

Capítulo LIX

Vacas anéstricas, vacas anovulares y vacas repetidoras

Carlos González-Stagnaro

El origen de la sub-fertilidad bovina es complejo y se requiere de un abordaje multifactorial para su análisis y tratamiento. A pesar que son muchos los factores que contribuyen a las fallas de fertilidad, en las vacas tropicales se ha señalado la vigencia de un ambiente endocrino desfavorable, el cual afecta el crecimiento folicular y la ovulación, a la vez que ocasiona una pobre calidad de oocitos. Los meses más cálidos logran que el estrés térmico y la sub-nutrición se acompañen de bajos niveles de progesterona, lo cual parece afectar la fertilidad (Thatcher *et al.*, 1986).

Las vacas recién paridas pasan por un período en el cual la actividad reproductiva entra en un estado de anestro, es decir, no ciclan ni ovulan; ésta inactividad puede extenderse hasta tres meses e incluso, más allá de la mitad de la lactación. Sin embargo, parece existir una confusión entre vacas en anestro y vacas anovulares. La anovulación es uno de los desórdenes de la ovulación que resulta en fallas en la concepción (la vaca presentó ciclos pero no ovuló), siendo un importante componente del síndrome de vacas repetidoras. El anestro caracteriza una vaca que no cicló o no expresó su comportamiento de celo (Madrid-Bury & González-Stagnaro, 2004), siendo el anestro posparto el principal problema reproductivo de las vacas doble propósito en rebaños tradicionales de la zona tropical (González-Stagnaro *et al.*, 1988). El anestro puede ser verdadero (no hay ciclos y no ovulan), lo que implica a las vacas anovulatorias; las vacas en anestro de comportamiento ciclan pero no expresan el celo o no es observado.

En consecuencia, la anovulación es debida a un problema de anestro verdadero u orgánico que se evidencia por un bloqueo hormonal a nivel H-H que suele afectar la formación de ondas foliculares y la ruptura del folículo; en esos casos hay ciclo, hay estro pero no ovulación. La anovulación debe diferenciarse de la ovulación atrasada, otra afección que afecta en tasas bajas, en cuyo origen se han atribuido diferencias raciales y la acción de efectos ambientales (Zemjanis, 1980).

ETIOLOGÍA DE LAS VACAS ANOVULARES

La falla en la ovulación puede ser debida a una luteinización temprana de los folículos en vía de atresia, resistencia de la albugínea ovárica o lesiones inflamatorias de

la corteza ovárica complicadas con fibrosis y adherencias en uno u ambos ovarios, en ocasiones acompañadas de problemas vasculares locales. Se admite que el elemento determinante reside en un desequilibrio de las descargas endocrinas neurosecretoras de hipotálamo y de la hipófisis anterior involucradas en la ovulación (Zemjanis, 1980).

El efecto se evidencia en la actividad disminuida e incompleta de la hipófisis y en la ausencia o bajos niveles de los picos de LH que afectan la ruptura del folículo ovárico. Se ha sugerido alguna influencia de la hormona tiroidea, la cual actuaría sensibilizando la acción de las gonadotropinas sobre los ovarios (Derivaux, 1971), impidiendo su ruptura en el momento adecuado. Parece que en ocasiones, el proceso de anovulación pudiera estar causado por la misma malfunción endocrina que resulta en el desarrollo de los quistes ováricos.

Una de las características de las vacas anovulatorias es que ellas no están expuestas a las concentraciones luteales de progesterona en los días que preceden a la primera IA posparto. Esto parece alterar el crecimiento del folículo ovulatorio e influenciar en forma temprana, la capacidad del endometrio para liberar PGF_{2α}, a la vez que ofrece una mayor incidencia de fases luteales cortas. En el medio tropical, las mestizas de mayor sangre *Bos taurus*, en especial de la raza Holstein, de mayor producción láctea y deficiencias metabólicas, tienen tendencia a presentar problemas de ovulación, atresia folicular y quistes ováricos (González-Stagnaro, 1991). Las vacas mestizas DP ovulan entre 8 y 12 h después del fin del celo (González-Stagnaro & Madrid-Bury, 1997).

Otros factores endocrinos que influyen en el momento de ovulación se relacionan con el pico de estradiol, fallas en los receptores foliculares, deficiencias en el vínculo H-H y una insuficiente descarga en la amplitud y frecuencia de LH, muy semejante a la observada en vacas bajo estrés térmico. La reducción de los pulsos de LH deriva en una prolongada dominancia folicular y formación de FD, vinculados con una marcada reducción de la calidad de los oocitos y la fertilidad (Diskin *et al.*, 2002; Bridges *et al.*, 2005, citados por Lucy (2011)). El FD desarrollado en un ambiente pobre de LH puede manifestar una reducción de la secreción de estradiol, derivando en una mala expresión del celo, fallas de ovulación y fertilidad reducida. La alimentación, la mejora del estado de energía durante la transición posparto e inicio de la lactación y el destete reducen el periodo de anestro y disminuyen el tiempo a la ovulación, al incrementar los pulsos de LH, como sucede en vacas de carne y DP amamantando (Bridges *et al.*, 2005, cit Lucy, 2011).

DIAGNÓSTICO DE VACAS ANOVULARES

El diagnóstico clínico de las vacas anovulares se basa en detectar una falla en la ovulación, lo que supone que el mismo folículo sea detectado en el mismo ovario por lo menos en dos exámenes subsecuentes, uno al pico del celo y otro entre 24 y 48 h más tarde. La ausencia de un folículo previamente identificado y el reemplazo del mismo por una depresión suave con un cráter central indican que la ovulación tuvo lugar; la apertura de la pared folicular creada por la ovulación se cierra para constituir el CL. El examen rectal ovárico 3-7 d después de la IA ha mostrado que aproximadamente 10% de las vacas ovulan tardíamente, aunque el diagnóstico de la falla ovulatoria con una sola observación es altamente cuestionable.

Es importante no confundir los casos de vacas anovulares, es decir, aquellas que no muestran ovulación durante un ciclo estral normal ni un posterior crecimiento del CL, ni las previstas descargas previa y posterior de progesterona, de aquellas vacas en anestro que no presentan conducta de estro. El diagnóstico de vacas cíclicas acompañado de ovulación normal se alcanza cuando se detecta un cuerpo lúteo activo en uno de los dos ovarios, bien sea por palpación, ultrasonografía (USG) o por la valoración de los niveles de progesterona en sangre o leche. Cuando se aplica la USG hay que tener en cuenta que ni el tamaño, forma o posición del CL visualizado se refleja en los niveles luteales de progesterona (Bicalho *et al.*, 2008). Las vacas muestran variaciones en las características ováricas, en especial, debido al tamaño del folículo ovulatorio y del CL. En vacas de alta producción, el diámetro del CL de 23 mm resultó en mejor sensibilidad y especificidad para detectar progesterona >1 ng/mL en la sangre.

El análisis de la concentración de progesterona en sangre o leche es otra posibilidad para el diagnóstico de vacas cíclicas, aunque requiere de laboratorios especializados y metodologías para la determinación de la hormona, razón por la cual la valoración mediante esa técnica se utiliza solo en estudios experimentales. Desde un punto de vista práctico, el uso de la USG es probablemente, la manera más rápida y eficaz para comprobar la actividad cíclica ovárica. La palpación transrectal de los ovarios no es aconsejable debido a que la escasa habilidad de los técnicos en la detección de un CL activo, por lo que la sensibilidad y especificidad de la palpación transrectal resulta ser inferior a 60 ó 70% (González-Stagnaro *et al.*, 1988).

Existen períodos en el ciclo estral que incluso las vacas cíclicas no presentan un CL activo. Para diagnosticar vacas anovulares se recomienda la realización de dos exámenes seguidos, con un intervalo mínimo de 7 d y máximo de 10 d (González-Stagnaro *et al.*, 1992). En caso contrario, es posible que se subestime la prevalencia de vacas anovulatorias en el rebaño. Una alternativa práctica es efectuar un único examen en un momento estratégico; en rebaños que utilizan programas de sincronización del celo, lo ideal es realizar el examen al iniciar el programa. En rebaños donde se utilizan programas de pre-sincronización del ciclo con PGF_{2α}, seguidos de un protocolo de sincronización, el día del primer tratamiento de sincronización es el momento ideal para diagnosticar las vacas en anestro que aún no han ovulado (Bicalho *et al.*, 2007).

El análisis del diagnóstico de la ciclicidad en vacas lecheras utilizando un solo examen USG mostró mayor sensibilidad para reconocer un CL activo (94,1%) superior al de la anovulación (85,7%), mientras que la especificidad fue inversa (78,8 vs 87,7%); el valor de predicción positivo fue de 91,3% para el CL activo y solo 64,7% para la anovulación (Silva *et al.*, 2007). La eficiencia total del diagnóstico usando USG mostró ser casi similar, con medias de 89,5 y 87,3% para CL activo y la anovulación.

VACAS ANOVULATORIAS Y VACAS REPETIDORAS

En las vacas repetidoras se han señalado tres condiciones patológicas asociadas con el fracaso de la fertilidad: endometritis sub clínica, insuficiente función del cuerpo lúteo y problemas de ovulación, como anovulación y ovulación atrasada (Derivaux, 1971). Las vacas repetidoras con problemas anovulatorios muestran durante la

primera semana después del celo, la ausencia de un CL activo formado, confirmado mediante examen ultrasonográfico y por la ausencia de niveles significativos de progesterona (González-Stagnaro *et al.*, 1994). Al analizar el perfil de progesterona se puede observar un ligero incremento de los niveles periféricos a partir del día cuatro o cinco después del servicio, por lo cual su determinación periódica puede señalar casos de ausencia o atraso en la ovulación. El desarrollo y secreción de un CL aún poco formado, puede ser insuficiente por tratarse de estructuras luteales pequeñas, débiles y suaves que pueden ser confundidas a la palpación con un folículo (González-Stagnaro, 1991).

En casos de anovulación se observa desarrollo folicular ovárico sin ovulación pues no se acompaña de niveles circulantes de progesterona; al no ocurrir la ovulación no existe CL ni progesterona, a pesar de la exhibición de celo. Esta disociación celo-ovulación afecta la sincronización de la inseminación con la ovulación y ocasiona los servicios repetidos. El monitoreo de la actividad luteal y las variaciones de la progesterona han permitido detectar los patrones anormales que afectan la fertilidad en vacas repetidoras (González-Stagnaro, 1989).

En un primer trabajo en 127 mestizas *Bos taurus* repetidoras con 137 días vacíos y 13,7 kg de leche en los 100 primeros días, se detectaron en cinco de ellas niveles basales de progesterona siete días después del servicio, señalando un atraso en la ovulación y formación del CL (González-Stagnaro, 1989). Otro estudio en 1609 vacas mestizas problema, había señalado 12,3% de servicios repetidos, de los cuales 16,7% eran atribuibles a problemas anovulatorios (González-Stagnaro, 1991). Su incidencia fue superior en mestizas Holstein (32,4%) y Pardo Suizas (17,1%) ($P < 0,01$), siendo mínimo en las mestizas Brahman (2,6%) e indefinidas (5,7%). Los problemas ovulatorios fueron mayores en las vacas de mejor condición corporal y con producción láctea más elevada, variando su frecuencia media entre 14,7, 11,6 y 3,1% para vacas con producciones totales mayores de 3000, 2000-3000 y menores de 2000kg.

En una experiencia posterior (González-Stagnaro *et al.*, 1992), se utilizaron muestras de leche de 187 vacas repetidoras con el fin de categorizar a las vacas de acuerdo con la interpretación de los perfiles de progesterona. Mientras 68,5% mostraban perfiles normales, 6,4% exhibían curvas luteales irregulares y 6,4% tenían ciclos luteales irregulares con niveles erráticos bajos (4,3%) o prolongados (2,1%), mientras 4,3% mostraban ciclos cortos o eran inseminadas preñadas o en fase luteal cíclica. En ese trabajo fue evidente una tasa de 9,6% de problemas ovulatorios, como vacas anovulatorias (4,3%) y con ovulación atrasada (5,4%), diagnosticadas por falta o secreción tardía de progesterona, hasta 7-11 días después de la IA. En un último trabajo, los niveles periféricos de progesterona en 246 vacas mestizas repetidoras, señalaron 8,7% problemas de ovulación, de los cuales 3,7 y 4,9% correspondían a casos de anovulación y de ovulación atrasada respectivamente (González-Stagnaro *et al.*, 1994).

Un bajo perfil de progesterona se ha observado en 23% de vacas repetidoras (Bulman & Laming, 1978) e incluso en 15% de vacas normales entre 28 y 75 d posparto (Butterfield & Lishman, 1988). Estos hallazgos han permitido utilizar en vacas problema una terapia de GnRH 12 a 0 h antes del servicio y antibióticos uterinos (ABIU) como complemento, con magníficos resultados (González-Stagnaro *et al.*, 1992). En ciertos casos, la ovulación atrasada se acompaña de bajos niveles de proges-

terona que ocasionan baja fertilidad debido a fallas en la integración endocrina, mala calidad de CL e inadecuado abastecimiento de progesterona (Kimura *et al.*, 1988; Shelton *et al.*, 1990).

FUNCIÓN OVÁRICA ANORMAL: ANESTRO Y ANOVULACIÓN

Diversos estudios sobre quistes ováricos e inactividad ovárica mostraron que la condición anovulatoria perjudica la eficiencia reproductiva de las vacas. Hancock (1993) propuso una clasificación clínica basada en los tipos de actividad ovárica y de quistes ováricos, señalando 13 clasificaciones agrupadas en tres tipos: estro, condición anovulatoria (quística o normal) e inactividad ovárica.

Los casos de anovulación y de anestro de comportamiento (incapacidad de ciclar y de manifestar estro) son normales en vacas posparto (Lucy, 2011), no obstante, se han señalado algunos factores ligados con la anovulación, el anestro y la función ovárica anormal en vacas cíclicas, incluyendo problemas de quistes y la función luteal posparto subnormal. En vacas de carne y DP consideradas más fértiles en comparación con las de leche, el amamantamiento inhibe la pulsatilidad de LH, cuya falta derivará en anestro. Con una nutrición adecuada, las vacas separadas de su cría presentarán celo, ovulación y fertilidad desde que empiezan a ciclar (Lucy, 2003); por el contrario, las vacas de alta producción lechera mantienen lapsos prolongados de anovulación soportados por un balance negativo de energía, el cual favorece un medio hormonal inadecuado para el desarrollo folicular pre-ovulatorio y para inducir el pico de LH y la ovulación (Lucy, 2003).

Una función ovárica anormal en vacas cíclicas es un riesgo de sub-fertilidad (Lucy, 2011) que puede alcanzar niveles de 50% o más en rebaños DP en sistemas tradicionales (González-Stagnaro *et al.*, 1988), que exhiben una pobre eficiencia al ser comparadas con vacas con ciclo normal (Petersson *et al.*, 2006). Las alteraciones del ciclo estral han sido clasificadas en tres tipos principales: período de anovulación prolongado; cese temporal de la fase luteal (pérdidas embrionarias) y fases luteales prolongadas (mayores de 20 días). Los puntos críticos que afectan a las vacas posparto, como balance negativo de energía, problemas del periparto y afecciones del posparto entre otros, se han señalado como riesgos para mantener una ciclicidad normal (Op-somer *et al.*, 2000; Lucy, 2001).

La incidencia de ovarios quísticos y de las metritis sépticas es elevada en vacas lecheras y mantienen correlación genética con el nivel de producción (Vanholder *et al.*, 2006; Wiltbank *et al.*, 2006); sin embargo, son mínimas en vacas DP, en especial, en rebaños tradicionales (González-Stagnaro *et al.*, 2006). Los ciclos estrales anormales probablemente resultan de una alteración del mecanismo fisiológico del folículo pre-ovulatorio que requiere del crecimiento y de una pulsatilidad adecuada de LH para su función. En caso contrario, se compromete la capacidad del folículo para una función normal, aumentando la incidencia del anestro, los ciclos estrales anormales y aún las gestaciones gemelares (Lucy, 2003). La secreción de esteroides del folículo es necesaria al incidir sobre el eje H-H, el útero y la pulsatilidad de LH. Otro componente responsable de la sub-fertilidad serían las bajas concentraciones sanguíneas de progesterona en la fase luteal (Starbuck *et al.*, 2006). El aumento lento en los niveles de

progesterona en la primera semana de la fase luteal retarda el desarrollo inicial del crecimiento del embrión, completado por efecto de la escasa progesterona sobre las salpings o en el endometrio (Green *et al.*, 2005).

CLASIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES ANOVULATORIAS

El conocimiento de la fisiopatología de la dinámica ovárica ha evolucionado gracias al avance y las ventajas de la ultrasonografía en tiempo real (USG) y de sus relaciones endocrinas. La USG facilita la comprensión de los conocimientos sobre la dinámica de la función ovárica, los niveles circulantes de las hormonas reproductivas, la fisiología molecular y celular y las interacciones fisiológicas vinculadas con el estro y las condiciones anovulatorias. Wiltbank *et al.* (2002), utilizan un modelo fisiológico del crecimiento folicular y de la ovulación para clasificar los diversos tipos de condición anovulatoria observados en vacas, evaluando las interacciones entre cuatro hormonas claves en el ciclo reproductivo: FSH, estradiol-17 β , LH y progesterona.

Existen tres principales actividades fisiológicas que pueden ser identificadas por USG durante el crecimiento folicular: la emergencia de la onda folicular (~ 4 mm de diámetro), la selección del folículo dominante (~ 9 mm de diámetro) y la ovulación (diámetro de 10 a 20 mm de acuerdo con los estados fisiológicos). Esas actividades fueron usadas para clasificar los tipos de condición anovulatoria en cuatro categorías de acuerdo con las estructuras ováricas y el probable estado fisiológico que caracterizan diferentes patrones de crecimiento folicular, su fisiología y los posibles tratamientos (Wiltbank *et al.*, 2002). Un examen único de USG o palpación no ofrece suficiente información para clasificar correctamente una vaca en una determinada categoría. En este caso, las vacas anovulatorias o vacas en anestro, muestran similar condición clínica.

1. Condición anovulatoria con crecimiento folicular solo hasta la emergencia

Poco se conoce sobre las características y efectos de los ovarios inactivos o atróficos y sobre las posibles causas o tratamientos de ese tipo de condición anovulatoria. Los ovarios con folículos que crecen solo hasta el momento de la divergencia se caracterizan por ser pequeños y lisos. Mediante la palpación rectal es difícil diferenciar los ovarios con folículos que crecen hasta la divergencia (diámetro < 8 mm), de aquellos que crecen apenas hasta el tamaño de emergencia (~ 4 mm de diámetro). Wiltbank *et al.* (2002), detectaron folículos que crecieron hasta la emergencia en solo tres vacas o novillas sobre más de 1000 animales examinados.

Al describir la dinámica folicular en vacas cebú amamantando y criadas en pastos de baja calidad, se señalaron épocas en las cuales las vacas presentan períodos de anestro con crecimiento de muy pocos y muy pequeños folículos de $\sim 4-6$ mm de diámetro (Ruiz-Cortes & Olivera-Angel, 1999, cit por Lucy, 2011). El crecimiento de folículos desde la emergencia a la fase de divergencia puede deberse a la presencia de FSH en la circulación. Wiltbank *et al.* (2002), postularon que en ese estudio puede haber ocurrido una deficiencia de FSH, luego que los tratamientos con GnRH no mostraron ningún resultado, mientras que el tratamiento con FSH fue capaz de aumentar el crecimiento folicular.

2. Condición anovulatoria con crecimiento folicular hasta la divergencia, pero sin ovulación (vacas anovulares)

La fisiología en casos de condición anovulatoria con crecimiento folicular hasta la divergencia, pero sin ovulación, puede ser semejante en novillas en la fase prepuberal, en vacas posparto y en animales sub-alimentados. Este estado se caracteriza por ovarios pequeños debido a la ausencia de CL o de folículos de tamaño ovulatorio. Evaluaciones diarias con USG mostraron que el crecimiento folicular mantiene un patrón dinámico de onda. El crecimiento folicular en el periodo prepuberal se caracteriza por aumento de FSH, aparición y crecimiento de una onda folicular y por la selección de un folículo dominante (FD) con alrededor de 8,5 mm de diámetro (Sartori *et al.*, 2001).

El crecimiento y la producción de estradiol por parte del FD después de la selección, en apariencia no aumentan al aproximarse el periodo de pubertad y de la primera ovulación. Las ondas foliculares continúan todo el periodo de preñez hasta 21,6 días antes del parto. Después del parto, ocurre un pico de FSH probablemente debido a una reducción del estradiol circulante asociada al parto. Una nueva onda folicular ocurre 2-7 d después del parto, media, 4 d (Wiltbank *et al.*, 2002), lo que significa que los picos de FSH y de crecimiento folicular comienzan de inmediato después del parto.

El primer FD es el que ovula en casi 75% de las vacas lecheras bien alimentadas. En vacas Holstein, la media fue de $33,3 \pm 2,1$ días hasta la primera ovulación posparto; en vacas lecheras en pastoreo la media de ondas de crecimiento folicular antes de la primera ovulación fue de 4,2. Apenas 10% de las vacas de carne y amamantando ovularon en la primera onda folicular y muchas presentaron varias ondas foliculares antes de la primera ovulación. La subnutrición, amamantamiento y enfermedades pueden prolongar el lapso hasta la primera ovulación, a la vez que reducen el tamaño máximo del folículo mayor (Lucy, 2011).

El periodo hasta la primera ovulación varía en las vacas y está relacionado con el punto mínimo en el balance energético negativo (BEN). El retorno al balance energético neutro o positivo favorece el aumento de la secreción de LH pulsátil y el tamaño máximo del FD y de la producción folicular de estradiol (Beam & Butler, 1999). Es probable que el BEN pueda desencadenar un estado semejante al de la pre-pubertad, en la cual el estradiol inhibe la secreción de GnRH del hipotálamo. El FD después de la selección aumenta la cantidad de estradiol en sangre, el cual inhibiría la GnRH en el hipotálamo; en consecuencia disminuye los pulsos de LH. La disminución de los pulsos de LH imposibilitan la continuación del crecimiento folicular hasta el tamaño pre-ovulatorio y la producción de estradiol por el FD en la pre-ovulación. En consecuencia, la ovulación estaría impedida porque no habría pico de estradiol ni el correspondiente pico de GnRH/LH (Lucy, 2011).

Es posible inducir la ovulación reduciendo el feedback negativo del estradiol y aumentando la frecuencia de los pulsos de GnRH/LH, para permitir que los folículos alcancen el tamaño y la función pre-ovulatoria final. En novillas prepúberes, se estimula el consumo de energía que aumenta los pulsos de LH y reduce el periodo a la primera ovulación. En vacas de carne y DP, el anestro posparto se soluciona de forma es-

pontánea a medida que las vacas entran en un equilibrio energético más positivo. La mejora en el consumo de energía durante el período de transición mediante una buena alimentación tres semanas antes y después del parto, suele reducir el período de anestro, bloqueado debido a la falta de los pulsos de LH. En vacas DP, el mayor consumo de energía y la eliminación del amamantamiento aumentan los pulsos de LH y disminuyen el período hasta en momento de la primera ovulación (Lucy, 2011).

3. Condición anovulatoria con crecimiento folicular hasta el tamaño de ovulación o superior (quistes ováricos)

En muchos casos de vacas anovulatorias se observa que los folículos crecen hasta un tamaño superior al de la ovulación, como sucede en caso de los quistes ováricos con una incidencia entre 6 y 19% en vacas lactantes, siendo más raros en vacas de carne y DP. Wiltbank *et al.* (2002), detectaron numerosas vacas lactantes con folículos mayores que el tamaño ovulatorio, pero que no alcanzaban un diámetro compatible de la condición de quiste ovárico.

Los quistes ováricos se definen como estructuras > 25 mm de diámetro que persisten en los ovarios durante por lo menos 10 días en ausencia de un CL; se clasifican como foliculares o luteales de acuerdo con el grado de luteinización y secreción de progesterona. Una de las características importantes de las vacas con quistes ováricos es la baja concentración de progesterona en sangre. Los quistes ováricos inducen diferentes normas de comportamiento sexual asociados a la condición anovulatoria con folículos grandes: ausencia de estro por largos periodos, conducta de estro muy frecuente (ninfomanía) o un fenotipo extremadamente masculino.

La palpación rectal repetida o la observación USG de los ovarios demuestran que los quistes foliculares no son estáticos, observándose nuevas ondas foliculares con presencia de folículos ováricos grandes. Las concentraciones de FSH en la sangre parece que continúan bajas después de la selección del folículo, ya que el quiste folicular permanece dominante. La ausencia de un pico de LH provoca una condición anovulatoria con quistes ováricos. Las vacas con quistes ováricos poseen alto nivel de estradiol endógeno, pero aún así no presentaron pico de LH, lo que sugiere un eje H-H con menor sensibilidad. El estado anovulatorio con un gran folículo parece resultar de la ausencia del pico de LH en respuesta a altas concentraciones de estradiol en sangre.

Una observación fisiológica constante de los quistes ováricos ha sido la menor concentración de LH en sangre en vacas en condición anovulatoria en comparación con vacas que ovulan. Eso podría ser causado por la estimulación pulsátil de LH o debido a ausencia de feedback negativo de la progesterona en los pulsos de GnRH/LH en vacas en condición anovulatoria con grandes folículos. Wiltbank *et al.* (2002) observaron que el aumento de pulsos de LH en vacas lecheras con ciclo normal o en período posparto no provoca el desarrollo de quistes ováricos. Es decir, las altas cantidades de pulsos de LH pueden ser importantes para que continúe un mayor crecimiento de folículos grandes, pero es improbable que sea el principal causal etiológico en caso de los quistes.

Las vías neuronales y hormonales inducen un hipotálamo incapaz de responder con un pico de GnRH después de un pico de estradiol. Según Wiltbank *et al.* (2002), la

inducción de un pico de GnRH/LH, cuando no hay un folículo con capacidad ovulatoria (> 10 mm), causa más tarde un pico de GnRH/LH en ausencia de progesterona en sangre. El hipotálamo parece tornarse sensible al feedback positivo del estradiol hasta una posterior exposición a la progesterona para reestablecer su sensibilidad al estradiol. Por ello, la condición anovulatoria en presencia de un folículo grande parece ser una anomalía del hipotálamo antes que del ovario.

La recuperación espontánea ha sido observada en quistes ováricos inducidos o de ocurrencia natural. La recuperación espontánea parece ser más elevada en vacas al inicio del período posparto que al final de la lactación. La ruptura manual de los quistes no es recomendable por el riesgo de hemorragia y formación de adherencias del mesovario, que pueden comprometer la fertilidad.

4. Condición anovulatoria con presencia de tejido luteal

Una de las causas más comunes del problema anovulatorio es la presencia de tejido luteal. Los quistes luteales (folículos engrosados y progesterona > 1 ng/ml) pueden causar tejido luteal persistente. Durante la preñez el crecimiento folicular continúa, pero los folículos no ovulan. Es un efecto fisiológico que no se considera un problema de sub-fertilidad, a menos que las vacas posean un CL en ausencia de preñez, acompañado de alguna patología. Un CL que no regresiona presenta altas concentraciones de progesterona ($> 1,5$ ng/ml). Es poco probable que fallas en la involución uterina, infecciones uterinas u otra anomalía uterina puedan reducir la secreción de PGF_{2α} o su transporte hacia el ovario, viabilizando un CL prolongado. El tratamiento con PGF_{2α} parece ser el método más eficaz para facilitar la regresión de un CL prolongado o la regresión de quistes luteales.

PREVENCIÓN Y ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTOS DE ANOVULACIÓN

Prevalencia y factores de riesgo en vacas anovulares

La prevalencia de vacas anovulares en rebaños lecheros y DP depende de innumerables factores de riesgo, como los días posparto al momento del diagnóstico; cuando más próximo al parto se realiza un diagnóstico, mayor será la prevalencia de vacas anovulares, siendo las primíparas las que tienen mayor posibilidad del atraso en el retorno de la actividad cíclica que las multíparas. Walsh *et al.* (2007), evaluaron la prevalencia de vacas anovulares en 18 rebaños canadienses analizando la concentración de progesterona en la leche alrededor de 60 días posparto; entre rebaños, la prevalencia varió de 5 a 45%. Santos *et al.* (2009), al evaluar la prevalencia de vacas anovulares a los 65 días posparto en 6.396 vacas de cuatro rebaños lecheros, observaron que 24,1% fueron clasificadas como anovulares, variando la prevalencia entre 18,6 y 41,2% entre rebaños.

Otros riesgos serían: época de parto, estado nutricional, condición corporal, número de partos y afecciones posparto. Es interesante notar que las vacas más productivas tienen de manera general, un menor riesgo de atraso en el reinicio de la actividad cíclica posparto, siempre que estén bien alimentadas y con buena CC (González-Stag-

naro *et al.*, 1988). De igual manera, las vacas con baja CC al parto o 65 días posparto, las vacas que pierden más CC y las que producen menos leche dentro de un mismo rebaño (Lopez *et al.*, 2004). Las vacas de alta producción muestran celos de corta duración y menor intensidad que las vacas de menor producción, en especial, cuando los pisos muestran áreas de concreto, siendo más elevada la prevalencia de los problemas de las pezuñas.

Como las vacas anovulares no ciclan de manera normal, se espera que tengan un atraso en el primer celo posparto y a la primera IA, lo cual prolonga el intervalo entre partos y disminuye la eficiencia reproductiva del rebaño. Por esas razones, se complica el manejo y control reproductivo y se hace evidente que el principal problema de la IA es la baja eficiencia en la detección del celo. Cuando se utilizan programas de sincronización, es característico que esas vacas acabarán ovulando el FD de la 1ª onda de crecimiento folicular, reduciendo la probabilidad de preñez (Bisinotto *et al.*, 2010). Estas vacas anovulares, también exhiben una baja fertilidad durante toda la lactación (Walsh *et al.*, 2007), con mayor riesgo de pérdida de la gestación que las cíclicas (Santos *et al.*, 2004), a pesar que no siempre ocurre esta respuesta (Santos *et al.*, 2009).

Prevención y estrategias terapéuticas en el manejo de vacas de leche anovulares

El tratamiento de la anovulación depende de la filosofía de manejo reproductivo del rebaño. La terapia hormonal se basa en la implantación de programas de sincronización de la ovulación e inseminación artificial en tiempo fijo (IATF), asociados o no a la suplementación con progesterona. Conociendo los factores de riesgo que intervienen en el atraso de la actividad cíclica posparto, es recomendable mantener un buen manejo del parto para reducir el riesgo de distocia, prevenir los problemas en el parto y minimizar las pérdidas de CC que son puntos críticos que frenan que las vacas lecheras y DP presenten celos ovulatorios en el posparto temprano.

Es importante formular raciones en el preparto y al inicio de la lactación para estimular un mayor consumo de energía, controlando a la vez los problemas del metabolismo mineral. Un punto importante es asegurar que la vaca disponga y sea capaz de consumir la mayor cantidad posible de alimento, al mismo tiempo que se implanta un programa agresivo para el control y tratamiento de afecciones del posparto. El consumo de dietas glucogénicas con mayor concentración de almidones, aumentan la concentración de insulina en el inicio de la lactación y aceleran el restablecimiento de la actividad ovulatoria (Gong *et al.*, 2002).

Una manera de minimizar el impacto de las vacas anovulares sobre la fertilidad del rebaño es atrasar el inicio de la IA prolongando el período de reposo voluntario, lo que reduce la prevalencia de vacas anovulares en el inicio del periodo de IA. Chebel *et al.* (2006), mostraron que cerca de 30% de las vacas anovulares en el día 49 posparto se tornaron cíclicas hacia el día 62 posparto y Lopez *et al.* (2005), confirmaron que vacas anovulares al día 71 posparto iniciaron su ciclicidad a los 100 días posparto. La adopción de esta estrategia del PRV para controlar el efecto de la falta de ciclicidad sobre la fertilidad, no significa un beneficio efectivo para la eficiencia reproductiva del rebaño, ya que sería necesario un aumento en la probabilidad de preñez a la IA de 8-10% por cada tres semanas de atraso en la 1ª IA posparto (Santos, 2007). Además, el atraso

en la 1ª IA requiere mayor control reproductivo, implantando programas de IATF para atenuar que la baja tasa de detección de celo comprometa la fertilidad.

La manera más eficaz de inducir un CL en vacas anovulares en un simple tratamiento con 100 µg de GnRH logrando una respuesta ovulatoria en más de 80% de las vacas sin CL (Galvão *et al.*, 2007; Gümen *et al.*, 2003). Otra estrategia es la suplementación con progesterona. El tratamiento con dispositivos intravaginales que contienen progesterona como el CIDR es eficaz en restablecer el proceso ovulatorio en vacas anovulares, como se demostró al inducir la ovulación en todas las vacas 3 d después del tratamiento con CIDR (Gümen & Wiltbank, 2005); sin embargo, al tratar numerosas vacas anovulares, con CIDR por 7 d se indujo ciclicidad en apenas 50-55% de las vacas anovulares (Chebel *et al.*, 2006; Cerri *et al.*, 2009). Es decir, la inducción hace posible la eliminación inmediata del estado anovulatorio, pero no alcanza el objetivo final de preñar a las vacas inseminadas en el momento preciso.

Los tratamientos hormonales pueden estimular la aparición del ciclo en las vacas en anestro. Se ha observado una acción complementaria entre GnRH y el destete en el tratamiento del anestro posparto en novillas mestizas (González-Stagnaro *et al.*, 2000), al igual que se ha comprobado el efecto luteoprotector del tratamiento GnRH en las vacas repetidoras que mostraban CL sub-funcional, pequeños, pálidos y con bajos niveles de progesterona (González-Stagnaro *et al.*, 1993).

Vacas anovulares lactantes (n=182) fueron tratadas con el protocolo Ovsynch simple, usando un dispositivo intravaginal de liberación lenta (CIDR) en un tratamiento con GnRH y PGF_{2α}. Las vacas que recibieron Ovsynch + CIDR presentaron tasas de preñez más altas (55,2%) que las que recibieron Ovsynch sin CIDR (34,7%) el día 28 después de IA. Las vacas lactantes en anestro anovulatorio que no presentaron pico de LH pueden ser tratadas con éxito usando Ovsynch, ya que poseen folículos de tamaño suficiente y capacidad de ovulación (Pursley *et al.*, 1995; cit por Lucy, 2011).

Los programas de sincronización de la ovulación e IATF han sido aplicados para tratar vacas anovulatorias al mismo tiempo, inseminarlas y preñarlas. De Vries *et al.* (2006), concluyeron que el programa Ovsynch fue económicamente superior al uso de dispositivos con progesterona y observación del celo para tratar vacas anovulares. Sin embargo, una mejor estrategia para tratar vacas anovulares sería la combinación de la IATF con CIDR. En seis experiencias en vacas lecheras, la preñez aumento de manera significativa en 4,9%, de 27,4 a 32,3% (Stevenson *et al.*, 2008).

Una nueva estrategia es la pre-sincronización para inducir la ciclicidad antes de iniciar el programa de sincronización. Estos programas requieren un mayor uso de tratamientos hormonales, siendo el objetivo que un mayor número de vacas inicien el programa de IATF al inicio del diestro y que resulten gestantes. Se usó CIDR durante el programa de pre-sincronización del ciclo, aplicando el programa Ovsynch 13 días después de la remoción del CIDR (Chebel *et al.*, 2006); con el CIDR aumentó la proporción de vacas cíclicas al inicio del tratamiento Ovsynch, pero no mejoró la fertilidad de las vacas en la 1ª IA posparto (Bicalho *et al.*, 2007).

Una segunda opción de pre-sincronización es el tratamiento con GnRH antes del programa Ovsynch. La expectativa es que GnRH inducirá la ovulación y la pre-sincronización del ciclo antes de iniciar el Ovsynch (Bello *et al.*, 2006). Las diferencias

entre los tratamientos de pre-sincronización antes del Ovsynch sobre la fertilidad a la primera IA posparto fueron pequeñas. La PGF_{2α} seguida de GnRH 6 a 7 d más tarde como inicio del programa Ovsynch no fue superior al uso de PGF_{2α} sola (Galvão *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2009). De hecho, al comparar el tratamiento sin pre-sincronización, el uso de GnRH mostró una eficiencia limitada en la mejora de la fertilidad (Peters & Pursley, 2002; Bello *et al.*, 2006), aunque fue suficiente cuando se trataron animales repetidores a mitad del ciclo (González-Stagnaro *et al.*, 1997).

Un método más promisor parece ser el uso del Ovsynch-doble, el cual somete a la vaca a dos programas de Ovsynch, siendo inseminada solo al final del segundo programa. Souza *et al.* (2008), observó que ese programa mejoró la fertilidad de vacas lecheras cuando se comparó con el programa de pre-sincronización tradicional basada en dos dosis de PGF_{2α}. En un reciente estudio, Ribeiro *et al.* (2009), compararon la misma estrategia en más de 1300 vacas en tres rebaños en un sistema de pastoreo, sin observar mejora de la fertilidad. No obstante, el uso de Ovsynch doble en 162 vacas fue superior ($P = 0,07$) a pesar de ser pre-sincronizadas con PGF_{2α} solamente (40,0 vs 26,4%).

El tratamiento de quistes ováricos se basaba en la administración de LH. La inducción de la descarga de LH estimula la luteinización de los quistes y la ovulación de folículos maduros, solucionando la condición quística. La gonadotropina coriónica humana (hCG), análogos y agonistas de GnRH han sido usados en el tratamiento de quistes ováricos. La GnRH es el preferido por su molécula pequeña, estable y que no genera efecto colateral o respuesta inmune. La GnRH induce liberación de LH después de 30 minutos con un pico elevado después de dos horas, luteinizando los quistes o induciendo la ovulación del folículo maduro. La administración de PGF_{2α} 9 d después de la GnRH indujo la expresión del estro en 2 a 3 d. Esta terapia exige alta tasa de detección del estro siendo una alternativa la IATF para aumentar la fertilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beam SW, Butler WR. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 54(Suppl):411-424.
- Bello NM, Steibel JP, Pursley JR. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:3413-3424.
- Bicalho RC, Cheong SH, Warnick LD, Guard CL. 2007. Evaluation of progesterone supplementation in a prostaglandin F_{2α}-based presynchronization protocol before timed insemination. *J. Dairy Sci.* 90:1193-1200.
- Bicalho RC, Galvão KN, Guard CL, Santos JEP. 2008. Optimizing the accuracy of detecting a functional corpus luteum in dairy cows. *Theriogenology* 70: 199-207.
- Bisinotto RS, Chebel RC, Santos JEP. 2010. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.*
- Bulman DC, Lamming GE. 1978. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J Reprod Fert* 54: 447-458.

- Butterfield WA, Lishman AW. 1988. Embryo mortality and early post-oestrous cycle embryonic death estimated from oestrous cycle lengths and milk progesterone analysis. *S Afr J Anim Sci* 18: 79-82.
- Cerri RLA, Rutigliano HM, Bruno RGS, Santos JEP. 2009. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone. *Anim. Reprod. Sci.* 110:56-70.
- Chebel RC, Santos JEP, Cerri RLA, Rutigliano HM, Bruno RGS. 2006. Reproduction in dairy cows following progesterone #INS# presynchronization and resynchronization protocols. *J. Dairy Sci.* 89:4205-4219.
- De Vries A, Crane MB, Bartolome JA, Melendez P, Risco CA, Archbald LF. 2006. Economic comparison of timed artificial insemination and exogenous progesterone as treatments for ovarian cysts. *J. Dairy Sci.* 89:3028-3037.
- Derivaux J. 1971. Reproduction chez les animaux domestiques. III Pathologie. Facult de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liege, Belgique. Pag 39-42.
- Galvão K.N, Sá Filho MF, Santos JEP. 2007. Reducing the interval from presynchronization to initiation of timed artificial insemination improves fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:4212-4218.
- Gong JG, Lee WJ, Garnsworthy PC, Webb R. 2002. Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction* 123: 419-427.
- González-Stagnaro C. 1989. Problemas de ovulación en vacas repetidoras determinados por los niveles de progesterona en leche descremada. XXXIX Conv Anual AsoVAC, Caracas, 208. Novbre 1989.
- González-Stagnaro C. 1991. Servicios repetidos y alteraciones de la ovulación en vacas repetidoras. In, IV Jornadas sobre Producción Animal, ITEA, vol extra 11, I: 103-105.
- González-Stagnaro C, Madrid-Bury N. 1998. Momento de ovulación en novillas y vacas mestizas. *Revista Científica, FCV-LUZ VIII* (3): 259-264.
- González-Stagnaro C, Soto E, Goicochea J, González R, Soto G. 1988. Identificación de los factores causales y control del anestro, principal problema reproductivo en la ganadería mestiza de doble propósito. Publ. Banco Consolidado 1988, 90 pp.
- González-Stagnaro C, Goicochea Llaque J, Ramírez Iglesia L. 1992. Integración de la determinación de progesterona en Programas de Diagnóstico y Control de la Reproducción en vacas mestizas. En, *Ganadería Mestiza de Doble Propósito*. C González-Stagnaro (ed). Edic. Astro Data S.A. Maracaibo. X: 203-231.
- González-Stagnaro C, Madrid Bury N, Morales J, Marín D. 1993. Efecto luteoprotector del tratamiento GnRH en vacas mestizas repetidoras con cuerpo lúteo sub-funcional. XIII Reunión Latinoam Prod Anim, ALPA. Santiago de Chile. Chile, 124
- González-Stagnaro C, Goicochea Llaque J, Madrid Bury N, Medina D, Morales J. 1994. Caracterización de los perfiles de progesterona en vacas mestizas repetidoras. *Rev Fac Agronomía (LUZ)* 11: 67-79.
- González-Stagnaro C, Madrid-Bury N, Aranguren A, Quintero A, Chirinos Z. 1997. Efecto del tratamiento GnRH durante la fase luteal media de vacas mestizas de primer servicio y repetidoras. *Revista Científica FCV-LUZ IX* (2): 91-98.
- González-Stagnaro, Madrid-Bury N, Chirinos Z. 2000. GnRH y destete en el tratamiento del anestro posparto en vacas mestizas de doble propósito. VI Congreso internacional de medicina bovina, ANEMBE. Santiago de Compostela, España. Junio 14-18, I: 250-253.

Green MP, Hunter MG, Mann GE. 2005. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 88:179-189.

Gümen A, Wiltbank MC. 2005. Length of progesterone exposure needed to resolve large follicle anovular condition in dairy cows. *Theriogenology* 63: 202-218.

Gümen A, Guenther JN, Wiltbank MC. 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3184-3194.

Hancock JL. 1993. The clinical analysis of reproductive failure in cattle. *Vet. Rec.* 60:513-517.

Kimura M, Nakao T, Moryoshi M, Kawata K. 1988. Luteal phase deficiency as a possible case of repeat breeding in dairy cows. *Brit Vet J* 143: 560-566.

Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. 2004. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 81:209-223.

Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC. 2005. Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:2783-2793.

Lucy MC. 2003. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction Supplement* 61:415-427.

Lucy MC. 2011. Desafios na reprodução de vacas leiteiras de alta produção. In, XV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Uberlândia, Brasil. 17 a 18 de março de 2011. En, Newsletter, Rede Agripoint. MilkPoint. Documento de Ricarda Maria dos Santos y José Luiz Moraes Vasconcelos.

Madrid-Bury N, González-Stagnaro C. 2004. Epidemiological analysis in repeat breeders dual purpose cows. In, 15th International Congress on Animal Reproduction. Agosto 8-12, 2004. Porto Seguro, Bahia, Brasil. ICAR 2004. Volumen 1: 256 (Abst.).

Opsomer G, Gröhn YT, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology* 53:841-857.

Peters MW, Pursley JR. 2002. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF2 α and GnRH. *J. Dairy Sci.* 85:2403-2406.

Petersson KJ, Gustafsson H, Strandberg E, Berglund B. 2006. Atypical progesterone profiles and fertility in Swedish dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:2529-2538.

Ribeiro ES, Cerri RLA, Bisinotto RS, Lima FS, Silvestre FT, Thatcher WW, Santos JEP. 2009. Reproductive performance of grazing dairy cows following presynchronization and resynchronization protocols. *J. Dairy Sci.* 92 (E-Suppl. 1): 266 (Abstr.).

Santos JEP. 2007. Optimization tips and alternatives for timed insemination at first service. In Proc. 2nd Convention Dairy Cattle Reproduction Council, November 2-3, 2007. Denver, CO, pp. 23-35.

Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão KN. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 513-535.

Santos JEP, Rutigliano HM, Sá Filho MF. 2009. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 110:207-221.

- Sartori R, Fricke PM, Ferreira JC, Ginther OJ, Wiltbank MC. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol Reprod.* 65:1403-1409.
- Shelton H, Geyerie de Abreu MF, Hunter MG, Lamming GE. 1990. Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. *J Reprod Fert* 90: 1-10.
- Silva E, Sterry RA, Fricke PM. 2007. Assessment of a practical method for identifying anovular dairy cows synchronized for first postpartum timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 90: 3255-3262.
- Souza AH, Ayres H, Ferreira RM, Wiltbank MC. 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70:208-215.
- Starbuck GR, Gutierrez CG, Peters AR, Mann GE. 2006. Timing of follicular phase events and the postovulatory progesterone rise following synchronisation of oestrus in cows. *Veterinary Journal* 172:103-108.
- Stevenson JS, Tenhouse DE, Krisner RL, Lamb GC, Larson JE, Dahlen CR, Pursley JR, Bello NM, Fricke PM, Wiltbank MC, Brusveen DJ, Burkhart M, Youngquist RS, Garverick HA. 2008. Detection of anovulation by heatmount detectors and transrectal ultrasonography before treatment with progesterone in a timed insemination protocol. *J Dairy Sci* 91:2901-2915.
- Thatcher WW, Collier J, Beede DK, Wilcox CJ. 1986. Interaction of environment and reproductive processes in cattle. In, *Nuclear related Techniques for improving the productivity of Indigenous animals in harsh environments*. IAEA, Vienna, 61-73.
- Vanholder T, Opsomer G, de Kruif A. 2006. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reproduction Nutrition and Development* 46:105-119.
- Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57:21-52.
- Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gümen A. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65:17-29.
- Walsh RB, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. 2007. Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 315-324
- Zemjanis R. 1980. "Repeat-Breeding" or conception failure in cattle. In, *Morrow D.A. Current therapy in Theriogenology. Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Diagnosis* W.B. Saunders Co. Phil. USA, 205-213.