

UTILIZAÇÃO DA PROSTAGLANDINA F₂ ALFA (PGF₂ alfa) NA
SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL EM BOVINOS. III. INSEMINAÇÕES
ARTIFICIAIS PRATICADAS EM HORÁRIOS PRÉ-DETERMINADOS,
SEM OBSERVAÇÃO DE SINTOMAS DE CIO *

Raul Gastão MUCCILOLO **
Renato Campanarut BARNABE ***
Valquiria Hyppolito BARNABE **

RFMV-A/5

MUCCILOLO, R.G.; BARNABE, R.C.; BARNABE, V.H. *Utilização da prostaglandina F₂ (PGF₂ alfa) na sincronização do ciclo estral em bovinos. III. Inseminações artificiais praticadas em horários pré-determinados, sem observação de sintomas de cio.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo-14(1):45-51, 1977.

RESUMO: 60 animais da raça Nelore, sem qualquer controle anterior quanto à observação de cio, foram separados em 2 lotes de 30. O 1º lote foi tratado com 4 mg de PGF₂ alfa, diluídas em 2 ml de solução padrão fosfatada, no corno uterino ipsilateral ao ovário que apresentava corpo lúteo ativo. As inseminações artificiais foram praticadas 72 horas e 80 horas após o tratamento, sem observação de sintomas de cio. O 2º lote serviu de testemunha e foi inseminado duas vezes com 8 horas de intervalo, à medida que os animais apresentavam sintomas de cio. O diagnóstico de gestação, realizado através de palpação retal, indicou 6 animais gestantes no 1º lote (20,0%) e 8 no 2º (26,6%). Os resultados obtidos no que se refere ao índice de concepção, embora muito baixos, revelam a similitude de fertilidade entre animais testemunhas e aqueles cujas inseminações foram pré-determinadas em 72 e 80 horas após o tratamento. A operação de inoculação de PGF₂ alfa no corno uterino adjacente ao corpo lúteo mostrou-se mais demorada em fêmeas da raça Nelore em comparação às meio sangue azebuado europeu de experimento anterior, tendo sido trabalhados, respectivamente, 7,5 e 12 animais por hora, em média.

UNITERMOS: Ciclo estral, sincronização *, Prostaglandina F₂ Alfa *, Inseminação artificial, bovinos *.

INTRODUÇÃO E LITERATURA

Atualmente, a tendência das pesquisas relacionadas com a reprodução em bovinos tem se dirigido mais para a descoberta de um método prático de controle da ovulação do que simplesmente de sincronização do ciclo estral. A fim de manter o processo reprodutivo sob controle, necessária seria a capacidade

de prever quando ocorre a ovulação, com o que tornar-se-ia possível determinar o momento mais propício para a cobertura ou inseminação artificial e, conseqüentemente, aumentar o índice de fertilidade.

A utilização experimental das prostaglandinas tem mostrado algumas possibilidades neste sentido, visando principalmente a prática da inseminação artificial em horá-

* Apresentado no F.A.O. — Swedish Follow-up Seminar on Animal Reproduction, México, 1976.

** Professor Assistente Doutor.

*** Professor Livre-Docente

Departamento de Cirurgia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da U.S.P.

rios pré-determinados, eliminando, assim a necessidade de constatação do cio nas vacas.

O aparecimento de sintomas de cio dois ou três dias após a aplicação intra-uterina de PGF₂ alfa foi primeiramente, comunicado por ROWSON et alii^{1,2} (1972).

Pela aplicação de 21 mg de PGF₂ alfa em novilhas, por via intra muscular, LOUIS et alii⁸ (1973) verificaram manifestações de cio em 72 horas e ocorrência de ovulação 95 horas após, confirmando posteriormente estes resultados em vacas com injeção de 3 a 5 mg, por via intra-uterina (LOUIS et alii⁹ 1974).

WISHART¹⁵ (1974), injetando 3 mg de PGF₂ alfa na porção anterior da cerviz de 10 vacas, observou a ocorrência de ovulação em $93,7 \pm 4,4$ horas, valendo-se da peritonoscopia.

Inseminações artificiais praticadas em horários pré-determinados de 72 a 90 horas foram realizadas por HANSEL⁵ (1973), INSKEEP⁷ (1973), CUMMINS et alii³ (1974), MICKELSEN & De GROFFT¹⁰ (1974) e BARNABE et alii² (1976), após aplicação de PGF₂ alfa no corno uterino de vacas que apresentavam um corpo lúteo ativo no ovário.

HEARNSHAW et alii⁶ (1974) e SMITH¹⁴ (1974), no entanto, entendem que a administração intra-uterina de PGF₂ alfa, além de requerer certo grau de perícia por parte do operador, é um procedimento que demanda em grande perda de tempo, uma vez que resultados similares podem ser obtidos por meio de outras vias de aplicação mais fáceis.

SHELTON³ (1973), trabalhando com dois lotes de 22 vacas, administrou a cada um, 2 ou 4 mg de PGF₂ alfa, tendo alcançado maus resultados, atribuídos à deterioração da droga e ao excessivo calor ambiente, que talvez tivesse provocado mortalidades embrionárias.

GWAZDAUSKAS et alii⁴ (1974) demonstraram, em câmara climática, que a elevação da temperatura e da umidade relativa do ar afetou a duração do cio, a ovulação e a instalação de gestação em novilhas tratadas com PGF₂ alfa.

No presente trabalho, propusemo-nos verificar a fertilidade de fêmeas da raça Nelore, submetidas à injeções de PGF₂ alfa no corno uterino homolateral ao corpo lúteo em atividade e inseminadas artificialmente em horários pré-determinados, sem observação de sintomas de cio. Além disso, procuramos anotar também o tempo médio dispendido com a operação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 60 fêmeas da raça Nelore, 21 vacas e 39 novilhas nascidas entre 1969 e 1972, de propriedade da Estação Experimental de Campo Grande, do Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Oeste, localizada no Município de Terenos, Estado de Mato Grosso.

Os animais foram separados, no dia 8/10/1974, em dois lotes homogêneos, sem qualquer controle anterior quanto à observação de cio, sendo submetidos aos seguintes tratamentos:

LOTE A, constituído por 11 vacas e 19 novilhas.

- a) injeção de 4 mg de PGF₂* alfa diluídas em 2 ml de solução padrão fosfatada, no corno uterino ipsilateral ao ovário que apresentava corpo lúteo ativo;
- b) inseminações artificiais, 72 e 80 horas após o tratamento, sem preocupação de observar sintomas de cio.

LOTE B, testemunha, constituído por 10 vacas e 20 novilhas inseminadas duas vezes com 8 horas de intervalo, à medida que os animais apresentaram sintomas de cio, por período não superior a 60 dias.

Os animais, mantidos em regime de pasto sob criação extensiva, contavam apenas com sal puro, como suplemento. As condições sanitárias eram satisfatórias, sendo o rebanho submetido, regularmente, ao controle de moléstias infecciosas e parasitárias.

A técnica de injeção da PGF₂ alfa bem como a de inseminação artificial e diagnóstico de gestação foram iguais às descritas por BARNABE et alii¹ (1976).

* Fuji Chemical Industries, Ltd. Tokyo.

Para os cálculos estatísticos foi utilizado o teste do qui quadrado, segundo PIMENTEL GOMES¹ (1963).

RESULTADOS

Reunimos na Tabela 1 os dados referentes aos lotes tratado e testemunha. Dos 30 animais submetidos à inoculação de 4 mg de PGF₂ alfa no corno uterino contíguo ao corpo lúteo, resultaram 6 diagnósticos positivos de gestação (n^{os} 0074, 0248, 0317, 0339, 0410 e 0419), sendo 4 vacas e 2 novilhas, equivalendo a um índice de fecundação de 20,0%.

No lote testemunha, as inseminações artificiais iniciaram-se em 12/10/1974 e se estenderam até 13/11/1974, resultando em 8 gestações em 3 vacas e 5 novilhas (n^{os} 0197, 0221, 0228, 0262, 0366, 0412, 0420 e 1464), dando um índice de fecundação de 26,6%.

O tempo da operação, incluindo a palpação dos ovários foi, em média, de 7,5 animais por hora, o que quer dizer que utilizamos cerca de 8 minutos no tratamento de cada animal injetado com PGF₂ alfa.

DISCUSSÃO

Baseados nas observações de ROWSON et alii^{1,2}, LOUIS et alii⁸, LOUIS et alii⁹ e de WISHART¹⁵, procuramos fixar as inseminações artificiais em 72 e 80 horas após o tratamento com PGF₂ alfa. Estes intervalos poderiam, em princípio, favorecer a fecundação, uma vez que os espermatozoides introduzidos atingiriam o momento da ovulação ainda dotados de sua fertilidade e com capacitação de aproximadamente 12 horas.

Todavia, a porcentagem de fecundação obtida foi baixa (20,0%) porquanto de 30 animais tratados apenas 6 apresentaram resultado positivo de gestação. É provável, porém, que não somente à falta de ovulação induzida pela PGF₂ alfa se deva imputar esse resultado precário pois, inclusive no lote testemunha, a porcentagem de fecundação foi baixa (26,6%), podendo a temperatura ambiente ter exercido alguma influência. O severo calor reinante em outubro e novembro no Brasil Central e em agosto e setembro em

Pirassununga (BARNABE et alii²), pode ter determinado algumas perdas embrionárias, contribuindo assim para a baixa porcentagem geral de gestações. Este aspecto é também argumentado por SHELTON^{1,3} e por MICKELSEN & De GROFFT¹⁰

GWAZDAUSKAS et alii⁴ demonstraram, em câmara climática, que a elevação de 11 graus centígrados (21°C para 32°C) e de 59,0% para 67,0% na umidade relativa do ar, provocou encurtamento no período de cio e da ovulação em novilhas submetidas a essas condições. Conseqüentemente, resultaram 2 gestações de 4 animais nas condições mais amenas, enquanto que as 5 novilhas colocadas em ambiente de 32,0°C e 59,0% U.R. repetiram o cio após as inseminações.

Outro argumento encontrado na literatura consultada é a possibilidade de deterioração e o comprometimento de sua atividade biológica a que estaria sujeita a PGF₂ alfa, plausível de oxidação por se tratar de ácido graxo de cadeias curtas (SHELTON^{1,3}). Não acreditamos que isto tenha ocorrido em nosso caso, uma vez que a mesma prostaglandina utilizada em experimento anterior (BARNABE et alii²) foi eficiente na indução da regressão do corpo lúteo, levando em conta as satisfatórias porcentagens de sincronização obtidas. É válido lembrar ainda que o material ficou longo tempo exposto às condições ambientes durante a execução das inoculações, além do tempo de aproximadamente uma semana para o desembaraço alfandegário.

SMITH¹⁴ lembra ainda que o estado de nutrição dos animais pode, também, entre outros fatores, ter interferido na variação de 25,0% a 60,0% das porcentagens de concepção alcançadas nos experimentos de sincronização do ciclo estral com PGF₂ alfa. Na verdade não podemos afirmar que o estado de nutrição dos animais por nós utilizados fosse ótimo. Contudo, em se tratando de uma criação em regime exclusivo de pasto na época das secas, pudemos contar com animais razoavelmente nutridos, considerando ainda que a palpação retal não revelou problemas de anestro, pois os ovários, aparentemente, mostravam-se fisiologicamente sãos.

Dentre os autores que se utilizaram da via intra-uterina para aplicação da PGF₂ alfa

TABELA 1 — *Datas dos últimos partos, das inseminações artificiais e diagnóstico de gestação em fêmeas da raça Nelore utilizadas no experimento de sincronização do ciclo estral com 4 mg de PGF₂alfa, aplicadas no corno uterino ipsilateral ao corpo lúteo. Terenos (MT), 1974.*

LOTE TRATADO				LOTE TESTEMUNHA			
Nº do animal	Data do último parto	Data das inseminações	DG	Nº do animal	Data do último parto	Data das inseminações	DG
0074	julho/1973	11.10.74	+	1464	setembro/1973	18.10.74	+
0190	julho/1973	"	-	0002	janeiro/1973	14.10.74	-
0199	agosto/1973	"	-	0189		3.11.74	-
0224	novembro/1973	"	-	0197	agosto/1973	14.10.74	+
0239	setembro/1973	"	-	0221	agosto/1973	18.10.74	+
0248	agosto/1973	"	+	0228	outubro/1973	14.10.74	+
0261	agosto/1973	"	-	0243		24.10.74	-
0317	outubro/1973	"	+	0251	agosto/1973	24.10.74	-
0322	novembro/1973	"	-	0262	setembro/1973	22.10.74	+
0334	novembro/1973	"	-	0302		14.10.74	-
0339	novembro/1973	"	+	0315	novembro/1973	23.10.74	-
0355		"	-	0318	dezembro/1973	26.10.74	-
0362		"	-	0338	outubro/1973	12.10.74	-
0377		"	-	0344		18.10.74	-
0385		"	-	0361		29.10.74	-
0396		"	-	0366		18.10.74	+
0400		"	-	0372		28.10.74	-
0408		"	-	0378		13.11.74	-
0410		"	+	0388		12.10.74	-
0413		"	-	0397		2.11.74	-
0419		"	+	0403		14.10.74	-
0422		"	-	0409		14.10.74	-
0427		"	-	0412		1.11.74	+
0438		"	-	0418		25.10.74	-
0443		"	-	0420		14.10.74	+
0452		"	-	0426		20.10.74	-
0460		"	-	0434		15.10.74	-
0461		"	-	0442		16.10.74	-
0467		"	-	0451		14.10.74	-
0470		"	-	0456		14.10.74	-

HANSEL⁵, CUMMINS et alii³ e BARNABE et alii² também obtiveram índices de concepção considerados baixos, respectivamente de 33,3%, 22,2% e 20,0%. HANSEL⁵ utilizou apenas uma inseminação artificial para cada um de 9 animais, 72 horas após a aplicação de 5 mg de PGF₂ alfa. CUMMINS et alii³, em 12 animais, injetaram 0,5 mg em 2 dias consecutivos, praticando as inseminações artificiais 72 e 96 horas após o último tratamento e BARNABE et alii², com procedimento exatamente igual ao presente, obtiveram a mesma porcentagem de fecundação em 20 vacas nulíparas.

Resultados relativamente superiores, porém ainda indesejáveis, foram alcançados por INSKEEP⁷ em 19 animais nos quais aplicou doses de 1,5 e 2,0 mg de PGF₂ alfa seguidas de inseminações artificiais após 72 e 80 horas, conseguindo 47,3% de fecundação e por MICKELSEN & De GROFFT¹⁰ que obtiveram 4 gestações de 8 vacas tratadas com doses variáveis de 1,25 a 10,0 mg de PGF₂ alfa e inseminadas 84 horas após as aplicações.

Embora o número de observações seja ainda relativamente escasso, os resultados aqui obtidos, bem como os apresentados na literatura consultada, parecem indicar que, pelo menos a via intra-uterina para aplicação de PGF₂ alfa não é das mais aconselháveis para a obtenção de resultados satisfatórios de concepção quando se pretende praticar as inseminações artificiais em horários pré-determinados, sem observação de sintomas de cio.

Por outro lado, HEARNshaw et alii⁶ concluíram de seus experimentos que a infusão intra-uterina de PGF₂ alfa é um procedimento que demanda muito tempo. SMITH¹⁴ estimou que a operação, incluindo a palpação dos ovários, é praticada em cerca de 20 animais por hora. O controle por nós efetuado indicou que a operação, em se tratando de animais mestiços de azebuado e europeu (BARNABE et alii²) foi executada em aproximadamente 12 vacas nulíparas por hora. Com o gado Nelore o tempo dispendido foi um pouco maior, resultando em média no tratamento de 7,5 animais por hora. Em ambos os casos está incluída a palpação ovariana para diagnóstico da presença

de corpo lúteo atuante. A maior demanda de tempo residu exatamente em transpor o obstáculo representado pela cerviz uterina. Este fator é compreensível até certo ponto em se tratando de animais que não se encontravam no cio, privando portanto o operador da dilatação natural e da secreção mucosa cervical, características do órgão nessa fase.

À vista destas considerações verifica-se que o método de sincronização do ciclo estral por meio da PGF₂ alfa não satisfaz o requisito de simplicidade de aplicação quando preconizado o tratamento intra-uterino. Além disso, raciocinando-se em termos de grandes rebanhos, como é freqüente nas condições nacionais, podemos ver que, dependentemente do tipo ou raça empregada, o número de animais submetido a esse processo de sincronização do ciclo estral, poderá variar de 60 a 100 no máximo, considerada uma jornada diária de trabalho de 8 horas. Em se tratando, por exemplo, de um rebanho de 1.500 cabeças, o que é comum em determinadas regiões brasileiras, somente a operação de inoculação intra-uterina de PGF₂ alfa demandaria, no mínimo, 15 dias de trabalho efetivo, afóra a conseqüente e natural necessidade de todos esses animais serem inseminados, decorridos, em média, 3 dias do tratamento. Isto tudo, sem considerar uma determinada porcentagem de fêmeas que poderão apresentar problemas cervicais de origem congênita ou adquiridos, tais como cerviz dupla ou demasiadamente longas, desvios cervicais etc., que embora não as incapacitando para a reprodução, redundarão em maior desperdício de tempo do profissional para a inoculação intra-uterina de PGF₂ alfa.

Tudo o que foi exposto indica que as investigações sobre a utilização da PGF₂ alfa como agente sincronizador do ciclo estral e da ovulação em bovinos deverão ainda prosseguir. Trabalhos inúmeros continuam sendo realizados e publicados, muitos com resultados contraditórios, o que não desmerece, todavia, a imperiosa necessidade de se continuar investigando. Não restam dúvidas de que a PGF₂ alfa é muito potente, que pode promover reações dissemelhantes em diferentes indivíduos e que alguns de seus efeitos podem ser dependentes da dose utilizada.

Como ocorre com a maioria das drogas que despertam a curiosidade científica, as limitações só são apreciadas depois de passar por um período de exageradas esperanças.

CONCLUSÕES

Face às condições experimentais observadas no presente trabalho, os resultados obtidos permitiram tirar as seguintes conclusões:

- 1 – O índice de concepção obtido por inseminações artificiais praticadas 72 e 80 horas após o tratamento intra-uterino com 4 mg de PGF₂ alfa foi de 20,0%, enquanto que o lote testemunha apresentou 26,6%. Esta diferença não foi significativa sob o ponto de vista estatístico.
- 2 – A operação de inoculação de PGF₂ alfa no corno uterino contíguo ao corpo lúteo demandou, em média, uma hora para cada 7,5 animais tratados.
- 3 – Não houve evidências de que a PGF₂ alfa em forma diluída possa sofrer processos de deterioração quando submetida às condições ambientes.
- 4 – O método de aplicação intra-uterina de PGF₂ alfa não é prático em se tratando de rebanhos muito numerosos.
- 5 – A utilização em maior escala da PGF₂ alfa como agente regulador do ciclo estral e da ovulação na espécie bovina depende ainda da solução de problemas inerentes ao método de aplicação, bem como da obtenção de controle de cio, da ovulação e da fecundação em grande proporção de animais.
- 6 – Os inconvenientes apontados não desmerecem, todavia, a continuidade de estudos cuidadosamente elaborados no sentido de solucioná-los, levando em conta as propriedades já comprovadas que a PGF₂ alfa apresenta como agente luteolítico.

RFMV-A/5

MUCCILOLO, R.G.; BARNABE, R.C.; BARNABE, V.H. Synchronization of oestrus cycle in cattle with prostaglandin F₂ alfa. III. Breeding at a predetermined time following PGF₂ alfa in a Nelore herd. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S.Paulo*, 14(1): 45-51, 1977.

SUMMARY: 60 Nelore cows, without previous control regarding oestrous cycle, were assigned randomly to two treatments. Treatment 1 (n = 30) consisted in an injection of 4 mg PGF₂ alfa in 2 ml of Phosphate-Buffer into the uterine horn ipsilateral to the corpus luteum, followed by A.I. at 72 and 80 hs post PGF₂ alfa. Treatment 2 (n = 30) serving as control was double A.I. also with a interval of 8 hs at standing estrus during a 60-day period. Conception rate, through rectal palpation was 20.0% (6 pregnant cows) in treatment 1 and 26.6% (8 pregnant cows) in treatment 2. These results, although too low, seems to indicate the similarity in fertility between control animals and those inseminated at a predetermined time, without estrus detection. The time taken for treatment of Nelore cows and of European crossed cows with zebu (in a previous paper) was recorded. Prostaglandin infusion including ovarian palpation took 7.5 Nelore cows per hour and 12 crossed cows per hour, respectively.

UNITERMS: Oestrus cycle, synchronization*; Artificial insemination, cattle*; Prostaglandin PGF₂ alfa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – BARNABE, R.C.; BARNABE, V.H.; MUCCILOLO, R.G. Utilização da prostaglandina F₂ alfa (PGF₂ alfa) na sincronização do ciclo estral em bovinos. I. Efeitos segundo o local de deposição nos órgãos genitais. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S.Paulo*, 13(1): 165-77, 1976.
- 2 – BARNABE, V.H.; MUCCILOLO, R.G.; BARNABE, R.C. Utilização da prostaglandina F₂ alfa (PGF₂ alfa) na sincronização do ciclo estral em bovinos. II. Inseminações artificiais praticadas em horários pré-determinados, com observação de sintomas de cio. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S.Paulo*, 13(2): 367-76, 1976.

- 3 - CUMMINS, L.; CUMMING, I.; LAWSON, R.; FINDLAY, J.; CERINI, M.; HARTNEY, T. Synchronization of oestrus in cattle with prostaglandin F₂ alfa. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 10: 283, 1974.
- 4 - GWASDAUSKAS, F.C.; THATCHER, W.W.; KIDDY, C.A.; PAAPE, M.J.; WILCOX, C.J. Hormonal response to heat stress after PGF₂ alfa. *J. Anim. Sci.*, 39(1): 209, 1974.
- 5 - HANSEL, W. Estrous cycle synchronization and embryo transfer techniques. In: NATIONAL CONVENTION, AUSTRALIAN BREEDING SERVICE, 19, 1973. p.24-7.
- 6 - HEARNshaw, H.; MATTNER, P.E.; NANCARROW, C.D.; RESTALL, B.J. The effect of the mode of administration of prostaglandin F₂ alfa on the synchronization of oestrus in cattle. *J. Reprod. Fertil.*, 36: 486-7, 1974.
- 7 - INSKEEP, E.K. Potencial uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals. *J. Anim. Sci.*, 36(6): 1149-57, 1973.
- 8 - LOUIS, T.M.; HAFS, H.D.; SEGUIN, B.E. Progesterone, LH, estrus and ovulation after prostaglandin F₂ in heifers. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 143: 152-5, 1973.
- 9 - LOUIS, T.M.; HAFS, H.D.; MORROW, D.A. Intrauterine administration of prostaglandin F₂ alfa in cows: progesterone, estrogen, LH, estrus and ovulation. *J. Anim. Sci.*, 38(2): 347-53, 1974.
- 10 - MICKELSEN, W.D. & De GROFFT, D. Prostaglandin as an estrus-synchronizing agent in range cattle. *Mod. vet. Pract.*, 55(4): 289-90, 294, 1974.
- 11 - PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 2.ed. Piracicaba, 1963. (Edições Didáticas).
- 12 - ROWSON, L.E.A.; TERVIT, R.; BRAND, A. Synchronization of oestrus in cattle by means of prostaglandin F₂ alfa. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 7^o, Munich, 1972. Summaries. v.2, p.866-9.
- 13 - SHELTON, J.N. Prostaglandin F₂ alfa for synchronization of oestrus in beef cattle. *Aust. vet. J.*, 49: 442-4, 1973.
- 14 - SMITH, J.F. Comparison of prostaglandins and progestagens for control of the ovarian cycle in cattle: Symposium on prostaglandins. Sydney, Australian Society of Reproductive Biology, 1974.
- 15 - WISHART, D.F. Synchronization of oestrus in cattle using a potent progestin (SC 21009) and PGF₂ alfa. *Theriogenology*, 1(3): 87-90, 1974.

Recebido para publicação em 7-2-77
Aprovado para publicação em 3-8-77