

VACA REPETIDORA Y MORTALIDAD EMBRIONARIA

Renato Gatica¹

RESUMEN

En este artículo se analiza las causas, efectos y posibles soluciones de las repeticiones de servicios de inseminación en las vacas. Las causas de repetición se agrupan en fallas en la ovulación, en la fecundación y mortalidad embrionaria. Se hace énfasis en la etiopatogenia de la mortalidad embrionaria como base del control y eventuales tratamientos. Se estima que las pérdidas por no fecundación son menores, así como también las muertes embrionarias por fallas en la fecundación por problemas cromosómicos. La mayor incidencia de mortalidad embrionaria ocurre entre los 8 y 18 días post inseminación, período crítico en el establecimiento de la relación embrio-materna por lo que esto se discute más detalladamente.

1. INTRODUCCIÓN.

Se considera una vaca repetidora a aquella vaca que luego de 3 ó 4 servicios no queda preñada, y que al examen clínico reproductivo se encuentra morfofisiológicamente normal, con ovarios que demuestran ciclicidad, con ciclos estrales regulares y con un útero sano. Es difícil dar una prevalencia poblacional del problema, más bien es posible dar índices de casos y hacer un análisis de lo que puede considerarse un valor aceptable de la condición de vaca repetidora que correspondería en forma aproximada al grupo de animales infértiles o subfértiles del rebaño. Al considerar un 60% de preñez en cada servicio de inseminación en un rebaño sano, luego del tercer servicio el 94% del rebaño estaría preñado, el porcentaje de vaca repetidora sería un 6%. La literatura reporta valores de 10,2 a 18,0 % en diferentes países (Pereira y Linares, 1986). En la práctica veterinaria es posible observar que estos valores son muy variables y que en determinadas ocasiones pueden ser excedidos. Las causas de que una vaca repita servicios sin encontrar al examen clínico una patología evidente se describen a continuación.

¹ Veterinario, Ph.D. Instituto de Reproducción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile.

FALLAS EN LA OVULACIÓN.

ANOVLACION.

Si bien vaca condición puede no entrar en la definición de vaca repetidora por presentar la anovulación una caracterización clínica, la falta de cuerpo lúteo, es conveniente mencionarla por su posible participación en el síndrome. La anovulación se presenta por una deficiencia en la descarga ovulatoria de Hormona Luteinizante (LH), lo que en la mayoría de los casos lleva a una formación de quistes ováricos (condición clínica evidente que escapa a esta conferencia). Sin embargo, Tanabe y Almquist (1953) han reportado un 3% de anovulación y posterior atresia folicular en vacas repetidoras. Al existir atresia y no haber cuerpo lúteo las vacas que sufren esta condición debieran llegar a tener un folículo ovulatorio, y eventualmente un celo, en un período semejante al largo de una onda folicular, el que se puede estimar de acuerdo a los trabajos de Savio et al (1966), en 7 u 8 días. De esta manera la vaca presentará ciclos cortos y no se encontrará cuerpo lúteo al examen clínico reproductivo.

OVULACION RETARDADA.

LA OVULACIÓN ocurre en la vaca a las 10 a 12 horas de terminado el estro, sin embargo esta situación puede sufrir un atraso y la vaca ovulará 24 horas más tarde. La formación del cuerpo lúteo se retrasará en un día, lo que no afectará el largo del ciclo normal. Como causa de esta condición se mencionan deficiencias en Beta caroteno y manganeso (Cerloff y Morrow, 1989). En experiencias personales en el sur de Chile se determinó ovulación retardada por tacto rectal en las vacas en celo e inseminadas, al saber que una causa de esta condición podía ser una deficiencia de manganeso se determinó este mineral en sangre el que estaba en valores subnormales. Las vacas fueron tratadas con una solución de manganeso por vía subcutánea con lo que tuvieron servicios por preñez iguales a las vacas que no presentaban la patología, asociado a esto el predio tenía 3 condiciones reportadas en la deficiencia de manganeso: 1) sobrecultivo para aumentar el pH del suelo, 2) ingesta de tierra por los vacas problema, 3) terneros al nacimiento con los miembros anteriores encorvados.

La ovulación retardada puede ser causa de falla en la fecundación por una asincronía en la viabilidad de los gametos ya que al momento de la ovulación no habrá espermatozoides vivos y no habrá concepción, por otra parte, si hubiese fecundación el envejecimiento de los espermatozoides puede condicionar una falla cromosómica en la fecundación y al momento de estar en el útero, con lo que ocurrirá el mismo efecto, no preñez y repetición de servicio.

Gustafsson et al (1986), encontraron que había un retraso en el alza ovulatoria de LH en relación al inicio del estro, y consecuentemente en la ovulación, en vacas repetidoras. Si hay atraso en la liberación de LH y en la ovulación, la inyección de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) podría solucionar el problema. Varios trabajos han informado de un aumento en las tasas de preñez al inyectar GnRH al momento de la Inseminación Artificial (IA) (Schels and Mostafawi, 1979; Miller and Fiala, 1981; Lee et al, 1983; Nakao et al 1983; Stevenson et al, 1984). Aunque los mayores efectos de la inyección de esta hormona al momento de la IA han sido observados en vacas al segundo y posteriores servicios, o sea en vacas repetidoras. (Lee et al, 1983; Stevenson et al, 1984; Phatak et al, 1986; Stevenson et al, 1988).

Un grupo de franceses (Humblot and Thibier, 1981; Thibier et al, 1985; Thibier, 1988) especulan que el uso de GnRH en vacas repetidoras en la mitad del ciclo previo a la IA puede aumentar los índices de concepción promoviendo el desarrollo y maduración de un complejo folículo-ovocito más vigoroso, como consecuencia de mejores niveles de gonadotrofinas. Esto indicaría que una causa de vaca repetidora sería un ovocito de mala calidad.

FALLAS EN LA FECUNDACION

ASINCRONIA ENTRE OVULACIÓN E INSEMINACION ARTIFICIAL.

Como fue mencionado anteriormente la ovulación retardada puede ser causa de infertilidad por no haber coexistencia viable entre los espermatozoides y el óvulo. También existen otras situaciones en las cuales puede haber asincronía en la viabilidad de los gametos y consecuentemente que no haya fecundación.

Mala detección de celos.

Si la ovulación está asociada al celo, evidentemente que la inseminación en un celo que no es tal, por una mala detección, llevará a una inseminación perdida. Generalmente asumimos que el personal detecta bien los celos, sin embargo según un trabajo de tesis realizado en nuestro Instituto, el personal que detectaba celos sólo conocía el 40% de sus signos (Anjarí, 1990).

Momento inadecuado de la inseminación artificial.

Dado que la ovulación ocurre después de terminado el celo y que los espermatozoides tienen una vida limitada de aproximadamente 24 horas, habrá más y mejores espermatozoides mientras más cerca de la ovulación se insemine, considerando un tiempo previo necesario para la capacitación espermática. Por estos motivos la inseminación hacia el fin del celo, entre 12 a 8 horas antes de la ovulación lleva a los mejores índices de fecundación. Por otra parte los mejores resultados de preñez se encontraron en las vacas inseminadas entre la 5 y 8 horas de detectado el celo, situación bastante práctica ya que es difícil inseminar al fin del celo si no se sabe cuando éste comenzó.

DEFICIENCIAS EN LA INSEMINACION ARTIFICIAL.

La técnica de inseminación artificial requiere de habilidad, precisión e higiene en todos sus pasos.

Descongelación del semen.

La descongelación de semen es un paso crucial, dado que éste es un momento crítico para los espermatozoides. El semen puede ser descongelado a muy variadas temperaturas, desde 0 grado centígrado en hielo fundente por varios minutos, hasta en agua hirviendo por 2 a 3 segundos (Melrose, 1962). El tiempo y la temperatura dependerán de la relación área volumen del envase de semen y de los diluyentes y crioprotectores usados, por estos motivos es importante seguir las instrucciones de cada centro que envasa semen y no aplicar el mismo criterio a todos los envases.

Mal depósito del semen.

El toro deposita el semen en el fondo vaginal, el que lleva alrededor de 6.000.000.000 de espermatozoides, sin embargo la dosis de semen puede llevar entre 20 a 30 millones de espermatozoides, lo que hace necesario que sea depositada en el útero y no en la vagina. Para ser

depositada en el útero se requiere de una habilidad en el inseminador, cuyas fallas llevan a una baja en la fertilidad.

Mala calidad del semen.

El semen es un producto biológico constituido por una parte líquida (plasma) y una parte celular (espermatozoides). Como todo producto biológico puede tener alteraciones en su calidad. Las deficiencias pueden estar en su concentración espermática, motilidad y/o anormalidades morfológicas. El semen envasado debe provenir exclusivamente de eyaculados de óptima calidad, tanto en número como en calidad de los espermatozoides. La dosis de semen es producto del fraccionamiento del eyaculado con diluyentes y crioprotectores adecuados, una vez diluido cada dosis lleva, en el caso del Centro de Inseminación Artificial (CIA) de la Universidad Austral de Chile, una cantidad mínima de 30.000.000 de espermatozoides totales de los cuales al menos el 50% de ellos deben estar vivos cuando se descongela, o sea no se insemina con menos de 15.000.000 de espermatozoides con poder fecundante. Existen otros centros de inseminación que distribuyen semen con 20.000.000 de espermatozoides totales ya que ellos sostienen que con 10.000.000 de espermatozoides vivos es suficiente para lograr fecundación. Actualmente el semen es un producto industrial, producido por diferentes empresas, entre las cuales hay algunas buenas y otras que producen un producto de calidad mediocre. En un estudio de fertilidad realizado en Estados Unidos en un grupo de toros se pudo observar que hay grandes diferencias en su fertilidad, así el índice de preñez al primer servicio de 6 grupos de toros fue entre 52,1% y 57,4%, los valores entre los toros de cada grupo variaron entre 17,6% y 25,7% (Clay et al, 1986). En 10 predios de la provincia de Valdivia, Chile, hicimos un estudio sobre la fertilidad real de los toros del CIA confirmando cada servicio fértil con la observación del ternero al parto, el porcentaje de terneros nacidos al primer servicio en los 8 toros estudiados varió entre 52% y 82% (Jarpa, 1979). En consecuencia, frente a la gran gama de ofertas de semen, el exigir semen de toros de fertilidad óptima se hace imprescindible.

MEDIO AMBIENTE ALTERADO.

A pesar de existir gametos viables y sanos puede ser posible que no ocurra fecundación. Una de las causas puede ser que haya cambios en el medio ambiente del oviducto que es el lugar de la fecundación o en el útero donde se depositan y transportan los espermatozoides hacia el oviducto (Fischer y Beier, 1986). Los cambios en el medio ambiente del oviducto y/o útero pueden deberse a alteraciones hormonales que estimulan las secreciones y funcionamiento de estos órganos, antagonismo adrenalina-oxitocina en el transporte de espermatozoides, incoordinación del efecto estradiol-progesterona y prostaglandinas. El E2 en la función del oviducto (Hafez, 1987), o a infecciones que pueden cambiar la acidez de las secreciones y destruir los gametos. Una metritis subclínica puede ser una causa de mortalidad espermática, así como una salpingitis puede alterar la viabilidad de los gametos o quizás impedir la fecundación .

Sreenan y Diskin (1986), en una recopilación de trabajos en vacas encontraron 122 embriones sobre un total de 136 huevos (90%), y en vaquillas 402 embriones sobre un total 459 huevos (88%). En consecuencia las fallas en fecundación fueron de 10 y 12% respectivamente.

MORTALIDAD EMBRIONARIA.

Habiendo ocurrido la fecundación y habiéndose formado el embrión, existe la posibilidad que éste no sobreviva, esto es lo que se conoce como mortalidad embrionaria. Esta situación es mucho más frecuente de lo que se cree, y puede ser la principal causa de la no preñez de las vacas. Si el embrión muere tempranamente, dentro de los 15 primeros días de vida, el largo del ciclo no se alterará y la vaca volverá en celo dentro de un lapso normal, alrededor de los 21 días, si el embrión muere después de haber informado al ovario de su presencia, el ciclo podrá alargarse obviamente en relación al día en que se produce la mortalidad embrionaria.

La mortalidad embrionaria es la causa de la mayor parte de las fallas reproductivas en todas las especies, y en el bovino hasta el 40% de los embriones puede morir (Diskin y Sreenan, 1986). Estudios basados en la recuperación de embriones y fetos en diversos momentos después de la IA indican que la muerte embrionaria temprana entre los días 8 y 18 posteriores a la IA ocurre en el 75 y 80% del total de las pérdidas embrionarias y fetales (Diskin y Sreenan, 1980; Roche et al, 1981). Al ocurrir la mayoría de las pérdidas antes del día 18 la secuencia normal de regresión del cuerpo lúteo no se afecta y un nuevo estro y ovulación ocurren con un intervalo de 18 a 25 días. Esto da una nueva posibilidad de IA y lograr una preñez pero ocasiona enormes pérdidas en la producción.

MOMENTO E INCIDENCIA DE LA MORTALIDAD EMBRIONARIA

Sreenan y Diskin (1986) resumieron 9 experimentos de la literatura que involucraron vacas y vaquillas, con un total de 468 ova de los cuales había 408 fecundados (87%), estableciendo la sobrevivencia embrionaria a diferentes períodos después de la IA, cuyos resultados fueron los siguientes:

	Fecundad.	Sobrevivencia embrionaria a días posteriores a la IA					
		2-5	8-10	11-13	14-16	17-19	25-42
fecundadas/totales	408/468	274/321	93/116	32/70	173/238	59/99	172/255
% de preñez	87	85	82	74	73	60	57
% vivas/fecundados	100	98	94	85	84	69	78

De esta recopilación se desprende que la mortalidad embrionaria ocurre en un bajo porcentaje (6%) hasta el día 10 posterior a la IA, luego la mortalidad aumenta en un 10% aproximadamente hasta el día 16, para aumentar aún más hasta el día 19 (15%). De acuerdo a esto un 31% de todos los ovocitos fecundados no sobrevivirá al desarrollo embrionario al día 19 del ciclo. Este 31% de mortalidad embrionaria ha sido observado en hembras normales y se ha reportado que la mortalidad es aún mayor en vacas repetidoras (Tanabe y Casida, 1949). Linares (1982) reportó que sólo el 28% de los embriones recuperados de vacas repetidoras en el día 7 posterior a la IA aparecían como cromosómicamente normales, por lo que el destino del 72% restante es probablemente la muerte.

CAUSAS DE MORTALIDAD EMBRIONARIA

Ovulos y/o espermatozoides envejecidos.

Como consecuencia de una inseminación muy temprana o de una ovulación muy tardía puede ser posible que exista fecundación con gametos envejecidos, produciéndose fallas cromosómicas que hacen que el embrión no sea viable (O Farrel et al, 1983). Inseminaciones tardías disminuyen la tasa de concepción debido a mortalidad embrionaria (Ayalon, 1978). La inducción experimental de atraso en la ovulación en ratas fue asociada a una alta incidencia de anomalías embrionarias (Butcher et al, 1969). La asincronía entre la inseminación y la ovulación puede contribuir a una elevada incidencia de mortalidad embrionaria o de fallas en la fecundación como fue mencionado anteriormente.

Fallas cromosómicas.

La mortalidad embrionaria hasta el día 10 posterior a la IA es de alrededor de 6% (Sreenan y Diskin, 1986) como se observa en los datos presentados anteriormente. De acuerdo a King (1990) en un estudio sobre 683 embriones bovinos las anomalías cromosómicas fueron comunes en los embriones recuperados hasta el día 7 (13,3%), en oposición a sólo un 1,3% de anomalías encontradas en los embriones recuperados después de los 12 días. De lo anterior se deduce que la mortalidad embrionaria por fallas cromosómicas sería dentro de los 10 primeros días posteriores a la IA y en bajo porcentaje en relación a la muerte embrionaria total.

Las anomalías cromosómicas pueden ser clasificadas como haploidía, poliploidía y aneuploidía. El bovino tiene 60 cromosomas, un complemento de 30 cromosomas es aportado por cada padre. Haploidía es el defecto en el cual las células embrionarias tienen sólo un complemento de 30 cromosomas. En la poliploidía las células del embrión tienen tres o más complementos de cromosomas. Aneuploidía es el defecto en el cual hay un inapropiado número de uno o varios cromosomas. King (1990) determinó en 49 embriones con defectos cromosómicos un 74% de haploidía o poliploidía y sólo un 26% de aneuploidía. Además de las anomalías cromosómicas los embriones pueden ser portadores de genes letales recesivos, mutaciones letales y genotipos maternos y paternos incompatibles (Silvia, 1994).

Fallas en ambiente materno.

Para que el embrión que llega al útero se anide y desarrolle es necesario que exista una adecuada secreción de progesterona por parte del cuerpo lúteo, niveles bajos de progesterona llevarán a que el útero sea incapaz de mantener la gestación y el embrión morirá. Remsen et al (1982) determinaron que los embriones transferidos a vaquillas receptoras con menos de 2 ng/ml de progesterona sobreviven en un 20%, mientras que los transferidos a vaquillas con progesterona plasmática entre 2 y 5 ng/ml sobrevivieron en un 74%. Las vacas repetidoras son malas receptoras de embriones (Almeida et al, 1984; Gustafsson y Larson, 1983; Gustafsson y Larson, 1985). La progesterona suprime las contracciones uterinas y estimula la secreción de sustancias que son necesarias para el desarrollo del embrión (Fischer y Beier 1986). Ayalon (1978) reporta la composición de secreciones endometriales de vacas normales y repetidoras, confirmando lo reportado por otros autores. Además encontró diferencias en las concentraciones de iones, sustratos energéticos y proteínas entre estos grupos y diferencias marcadas en el contenido iónico entre vacas con embriones normales y anormales.

De acuerdo a lo anterior es posible pensar en que la administración de progesterona en vacas inseminadas aumentaría los índices de concepción. En algunos experimentos la suplementación de progesterona ha demostrado ser beneficiosa (Johnson et al, 1958; Kunkel et al, 1977; Diskin y Sreenan, 1986; Robinson et al, 1989) pero en otros no ha habido diferencias entre grupos tratados y

controles. Silvia (1994) sostiene que las diferencias en dosis, modo de administración, raza y condiciones de manejo contribuyen a las diferencias en las respuestas al tratamiento con progesterona y que éste aparece como efectivo cuando se administra a vacas con baja fertilidad y que el efecto beneficioso es inaparente cuando los grupos controles tienen alta fertilidad.

Por otra parte no sólo es necesario un nivel adecuado de progesterona circulante, sino también una adecuada condición uterina. se ha determinado que vaquillas repetidoras, receptoras de embriones, tenían al día 15 menor cantidad de receptores específicos a la progesterona endógena. De acuerdo a esto la mortalidad embrionaria podría estar causada en algunos casos por respuesta uterina insuficiente a niveles normales de progesterona (Stanchev et al, 1991). También ha sido planteado que las vacas repetidoras pueden necesitar mayores niveles de progesterona que las vacas normales.

Hawk et al (1963), no lograron mantener la preñez en vacas ovariectomizadas al administrar progesterona en niveles suficientes para mantener preñez en vacas normales. Esto puede explicar porque Almeida et al (1987), encontraron más receptores a progesterona en el tejido endometrial en vacas repetidoras que en vacas normales, al contrario de planteado por Stanchev et al (1991). En consecuencia, el útero de una vaca puede no mantener la preñez por una baja respuesta a niveles de progesterona normales o, su respuesta para ser normal necesita de mayores niveles de progesterona.

La progesterona puede ser aumentada en la vaca en base a inyecciones de hormonas estimuladoras de la función luteal, Alanko et al (1992) indican que la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) y la gonadotrofina coriónica humana (HCG) aumentan significativamente la producción de progesterona por el cuerpo lúteo, pero mientras la HCG eleva la producción de progesterona inmediatamente, el GnRH primero inhibe la producción y luego la aumenta. Estos autores sugieren que la ovulación de un folículo dominante puede ser responsable del aumento de la producción de progesterona. Con el propósito de inducir la ovulación del folículo dominante en el día 7 del ciclo, Resano et al, (1993) inyectaron 8 vacas con 1000 UI de HCG y 8 vacas con 20 mcg de un análogo de GnRH (Conceptal). A los 3 días los animales fueron sacrificados y en los 8 animales tratados con HCG se encontró un cuerpo lúteo accesorio, en tanto 7 de los 8 animales tratados con GnRH también presentaron un cuerpo lúteo accesorio. Diskin y Sreenan (1986), luego de un análisis de la literatura concluyen que la inyección de progesterona aumenta la sobrevivencia embrionaria en vacas normales y repetidoras y que la administración de HCG durante la fase luteal aumenta el número de cuerpos lúteos y los niveles de progesterona circulantes pero no la sobrevivencia embrionaria. Trabajos posteriores, inyectando GnRH en la mitad del ciclo reportan un aumento de las tasa de concepción

Las variaciones en el balance endocrino, en el caso comentado de progesterona, o de sus factores estimuladores LH o GnRH, pueden tener un origen ambiental o genético. Lagerlöf (1948) en el Primer Congreso de Fisiología y Patología de la Reproducción Animal e IA, planteó el concepto de constitución hormonal débil de carácter hereditario en los bovinos y criticó los tratamientos hormonales no meditados a los disturbios reproductivos. Kirk et al (1982) reportaron que los reproductores hijos de vacas con quistes ováricos tenían más hijas con esta patología que los toros cuyas madres eran normales. En otro estudio Seguin (1980), sugiere el carácter hereditario de los quistes ováricos basado en que las vacas con quistes generaron un 26,8% de hijas quísticas en tanto que las hijas de vacas sin quistes ováricos sólo presentaron quistes en un 9,2%. La deficiencia de LH que origina los quistes ováricos (Roberts, 1986) indica una debilidad hormonal que bien pudiera asociarse a una baja de progesterona que sea causa de mortalidad embrionaria. Considerando esto los tratamientos hormonales para reducir la mortalidad embrionaria deben ser cuidadosamente analizados en sus consecuencias.

Fallas en el reconocimiento embrio-materno.

En la vaca no preñada el útero produce prostaglandina F2alfa (PG) alrededor de los días 16-18 (Nacarrow et al, 1973; Peterson et al, 1975; Kindahl et al, 1976), la que induce la regresión del cuerpo lúteo. El mecanismo propuesto indica que la producción de estradiol 17 beta por parte del folículo dominante estimula la formación de receptores a oxitocina en el endometrio, la oxitocina induce en las células endometriales la formación de PG, la que causará la luteolisis (Mc Cracken et al, 1984). En la vaca preñada el embrión secreta una proteína específica, el interferon-Tau (se simboliza con la letra griega Tau), inicialmente llamada proteína trofoblástica bovina - 1 (Bartol et al, 1985; Imakawa et al, 1989), la que bloquea la producción de PG por parte del endometrio (Helmer et al, 1989; Plante et al, 1989, 1991; Danet-Desnoyers et al, 1994), con lo que se evita la regresión del cuerpo lúteo y la vuelta a la ciclicidad.

De acuerdo a lo anterior una alteración en el mecanismo que evita finalmente la regresión del cuerpo lúteo y mantiene la preñez puede llevar a que el mecanismo luteolítico se haga efectivo y ocurra una mortalidad embrionaria. Por una lado la parte materna puede no reconocer la señal embrionaria, y por otra el embrión puede no producir esta señal. La información existente en la literatura en el ovino indica que se ha logrado aumentar la tasa de preñez inyectando un interferon-alfa (Nephew et al, 1990; Schalue-Francis et al, 1991; Martinod et al, 1991). Sin embargo no se ha encontrado un efecto similar en el bovino al inyectar interferon-alfa (Barros et al, 1992). Los corderos nacidos de las ovejas tratadas con interferon fueron normales en su peso al nacimiento y en sus tasas de crecimiento, por lo que los embriones eran normales sólo que su mecanismo de reconocimiento materno estaba alterado. Se ha trabajado en la síntesis del interferon-Tau del bovino, con el cual se podría lograr potenciar la relación embrio-materna y evitar en cierto grado la mortalidad embrionaria.

Por otra parte Mann y Lamming (1992) han planteado que el uso de GnRH entre los días 11-13 de la fase luteal reduce la secreción de estradiol por parte del ovario lo que ayudaría en el bloqueo a la luteolisis. La reducción de estradiol por parte del ovario se debería a que el GnRH en el día 12 reduce el número de folículos grandes, y además luteiniza e induce atresia en el folículo dominante (Ryan et al, 1994). Esta sería una manera de potenciar el mecanismo de reconocimiento embrio-materno, además de que GnRH induce un aumento en la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo (Kittock et al, 1973; Mcmillan et al 1985) y aumenta el largo del ciclo estral (Macmillan et al, 1985). Así la respuesta luteotrófica a la inyección de GnRH ha sido propuesta para mejorar el reconocimiento materno del embrión previo al inicio de la luteolisis (Mcmillan et al, 1986).

Efecto macho.

Luego de la fecundación el gameto masculino tiene un rol en el posterior desarrollo del embrión, y para cumplirlo el espermatozoide debe estar en condiciones adecuadas de maduración. Así, ha sido observado que ovejas inseminadas con espermatozoides del cuerpo del epidídimo presentan menos ovocitos fecundados que ovejas inseminadas con espermatozoides de la cola del epidídimo o del eyaculado (30 vs 85%), algunos embriones provenientes de espermatozoides inmaduros son capaces de lograr una primera división celular pero ninguno de llegar a estado de 4 células (Fournier-Delpech et al, 1981). Por otra parte, ha sido posible obtener preñez en ovejas inseminadas con espermatozoides de la cola del epidídimo pero ninguna de ellas ha parido (Fournier-Delpech et al, 1979). Esto indica experimentalmente que existe un efecto negativo específico del gameto masculino en la mortalidad embrionaria en los ovinos. Situación que podría ser extrapolable al bovino.

En el bovino se ha determinado que existen toros con buena fertilidad y toros con baja fertilidad (Kidder et al, 1954; Ayalon, 1984), los primeros fallan principalmente en la fecundación, mientras los de baja fertilidad fallan por mala fecundación y mortalidad embrionaria. Lo anterior está basado en que Courot y Tourneur (1976), han observado que a mayor índice de fecundación menor mortalidad embrionaria. Esto está apoyado también porque toros con alto no-retorno a los 29 días tienen escasa diferencia con el no-retorno a los 180 días, sin embargo en los toros con baja fertilidad la situación es inversa (Erb y Flerchinger, 1954).

Riha (1994) ha evaluado los resultados de superovulación y recuperación de embriones en 611 vacas inseminadas con el semen de 50 toros y ha encontrado que existen diferencias significativas entre los toros en el porcentaje de embriones transferibles. En nuestro Instituto hemos observado, en trabajos preliminares, que existen diferencias entre toros y entre eyaculados del mismo toro en su poder fecundante evaluados a través ovocitos fecundados in vitro (Mercado, 1996).

A través de la IA la calidad del semen del toro ha pasado a tener una mayor relevancia y se ha observado que existe influencia en la mortalidad embrionaria, pero lo que es difícil determinar si ese efecto se debe a una mala calidad del eyaculado y su procesamiento o a un factor genético del macho (Courot y Colas, 1986). En cualquiera de ambos casos es imprescindible una cuidadosa evaluación de la fertilidad de los toros que se usan en IA.

Infecciones del tracto reproductivo.

El ambiente uterino puede estar afectado por infecciones, las que pueden ser específicas o inespecíficas. Las segundas son las metritis posparto, las primeras son los agentes microbianos específicos entre los cuales es posible encontrar Trichomoniasis, Campylobacteriosis y Diarrea viral. Las dos primeras se encuentran en retroceso dado que por ser venéreas la inseminación artificial ha podido controlarlas. La Diarrea viral por ser de contagio no venéreo sino por simple contacto con el agente desde animales portadores no es posible eliminarla con la IA. Por ser estas patologías clínicamente identificables y de primera posibilidad de diagnóstico en un problema reproductivo escapan al motivo de esta conferencia sobre vaca repetidora. Sin embargo debe tenerse en cuenta que los centros productores de semen deben ser controlados por un organismo oficial que certifique la calidad sanitaria del semen producido. Existe venta de semen sin control sanitario, semen que no debe comprarse ya que puede ser un posible diseminador de enfermedades, no sólo reproductivas. Lundgren (1952), informa que en un estudio de fertilidad de toros de inseminación artificial fue posible determinar que la baja fertilidad del semen de algunos reproductores se debía a una infección con *Campylobacter fetus*, estos toros habían tenido previamente servicio natural. En un brote de aborto en el sur de Chile (Berrios et al, 1985) se aisló el virus de la Rinotraqueitis infecciosa bovina y los autores discuten sobre la posibilidad de introducción del virus a través del semen.

Efecto nutrición.

Los efectos de las deficiencias de la nutrición en la reproducción han sido claramente establecidos, tanto por desbalances cuantitativos como cualitativos de la dieta (Latrille, 1993, revisión). Los efectos más evidentes en la fertilidad se observan en que vacas con estatus energéticos plasmáticos subnormales (evaluados en beta-hidroxi-butilato y glucosa) necesitan más servicios por preñez y tienen menor eficiencia al primer servicio que vacas normales (Whitaker et al, 1993). Sin embargo las razones de por qué la fertilidad baja han sido menos estudiadas. Ha sido determinado que los niveles de progesterona son menores en vacas subalimentadas que

en vacas con alimentación balanceada (Hill, 1970; Ayalon, 1978; Pereyra y Linares, 1986). Esta menor producción de progesterona puede ser primaria, por parte del cuerpo lúteo o secundaria a través de niveles bajos de gonadotrofinas. Whitaker et al, (1993), encontraron que la respuesta de la liberación de LH a inyecciones de GnRH es menor en vacas subalimentadas que en vacas con dietas de acuerdo a sus requerimientos. La falta de energía sería entonces la principal causa de los problemas de fertilidad. La proteína no parece ser importante, e incluso un exceso puede ser negativo. Carroll, et al, (1988), indican que al subir la proteína cruda en la ración de 13 a 20% los servicios por preñez tienden a aumentar y la preñez al primer servicio a bajar. Similares efectos encontraron Canfield et al, (1990). Ferguson y Chalupa (1989), postulan que un aporte excesivo de proteína en la dieta puede afectar la reproducción ya que productos del metabolismo del nitrógeno en el rumen (amoníaco, urea) podrían afectar, una vez absorbidos, la sobrevivencia de gametos y embriones. Las deficiencias de algunos minerales han sido mencionadas como causa de mortalidad embrionaria (Cobre, Molibdeno, Selenio), evaluadas de manera general como fallas en la fertilidad más que en trabajos específicos (Latrille, 1993, revisión). Las intoxicaciones con pesticidas y desinfectantes en el alimento pueden ser causa de mortalidad embrionaria.

CONCLUSION

De lo anterior es posible resumir que con vacas sanas y bien alimentadas y con el uso de semen sano aplicado correctamente es posible obtener un buen porcentaje de preñez en un rebaño, con las bajas en fertilidad debidas a fallas en la fecundación y mortalidad embrionarias consideradas como normales, y dentro del primer paso de la selección natural que elimina los individuos de mala calidad. Así se podrá lograr índices reproductivos considerados como normales, como son al menos un 65% de preñez al primer servicio de IA, y menos de 1,5 servicio por preñez. Frente a un alteración en los índices de fertilidad debe realizarse un examen completo del rebaño por un veterinario calificado, quien deberá determinar la causa y así podrá dar las soluciones. Puede ser posible disminuir la mortalidad embrionaria con el tratamiento de vacas en el período crítico de reconocimiento embrio-materno, pero estos tratamientos deben ser cuidadosos y teniendo presente solucionar la verdadera causa del problema, principalmente si ésta es genética.

SUMMARY

In this article the causes, effects and some solutions to repeat breeder cows are discussed. The causes of repeat breeders are agrupated as ovulation failures, fertilization failures and embryo mortality. The etiopathogenia of embryo mortality is emphasized as a basis of control and eventual treatments. The looses in fecundation failures and the embryonic deaths by chromosomic problems are considered as minors. The higher incidence of embryo mortality occurs between days 8 and 18 post AI, which is the critical period in the establishment of the embryo-maternal relationship, so this subject is discussed with more details.

BIBLIOGRAFIA

- ALANKO, M., Y.HIIDENHEIMO, I.PELTTARI and S.SIEVÄNEN. (1992). Early development of corpus luteum and effect of luteotrophic therapy in inseminated dairy cows. XII Int.Cong.Anim.Reprod. La Hague.Vol.1. p.21.
- ALMEIDA, A.P., N.AYALON and B.BARTOOV. (1987). Progesterone receptors in the endometrium of normal and repeat breeder cows. Anim.Reprod.Sci. 14: 11.
- ANJARÍ, J.E. (1991). Elaboración y validación de un módulo de autoaprendizaje sobre: Identificación de vacas en calor. Tesis. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia.
- AYALON, N. (1978). A review of embryonic mortality in cattle. J.Reprod.Fert. 54: 483.
- AYALON, N. (1984). The repeat breeder problem. X Congr. Int. Repr. Anim. Ins. Art. Vol.II.
- BARROS, C.M., G.R.NEWTON, W.W.THATCHER, M.DROST, C.PLANTE and P. J. HANSEN. (1992). The effect of bovine interferon alpha 1 on pregnancy rate in heifers. J.Anim.Sci. 70: 1471.
- BARTOL, F.F., R.M.ROBERTS, F.W.BAZER, G.S.LEWIS, J.D.GODKIN and W.W.THATCHER. (1985). Characterization of proteins produced in vitro by periattachment bovine conceptuses. Biol.Reprod. 32: 681.
- BERRIOS, P., M.O.CELEDON, F.CORTÉS y M.LUENGO. (1985). Aislamiento del virus de la Rinotraqueitis infecciosa bovina en un brote de aborto en la zona sur de Chile. Arch.Med.Vet. 17(1): 49.
- BUTCHER, R.L., J.D.BLUE and N.W.FUGO. (1969). Role of intrauterine environment on ova after normal and delayed ovulation. Biol.Reprod. 1: 149.
- CANFIELD, R.W., C.J.SNIFFEN and W.R.BUTLER. (1990). Effects of excess degradable protein on post-partum reproduction and energy balance in dairy cattle. J.Dairy.Sci. 73: 2342.
- CARROLL, D.J., B.A.BARTON, G.W.ANDERSON and R.D.SMITH. (1988). Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. J.Dairy.Sci. 71: 3370.
- CLAY, J.S. R.C.MCGRAW, K.R.BUTCHER and B.T.McDANIEL. (1986). Estimating relative conception rates of service sires from DHI data. J.Dairy.Sci. Supl. 1. Vol. 69. p:125.
- COUROT, M. et J.C.TOURNEUR. (1976). Qualité du sperme et réussite de l'insémination artificielle. En: Maitrise des cycles sexuels chez les bovins. Ed..Inra/Sersia/Searle, Paris.
- COUROT, M. and G. COLAS. (1986). The role of the male in the embryonic mortality. In: Embryonic mortality in farm animals. Edited by J.M.Sreenan and M.G.Diskin. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.

- DANET- DESNOYERS, S., C.WETZELS, and W.W. THATCHER. (1994). Natural and recombinant interferon-Tau regulate basal and oxtocin-induced secretion of prostaglandin F2alpha and E2 by epithelial cells and stromal cells in the endometrium. *Reprod.Fert.Dev.* 6:6.
- DISKIN, M.G. and J.M.SREENAN. (1980). Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J.Reprod.Fert.* 59: 463.
- DISKIN, M.G. and J.M.SREENAN. (1986). Progesterone and embryo survival in the cow. In: Embryonic mortality in farm animals. Edited by J.M.Sreenan and M.G.Diskin. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.
- ERB, R.E. and F.H.FLERCHINGER. (1954). Influence of fertility level and treatment of semen on non-return decline from 29 to 180 days following artificial service. *J.Dairy.Sci.* 37: 938.
- FERGUSON, J.D. and W.CHALUPA. (1989). Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J.Dairy.Sci.* 72: 746.
- FISHER, B. and H.M.BEIER. (1986). Uterine environment in early pregnancy. In: Embryonic mortality in farm animals. Edited by J.M.Sreenan and M.G.Diskin. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.
- FOURNIER-DELPECH, S., G.COLAS, M.COURET, R.ORTAVANT, and G.BRICE. (1979). Epididymal sperm maturation in the ram: motility, fertilizing ability and embryonic survival after uterine artificial insemination in the ewe. *Annls. Biol. anim. Biochim. Biophys.* 19: 597.
- FOURNIER-DELPECH, S., G.COLAS, M.COURET. (1981). Observations sur le premier clivage des oeufs intratubaires de brebis après fécondation avec des spermatozoïdes épiddymaires ou éjaculés. *C.R.Acad.Sci. Paris, serie D.* 292: 515.
- GERLOFF, B.J. and D.A.MORROW. (1986). Effect of nutrition on reproduction in dairy cattle. In: *Current Therapy in Theriogenology*. Edited by D.A.Morrow. Second edition. W.B.Saunders. Philadelphia. p. 310.
- GUSTAFSSON, H., K.LARSSON, H.KINDAHL and A.MADEJ. (1986). Sequential endocrine changes and behavior during oestrus and metoestrus in repeat breeder and virgin heifers. *Anim.Reprod.Sci.* 10:261.
- HAWK, H.W., T.H.BRINSFIELD, G.D.TURNER, G.E.WHITMORE and N. A. NORCROSS. (1963). Embryo survival in first-service and repeat-breeder cattle after ovariectomy and hormone therapy. *J.Dairy.Sci.* 46: 1397.
- HAFEZ, E.S.E. (1987). Anatomía del aparato reproductor femenino. En: *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. Nueva Editorial Interamericana. Quinta edición. México. p.38.
- HELMER, S.D., P.J.HANSEN, W.W.THATCHER, J.W.JOHNSON and F.W.BAZER. (1989). Intrauterine infusion of highly enriched bovine trophoblast protein-1 complex exerts an antiluteolytic effect to extend corpus luteum life span in cyclic cattle. *J.Reprod.Fert.* 87: 89.
- HILL, J. R. Jr., D. R. LAMOND, D. M. HENDRICKS, J. F. DICKEY and G. D. NISWENDER. (1970). The effect of undernutrition on ovarian function and fertility in beef heifers. *Biol.Reprod.* 2: 78.

- HUMBLLOT, P. and M. THIBIER. (1981). Effect of gonadotropin releasing hormone (GnRH) treatment during the mid luteal phase in repeat breeder cows. A preliminary report. *Theriogenology*. 16: 375.
- IMAKAWA, K., T. R. HANSEN, P. V. MALATHY, R. V. ANTHONY, H. G. POLITES, K. R. MAROTTI and R.M.ROBERTS. (1989). Molecular cloning and characterization of complementary deoxyribonucleic acids corresponding to bovine trophoblast protein-1 and bovine interferon -alfa. *Mol.Endo.* 3:127.
- JARPA, J.M. (1979) Contribución al conocimiento de la fertilidad real del semen de toros del Centro de Inseminación Artificial de la Universidad Austral de Chile. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia.
- JOHNSON, K.R., R.H.ROSS and D.L.FOURT. (1958). Effect of progesterone administration on reproductive efficiency. *J.Anim.Sci.* 17: 386.
- KIDDER, H.E., W.G.BLACK, J.N.WILTBank, L.C.ULBERG and L.E.CASIDA. (1954). Fertilization rates and embryonic death rates in cows bred to bulls of different leves of fertility. *J.Dairy.Sci.* 37: 691.
- KINDAHL, H., L. E. EDQVIST, A. BANE and E. GRANSTROM. (1976). Blood levels of progesterone and 15-keto-13,14-dihydro prostaglandin F2alfa during the normal estrus cycle and early pregnancy in heifers. *Acta Endocrinol.Scan.* 82: 134.
- KING, W.A. (1990). Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. In: *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine 34: Domestic Animal Cytogenetics.* Edited by R.A.McFeely. Academic Press Inc. San Diego. USA. p.229.
- KIRK, J.H., E.M.HUFFMAN and M.LANE. (1982). Bovine cystic ovarian disease: hereditary relationships and case study. *J.Am.Vet.Med.Ass.* 181: 474.
- KITTOCK, R.J., J.H.BRITT and E.M.CONVEY. (1973). Endocrine response after GnRH in luteal phase cows and cows with ovarian follicular cysts. *J.Anim.Sci.* 37: 985-989.
- KUNKEL, R.N., W.C.HAGELE and A.C.MILLS. (1977). Effect of recipient progesterone supplementation on morula and blastocyst survival. *J.Anim.Sci.* 45. Suppl, 1: 181.
- LAGERLÖF, N. (1948). Factors of sterility. *First Int. Congr. Phys. Path. Anim. Reprod. and AI.* Milan.
- LATRILLE, L. (1993) Nutrición y reproducción en la vaca lechera. *Avances en Producción Animal.* 18(1-2): 3.
- LEE, C.N., E.MAURICE, R.L.AX, J.A.PENNINGTON, W.F.HOFFMANN, and M. D. BROWN. (1983). Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and repeat breeder dairy cows. *Am.J.Vet.Res.* 44: 2160.
- LINARES, T. (1982). Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination. *Anim.Reprod.Sci.* 4: 189.

- LUNDGREN, B. (1952). The subsequent fertility of cows inseminated by semen from low-fertile bulls. Proceedings II. Int.Congr.Phys.Path.Anim.Reprod.Art.Ins. p.175.
- MACMILLAN, K.L., A.M.DAY, V.K.TAUFA, M.GIBB and M.G.PEARCE. (1985). Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle. I. Hormone concentrations and oestrus cycle length. Anim.Reprod.Sci. 8: 203-212.
- MACMILLAN, K.L., V.K.TAUFA and A.M.DAY. (1986). Effects of an agonist of gonadotropin releasing hormone (buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. Anim.Reprod.Sci. 11: 1-10.
- MANN, G.E. and G.E.LAMMING. (1992). Steroid hormone manipulation in the control of luteolysis in cattle. J.Reprod.Fert. Abstr.Ser. 9: 23.
- MARINOD, S., R.R.MAUER, B.SIEGENTHALER, C.GERBER and P.J.HANSEN. (1991). The effects of recombinant bovine interferon alpha on fertility in ewes. Theriogenology. 36: 231.
- MCCRACKEN, J.A., W.SCHRAMM, and W.C.OKULITCZ. (1984). Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF₂alpha from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. Anim.Reprod.Sci. 7: 31.
- MELROSE, D.R. (1962). Artificial Insemination in Cattle. In: The semen of animals and artificial insemination. Commonwealth Agricultural Bureaux. Farnham Royal, Bucks. England. p. 1.
- MERCADO, R.B. (1996). Trabajo de tesis de magister en progreso. Instituto de Reproducción Animal. Universidad Austral de Chile.
- MOLLER, K. and E.D.FIELEN. (1981). Pre-mating injection of an analogue of gonadotropin-releasing hormone and pregnancy rates to first insemination. NZ Vet.J. 29: 214.
- NACARROW, C.C., J.BUCHMASTER, W.CHAMLEY, R.I.COX, I.A.CUMMING, CUMMINS, J.P.DRINAN, J.K.FINDLAY, J.R.GODING, B.J.RESTALL, W.SCHNEIDER and G.D.THORBURN. (1973). Hormonal changes around oestrus in the cow. J.Reprod.Fert. 32: 320.
- NAKAO, T., S.NARITA, K.TANAKA, H.HASA, J.SHIRAKAWA, H.NOSHIRO, N.SAGA, N. TSUNODA and K.KAWATA. (1983). Improvement of first-service pregnancy rate in cows with gonadotropin-releasing hormone analogue. Theriogenology, 20:111.
- NEPHEW, K.P., K.E.McCLURE, M.L.DAY, S.XIE, R.M.ROBERTS and W.F.POPE. (1990). Effects of intramuscular administration of recombinant bovine interferon alpha 1 during the period of maternal recognition of pregnancy. J.Anim.Sci. 68: 2766.
- O'FARRELL, K.J., O.H.LANGLEY and P.J.HARTIGAN. (1983). Fertilisation and embryonic survival rates in dairy cows culled as repeat breeders. Vet.Rec. 112: 95.
- PEREYRA, A. y T.LINARES. (1986). Vacas repetidoras de servicios, una revisión bibliográfica. XIV J.U.B. Paysandú.
- PETERSON, A.J., R.J.FAIRCLOUGH, E.PAYNE and J.F.SMITH. (1975). Hormonal changes around bovine luteolysis. Prostaglandins. 10: 675.

- PHATAK, A.P., H.L.WHITMORE and M.D.BROWN. (1986). Effect of gonadotropin-releasing hormone on conception rate of repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, 26: 605.
- PLANTE, C., P.J.HANSEN, S.MARTINOD, B.SIEGENTHALER, J.W.POLLARD and M.B.LESLIE. (1989). Effect of intrauterine and intramuscular administration of recombinant bovine interferon alfa 1 on luteal life span in cattle. *J.Dairy.Sci.* 72: 1859.
- PLANTE, C., W.W.THATCHER, and P.J.HANSEN. (1991). Alteration of the oestrus cycle length, ovarian function and oxitocin-induced release of prostaglandin F2alfa by intrauterine and intramuscular administration of recombinant bovine interferon-alfa to cows. *J.Reprod.Fert.* 93: 375.
- REMSEN, L.G., J.D.ROUSSEL and A.K.KARIHALOO. (1982). Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology*. 17: 105.
- RESANO, P., M.A.BERLAND and R.GATICA. (1993). Inducción de ovulación en vacas en diestro. *Ciencia e Investigación Agraria*. 20(2): 87.
- RIHA, J. (1994). The effect of sires on the results of superovulation and embryo transfer in cattle. *Zivocisna Vyroba*. 39(5): 393.
- ROBERTS, S.J. (1986). *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases* (Third edition). Published by the author. Lithographed by Edwards Broithers, Inc. Ann Arbor. Michigan.
- ROBINSON, N.A., K.E.LESLIE and J.S.WALTON. (1989). Effect of treatment with progesterone in pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J.Dairy.Sci.* 72: 202.
- ROCHE, J.F., M.P.BOLAND and T.A.MCGEADY. (1981). Reproductive wastage following artificial insemination of heifers. *Vet.Rec.* 109: 401.
- RYAN, D.P., S.SNIJDERS, T.CONDON, M.GREALY, J.SREENAN and K. J. FARRELL. (1994). Endocrine and ovarian responses and pregnancy rates in dairy cows following the administration of a gonadotrophin releasing hormone analog at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. *Animal Reproduction Science*, 34: 179-191.
- SAVIO, J.D., L.KEENAN, M.P.BOLAND and J.F.ROCHE. (1988). Patterns of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. *J.Reprod.Fert.* 83: 663.
- SCHALUE-FRANCIS, T.K., P.W.FARIN, J.C.CROSS, D.KEISLER and R. M. ROBERTS. (1991). Effect of injected bovine interferon alpha 1 on oestrus cycle length and pregnancy success in sheep. *J.Reprod.Fert.* 91: 347.
- SCHELS, H.F. and D. MOSTAPAWI. (1978). The effect of gonadotropin releasing hormone on the pregnancy rate of artificially inseminated cows. *Vet.Rec.* 103: 31.
- SEGUIN, B. (1980). Ovarian cysts in dairy cows. In: *Current Therapy in Theriogenology*. Edited by D.A.Morrow. W.B.Saunders, Co. Phyladelphia. p. 199.
- SILVIA, W.J. (1994). Embryonic mortality and repeat breeder cows. In: *Proceedings National Reproduction Symposium*. Pittsburgh, PA. Edited by E.R.Jordan. Texas A&M University. p. 151.

- SREENAN, J.M. and M.G.DISKIN. (1986). The extent and timing of embryonic mortality in the cow. In: Embryonic mortality in farm animals. Edited by J.M.Sreenan and M.G.Diskin. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.
- STANCHEV, P.D., H. RODRIGUEZ-MARTINEZ, A. ALBINH, H. ERICKSSON, H. GUSTAFSSON, and K.LARSSON. (1991). Concentration of nuclear progesterone receptors in the endometrium of virgin and repeat breeder heifers after embryo transfer. Journal of Veterinary Medicine. 38(4): 271.
- STEVENSON, J.S., M.K.SCHIMDT and E.P.CALL. (1984). Gonadotropin-releasing hormone and conception of Holsteins. J.Dairy.Sci. 67: 140.
- STEVENSON, J.S., K.D.FRANTZ and E.P.CALL. (1988). Conception rates in repeat-breeders and dairy cattle with an observed estrus after prostaglandin F₂alpha and gonadotropin-releasing hormone. Theriogenology, 29: 451.
- TANABE, T.Y. and L.E.CASIDA. (1949). The nature of reproductive failure in cows with low fertility. J.Dairy.Sci. 32(3): 237.
- TANABE, T.Y. and J.O.ALMQUIST. (1953). Some causes of infertility in dairy heifers. J.Dairy.Sci. 36: 568.
- THIBIER, M., D.GOUFFE, O.JEAN, J.VALOGNES, A.DAUNIZEAU and P.HUMBLLOT. (1985). Enhancing the rate of recovery and quality of the embryos in repeat breeding cows by using a gonadotropin releasing hormone analogue injection at mid-luteal phase prior to breeding. Theriogenology, 24: 725.
- THIBIER, M. (1988). Le recours a la gonadoliberine (GnRH) ou analogues in medicine veterinaire. Analogue pharmacologique et therapeutique chez le bovins. Ann.Rech.Vet. 19: 153.
- WHITAKER, D.A., E.J.SMITH, G.O. DA ROSA and J.M.KELLY. (1993). Some effects of nutrition and management on the fertility of dairy cattle. Vet.Rec. 133: 61.