

# EFEITO DAS TÉCNICAS TRANSCERVICAL E LAPAROSCÓPICA SOBRE A TAXA DE PRENHEZ DE OVELHAS INSEMINADAS EM TEMPO-FIXO

VIVIANE ROHRIG RABASSA,<sup>1</sup> VINÍCIUS COITINHO TABELÃO,<sup>2</sup> LUIZ FRANCISCO MACHADO PFEIFER,<sup>3</sup>  
AUGUSTO SCHNEIDER,<sup>4</sup> EVÂNIO ALCIDES ZIGUER,<sup>4</sup> EUNICE SCHOSSLER,<sup>5</sup> NEIMAR C. SEVERO,<sup>5</sup>  
FRANCISCO AUGUSTO BURKET DEL PINO<sup>6</sup> E MARCIO NUNES CORRÊA<sup>7</sup>

- 
1. Médica veterinária, mestranda em Veterinária – UFPel - Faculdade de Veterinária - Departamento de Clínica Veterinária - Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) - Campus Universitário – 96010 900 - Pelotas, RS, Brasil.  
E-mail: vivianer@ufpel.edu.br; nupeec@ufpel.edu.br.
2. Médico veterinário, mestre em Veterinária. / 3. Médico veterinário, doutorando em Zootecnia – UFPel.  
4. Graduando em Medicina Veterinária - UFPel. / 5. Médico veterinário.
6. Bioquímico, doutor, professor adjunto – Departamento de Bioquímica – UFPel.
7. Médico veterinário, M.C., doutor, professor adjunto – Departamento de Clínicas Veterinária – UFPel.

---

## RESUMO

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixo. A taxa de prenhez para as técnicas transcervical e laparoscópica foi de 40% ( $p>0.05$ ). Quanto ao local de deposição do sêmen na inseminação artificial (IA) transcervical, não houve dife-

rença na taxa de prenhez ( $p>0.05$ ), com taxas de 25.0% na cervical superficial, 43.7% cervical médio, 41.7% cervical profundo e 50.0% intra-uterino. Estes resultados demonstram que a IA transcervical apresenta resultados semelhantes aos obtidos com o uso de laparoscopia, quando estas técnicas são realizadas em tempo-fixo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cérvix, intrauterino, sêmen congelado, tracionamento.

---

## ABSTRACT

### EFFECT OF TRANSCERVICAL TECHNIQUES AND LAPAROSCOPY ON PREGNANCY RATE OF SHEEP INSEMINATED IN FIXED-TIME

The objective of this experiment was to evaluate the effect of the transcervical and laparoscopic techniques on the pregnancy rate of inseminated sheep in fixed-time. The pregnancy rate for the transcervical and for laparoscopic techniques was 40% ( $p>0.05$ ). About the place of deposition of the semen in transcervical artificial insemination (AI),

there was not difference in the pregnancy rate ( $p>0.05$ ), with rates of 25.0% in the superficial cervical, 43.7% in medium cervical, 41.7% in deep cervical and 50.0% intrauterine. These results demonstrate that transcervical AI showed similar results to the obtained with laparoscopy, when these techniques are accomplished in fixed-time.

**KEY WORDS:** Cervix, intrauterine, frozen semen, traction.

## INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) com sêmen congelado é uma biotécnica reprodutiva ainda pouco

utilizada na espécie ovina. Um dos principais fatores limitantes ao uso desta técnica é a baixa resistência do sêmen de carneiro ao congelamento, provocando a diminuição da sua qualidade após tal processo.

Para que sejam alcançados bons resultados com sêmen congelado, este precisa ser depositado no interior do útero. Porém, este procedimento é dificultado pelas características anatômicas da cérvix da ovelha, a qual apresenta anéis tortuosos e reduzido diâmetro de orifício (KERSHAW et al., 2005).

Para que seja possível a utilização de sêmen congelado, foi desenvolvida a técnica de IA intra-uterina por laparoscopia (KILLEN & CAFFERY, 1982; GHALSASI & NIMBKAR, 1996). Esta técnica, contudo, tem várias limitações, por se tratar de um procedimento cirúrgico e exigir a utilização de equipamentos de alto custo e mão-de-obra especializada, sendo economicamente inviável na maioria das propriedades de criação ovina (EVANS & MAXWELL, 1987).

A IA com sêmen fresco e resfriado é a técnica mais utilizada na espécie ovina, pois permite a realização de inseminação cervical superficial, sendo essa uma técnica menos complexa e mais barata que a IA intra-uterina. Porém, essa técnica apresenta como desvantagem o reduzido tempo de conservação do sêmen, não permitindo a ampla difusão do material genético de animais considerados superiores (SALAMON & MAXWELL, 2000).

Na tentativa de diminuir os custos da IA com sêmen congelado e permitir que essa técnica seja mais difundida na espécie ovina, foi desenvolvida a técnica de IA transcervical, a qual teria maior aplicabilidade por ser um método não-cirúrgico. Para que a sua utilização seja possível, diminuindo a barreira causada pelas limitações anatômicas, foram estudadas várias técnicas. Dentre elas, a utilização de substâncias como a ocitocina, que causa uma maior dilatação da cérvix (SAYRE & LEWIS, 1996), e a utilização de cateter flexível, todas apresentando resultados variáveis quanto à taxa de concepção (NAQVI et al., 1998). Ainda, com a mesma meta de reduzir os prejuízos decorrentes da dificuldade anatômica da IA transcervical, foi desenvolvida a técnica de fixação da cérvix e tracionamento até a abertura vulvar, diminuindo com essa manobra a sua sinuosidade (HALBERT et al., 1990).

As lesões causadas pela pipeta inseminante na mucosa da cérvix são um dos principais fatores limitantes da técnica de IA transcervical. O grau das

lesões é proporcional à profundidade da cérvix que é alcançada na IA, podendo causar complicações graves como abscessos e piometra, quando são atingidas as porções cervical profunda e intra-uterina (CAMPBELL et al., 1996). Além disso, a utilização de pinça de Allis para efetuar o tracionamento da cérvix também pode levar à ocorrência de lesões na mucosa.

Outros fatores a afetar a eficácia da IA transcervical dizem respeito às variações individuais quanto à conformação da cérvix, época do ano (melhores resultados durante a estação reprodutiva) e número de parições, sendo observado um aumento na taxa de penetração da cérvix conforme aumenta o número de partos na vida de uma fêmea, tendo eficácia extremamente baixa em nulíparas (WINDSOR, 1995).

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixado.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em propriedade localizada no município de Dom Pedrito, RS, durante o período de anestro estacional da espécie ovina (maio/junho).

Utilizaram-se setenta ovelhas múltiplas, da raça Corriedale, mantidas em campo nativo, em manejo extensivo, com condição corporal (CC) entre 2 e 3 (RUSSEL et al., 1969), sendo que 5,7 % apresentavam-se em CC 2, 88,6 % em CC 2,5 e 5,7 % em CC 3.

As ovelhas tiveram os cios sincronizados através de protocolo utilizando pessário intravaginal, contendo 60 mg de acetato de medroxi-progesterona (Progespon<sup>®</sup>, Tecnopec, SP, Brasil), mantido por onze dias e 500 UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon 5000<sup>®</sup>, Tecnopec, SP, Brasil), aplicado no dia da retirada dos pessários. A expressão de cio das ovelhas foi monitorada duas vezes ao dia, a partir da retirada dos pessários (11<sup>o</sup> dia) até o 16<sup>o</sup> dia do experimento, com a utilização de rufiões preparados por meio da técnica de desvio do pênis. Estes machos sofreram o desvio peniano para o lado di-

reito, localizando-se na parede ventro-lateral do abdômen. Para marcação das fêmeas em cio foi usada tinta de cor azul na região esternal dos rufiões, sendo estes mantidos numa proporção de 1:10 fêmeas.

As fêmeas foram inseminadas em tempo-fixo (IATF), entre 52 e 60 horas após a retirada dos pessários (13° dia). Para a inseminação artificial, dividiram-se as fêmeas aleatoriamente em dois grupos de acordo com a técnica a ser utilizada. Submeteram-se os animais do grupo 1 (n=40) à técnica de IA transcervical, por meio de fixação e tracionamento da cérvix até a abertura vulvar. Para os animais pertencentes ao grupo 2 (n=30) procedeu-se à IA intra-uterina por laparoscopia. Todas as fêmeas encontravam-se em jejum prévio de 24 horas à realização da IA.

Na IA utilizou-se sêmen congelado de dois reprodutores da raça Dorper (n=35), empregando-se o *pool* dos ejaculados, e um reprodutor Corriedale (n=35), tendo sido distribuídos igualmente entre os grupos de IA transcervical e por laparoscopia. Coletaram-se os ejaculados através de vagina artificial, utilizando-se somente aqueles que apresentavam como parâmetros mínimos 70% de motilidade (0%–100%) e 85 % de espermatozóides normais pré-congelamento, e 40% de motilidade (0-100%), vigor 4 (1-5) e  $60 \times 10^6$  espermatozóides vivos por palheta após o descongelamento. O sêmen foi envasado com concentração de  $150 \times 10^6$  espermatozóides, em palhetas de 0,25 mL, utilizando-se diluente à base de TRIS (tris hidroximetil aminometano), frutose, ácido cítrico, gema de ovo, glicerol e antibiótico (ANEL et al., 2003). Procedeu-se à curva de resfriamento mediante a queda da temperatura de 30°C para 5°C em 1,5 horas, e a curva de congelamento por meio da manutenção das palhetas por dois minutos em vapor de nitrogênio e posterior imersão em nitrogênio líquido, alcançando a temperatura de -196°C. Armazenaram-se as palhetas em botijão de nitrogênio líquido com capacidade para 720 doses de sêmen (MVE XC 20 – ABS Pecplan, Brasil). No momento da IA, o sêmen foi descongelado por meio de imersão em água a 37°C por um minuto.

Para a realização da IA transcervical, coloca-

ram-se as fêmeas em maca de contenção em decúbito dorsal, posicionadas num ângulo de 45° em relação ao solo. Realizaram-se limpeza da região vulvar com papel-toalha e colocação de espéculo vaginal. Com o auxílio de pinça Allis, fizeram-se a fixação da entrada da cérvix e o seu tracionamento até a abertura vulvar. A pinça foi esterilizada previamente e mantida em solução de iodo 2% entre os procedimentos. Com o tracionamento da cérvix foi possível manipular o aplicador de sêmen (IMVÒ) através dos anéis cervicais, permitindo a deposição do sêmen em porções profundas da cérvix e no corpo do útero, sendo classificado o local de deposição do sêmen em cervical superficial, cervical médio, cervical profundo e intra-uterino. Realizou-se essa técnica por cinco inseminadores, todos eles tendo recebido treinamento para sua execução (HALBERT et al., 1990).

A IA por laparoscopia foi realizada com as fêmeas contidas em maca, em decúbito dorsal, numa angulação de 45° em relação ao solo, promovendo-se anestesia local na região ventral com Lidocaína a 2%, em dois pontos localizados caudalmente ao umbigo e lateralmente à linha média. Realizou-se a laparoscopia com aparelho da marca Karl Storz (Germany), introduzindo-se o laparoscópio no abdômen através de trocaterização nos pontos anestesiados, mediante o emprego de dois trocateres de 7 mm. Por meio de um dos trocateres procedeu-se à insuflação da cavidade abdominal com gás carbônico e penetração do telescópio, enquanto que por intermédio do outro trocater foi introduzido um manipulador para localização do útero e, posteriormente, uma pipeta inseminante, adaptada a uma seringa de 1 mL, através de uma conexão de borracha. A pipeta utilizada apresentava uma extremidade perfurante, permitindo a sua introdução na luz uterina, sendo depositada metade da dose de sêmen (0,125 mL) em cada corno uterino (KILLEN & CAFFERY, 1982).

Obteve-se a taxa de concepção após exame de ultra-sonografia transcutânea, mediante o emprego de sonda linear de 5 MHz (ANSER VET 450, Pie Medical), 45 dias após o término do protocolo de sincronização de cios.

Para análise estatística dos resultados foi utilizado o programa STATISTIX® (2003), empregan-

do-se testes de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e exato de Fisher, testando relações entre métodos de inseminação, inseminadores e local de deposição do sêmen na técnica de inseminação transcervical e sêmen utilizado nas técnicas de IA e a taxa de concepção.

## RESULTADOS

A taxa de expressão de cio foi de 97,1%, com uma distribuição de cios após a retirada dos pessários intravaginais de 7,4% após 24 horas, 23,5% após 36 horas, 50,0% após 48 horas e 19,1% após 60 horas. Não houve diferença entre horários de expressão de cio quanto à taxa de prenhez ( $P>0,05$ ), como pode ser observado na Tabela 1.

Tanto as ovelhas inseminadas via transcervical como as inseminadas por laparoscopia apresentaram taxa de prenhez de 40%, não diferindo, portanto, entre si ( $P>0,05$ ). Observaram-se dezesseis ovelhas prenhes de um total de quarenta, no grupo em que se utilizou IA via transcervical, e doze de um total de trinta animais.

Quanto à influência da habilidade dos inseminadores na taxa de concepção, não se verificou diferença estatística significativa ( $P>0,05$ ). O número de animais inseminados por cada um dos inseminadores e a respectiva taxa de prenhez são descritos na Tabela 2.

Quanto ao local de deposição do sêmen na IA transcervical, classificado de acordo com o maior grau de penetração da pipeta inseminante na cérvix em cervical superficial, cervical médio, cervical profundo ou intrauterino, não houve diferença na taxa de concepção ( $P>0,05$ ). A frequência de distribuição do local de deposição do sêmen e a respectiva taxa de prenhez podem ser observadas na Tabela 3.

Os carneiros utilizados na IA não diferiram quanto à influência na taxa de prenhez ( $P>0,05$ ), visto que, tanto com o *pool* dos ejaculados dos carneiros da raça Dorper ( $n=35$ ) quanto com o carneiro Corriedale ( $n=35$ ), foram obtidas taxas de prenhez de 40% ( $n=14$ ).

**TABELA 1.** Frequência de distribuição do tempo (em horas) entre a retirada dos pessários intravaginais e a expressão de cio e respectivas taxas de prenhez ( $n=68$ ).

Horário da expressão de cio (horas)	N (%)	Taxa de prenhez em % <sup>1</sup> (n)
24	5 (7,4)	60,0 (3)
36	16 (23,5)	56,2 (9)
48	34 (50,0)	38,2 (13)
60	13 (19,1)	23,1 (3)
Total	68 (100,0)	40,0 (28)

1. Valores não diferem significativamente ( $P>0,05$ ).

**TABELA 2.** Número de fêmeas inseminadas e taxa de prenhez por inseminador ( $n=40$ ).

Inseminador	N (%)	Taxa de prenhez em % <sup>1</sup> (n)
1	6 (15,0)	33,3 (2)
2	7 (17,5)	28,6 (2)
3	7 (17,5)	57,1 (4)
4	9 (22,5)	55,5 (5)
5	11 (27,5)	27,3 (3)
Total	40 (100,0)	40,0 (16)

1. Valores não diferem significativamente ( $P>0,05$ ).

**TABELA 3.** Frequência de distribuição e taxa de concepção por local de deposição do sêmen na IA transcervical ( $n=40$ ).

Local de deposição do sêmen	N (%)	Taxa de prenhez em % <sup>1</sup> (n)
Cervical superficial	8 (20)	25,0 (2)
Cervical média	16 (40)	43,7 (7)
Cervical profunda	12 (30)	41,7 (5)
Intra-uterina	4 (10)	50,0 (2)
Total	40 (100)	40,0 (16)

1. Valores não diferem significativamente ( $P>0,05$ ).

## DISCUSSÃO

Apesar de não ter havido diferença estatística, pode-se observar uma tendência de redução da taxa de prenhez quando a manifestação de cio ocorreu mais tardiamente, em relação ao término do tratamento hormonal. Isto se deve provavelmente à ocorrência de um período de tempo muito longo entre a IA e a ovulação.

Um dos principais fatores limitantes da eficácia da IA transcervical é a baixa taxa de penetração da cérvix, quando esta técnica é realizada durante o período de anestro, como demonstrado por WINDSOR (1995). Esse autor obteve 21,1% (ovelhas com 3 anos de idade) e 41,2% (ovelhas com 4 anos de idade) de taxa de penetração da cérvix fora da estação reprodutiva, diante de 79,3% e 83,3%, respectivamente, quando a IA foi realizada durante a estação reprodutiva.

A taxa de penetração da cérvix foi similar neste estudo aos resultados obtidos por NAQVI et al. (1998), que obtiveram taxas de 14,8%, 40,4% e 44,7% de penetração cervical superficial, média e profunda, respectivamente, sem realizar a fixação e tracionamento da cérvix. Porém, as taxas de prenhez foram de 0%, 28,5% e 27,2%, respectivamente, sendo inferiores aos resultados obtidos neste experimento. Isto se deve, provavelmente, à maior manipulação da cérvix exercida pela pipeta inseminante quando esta não é fixada. Neste experimento pôde-se notar uma tendência de elevação da taxa de prenhez quando se aprofunda o local de deposição do sêmen, porém, não foi observada diferença estatística, em virtude do número reduzido de observações.

A habilidade do inseminador na realização da IA transcervical tem influência nos resultados obtidos com esta técnica (WINDSOR et al., 1994). Neste experimento, este efeito não foi observado, porém pode-se observar uma diferença numérica considerável, o que pode ser explicado pelo pequeno número de inseminações realizadas por cada inseminador.

Os resultados obtidos com a técnica de IA por laparoscopia são influenciados por fatores como época do ano, tratamento hormonal utilizado na sin-

cronização de cios, método de preservação do sêmen utilizado (fresco ou congelado) e número de ovelhas inseminadas por hora (HILL et al., 1998). A taxa de prenhez nas ovelhas inseminadas por laparoscopia neste experimento foi semelhante ao resultado obtido por SAYRE & LEWIS (1996), que obtiveram 37,5 % de prenhez realizando a IA 54 horas após a remoção dos pessários intravaginais, porém utilizando sêmen fresco, numa concentração de  $200 \times 10^6$  espermatozoides/0,25 mL.

Os resultados obtidos com a utilização de sêmen congelado são inferiores aos obtidos com sêmen fresco ou resfriado, tanto com o emprego da IA transcervical (SALAMON & MAXWELL, 1995) quanto com a utilização de IA por laparoscopia (DONOVAN et al., 2004), o que pode ter influenciado negativamente nos resultados obtidos neste experimento.

O período de tempo entre a retirada dos pessários intravaginais e a realização da IA têm grande influência nos resultados obtidos quando é utilizado sêmen congelado, em razão de alterações espermáticas causadas pelo descongelamento (SALAMON & MAXWELL, 1995). O momento de ovulação tem variado dentro e entre os rebanhos de ovelhas com estro sincronizado, afetando diretamente a eficiência dos programas de IATF. O tempo entre a retirada da esponja e o início do estro é determinado pelo tipo de esponja empregada e também por outros fatores como a estação do ano, idade do animal, estado nutricional, lactação, tipo de progesterona, uso de eCG, entre outros (ROMANO et al., 2001). Assim, é necessária a utilização de protocolos hormonais de sincronização de ovulações mais eficientes, determinando uma maior concentração da manifestação de cios no rebanho, para que sejam alcançados melhores resultados com o emprego de sêmen congelado.

Alguns dos resultados obtidos neste experimento podem não ter se mostrado com diferença estatística para um nível de significância de  $P < 0,05$  diante do número de animais utilizado. Assim, sugere-se a realização de outros estudos utilizando um número maior de animais, bem como ovelhas com atividade ovariana cíclica, portanto, na estação reprodutiva.

Assim, além de a IA transcervical possibilitar taxas de prenhez semelhantes às obtidas com o uso de laparoscopia, quando essa técnica é realizada em tempo-fixo e com sêmen congelado, os resultados foram satisfatórios considerando a condição de anestro das fêmeas, o que possibilita a ocorrência de três partos em dois anos.

### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que a IA transcervical é uma boa alternativa para que seja possível a utilização de IA com sêmen congelado como rotina na criação de ovinos. Nas condições deste estudo, utilizando-se inseminação em tempo-fixo com sêmen congelado e ovelhas em anestro estacional, não foram observadas diferenças nas taxas de prenhez de fêmeas inseminadas pela técnica transcervical ou por laparoscopia.

### AGRADECIMENTOS

À ABS/PECPLAN, CNPq e CAPES, pelo financiamento desta pesquisa.

### REFERÊNCIAS

ANEL, L.; DE P A Z, P.; ALVAREZ, M.; CHAMORRO, C. A.; BOIXO, J. C.; MANSO, A.; GONZÁLEZ, M.; KAABI, M.; ANEL, E. Field and in vitro assay of three methods for freezing ram semen. **Theriogenology**, v. 60, p. 1293-1308, 2003.

CAMPBELL, J. W.; HARVEY, T. G.; MCDONALD, M. F.; SPARKSMAN, R. I. Transcervical insemination in sheep: an anatomical and histological evaluation. **Theriogenology**, v. 45, p. 1535-1544, 1996.

DONOVAN, A.; HANRAHAN, J. P.; KUMMEN, E.; DUFFY, P.; BOLAND, P. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 84, p. 359-368, 2004.

EVANS, G.; MAXWELL, W. **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. Sidney: Butterworths, 1987. 189 p.

GHALSASI, P. M.; NIMBKAR, C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 23, p. 69-73, 1996.

HALBERT, G. W.; DOBSON, H.; WALTON, J. S.; BUCKRELL, B. C. A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. **Theriogenology**, v. 33, p. 993-1010, 1990.

HILL, J. R.; THOMPSON, J. A.; PERKINS, N. R. Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28,447 Merino ewes under commercial conditions: a survey. **Theriogenology**, v. 49, p. 697-709, 1998.

KERSHAW, C. M.; KHALID, M.; MCGOWAN, M. R.; INGRAM, K.; LEETHONGDEE, S.; WAX, G.; SCARAMUZZI, R. J. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**, v. 64, p. 1225-1235, 2005.

KILLEN, I. D.; CAFFERY, G. J. Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. **Australian Veterinary Journal**, v. 59, p. 95, 1982.

NAQVI, S. M. K.; JOSHI, A.; BAG, S.; PAREEK, S. R.; MITTAL, J. P. Cervical penetration and transcervical AI of tropical sheep (Malpura) at natural oestrus using frozen-thawed semen. **Small Ruminant Research**, v. 29, p. 329-333, 1998.

ROMANO, J. E.; FERNANDEZ ABELLA, D.; VILLEGAS, N. A note on the effect of continuous ram presence on estrus onset, estrus duration and ovulation time in estrus synchronized ewes. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 73, p. 193-8, 2001.

RUSSEL, A. J. F.; DONEY, J. M.; GUNN, R. G. Subjective assessment of body fat in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v. 72, p. 451-454, 1969.

SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. C. Frozen storage of ram semen II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. **Animal Reproduction Science**, v. 38. p. 1-36, 1995.

SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. C. Storage of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v. 62, p. 77-111, 2000.

SAYRE, B. L.; LEWIS, G. S. Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. **Theriogenology**, v. 45, p. 1523-1533, 1996.

STATISTIX®. **Statistix for Windows User's Manual**. Tallahassee: Ed. Analytical Software, 2003.

WINDSOR, D. P.; SZELL, A. Z.; BUSCHBCK, C.; EDWARD, A. Y.; MILTON, J. T. B.; BUCKRELL, B. C. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen semen. **Theriogenology**, v. 42, p. 147-157, 1994.

WINDSOR, D. P. Factors influencing the success of transcervical insemination in Merino ewes. **Theriogenology**, v. 43, p. 1009-1018, 1995.

---

Protocolado em: 9 maio 2006. Aceito em: 11 out. 2006.