

INFLUÊNCIA DO ESTROGÊNIO NA FERTILIDADE DA VACA "PROBLEMA" (REPEAT-BREEDER)¹

PAULO GRAÇA ARAÚJO², GELIO NOGUEIRA PIZELLI², MAURO RIBEIRO DE CARVALHO², OSVALDO DE ALMEIDA RESENDE² e DIRCE P. P. DE SOUZA BRITTO³

Sinopse

Em um rebanho mestiço de 333 vacas, foi observada a síndrome da vaca "problema" em 46 (14%) animais. Estes eram mantidos a campo, recebendo ração suplementar de concentrados durante a ordenha e fecundados por inseminação artificial.

Da aplicação de 2 mg de estrogênio, intravenosamente, em 46 vacas logo após a inseminação, 31 (67,4%) enxertaram com 68 inseminações contra 204 negativas feitas anteriormente.

Baseando-se nos resultados obtidos, os autores sugerem que a administração do hormônio estrogênico foi provavelmente responsável pelo aumento da fertilidade em vacas "problema", que possuíam três ou mais inseminações sem concepção.

INTRODUÇÃO

A vaca "problema" (repeat-breeder), que repete cio, ou de concepção difícil, é o animal clinicamente normal, porém, de fertilidade reduzida por falha de fecundação ou por morte precoce do embrião, sem causa aparente. Não tem anormalidades perceptíveis no trato reprodutivo e apresenta ciclos estrais regulares. A síndrome manifesta-se pela repetição do cio após três ou mais coberturas ou inseminações artificiais com sêmen de boa fertilidade.

Os experimentos mostram que a maioria das vacas "problema" têm óvulos fecundados quando examinados após a inseminação, porém, o embrião morre e logo após é absorvido (Tanabe & Casida 1949; Tanabe & Almquist 1953; Casida 1953; Hawk *et al.* 1955). De acordo com Frank e Bryner (1953), a morte embrionária ocorreria, pouco tempo após a inseminação, de duas maneiras: na primeira, o ovo se desenvolveria por vários dias, morrendo antes do meio do ciclo; o corpo lúteo regride e o ciclo se repetiria como se a fecundação não tivesse ocorrido; na segunda hipótese, o embrião se degeneraria depois da metade do ciclo, retardando a regressão do corpo lúteo por um tempo maior que o do ciclo estral.

Mais recentemente, Ayalon *et al.* (1968), estudando vacas "problema" em vários períodos de sacrifício após a inseminação, encontrou diferença significativa entre o número de óvulos fecundados e embriões sobreviventes no período de 11 a 13 dias e mais tarde. Os autores acreditam que a morte se verifica já no 12.º dia de prenhez, hipótese também aceita por Boyd *et al.* (1969) para vacas normais.

Este tipo de infertilidade funcional torna-se cada vez mais freqüente e vem causando grandes prejuízos à medida que se intensifica a exploração pecuária (Casida 1961, Ayalon 1964).

A incidência do problema nos rebanhos pode atingir altas cifras. Segundo Trimberger e Davis (1943) cerca de 15% das vacas necessitam três ou mais serviços por concepção, sendo estéreis 6% delas. Khan e Luktuke (1967), na Índia, verificaram falha de concepção em torno de 20% em animais com três coberturas. Pesquisa recente feita na Suécia, envolvendo 16.000 vacas em 1.500 propriedades, revelou que 54,3% destas propriedades tinham o problema, isto é, possuíam vacas que não concebiam com três ou mais inseminações após o parto. A incidência atingiu 10,1% entre todas as fêmeas e variou significativamente com o tamanho do rebanho e o mês de parição, sendo mais freqüente nos rebanhos maiores, no outono (11,4%) e nas vacas mais velhas (Hewett 1968). Esta infertilidade, sem causa aparente, ocorre tanto no gado de leite como no de corte (Herrick 1953).

Modernamente os pesquisadores alemães consideram a síndrome da vaca "problema" como distúrbio ligado ao rebanho, enquanto os britânicos o encaram como uma afecção individual (Ayalon 1964).

¹ Recebido 18 dez. 1970, aceito 25 jan. 1971.
Apresentado sob a forma de abstrato na VII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia em Piracicaba, 14 a 17 de julho de 1970.

² Veterinário do Setor de Reprodução e Inseminação Artificial do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS) Km 47, Campo Grande, CB, ZC-26.

³ Eng.º Agrônomo do Setor de Documentação e Estatística do IPEACS.

No que se refere a etiologia do "repeat-breeding", a literatura é extensa mas os conhecimentos ainda bastante incompletos. Muitos trabalhos apontam, como possíveis causas, as infecções, os distúrbios hormonais, os fatores fisiológicos e nutricionais bem como as condições imunológicas e hereditárias (Tanabe & Casida 1949, Laing 1949, Olds 1953, Casida 1961, Ayalon 1964, Graden *et al.* 1968, Mares *et al.* 1961, Rieck 1969).

As infecções bacterianas foram amplamente exploradas na etiologia da infertilidade funcional. Estudos bacteriológicos comparativos entre vacas consideradas normais e "problema" não permitiram esclarecer o assunto, apesar de que muitos pesquisadores acreditam que a infecção subclínica do útero seja uma das causas do "repeat-breeding" (Gibbons *et al.* 1959, Kiesel & Dacres 1959, Menge *et al.* 1961).

Cumprir ainda salientar que, nos países com métodos zootécnicos menos avançados, as investigações patrocinadas pela FAO (1963) revelaram que a infecção do trato genital é ainda a principal causa da baixa fertilidade dos rebanhos. As infusões uterinas com antibióticos, bastante recomendadas, não têm dado bons resultados em relação à fertilidade da vaca "problema" (Ulberg *et al.* 1952, Roberts 1956, Gibbons *et al.* 1959, Kiesel & Dacres 1959, Haubrich & Alexander 1961).

Fatores fisiológicos e nutricionais têm sido defendidos por inúmeros pesquisadores (Lennon & Mixner 1959, Menge 1961). O período de inseminação após o parto e a hora de inseminar durante o cio revelaram certa correlação (Thibault 1967, Graden *et al.* 1968, Tudorascu 1968). O efeito da alimentação na baixa fertilidade da vaca foi revisto por Reid (1960). Segundo o autor, vacas mantidas em altos níveis de alimentação tinham maior tendência para desordens sexuais durante sua vida reprodutiva.

Outro aspecto a ser considerado no "repeat-breeding" são as possíveis causas imunológicas. Foi demonstrado experimentalmente que a iso-imunização de novilhas com sêmen de touro resultava em infertilidade temporária (Menge, 1967). As pesquisas neste sentido ainda não chegaram a conclusões finais (Menge *et al.* 1960, Lindahl 1966, Sokolovskaja & Resetnikova 1968; Bratanov *et al.* 1968). O mecanismo de formação dos anticorpos também não tem sido estudado convenientemente.

Os fatores genéticos ligados ao assunto foram revistos por Johansson (1960) e Rieck (1969).

Maior atenção é dada às possíveis causas endócrinas e sua relação com o mecanismo de defesa do útero contra a flora bacteriana.

Foi relatado que o mecanismo de defesa do útero é deprimido pela progesterona (Black *et al.* 1951, 1953, 1954, McDonald *et al.* 1952, Rowson *et al.* 1953), porém, estudos realizados sobre o órgão durante a fase lútea mostram menor evidência de inflamação nas fêmeas "repeat-breeders" quando inoculadas experimentalmente com microrganismos (Black *et al.* 1953, 1954). Esta maior resistência do útero aos invasores bacterianos parece estar relacionada com a subfertilidade nestes animais, devido provavelmente a uma baixa produção do hormônio, menor sensibilidade do útero, ou perda mais rápida da progesterona entre a fonte e o órgão estimulado (Casida 1961).

Inúmeros pesquisadores (Herrick 1953, Dawson 1954, Wiltbank *et al.* 1956, Johnson *et al.* 1958) têm preconizado o uso da progesterona no tratamento da vaca "repeat-breeder", na crença de que a produção insuficiente do hormônio no momento da nidação seria a causa mais importante da incidência do problema. Ao que parece, tal condição seria prejudicial à implantação do óvulo, cujo mecanismo depende largamente da progesterona, hormônio responsável pela fase secretora do endométrio.

Embora a terapia progesterônica seja defendida por alguns pesquisadores, Hawk *et al.* (1963), estudando a fisiologia do corpo lúteo, não conseguiram aumentar a fertilidade na vaca "repeat-breeder" após proceder à remoção dos ovários seguida da administração de hormônios (progesterona, só ou combinada com estrogênio). Os resultados contrariam a idéia de que o desequilíbrio hormonal nos ovários possa suprimir a prenhez incipiente nestes animais.

Mais recentemente, Janovskii (1969), usando diversos preparados hormonais (PMS, PMB e progesterona), logrou diminuir a mortalidade embrionária na prenhez incipiente embora pesquisas efetuadas sobre a hipótese anterior não tenham revelado qualquer diferença nos teores de FSH, LH e LTH entre vacas normais e "repeat-breeders" (Kiddy *et al.* 1956, Cupps & Laben 1959).

A par da literatura existente sobre o "repeat-breeding" e considerando a variação das condições ecológicas, manejo e raça do animal, julgamos de interesse estudar o assunto realizando o presente experimento com a finalidade de determinar o efeito do estrogênio nas vacas "problema" em um rebanho típico da região.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi executado no período de 1963/65 no rebanho bovino do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS).

Foram utilizadas 46 vacas mestiças equivalendo a 14% do rebanho existente na época. Estes animais tinham uma idade média de 5,8 anos e possuíam de zero a 7 crias. Ao exame, apresentavam trato reprodutivo normal e ciclos estrais regulares (18 a 25 dias) mas falhavam em conceber após três ou mais inseminações. O número médio de inseminações sem concepção foi de 4,4 antes do tratamento, variando de 3 a 8 por vaca.

Todos os animais eram mantidos a campo e recebiam ração suplementar de concentrados durante a ordenha, de acordo com a sua produção.

A observação de cio foi feita duas vezes por dia, no intervalo das ordenhas.

As inseminações foram realizadas pela técnica cervical profunda (reto-vaginal) e superficial (espéculo), adotando-se o sistema clássico da hora de inseminar, isto é, vacas em cio pela manhã, inseminação à tarde do mesmo dia; cio à tarde, inseminação pela manhã do dia seguinte.

O sêmen utilizado foi proveniente de reprodutores de boa fertilidade. O material fecundante era refrigerado a 5°C e conservado por 24 a 48 horas antes de usar. Somente amostras com um mínimo de 60% de vivos foram aproveitadas na inseminação.

Das 46 vacas incluídas no estudo, 28 receberam uma injeção de estrona em solução aquosa⁴ e as 18 restante estradiol em solução oleosa⁵, na dose de 2 mg do hormônio, por via intravenosa, logo após a inseminação.

Para eficiência do tratamento, dois ciclos consecutivos foram considerados, aplicando-se o hormônio apenas no primeiro.

O diagnóstico de prenhez foi feito por palpação retal 45 a 60 dias após a inseminação, segundo método preconizado por Wisnicky e Casida (1948).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No rebanho estudado o problema do "repeat-breeding" atingiu a 13,8% dos animais em reprodução. Tal incidência está em concordância com aquelas assinaladas na literatura (Trimberger & Davis 1943, Khan & Luktuke 1967, Hewett 1968).

Em 46 vacas mestiças foi estudado o comportamento do estrogênio considerando dois grupos, o positivo e o negativo, bem como os dois veículos em que o mesmo foi usado.

⁴ Estrona cristalizada em solução aquosa a 30% de éter etílico do ácido carbônico (Slogynol) Mead Johnson Edochimica.

⁵ Dipropionato de estradiol em solução oleosa (Ovoclina) Ciba.

De 28 vacas tratadas com estrogênio em veículo aquoso, 19 ou 64,3% conceberam, utilizando-se 43 inseminações (2,2 por concepção) contra 131 (4,7 sem concepção) aplicadas anteriormente com resultado negativo. Das prenhas, 12 (63,1%) exertaram na primeira inseminação e 7 (36,9%) na segunda.

Das 18 tratadas com veículos oleoso, 12 ou 72,2% conceberam aplicando-se 25 inseminações (2,0 por concepção) contra 73 (4,0 sem concepção) anteriores negativas. Das prenhas, 8 (66,6%) foram na primeira inseminação e 4 (33,3%) na segunda.

Entre os veículos empregados não houve diferença significativa, sendo indiferente usar aquoso ou oleoso.

Embora a análise estatística não tenha revelado significância entre as inseminações positivas e negativas, acreditamos que a percentagem relativamente alta de vacas recuperadas (67,4%), em relação ao número elevado de inseminações negativas aplicadas anteriormente, seja uma indicação da provável eficiência do hormônio, uma vez que esses animais foram casos clínicos. Por outro lado, partindo-se da hipótese de que vacas normais, quando inseminadas, espera-se como resultado positivo a relação de 2:1 (2 prenhas para 1 vazia), com a aplicação do estrogênio nas vacas "repeat-breeders", espera-se que a relação para a fecundação seja de 2:1 como nas normais sem estrogênio, o que realmente ocorreu, indicando que a hipótese é aceita (teste de Fisher).

Foi verificado, também, que os animais com menor número de inseminações negativas anteriores à aplicação do estrogênio (até 5) forneciam maior percentagem de inseminações positivas.

Os resultados obtidos com a progesterona em diferentes estudos (Herrick 1953, Dawson 1954, Wiltbank *et al.* 1956, Johnson *et al.* 1958) não foram superiores, quanto à fertilidade, aos encontrados por nós com o emprego do estrogênio. Sabe-se que a progesterona é normalmente liberada após o estímulo estrogênico e dêsse modo seus efeitos só seriam desenvolvidos se "sensibilizada" previamente por este hormônio (Emmens 1959). Portanto, é razoável admitir-se que o estrogênio, em concentração inadequada, poderia interferir na mecânica da implantação do óvo por falta de "sensibilização" prévia do endométrio, condição necessária para que a progesterona possa agir.

CONCLUSÕES

A percentagem relativamente alta (67,4%) de vacas recuperadas parece ser uma indicação da provável eficiência do hormônio estrogênico no tratamento do "repeat-breeding", embora Hawk *et al.* (1963)

ponham em dúvida o mecanismo pelo qual dosagens e formas variadas de progesterona, administrada pura ou combinada com estrogênio, possam aumentar a fertilidade nessa categoria de animais.

A vista dos resultados até então divulgados, torna-se evidente que o problema "repeat-breeding" ainda permanece merecendo, a nosso ver, novas pesquisas sobre o assunto.

REFERÊNCIAS

- Ayalon, N. 1964. Sterilitas sine materia (Sterility not clinically diagnosable). V Congr. Int. Riprod. Anim. e la Fecondazione Artificiale, Trento, Vol. 5, Sezione 4, p. 47-80.
- Ayalon, N., Weis, & Lewis, J. 1968. Fertility losses in normal cows and repeat breeders. VI Congr. Reprod. Insem. Artif., Paris, Abstr. 85.
- Black, W.G., Otto, G. & Casida, L.E. 1951. Embryonic mortality in pregnancies induced in rabbits of different reproductive stages. *Endocrinology* 49:237-243.
- Black, W.G., Simon, J., McNutt, S.H. & Casida, L.E. 1953. Investigations on the physiological basis for the differential response of estrous and pseudopregnant rabbit uteri to induced infection. *Am. J. vet. Res.* 14:318-323.
- Black, W.G., Ulberg, L.C., Kidder, H.E. Simon, J., McNutt, S.H. & Casida, L.E. 1953. Inflammatory response of the bovine endometrium. *Am. J. vet. Res.* 14:179-183.
- Black, W.G., Simon, J., Kidder, H.E. & Wiltbank, J.N. 1954. Bactericidal activity of the uterus in the rabbit and the cow. *Am. J. vet. Res.* 15:247-251.
- Boyd, H., Bacshich, P., Young, A. & McCracken, J.A. 1969. Fertilization and embryonic survival in dairy cattle. *Brit. vet. J.* 125:87-97.
- Bratanov, K., Dikov, V. & Tornev, A. 1968. Some antigenic properties of bull semen diluted with egg yolk citrate. VI Congr. Reprod. Insem. Artif., Paris, Abstr. 119.
- Casida, L.E. 1953. Fertilization failure and embryonic death in domestic animals. In Eagle, E.T. & Thomaz, C.C. (ed.), *Pregnancy Wastage*. New York.
- Casida, L.E. 1961. Present status of the repeat-breeders cow problem. *J. Dairy Sci.* 44:2323-2329.
- Cupps, P.T. & Laben, R.C. 1959. Histology of pituitary, adrenal and reproductive organs in normal cattle of lowered reproductive efficiency. *Hilgardia* 29:383. (Citado por Casida 1961)
- Dawson, F.L.M. 1954. Progesterone in functional infertility of cattle. *Vet. Rec.* 66:324-327.
- Emmens, C.W. 1959. Role of gonadal hormones in reproductive processes. Cole & Cupps 1959. *Reprod. in Domestic Animals* 1:111-154.
- Food and Agriculture Organization of United Nations 1963. Monograph on livestock infertility animal health branch. Monograph. n.º 5, FAO, Rome. (Citado por Ayalon 1964)
- Frank, A.H. & Bryner, J.H. 1953. Observation on vibriosis of cattle in relation to impaired fertility. *Proc. 57th Ann. Meet. U.S.*, p. 165-175. (North Am. Vet. 35:536-587)
- Gibbons, W.J., Attleberger, M.H., Kiesel, G.K. & Dacres, W.G. 1959. The bacteriology of the cervical mucus of cattle. *Cornell Vet.* 49:255-265.
- Graden, A.P., Olds, D., Mochow, C.R. & Mutter, L.R. 1968. Causes of fertilization failure in repeat-breeding cattle. *J. Dairy Sci.* 51:778-781.
- Haubrich, W.R. & Alexander, A. 1961. Estrogen/antibiotic infusion for bovine metritis. *Mod. vet. Pract.* 42:30-34.
- Hawk, H.W., Wiltbank, J.N., Nidder, H.E. & Casida, L.E. 1955. Embryonic mortality between 16 and 34 days post-breeding in cows of low fertility. *J. Dairy Sci.* 38:673-676.
- Hawk, H.W., Brinsfield, T.H., Turner, G.D., Whitmore, G.E. & Norcross, M.A. 1963. Embryo survival in first-service and repeat breeder cattle after ovariectomy and hormone therapy. *J. Dairy Sci.* 46:1397-1399.
- Herrick, J.B. 1953. Clinical observation of progesterone therapy in repeat breeding heifers. *Vet. Med.* 48:489-490.
- Hewett, C.D. 1968. A survey of the incidence of the repeat breeder cow in Sweden with reference to herd size, season, age, and milk yield. *Brit. vet. J.* 124:342-352.
- Janovskii, I.I. 1969. The use of hormonal preparations for preventing embryo mortality in livestock. *Zhivot. vet.* 1969(6), n.º 6.58.185. (Anim. Breed. Abstr. 37, n.º 3238)
- Johansson, I. 1960. Genetic causes of faulty germ cells and low fertility. *J. Dairy Sci.* (Suppl.) 43:1.
- Johnson, K.R., Ross, R.H. & Fout, B.L. 1958. Effect of progesterone administration on reproductive efficiency. *J. Anim. Sci.* 17:386-390.
- Khan, B.U. & Luktuke, S.N. 1967. Studies on the incidence of anoestrus and repeat-breeding in Haryana cows. *Indian vet. J.* 44:678-683.
- Kiddy, C.A., McShaan, W.H. & Casida, L.E. 1956. The relative lactogenic hormone content of the pituitaries of repeat breeders and first-service dairy cattle at 18 days post breeding. *J. Anim. Sci.* 15:1304-1305.
- Kiesel, G.K. & Dacres, W.G. 1959. A study of infertility in cattle in Alabama. *Am. J. vet. Res.* 20:760-765.
- Laing, J.A. 1949. Infertility in cattle associated with death of ova at early stages after fertilization. *J. comp. Path. Ther.* 59:98-108.
- Lennon, H.D. & Mixner, J.P. 1959. Relationships between plasma protein bound iodine and certain measures of reproductive and lactational performance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 42:327-332.
- Lindahl, P.E. 1966. Sperm agglutinating and anti-agglutinating factors in normal follicular fluid from cattle. *Int. J. Fert.* 11:297-305.
- Mares, S.E., Menge, A.C., Tyler, W.J. & Casida, L.E. 1961. Genetic factors affecting conception rate and early pregnancy loss in holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 44:96-103.
- McDonald, L.E., Black, W.G., McNutt, S.H. & Casida, L.E. 1952. The response of rabbit uterus to instillation of semen at different phases of the estrous cycle. *Am. J. vet. Res.* 13:419-424.
- Menge, A.C., Tyler, W.J., Stone, W.H. & Casida, L.E. 1960. Fertilization capacity of bovine sperm diluted with antisera against sperm and red blood cells. *J. Anim. Sci.* 19:1330.
- Menge, A.C., Winter, A.J., McNutt, S.H. & Casida, L.E. 1961. The effect of repeated intrauterine inoculations with bacteria on subsequent fertility in heifers. *J. Dairy Sci.* 44:1186.
- Menge, A.C. 1961. Ph. D. thesis Univ. Wisconsin. *J. Dairy Sci.* 44(12):2323-2329.
- Menge, A.C. 1967. Induced infertility in cattle by iso-immunization with semen and testes. *J. Reprod. Fert.* 13:445-456.
- Olds, D. 1953. Infertility in cattle. A review. *J. Am. vet. Ass.* 122:276-287.
- Reid, J. 1960. Effect of energy intake upon reproduction in farm animals. *J. Dairy Sci.* (Suppl.) 43:103.
- Rieck, G.W. 1969. Genetic causes of prenatal mortality. A review. *Tierzüchter* 21:158-161.
- Roberts, S.J. 1956. An evaluating of uterine infusions for the treatment of infertility in cattle. *Cornell Vet.* 46:21-38.
- Rowson, L.E.A., Lamming, G.E. & Fry, R.M. 1953. The relationship between ovarian hormones and uterine infection. *Vet. Rec.* 65:335-340.
- Sokolovskaja, I.I. & Resetnikova, N.M. 1968. Immunological factors in fertilization and prenatal growth. *Zhivotnovodstvo, Mosk.*, 30(6):65-67. (Anim. Breed. Abstr. 36, n.º 3561)
- Tanabe, T.Y. & Casida, L.E. 1949. The nature of reproductive failure of cows of low fertility. *J. Dairy Sci.* 32:237-246.
- Tanabe, T.Y. & Almqvist, J.O. 1953. Some causes of infertility in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 36:586.

- Thibault, C. 1967. A comparison analysis of fertilization and its anomalies in the ewe, cow and rabbit. *Annls Biol. anim. Biochim. Biophys.* 7:5-23. (Anim. Breed. Abstr. 36, n.º 1084)
- Triberger, G.W. & Davis, H.P. 1943. Conception rate in dairy cattle by artificial insemination at various of estrus. *Nebraska Agric. Exp. Stn Res. Bull.* 129.
- Tudorascu, R. 1968. Investigation concerning the frequency of embryonic mortality in cows inseminated at different post partum intervals. VIº Congr. Reprod. Insem. Artif., Paris, Abstr. 108.
- Ulberg, L.C., Black, W.G., Kidder, H.E., McDonald, L.E., Casida, L.E. & McNutt, S.H. 1952. The use of antibiotics in the treatment of low fertility cows. *J. Am. vet. med. Ass.* 121(909):436-440.
- Wiltbank, J.N., Hawk, H.W., Kidder, H.E., Ulberg, L.C. & Casida, L.E. 1956. Effect of progesterone therapy on embryo survival in cows of lowred fertility. *J. Dairy Sci.* 39:456-460.
- Wisnicky, W. & Casida, L.E. 1948. A manual method for the diagnosis of pregnancy in cattle. *J. Am. vet. med. Ass.* 113(860):451-452.

INFLUENCE OF ESTROGEN IN FERTILITY OF "PROBLEM" COWS (REPEAT-BREEDING)

Abstract

The problem of repeat breeding was detected in 14% of a crossbred cattle herd of 333 cows in the State of Rio de Janeiro. The cows were on pasture and received a supplemental ration of concentrate during milking. Artificial insemination was used.

An experiment with estrogenic hormone (2 mg) intravenously injected after insemination showed that 31 of 46 cows (67.4%) got pregnant with 68 total inseminations against 204 previous negative ones.

The authors concluded that estrogenic hormone may increase fertility in repeat-breeders with a history of three or more inseminations without conception.