



Archivos de Medicina Veterinaria

ISSN: 0301-732X

archmv@uach.cl

Universidad Austral de Chile

Chile

Silva, M. E.; Gatica, R.; Correa, J. E.

Inducción de mellizos mediante la transferencia de un segundo embrión ipsilateral o contralateral al
cuerpo lúteo en vacas cubiertas

Archivos de Medicina Veterinaria, vol. 32, núm. 1, 2000

Universidad Austral de Chile

Valdivia, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=173013741005>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica





Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



Archivos de medicina veterinaria

ISSN 0301-732X *versión impresa*

-  Como citar este artículo
-  Agregar a favoritos
-  Enviar a e-mail
-  Imprimir HTML

Arch. med. vet. v.32 n.1 Valdivia 2000

Inducción de mellizos mediante la transferencia de un segundo embrión ipsilateral o contralateral al cuerpo lúteo en vacas cubiertas

Twin induction by transfer of a second embryo ipsilateral or contralateral to the corpus luteum in mated cows

M. E. Silva, M. V.; R. Gatica, M. V., Ph D.; J. E. Correa, M. V., Ph. D.

Instituto de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567,

Fax: 56 63 221528, Valdivia, Chile, e-mail:ranimal@uach.cl

SUMMARY

The purpose of this work was to compare the effect of the site of transfer (ipsilateral or contralateral to the corpus luteum) of a second embryo to already mated cows on pregnancy and twinning rate.

Thirty two frozen-thawed embryos were transferred ipsilateral to the corpus luteum of recipient cows and twenty eight were transferred contralaterally.

On the ipsilateral group 21 cows became pregnant after first service (65.6%), while 21 out of 28 recipients were diagnosed as pregnant in the contralateral group (75%). No significant differences were observed

between both groups.

Twin pregnancy rate at 60 and 90 days after service was 57.1 and 45% of pregnant recipients for the ipsilateral group and 14.3 and 4.8% for the contralateral group. Significant differences ($P < 0.05$) were observed between groups at both times.

Although embryos transferred to the ipsilateral horn have higher probabilities to survive when the native embryos are reabsorbed in comparison with the ones transferred to the contralateral horn, we did not observe differences on the pregnancy rate of both groups after first service. The difference we observed in the number of twin pregnancies between groups was higher than that described in the literature. These results confirm the fact that the existence of 2 embryos in one uterine horn does not increase the embryo or foetal mortality rate.

According to our findings we can conclude that the transfer of a second embryo to the ipsilateral uterine horn of already mated cows is a better twin induction technique than contralateral transfers.

Palabras claves: vacas, transferencia embriones, mellizos.

Key words: twins, embryo transfer, cows.

INTRODUCCION

Los partos dobles en el bovino son una característica que posee una baja heredabilidad (0,03) y repetibilidad (0,06). Las estimaciones de la frecuencia de nacimientos dobles varían entre un 1 y 5% dependiendo, principalmente de la raza, edad y condiciones ambientales ([Morris, 1984](#)). Sin embargo, ha sido demostrado que es posible obtener una alta incidencia de gestaciones dobles al transferir dos embriones bilateralmente al útero de hembras receptoras ([Rowson y col., 1971](#)).

Investigadores irlandeses anteriormente habían sugerido que una de las aplicaciones de la transferencia de embriones debería ser la introducción de un segundo embrión al útero de vacas días después de la cubierta ([Gordon y col., 1962](#); [Gordon, 1989](#)).

Actualmente la mayoría de las inducciones de mellizos en bovinos, mediante la transferencia de un segundo embrión al útero de hembras previamente cubiertas, tanto en programas comerciales como en centros de investigación, se realizan depositando el embrión en el cuerno uterino contralateral al cuerpo lúteo (CL). Sin embargo, existen evidencias que sugieren que la transferencia embrionaria al cuerno ipsilateral podría presentar ventajas comparativas al método contralateral, para lograr preñeces dobles en este tipo de receptoras ([Penny y col., 1995](#)).

El principal objetivo al transferir el embrión en el cuerno uterino contralateral al CL es evitar la coexistencia de dos embriones en un mismo cuerno, ya que ha sido reportado que ovulaciones dobles unilaterales coinciden con altas tasas de mortalidad embrionaria en comparación con ovulaciones dobles bilaterales u ovulaciones únicas ([Rowson y col., 1971](#); [Hanarahan, 1983](#)). Por otra parte, de establecerse la gestación doble unicornual, las posibilidades de aborto, de acuerdo a algunos antecedentes, serían mayores que si ésta fuera bilateral ([Reichenbach y col., 1992](#)). Sin embargo, existen otros antecedentes, que indican que no habría diferencia en el porcentaje de abortos presentados por vacas gestando mellizos uni o bilateralmente ([Sreenan y Diskin, 1986](#)).

La transferencia de un segundo embrión contralateralmente al CL tiene como desventaja que la sobrevivencia de éste es altamente dependiente de la sobrevivencia del embrión nativo que se encuentra en el cuerno ipsilateral al CL ([Gordon, 1989](#); [Sinclair y col., 1995](#)), siendo altamente improbable que el embrión transferido se desarrolle a menos que el embrión nativo haya podido sobrevivir más allá del día

20 post ovulación ([Penny y col., 1995](#)).

Por otro lado, se ha encontrado que aproximadamente un 18% de las receptoras previamente inseminadas no tendrán su embrión nativo viable en el cuerno uterino ipsilateral al día 7 post estro, debido principalmente a fallas en la fecundación y mortalidad embrionaria temprana ([Sreenan y Diskin, 1986](#)). Más aún, [Silvia \(1994\)](#) señala que para el día 20 post cubierta la mayor parte de la mortalidad embrionaria ya ha ocurrido y ésta llega a afectar al 30% de los embriones.

De esta manera, es poco probable que la transferencia contralateral de un segundo embrión a una hembra bovina previamente cubierta aumente la tasa de preñez alcanzada solamente con la inseminación artificial ([Penny y col., 1995](#)). En cambio, la técnica de transferencia ipsilateral aumentaría las probabilidades de sobrevivencia del embrión transferido, ya que si el embrión nativo no sobrevive, el transferido se encontrará en una ubicación muy adecuada con respecto al CL.

El objetivo del presente trabajo fue comparar el efecto del sitio de transferencia (ipsilateral o contralateral al CL) de un segundo embrión congelado-descongelado en vacas previamente cubiertas sobre la tasa de preñez y de gestaciones dobles.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo (tanto la recuperación como la transferencia embrionaria) se realizó en 2 predios de la X región de Chile, durante los meses de agosto y febrero.

Congelación de embriones. Sesenta embriones en estado de blastocisto, clasificados como buenos o excelentes, según el criterio descrito por [Eldsen y col. \(1978\)](#), obtenidos de vacas superovuladas, inseminadas y enviadas a matadero 7 días después de su cubierta, fueron congelados dentro de las 4 horas posteriores a su recuperación en el laboratorio. La recuperación de los embriones se realizó lavando cada cuerno uterino con 250 ml de Solución fosfato buffer salino a través de un catéter Foley, el cual fue introducido por una perforación en la base del cada cuerno. Los embriones fueron cargados en pajuelas plásticas de 0,25 ml. Estas se llenaron con tres columnas de Etilenglicol¹ 1,5 M en fosfato buffer salino, separadas entre sí por burbujas de aire, encontrándose el embrión en la columna central. Las pajuelas fueron selladas al calor y depositadas en la cámara de un congelador automático², previamente enfriada a -7°C, donde se mantuvieron por 5 minutos. Luego se procedió a inducir un núcleo de cristalización (seeding) en la porción superior de la columna central que contenía al embrión. Las pajuelas se mantuvieron otros 5 minutos a -7°C para posteriormente ser llevadas a -30°C, a una tasa de enfriamiento de 0,3°C/min y luego, a 0,1°C/min hasta llegar a los -33°C. A esta temperatura las pajuelas fueron traspasadas rápidamente a nitrógeno líquido (-196°C) y mantenidas en ese medio hasta el momento de su transferencia.

Transferencia embrionaria transcervical. Sesenta vacas de distintas razas en etapa productiva, con más de 2 partos y previamente cubiertas fueron seleccionadas como receptoras. Siete días posterior a la cubierta se procedió a transferirles un embrión. Las vacas fueron inmovilizadas en un brete y se les administró una anestesia epidural baja (Lidocaína 2%³). Mediante tacto rectal se localizó el CL, con lo cual se determinó el sitio de la ovulación.

Las pajuelas fueron descongeladas sosteniéndolas por 10 segundos en el aire y luego sumergiéndolas en agua a 37°C por otros 10 segundos; posteriormente se secaron y fueron cargadas en una pipeta de Cassou, procediéndose a la transferencia directa (no quirúrgica) del embrión. Treinta y dos receptoras recibieron un embrión ipsilateralmente al CL (Grupo I) y a las restantes 28 el embrión les fue transferido contralateralmente (Grupo C) ([figura 1](#)).

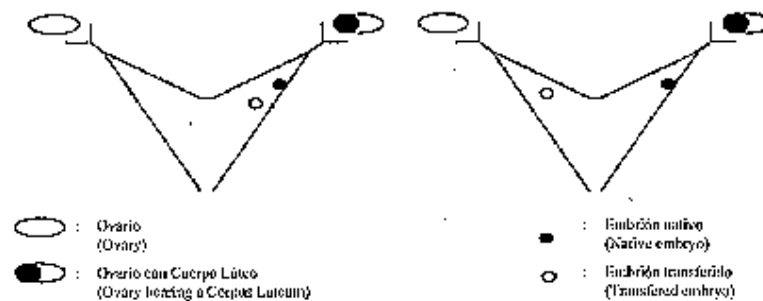


Figura 1: Transferencia embrionaria ipsilateral y contralateral al cuerpo lúteo de vacas, 7 días posterior a la cubierta.

Embryo transfer ipsilateral or contralateral to the corpus luteum in cows 7 days after mating.

Todos los embriones fueron depositados entre el tercio superior y el tercio medio del cuerno uterino correspondiente, dentro de los 5 minutos posteriores a su descongelación, por un mismo operador.

Diagnóstico de gestación. Las vacas receptoras fueron mantenidas en pastoreo y controladas para su eventual retorno al estro. El diagnóstico de gestación, mediante tacto rectal y ultrasonografía⁴, fue realizado en aquellas hembras que no retornaron al estro dentro de los 60 días posteriores a su cubierta. Para evaluar la sobrevivencia fetal un segundo diagnóstico gestacional fue realizado 30 días más tarde.

Análisis estadístico. Los resultados obtenidos fueron analizados en términos de tasa de preñez y número de gestaciones dobles, en cada uno de los grupos de transferencia, a los 60 y 90 días post servicio utilizando la prueba de χ^2 (c^2).

RESULTADOS

De las 32 receptoras del **Grupo I**, 21 (65,6%) se diagnosticaron preñadas a los 60 días de gestación. En el **Grupo C**, 21 de las 28 receptoras (75%) se encontraron gestantes, no observándose una diferencia significativa entre ambos grupos ([cuadro 1](#)).

El número de preñeces dobles, con respecto a las hembras preñadas, observado a los 60 días de gestación, fue de 12 de 21 receptoras (57,1%) en el **Grupo I** y 3 de 21 (14,3%) en el **Grupo C**, existiendo una diferencia significativa ($P < 0,05$) entre ambos grupos ([cuadro 1](#)).

A los 90 días post servicio, 20 de las 21 receptoras del **Grupo I** y las 21 del **Grupo C** continuaban preñadas. Además, 9 de las 20 receptoras (45%) del **Grupo I** y sólo 1 de las 21 vacas (4,8%) del **Grupo C** presentaron gestaciones de mellizos, existiendo una diferencia significativa ($P < 0,05$) entre ambos grupos ([cuadro 1](#)).

CUADRO 1. Tasa de preñez y de gestaciones dobles, a los 60 y 90 días post-cubierta e in ovulación de un segundo embrión congelado-descongelado depositado ipsilateral o contralateralmente al cuerpo lúteo a los 7 días post-cubierta en vacas.

Pregnancy and twinning rates at 60 and 90 days after the transfer of a second frozen-thawed embryo ipsilateral or contralateral to the corpus luteum of cows 7 days after mating.

	IPSILATERAL	CONTRALATERAL	TOTAL
Número Receptoras	32	28	60
Tasa de preñez 60 días (%)	21 / 32 (65,6%)	21 / 28 (75%)	42 / 60 (70%)
Tasa de Preñez Doble 60 días (%)	12 / 21 ^a (57,1%)	3 / 21 ^b (14,3%)	15 / 42 (35,7%)
Tasa de preñez 90 días (%)	20 / 32 (62,5%)	21 / 28 (75%)	41 / 60 (68,3%)
Tasa de Preñez Doble 90 días (%)	9 / 20 ^a (45%)	1 / 21 ^b (4,8%)	10 / 41 (24,4%)

Letras distintas (a, b) dentro de la misma fila = diferencia significativa ($p < 0,05$).

Entre los 60 y 90 días post servicio se perdieron 5 gestaciones dobles, correspondiendo 3 de las pérdidas a gestaciones producto de transferencias ipsilaterales, y 2 a gestaciones dobles generadas por transferencias contralaterales. Cuatro de las 15 (27%) gestaciones dobles observadas a los 60 días post servicio pasaron a gestaciones únicas en el día 90, la restante correspondió a una pérdida de gestación doble.

Al realizar el diagnóstico de gestación a los 60 días post cubierta se observó que 5 de los 12 embriones transferidos ipsilateralmente al cuerpo lúteo, y que habían establecido gestaciones dobles, habían migrado al cuerno uterino opuesto, lo que corresponde a un 42% de migración embrionaria.

DISCUSION

Las tasas de preñez obtenidas en ambos grupos de transferencia, a los 60 y 90 días de gestación, son homologables a valores reportados en la literatura, tanto en trabajos extranjeros ([Turman y col., 1971](#); [Esslemont y col., 1985](#)), como nacionales ([Jarpa, 1979](#); [Navarro, 1990](#)). Esto confirma que la transferencia transcervical de un embrión 7 días posterior a la cubierta de las receptoras no interfiere con la preñez nativa ([Rowson y col., 1964](#); [Trounson y col., 1978](#)). La tasa de 65,6% de preñez lograda en el grupo de transferencias ipsilaterales y de 75% en el grupo contralateral concuerdan con valores reportados por [Sreenan y Diskin \(1989\)](#) y por [Rowson y col. \(1971\)](#), quienes realizando transferencias embrionarias ipsi y contralaterales a vaquillas previamente cubiertas obtuvieron tasas de preñez a los 50 días post inseminación, de 76 y 75%, y 73 y 72% respectivamente.

Los resultados obtenidos no confirman los antecedentes que señalan que la transferencia de un segundo embrión al cuerno uterino ipsilateral al CL de vacas cubiertas tendría mayores posibilidades de establecer la gestación, debido a su mejor posición relativa al CL, en caso de que el embrión nativo no haya logrado sobrevivir ([Del Campo y col., 1977](#); [Gordon, 1989](#)). Además este tipo de transferencias tendría una mayor probabilidad de aumentar la tasa de preñez al realizar sólo la inseminación artificial, en comparación con transferencias embrionarias contralaterales ([Penny y col., 1995](#)).

Son variados los informes que señalan que la ubicación unilateral de dos embriones aumenta la ocurrencia de muerte embrionaria y disminuye la posibilidad de presentación de mellizos ([Rowson y col., 1971](#); [Hanarahan, 1983](#)). Al analizar en el presente trabajo el número de gestaciones dobles, con respecto a las hembras que efectivamente se preñaron, se observó que a los 60 días post servicio el 57,1% de las receptoras en el grupo de transferencias ipsilaterales, gestaba mellizos, en comparación al 14,3% del grupo de transferencias contralaterales, lográndose a los 90 días de preñez, valores de 45% y 4,8% respectivamente.

Estos resultados confirman estudios que señalan que al realizar transferencias dobles unilaterales, el confinamiento de dos embriones dentro del cuerno uterino ipsilateral no aumenta la tasa de mortalidad embrionaria ni fetal, al compararse con la distribución bilateral ([Sreenan y Diskin, 1989](#); [Wilkins y col., 1992](#)).

Lo anteriormente señalado sugiere que si el procedimiento de transferir un embrión ipsilateral al CL es repetido, en aquellas vacas que retornan al estro después de su primer servicio y transferencia, la tasa total de gestaciones dobles en un rebaño podría alcanzar valores de 45% a los 90 días post servicio en el total de hembras gestantes del rebaño.

Al comparar el número de gestaciones dobles a los 90 días post cubierta, obtenidos en cada grupo de transferencia con valores descritos en la literatura, se observa que el 4,8% obtenido en el grupo contralateral es muy inferior a valores de 42% ([Reichembach y col., 1992](#)), 54,2% ([Izaike y col., 1988](#)), 70% ([Sinclair y col., 1995](#)) y 61% ([Wilkins y col., 1992](#)). A su vez el valor de 45% para este parámetro, obtenido en el grupo de transferencias ipsilaterales, es similar al reportado por [Reichembach y col., \(1992\)](#) (33%), [Sinclair y col. 1995](#) (49%) y [Wilkins y col., \(1992\)](#) (66%). Se debe considerar que todos los trabajos mencionados previamente se basaron en transferencia de embriones frescos, los que poseen una mayor viabilidad post transferencia que los embriones que han sufrido procesos de congelación y descongelación ([Tervit y col., 1981](#); [Leibo, 1986](#); [Sreenan y Diskin, 1987](#)) como en este trabajo.

Los resultados obtenidos están en contraposición a antecedentes que señalan que la tasa de gestación doble no es significativamente diferente al realizar transferencias embrionarias ipsilaterales o contralaterales al cuerpo lúteo de vacas previamente cubiertas ([Sreenan y Diskin, 1989](#)), u otros que incluso reportan mayores tasas de gestaciones dobles al realizar transferencias embrionarias bilaterales en comparación con la distribución unilateral ([Rowson y col., 1971](#)).

La diferencia observada en el porcentaje de gestaciones dobles logradas en ambos grupos de transferencia puede explicarse parcialmente en el hecho de que ha sido demostrado que los embriones transferidos se desplazan, ya sea al momento de realizarse la transferencia o en su etapa de pre implantación, hacia el ápice del cuerno uterino, en el cual fueron depositados ([Renard y col., 1977](#)). De esta forma los embriones transferidos al cuerno ipsilateral al CL al migrar se aproximan al ápice de ese cuerno, sitio definido como óptimo para el desarrollo embrionario; en cambio, los embriones transferidos al cuerno contralateral se aproximan al ápice opuesto al CL, sitio que es menos favorable para su crecimiento ([Newcomb y col., 1980](#)).

En cuanto a las pérdidas fetales observadas entre los 60 y 90 días postcubierta, trabajos basados en observaciones ecográficas seriadas de preñeces dobles, señalan que la mayor frecuencia de pérdidas fetales ocurre entre los 38 y 57 días de gestación ([Izaike y col., 1988](#); [Izaike y col., 1991](#)). Estos mismos autores reportan, entre los 60 y 90 días, tasas de pérdida de un feto en gestaciones dobles que fluctúan entre 7 y 20%. En el presente trabajo el valor observado para este tipo de pérdida fue de un 27% (4/15). Por otra parte, esos autores no reportan pérdidas dobles en esta etapa de la gestación; en cambio, en este trabajo se observó una pérdida total (1/15). Las diferencias observadas probablemente se deban al hecho de que las investigaciones mencionadas anteriormente basaron sus observaciones en gestaciones dobles bilaterales, en este estudio se realizaron las observaciones, tanto en gestaciones dobles bicornuales como unicornuales.

Por último, es destacable que aunque la migración embrionaria en forma natural es de escasa presentación en el bovino ([Scanlon, 1972](#)), el 42% (5/12) de migración embrionaria observada en los embriones transferidos ipsilateralmente, que establecieron gestaciones dobles, coincide con reportes de otros autores, los cuales al realizar transferencias embrionarias obtuvieron valores que fluctúan entre 55% ([Newcomb y col., 1980](#)) y 61% ([McMillan y Peterson, 1995](#)). Cabe señalar que sólo se observaron migraciones

embrionarias cuando las transferencias fueron realizadas ipsilateralmente al CL, y en todos los casos sólo un embrión de la pareja de mellizos migró. Con esto se comprueba que la migración del segundo embrión es menos probable, una vez que el primer embrión migró ([McMillan y Peterson, 1995](#)).

Los resultados expuestos sugieren que la transferencia de un segundo embrión al cuerno uterino ipsilateral al CL de vacas cubiertas, es un método más efectivo en la inducción de gestaciones dobles que la transferencia contralateral; por consiguiente, la transferencia embrionaria ipsilateral debería utilizarse conjuntamente con cada servicio realizado en el rebaño para lograr altos porcentajes de gestaciones dobles.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto del sitio de depósito (ipsi o contralateral al CL) de un segundo embrión en vacas cubiertas sobre la tasa de preñez y de gestaciones dobles.

Treinta y dos vacas receptoras recibieron un embrión congelado-descongelado ipsilateralmente a su cuerpo lúteo y 28 contralateralmente, 7 días posterior a su cubierta.

En el grupo de transferencias ipsilaterales 21 receptoras se preñaron al primer servicio (65,6%), mientras que en el grupo contralateral 21 de las 28 receptoras se diagnosticaron preñadas (75%), no existiendo diferencias entre ambos grupos. Sin embargo, sí se observó diferencias en la tasa de preñez doble, entre los 60 y 90 días post servicio en ambos grupos (57,1 v/s 14,3% y 45 v/s 4,8% respectivamente).

Contrariamente a algunos antecedentes que señalan la mayor sobrevida de embriones transferidos ipsilateralmente al ocurrir la muerte del embrión nativo, no se observó diferencias entre los porcentajes de preñez en ambos grupos. La diferencia observada en el número de gestaciones dobles entre el grupo de transferencia ipsilateral y el contralateral es mayor a la descrita en la literatura, pero confirma antecedentes de que la existencia de dos embriones en el cuerno uterino ipsilateral no aumenta la tasa de mortalidad embrionaria ni fetal.

De acuerdo a lo descrito, se concluye que la transferencia de un segundo embrión al cuerno uterino ipsilateral de vacas previamente cubiertas es un método más efectivo de inducción de mellizos que la transferencia contralateral.

Aceptado: 16.05.2000.

¹ Fluka Chemical. Switzerland.

² Cryoembryo-PSP. Hoxan Co., Japón.

³ Laboratorio Chile. Chile.

⁴ Aloka SSD-210 DX. Transductor de 5 MHz.

BIBLIOGRAFIA

DEL CAMPO, M. R., R. F. ROWE, L. R. FRENCH, O. J. GINTHER. 1977. Unilateral relationship of embryos and the corpus luteum in cattle. *Biol. Reprod.* 16: 580 - 585.

ELDTSEN, R.P., L.D. NELSON, G.E. SEIDEL Jr. 1978. Superovulating cows with follicle stimulating

hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology* 9: 17 - 26.

ESSLEMONT, R.J., J.H. BAILIE, M. J. COOPER. 1985. Fertility Management in Dairy Cattle. Williams Collins Sons & Co., Londres.

GORDON, I. 1989. Control en la Crianza de los Animales de Granja. Compañía Editorial Continental, S.A., México, D.F.

GORDON, I., G. WILLIAMS, J. EDWARDS. 1962. The use of PMSG in the induction of twin pregnancy in the cow. *J. Agric. Sci. Camb.* 59: 143-198.

HANARAHAN, J.P. 1983. The inter-ovarian distribution of twin ovulations and embryo survival in the bovine. *Theriogenology* 20: 3-11.

IZAKE, I., O. SUSUKI, K. SHIMADA, K. FUJITA, M. KOSUGIYAMA. 1988. Twin pregnancy diagnosis and early embryonic loss after bilateral egg transfer in beef cattle. *Jpn. J. Anim. Reprod.* 34: 236 - 242.

IZAKE, I., O. SUSUKI, K. SHIMADA, N. TAKENOUCHI, M. TAKAHASHI. 1991. Observation by ultrasonography of embryonic loss following the transfer of two or three embryos in beef cows. *Theriogenology* 36: 939-948.

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 M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.

LEIBO, S.P. 1986. Commercial production of pregnancies from one step diluted frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology* 25: 166.

McMILLAN, W.H., A.J. PETERSON. 1995. Evidence for a high frequency of embryo migration in cattle after unilateral twin embryo transfer. *Theriogenology* 43: 278.

MORRIS, C. A. 1984. A review of the genetics and reproductive physiology of dizygotic twinning in cattle. *Anim. Breed. Abstr.* 52: 803.

NAVARRO, R. 1990. Análisis de cinco años de actividad reproductiva de un rebaño lechero constituido por tres genotipos, mediante un programa computacional. Tesis M.V. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.

NEWCOMB, R., W.B. CHRISTIE, L.E.A. ROWSON. 1980. Foetal survival rate after the surgical transfer of two bovine embryos. *J. Reprod. Fert.* 59:31-36.

PENNY, C.D., B.G. LOWMAN, N.A. SCOTT, P.R. SCOTT, S. VOELKEL, D.A.R. DAVIES. 1995. Management aspects of induced twinning in beef suckler cows using in vitro fertilised embryos. *Vet. Rec.* 136: 506-510.

REICHENBACH, H.D., J. LEIBRICH, U. BERG, G. BREM. 1992. Pregnancy rates and births after unilateral or bilateral transfer of bovine embryos produced *in vitro*. *J. Reprod. Fert.* 95: 363-370.

RENARD, J.P, Y. HEYMAN, F. DU MESNIL DU BUISSON. 1977. Unilateral and bilateral cervical transfer of bovine embryos at the blastocyst stage. *Theriogenology* 7: 189 -193.

ROWSON L.E.A., J.P. BENNETT, M.J.K. HARPER. 1964. The problem of non surgical egg transfer to the cow uterus. *Vet. Rec.* 76: 21 - 23.

ROWSON, L. E. A., R. A. S. LAWSON, R. M. MOOR. 1971. Production of twins in cattle by egg transfer. *J. Reprod. Fert.* 25: 262 - 268.

SCANLON, P.F. 1972. Frequency of transuterine migration on embryos in ewes and cows. *J. Anim. Sci.* 33: 791-794.

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, United States.

SINCLAIR, K.D., P.J. BROADBENT, D.F. DOLMAN, R.G. WATT, J.S. MULLANT. 1995. Establishing twin pregnancies in cattle by embryo transfer. *Anim. Sci.* 61: 25-33.

SREENAN, J.M., M.G. DISKIN. 1986. The extent and timing of embryo loss in cattle. In: J.M. SREENAN y M.G. DISKIN (eds.). Embryonic mortality in farm animals, pp 1-11. Martinus Nijhoff, The Hague.

SREENAN, J.M., M.G. DISKIN. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*, 27: 99 - 113.

SREENAN, J. M., M. G. DISKIN. 1989. Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *J. Reprod. Fert.* 87: 657 - 664.

TERVIT, H.R., R.P. ELSDEN, G.D. FERAND. 1981. Deep freezing of 7 to 8 and 10 to 11 day old cattle embryos. *Theriogenology* 15: 115.

TROUNSON A.O., L.E.A. ROWSON, S.M. WILLADSEN. 1978. Non surgical transfer of bovine embryos. *Vet. Rec.* 102: 74 - 75.

TURMAN, E.J., D.B. LASTER, R.E. REMBARGER and D.F. STEPHENS. 1971. Multiple births in beef cows treated with equine gonadotrophin (PMS) and Chorionic gonadotrophin (HCG). *J. Anim. Sci.* 32: 962 - 967.

WILKINS, J.F., D.W. HENNESSY, L.J. CUMMINS, M.A. HILLARD. 1992. Twin calves for commercial beef production in Australia. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 19: 67-72.