGV	> 75	*31 048,44	59,7	3-4
ex-DRAEDM	> 75	51 222,00	98,5	3-4-5
ex-DRAAL	> 50 <75	*11.665,37	23,83	3-4-5-6
UE	> 75	19 836,58	100	3-4

- a) Taxa de execução das actividades previstas
- b) Despesas realizadas e comprometidas. A taxa de execução refere-se ao montante global do orçamento da entidade. *valores de Julho de 2007, por indisponibilidade dos de 31 de Dezembro de 2008 até este momento (contas ainda não encerradas).
- c) 3 e 4 (razões burocrático-administrativas e externas ao projecto): prendem-se com o atraso da assinatura do contrato, relativamente ao previsto; 5 – Financiamento só disponibilizado no 2º semestre de 2005 por impasse administrativo na transferência das verbas do INIAP para as entidades referidas. Atraso na realização do orçamento do 1º ano, embora adiado até 31-Mar-06. 6 – Execução financeira nula no 1º semestre de 2007 por dificuldades de tesouraria desta instituição.

- Atrasos na aquisição de pequenos ruminantes devido às exigências sanitárias decorrentes da brucelose e do surto de língua azul, impossibilitando algumas acções previstas nas entidades UE, DRAAL, DGV e EZN. Embora com o atraso inerente à assinatura do contrato, a entidade EZN cumpriu satisfatoriamente os objectivos a que se tinha proposto, sendo unicamente prejudicada a aquisição de animais por imperativos sanitários.
- A DGV e a UE receberam o primeiro adiantamento já no decurso do 2º semestre do 1º ano originando atrasos equivalentes na execução do projecto. A DGV conseguiu processar as colheitas e congelação de sémen em elevado nº de doses e equivalente amostragem para extracção de DNA, ultrapassando os objectivos em muitos animais.
- Devido à falta de financiamento que só esteve disponível no 2º semestre de 2005, a ex-DRAEDM e ex-DRAAL sofreram atrasos significativos no trabalho que estava programado. No caso da DRAAL, tem sido possível aproveitar algum material (sémen e embriões) recolhido no âmbito de outro projecto AGRO 78 e que passarão a integrar o Banco Português de Germoplasma Animal, como inicialmente previsto. Por seu lado a DRAEDM tem cooperado na medida do possível com a DGV no que respeita à acção conjunta para as raças bovinas do norte do País inicialmente programada. Apesar da resolução do impasse administrativo durante o 2º semestre de 2005 para o financiamento das entidades referidas, o adiamento até 31 de Março de 2006 para a execução financeira do 1º ano e o adiamento por um ano para o término do projecto, não se revelou suficiente para estas entidades recuperarem o tempo perdido.
- Em relação ao prazo concedido para a execução do orçamento do primeiro ano das entidades DRAAL e DRAEDM, verificou-se um atraso na apresentação das despesas relativamente ao prazo concedido (31 de Março de 2006), facto devido à descapitalização destas entidades pela tardia devolução de saldos do ano transacto que não puderam assim realizar os pagamentos atempadamente.

- Salienta-se o constrangimento financeiro para as instituições DRAAL, DRAEDM e DGV durante o 2º semestre de 2006, pelo facto de não terem sido efectuados atempadamente os pagamentos relativos aos recapitulativos apresentados.
- A taxa de execução financeira da DRAPAL durante o 1º semestre de 2007 foi nula por dificuldades de tesouraria desta instituição.

V - Equipa Participante:

Nome	Instituição	Categoria
António Eduardo Monteiro Horta	INIAP/EZN	Inv Coord
Ramiro Doutel Mascarenhas	INIAP/EZN	Inv Princ
Luís Lavadinho Telo da Gama	INIAP/EZN	Inv Princ
Maria Irene Avelar Morgado Rios Vasques	INIAP/EZN	Inv Aux
Carla Maria Ferreira Cruz Varanda Marques	INIAP/EZN	Inv Aux
João Pedro de Sousa Santa-Clara Barbas	INIAP/EZN	Inv Aux
Rosa Maria Lino Neto Pereira	INIAP/EZN	Inv Aux
Mª Conceição Grave de Sousa Cabral Baptista	INIAP/EZN	Inv Aux
Sandra Cristina Pires dos Santos Cavaco Gonçalves	INIAP/EZN	Ass Inv
Renato Nuno Pimentel Carolino	INIAP/EZN	Ass Inv
João Maria Baptista Borges Nobre	INIAP/EZN	Tec Sup
Mª de Fátima Marquez Madeira Santos Silva	INIAP/EZN	Tec Sup
Jorge Manuel Botelho Garcia Andrade Pimenta	INIAP/EZN	Tec Sup
Maria Inês Alves Carvalho Martins Carolino	INIAP/EZN	Tec Sup
Helder Manuel Mota Alves (Bolseiro)	INIAP/EZN	Bolseiro (Bacharel)
António João Leitão Alegre	DGV	Tec Sup Princ
João Nestor das Chagas e Silva	DGV	Assessor
Maria da Conceição P.S. Carreira de Oliveira e Sousa	DGV	Assessor Princ
Ana Maria Assunção F. Oliveira Simões Nunes	DGV	Assessor Princ
Maria de Fátima de Almeida Sobral de Matos	DGV	Tec Sup 1ª Classe
Maria do Rosário da Silva Lemos Cidadão	DGV	Tec Sup 1ª Classe
José Pedro Cannas Simões	DGV	Assessor
Teresa Maria Nogueira Casaca	DGV	Tec Sup 1ª Classe
Filomena Augusta Mendes Pires Afonso	DGV	Tec Sup 1ª Classe
Policarpo Armando de Lima Teixeira de Sá	DGV	Assessor Princ
* Afonso Manuel Rocha da Silva	DRAEDM	Assessor Princ
* Ana Maria Barata da Silva	DRAEDM	Assessor Princ
Jerónimo Côrte-Real Santos	DRAEDM	Tec Sup Princ
João Paulo Peres Santos Silva	DRAEDM	Tec Sup 1ª
Luis Filipe Gonçalves Pacheco	DRAEDM	Tec Sup 1ª
José Manuel Miranda Lopes	DRAEDM	Tec Princ
Deolinda Linhares Fernandes Monteiro Xavier	DRAEDM	Tec 1ª
Carlos Manuel Varela Bettencourt	DRAAL/CEBA	Assessor
Claudino António Pereira de Matos	DRAAL/CEBA	Tec Sup Princ
João de Brito Reis Fialho	DRAAL/CEBA	Assessor Princ
Elisa Maria Varela Bettencourt	UE	Assistente
Ricardo Jorge da Costa Trindade Palmeiro Romão	UE	Assistente

* Integraram a equipa da DRAEDM, substituindo Rui Manuel Pereira Martins e Nuno Manuel da Cunha Salvador, desde 8 de Fevereiro de 2006.

VI - RESUMO

Este projecto teve por objectivo iniciar em Portugal a organização de um banco de germoplasma animal das raças autóctones, com a coordenação do ex-Departamento de Reprodução Animal da ex-EZN-INIA, nos últimos 4 anos.

Conseguiram-se formar quatro pólos de colheita e armazenamento de sémen e embriões congelados em Merlim-Braga (ex-DRAEDM), Vale de Santarém (ex-EZN, INIA-INRB), Lisboa (DGV) e Herdade da Abóboda - Serpa (ex-DRAAL e UE).

A colheita, congelação e armazenamento de sémen foi conseguida em 59 machos de 10 raças nacionais ovinas com 8451 doses armazenadas, 36 machos de 5 raças nacionais caprinas (incluindo uma em estudo e não homologada) com 6637 doses armazenadas e 178 machos de 10 raças nacionais bovinas com 42339 doses armazenadas.

A colheita e congelação de embriões foram conseguidas em 32 fêmeas de 3 raças ovinas com 222 embriões armazenados e 7 fêmeas de 3 raças caprinas com 144 embriões armazenados.

A todos os dadores e potenciais dadores de sémen e embriões foram recolhidas amostras de pêlos e sangue, efectuada a extracção de ADN (em 215 pequenos ruminantes e 168 bovinos da maioria das raças autóctones) e iniciada a genotipagem em pequenos ruminantes.

Apesar do enorme trabalho desenvolvido não foi possível recolher sémen e embriões a toda a população considerada elegível para efeitos de preservação das raças e da biodiversidade, de acordo com os critérios tecnicamente aceites. Se nalgumas raças se conseguiu atingir e mesmo ultrapassar a amostragem de animais e de doses, noutras não se atingiu o limiar aconselhável e numa minoria delas não foi possível recolher qualquer material. As principais causas de não se ter conseguido atingir a amostragem ideal para todas as raças foram de natureza sanitária, administrativa, financeira e de reorganização orgânica das estruturas do ministério, como foi referido nos vários relatórios semestrais do projecto.

No âmbito deste projecto realizaram-se várias acções de divulgação que passaram pela publicação de trabalhos ou palestras em reuniões científicas (n=32), revistas técnicas e científicas (n=17) e capítulos de livros (n=4). No âmbito da formação foi realizada uma tese de mestrado e 7 estágios de licenciatura.

Fazemos um apelo veemente à sensibilidade dos dirigentes do MADRP com responsabilidades na gestão dos pólos do BPGA para criarem condições de financiamento que, no futuro, garantam a manutenção dos animais dadores, do germoplasma animal criopreservado e permitam aumentar a amostragem das raças/animais que ainda se encontrem abaixo dos valores tecnicamente aconselhados.

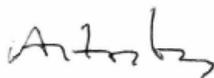
Agradecimentos:

A todas as Associações Nacionais de Criadores de ovinos, caprinos, suínos e bovinos que empenhadamente contribuíram na procura de animais dadores para o BPGA, com especial referência à FERA que colaborou nas acções de recolha de sémen dos bovinos do Norte e manutenção dos animais.

Aos dirigentes das Instituições envolvidas directamente no presente projecto pelos esforços em proporcionar condições ao seu funcionamento.

As ex-Direcções Regionais de Agricultura do Ribatejo e Oeste e do Algarve por terem amavelmente disponibilizado alguns animais das raças Saloia e Algarvias, respectivamente.

Chefe do Projecto, entidade ex-INIAP, ex-EZN



António Eduardo Monteiro Horta

Responsável pela participação da entidade DGV



António João Leitão Alegre

Responsável pela participação da entidade ex-DRAEDM



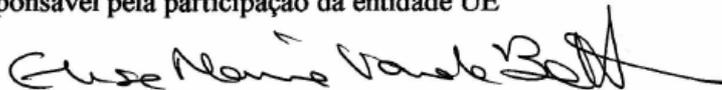
Ana Maria Barata da Silva

Responsável pela participação da entidade ex-DRAAL



Carlos Manuel Varela Bettencourt

Responsável pela participação da entidade UE



Elisa Maria Varela Bettencourt

Vale de Santarém, 29 de Fevereiro de 2008

Anexo Publicações / Divulgação - Totais

Lista de publicações total ou parcialmente resultantes da contribuição do projecto

- Proceedings de Conferências e Palestras

1. Bettencourt CMVB, Horta AEM, Leitão Alegre AJ, Salvador NMC, Bettencourt EMV, Matos CAP, Gama, L.T. (2003). Banco Português de Germoplasma Animal. Resumo de Comunicação. VI Congresso Iberoamericano de Razas Criollas y Autóctonas. Recife Brasil (Publicado na web).
2. Bettencourt CMV, Bettencourt EMV, Romão RP, Matos CAP (2003). Parâmetros Reprodutivos da Raça Ovina Merina Branca. Resumo de Comunicação. VI Congresso Iberoamericano de Razas Criollas y Autóctonas, Recife Brasil (Publicado na web).
3. RM Pereira, MC Baptista, MI Vasques, AEM Horta, PV Portugal, RJB Bessa, CC Marques (2004). Post-thawing resistance of bovine embryos is improved by trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). 15th International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro – Brasil, Abstracts Vol 2, p. 538 (2004)
4. JP Barbas, MC Baptista, C Cannas-Serra, CC Marques, S Cavaco-Gonçalves (2004). First results in Portugal of artificial insemination by cervical route using ram frozen semen on reproductive performance. 15th International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro – Brasil, Abstracts Vol 2, p. 344 (2004)
5. AEM Horta, C Santos, JP Barbas, MC Baptista, R Ricardo, MI Vasques and T Cunha (2004). Male effect 22 days prior oestrus synchronization, enhances corpus luteum function and fertility in Merino ewes. 15th International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro – Brasil, Abstracts Vol 2, p. 378 (2004)
6. Bettencourt EM, Bettencourt CM, Matos CM, Romão RJ, Manito CI (2004) Ovulação múltipla e transferência embrionária em ovinos da raça Merina Preta. 2ª Reunião da Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais, IV Congresso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animais. pp 45-46.
7. J C-R Santos, Sílvio RB Santos (2004). Caracterização espermática de touros das raças Barrosão e Maronês. Algumas relações com o desenvolvimento e crescimento dos animais – primeiros resultados. 2ª Reunião da Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais, IV Congresso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animais. pp 145-149.
8. AEM Horta (2004). “Projecto AGRO 438 – Banco Português de Germoplasma Animal”. Palestra durante o “Colóquio – Pequenos ruminantes em Portugal – Recursos genéticos a preservar”, Feira Nacional de Agricultura, Santarém 7-Jul-04 (Palestra apresentada em diapositivos power-point).
9. Bettencourt EMV, Bettencourt CMV (2004). Aplicação de tecnologias reprodutivas em programas de conservação e melhoramento genético. Encontro organizado pela Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia e Caprinotecnia, Feira Nacional da Agricultura, Santarém (Palestra não publicada)
10. Carvalhais, I, Pimenta, J, Marques, CC, Baptista, MC, Vasques, I, Horta, AEM, Santos, IC, Marques, MR, Santos Silva, MF, Pereira, R.M (2005). Implementação de um método simples e preciso para sexagem de embriões bovinos. [IA simple and precise method for bovine embryo sexing]. Ciências Veterinárias, 3º Congresso da SPCV 2005, Livro de Resumos, p. 121
11. Marques, C.C., Baptista, M.C., Barbas, J.P., Pereira, R.M., Vasques, M.I. e Horta, A.E.M (2005). Efeito do fotoperíodo na maturação e fertilização in vitro de oócitos ovinos utilizando sémen criopreservado. [Effect of photoperiod on in vitro maturation and fertilisation of sheep oocytes using cryopreserved sperm]. Ciências Veterinárias, 3º Congresso da SPCV 2005, Livro de Resumos, p. 204.
12. Cavaco-Gonçalves, S, Marques, CC, Horta, AEM, Figueroa, JP (2005). Actividade mioelétrica cervical durante o estro, em ovelhas submetidas à sincronização com progestagénios e ecg. [Cervical electrical activity during oestrus in progestagen-ecg treated-ewes]. Ciências Veterinárias, 3º Congresso da SPCV 2005, Livro de Resumos, p. 117
13. JP Barbas, CC Marques, MC Baptista, MI Vasques, RM Pereira, S Cavaco-Gonçalves, RM Mascarenhas, N Poulin, Y Cognie & AEM Horta (2005). Reproduction in the goat Serrana breed: seasonal and individual factors affecting fresh and frozen semen performance, in vivo and in vitro fertility. Int. Symp. on Comparative Advantages for Typical Animal Products from the Mediterranean Areas, Vale de Santarém-Portugal, Abstracts & Programme, p 54.
14. CC Marques, JP Barbas, MC Baptista, C Cannas Serra, MI Vasques, RM Pereira, S Cavaco-Gonçalves & AEM Horta (2005). Reproduction in the ovine Saloia breed: seasonal and individual factors affecting fresh and frozen semen performance, in vivo and in vitro fertility. Int. Symp. on

- Comparative Advantages for Typical Animal Products from the Mediterranean Areas, Vale de Santarém-Portugal, Abstracts & Programme, p. 53
15. H Cortes, J Chagas e Silva, MC Baptista, RM Pereira, A Leitão, AEM Horta, MI Vasques, JP Barbas & CC Marques (2005). Besnoitia besnoiti impact on fertility of cattle exploited in Mediterranean pastures (Alentejo). Int. Symp. on Comparative Advantages for Typical Animal Products from the Mediterranean Areas, Vale de Santarém-Portugal, Abstracts & Programme, p. 52.
 16. H Cortes, J Chagas e Silva, MC Baptista, RM Pereira, A Leitão, AEM Horta, I Vasques, JP Barbas and CC Marques (2005). Infertility is a late consequence of Besnoitia besnoiti infection. Wiadomosci Parazytologiczne, 51 (supl.): p. 27
 17. Valente, S., Pereira, R.M., Baptista, M.C., Marques, C.C., Vasques, M.I., Horta, A.E.M., Barbas, J.P. (2007). Avaliação da capacidade fertilizante de sêmen de carneiro congelado através da fertilização heteróloga. Resultados preliminares. Proc. do VI Simpósio da Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal / IV Jornadas da Associação de Estudantes de Medicina Veterinária de Évora. Évora, 16 a 18 de Março, pp. 78-79.
 18. S Cavaco Gonçalves, JM Nobre, R Mascarenhas (2007). Superovulação em caprinos de raças nacionais – resultados preliminares. Proc. do VI Simpósio da Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal / IV Jornadas da Associação de Estudantes de Medicina Veterinária de Évora. Évora, 16 a 18 de Março, pp. 62-63
 19. RMLN Pereira, CC Marques e AEM Horta (2007). Aplicação das biotecnologias emergentes na reprodução e conservação das raças portuguesas. VIII Semana das Ciências Agrárias, Tecnologias da Reprodução, ESAB-IPB, Bragança, 30-Mar-2007 (Palestra).
 20. Barbas JP, Alves H, Beato A, Ricardo R, Mascarenhas R (2007). Avaliação da Aptidão à Congelação de Ejaculados de Carneiros de Raças Nacionais. Proc. do VI Simpósio da Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal / IV Jornadas da Associação de Estudantes de Medicina Veterinária de Évora. Évora, 16 a 18 de Março, pp.56-57.
 21. Mesquita P, Batista M, Marques MR, Santos IC, Pimenta J, Santos Silva F, Sousa CO, Horta AEM, Prates JA, Pereira RM (2007). Polimorfismos do gene Doppel: comparação entre caprinos e ovinos de raças portuguesas. Proc. do VI Simpósio da Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal / IV Jornadas da Associação de Estudantes de Medicina Veterinária de Évora. Évora, 16 a 18 de Março, pp. 66-67
 22. Pereira RM, Baptista MC, Vasques MI, Chagas e Silva J, Horta AEM, Marques CC (2007). Efeito do soro e de células somáticas no desenvolvimento e qualidade de embriões bovinos. Proc. do VI Simpósio da Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal / IV Jornadas da Associação de Estudantes de Medicina Veterinária de Évora. Évora, 16 a 18 de Março, pp. 68-69
 23. Barbas JP, Baptista MC, Alves H, Martins D, Mascarenhas R (2007). Inseminação artificial em caprinos de raça Serrana com sêmen refrigerado e congelado. Proc. do VI Simpósio da Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal / IV Jornadas da Associação de Estudantes de Medicina Veterinária de Évora. Évora, 16 a 18 de Março, pp.54-55.
 24. Bettencourt EM (2007). Criopreservação de embriões de ruminantes. Comunicação oral apresentada no VI Simpósio da Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal 16, 17 e 18 de Março Évora. Livro de comunicações pp 40-50.
 25. JP Barbas (2007). Inseminação Artificial com Sêmen Refrigerado e Congelado em Pequenos Ruminantes. Novas Tecnologias Aplicadas à Zootecnia, Aula Magna do Instituto Politécnico de Viseu, 16 de Maio de 2007, pp 10-12
 26. RM Pereira and CC Marques (2007). Oocyte and embryo cryopreservation. 1st International Consensus Meeting-New Horizons in the Cell and Tissue Banking. Preservation of Animal Germinal Cells and Embryos. 17th-19th May 2007, EZN-Vale de Santarém (Abstract)
 27. RD Mascarenhas and JP Barbas (2007). Cryopreservation of Domestic Animal Sperm Cells. 1st International Consensus Meeting-New Horizons in the Cell and Tissue Banking. Preservation of Animal Germinal Cells and Embryos. 17th-19th May 2007, EZN-Vale de Santarém (Abstract).
 28. Horta AEM (2007). Banco Português de Germoplasma Animal. Seminário “Produção Animal Sustentável – Contributo da EZN”, CNEMA Santarém, 8 de Junho de 2007 (Palestra – Power Point)
 29. Gama, LT (2007). Diversidade dos Recursos Genéticos Animais em Portugal. Seminário “Produção Animal Sustentável – Contributo da EZN”, CNEMA Santarém, 8 de Junho de 2007 (Palestra – Power Point)
 30. Barbas JP (2007). Congelação de sêmen em ovinos e caprinos - Banco Português de Germoplasma Animal. Seminário “Produção Animal Sustentável – Contributo da EZN”, CNEMA Santarém, 8 de Junho de 2007 (Palestra – Power Point)

31. Pereira RM (2007). Conservação de Embriões - Banco Português de Germoplasma Animal. Seminário “Produção Animal Sustentável – Contributo da EZN”, CNEMA Santarém, 8 de Junho de 2007 (Palestra – Power Point)
32. Santos Silva MF (2007). Caracterização Genética de Raças Ovinas Churras. Seminário “Produção Animal Sustentável – Contributo da EZN”, CNEMA Santarém, 8 de Junho de 2007 (Palestra – Power Point)

- Capítulos de Livros

1. H Cortes, J Chagas e Silva, MC Baptista, RM Pereira, A Leitão, AEM Horta, MI Vasques, JP Barbas & CC Marques (2006). Besnoitia besnoiti impact on fertility of cattle exploited in Mediterranean pastures (Alentejo). In: Animal products from the Mediterranean area; EAAP publication No. 119, 2006; Ed: JMC Ramalho Ribeiro, AEM Horta, C Mosconi and A Rosati; Wageningen Academic Publishers-Nederlands, pp. 323-330
2. CC Marques, JP Barbas, MC Baptista, C Cannas Serra, MI Vasques, RM Pereira, S Cavaco-Gonçalves & AEM Horta (2006). Reproduction in the ovine Saloia breed: seasonal and individual factors affecting fresh and frozen semen performance, in vivo and in vitro fertility. In: Animal products from the Mediterranean area; EAAP publication No. 119, 2006; Ed: JMC Ramalho Ribeiro, AEM Horta, C Mosconi and A Rosati; Wageningen Academic Publishers-Nederlands, pp. 331-336
3. JP Barbas, CC Marques, MC Baptista, MI Vasques, RM Pereira, S Cavaco-Gonçalves, RM Mascarenhas, N Poulin, Y Cognie & AEM Horta (2006). Reproduction in the goat Serrana breed: seasonal and individual factors affecting fresh and frozen semen performance, in vivo and in vitro fertility. In: Animal products from the Mediterranean area; EAAP publication No. 119, 2006; Ed: JMC Ramalho Ribeiro, AEM Horta, C Mosconi and A Rosati; Wageningen Academic Publishers-Nederlands, pp. 337-342
4. MI Vasques, S Cavaco-Gonçalves, CC Marques, JP Barbas, MC Baptista, TP Cunha, & AEM Horta (2006). The effect of ram exposure previous to progestagen oestrus synchronization on corpus luteum function and fertility in crossbred ewes. In: Animal products from the Mediterranean area; EAAP publication No. 119, 2006; Ed: JMC Ramalho Ribeiro, AEM Horta, C Mosconi and A Rosati; Wageningen Academic Publishers-Nederlands, pp. 343-348.

- Revistas

1. Horta, AEM (2005). Conservação activa e organizada do património genético animal em Portugal através do Banco Português de Germoplasma Animal. ANCABRA, nº7, ano 2005: 15-17
2. JP Barbas, CC Baptista, AEM Horta (2005). Comparação entre dois métodos de congelação de sêmen de carneiros Merino Regional e Serra da Estrela ao longo do ano. RPCV, 104(553-554): 61-79
3. RM Pereira, J Pimenta, JD Becker, MC Baptista, MI Vasques, AEM Horta, CC Marques (2005). Expressão da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) em embriões bovinos produzidos in vitro. Resultados preliminares. RPCV, Vol 104 (555-556): 181-184
4. M Batista, MC Baptista, CC Marques, JP Barbas, MI Vasques, AEM Horta, M Silva Pereira and RM Pereira (2006). Effect of Ram Sperm Capacitation by Swim-Up or Percoll on In Vitro Fertilization. Reproduction in Domestic Animals, 41(4): 342
5. I Carvalhais, CC Marques, MC Baptista, MI Vasques, AEM Horta and R.M. Pereira (2006) Effect of Trans-10, Cis-12 Conjugated Linoleic Acid (CLA) on Post-Thaw Viability of Biopsied Bovine Embryos. Reproduction in Domestic Animals, 41(4): 334
6. JP Barbas, C Serra, CC Marques, MC Baptista, RD Mascarenhas, S Cavaco-Gonçalves, MI Vasques and AEM Horta (2006). Fertility in Saloia Sheep Breed after Cervical AI with Refrigerated and Frozen Semen: Ram Variation. Reproduction in Domestic Animals, 41(4): 327
7. MI Vasques, S Cavaco-Gonçalves, CC Marques, JP Barbas, MC Baptista, TP Cunha and AEM Horta (2006). Ram effect previous to progestagen treatment in Serra da Estrela ewes. Reproduction in Domestic Animals, 41(4): 373
8. S Cavaco-Gonçalves, MI Vasques, CC Marques, JP Barbas, MC Baptista, TP Cunha and AEM Horta (2006). Ram Exposure to Ewes at the Onset of Progestagen Treatment. Reproduction in Domestic Animals, 41(4): 373
9. RM Pereira, MI Vasques, TP Cunha, CC Marques, MC Baptista and AEM Horta (2006). Bovine Embryos and Prostaglandins (PG) Induce Progesterone (P4) Secretion by Granulosa Cells In Vitro. Reproduction in Domestic Animals, 41(4): 335

10. RM Pereira, MC Baptista, MI Vasques, AEM Horta, PV Portugal, RJB Bessa, J Chagas e Silva, M Silva Pereira and CC Marques (2007). Cryosurvival of bovine blastocysts is enhanced by culture with trans-10 cis-12 conjugated linoleic acid (10t,12c CLA). *Anim Reprod Sci*, Volume 98(3-4): 293-301
11. RM Pereira, CC Marques, MC Baptista, MI Vasques, AEM Horta (2006). Effect of arachidonic acid supplementation and cyclooxygenase/lipoxygenase inhibition on the development of early bovine embryos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2: 422-427
12. S. Cavaco-Gonçalves, C.C. Marques, A.E.M. Horta and J.P. Figueroa (2006). Increased cervical electrical activity during oestrus in progestagen treated ewes: Possible role in sperm transport. *Anim Reprod Sci*, 93(3-4): 360-365
13. Bettencourt EM, Bettencourt CM, Silva NC, Ferreira P, Manito CI, Matos CM, Romão R, Rocha A (2006). Superovulatory response of Portuguese black merino ewes varies with FSH source, but not with season. *Reproduction in Domestic Animals* 41 (4): 310-310 Agosto 2006
14. RM Pereira, MC Baptista, MI Vasques, AEM Horta, PV Portugal, RJB Bessa, J Chagas-Silva, M Silva Pereira, CC Marques (2007). Cryosurvival of bovine blastocysts is enhanced by culture with trans-10 cis-12 conjugated linoleic acid (10t,12c CLA). *Anim Reprod Sci*, 98 (3-4): 203-301.
15. RM Pereira, I Carvalhais, J Pimenta, MC Baptista, MI Vasques, AEM Horta, IC Santos, MR Marques, A Reis, M Silva Pereira and CC Marques (2007). Biopsied and vitrified bovine embryos viability is improved by trans10, cis12 conjugated linoleic acid supplementation during in vitro embryo culture. *Anim Reprod Sci*. In Press, Accepted Manuscript, Available online 18 May 2007
16. EM Bettencourt, CM Bettencourt, J Chagas e Silva, P Ferreira, CI Manito, CM Matos, RJ Romão and A Rocha (2008). Effect of season and gonadotrophin preparation on superovulatory response and embryo quality in Portuguese Black Merinos. *Small Ruminant Research* 74 (2008) 134-139 2008
17. Bettencourt EMV, Bettencourt CMV, Chagas e Silva JN, Ferreira P, Matos CP, Romão RJ, Rocha A (2008). Pregnancy, lambing and embryo survival rates after transfer of Portuguese Black Merino embryos cryopreserved with three different protocols. Submetido à revista *Small Ruminant Research* em Janeiro de 2008

- Tese de Mestrado

1. Carla Sofia Arede dos Santos. Influência do Efeito Macho no tratamento de sincronização de cios em ovelhas. Dissertação de Mestrado em Produção Animal, Universidade Técnica de Lisboa, FMV-ISA, 10-Jul-2007, Lisboa. Orientação: AEM Horta

- Trabalhos de Estágio de Licenciatura

1. FAC Gonçalves da Costa e R Franco Leal (2007). Tecnologias do Sêmen e da Fertilização in vitro. Relatório de estágio curricular do Curso de Medicina Veterinária – UNIME, S. Salvador - Brasil, Departamento de Reprodução Animal - EZN, 22 pp. Orientação: AEM Horta
2. João Caseiro (2007). Criopreservação de sêmen e embriões em caprinos de raça Serpentina. João Caseiro; Universidade de Évora, 2007. Orientação: EMV Bettencourt
3. Ema Roque (2007). Criopreservação de sêmen de ovino. Universidade de Évora, 2007. Orientação: EMV Bettencourt
4. Patrícia Martins (2006); Transferência embrionária. Universidade de Évora, 2006. Orientação: EMV Bettencourt
5. Catarina Manito (2005). Comparação de índices reprodutivos em duas épocas (Primavera/Outono) em ovelhas da raça Merina Preta superovuladas. Universidade de Évora, 2005. Orientação: EMV Bettencourt
6. Sónia Fernandes (2005). Superovulação em ovinos da raça Merina Preta. Universidade de Évora, 2005. Orientação: EMV Bettencourt
7. André Preto (2004). Avaliação de machos. Universidade de Évora, 2004. Orientação: EMV Bettencourt

ANEXO TÉCNICO

A - Protocolo de Congelação de Sêmen de Caprinos (EZN)

1) Recolha do sêmen

O sêmen é recolhido pelo método da vagina artificial utilizando uma cabra em estro induzido.

2) Avaliação do ejaculado

Após a recolha o sêmen é colocado num banho-Maria mantido a uma temperatura constante de 30 °C. Após a recolha são avaliados o volume (leitura no tubo colector graduado), a concentração espermática utilizando um espectrofotometro calibrado para a espécie caprina e o número de espermatozóides totais no ejaculado (volume x concentração). Retiram-se 10 µl de sêmen puro onde é feita a avaliação da mobilidade massal, classificada de 0-5. Seguidamente procede-se à avaliação da mobilidade individual (MI), avaliação subjectiva que traduz a percentagem de spz com boa qualidade de movimentos (progressivos, rectilíneos e uniformes). Para avaliação da MI, retiram-se 10 µl de sêmen puro que são diluídos em 1 ml de soro fisiológico (diluição 1/100). Neste sêmen diluído são realizados esfregaços utilizando o corante vital eosina/nigrosina, para avaliação da % de spz vivos e normais. Só os ejaculados (após a recolha) com MM \geq 4 e MI \geq 60 %, são aproveitados para posterior processamento.

2) Lavagem do sêmen (retirada do plasma seminal)

O sêmen é diluído e lavado (retirar o plasma seminal) com uma solução de lavagem utilizando uma solução de Krebs-Ringer-Phosphate (solução de Krebs-Ringer-fosfato glucose) de modo a obter uma concentração de 400 milhões de spz /ml. É realizada uma primeira centrifugação durante 10 minutos a 500 G, estando a solução de Ringer a uma temperatura de 30 °C (temperatura do banho Maria). É retirado o sobrenadante (por aspiração utilizando uma bomba de vácuo), adicionando igual volume de solução de Ringer mantida à temperatura ambiente, sendo realizada uma 2ª centrifugação. O sobrenadante é retirado e o sêmen fica depositado no fundo do tubo colector.

3) Diluição do ejaculado

O sêmen é diluído utilizando um diluidor adaptado de Maxwell, específico para a congelação de sêmen que contém Tris, ácido cítrico, glucose, gema de ovo (protector da integridade da membrana), glicerol (crioprotector) e antibióticos (penicilina/estreptomicina). O sêmen é diluído de modo a obter uma concentração de 800 milhões de spz/ml (a concentração foi determinada no ejaculado após a recolha). Seguidamente o sêmen é aspirado para palhinhas de várias cores (correspondentes a vários bodes) de 0,25 ml, sendo posteriormente seladas com álcool polivinílico.

4) Refrigeração

O sêmen é refrigerado a uma velocidade de 0,5-1 °C /minuto dos 23 °C (temperatura ambiente do laboratório) até aos 4°C durante 2 horas, utilizando uma bancada de refrigeração mantida a 4°C. Seguidamente o sêmen permanece em equilíbrio durante 1,5 hora, totalizando o processo 3,5 horas.

5) Congelação

As palhinhas são dispostas horizontalmente num equipamento designado por floating freezing rack, ficando colocadas a uma altura de 3,5 cm do nível de azoto líquido. A congelação decorre sob a acção dos vapores de azoto líquido durante 20 minutos.

6) Armazenamento do sémen

Findo o processo de congelação as palhinhas são armazenadas nos respectivos visotubos (correspondentes a cada carneiro) que são colocados num contentor de armazenamento do sémen.

7) Descongelação do sémen

O sémen é descongelado no dia seguinte (1-2 palhinhas por ejaculado/bode) durante 40 segundos a uma temperatura de 37,5 °C, recortando o conteúdo de uma palhinha correspondente a cada bode em 1 ml de soro fisiológico. Posteriormente é avaliada a MI, a % de spz vivos e normais. Unicamente o sémen com MI > 35 % e formas anormais inferiores a 30% é armazenado definitivamente.

B - Protocolo de Congelação de Sémen de Ovinos (EZN)

1) Recolha do sémen

O sémen é recolhido pelo método da vagina artificial utilizando uma ovelha em estro induzido.

2) Avaliação do ejaculado

Após a recolha o sémen é colocado num banho Maria mantido a uma temperatura constante de 30 °C. Após a recolha são avaliados o volume (leitura no tubo colector graduado), a concentração espermática utilizando um espectrofotómetro calibrado para a espécie ovina e o número de espermatozóides totais no ejaculado (volume x concentração). Retiram-se 10 µl de sémen puro onde é feita a avaliação da mobilidade massal, classificada de 0-5. Seguidamente procede-se à avaliação da mobilidade individual (MI), avaliação subjectiva que traduz a percentagem de spz com boa qualidade de movimentos (progressivos, rectilíneos e uniformes). Para avaliação da MI, retiram-se 10 µl de sémen puro que são diluídos em 1 ml de soro fisiológico (diluição 1/100). Neste sémen diluído são realizados esfregaços utilizando o corante vital eosina/nigrosina, para avaliação da % de spz vivos e normais. Só os ejaculados com MM > 4 e MI > 60 %, são destinados a posterior refrigeração.

3) Diluição do ejaculado

O sémen é diluído utilizando um diluidor adaptado de Maxwell, específico para a congelação de sémen que contem Tris, ácido cítrico, glucose, gema de ovo (protector da integridade das membranas), glicerol (crioprotector) e antibióticos (penicilina/estreptomicina). O sémen é diluído de modo a obter uma concentração de 1200 milhões de spz/ml. Seguidamente o sémen é aspirado para palhinhas de várias cores (correspondentes a vários carneiros) de 0,25 ml, sendo posteriormente seladas com álcool polivinílico.

4) Refrigeração

O sémen é refrigerado a uma velocidade de 0,5-1 °C /minuto dos 30 °C até aos 4°C durante 2,5 horas, utilizando uma bancada de refrigeração mantida a 4°C. Seguidamente o sémen permanece em equilíbrio durante 1,5 hora, totalizando o processo 4 horas.

5) Congelação

As palhinhas são dispostas horizontalmente num equipamento designado por floating freezing rack, ficando situadas a uma altura de 3,5 cm do nível de azoto líquido. A congelação decorre sob a acção dos vapores de azoto líquido durante 20 minutos.

6) Armazenamento do sémen

Findo o processo de congelação as palhinhas são armazenadas nos respectivos visotubos (correspondentes a cada carneiro) que são colocados num contentor de armazenamento do sémen.

7) Descongelação do sémen

O sémen é descongelado no dia seguinte durante 40 segundos a uma temperatura de 37,5 °C, recortando o conteúdo de uma palhinha correspondente a cada carneiro em 1 ml de soro fisiológico. Posteriormente é avaliada a MI, a % de spz vivos e normais. Unicamente o sémen com $MI \geq 40\%$ e formas anormais inferiores a 30% é armazenado definitivamente.