

Efeito de Diferentes Concentrações Espermáticas sobre a Fertilidade de Éguas Inseminadas com Sêmen Equino Diluído, Resfriado a 20°C e Transportado

Giovanni Ribeiro de Carvalho¹, José Monteiro da Silva Filho², Marcos Chalhoub Coelho Lima³, Henrique Nunes Oliveira⁴, Maristela Silveira Palhares²

RESUMO - Cento e um ciclos estrais de 92 fêmeas equinas da raça Mangalarga Marchador foram analisados para estudar o efeito de diferentes concentrações espermáticas sobre diferentes características reprodutivas. As éguas foram inseminadas com sêmen diluído resfriado a 20°C e transportado: T1 - concentrações menores que 250 milhões de espermatozoides viáveis ($177,58 \pm 41,74 \times 10^6$); T2 - concentrações entre 250 e 350 milhões ($315,51 \pm 20,78 \times 10^6$); e T3 - concentrações maiores que 350 milhões ($477,71 \pm 136,83 \times 10^6$). As taxas de concepção ao primeiro ciclo foram de 43,75 (7/16); 57,89 (11/19); e 54,55% (18/33) para os tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente. Após cinco ciclos, as taxas de concepção foram, na mesma ordem, 36,00 (9/25); 44,12 (15/34); e 54,76% (23/42). Concentrações de $177,58 \pm 41,74 \times 10^6$ espermatozoides viáveis por dose inseminante suportaram índices de fertilidade razoáveis em um programa comercial usando sêmen resfriado e transportado.

Palavras-chave: equino, concentração espermática, sêmen resfriado, transporte de sêmen

Effect of Different Spermatic Concentration on the Fertility of Inseminated Mares with Diluted Equine Semen, Cooled at 20°C and Transported

ABSTRACT - One hundred and one estral cycles of 92 Mangalarga Marchador breed mares were analyzed to study the effect of different spermatic concentrations on different reproductive characteristics. The mares were inseminated with diluted equine semen, cooled at 20°C and transported: T1 - concentrations below 250×10^6 ($177.58 \pm 41.74 \times 10^6$ viable spermatozoa per inseminate dose), T2 - concentrations between 250 and 350×10^6 spz ($315.51 \pm 20.78 \times 10^6$), and T3 - concentrations above 350×10^6 spz ($477.71 \pm 136.83 \times 10^6$). The conception rates in the first cycle were 43.75 (7/16), 57.89 (11/19) and 54.55% (18/33) for treatments 1, 2 and 3, respectively. After five cycles, the conception rates were 36.00 (9/25), 44.12 (15/34) and 54.76% (23/42) for treatments 1, 2 and 3, respectively. Concentrations of $177.58 \pm 41.74 \times 10^6$ viable spermatozoa per inseminate dose had moderate fertility index in a commercial program using cooled and transported semen.

Key Words: equine, spermatic concentration, cooled semen, transported semen

Introdução

O número recomendado de espermatozoides viáveis por dose inseminante varia de 100×10^6 (DEMICK et al., 1976) a 500×10^6 (PICKETT et al., 1987; TISCHNER, 1988). Entretanto, poucos trabalhos compararam a influência de diferentes números de espermatozoides por dose inseminante sobre a fertilidade de éguas inseminadas. Nestes experimentos, foram utilizados sêmen *in natura* (PICKETT et al., 1975; PALMER, 1984), diluído a fresco (PICKETT et al., 1975; DEMICK et al., 1976; SILVA FILHO et al., 1993; VILARIM et al., 1993), resfriado a 5°C (DEMICK et al., 1976; WITTE, 1989) e a 10°C (DEMICK et al., 1976).

PICKETT et al. (1975), quando compararam a

fertilidade de éguas sub-férteis inseminadas com 100 ou 500×10^6 espermatozoides viáveis por dose inseminante, com sêmen *in natura*, observaram que o número de espermatozoides, dentro do intervalo apresentado, não influenciou a fertilidade.

DEMICK et al. (1976), ao estudarem o efeito do número de espermatozoides sobre a fertilidade de 72 éguas inseminadas, concluíram que, aparentemente, não houve diminuição da fertilidade, em éguas inseminadas com sêmen de garanhões férteis e com concentração de 100×10^6 espermatozoides móveis.

A fertilidade de éguas inseminadas com sêmen *in natura*, com 200×10^6 ou 400×10^6 espermatozoides móveis por dose inseminante, foi comparada por PALMER (1984). Nesse trabalho não se observou

¹ Estudante de Pós-graduação do Dep. Zootecnia da UFV.

² Professor da Escola de Veterinária da UFMG.

³ Professor da Escola de Veterinária da UFBA.

⁴ Professor UNESP Botucatu-SP.

diferença na fertilidade por ciclos, que foi, respectivamente, de 48 (n=122) e 45% (n=152).

WITTE (1989), ao avaliar a influência da dose inseminante sobre o resultado de concepção, não observou diferenças entre os tratamentos. As concentrações totais de espermatozóides por dose inseminante foram: concentrações menores que 250, entre 250 a 300, 300 a 350, 350 a 500 e maiores que 500×10^6 espermatozóides.

Na tentativa de determinar a quantidade mínima de espermatozóides por dose inseminante necessária para obtenção de maior índice concepção/ciclo, na produção de muare, VILARIM et al. (1993) utilizaram sêmen de apenas um jumento da raça Pêga, diluído no meio de mínima contaminação. As éguas inseminadas com 50 e 100×10^6 espermatozóides tiveram menor fertilidade por ciclo ($P < 0,05$) que éguas inseminadas com 200, 400 ou 600×10^6 espermatozóides. Com base nesses dados, esses autores acreditam que o número mínimo de espermatozóides necessários por dose inseminante, sem detrimento da fertilidade, esteja próximo de 200 milhões.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações espermáticas sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado a 20°C e transportado.

Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido em dois haras (haras 1 e haras 2), distantes 15 km um do outro. Foram acompanhadas 92 fêmeas da raça Mangalarga Marchador, pertencentes a diferentes ordens de parto e categorias reprodutivas (potras, éguas solteiras e éguas com potro ao pé), inseminadas por até cinco ciclos, perfazendo um total de 101 ciclos estrais avaliados. Para as inseminações, utilizou-se sêmen de apenas um garanhão de fertilidade conhecida, da raça Mangalarga Marchador, colhido por 118 vezes no haras 1 durante o período experimental. As éguas foram inseminadas com o sêmen diluído no diluidor de lactose gema de ovo (NAGASE e NIWA, 1964) modificado por SILVA FILHO et al. (1987), resfriado a 20°C e transportado para o haras 2 no contêiner MSP-2 (SILVA FILHO et al., 1991), desenvolvido para permitir o resfriamento gradual do sêmen diluído durante o transporte.

Para a análise do efeito de diferentes números de espermatozóides sobre a fertilidade, agruparam-se os dados em três diferentes grupos de concentrações espermáticas: T1 - número de espermatozóides viáveis

por dose inseminante menor que 250×10^6 (n=25 ciclos); T2 - número de espermatozóides viáveis por dose inseminante entre 250 e 350×10^6 (n=34 ciclos); e T3 - número de espermatozóides viáveis por dose inseminante acima de 350×10^6 (n=42 ciclos).

As éguas foram rufiadas individualmente e palpadas de três em três dias até o início do cio e, ou, na presença de um folículo de diâmetro de 25 a 30 mm em um dos ovários, quando os procedimentos se tornaram diários, até a ovulação. As inseminações foram realizadas com volumes variados de sêmen, dependendo do número de éguas a serem inseminadas por dia, por via intra vaginal profunda, a cada 48 horas, a partir da detecção de um folículo com 30 a 35 mm de diâmetro em um dos ovários, até a ovulação. Os diagnósticos de gestação foram realizados a partir do 17º dia após a ovulação e acompanhados até o 60º dia de gestação.

O sêmen foi colhido no haras 1 por intermédio de uma vagina artificial modelo Hannover, onde foi realizado a avaliação dos ejaculados segundo FONSECA et al. (1992). Dentro de um período de 10 minutos após a colheita, o ejaculado foi diluído na proporção de 1:1 com o diluidor, à temperatura de 37°C, e acondicionado em mamadeiras plásticas de 50 mL. Neste momento, o contêiner de transporte foi ajustado para o resfriamento do sêmen adicionando-se água e gelo para obter a temperatura no momento da inseminação de 20°C no haras 2 (CARVALHO et al., 1997).

Os dados proporcionais (taxa de concepção, ciclo/prenhez e prenhez/ciclo) foram analisados pela tabela de contingência (Qui-quadrado). As taxas de concepção também foram analisadas por análise de variância, na tentativa de se detectarem pequenas diferenças entre os tratamentos. Tal procedimento foi possível adotando-se um sistema de pontos utilizados por VOSS et al. (1975), segundo o qual as éguas que conceberam no primeiro ciclo receberam 10 pontos; no segundo ciclo, 8 pontos; no terceiro ciclo, 6 pontos; no quarto ciclo, 4 pontos; no quinto ciclo, 2 pontos; e zero pontos para as que não conceberam. Após a adoção dos pontos, foram obtidas médias denominadas de eficiência de prenhez (SAS, 1985). As comparações entre os tratamentos, no que se refere às variáveis ciclos/égua, ciclo/égua gestante, número de inseminações artificiais (IA)/ciclo, número de IA/ciclo gestante, número de IA/ciclo vazio, volume de sêmen/dose inseminante, número total de espermatozóides/dose inseminante e tempo médio da colheita à IA, foram realizadas pela análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste “t” de Student (SAS, 1985).

Resultados e Discussão

Os resultados das taxas de concepção e dos diferentes parâmetros reprodutivos analisados estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, as taxas de concepção ao primeiro ciclo e concepção/ciclo após quatro ciclos não foram influenciadas pelos tratamentos utilizados.

De igual forma, os seguintes parâmetros reprodutivos, apresentados na Tabela 2, não foram influenciados pelos tratamentos: ciclos/égua, ciclos/égua prenhe, ciclos/prenhez, prenhez/ciclo, número de IA/ciclo, número de IA/ciclo prenhe, número de IA/ciclo vazio, tempo médio da colheita à IA e eficiência de prenhez. Entretanto, observaram-se diferenças ($P < 0,05$) com relação ao número médio de espermatozoides por tratamento, ao volume de sêmen, ao volume de diluidor, ao volume total e à temperatura da água no haras 1.

Não foram encontrados na literatura relatos a respeito da comparação de diferentes números de espermatozoides, quando se utiliza sêmen resfriado a 20°C ou sêmen transportado.

Trabalhos encontrados na literatura a respeito de diferentes números de espermatozoides/dose inseminante em éguas avaliaram apenas taxas de concepção total, não mencionando outros parâmetros. Além disso, as diferentes metodologias utilizadas dificultam a comparação entre os dados desta análise e os da literatura.

Neste experimento, as taxas de concepção ao primeiro ciclo foram numericamente superiores às encontradas por PICKETT et al. (1975), quando trabalharam com éguas sub-férteis com número de espermatozoides viáveis de 100 ou 500x10⁶.

PICKETT et al. (1975), quando compararam a taxa de prenhez ao primeiro ciclo de éguas inseminadas com sêmen diluído em TRIS a 2,4%, com dose inseminante de 100 ou 500 x 10⁶ espermatozoides, obtiveram valores menores aos encontrados neste experimento. Além disso, verificou-se efeito aditivo de um diluidor à base de TRIS a 2,4% e do número de espermatozoides. Já com a utilização de sêmen a fresco sem diluição, com número total de espermatozoides de 500 x 10⁶, os valores foram ligeiramente superiores (61,1%) aos encontrados neste trabalho.

As taxas de concepção ao primeiro ciclo, em relação aos diferentes números de espermatozoides por dose inseminante obtidas neste trabalho, foram ligeiramente superiores às encontradas por PALMER (1984), quando comparou número de espermatozoides viáveis por dose inseminante de 200 e 400 x 10⁶ (48% versus 45%).

Os dados agrupados por PICKETT et al. (1987) apresentaram taxas de fertilidade ao primeiro ciclo semelhantes às deste experimento. Para as éguas inseminadas com 100x10⁶ espermatozoides viáveis, a fertilidade foi de 40,6% e para éguas inseminadas com 500x10⁶, 54,5%.

SILVA FILHO et al. (1993) obtiveram taxa de concepção ao primeiro ciclo um pouco acima das encontradas neste experimento, quando utilizaram número total de espermatozoides viáveis de 200 e 400 x 10⁶ (66,7 versus 65,52%), embora utilizassem sêmen a fresco diluído.

VILARIM et al. (1993), utilizando sêmen de jumento para inseminar éguas, obtiveram fertilidade ao primeiro ciclo de apenas 20%, na presença de dose inseminante de 100x10⁶ espermatozoides, em relação à de 51,6%, ao utilizarem número de espermatozoides viáveis de 200 x 10⁶ ($P < 0,05$). A taxa de concepção no primeiro ciclo neste experimento, para o grupo de número de

Tabela 1 - Taxa de concepção por ciclo estral de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado a 20°C e transportado com diferentes números de espermatozoides viáveis por dose inseminante

Table 1 - Conception rates from mares inseminated with semen diluted, cooled to 20°C and transported with different numbers of the viable spermatozoa

Ciclo Cycle	Tratamento Treatment					
	Nº spzt < 250 x 10 ⁶ (1)		Nº spzt 250-350 x 10 ⁶		Nº spzt > 350 x 10 ⁶	
	Nº ciclos N.cycles	Concepção (%) Conception	Nº ciclos N.cycles	Concepção (%) Conception	Nº ciclos N.cycles	Concepção (%) Conception
1	16(7) ²	43,75	19(11)	57,89	33(18)	54,55
2	8(2)	25,00	10(2)	20,00	5(4)	80,00
3	1(0)	0,00	4(2)	50,00	4(1)	25,00
4	-	-	1(1)	100,00	-	-
Total	25(9)	36,00	34(15)	44,12	42(23)	54,76

¹Nº spzt refere-se ao número de espermatozoides viáveis (N. spzt refers to the numbers of viable spermatozoa).

²Números entre parênteses referem-se às éguas gestantes (Numbers in parenthesis refer to the pregnant mares).

Tabela 2 - Influência de inseminações com diferentes concentrações de espermatozoides viáveis por dose inseminante, sobre algumas características reprodutivas

Table 2 - Influence of the insemination with different concentrations of viable spermatozoa, on some reproductive traits

Item	Tratamento		
	Treatment		
	Nº spztz < 250 x 10 ⁶ (1)	Nº spztz 250-350 x 10 ⁶	Nº spztz >350x 10 ⁶
Número de éguas <i>Number of mares</i>	22	31	39
Número de ciclos <i>Number of cycles</i>	25	34	42
Ciclos/égua <i>Cycles/mares</i>	1,40 ± 0,73	1,64 ± 0,56	1,33 ± 0,70
Ciclos/égua gestante <i>Cycles/pregnant mares</i>	1,22 ± 0,67	1,40 ± 0,62	1,26 ± 0,45
Ciclos/prenhez <i>Cycle/gestation</i>	2,78 (25/9)	2,27 (34/15)	1,87 (42/23)
Prenhez/ciclo <i>Gestation/cycle</i>	0,36	0,44	0,53
Número de IA/ciclo <i>Number of AI/cycle</i>	1,92 ± 0,88	1,97 ± 0,85	2,33 ± 1,15
Número de IA/ciclo gestante <i>Number of AI/pregnant cycle</i>	1,67 ± 0,88	1,87 ± 0,72	2,56 ± 1,26
Número de IA/ciclo vazio <i>Number of AI/non pregnant cycle</i>	2,06 ± 0,89	2,05 ± 0,99	2,05 ± 0,97
Volume de sêmen (mL) <i>Semen volume</i>	8,79 ± 2,17 ^{ab}	7,78 ± 1,99 ^a	9,11 ± 2,17 ^b
Volume do diluidor (mL) <i>Extender volume</i>	8,93 ± 2,07 ^{ab}	8,29 ± 1,69 ^a	9,41 ± 1,45 ^b
Volume inseminante (mL) <i>Inseminant dose</i>	17,72 ± 4,20	16,07 ± 3,47 ^a	18,52 ± 3,37 ^b
Temp. da água haras 1 (°C) <i>Water temperature farm 1</i>	26,28 ± 1,88 ^b	27,74 ± 1,44 ^a	26,19 ± 2,25 ^b
Temp. da água haras 2 (°C) <i>Water temperature farm 2</i>	19,44 ± 1,22	19,74 ± 1,30	19,62 ± 0,86
Temp. sêmen haras 2 (°C) <i>Semen temperature farm 2</i>	19,74 ± 1,16	20,03 ± 1,16	20,13 ± 0,84
Nº spztz viáveis/dose (x10 ⁶) <i>Number viable spztz/dose</i>	177,58 ± 41,74 ^a	315,51 ± 20,78 ^b	477,71 ± 136,83 ^c
Tempo de colheita à IA (min) <i>Interval from semen collection to AI</i>	62,04 ± 14,32	66,38 ± 14,48	69,10 ± 16,41
Eficiência de prenhez <i>Pregnancy efficiency</i>	3,44	4,06	5,19

¹ Nº spztz refere-se ao número de espermatozoides viáveis (Nº spztz refer to the number of viable spermatozoa).

Médias na linha seguidas por letras diferentes são diferentes (P<0,05) (Means within a row followed by different letters are different (P<0.05)).

espermatozoides viáveis por dose inseminante inferiores a 250x10⁶ (média de 177,58 x 10⁶), foi de 36%, próximo ao valor obtido por esses autores. Além disso, quando se aumentou o número de espermatozoides por dose inseminante nestes dois experimentos, não houve incremento da taxa de concepção, a partir de 100 x 10⁶ e 177,58 x 10⁶ respectivamente.

As taxas de concepção por ciclo, na presente análise, para os três tratamentos, foram próximas às obtidas por PICKETT et al. (1975), que utilizaram doses inseminantes de 100 ou 500 milhões de espermatozoides viáveis, demonstrando que os diferentes números de espermatozoides não influencia-

ram a fertilidade. Entretanto, ao compararem a taxa de concepção por ciclo, após quatro ciclos, com sêmen diluído em TRIS a 2,4% com dose inseminante de 100 ou 500 x 10⁶, obtiveram valores menores (P<0,05) para a primeira concentração. Portanto, a utilização de grande número de espermatozoides por dose inseminante (500 x 10⁶) pode mascarar os efeitos nocivos e oferecer compensação para um diluidor de qualidade ruim. Assim, pode-se admitir que o diluidor utilizado (lactose gema de ovo) não se mostrou deletério, mesmo quando se utilizaram números inferiores a 250x10⁶ espermatozoides por dose inseminante.

As taxas de concepção por ciclo obtidas por WITTE (1989), para diferentes números de espermatozoides viáveis por dose inseminante, foram semelhantes às obtidas neste experimento. Vale ressaltar que a média do grupo inferior a 250×10^6 espermatozoides ($177,58 \pm 41,74 \times 10^6$) foi menor que qualquer das concentrações utilizadas por WITTE (1989).

A diferença significativa observada entre volumes de sêmen nos tratamentos 2 e 3 poderia ser explicada pela variabilidade da concentração de espermatozoides por mililitro em diferentes ejaculados do garanhão utilizado. De qualquer forma, os volumes da dose inseminante, utilizados para os três tratamentos, estão dentro de uma amplitude de 0,6 a 26,8 mL, não tendo nenhum efeito sobre a fertilidade (PICKETT et al., 1987).

A diferença entre a temperatura da água do tratamento 2 em relação aos demais, provavelmente, tenha sido casual, em virtude do delineamento utilizado.

Segundo DEMICK et al. (1976) e PICKETT et al. (1987), parece que éguas férteis podem ser inseminadas com quantidade tão pequena quanto 100 milhões de espermatozoides com motilidade progressiva, proveniente de garanhões altamente férteis, sob condições ideais, sem que a fertilidade seja reduzida.

Conclusões

O número de espermatozoides por dose inseminante de $177,58 \pm 41,74 \times 10^6$ foi suficiente para utilização de sêmen diluído, resfriado a 20°C e transportado por curto período de tempo, sem prejuízos à fertilidade. Esta constatação é importante para atender à prerrogativa de que o sêmen deve ser utilizado de maneira mais econômica possível, para maximizar o número de éguas cobertas por garanhão em determinada estação de monta.

Referências Bibliográficas

- CARVALHO, G.R., SILVA FILHO, J.M., FONSECA, F.A. et al. Fertilidade do sêmen equino diluído, resfriado a 20°C e transportado. *R. Bras. Zootec.*, v.26, n.3, 473-478, 1997.
- DEMICK, D.S., VOSS, J.L., PICKETT, B.W. Effect of cooling, storage, glycerolization and spermatozoa numbers on equine fertility. *J. Anim. Sci.*, v.43, n.3, 633-637, 1976.
- FONSECA, V.O., VALE FILHO, V.R., MIES FILHO, A. et al. Procedimentos para o exame andrológico e avaliação do sêmen animal. *Colégio Bras. Reprod. Anim.*, 79p, 1992.
- NAGASE, H., NIWA, T. Deep freezing bull semen in concentrated pellet form. In INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 5, Trento, 1964. *Proceedings...* Trento, v.4, p.410-415, 1964.
- PALMER, E. Factors affecting stallion semen survival and fertility. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 10, Urbana-Champaign, 1984. *Proceedings...* Urbana-Champaign, University of Illinois, v.3, 377-379, 1984.
- PICKETT, B.W., BURWASH, L.D., VOSS, J.L. et al. Effect of seminal extenders on equine fertility. *J. Anim. Sci.*, v.40, n.6, 1136-1143, 1975.
- PICKETT, B.W., SQUIRES, E.L., AMANN, R.P. et al. *Procedures for collection, evaluation and utilization of stallion semen for artificial insemination*. Fort Collins. Colorado State University, Anim. Reprod. Laboratory, 1987 (Bulletin 3).
- SILVA FILHO, J.M., PALHARES, M.S., BERGMANN, J.A.G. Inseminação artificial em equinos incluindo transporte de sêmen. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7, Belo Horizonte, 1987. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1987, p78.
- SILVA FILHO, J.M., PALHARES, M.S., FONSECA, F.A. et al. Fertilidade do sêmen equino transportado. III. Utilização de um novo procedimento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9, Belo Horizonte, 1991. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1991. P.369.
- SILVA FILHO, J.M., SATURNINO, H.M., PALHARES, M.S. et al. Efeito do intervalo entre as duas últimas inseminações e da concentração espermática sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fresco e diluído. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10, Belo Horizonte, MG, 1993. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1993. P 264.
- TISCHNER, M. Problems of semen preservation and artificial insemination in the horses. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 11, Dublin. *Proceedings...* Dublin: University College Dublin, 1988. v.5, p 354-362, 1988.
- VILARIM, S.F.L., BRITO, Z.B., HENRY, M. Número mínimo de espermatozoides necessário por dose inseminante na produção de muare. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10, Belo Horizonte, MG, 1993. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1993, p 265.
- VOSS, J.L., PICKETT, B.W., BACK, D.G. et al. Effect of rectal palpation on pregnancy rate of nonlactating, normally cycling mares. *J. Anim. Sci.*, v.41, n.3, 829-834, 1975.
- WITTE, A. Untersuchungen zur flüssigkonservierung von pferdesperma unter verwendung verschiedener verdünnungsmethoden - labor - und felduntersuchungen. Hanover *Tierärztlichen Hochschule Hannover*, 1989. 89p. (Thesis - DMV).

Recebido em 12/08/97

Aceito em 29/04/98