



Pérdida de la preñez en la hembra bovina y estrategias para mejorar la eficiencia en los programas de reproducción asistida

Pregnancy loss in the female bovine and strategies to improve efficiency in assisted reproductive programs

Autores

✉ ¹*Raúl Alexander Toala Soledispa

✉ ²Rodolfo Pedroso Sosa

✉ ²Daniel Isaías Burgos Macías

✉ ²Felicia Roller Gutiérrez

¹Programa de Maestría en Medicina Veterinaria. Facultad de Posgrado Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

²Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

Citacion sugerida: Toala Soledispa, R. A., Pedroso Sosa, R., Burgos Macías, D. I. y Roller Gutiérrez, F. (2024). Pérdida de la preñez en la hembra bovina y estrategias para mejorar la eficiencia en los programas de reproducción asistida. *La Técnica*, 14(1), 1-11. DOI: <https://doi.org/10.33936/latecnica.v14i1.5472>

Recibido: Enero 15, 2023

Aceptado: Octubre 10, 2023

Publicado: Diciembre 31, 2023

Resumen

En los programas de inseminación artificial (IA), las repeticiones del celo y las pérdidas embrionarias (ME) y fetales son causas importantes de la baja eficiencia reproductiva en los climas cálidos. Esta revisión bibliográfica tiene como objetivo mostrar las causas y estrategias para disminuir las pérdidas de la preñez en la vaca. En el ganado bovino, la tasa de fertilización es alta y ocurre aproximadamente entre el 75 al 90% de las hembras inseminadas. Las mermas embrionarias se producen en más del 25% de los servicios y de ellas la mayor proporción se produce, entre 15 a 17 días del servicio y las seis semanas de inicio de la preñez. Los procedimientos biotécnicos utilizados para prevenir las repeticiones del celo y la mortalidad embrionaria y fetal tales como: el uso de hormonas exógenas que incluyen la progesterona, los estrógenos, la hormona del crecimiento, la gonadotropina coriónica humana, los factores de liberación hormonal y el alfa interferón recombinante con el fin de potenciar las funciones del cuerpo lúteo e inhibir el mecanismo de la luteólisis. Otros procedimientos incluyen la aplicación de diversos procedimientos biotécnicos de sincronización y resincronización del celo para mejorar la eficiencia de los servicios de IA y corregir la baja eficiencia en la detección del celo. La suplementación alimentaria con grasa no saturada y sustancias antioxidantes y medidas de manejo para reducir el impacto del estrés del calor. Estos procedimientos pueden contribuir a mejorar la fertilidad del ganado bovino en climas cálidos.

Palabras clave: repetición del servicio; pérdidas de la preñez; mortalidad embrionaria.

Abstract

In artificial insemination (AI) programs, repeated estrus and embryonic (EM) and fetal losses are important causes of low reproductive efficiency in hot climates. This literature review aims to show the causes and strategies to decrease pregnancy losses in cows. In cattle, the fertilization rate is high and occurs in approximately 75 to 90% of the inseminated females. Embryonic losses occur in more than 25% of the services and the highest proportion of them occurs between 15 to 17 days after service and six weeks after the beginning of pregnancy. Biotechnical procedures used to prevent repeat estrus and embryonic and fetal mortality include the use of exogenous hormones including progesterone, estrogens, growth hormone, human chorionic gonadotropin, hormone releasing factors and recombinant alpha interferon to enhance corpus luteum functions and inhibit the mechanism of luteolysis. Other procedures include the application of various biotechnical estrus synchronization and resynchronization procedures to improve the efficiency of AI services and correct low estrus detection efficiency. Feeding supplementation with unsaturated fat and antioxidants and management measures to reduce the impact of heat stress. These procedures can contribute to improve fertility of cattle in hot climates.

Keywords: repeat service; pregnancy losses; embryonic mortality.



Introducción

La infertilidad en el ganado bovino es un problema multifactorial que puede estar asociado a la falta de competencia del ovocito para la maduración, fertilización y desarrollo del embrión, los trastornos en el transporte del espermatozoide, los problemas de fertilización y a los cambios en la composición del ambiente uterino y los trastornos de la implantación y el desarrollo del embrión (Rizos et al., 2010).

Uno de los problemas de infertilidad más estudiado en la especie bovina, es la pérdida de la preñez por ser considerada una causa del alargamiento de los intervalos entre partos, lo cual constituye una fuente importante de las mermas económicas de esta industria. En la práctica las manifestaciones de este problema se reflejan en: repeticiones del celo (no fertilización) y la muerte embrionaria o fetal (Diskin et al., 2016; Wiltbank et al., 2016).

Desde el punto de vista conceptual, las pérdidas embrionarias se extienden desde el período posterior a la concepción hasta el estado de diferenciación. Mientras, las fetales son las que ocurren desde el día 42 de la gestación al término de la preñez (Zhang y Smith, 2015).

En las dos últimas décadas, se han producido notables avances en el conocimiento de las causas y mecanismos fisiopatológicos que dan origen a las repeticiones de los servicios de inseminación artificial y las pérdidas embrionarias y fetales (Hansen y Barron, 2011). Este hecho ha permitido el desarrollado e introducido diversas estrategias de manejo y métodos biotécnicos (Walhs et al., 2011), cuyos objetivos fueron mejorar la fertilidad del ganado en los programas de inseminación artificial (IA) y la transferencia de embriones (TE) (Syid, 2021).

En este contexto, se desarrolló esta revisión bibliográfica que tuvo como fin exponer los aspectos más sobresalientes de las causas de repeticiones del celo y las pérdidas embrionarias o fetales en la hembra bovina bajo programas de inseminación artificial y transferencia de embriones con énfasis en el ganado criado en pastoreo bajo las condiciones climáticas del trópico. Mostrar los nuevos conocimientos respecto del mecanismo de la implantación y el sostenimiento de la preñez; los métodos de diagnóstico de la viabilidad embrionaria y las diversas estrategias de manejo y procedimientos biotécnicos utilizados para su prevención y mejorar la tasa de concepción, y la supervivencia embrionaria y fetal en la hembra bovina en los programas de reproducción asistida.

Metodología

Para el análisis de la información, se emplearon las bases de datos Electrónicas PubMed, Scopus, Web of Science y

Web Animal Science, como fuentes principales para obtener los artículos relacionados con impacto económico de las pérdidas de la gestación, los mecanismos de la luteólisis, reconocimiento, implantación y sostenimiento de la gestación. Causas de la mortalidad embrionaria y fetal, diagnóstico de preñez y predicción de la viabilidad del embrión tratamiento para mejorar la fertilidad en los programas de inseminación artificial y transferencia de embriones. En este contexto, fueron revisados 215 artículos científicos relacionado con el tema objeto de estudio. Las palabras claves utilizadas en la búsqueda fueron: gestación, pérdidas, diagnóstico, tratamiento bovino.

Desarrollo

Impacto económico e incidencia de las pérdidas de la preñez después de la inseminación artificial o la transferencia embrionaria en la hembra bovina

La cadena de producción de leche y carne en la especie bovina depende de su eficiencia reproductiva. Por consiguiente, las fallas en la fertilización y las pérdidas de la preñez son inconvenientes que producen grandes pérdidas económicas en los diferentes sistemas de producción y los programas de reproducción asistida. Este fenómeno, se refleja en tres reacciones individuales: la no fecundación, la mortalidad embrionaria y el aborto y son la fuente del alargamiento de los períodos entre partos, la disminución de la producción de leche y el número de nacimientos, provoca la reducción de la vida útil de las vacas y ejerce un impacto negativo en la implementación de los programas de mejora genética mediante la inseminación artificial o la transferencia de embriones.

De acuerdo con múltiples estudios las pérdidas económicas por cada día vacío después de los 100 días posparto son equivalentes entre USD 3 a 5. Así, en Estados Unidos, se reportan que los costos ocasionados por las pérdidas anuales de la gestación en las vacas equivalen a 1,4 billones. Mientras, en Inglaterra, esta cifra alcanza el valor de 250 millones de libras esterlinas y se sitúa la tasa de mermas individuales anuales en un valor entre USD 600 a 1000.

Es evidente, que los valores globales o individuales de la pérdida de la gestación son muy variables y ello depende fundamentalmente de: el sistema de manejo a que este sometido el rebaño, el número de lactaciones, el estado de la lactación y período de la gestación en que ocurre la pérdida de la preñez y del precio del programa de inseminación artificial o transferencia de embriones. No obstante, aunque estos datos, no se pueden extrapolar al resto del mundo, el costo global asciende a USD 280.000.000.000. Estos hallazgos son la génesis y la justifican de las múltiples investigaciones que se realizan en esta dirección

desde hace varias décadas. En este sentido, Sartori et al. (2010) plantearon que posterior a los servicios de IA, en más del 80% de las ocasiones ocurrió la fertilización del ovocito en la ganadería bovina. Pero, esta cifra es ligeramente inferior en los climas cálidos por el impacto del estrés calórico y en países donde la calidad y eficiencia de los servicios de IA son deficientes. En ambas situaciones esta cifra puede alcanzar un valor inferior al 70%.

Con respecto a la viabilidad de los embriones, los estudios más recientes destacan, que existe una gran variabilidad y se estima un rango entre el 20 al 91% (Yusuf et al., 2010). Referente a esto último, la mortalidad embrionaria precoz antes de los 25 días posterior a la inseminación artificial (IA), varió entre 4,5 a 43,7%. Mientras, la mortalidad embrionaria tardía entre los 25 a 42 días después del servicio y las fetales después de los 50 días de gestación alcanzó un valor de 8,3 a 24,0% en vacas lactantes y de 1 al 10,2% en novillas inseminadas por primera vez. Estos resultados fueron más bajos en las hembras provenientes de razas especializadas en la producción de carne. En estas vacas, el promedio de las pérdidas de la preñez varió entre 4 al 10,8%.

Breve recuento del mecanismo de la luteólisis y reconocimiento, implantación y el sostenimiento de la preñez en la hembra bovina

Los mecanismos de la luteólisis y el de sostenimiento de la preñez son dos eventos fisiológicos antagónicos. En este sentido, las células del endometrio juegan un papel importante como un tejido endocrino complejo altamente especializado, compuesto por dos tipos de células: las células endometriales epiteliales (CEEP) y estromales (CEES), ambas contribuyen a la regulación del ciclo estral bovino mediante diferentes mecanismos de señalización de estímulo y modulación de la síntesis de prostaglandinas. Las CEEP y las CEES responden a diversas señales moleculares, fisiológicas y patológicas modulando la producción de PGF2 α y PGE2 (Olivera, 2010).

Estas señales deben activar rutas moleculares de una manera coordinada para definir el tipo de prostaglandina a sintetizar. Así, en las CEEP la producción basal de PGF2 α respecto a PGE2 es 105 y 53 pg·mL⁻¹, respectivamente, lo cual correspondió aproximadamente a dos veces más PGF2 α e indicó, que las células del epitelio del endometrio poseen una mayor capacidad luteolítica. Mientras, las CEES produjeron ambas prostaglandinas. Pero, la proporción de producción de PGE2 fue ocho veces mayor que la de PGF2 α (2,6 ng· μ g⁻¹ vs 0,34 ng· μ g⁻¹) y sugiere, que estas células poseen una mayor capacidad autotrófica (Olivera, 2010).

Otros eventos asociados al proceso de la luteólisis son la cascada de sucesos fisiológicos que acompañan a la luteólisis en condiciones de un proceso inflamatorio modulado por las hormonas producidas por el CL y el folículo ovárico no ovulatorio. En su primera fase, la acción previa de la progesterona y los estrógenos (E2) segregados por el cuerpo lúteo (CL) y los folículos no ovulatorios. Esta última hormona (E2), es la encargada de estimular la síntesis de los receptores de oxitocina

en el endometrio. Posteriormente, la oxitocina proveniente del lóbulo posterior de la hipófisis y la segregada por el cuerpo lúteo, activa el sistema enzimático Protein-quinasa (PKC) y sucesivamente ocurre la síntesis y secreción de PGF2 α por el endometrio.

A continuación, la acción de la PGF2 α , causa la inhibición en la formación de receptores de (LHR) en la membrana de las células del CL y la expresión génica del sistema P450scc encargado de convertir el colesterol en progesterona. Seguidamente, se produce un aumento del flujo sanguíneo local y la expresión del sistema inmune innato caracterizado por el incremento del número de los macrófagos, los linfocitos y la secreción de citoquinas (Schütz et al., 2014), dentro de las cuales se destacaron el interleukin-1 β , el gamma interferón (IFN- γ), el Factor de la Necrosis Tumoral (TNF α), el factor transformador del crecimiento (TGF). La acción conjunta de estos componentes del sistema inmune conduce a la degeneración de las células de la granulosa y de la teca e inducen la consiguiente disminución de la síntesis y secreción de progesterona y la apoptosis de las células del CL. Esto conduce al retorno del celo o la pérdida de la preñez temprana en la vaca gestante (Pedroso y Roller, 2021).

Mecanismo de sostenimiento de la preñez en la hembra bovina

En las vacas gestantes el crecimiento y desarrollo folicular se caracteriza por el aumento de la presencia de folículos pequeños y disminuyen de los grandes folículos estrógenos activos. Además, se requiere la existencia de un cuerpo lúteo activo, glándula endocrina que se desarrolla a partir de las células ováricas de la granulosa y de la teca que es la encargada de sintetizar y segregar la progesterona, la oxitocina (OXT) y los E2 que son hormonas esenciales que regulan la duración del ciclo estral y el mantenimiento de la preñez en el ganado bovino.

Papel del ovario

Para el sostenimiento de la preñez, se requiere de la existencia de un cuerpo lúteo activo. El cuerpo lúteo (CL) es la glándula endocrina que se desarrolla a partir de las células ováricas de la granulosa y de la teca. Estas células, segregan la progesterona, la oxitocina (OXT) y los esteroides más importantes que regulan la duración del ciclo estral y es esencial para el mantenimiento de la preñez en el ganado bovino. Después de la fertilización, el desarrollo del cuerpo lúteo, el crecimiento folicular y la concentración de progesterona (> 3,18 nMol·L⁻¹), el estradiol y la oxitocina, influyen en la supervivencia embrionaria. Los niveles de la progesterona, por una parte, regulan la respuesta inmune mediante la inhibición de la proliferación y actividad miogénica de los linfocitos. Además, reduce el número de los receptores de la OXT y bloquea la liberación de PGF2 α por el endometrio y favorece el desarrollo del embrión, la producción por este de Interferón- γ . Estos eventos fisiológicos inducidos por la progesterona producida por el cuerpo lúteo en su conjunto provocan la inhibición de los eventos fisiológicos, que acompañan la luteólisis (Pedroso y Roller, 2021).

Papel del conceptus

En la hembra bovina preñada, la presencia del embrión en el útero modifica la manifestación de la luteólisis. Este fenómeno se relaciona con la capacidad que tiene el conceptus de segregar una citoquina denominada proteína trofoblástica (bTP-1) o (IFN- γ), que se origina en el trofoectodermo y es producida durante el período de reimplantación y elongación del embrión entre los días 11 y 24 posterior a la fecundación. Esta citoquina tiene como función deprimir la expresión del sistema inmune materno y degradar las enzimas prostaglandina-sintetasa (PGHS), que catalizan la conversión de ácido araquidónico a prostaglandina (Khatib et al., 2010).

Papel del endometrio

El papel del endometrio materno en el desarrollo de la luteólisis está representado por la presencia en el endometrio de un inhibidor intracelular de la síntesis de PGF 2α (EPSI). Este compuesto está presente durante casi todo el transcurso de la gestación. Esto indica, que en el endometrio de las hembras gestantes ocurre una depresión de la expresión del sistema inmune (Fair, 2016) y en la preñez temprana existe un predominio de los fenómenos antiluteolíticos, los cuales reducen la secreción de PGF 2α , favoreciendo el sostenimiento de la preñez (Wiltbank et al., 2018).

Factores asociados a las pérdidas de la preñez después de la inseminación artificial y la transferencia de embriones en la hembra bovina

La no fertilización y las pérdidas de la preñez en el ganado bovino están condicionadas por múltiples factores (Ali, 2021) dentro de los que se destacan: los factores genéticos (Molina-Coto, 2017), la edad, (Duica et al., 2007; Osorio y Pedroso, 2021), el clima (Hansen y Barron, 2011), la nutrición (De Bie, 2017; Caton et al., 2020; Moriel et al., 2020), el balance endocrino (Wathes y Lamming, 1995; Pankratova et al., 2019), la composición del ambiente uterino (Rizos et al., 2010), la calidad del ovocito (Morales et al., 2016), los asociados a la aplicación de las tecnologías de reproducción asistida y las condiciones epidemiológicas del rebaño (Warnick y Hansen, 2010). Sin embargo, no puede olvidarse, que la reacción sexual es individual y en un caso un solo factor puede provocar múltiples reacciones; mientras, en otros casos, varios factores pueden ser la causa de un mismo fenómeno de infertilidad.

Factores asociados a la calidad y eficiencia de los servicios de inseminación artificial

La inseminación artificial es la tecnología de mayor uso por los pequeños medianos y grandes productores de ganado vacuno

para la implementación de los programas de cruzamiento y mejora genética. Pero, existen un gran número de factores biológicos, gerenciales y socio-económicos que afectan la calidad y la eficiencia de la técnica y este problema en alguna forma limita la participación de nuevos usuarios. En este contexto, durante cuatro años fue desarrollado un proyecto Coordinado de Investigación FAO/OIEA titulado “Uso del RIA y técnicas afines para identificar formas de mejorar los programas de inseminación artificial en ganado bovino criado bajo condiciones de trópico y subtrópico”, el cual fue implementado en 14 países en desarrollo. Los resultados más notables de esta investigación en la cual fueron evaluados las siguientes variables relacionadas con aspectos fisiológicos de la vaca, la calidad del semen, la habilidad del técnico para implementar la tecnología arrojó los siguientes resultados (tabla 1).

Tabla 1. Factores que influyen en la eficiencia y calidad de los servicios de inseminación artificial (García et al., 2001).

Problema principal	Deficiencia específica en servicio al IA	Población afectada (%)
IA inapropiada probablemente debido a detección incorrecta de celo		17,3
Producción propia	*IA en vacas con cuerpo lútero activo	6,09
	*IA en vacas que no están ciclando	10,4
Detección del celo y manejo de rebaño deficientes	*Vacas que fallan en concebir, el celo subsiguiente no es detectado y se encuentran vacías al diagnóstico de preñez	27,40
	*Vacas que conciben, pero pierden el embrión y se les encuentra vacías en el diagnóstico de preñez	10,1

De acuerdo con estos datos, fue evidente que el uso de la metodología estandarizada entre países y la estrategia de combinar información de campo con valores de progesterona (leche y/o sangre), la información de campo y la base de datos,

permitió la generación de información única en su género sobre los sistemas de IA en países en desarrollo. Esta investigación permitió la identificación de los principales factores que limitan la eficiencia de la IA en las localidades estudiadas.

En este sentido, el estudio mostró que cerca de la mitad de las fallas de los servicios estuvieron relacionados con errores humanos. En esta dirección, los esfuerzos futuros deben estar abocados en aliviar la intensidad de los problemas encontrados, con énfasis en los siguientes: educar a los ganaderos en detección de celo, y en prácticas de manejo y nutrición animal; mejorar el conocimiento y habilidades del técnico inseminador, ampliar la investigación en mortalidad embrionaria, los métodos de inducción o sincronización de celo; mejorar el manejo, almacenamiento y control de calidad del semen, la mejora del sistema de registro, la evaluación y seguimiento de las inseminaciones.

Factores que influyen en la tasa de preñez en los programas de transferencia de embriones convencional o embriones producidos in vitro

Los programas de transferencia de embriones convencional (MOET) o mediante el uso de embriones producidos in vitro (PIE), recibe en la actualidad una gran implementación por los beneficios aportados a la mejora genética, multiplicación, conservación de genes y la biodiversidad. En los informes de la literatura se enfatiza, que la tasa de preñez durante la implementación de estas tecnologías puede variar entre el 20 al 50%. Esta eficiencia depende de la competencia del ovocito de las donantes, los procedimientos de tratamiento super ovulatorios, el estado de la condición corporal, la época, el genotipo. Similares aspectos fueron encontrados en las donantes destinadas a la tecnología de (PIE), en la cual también se ha mostrado el efecto del semen utilizado (sexado o no sexado) y los métodos de criopreservación. En las receptoras se destacan, la calidad del cuerpo lúteo y su estado de la condición corporal (Osorio y Pedroso, 2021). En ambas categorías (donantes y receptoras), la prevalencia de procesos inflamatorios dentro y fuera del aparato genital y estados de carencia de micronutrientes juegan un rol transcendental dado que los efectos que estos generan se reflejan en la sangre, el licor folicular y el contenido de las secreciones del útero (Leroy et al., 2016; De Bie, 2017; Figueredo et al., 2017). Algunos de estos resultados son expuestos en la figura 1, donde se presentan los hallazgos recientes de la implementación de esta tecnología en las condiciones del trópico seco en Ecuador.

Estos resultados sugieren, que tanto la implementación de los programas de inseminación artificial como de transferencia embrionaria requieren el control sistemático de la implementación de las tecnologías. Además, que dentro del marco científico se requiere continuar con las investigaciones sobre las causas de la competencia de los ovocitos para la maduración, fertilización y el crecimiento del desarrollo embrionario. Así como el efecto de los factores ambientales, nutricionales y del estado epidemiológico que pueden influir negativamente, en los procesos de implantación y sostenimiento de la preñez. Estos estudios deben poner especial énfasis en la ganadería criada a pastoreo en condiciones

del trópico y subtrópico. En este sentido, las investigaciones de los mecanismos, celulares y moleculares implicados en el desarrollo de estos fenómenos biológicos pueden contribuir a la aplicación de adecuadas estrategias biotecnológicas que mejoren la eficiencia de la inseminación artificial y la transferencia de embriones.

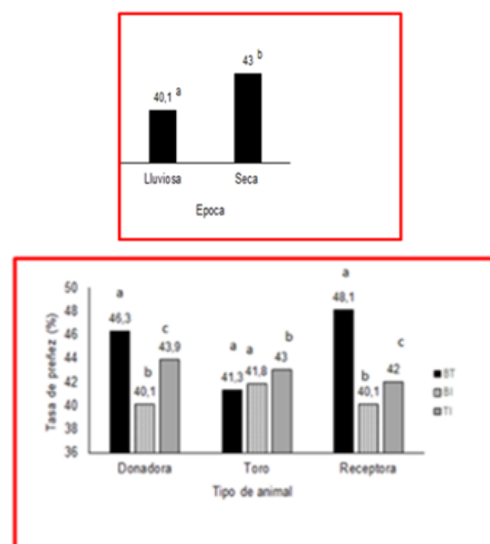


Figura 1. Factores que influyen en la tasa de preñez de hembras bovinas receptoras de embriones *in vitro* en una región tropical baja del Ecuador (Osorio y Pedroso, 2021).

Impacto del estado epidemiológico del rebaño

El estado epidemiológico de los rebaños constituye una causa importante de las fallas en la fertilización y pérdidas de la preñez en la ganadería vacuna. Los conocimientos expuestos en la actualidad, sobre la fisiopatología de diversas enfermedades infecciosas y parasitarias donde se explican los mecanismos moleculares, celulares, y endocrinos) y aplicar las medidas terapéuticas adecuadas de estas entidades en las producciones pecuarias. En este contexto se destacan entidades muy difundidas en la ganadería vacuna en climas cálidos tales como las mastitis (Dahl et al., 2017), la pododermatitis, las endometritis, la infestación por fasciola hepática y la diarrea viral bovina (Santos y Ribeiro, 2014; Bradford et al., 2015).

Existen otras entidades infecto-contagiosas y parasitarias, que afectan la reproducción. Dentro de ellas se destacan: la trichomoniasis, campilobacteriosis, brucelosis, rinotraqueitis infecciosa bovina, ureaplasmosis, neosporosis, micoplasmosis y tuberculosis. Estas entidades son muy comunes y de amplio conocimiento en los rebaños de ganado bovino en los climas cálidos. En consecuencia, existen programas específicos de control y tratamiento de estas enfermedades (Salas et al., 2010). Otros procesos inflamatorios no específicos localizados en el tracto, aunque no influyen en el crecimiento de los embriones pre implantados, si aumentan el número de células

en estado de apoptosis (Fabian et al., 2010). Sin embargo, aún no se han realizado estudios que muestren su asociación con las pérdidas embrionarias. Por consiguiente, sería apropiado realizar investigaciones en este sentido con énfasis en la ganadería vacuna criada en pastoreo (Pedroso, 2011).

Procedimientos para el diagnóstico de preñez y la predicción de las pérdidas embrionarias en la hembra bovina

La mortalidad embrionaria y fetal constituyen una de las fallas del proceso reproductivo que genera mayores pérdidas económicas en la producción ganadera contemporánea. Esta ineficiencia tiene un costo anual de un billón de dólares en el mundo. En este sentido, los estudios y conocimientos de este problema van en aumento en las últimas décadas. En este contexto, las investigaciones han sido orientadas a determinar el momento en que ocurre la pérdida de la viabilidad y mortalidad embrionaria o fetal *in vivo*.

Al respecto, recientes investigaciones han dejado claras evidencias de los periodos críticos de las pérdidas de la preñez. Esto ha sido posible mediante las tecnologías disponibles de diagnóstico para determinar la mortalidad embrionaria o fetal en la hembra bovina (Wiltbank et al., 2016; Ealy y Seekford, 2018; Reese et al., 2020). Además, fue verificado que el período de ocurrencia de la mortalidad embrionaria o fetal muestra una gran variación y está determinado principalmente por factores genéticos, estado productivo, el ambiente y las condiciones de manejo. Métodos disponibles para el diagnóstico de la preñez la mortalidad embrionaria o fetal en la hembra bovina. La palpación y la ultrasonografía transrectal son procedimientos que tienen como base el acumulo de contenido de los fluidos del útero, la presencia y tamaño del embrión o el feto y las estructuras ováricas (CL/FO) y el desarrollo de la placenta.

Estas técnicas son utilizadas para el diagnóstico de la preñez. El primero permite conocer con exactitud el estado de gestación a partir de los 40 a 60 días y la ecografía desde los 25 a 30 días posteriores al servicio IA o TE, aunque es difícil predecir las pérdidas de la preñez. Al respecto, un avance reciente en esta dirección lo constituye la utilización de la ultrasonografía doppler. Esta herramienta permite visualizar la circulación de la sangre por los vasos sanguíneos, y determinar el flujo sanguíneo del útero, la placenta, la actividad del cuerpo lúteo y el estado de preñez temprana cuando se conoce con precisión el momento de presentación del celo y la ovulación (Herzog et al., 2010).

Además, valorar la perfusión sanguínea o tisular, es decir, el paso de un fluido, a través del sistema circulatorio o el sistema linfático, a un órgano o un tejido. Pero no es un eficiente para monitorear la viabilidad del feto o predecir la pérdida de la

preñez dado que la reducción de los niveles de progesterona puede ocurrir simultáneamente o después de la muerte del embrión (Scully et al., 2015; Pohler et al., 2016). Por tal razón se utiliza este procedimiento asociado a otros medios tales como la determinación de la ISG o PAG (Melo et al., 2020).

La determinación de progesterona (P4) en sangre o leche es un método diagnóstico no específico de la preñez más utilizado en la ganadería contemporánea. La diferencia en los niveles de P4 entre las hembras preñadas y no preñadas puede ser utilizado como marcador de la gestación temprana. Así, niveles inferiores a ($< 1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 18 a 24 días después de la IA y/o TE pueden ser clasificadas como no preñadas y las vacas con niveles de P4 levels ($\geq 1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) durante este período pueden considerarse no preñadas con una precisión del 80 al 100% para determinar el estado de no preñez. En este caso los falsos positivos pueden ser atribuidas a CL de larga duración, persistentes o quísticos y mortalidad embrionaria temprana (Pohler et al., 2016). El hecho de la existencia de una alta prevalencia de falsos positivo limita el uso de este medio diagnóstico como marcador de la viabilidad embrionaria.

El descubrimiento de la glicoproteína específica asociada a la gestación en la hembra bovina a proyectado su uso como medio de diagnóstico de la gestación viabilidad y mortalidad embrionaria y fetal. Así, en recientes estudios se ha planteado que la glicoproteína asociada a la gestación (PAG), puede servir como marcador biológico de existencia de gestación y predecir con una exactitud del 95% de confiabilidad de la mortalidad embrionaria tardía o fetal, posteriores al servicio de inseminación artificial o la transferencia embrionaria. Las glicoproteínas asociadas al embarazo (PAG) son miembros de la familia de genes de proteinasa aspártica. Muchos de los PAG bovinos son producidos por células binucleadas gigantes en el epitelio trofoectodérmico. Al respecto, en un estudio reciente cuyo objetivo fue identificar las fallas de la gestación entre los días 30 a 60 posteriores al servicio IA o la transferencia embrionaria. Además, se comprobó que, la proporción de vacas que experimentaron pérdidas de la preñez fue del 23% (IATF) y 16% (FTET), respectivamente (Greco et al., 2015).

Pero no parece ser práctico para algunos profesionales por los requerimientos de laboratorio que demanda (Middleton y Purley, 2018). Sin embargo, se recomienda para hacer estudios de incidencia de mortalidad embrionaria para lo cual se sugiere, realizar una toma de muestra sanguínea, el día 22-24 para determinar la preñez y 28,30 con el fin de comprobar la viabilidad y mortalidad embrionaria (Oliveira et al., 2020). El concepto para el reconocimiento de la preñez, la implantación en el útero materno durante la fase de elongación segrega el

interferón Tau o proteína trofoblástica (IFNT) esta se origina en el trofoectodermo y es el encargado de estimular unos conjuntos de genes (ISG), que se unen a los receptores en la superficie de una célula (endometrio), iniciando vías de señalización y a la expresión de un subconjunto de genes implicados en la respuesta del sistema inmunitario innato (madre).

Por lo general, este gen, se expresan comúnmente en respuesta a una infección viral, pero también durante una infección bacteriana y en presencia de parásitos. En este caso, su papel es modular la acción de rechazo del sistema inmune materno a la presencia del embrión en el útero. De esta forma inhibe la secreción de prostaglandina por el endometrio, contribuye al mantenimiento de las funciones del CL y promueven el reconocimiento y sostenimiento de la preñez. En general, se ha encontrado diferencias significativas entre hembras preñadas o no preñadas en los días 18 a 22 posteriores de la IA o TE con una exactitud de diagnóstico positivo muy variable del 70 al 90% (Ealy y Seekford, 2019; Melo et al., 2020). Pero, como puede observarse, la gran variabilidad de estos resultados experimentales ha hecho que su uso en la producción sea limitado. Estas variaciones pueden tener su origen a que los genes ISG pueden también responder a otros tipos de interferones tales como aquellos asociados a ciertas infecciones de origen viral (Shaw et al., 2017).

De acuerdo con diversos estudios, uno de los candidatos más prometedores en la búsqueda de un biomarcador de fácil acceso para el diagnóstico de la preñez son los microARN circulantes. Pero, actualmente se limita su uso solo en actividades de investigación debido a las técnicas de laboratorio necesarias para aislarlos y medirlos. Según los hallazgos experimentales, entre los días 18 al 22 del servicio de IA o TE, estos nucleótidos juegan un importante papel en la regulación de la expresión de genes encontrados en el fluido del útero, el líquido amniótico y el suero sanguíneo (Pohler et al., 2016). En esta dirección, se han realizado varias investigaciones que han permitido considerar a los miRNA asociados a la preñez como candidatos para identificar el estado de la preñez o la viabilidad y la mortalidad del embrión. Las vacas que experimentan un aumento de los miRNA los días 17 a 24 posteriores al servicio IA y/o TE, tienen una mayor tasa de preñez comparados con aquellas no preñadas (Pohler et al., 2017). Sin embargo, aún se requieren realizar nuevos estudios con el fin de lograr una adecuada repetibilidad y exactitud de este procedimiento diagnóstico. Uso integrado del manejo reproductivo y los procedimientos farmacológicos.

En investigaciones realizadas en vacas lecheras y doble propósito criadas en pastoreo bajo las condiciones climáticas del trópico y climas templados, se ha implementado varios sistemas de manejo para identificar e inducir el retorno al servicio de las hembras no gestante en estado de gestación conocido o desconocido. Estos métodos de manejo combinado con las determinaciones de progesterona o PAG, pueden ser utilizados de forma práctica para realizar estudios que permitan definir el estado de preñez, viabilidad y mortalidad embrionaria.

Métodos biotécnicos y estrategias de manejo reproductivo para mejorar la fertilidad de la hembra bovina en los programas de inseminación artificial y transferencia de embriones

Los conocimientos adquiridos sobre los mecanismos del sostenimiento de la preñez y el desarrollo embrionario han permitido, la introducción de métodos modernos para mejorar la eficiencia reproductiva (Besbaci et al., 2020). En este sentido, se han señalado, la suplementación de energía en la dieta; vitaminas, minerales y grasa de sobre paso (Ninabanda, 2018), el uso potencial del alfa interferón recombinante (Lenis et al., 2010), la manipulación farmacológica del desarrollo y crecimiento folicular (Pedroso, 2011), las funciones del cuerpo lúteo; el uso de la hormona de crecimiento recombinante (Hernández-Cerón y Gutiérrez-Aguilar, 2013). El desarrollo y optimización de los métodos de sincronización del estro, la ovulación e IA en tiempo fijo (Lamb et al., 2010); la suplementación de progesterona (Mann, 2008) y la aplicación de diversos métodos de atenuación del estrés calórico y los sistemas de control del estado nutricional (Schütz et al., 2014; Molina-Coto, 2017), la selección genómica (Straden et al., 2019); suplementación y tratamiento con sustancias anti oxidantes (Greco et al., 2015; Pedroso y Roller, 2021).

Conclusión

La pérdida de la preñez es la principal causa del alargamiento de los intervalos entre parto. Sus tres manifestaciones prácticas: la no fertilización, la mortalidad embrionaria o fetal son los indicadores de mayor impacto negativo en la productividad en la crianza del bovino. Es un problema multifactorial por lo que requiere de un conocimiento profundo de la fisiopatología del reconocimiento, implantación y el sostenimiento de la preñez.

La implementación de técnicas para la manipulación del crecimiento, desarrollo y atresia del folículo ovárico; la suplementación de progesterona o la inducción de cuerpo lúteos accesorios en la fase media del diestro con el fin de inhibir el mecanismo de la luteólisis y potenciar las funciones del CL, son procedimientos adecuados para mejorar la fertilidad de vacas inseminadas o posterior a la transferencia embrionaria.

Las principales medidas preventivas van dirigidas al control de la eficiencia y calidad de los servicios de inseminación artificial y la predicción de la viabilidad del embrión posterior a la transferencia. La aplicación de estas medidas permitirá mejorar de forma sostenida la eficacia de las tecnologías de reproducción asistida.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la presente publicación en ninguna de sus fases.



Referencias bibliográficas

- Ali, S. (2021). Fertilization failure and early embryonic mortality as a major cause of reproductive failure in cattle: A review. *World Scientific News*, 158, 59-71.
- Besbaci, M., Abdelli, A., Minviel, J. J., Belabdi, I., Kaidi, R. and Raboisson, D. (2020). Association of pregnancy per artificial insemination with gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin administered during the luteal phase after artificial insemination in dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 2006-2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16439>
- Bradford, B. J., Yuan, K., Farney, J. K., Mamedova, L. K. and Carpenter, A. J. (2015). Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 6631-6650. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9683>
- Caton, J., Crouse, M., McLean, K., Dahlen, C., Ward, A., Cushman, R., Grazul-Bilska, A., Neville, B., Borowicz, P. and Reynolds, L. (2020). Maternal periconceptual nutrition, early pregnancy, and developmental outcomes in beef cattle, *Journal of Animal Science*, 98(12), skaa358, <https://doi.org/10.1093/jas/skaa358>
- Dahl, M. O., Maunsell, F. P., De Vries, A., Galvao, K. N., Risco, C. A. and Hernández, J. A. (2017). Evidence that mastitis can cause pregnancy loss in dairy cows: A systematic review of observational studies. *Journal of Dairy Science*, 100(10), 8322-8329. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12711>
- De Bie, J. (2017). The follicular micro-environment of the oocyte in metabolically compromised dairy cows: impact assessment as a basic for oocyte rescue. Thesis, PhD. Universiteit. Antwerpen. Antwerp.
- Diskin, M. G., Waters, S. M., Parr, M. H. and Kenny, D. A. (2016). Pregnancy losses in cattle: potential for improvement. *Reproduction, Fertility, and Development*, 28(1-2), 83-93. <https://doi.org/10.1071/RD15366>
- Duica, A., Tovio, N. and Grajales, H. (2007). Factors that affect the reproductive efficiency of the recipient within a bovine embryo transfer program. *Revista de Medicina Veterinaria*. 14, 107-124.
- Ealy, A. D. and Seekford, Z. K. (2019). Symposium review: Predicting pregnancy loss in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 11798-11804. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17176>
- Fabian, D., Bystriansky, J., Cikoš, S., Bukovská, A., Burkuš, J. and Koppel, J. (2010). The effect on preimplantation embryo development of non-specific inflammation localized outside the reproductive tract. *Theriogenology*, 74(9), 1652-1660. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.06.038>
- Fair, T. (2016). Embryo maternal immune interactions in cattle. *Animal Reproduction*, 13(3), 346-354. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-ar877>
- Figueredo Rodríguez, Y., Gonzáles Cabrera, N., Martínez Lemane, J., Mollineda Pérez, Á., García Gómez, I., García, J. R., Roller Gutiérrez, F. y Pedroso Sosa, R. (2017). Nivel de inmunoglobulinas, incidencia de mastitis y fertilidad de vacas lecheras hipocuprémicas suplementadas con cobre. *La técnica*, 18, 43-48. https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i18.808
- Greco, L. F., Neves Neto, J. T., Pedrico, A., Ferrazza, R. A., Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Martinez, N., Garcia, M., Ribeiro, E. S., Gomes, G. C., Shin, J. H., Ballou, M. A., Thatcher, W. W., Staples, C. R. and Santos, J. E. (2015). Effects of altering the ratio of dietary n-6 to n-3 fatty acids on performance and inflammatory responses to a lipopolysaccharide challenge in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 98(1), 602-617. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8805>
- Hansen, P. J. and Barron, D. H. (2011). Challenges to fertility in dairy cattle: from ovulation to the fetal stage of pregnancy desafios na fertilidade de gado leiteiro: da ovulação ao estágio fetal da gestação. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 35, 229-238.
- Hernández-Cerón, J. y Gutiérrez-Aguilar, C. G. (2013). La somatotropina bovina recombinante y la reproducción en bovinos, ovinos y caprinos. *Agrociencia*, 47(1), 35-45. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952013000100004&lng=es&tlng=es.
- Herzog, K., Brockhan-Ludemann, M., Kaske, N., Beindorff, V., Niemann, P. H. and Bollwein, (2010). Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology*, 73, 691-697. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.04.037>. PMID:27238438
- Khatib, H., Monson, R. L., Huang, W., Khatib, R., Schutzkus, V., Khateeb, H. and Parrish, J. J. (2010). Short

- communication: Validation of in vitro fertility genes in a Holstein bull population. *J. Dairy Sci.* 93, 2244-2249.
- Lamb, G. C., Dahlen, C. R., Larson, J. E., Marquezini, G. and Stevenson, J. S. (2010). Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. *Journal of Animal Science*, 88(Suppl 13), E181-E192. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2349>
- Lenis, Y., Ramón, N., Restrepo, J., Olivera, M. y Tarazona, A. (2010). Interferón tau en la ventana de reconocimiento materno embrionario bovino. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 13(1), 17-28. <https://doi.org/10.31910/rudca.v13.n1.2010.705>
- Leroy, J. L., Valckx, S. D., Jordaens, L., De Bie, J., Desmet, K. L., Van Hoeck, V., Britt, J. H., Marei, W. F. and Bols, P. E. (2015). Nutrition and maternal metabolic health in relation to oocyte and embryo quality: critical views on what we learned from the dairy cow model. *Reproduction, Fertility, and Development*, 27(4), 693-703. <https://doi.org/10.1071/RD14363>
- Mann, G. E. (2008). Meta-analysis of progesterone supplementation during early pregnancy in cattle. *J. Anim. Sci.* 86, 387-390.
- Melo, G. D., Pinto, L. M. F., Rocha, C. C., Motta, I. G., Silva, L. A., da Silveira, J. C., Gonella-Diaza, A. M., Binelli, M. and Pugliesi, G. (2020). Type I interferon receptors and interferon- τ -stimulated genes in peripheral blood mononuclear cells and polymorphonuclear leucocytes during early pregnancy in beef heifers. *Reproduction, Fertility, and Development*, 32(11), 953-966. <https://doi.org/10.1071/RD19430>
- Middleton, E. L. and Pursley, J. R. (2019). Short communication: Blood samples before and after embryonic attachment accurately determine non-pregnant lactating dairy cows at 24 d post-artificial insemination using a commercially available assay for pregnancy-specific protein B. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 7570-7575. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15961>
- Molina-Coto, R. (2017). El estrés calórico afecta el comportamiento reproductivo y el desarrollo embrionario temprano en bovinos. *Nutrición Animal Tropical*, 11(1), 1-15. <https://doi.org/10.15517/nat.v11i1.28280>
- Morales, C. J. L., Pedroso, S. R., Leyva, O. C., Denis, G. R., Guerrero, G. H. Z., Pineda, M. R., Guerrero, M. C. y Veliz, D. F. G. (2016). Efecto de la mastitis sobre el comportamiento reproductivo de vacas Holstein Friesian en la Comarca Lagunera en México. *Memorias del 5to Congreso Internacional sobre Mejoramiento Animal*. 9(2 y 3). La Habana Cuba.
- Moriel, P., Vedovatto, M., Palmer, E. A., Oliveira, R. A., Silva, H. M., Ranches, J. and Vendramini, J. M. (2020). Maternal supplementation of energy and protein, but not methionine hydroxy analog, enhanced postnatal growth and response to vaccination in *Bos indicus*-influenced beef offspring. *Journal of Animal Science*, 98(5), skaa123.
- Ninabanda, J. J. (2018). Impacto del balance energético negativo en vacas lecheras tratadas con somatotropina recombinante bovina. *Rev. Vet.* 29, 1, 68-72.
- Oliveira, R. Fo, Franco, G., Reese, S., Dantas, F., Fontes, P., Cooke, R., Rhinehart, J., Thompson, K., Pohler, K. (2019). Using pregnancy associated glycoproteins (PAG) for pregnancy detection at day 24 of gestation in beef cattle. *Theriogenology*, 141, 128-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.09.014>. PMID:31539641.
- Olivera, M. (2010). Señales moleculares que afectan la síntesis de prostaglandina F-2 Alfa y Prostaglandina E-2 en el endometrio. *Revista Colombiana de Ciencia Pecuarias*, 23, 377-389.
- Osorio, J. y Pedroso, R. (2021) Factores que influyen en la tasa de preñez de hembras bovinas receptoras de embriones in vitro en una región tropical baja del Ecuador. *Ciencia y Tecnología Ganadera*, 15(1), 29-40.
- Pankratova, A. V., Aminova, A. L., Kozyrev, S. G., Al-Azawi Nagham, M. H. (2019). Role of reproductive hormones in ovarian pathology in cows. *Plant Archives*. 19(Suppl. 1), 24-33.
- Pedroso, R. y Roller, F. (2021). Métodos biotécnicos y manejo reproductivo para mejorar la fertilidad y eficacia de las técnicas de reproducción asistida del ganado bovino en clima tropical. Primera Edición CIMAGT. ISBN.976-959-7198-22-2.
- Pedroso, R. (2011) Interacción nutrición reproducción del ganado bovino en pastoreo. Mesa redonda. Congreso Internacional de Medicina Veterinaria. Palacio de las Convenciones, La Habana.
- Pedroso, R., Roller, F., Solano, R., González, N., Ruiz, T., Fajardo, H. y Viamonte, M. (2011). Alteraciones metabólicas y carenciales que afectan la aplicación de las biotecnologías de la reproducción en la hembra bovina en clima tropical. *Reseña. Ciencia y Tecnología Ganadera*, 5, 67-86.
- Pohler, K. G., Pereira, M. H. C., Lopes, F. R., Lawrence, J. C., Keisler, D. H., Smith, M. F., Vasconcelos, J. L. M. and Green, J. A. (2016). Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. *J Dairy Sci.*, 99(2), 1584-94. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10192>. PMID:26709163.

- Pohler, K. G., Green, J. A., Moley, L. A., Gunewardena, S., Hung, W.-T., Payton, R. R., Hong, X., Christenson, L. K., Geary, T. W. and Smith, M. F. (2017). Circulating microRNA as candidates. *Mol. Reprod. Dev.*, 84(8), 731-743. <http://dx.doi.org/10.1002/mrd.22856>.
- Reese, S. T., Franco, G. A., Poole, R. K., Hood, R., Fernández Montero, L., Oliveira, R. V., Fo, Cooke, R. F. and Pohler, K. G. (2020). Pregnancy loss in beef cattle: a meta-analysis. *Anim. Reprod. Sci.*, 212, 106251. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106251>.
- Rizos, D., Carter, F., Besenfelder, U., Havlicek, V. and Lonergan, P. (2010). Contribution of the female reproductive tract to low fertility in postpartum lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 93, 1022-1029.
- Salasel, B., Mokhtari, A. and Taktaz, T. (2010). Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, 74(7), 1271-1278. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.05.033>
- Santos, J. and Ribeiro, E. (2014). Impact of animal health on reproduction of dairy cows. *Anim Reprod.*, 11(39), 254-269.
- Sartori, R., Bastos, M. R. and Wiltbank, M. C. (2010). Factors affecting fertilisation and early embryo quality in single- and superovulated dairy cattle. *Reproduction, Fertility, and Development*, 22(1), 151-158. <https://doi.org/10.1071/RD09221>
- Syid, A. (2021). Fertilization failure and early embryonic mortality as a major cause of reproductive failure in cattle: A review. *World Scientific News*, 34, 59-71.
- Schütz, K. E., Cox, N. R. and Tucker, C. B. (2014). A field study of the behavioral and physiological effects of varying amounts of shade for lactating cows at pasture. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3599-3605. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7649>
- Scully, S., Evans, A., Carter, F., Duffy, P., Lonergan, P. and Crowe, M. (2015) Ultrasound monitoring of blood flow and echotexture of the corpus luteum and uterus during early pregnancy of beef heifers. *Theriogenology*, 83(3), 449-458. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.10.009>.
- Shaw, A. E., Hughes, J., Gu, Q., Behdenna, A., Singer, J. B., Dennis, T., Orton, R. J., Varela, M., Gifford, R. J., Wilson, S. J. and Palmarini, M. (2017). Fundamental properties of the mammalian innate immune system revealed by multispecies comparison of type I interferon responses. *PLoS Biology*, 15(12), e2004086. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2004086>
- Stranden, I., Kantanen, J., Russo, I. R. M., Orozco-terWengel, P., Bruford, M. W. and the Clingen Consortium. (2019). Genomic selection strategies for breeding adaptation and production in dairy cattle under climate change. *Heredity*, 123, 307-317 <https://doi.org/10.1038/s41437-019-0207-1>
- Warnick, A. C. and Hansen, P. J. (2010). Comparison of ovulation, fertilization and embryonic survival in low-fertility beef cows compared to fertile females. *Theriogenology*, 73, 1306-1310.
- Wathes, D. C. and Lamming, G. E. (1995). The oxytocin luteolysis and maintain pregnancy. *J. Reprod Fertil*, 49, 53-67.
- Wiltbank, M. C., Báez, G. M., García-Guerra, A., Toledo, M. Z., Monteiro, P. L., Melo, L. F., Ochoa, J. C., Santos, J. E. and Sartori, R. (2016). Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 86(1), 239-253.
- Wiltbank, M. C., Mezera, M. A., Toledo, M. Z., Drum, J. N., Baez, G. M., García-Guerra, A. and Sartori, R. (2018). Physiological mechanisms involved in maintaining the corpus luteum during the first two months of pregnancy. *Animal Reproduction*, 15(Suppl 1), 805-821. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0045>
- Yusuf, M., Nakao, T., Ranasinghe, R. B., Gautam, G., Long, S. T., Yoshida, C., Koike, K. and Hayashi, A. (2010). Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology*, 73(9), 1220-1229. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.01>
- Zhang, K. and Smith, G. W. (2015). Maternal control of early embryogenesis in mammals. *Reproduction, Fertility, and Development*, 27(6), 880-896. <https://doi.org/10.1071/RD14441>

Contribución de los autores

Autores	Contribución
Raúl Alexander Toala Soledispa	Diseño de la investigación; revisión bibliográfica, análisis e interpretación de los datos, preparación y edición del manuscrito.
Rodolfo Pedroso Sosa	Participó en la preparación y edición del manuscrito, corrección de estilo.
Daniel Isaías Burgos Macías	Interpretación de los datos y revisión del contenido del manuscrito referente a lo nutricional.
Felicia Roller Gutiérrez	Análisis de datos y corrección de estilo.

