Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina Veterinaria
Unidad de Posgrado

Estudio de la mortalidad embrionaria tardía en vacas lecheras criadas bajo un sistema semi-intensivo en altura

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Producción y Reproducción Animal

AUTOR

Carlos Alfonso ARANA DE LA CRUZ

ASESOR

Mg. Alfredo DELGADO CASTRO

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Arana, C. Estudio de la mortalidad embrionaria tardía en vacas lecheras criadas bajo un sistema semi-intensivo en altura [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2024.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	CARLOS ALFONSO ARANA DE LA CRUZ
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09312428
URL de ORCID	https:/orcid.org/0000-0002-0668-3629
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	ALFREDO DELGADO CASTRO
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	06155381
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-3171-5290
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	WILFREDO HUANCA LOPEZ
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10036341
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	ALEXEI VICENT SANTIANI ACOSTA.
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10650758
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	HUGO WENCESLAO DEZA CALSIN
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41001516
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	
Tipo de documento	
Número de documento de identidad	

Datos de investigación	
Línea de investigación	B.4.1.7. Medicina y animales mayores
Grupo de investigación	Grupo de investigación en reproducción y sanidad animal - GIRESA
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento.
Ubicación geográfica de la investigación	Casacancha. País: Perú Departamento: Junín Provincia: Jauja Distrito: San Lorenzo Anexo: Casacancha Latitud: -11.84323 Longitud: - 75.40219 Concepción. País: Perú Departamento: Junín Provincia: Concepción Distrito: 9 de Julio Latitud: -11.89646 Longitud: - 75.31831 Edificio: UNMSM-FMV País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Urbanización: Cahuache Calle: Av. Circunvalación 28, San Borja 15021 Latitud: -12.081344 Longitud: -76.987512 /
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Marzo 2017 - octubre 2019
URL de disciplinas OCDE	Biología reproductiva https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.08

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL

En el Auditorio de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo las 10:00 horas del día miércoles 03 de julio del 2024, el Jurado de Tesis de Grado de Magíster, presidido por el Mg. Wilfredo Huanca López y conformado por los siguientes miembros docentes: Dr. Alexei Vicent Santiani Acosta, Dr. Hugo Wenceslao Deza Calsin y el Mg. Alfredo Delgado Castro (asesor), se dio inicio a la sustentación oral y pública de la Tesis titulada:

"**Estudio de la mortalidad embrionaria tardía en vacas lecheras criadas bajo un sistema semi-intensivo en altura**",presentada por el Bachiller:

CARLOS ALFONSO ARANA DE LA CRUZ

Quien sustentó la tesis para obtener el Grado Académico de Magíster en Producción Y Reproducción Animal, y absolvió satisfactoriamente las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado y practicada la votación obtuvo la calificación de: **BUENO, (15) QUINCE_____**

A continuación, el Jurado por intermedio de su Presidente recomendó a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, proponga el otorgamiento del Grado Académico de Magíster en Producción y Reproducción Animal, al Bachiller Carlos Alfonso Arana De La Cruz.

Siendo las 11:40 horas del día miércoles 03 de julio de 2024, se dio por concluido el acto académico, suscribiéndose la presente Acta.

.....
Mg. Wilfredo Huanca López (P.P.D.E.)
Presidente

.....
Dr. Alexei Vicent Santiani Acosta (P.P.D.E.)
Miembro

.....
Dr. Hugo Wenceslao Deza Calsin
Miembro

.....
Mg. Alfredo Delgado Castro (P.P.D.E.)
Asesor

.....
Dr. César Miguel Gavidia Chucán (P.P.D.E.)
Director de la Unidad de Posgrado

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, ALFREDO DELGADO CASTRO en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Directoral N°008-UPG-FMV-2021, de la tesis cuyo título es **Estudio de la mortalidad embrionaria tardía en vacas lecheras criadas bajo un sistema semi-intensivo en altura**, presentado por el M.V. Carlos Alfonso Arana De La Cruz para optar el grado académico de magíster, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 9% de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Firma del Asesor _____

Documento de Identidad: 06155381

Nombres y apellidos del asesor: ALFREDO DELGADO CASTRO



DEDICATORIA

A Ricardo, un “padre”, que a pesar de no estar físicamente con nosotros es quien, con su ejemplo y apoyo ha marcado el camino de superación personal y profesional; aun siento tu guía y presencia desde el cielo.

A toda mi familia, en especial a Eleodora y Albina por guiarme y apoyarme, en las decisiones tomadas en mi vida.

A mis hijos: Jimena Lelia y Alejandro Valentino, con mucho amor; quienes me inspiran y me dan las fuerzas para que cada mañana me levante con las energías para seguir desarrollándome y superándome en todos los aspectos de mi vida y esperar tener el honor que en algún momento sea un ejemplo para ellos.

AGRADECIMIENTOS

A la UNMSM por forjarme profesionalmente y tener maestros que con sus acciones y ejemplos de ética y valores marcaron un derrotero en mi vida.

A la Facultad de Medicina Veterinaria, por permitirme ser parte de uno de sus estamentos, el ser docente y contribuir en su prestigio, junto con estudiantes y personal administrativo.

Al Dr. Alfredo Delgado, por ser un guía de los conocimientos compartidos y su apoyo en la culminación de la presente tesis.

Al IVITA-EL Mantaro y los ganaderos del Valle del Mantaro, que me permitieron poder realizar esta investigación.

Al Dr. José Luis Rodríguez Gutiérrez, con mucho aprecio, por su invalorable colaboración en esta investigación.

Al Dr. Néstor Falcón Pérez, por su apoyo incondicional para culminar el presente trabajo.

A todos mis amigos y en especial a Wilfredo Huanca, Olger Ramos, que con su preocupación y apoyo me ayudaron a lograr este objetivo, más aún por las circunstancias en el que se desarrolló.

ÍNDICE

1 RESUMEN **1**

2 ABSTRACT **2**

3. INTRODUCCIÓN **3**

4. ANTECEDENTES **5**

4.1. *PRODUCCIÓN LECHERA* **5**

4.1.1. Selección genética **5**

4.1.2. Fertilidad **6**

4.2. MORTALIDAD EMBRIONARIA (ME) EN VACAS LECHERA **8**

4.2.1. Relación de la ME con el Folículo-ovocito **9**

4.2.2. Relación de la ME con el entorno del tracto reproductivo **11**

4.2.3. Relación ME y comunicación maternal **12**

4.2.4. Efecto nutricional sobre la mortalidad embrionaria **19**

4.2.5. Causas Infecciosas con la mortalidad embrionaria **21**

4.2.6. Causas hormonales de la mortalidad embrionaria **23**

4.2.7. Diagnóstico de mortalidad embrionaria **25**

5. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO **29**

6. MATERIALES Y MÉTODOS **30**

6.1. *LUGAR DE EJECUCIÓN* **30**

6.2. *ANIMALES* **30**

6.3. *DISEÑO EXPERIMENTAL* **31**

6.4. *ANÁLISIS DE DATOS* **32**

6.5. M*ATERIALES Y EQUIPOS* **33**

6.5.1. Materiales **33**

6.5.2. Equipos **33**

7. RESULTADOS **33**

8. DISCUSIÓN **39**

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES **42**

9.1 *Conclusiones* **42**

9.2 *Recomendaciones* **42**

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **43**

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Mortalidad embrionaria en bovinos

Tabla 2. Raza y número de partos como factores asociados a la presentación de Mortalidad embrionaria tardía en vacas.

Tabla 3. Factores asociados a la presentación de mortalidad embrionaria tardía en vacas.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pérdidas de la gestación en vacas lecheras de acuerdo al tiempo tras la inseminación artificial.

Figura 2. Funciones de las vesículas extracelulares uterinas (VE) durante el período de preimplantación en rumiantes domésticos

Figura 3. Concentraciones P4 circulante, y el efecto de IFNT en el reconocimiento y establecimiento de la implantación.

Figura 4. Causas multifactoriales que producen mortalidad embrionaria en vacas lecheras.

Figura 5. Presentación de ME en vacas Brown Swiss según su Nº de partos.

Figura 6. Presentación de ME en vacas Holstein según su Nº de partos.

Figura 7. Presentación de ME en vacas cruzadas según su Nº de partos.

Figura 8. Presentación de ME en el total de animales según su Nº de partos.

Figura 9. Presentación de ME en vacas Brown Swiss según la producción láctea.

Figura 10. Presentación de ME en vacas Holstein según la producción láctea.

Figura 11. Presentación de ME en vacas cruzadas según la producción láctea.

Figura 12. Presentación de ME en el total de vacas según la producción láctea.

Figura 13. Análisis de varianza de dos vías para la determinación del efecto raza y número de parto sobre la presentación de MET.

1 RESUMEN

La crianza de ganado bovino de leche en las regiones altoandinas siempre ha tenido como una de sus limitantes la hipoxia ambiental, y tras muchos años de investigaciones y adecuaciones se ha logrado implementar en estas regiones una crianza del ganado lechero rentable y sostenible. Sin embargo, los problemas reproductivos se presentan con mucha frecuencia al igual que en crianzas en la costa, siendo una de las más importantes la mortalidad embrionaria (ME) (presentación alrededor del 20 %) que reduce la eficiencia productiva del hato. Por estas razones el presente estudio tuvo por objetivo determinar la ME tardía (28, 35 y 42 días) y su asociación con el número de partos (0, 1, 2, 3, 4, ≥5 partos) y la producción láctea (60 y 90 días), en tres tipos de ganado bovino (Brown Swiss, Holstein y cruzado) criados de forma semi-intensiva al pastoreo en el Valle del Mantaro a 3300 msnm. Se pudo determinar que la ME tardía estuvo alrededor del 7 % (14/203) en todo el hato, y la asociación entre el número de partos y la presentación de ME dio un valor de r=0.8, y la asociación entre ME y la producción láctea dio un valor de r=0.9. Nuestros datos indican que la ME es baja en su presentación respecto a los datos que ya existen y que el número de partos y la exigencia productiva son dos factores, que tal vez, sumados a otros infecciosos y no infecciosos estarían ocasionando ME y que deberían ser tomados en cuenta en la gestión productiva y reproductiva dentro de un hato lechero.

Palabras claves: Altura, ganado lechero, mortalidad embrionaria

2 ABSTRACT

The breeding of dairy cows in the high Andean regions has always had environmental hypoxia as one of its limitations, and after many years of research and management, it has been possible to implement profitable and sustainable dairy cattle raising in these regions. However, reproductive problems occur very frequently as in coastal breeding, one of the most important being embryonic mortality (EM) (around 20%) that reduces the productive efficiency of the herd. For these reasons, our study aimed to determine the late EM (28, 35 and 42 days) and its association with the number of parturition (0, 1, 2, 3, 4, ≥5) and milk production (60 and 90 days), in three types of cattle (Brown Swiss, Holstein and crossbred) raised semi-intensively to grazing in the Mantaro Valley (Highland at 3300 meters). It was possible to determine that the late EM was around 7% (14/203) in the herd, and the association between parturition and EM was r = 0.8, and the association between dairy production and EM was r = 0.9. Our data indicate that the EM is low compared to the data that already exist about EM, and that the parturition and the milk production are two factors, which perhaps, added to other infectious and non-infectious, would be causing EM and that should be taken into account in the productive and reproductive management within a dairy herd.

Keywords: Highland, dairy cows, embryo mortality.

3 INTRODUCCIÓN

En el Perú la crianza de ganado bovino lechero es una actividad muy importante, considerando que es desarrollada en gran parte por pequeños productores rurales y que contribuye a mejorar la economía, proporcionar empleo y generar ingresos. Así mismo, la leche es un elemento básico para la seguridad alimentaria, debido a su contenido nutricional y cuyo consumo per cápita recomendado por la FAO es de 120 litros. De acuerdo con el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego - Midagri (2021), el consumo anual per cápita de leche fluida en el Perú fue de 81,0 kilogramos en 2020. (Dirección Nacional de Investigación y Promoción de la Libre Competencia en el marco de la Guía de Estudios de Mercado del Indecopi, 2021).

El incremento en la producción láctea que se ha conseguido en las últimas décadas gracias a mejoras en el manejo y la nutrición, así como al desarrollo de una intensa selección genética, se ha asociado a un descenso en la eficiencia reproductiva. En concreto, uno de estos efectos ha sido el incremento de la pérdida de gestación, por factores ajenos a problemas infecciosos, durante el primer trimestre de la misma. Esto supone importantes pérdidas económicas y determina la permanencia o no de la vaca en la explotación.

Según el comité de nomenclatura reproductiva, se le denomina muerte embrionaria (ME) a las pérdidas que ocurren durante los primeros 45 días de gestación, momento en que ya ocurrió la mortalidad embrionaria, las pérdidas ocurridas después de este tiempo se denominan aborto y el nombre de embrión cambia a feto (Sartori *et al*., 2010).

La ME es uno de los problemas más difíciles de diagnosticar y corregir en reproducción bovina. Se considera que, si una vaca y un toro son fértiles, la concepción a un servicio de esos dos individuos será alrededor del 70%. Este número se basa en la probabilidad de fecundación (80-100%), sumado a la probabilidad de que el embrión sobreviva al reconocimiento materno. Dentro de los factores que han sido involucrados se tiene factores genéticos, de manejo, estrés, salud animal, entre otros. Aunque, en la mayoría de los casos la falla en la

fecundación no sea un obstáculo para el establecimiento de la preñez, la ME, es considerada la causa más importante para el aumento del intervalo entre partos en los hatos, da lugar a una reducción en los porcentajes de gestaciones, una ralentización del progreso genético y pérdidas económicas considerables en la producción lechera y de carne de vacuno (Sartori *et al*., 2010).

Cuando se habla de ME, se deben diferenciar dos grandes momentos en el desarrollo del *Conceptus*; los primeros 14 días (etapa del desarrollo embrionario temprano), corresponden a la etapa anterior al reconocimiento maternal de la preñez y después de los 14 días (etapa del desarrollo embrionario tardío), corresponden a la etapa después del reconocimiento materno de la gestación. El periodo embrionario (temprano y tardío), tiene una duración aproximada de 45 días, durante este tiempo, no solamente se da el proceso de organogénesis, sino que también se forma la placenta para que el feto pueda continuar su desarrollo, (Hernández, 2016).

Trabajos realizados en Nueva Zelanda, en vacas lactantes han demostrado una incidencia más elevada de mortalidad embrionaria tardía (MET) entre 15 a 30% (Berg, et al; 2010). En el Perú, en la zona de la costa se realizó un trabajo en el cual se determinó que entre los días del 27 al 29 post inseminación fue donde se registró la ME, teniendo el día 28 con el mayor rango porcentual de 66.67 % (Hernández, 2016). Sin embargo, no se dispone de datos sobre ME en ganado vacuno criados bajo condiciones de altura, a 3300 msnm. Por lo que es importante determinar la prevalencia de la MET en explotaciones lecheras en altura, y evidenciar que relación guarda con parámetros productivos y reproductivos como raza, número de partos, nivel de producción.

4 ANTECEDENTES

4.1 PRODUCCIÓN LECHERA

En los países de ingresos bajos y medianos, la producción de lácteos está muy valorada y se prevé que la demanda de leche seguirá aumentando notablemente durante las próximas décadas. Esto presenta una gran oportunidad para mejorar la nutrición, la salud, los ingresos y los medios de vida de millones de personas con proteínas de alta calidad y micronutrientes biodisponibles en los productos lácteos. Sin embargo, los bajos niveles de consumo de lácteos, debido a la baja asequibilidad, accesibilidad y disponibilidad, aún caracterizan a varios países de ingresos bajos y medianos. Esto es causado por una alimentación, manejo y genética inadecuados; mala infraestructura de transporte, enfriamiento y procesamiento; entornos de políticas poco propicias; y factores socioculturales y demográficos (Adesogan y Dahl, 2020).

4.1.1 Selección genética

La selección genética de rasgos importantes ha ayudado a transformar y hacer avanzar la industria del ganado lechero. Los rasgos específicos considerados para la selección en las poblaciones de ganado lechero han evolucionado con el tiempo como una respuesta a los cambios en las necesidades de los productores, consumidores y la sociedad con la ayuda de los avances en la tecnología y los programas de registro de rasgos.

Shook (1989) indica que un rasgo potencial debe cumplir varios criterios antes de que pueda considerarse para su selección en poblaciones de ganado lechero. Primero, debe tener un valor económico como producto comercializable o su mejora debe reducir los costos de producción. En segundo lugar, el rasgo debe tener una variación genética y una heredabilidad suficientemente grandes. En tercer lugar, el rasgo debe estar claramente definido, medible a bajo costo y registrado de manera consistente. Finalmente, un rasgo indicador puede verse favorecido si tiene una alta correlación genética con el rasgo económicamente importante, reduce los costos de registro, tiene una mayor heredabilidad o puede medirse más temprano en la vida.

El valor económico de los rasgos ha sido históricamente el factor más importante de la selección genética. Desde la década de 1930 hasta la de 1970, la selección se centró únicamente en aumentar la producción de leche. Sin embargo, muchos países se han orientado hacia objetivos de selección más equilibrados al incluir más peso en rasgos previamente infravalorados (Miglior *et al*., 2005).

El segundo criterio se refiere a la variación genética y la heredabilidad de un rasgo, que son fundamentales para la tasa de progreso genético posible dentro de un programa de selección. Los rasgos varían en la cantidad de variación fenotípica y genética observada, y pueden ser más o menos hereditarios. Los rasgos también pueden depender unos de otros, con correlaciones positivas o negativas y correlaciones genéticas y fenotípicas fuertes o débiles. Estas correlaciones pueden explotarse mediante el uso de rasgos indicadores, que pueden verse favorecidos si están disponibles más fácilmente que un rasgo de interés.

Una gran ventaja para la progresión de la selección genética ha sido el registro y el acceso a fenotipos claramente definidos, precisos y rentables. El aumento continuo de datos recopilados a lo largo de la cadena de producción ha brindado muchas oportunidades y una gran cantidad de características con evaluaciones genéticas para su consideración. Sin embargo, esto también ha dado como resultado un gran número de rasgos potenciales que se deben considerar para su inclusión en los programas de selección y, en última instancia, equilibrarlos adecuadamente. Una selección descuidada, cambiar las metas de selección o tener muchos objetivos diferentes puede reducir la presión de selección (Meadows, 1968) y puede tener un efecto indeseable permanente en la población.

4.1.2 Fertilidad

Debido a la importancia económica de la eficiencia reproductiva, se ha prestado mucha atención a los rasgos de fertilidad y a su relación con la producción a lo largo de los años. Además, la correlación genética con la vida productiva indica que la fertilidad juega un papel importante en la vida útil de la vaca (VanRaden *et al.*, 2004). Las medidas de fertilidad se dirigen mayoritariamente a las hembras como por ejemplo el número de servicios necesarios para la concepción, los no retornos

al primer servicio, el intervalo desde el parto hasta la primera inseminación y el intervalo entre partos. Una inseminación tardía podría ser el resultado de una falla en la detección del celo, y la tasa de no retorno, pueden verse afectadas por las decisiones de descarte tomadas después de la primera inseminación.

La relación entre la fertilidad de las vaquillas y la fertilidad de las vacas ha sido cuestionada por mucho tiempo, y estudios recientes consideraron las correlaciones genéticas entre los rasgos observados tanto en vaquillas como en vacas viejas y concluyeron que los rasgos de fertilidad de vaquillas y vacas no eran genéticamente iguales (Jamrozik *et al*., 2005).

La correlación entre los rasgos de reproducción y la producción de leche se ha estudiado ampliamente. Se ha informado una correlación antagónica entre la fertilidad hembra y la producción de leche en varios estudios a lo largo de los años (Dematawewa y Berger, 1998; VanRaden *et al*., 2004). Sin embargo, debido a que la producción de leche fue el objetivo predominante en la selección del ganado lechero, la selección a largo plazo por rendimiento puede haber causado un deterioro del desempeño reproductivo (Nebel y McGilliard, 1993). Más tarde, se aceptó que, debido a correlaciones genéticas desfavorables, la selección para obtener mayores rendimientos en el ganado lechero posiblemente haya conducido a una disminución de la fertilidad (Pryce *et al*., 2004) a medida que la fisiología de la reproducción del ganado lechero cambió en respuesta a la selección genética para la producción de leche (Lucy, 2001). Debido a la baja heredabilidad de los rasgos de fertilidad y las dificultades relacionadas con su medición, algunos estudios recientes han explorado la posibilidad de aprovechar los datos metabólicos de producción láctea disponibles como el perfil de ácidos grasos por infrarrojo cercano (NIR) en la leche (Bastin *et al*., 2012), observándose correlaciones moderadas entre el ácido graso C18: 1 cis -9 (un indicador de la movilización de grasa corporal) y los días abiertos.

4.2 MORTALIDAD EMBRIONARIA (ME) EN VACAS LECHERAS

Al margen de que las vacas sean inseminadas artificial o naturalmente en el momento apropiado, la falla reproductiva es el resultado de un error en la fertilización o de una pobre supervivencia del embrión después de la fertilización. Los estudios en el ganado lechero indican que las tasas de fertilización están por encima del 80 % y más altas para las vaquillas (Sartori *et al*., 2010; Inskeep y Dailey, 2005).

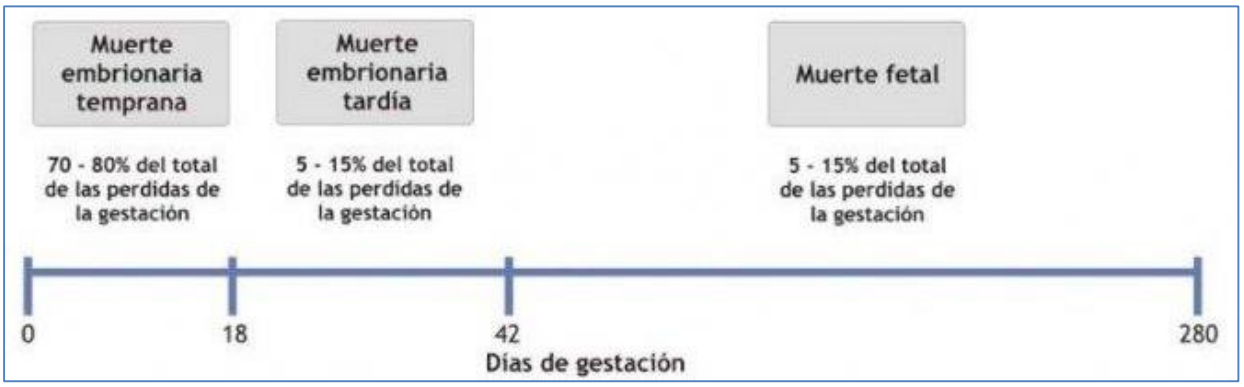

Figura 1. Pérdidas de la gestación en vacas lecheras de acuerdo al tiempo tras la inseminación artificial (Sartori *et al*., 2010).

Tabla 1. Mortalidad embrionaria en bovinos (Sartori *et al*., 2010)

Categoría	Días de gestación	Muerte embr./fetal (%)
Vacas de carne	5 a 45	6,5% (9/138)
Vacas de carne	45 a 65	1,6% (2/129)
Vacas holstein lactantes	28 a 42	19,5% (38/195)
Vacas holstein lactantes	26-33 a 68	23,4% (67/286)
Vaquillonas de carne	30-35 a 60-75	4,0% (17/420)
Vaquillonas de leche	30 a 65-75	9,3% (19/205)
Vacas holstein lactante (IA)	25-32 a 60-66	18,6% (13/70)
Vacas holstein lactante (TE)	25-32 a 60-66	26,2% (22/84)
Vacas de carne lactantes	29-33 a 54-61	10,8% (24/223)
Vacas holstein lactantes	28 a 42	10.9% (56/512)
Vacas holstein lactantes	42 a 56	6,4% (29/456)
Vacas holstein lactante (IA)	25 a 46	9,5% (8/84)
Vaca holstein lactante (TE)	25 a 46	21,9% (20/91)

4.2.1 Relación de la ME con el Folículo-ovocito

Dado que la mayor incidencia de la ME se da al principio de la preñez, pueden estar implicados varios componentes del desarrollo temprano, incluidos el folículo, el ovocito, el embrión y/o la interacción con el útero.

Existen algunos estudios que mencionan resultados distintos sobre la evaluación del efecto de la lactancia o el mérito genético en la producción de leche sobre la calidad de los ovocitos. Snijders *et al*. (2000) encontraron en vacas de alto rendimiento lácteo una menor cantidad de ovocitos que se desarrollan hasta la etapa de blastocito, en comparación con vacas de producción láctea media. Sin embargo, el estudio de Rizos *et al*. (2005) menciona sobre que la proporción de ovocitos de buena calidad hasta su desarrollo a la etapa de blastocisto no muestra diferencias entre vacas y novillas. Por otra parte, hay estudios (Gwazdauskas *et al*., 2000; Walters *et al*., 2002) que han demostrado que las condiciones relacionadas con la lactancia temprana tienen un efecto negativo sobre la calidad de los ovocitos. Matoba *et al*. (2012) no pudieron demostrar in vitro como el estado metabólico posparto tiene un efecto sobre la capacidad de los ovocitos para desarrollar adecuadamente hasta blastocisto. Puede ser que la FIV, que típicamente se limita a tasas de desarrollo de blastocisto de 30% a 40% a partir de ovocitos inmaduros iniciales, simplemente no sea lo suficientemente sensible para detectar diferencias sutiles en la calidad de los ovocitos.

Algunos estudios han reportado que muchos embriones degeneran antes de la etapa de blastocisto (Cerri *et al*., 2009), ya que la proporción de embriones viables recuperados en los días 6 a 7 tras la fertilización fue aproximadamente del 50%. Al ser la tasa de fertilización entre 85% y 95%, se sugiere que existe mortalidad embrionaria en el día 7. En segundo lugar, varios estudios han informado tasas más altas de preñez en vacas lecheras lactantes después de la transferencia de embriones en comparación con la inseminación artificial (Al-Katanani *et al*., 2002; Demetrio *et al*., 2016; Vasconcelos *et al*., 2006). Por otra parte, hay que considerar estos estudios utilizaron vacas expuestas a estrés por altas temperaturas donde el ovocito y/o el embrión pueden ser perdidos por la hipertermia durante la gestación (Hansen, 2009). Si se examinan los estudios en

los que el estrés por calor no fue un factor, la diferencia en las tasas de preñez entre la inseminación y la transferencia de embriones es muy bajo (Vasconcelos *et al*., 2011). En tercer lugar, exposición de ovocitos in vitro a concentraciones fisiológicas de ácidos grasos no esterificados se ha demostrado que es perjudicial para el desarrollo de los ovocitos (Van Hoeck *et al*., 2013; Leroy *et al*., 2015), para la función celular del oviducto (Jordaens *et al*., 2015) y para el desarrollo posterior del embrión Van Hoeck *et al*., 2011). También, se ha reportado que un balance energético negativo altera la expresión molecular en las células de la granulosa de las vacas en producción láctea alrededor del día 60 posparto (Girad *et al*., 2015).

Hay estudios que también han demostrado que el perfil metabolómico del líquido folicular en novillas, vacas lactantes y no lactantes tienen diferencias en su microambiente, y esto puede comprometer la calidad del ovocito (Forde *et al*., 2015; Moore et al., 2015. En otro estudio, donde se realizó una evaluación del líquido folicular en diferentes etapas productivas en vaquillas y vacas, se identificó 24 ácidos grasos y nueve metabolitos acuosos que fueron significativamente diferentes entre vacas y vaquillas (Bender *et al*., 2010).

Forde *et al*. (2015) examinaron el efecto de la lactancia sobre la composición del líquido folicular preovulatorio en vacas posparto y novillas Holstein. Los aminoácidos tirosina, fenilalanina y valina y los ácidos grasos ácido heneicosanoico y ácido docosahexaenoico fueron más bajos en vacas en lactancia en comparación con vacas en seca. El líquido folicular de vacas lactantes fue más alta en ácido aminoadípico, ácido α-aminobutírico, glicina y serina, mientras que más baja en histidina, leucina, lisina, metionina y ornitina frente a vacas en seca y novillas. También en el líquido folicular se encontró una proporción de n6:n3 mayor en las vacas lactantes en comparación con las vacas no lactantes y las novillas, mientras que los ácidos grasos poliinsaturados totales fueron más bajos en vacas lactantes frente a vacas no lactantes y vaquillas. .

Otros estudios han intentado correlacionar la composición del líquido folicular y el desarrollo de los ovocitos. Matoba *et al*. (2014) investigaron la capacidad de diversos componentes foliculares del perfil metabolómico intrafolicular para predecir el potencial de los ovocitos bovinos para desarrollarse

hasta la etapa de blastocisto *in vitro*. El análisis de los metabolitos acuosos cuantificados en el líquido folicular mostró diferencias entre los ovocitos que formaron blastocistos y los ovocitos que se degeneraron. Los aminoácidos L-alanina, glicina y el L-glutamato se asocian directamente a la maduración a blastocistos, mientras que la urea se asocia negativamente. Los niveles de ácido palmítico y ácidos grasos son más altos que el ácido linolénico, en el líquido folicular donde se evaluó su asociación con el desarrollo de los ovocitos hasta blastocito. Un estudio donde relacionaron la composición del líquido folicular y plasma sanguíneo de vacas lecheras Holstein con la capacidad de desarrollo de los ovocitos hasta blastocitos. Las tasas de blastocistos se relacionaron negativamente con la glucosa plasmática y se relacionaron positivamente con la puntuación de la condición corporal y los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres. Los niveles totales de ácidos grasos libres en el líquido folicular no influyeron en la capacidad de desarrollo de los ovocitos *in vitro*. Los resultados sugieren que los días posparto y la puntuación de la condición corporal influyen en el metabolismo de los carbohidratos dentro del ambiente folicular (Sutton-McDowell *et al.* 2014).

4.2.2 Relación de la ME con el entorno del tracto reproductivo

De acuerdo con la naturaleza multifactorial de la infertilidad en las vacas lecheras, el tracto reproductivo (oviducto-útero) claramente también juega un papel crucial en proporcionar un ambiente apropiado que conduzca al desarrollo normal del embrión a través del reconocimiento materno de la preñez, un período en el cual puede haber una importante pérdida de embriones (Diskin y Morris *et al*., 2014). Varios estudios (Forde *et al*., 2012; Forde *et al*., 2011) han enfatizado el importante papel de la progesterona en la primera semana después de la concepción para establecer un medio uterino óptimo para optimizar el reconocimiento maternal. Las investigaciones sobre transferencia embrionaria son un buen indicador de la salud fisiológica y la capacidad de preñez del útero para permitir el desarrollo del ovocito. Los estudios *in vitro* indican que la capacidad del tracto reproductivo de las vacas lactantes posparto para sostener el desarrollo embrionario es menos eficiente en comparación con las vaquillas o vacas no lactantes. Además, se ha reportado que el desarrollo del embrión es menos eficiente en vacas que en vaquillas al día 7 posparto. En el estudio de Sartori *et al*.

(2010) 100 embriones de dos a cuatro células fueron transferidos endoscópicamente al oviducto ipsilateral al cuerpo lúteo de vaquillas nulíparas y vacas lactantes el día 2 después del estro, cinco días después, el oviducto y el útero se lavaron de forma no quirúrgica para recuperar los embriones. Se recuperaron más embriones de vaquillas que de vacas (79 % frente a 57%, respectivamente). De los embriones recuperados, el 34% se había desarrollado hasta la etapa de blastocisto en el oviducto de las vaquillas en comparación con sólo el 18% en el oviducto de vacas (Rizos *et al*., 2010; Maillo *et al*., 2012).

Una observación justificable del modelo descrito anteriormente es que una hembra nulípara no es lo mismo que una vaca postparto con estrés metabólico en la lactancia temprana. Para superar quitar este sesgo Maillo *et al*. (2012) utilizaron vacas lecheras primíparas posparto de la misma edad que fueron ordeñadas después del parto o secadas inmediatamente al parto para probar directamente los efectos de la lactancia sobre la fertilidad posparto. La producción de leche produjo una alteración significativa en el patrón de muchos metabolitos claves asociados con la fertilidad en vacas posparto que se asoció con una disminución en la capacidad del tracto reproductivo de la vaca lechera posparto para inducir el desarrollo temprano del embrión hasta la etapa de blastocisto (alrededor del día 60 posparto).

4.2.3 Relación ME y comunicación maternal

Los dos principales factores para la eficiencia reproductiva en los sistemas de producción de ganado, particularmente aquellos que utilizan inseminación artificial (IA), son la tasa de presentación del celo y la tasa de concepción (la proporción de vacas que quedan preñadas tras la inseminación). Sin embargo, incluso si se logra la concepción, lo que ocurre en más del 85% de los casos si la inseminación se realiza correctamente (Diskin y Morris, 2008), una proporción significativa de los embriones resultantes no llegan a término. Muchos estudios han informado que solo el 30% o menos de las vacas lactantes de alta producción paren después de una sola IA (Wiltbank *et al*., 2016). Sin embargo, comprender las causas de la baja fertilidad en el ganado lechero es complejo y puede deberse a un desarrollo folicular comprometido que afecta la calidad de los ovocitos, un entorno

del tracto reproductivo subóptimo incapaz de dar las condiciones adecuadas para el desarrollo normal del embrión o una combinación de ambos (Walsh *et al*., 2011).

La mayor parte de la pérdida embrionaria ocurre antes del reconocimiento maternal, período entre la fertilización y el día 16 después de la inseminación (Diskin y Morris, 2008). Es probable que una proporción significativa de las pérdidas esté asociada con defectos en el proceso de elongación del blastocito durante el cual el trofoectodermo del blastocisto secreta interferón-tau (IFNT), la señal para el reconocimiento maternal del embarazo (Moraes *et al*., 2018) (Figura 1). Por otro lado, en vacas de alta producción se ha determinado que la mortalidad embrionaria puede llegar al 50 % al día 7 (Sartori *et al*., 2010).

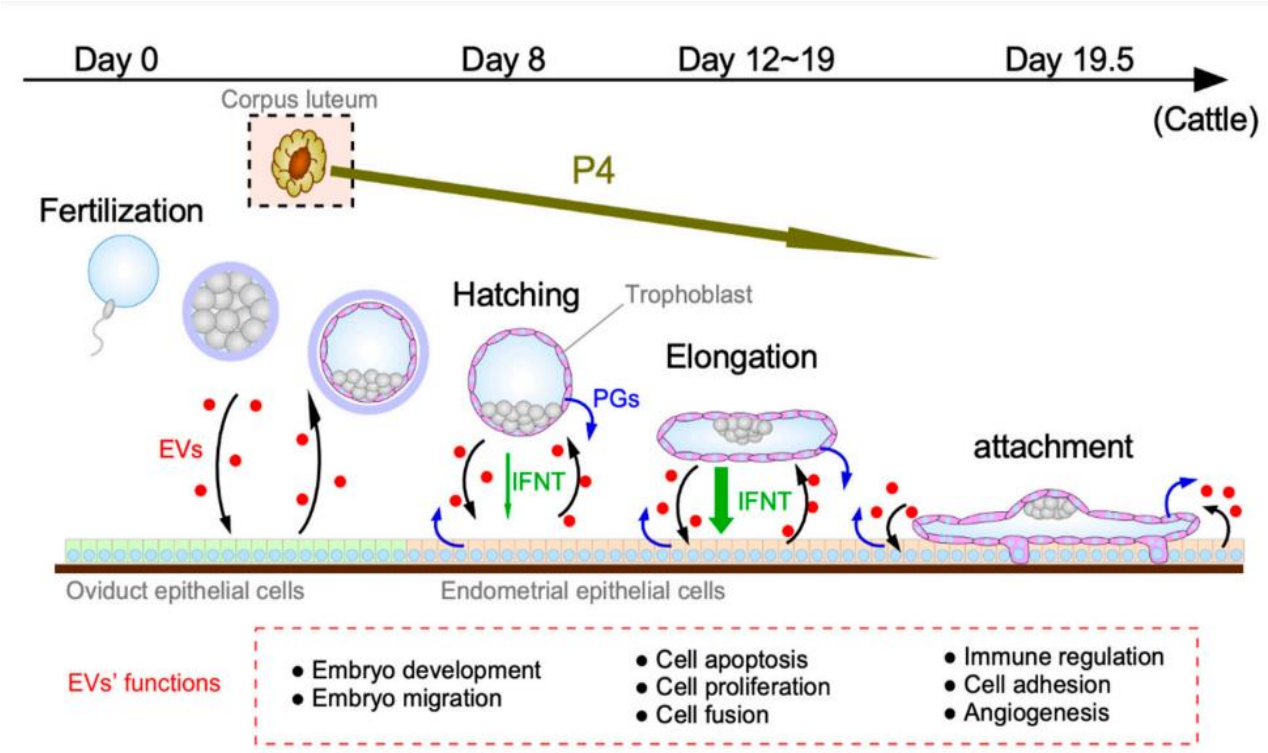

Figura 2. Funciones de las vesículas extracelulares uterinas (VE) durante el período de preimplantación en rumiantes domésticos. Las VE interactúan con progesterona ovárica (P4) e IFNT y las prostaglandinas (PG) para la implantación exitosa del blastocisto y el posterior establecimiento de la preñez (Nakamura et al., 2020).

Para mantener la preñez es esencial una buena comunicación entre el embrión y el endometrio, en todos los mamíferos. Si bien existen diferentes

estrategias para el reconocimiento del maternal según la especie (Geisert y Bazer, 2015), el principio básico es el mismo en todas las especies: prevención de los mecanismos que provocan la luteólisis para mantener las concentraciones de progesterona y la función endometrial para facilitar la implantación y el desarrollo fetal. Durante el período de pre implantación, el blastocisto eclosionado sufre cambios morfológicos significativos, pasando secuencialmente de una estructura esférica a ovoide, luego tubular y finalmente de forma filamentosa a través de la rápida proliferación de las células del trofectodermo (Fléchon *et al*., 2007). Este proceso crítico de elongación se inicia entre los días 12 y 14 en el ganado. El endometrio uterino juega un papel clave en la conducción del proceso de elongación a través de las secreciones endometriales que componen el líquido de la luz uterina, o histótrofo (Spencer y Hansen, 2015). Las alteraciones espaciales y temporales en el transcriptoma endometrial y la composición histótropa son fundamentales para establecer la receptividad uterina a la implantación y son necesarios para el éxito de la gestación. Estas modificaciones están reguladas por la progesterona (P4) del cuerpo lúteo, así como por el IFNT del blastocito (Lonergan y Forde, 2015) (Figura 2).

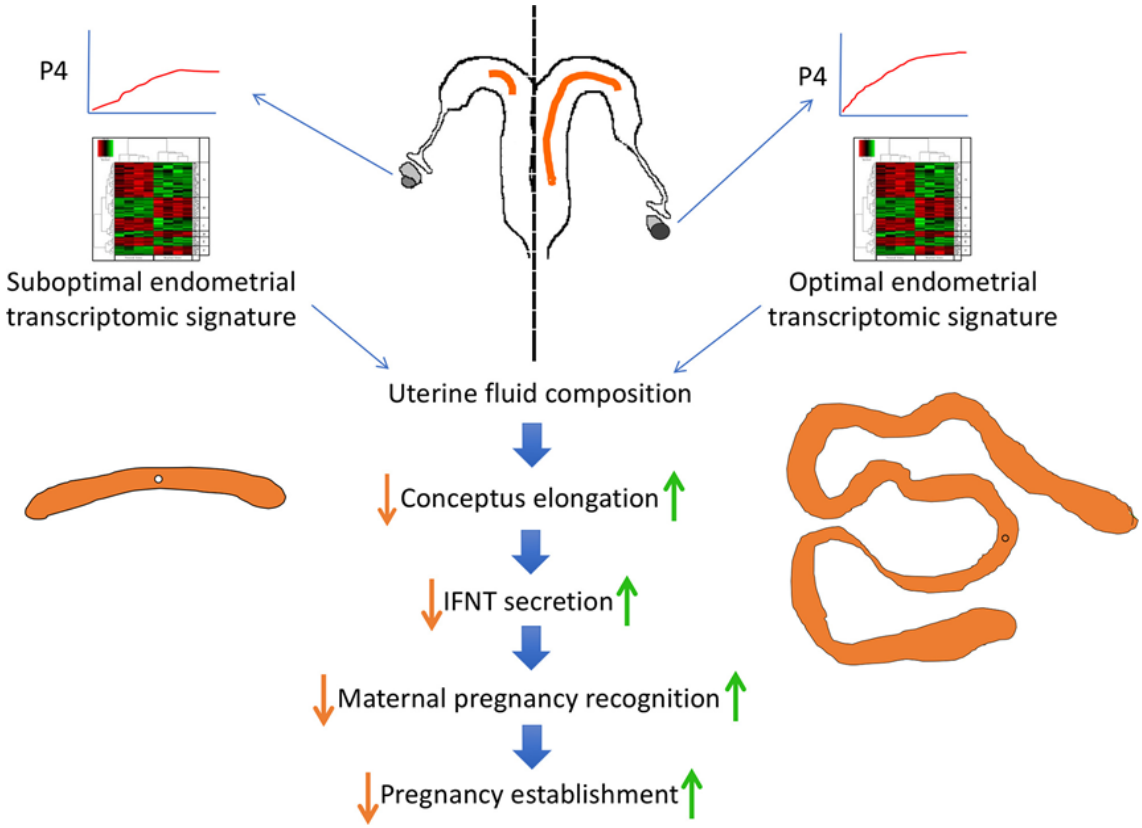

Figura 3. Concentraciones P4 circulante, y el efecto de IFNT en el reconocimiento y establecimiento de la implantación (Lonergan y Forde, 2015).

Además, de lo mencionado existen otros factores extrínsecos que también contribuyen a la pérdida del embrión, como el estrés por calor, enfermedades específicas, la mala nutrición y el genotipo (Ribeiro *et al*., 2016; Hansen, 2014; Butler, 2013).

ME y endometrio

Hasta la etapa de blastocisto, el desarrollo es independiente de la señalización maternal. Sin embargo, parecería que los blastocistos pueden inducir algunos cambios en la expresión génica del endometrio, particularmente de los genes estimulados por interferón, pero el efecto es de naturaleza menor y es indetectable, incluso *in vitro* en presencia de un solo embrión. En contraposición con el desarrollo hasta blastocisto, después de la eclosión de la zona pelúcida, el embrión bovino se vuelve completamente dependiente de las secreciones uterinas para su posterior desarrollo. Si bien los embriones cultivados *in vitro* no se elongan después de la eclosión, lo harán si se transfieren a receptores sincronizados (Clemente *et al*., 2009). La importancia del líquido luminal uterino en este proceso se demuestra en estudios en los que la ablación de las glándulas uterinas en ovejas provocó que los blastocistos no se elongan después de la transferencia (Gray *et al*., 2002).

En el ganado, la progesterona induce cambios temporales y espaciales en el transcriptoma endometrial necesarios para establecer la receptividad uterina. Estos cambios incluyen la regulación del receptor nuclear de progesterona (PGR) en el epitelio luminal y luego glandular, lo que permite la expresión de genes y la secreción de sus productos proteicos, así como el transporte activo de otras moléculas necesarias para el alargamiento del blastocisto (Spencer y Hansen, 2015). La capacidad del útero para estimular el alargamiento del blastocisto depende principalmente de las secreciones del epitelio luminal y glandular (Bazer *et al*., 2015). Sin embargo, el momento del alargamiento del blastocisto está claramente asociado con las concentraciones de progesterona en circulación (Randi *et al*., 2016) que actúa a través del útero para regular la secreción de PGR y, por lo tanto, el inicio de la expresión de genes necesarios para el alargamiento

del blastocisto en el ganado (Okumu *et al*., 2010). Por lo tanto, los niveles de P4 en sangre tienen un efecto indirecto sobre la secreción de IFNT por el embrión (Clemente *et al*., 2009). Para que la producción de progesterona del cuerpo lúteo se mantenga, el embrión debe producir cantidades suficientes de IFNT al día 16 para concluir con la luteolisis y mantener la función del cuerpo lúteo e inducir la expresión de genes reguladores del alargamiento del blastocisto en el endometrio.

ME e* Interferón *tau (IFNT)

Los estudios de extracción de embriones destacaron el período de reconocimiento materno como una etapa crítica entre el embrión-útero-ovario.

La recolección de embriones bovinos entre los días 10 y 16 de gestación y su transferencia a las receptoras entre los días 10 y 17 demostró que la transferencia de embriones hasta el día 16 después del estro condujo a una preñez normal (Betteridge *et al*., 1980). Aunque las transferencias del día 17 podrían prolongar la fase luteal en algunas receptoras, ninguna de ellas estaba gestante al día 42. Por lo tanto, el útero bovino está programado para recibir una señal de reconocimiento de preñez al día 16 con el fin de inhibir los mecanismos que provocan la luteólisis. De manera similar, las inyecciones de IFNT (Vallet *et al*., 1988) así como la infusión de IFNT recombinante ovino en las venas uterinas (Bott *et al*., 2010) también prolongan la vida útil luteal. A partir de estas investigaciones, sabemos que si bien el IFNT se secreta en cantidades apreciables durante un período de una semana aproximadamente, el efecto sobre el endometrio es inmediato, ya que los embriones son capaces de prevenir la luteólisis en un día después de la transferencia (Bauersachs *et al*., 2012).

Durante el reconocimiento de la maternal, el IFNT ejerce su efecto antiluteolítico mediante la inhibición de la transcripción del gen del receptor alfa de estrógenos en ovejas y del gen del receptor de oxitocina tanto en ovejas como en bovinos, específicamente en el epitelio luminal del endometrio y el epitelio glandular superficial (Hansen *et al*., 2017). La ausencia de expresión del receptor de oxitocina en las células del endometrio impide la liberación de pulsátil de prostaglandina F2α (PGF2α), impidiendo la destrucción del cuerpo lúteo y manteniendo la producción adecuada de progesterona. Además de esta acción antiluteolítica sobre el cuerpo

lúteo, el IFNT actúa de manera paracrina para inducir o mejorar la expresión endometrial de genes inductores por interferón diferentes compartimentos celulares del endometrio para facilitar la implantación y estimular aún más el alargamiento del blastocisto y la producción del IFNT (Brooks *et al*., 2014).

Aunque la importancia del IFNT en el reconocimiento materno de la preñez y la prevención de la luteólisis en rumiantes son inequívocas, aún se desconoce el nivel umbral de IFNT requerido para el mantenimiento de la preñez. Las concentraciones de ARNm de IFNT en el embrión al parecer alcanzan su punto máximo alrededor del día 20 en el ganado con una reducción en la expresión del gen IFNT después de que el embrión se haya adherido al epitelio durante la placentación (Spencer *et al*., 2016). Por tanto, el IFNT es producido transitoriamente por el embrión y la expresión es más alta antes de la formación de receptores de oxitocina en el epitelio endometrial. Se ha demostrado que varios factores afectan la secreción de IFNT ya en la etapa de blastocisto, como la composición de los medios de cultivo *in vitro,* la densidad en la que se cultivan los embriones, la calidad morfológica del embrión, el genotipo paterno o la manipulación del embrión (Forde y Lonergan, 2017).

ME y fisiología del blastocisto

Los cambios en el transcriptoma inducidos por el blastocisto en el endometrio bovino han revelado marcadores moleculares de receptividad uterina que pueden ser importantes para la preñez (Bauersachs *et al*., 2006).

El desarrollo del blastocisto implica la transición de un blastocisto esférico en el día 7 de gestación, a través de formas ovoides intermedias (días 12 a 13) y tubulares (días 14 a 15) a un blastocisto filamentoso en los días 16 a 17 (Hue, 2016). Durante la elongación, el blastocisto aumenta más de 1000 veces en tamaño asociado con un aumento en el contenido total de proteínas (Morris *et al*., 2000). El trofoblasto se duplica diariamente entre los días 9 y 16, con un aumento particularmente pronunciado en los días 13 a 14 (Berg *et al*., 2010). Como el IFNT es producido únicamente por el trofectodermo del blastocisto, y existe una fuerte correlación entre la elongación y la secreción de IFNT (Rizos *et al*., 2012) entonces el blastocisto debe alcanzar un tamaño adecuado para producir cantidades suficientes de IFNT para prevenir la luteólisis. La elongación

desproporcionadamente corta puede resultar en una falla en la respuesta de reconocimiento de la preñez y la pérdida del embrión (Berg *et al*., 2010).

El número de células del blastocisto en el día 7 puede predecir su longitud al día 14 (O'Hara *et al*., 2014); sin embargo, factores subyacentes que regulan el reconocimiento maternal no son del todo conocidos. Barnwell *et al*. (2016) caracterizaron patrones diferenciales de expresión de ARNm entre bovinos fertilizados con blastocistos cortos (longitud media de 4,2 ± 0,1 mm) y largos (24,7 ± 1,9 mm) recuperados el día 15 de preñez. Un total de 348 genes se expresaron diferencialmente, 221 genes regulados positivamente y 127 regulados negativamente en blastocistos fertilizados largos en comparación con cortos, lo que sugiere que existen diferencias entre los tamaños de blastocistos y su capacidad en la producción de IFNT. Lo que fue confirmado al identificar cambios transcriptómicos inducidos por el fertilizado en el endometrio bovino que son dependientes e independientes de IFNT (Mathew *et al*., 2017). Lo que si ha podido ser demostrado es que hay un efecto del tamaño del fertilizado sobre transcriptoma endometrial (Sánchez *et al*., 2017). La exposición del endometrio a IFNT o a un fertilizado grande o pequeño alteró la expresión de 491, 498 y 230 transcriptomas, respectivamente, en comparación con el endometrio control. Estos y otros datos similares pueden permitir una mejor comprensión de las vías moleculares subyacentes involucradas en la supervivencia del embrión y el reconocimiento materno del embarazo en el ganado.

ME y entorno uterino

En la actualidad, no se sabe cómo influye exactamente el entorno uterino en la infertilidad y la subfertilidad en el ganado. Geary *et al*. (2016) por medio de la transferencia de embriones clasificaron a las vaquillas como de alta fertilidad (AF), subfértiles (SF) o infértiles (IF). La tasa de preñez fue significativamente más alta en las vaquillas con AF (71%) y SF (90%) que en IF (20%). La longitud de alargamiento de los fertilizados fue aproximadamente dos veces mayor en vaquillas AF que las SF (Moraes *et al*., 2018). Si bien se detectaron pocas diferencias en el endometrio de las novillas no preñadas, hubo una diferencia sustancial en la respuesta transcriptómica del endometrio de vaquillas preñadas AF frente a SF. En los animales SF se encontraron deficiencias en las vías de señalización presentes

en la preñez asociadas con la estructura y organización de la matriz extracelular, así como con la adhesión celular. También se observaron diferencias transcriptómicas en fertilizados de animales AF y SF, especialmente con muchos genes que son peligrosos para la implantación del embrión en ratones.

En la actualidad, se ha podido comprobar mediante análisis molecular las vías de señalización más importantes entre el embrión y el endometrio, dando como resultado una alta desregulación molecular en esta interacción en animales SF. Estos resultados confirman las afirmaciones sobre el efecto del ambiente uterino sobre la sobrevivencia y desarrollo del embrión, y los efectos de las interacciones desreguladas entre el embrión y el endometrio que provocan las pérdidas embrionarias en el ganado SF durante el período de implantación (Moraes *et al*., 2018).

4.2.4 Efecto nutricional sobre la mortalidad embrionaria

Después del parto, las demandas de nutrientes de la vaca lechera aumentan dramáticamente a medida que se acerca al rendimiento máximo de lactancia, y generalmente hay un exceso de ingesta de alimento, lo que resulta en un estado de balance energético negativo (BEN). Durante este período, las reservas corporales se movilizan para satisfacer las demandas de mantenimiento y lactancia, y esto conlleva a que disminuya el rendimiento reproductivo en vacas lecheras de alta producción, especialmente cuando los animales están en BEN severo (Nebel y McGilliard, 1993).

En el tejido uterino de vacas con BEN severo en el posparto se ha podido observar una mayor expresión de genes involucrados en las respuestas inflamatorias, lo que es se relaciona a la remodelación del útero posparto y la eliminación de posibles infecciones microbianas. Las vacas con BEN severo tienen una respuesta inmunitaria lenta y la expresión génica en las células inmunes están expuestas a un entorno con mayor estrés oxidativo, lo que provoca la reducción de la expresión de genes que codifican las citocinas inflamatorias, que son necesarias para una respuesta inmune óptima (Morris *et al*., 2009). Por lo tanto, se enfatizó la importancia de maximizar el consumo de alimento y minimizar el BEN en el período

inmediatamente posterior al parto para mantener altas tasas de supervivencia de los embriones (Patton *et al*. 2007).

Los folículos expuestos a condiciones adversas como el BEN durante las etapas iniciales de crecimiento, parece afectar la eficiencia reproductiva al dar como resultado la producción de ovocitos de baja calidad y cuerpos lúteos disfuncionales, aunque esto no ha sido probado del todo (Britt, 1994).

Por otra parte, la tasa de concepción del primer servicio se asocia positivamente con las concentraciones de IGF-1, la calidad de ovocitos y la calidad del cuerpo lúteo, pero los efectos sobre la fertilización y los tipos de mortalidad embrionaria aún no se han aclarados (Patton *et al*., 2007).

Las concentraciones elevadas de insulina, producto de BEN severo, en circulación tienen efectos negativos sobre la calidad de los ovocitos (Garnsworthy *et al*., 2008). En algunos estudios se ha determinado que las estrategias nutricionales con sustancias glucogénicas, en vacas lecheras, tienen algunos efectos positivos sobre las funciones reproductivas (Friggens *et al*., 2010). Las dietas lipogénicas aumentan la capacidad de secreción de estradiol del folículo preovulatorio, proporcionando un mejor sustrato para la producción de progesterona y mejora el desarrollo de los blastocistos que reducen las tasas de mortalidad embrionaria (Leroy *et al*., 2008). Además, el aumento de la producción de leche resultante de la suplementación con concentrado puede producir un aumento del metabolismo de la progesterona y que podría predisponer a un mayor riesgo de mortalidad embrionaria (Sangsritavong *et al*., 2002).

Algunas de las toxinas vegetales más comunes que pueden causar problemas reproductivos incluyen micotoxinas, festuca contaminada con endófitos y nitratos (Ford *et al*., 1992; Brownson y Zollinger, 2003). Las micotoxinas pueden aparecer en alimentos con moho y también se sospecha que la zearalenona causa abortos en el ganado al disminuir las concentraciones de progesterona (Parmar *et al*., 2017).

La proteína cruda en la dieta (más del 17 %) se ha implicado en la reducción de las tasas de concepción, con incremento en el número de servicios por concepción y días abiertos. Algunos estudios han indicado que el nitrógeno ureico en sangre por encima de 20 mg/100 ml puede afectar negativamente las posibilidades de preñez (Elrod *et al*., 1993).

4.2.5 Causas Infecciosas con la mortalidad embrionaria

La infección del útero y del oviducto puede ser ocasionada por agentes infecciosos uterinos específicos y no específicos. Las infecciones uterinas específicas son causadas por diferentes virus, bacterias y protozoos. Estos patógenos ingresan al útero por vía sanguínea (infección primaria por Toxoplasma gondii) o por vía vaginal (*Campylobacter fetus*) o por inseminación (virus de la diarrea viral bovina (BVD). Los patógenos no específicos son principalmente bacterias que ingresan al útero por infección ascendente o en el momento de la inseminación. A veces, puede provocar endometritis. La inflamación resultante debe eliminarse antes de que el embrión descienda al útero, de lo contrario hay una gran posibilidad de pérdida embrionaria.

Entre las infecciones específicas, numerosos patógenos bacterianos, virales, protozoarios y fúngicos se han asociado con la mortalidad embrionaria, el aborto y la infertilidad en el ganado. *Corynaebacterium pyogenes* es responsable del aborto y la retención de placenta (Griffin *et al*., 1974). *Campylobacter fetus* se propaga fácilmente entre machos y hembras o viceversa, y las vacas pueden permanecer infectadas por varios meses se indica hasta por seis. Algunos protozoos como *Tritrichomonas fetus* generan enfermedades venéreas en el ganado. Las vacas infectadas pueden experimentar muerte embrionaria temprana, infertilidad y aborto en el primer trimestre de gestación. Algunas vacas desarrollan infecciones tipo piometra poscoital y esta infección generalmente desaparece en 90 días (Onyango, 2014).

Después de la fertilización, la zona pelúcida puede considerarse una barrera eficaz frente a la infección viral. La migración pasiva del virus a través de la zona pelúcida es poco probable, ya que partículas con un diámetro de entre 40 y 200 nm

de tamaño como el BVD y BHV-1 permanecerían atrapadas en la periferia de la zona pelúcida (Vanroose, 1999).

Las causas infecciosas inespecíficas por ejemplo debido a la inseminación artificial podrían ser causada por bacterias patógenas facultativas presentes en la vagina o en el semen. Estas infecciones no perjudican la fecundación, sino que perturban las interacciones embrionarias y maternales, y podrían interrumpir el proceso de implantación de los embriones. Como resultado se podría observar un flujo vaginal 14 a 25 días después de la inseminación (De Winter *et al*., 1995). Si el útero está infectado antes de la inseminación es poco probable que se lleve a cabo un buen desarrollo embrionario temprano, lo que resultaría en la mortalidad antes del día 11 (De Winter, 1995). En ese caso el sistema inmunológico innato es alertado debido a la presencia de patógenos por los receptores tipo toll de células endometriales que detectan moléculas asociadas a patógenos como lipopolisacáridos, ADN y lípidos bacterianos. El sistema inmunológico innato, incluidos los receptores tipo toll, los péptidos antimicrobianos y las proteínas de fase aguda, constituye una defensa inicial del endometrio de los mamíferos contra los microbios. Las células endometriales secretan citocinas y quimiocinas para dirigir la respuesta inmune y aumentar la expresión de AMP. Las quimiocinas atraen PMN y macrófagos para eliminar las bacterias, aunque la función de los neutrófilos a menudo se altera en el animal posparto.

Se cree que la persistencia de PMN en el endometrio, en ausencia de bacterias, es la característica principal de la endometritis subclínica (Zerbe *et al*., 2003). La endometritis subclínica tiene una causa silenciosa que conlleva a la mortalidad embrionaria y se ha reportado una asociación entre el desarrollo de infecciones uterinas con una mayor incidencia de enfermedad quística de los ovarios (Andrew *et al*., 2006). La endometritis posparto en el ganado bovino es una enfermedad multifactorial de alto impacto económico, y se ha demostrado que este tipo de inflamación reduce la fertilidad. Tanto la endometritis clínica como la subclínica se asociaron con un aumento de los días hasta el primer servicio, así como con una disminución de las tasas de concepción y preñez, lo que propicia mayores descartes dentro del hato (Perea *et al*., 2005).

4.2.6 Causas hormonales de la mortalidad embrionaria

La secreción de progesterona por el cuerpo lúteo es esencial en la organización del entorno uterino para darle las condiciones nutricionales al embrión. Es así, que la progesterona y el estradiol actúan como reguladores que conducen a la programación del útero para que regresione el cuerpo lúteo (Robinson et al., 2001).

Existe una correlación positiva entre las concentraciones de progesterona, el día de luteólisis inducida por prostaglandinas y la tasa de supervivencia del embrión (Brooks *et al*., 2014). Los posibles mecanismos por los que las bajas concentraciones de progesterona, durante el ciclo estral, podrían reducir la fertilización o las tasas de supervivencia del embrión incluyen la producción de ovocitos que se encuentran en una etapa de maduración más avanzada en el momento de la ovulación y una mayor frecuencia de pulsos de la hormona luteinizante, que a su vez induce un aumento en la secreción de estradiol-17β o la alteración de la morfología endometrial.

El efecto más probable de las bajas concentraciones de progesterona sobre la subsiguiente supervivencia del embrión es la maduración prematura de los ovocitos, que compromete la capacidad del embrión para continuar su desarrollo normal después de la fertilización (Diskin *et al*., 2006). Existe una asociación directa entre las concentraciones de progesterona en la fase lútea temprana y la subsiguiente supervivencia del embrión, también existe una relación lineal y cuadrática positiva entre las concentraciones de progesterona en los días 5, 6 y 7 y la tasa de supervivencia embrionaria. Un análisis más detallado de estos datos revela que el 75, 72 y 56% de las vacas lecheras tienen concentraciones de progesterona óptimas para la concepción en los días 5, 6 y 7 después de la inseminación, respectivamente (Stronge *et al*., 2005). En vaquillas de carne, también se observó una asociación lineal y cuadrática similar entre las concentraciones de progesterona y la supervivencia embrionaria (Diskin *et al*., 2006).

Algunos estudios sugieren la importancia de la suplementación con progesterona, en vacas con una baja tasa de supervivencia embrionaria lo que es producto de una insuficiencia de progesterona. Por lo tanto, para este propósito, se

requieren métodos confiables, fáciles de usar y baratos para identificar animales en riesgo de mortalidad embrionaria como consecuencia de bajas concentraciones circulantes de progesterona, pero la suplementación temprana de concentraciones adecuadas de progesterona incrementa la tasa de supervivencia embrionaria en vacas (Starbuck *et al*., 2001).

Por otro lado, la administración de sustancias antiprostaglandínicas en el momento de la transferencia embrionaria es capaz de aumentar la tasa de preñez. Las evidencias muestran que la inhibición de la secreción de PGF2α favorece el establecimiento y mantenimiento de la gestación en el ganado, al disminuir la mortalidad embrionaria (Elli *et al*., 2001). Las concentraciones periféricas de progesterona y estradiol se reducen por el aumento del nivel de ingesta de alimento, debido al aumento de la tasa de aclaramiento plasmático de los esteroides, que está relacionado con un aumento de flujo sanguíneo hepático. Parece que el flujo sanguíneo hepático permanece alto en vacas lecheras de alta producción, lo que a su vez da como resultado una disminución de las concentraciones periféricas de progesterona, lo que aumenta el riesgo de mortalidad embrionaria (Sangsritavong *et al*., 2002).

En el útero, la expresión génica de receptores de progesterona y estradiol fueron sensibles a los cambios en las concentraciones periféricas de progesterona durante la primera semana después de la IA (McNeill *et al*., 2006). Asi mismo, el transcriptoma del endometrio de las vaquillas cíclicas es sensible a las concentraciones de progesterona circulante en los primeros días después del estro, y en condiciones de bajas concentraciones de progesterona se observó un entorno uterino subóptimo con capacidad reducida para la elongación del blastocisto (Forde *et al*., 2011).

4.2.7 Diagnóstico de mortalidad embrionaria

En la mortalidad embrionaria las pruebas diagnósticas son verdaderamente importantes para reducir el intervalo entre el parto y la concepción en vacas lecheras.

Métodos inmunológicos

Las concentraciones séricas de bPAG-1 (glicoproteínas asociadas a la preñez bovina) para la detección de la supervivencia fetal se estimaron mediante un radioinmunoensayo de doble anticuerpo (RIA-706) y el límite mínimo de detección de RIA-706 fue de 0,2 ng/ml. Las concentraciones de glicoproteína 1 asociada a la preñez bovina de 0,8 ng/ml en el plasma se toma como punto de corte para diagnosticar la preñez y por debajo de esta concentración se considera posible pérdida del embrión (Kaufmann *et al*., 2009). Para el diagnóstico de preñez, la concentración plasmática de progesterona tiene un promedio de 6,48 ± 0,38 ng/ml al día 21 de preñez (Hadiya *et al*., 2015). Por otra parte, puede haber una disminución gradual en la concentración plasmática de progesterona que resulte en la pérdida del embrión entre los días 35 y 60 (Chaffaux *et al*., 1986), y existe una asociación significativa entre el nivel de progesterona durante la semana 5 y la ocurrencia de pérdida de preñez en la semana 7 de gestación (Starbuck *et al*., 2004).

Las vacas que producen más leche pueden tener más probabilidades de tener concentraciones subóptimas de progesterona; sin embargo, no se mencionan asociaciones entre las concentraciones de progesterona al día 28-42 y la ocurrencia de pérdidas de preñez (Diskin *et al*., 2006).

Citología, lavado uterino y biopsia

En ocasiones, el entorno uterino no es propicio para el desarrollo embrionario debido a posibles infecciones, como los casos de endometritis clínica y subclínica. No existe una prueba estándar para el diagnóstico de endometritis subclínica, lo que dificulta el diagnóstico. Sin embargo, la evaluación citológica uterina es la herramienta más utilizada para el diagnóstico de endometritis (Kasimanickam *et al.*, 2005). Las células endometriales e inflamatorias se pueden recolectar mediante un hisopo de algodón, una biopsia uterina o un lavado uterino (Hammon et al., 2001).

Es posible que cualquier retraso en la evaluación citológica afecte el recuento total de células nucleadas y pueda alterar la evaluación citológica. El citocepillado se considera la mejor técnica para obtener muestras citológicas endometriales porque es fácil y rápido de realizar, seguro y eficaz (Oral *et al*., 2009). La biopsia proporciona información detallada sobre el estado de salud uterina y se ha desarrollado una escala de 4 puntos para su uso en vacas (Chapwanya *et al*., 2009), pero aún faltan estudios que relacionen las puntuaciones de la biopsia con la fertilidad futura de la vaca. Además, existen pocos estudios que evalúen su uso como herramienta de diagnóstico endometritis subclínica (Meira *et al*., 2012).

El examen citológico del tracto reproductivo se utiliza a menudo para evaluar posibles lesiones reproductivas en animales domésticos. El examen citológico endometrial en vacas es una técnica de diagnóstico de mucha aceptación (Hammon *et al*., 2001). Aún así, se requiere una técnica que produzca células bien conservadas y representativas de una gran área de la superficie uterina, sin causar daño al tracto reproductivo para obtener resultados citológicos consistentes y confiables. Por su parte, la técnica de lavado uterino recolecta células de un área de superficie uterina más grande y proporciona una muestra más representativa del contenido luminal que un hisopo o una biopsia uterina, pero puede causar irritación del endometrio (Bourke *et al*., 1997). El examen citológico, mediante lavado uterino, con bajos volúmenes de solución salina para recuperar neutrófilos se ha estudiado en el ganado lechero como un método para definir la endometritis subclínica y la endometritis (Hammon *et al*., 2001). La técnica de citocepillo produce una mejor evaluación celular pero su gran desventaja es el costo de la técnica y tiene que ser hecha por personal especializado, pero la recolección de muestras mediante este método es más fácil, más consistente y produce resultados rápidos (Rani *et al*., 2018).

Diagnóstico por ultrasonografía

El diagnóstico de la viabilidad de los fetos en las primeras etapas de la gestación y la detección de la muerte embrionaria temprana es difícil mediante palpación rectal. La ecografía es una buena herramienta para el diagnóstico temprano de la preñez mediante la detección del embrión (Kastelic *et al*., 1988). La ecografía es una técnica mínimamente invasiva, precisa y eficaz para el diagnóstico

temprano de la preñez y puede minimizar la posible incidencia de abortos inducidos por la palpación. Se ha podido determinar que la observación directa de un feto con ecografía es más precisa que los inmunoensayos como la presencia de proteínas específicas de preñez en el plasma. La ecografía se ha utilizado con éxito para el diagnóstico precoz de la preñez y para la detección de la mortalidad embrionaria temprana en el ganado (Patel *et al*., 2005). El diagnóstico ecográfico de la preñez se puede realizar a partir del día 25 tras la inseminación en el ganado (Fricke, 2002). La ecografía ha permitido el diagnóstico temprano de la preñez caracterizando el momento y el alcance de las pérdidas embrionarias tardías en el ganado (Santos *et al*., 2004).

El ultrasonido de matriz lineal, en tiempo real y modo B son los más adecuados para aplicaciones veterinarias que involucran la reproducción de ganado. La mayoría de los equipos de ultrasonido constan de una unidad de consola con controles y una pantalla en la que el operador visualiza la imagen del ultrasonido, y un transductor, que emite y recibe ondas ultrasónicas de alta frecuencia. Los transductores de matriz lineal consisten en una serie de cristales piezoeléctricos dispuestos en una fila. Estos cristales emiten ondas sonoras de alta frecuencia al energizarse. Los transductores de matriz lineal de rangos de frecuencia de 5.0 y 7.5 MHz se usan con mayor frecuencia en el ganado para realizar exámenes de ultrasonido reproductivo, y la mayoría de los escáneres de ultrasonido veterinarios son compatibles con sondas de diferentes frecuencias. La configuración de un transductor de matriz lineal da como resultado una imagen rectangular en el campo de exploración (Fricke y Lamb, 2002).

Los órganos reproductores de las vacas se escanean principalmente por el recto utilizando un transductor de matriz lineal fabricado específicamente para uso transrectal. Algunos estudios mostraron que la ecografía transrectal en vacas a los días 23, 28 y 35 después del servicio fueron menos precisas que al día 42 (Hadiya *et al*., 2015). Algunos estudios informaron 16.66% de casos de diagnóstico falso negativo (animales preñados se les da como vacías), en vacas en condiciones de campo cuando se realizó una ecografía entre días 27 y 31 después del servicio (Szenci *et al.*, 1998). La incapacidad para detectar al embrión se atribuyó a que la ubicación del útero era muy craneal a la entrada pélvica y con un transductor de

frecuencias de 7,5 MHz, la mayor parte del útero probablemente no podría visualizarse, ya que el transductor de frecuencia más alta tiene una capacidad de penetración limitada de solo unos pocos centímetros. Los diagnósticos positivos de preñez por ecografía transrectal dependen de la detección de líquido alantoideo anecoico y del embrión propiamente dicho, la pérdida embrionaria podría darse cuando el embrión se detectó sin latido o cuando un embrión previamente observado con latido ya no era visible durante exámenes ecográficos posteriores (Szenci *et al*., 1998; Rani *et al*., 2018).

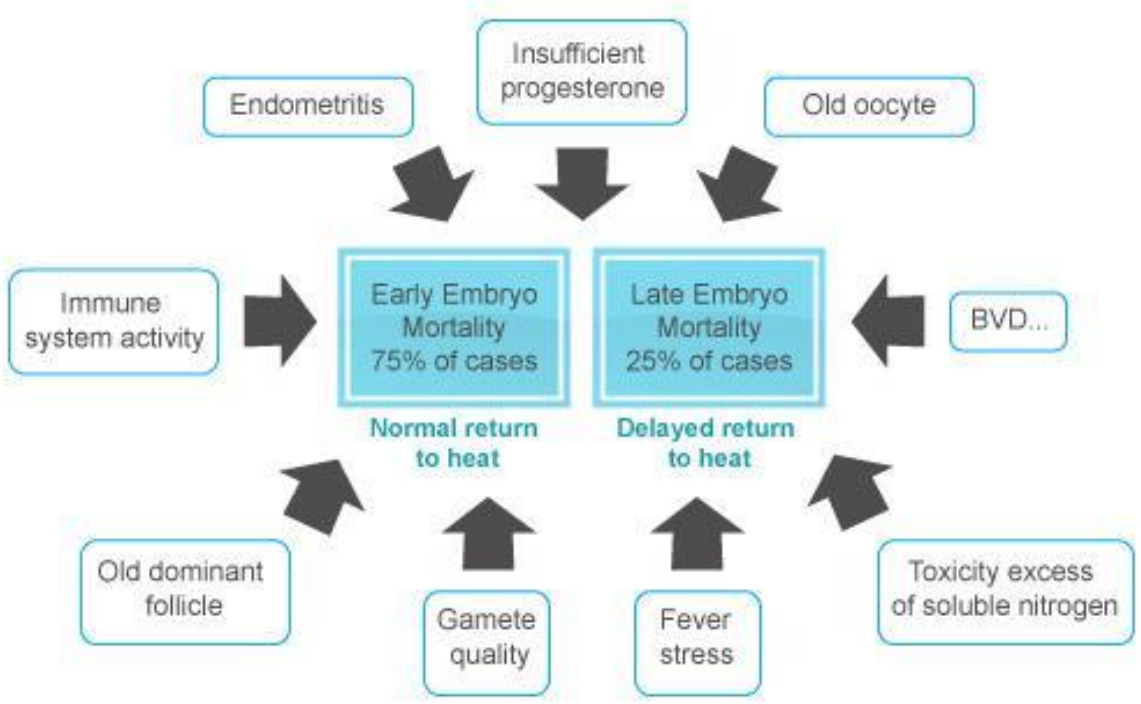

Figura 4. Causas multifactoriales que producen mortalidad embrionaria en vacas lecheras (Rani *et al*., 2018).

5 JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

5.1. JUSTIFICACION.

Los numerosos factores que afectan la eficiencia reproductiva atentan contra la producción, productividad y sostenibilidad económica del sistema agropecuario, siendo importante evaluar a que nivel la mortalidad embrionaria tardía está afectando a la ganadería lechera altoandina. En la actualidad no se cuenta con estudios de mortalidad embrionaria tardía en la zona geográfica de ejecución del estudio.

5.2. HIPOTESIS.

Que la mortalidad embrionaria tardía afecta la eficiencia reproductiva en vacas lecheras criadas en un sistema semi-intensivo en altura.

5.3. OBJETIVOS DEL ESTUDIO.

5.3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el porcentaje de mortalidad embrionaria tardía en los animales diagnosticados como gestantes a partir de los 28 días post inseminación y que resulten negativos a los días 35 y 42 días de gestación en vacas lecheras de altura.

5.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

Mortalidad embrionaria tardía y su asociación con la raza.

Mortalidad embrionaria tardía y su asociación con el número de partos.

Mortalidad embrionaria tardía y su asociación con la producción de leche.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El trabajo se realizó en el Valle altoandino de El Mantaro en la sierra Central del Perú, que se encuentra a una altitud aproximada de 3300 msnm, en establos de las provincias de Concepción y Jauja. Los establos fueron escogidos por sus características similares de manejo en cuanto a su crianza y principalmente por el sistema de reproducción empleado que es la inseminación artificial. El análisis de los datos fue realizado en la Estación Experimental IVITA- El Mantaro y la Clínica de Animales Mayores de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

6.2. ANIMALES

Los animales fueron seleccionados en base a su historial reproductivo y los criterios de inclusión para el estudio es que hayan parido en forma natural, que a la inseminación artificial el flujo no presente alteraciones en color y aspecto, que hayan sido preñadas con semen importado, los vacunos que no cumplían con estos criterios fueron excluidos. A los animales seleccionados se les hizo el seguimiento reproductivo y se obtuvo la información sobre su producción lechera, al día 60 y 90 post parto. Se ha utilizado para este estudio un total de 203 vacas, de las razas Brown Swiss (103), Holstein (54) y cruzadas (46) bajo un sistema de crianza semi-intensiva con una alimentación a base de pastos cultivados Rye Grass inglés (*Lolium perenne*), Rye Grass italiano (*Lolium multiflorum*), Trébol rojo (*Trifolium pratense*), Trébol blanco (*Trifolium repens*), Dactilys (*Dactilys glomerata*) y Alfalfa (*Medicago sativa*) , forraje (avena, cebada) y ensilado (chala maíz), en las cuales se utiliza la inseminación artificial como método de manejo reproductivo y con instalaciones adecuadas de una crianza de la sierra peruana (Valle del Mantaro). Los animales fueron agrupados de acuerdo con el número de partos (0, 1, 2, 3, 4, ≥5). Anexo1

6.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente estudio es prospectivo, los datos fueron colectados en un periodo de 3 años (2017-2019). Las vacas y los establos fueron seleccionados discrecionalmente, bajo las condiciones mencionadas anteriormente.

La detección de celo para el estudio se realizó de manera visual teniendo en consideración los siguientes indicadores de comportamiento y fisiológicos:

- Monta a otras vacas.
- Descargas mucosas claras.
- Descanso de la barbilla y caricias con esta parte del cuerpo.
- Vulva hinchada y roja; frecuencia al orinar.
- Flancos fangosos y cola fruncida, lacerada o raspada en su base.
- Mugidos frecuentes, gestos ansiosos, comportamiento de olfateo.
- Baja en producción de leche y falta de apetito.

La inseminación artificial se realizó (A partir de los 60 días postparto, aproximadamente) con los animales sujetados en bretes. Las pajillas que contenían semen fueron retiradas del tanque criogénico para descongelarlas en agua temperada a 38 ºC por 40 segundos. La pajilla sin humedad externa es insertada en el inyector de inseminación y recibe un corte en la punta, luego el inyector es colocado en el cuerpo del útero donde depositamos el semen, siendo registrado el procedimiento. Las pajillas de semen utilizadas corresponden a diferentes toros de procedencia importada.

Brevemente:

- Inmovilización de la vaca.
- Limpieza del área de la vulva.
- Descongelar la pajuela.
- Preparación de la pistola de inseminación.
- Introducción y aplicación del semen en el útero.
- Desecho de materiales.
- Registro de la vaca y el toro usados.

A los días 28, 35 y 42 posteriores a la inseminación artificial se realizó el diagnóstico de preñez mediante ecografía, para ello los animales fueron inmovilizados y se retiró todo el contenido del recto para mejorar la

manipulación del transductor. Para el procedimiento se utilizó un ecógrafo portátil con transductor lineal a una frecuencia de 7.5 MHz (Monitor de 5.0 pulg, 4B, 256 niveles de gris, profundidad de exploración de 70-140mm, ≥400 fotogramas, mediciones en grandes animales, batería para 3 horas, marca HANDSCAN, China), el cual fue introducido a lo largo del "suelo" rectal cranealmente alrededor del aparato reproductor detectando la presencia o no del embrión. El criterio de sobrevivencia embrionaria es la visualización un área oval y anecoica que contiene una estructura ecogénica que representa el embrión y conforme va avanzando los días de gestación, el embrión es fácilmente visible como una estructura hiperecoica rodeada por líneas ecogénicas de las membranas placentarias dentro del área anecoica del líquido embrionario.

La agrupación según el Nº de partos nos permitió evaluar si esta guarda relación con la presentación de ME. Así mismo, la producción láctea fue determinada a los 60 y 90 días desde el inicio de la lactación para poder predecir si ésta guarda relación con la presentación de ME.

6.4. ANÁLISIS DE DATOS

La mortalidad embrionaria tardía (variable dependiente) fue evaluada con respecto a la raza (variable independiente), número de partos (variable independiente) y la producción de leche a los 60 (variable independiente) y 90 días (variable independiente) de la siguiente forma:

Los datos de ME agrupados por número de partos en cada raza son presentados como frecuencias. La asociación entre el número de partos, la raza y la producción láctea con respecto a la presentación de la mortalidad embrionaria tardía fueron evaluados mediante la prueba de regresión logística binaria con un nivel de significancia de $p<0.05$; esta prueba se usa, cuando se desea conocer la relación entre una variable dependiente cualitativa dicotómica (mortalidad embrionaria tardía) y una o más variables independientes o explicativas (raza, categoría de parto y producción leche categorizada en tres niveles), con el objetivo de obtener una estimación (Pérez et al., 2010).

6.5. MATERIALES Y EQUIPOS

6.5.1. MATERIALES

Pistola de inseminación.

Semen.

Agua temperada a 38°C.

Reloj.

Guantes.

Tijera.

Termómetro.

Pinzas.

6.5.2. EQUIPOS

Tanque de nitrógeno líquido.

Ecógrafo con transductor lineal.

7. RESULTADOS

Los 203 animales fueron agrupados, para el estudio, de acuerdo con el número de partos (0, 1, 2, 3, 4 y ≥5 partos). En la raza Brown Swiss se detectó que de 31 animales sin partos previos hubo 1 ME, en 25 animales de 1 parto hubo 1 ME, en 19 animales de 2 partos hubo 1 ME, en 10 animales de 4 partos hubo 3 ME y en 8 animales de 5 a más partos 1 ME (Figura 5). En la raza Holstein encontramos 1 ME en 10 animales de 2 partos, 1 ME en 5 animales de 3 partos y 1 ME en 10 animales de 5 a más partos (Figura 6). En cruzados se determinó 1 ME en 9 animales de 2 partos, 2 ME en 4 animales de 3 partos y 2 ME en 8 animales de 5 a más partos (Figura 7). Del total de animales (203) se detectó ecográficamente un total de 15 MET, lo que representa un 7 %. Además, podría existir una asociación entre el número de partos y la presentación de MET en ganado lechero altoandino (Figura 8).

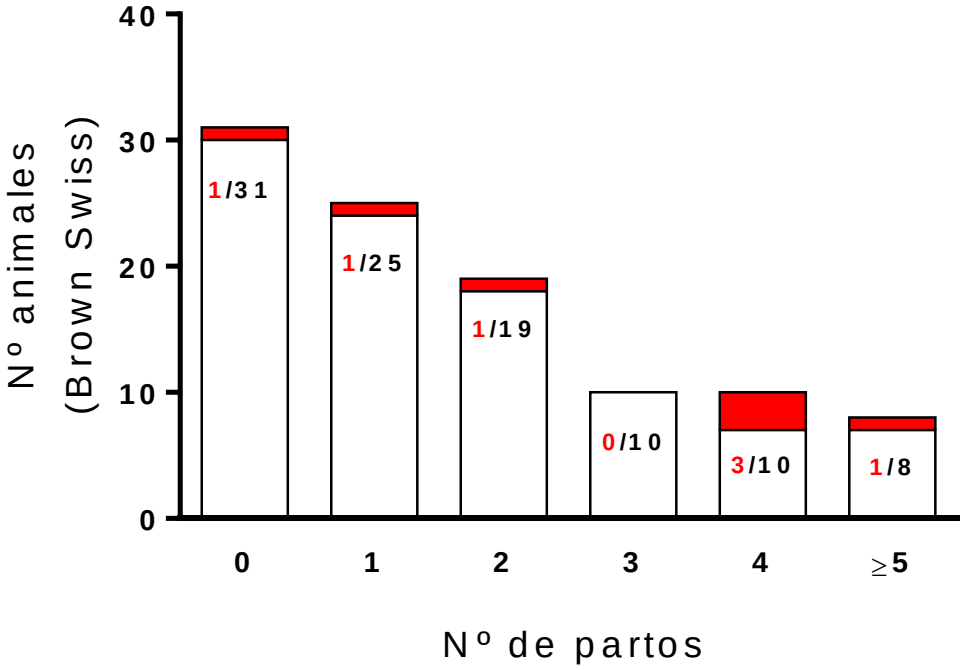

Figura 5. Presentación de ME en vacas Brown Swiss (barras y números en rojo) en vacas agrupadas según su Nº de partos.

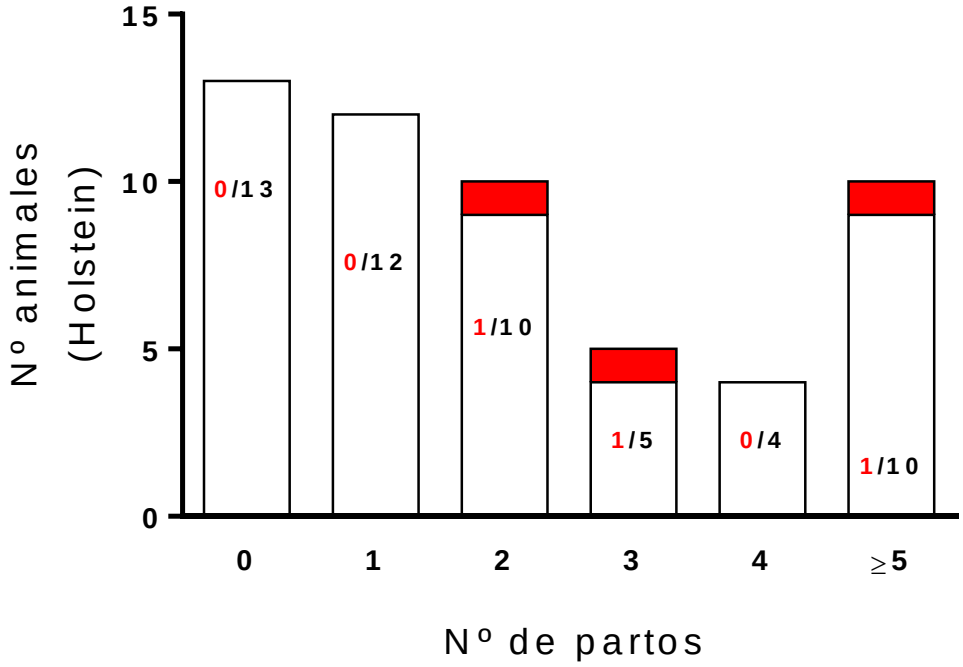

Figura 6. Presentación de ME en vacas Holstein (barras y números en rojo) en vacas agrupadas según su Nº de partos.

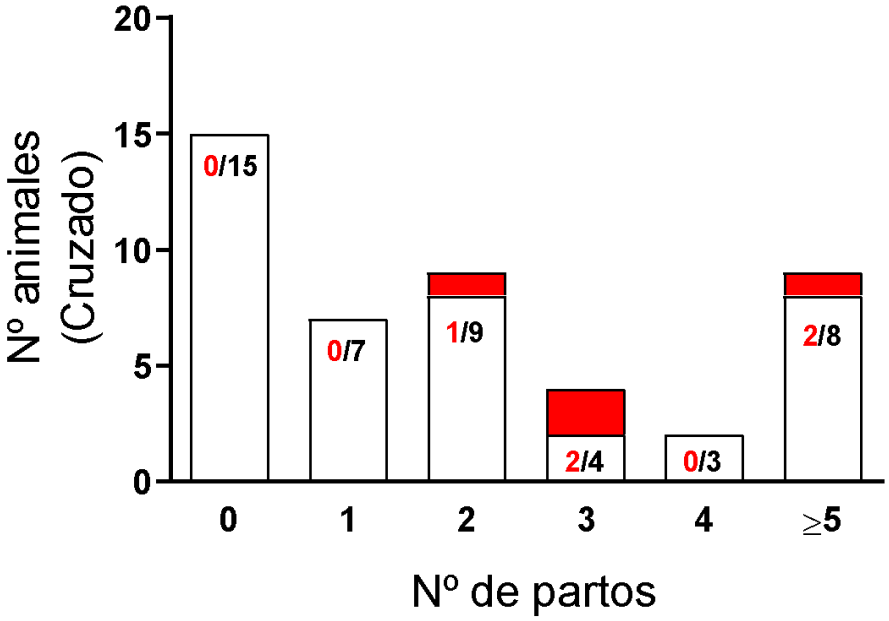

Figura 7. Presentación de ME en vacas cruzadas (barras y números en rojo) en vacas agrupadas según su Nº de partos.

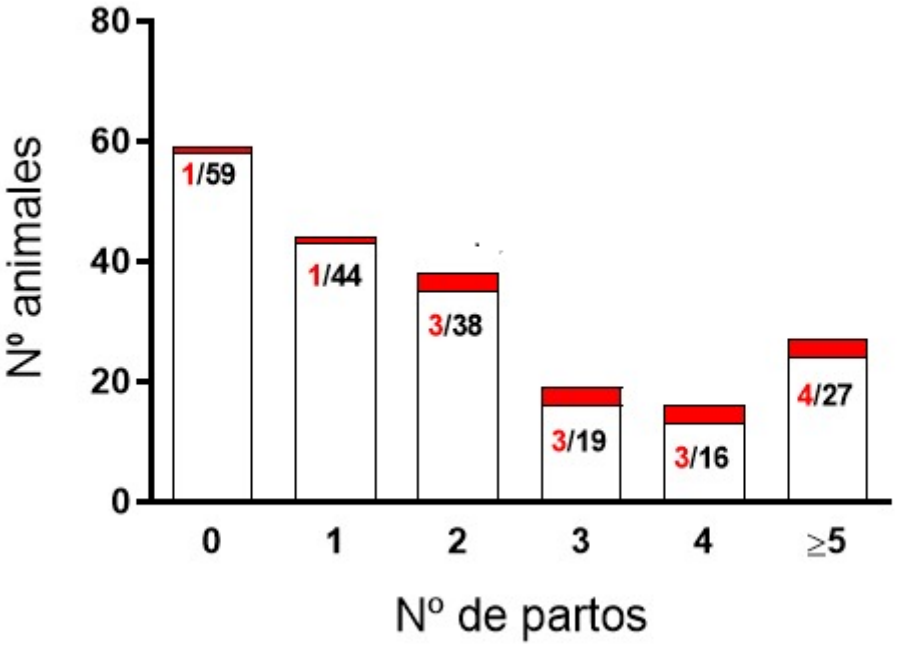

Figura 8. Presentación de ME en el total de animales (barras y números en rojo) en vacas agrupadas según su Nº de partos.

En este estudio hemos evaluado la asociación entre las razas estudiadas y la presentación de la mortalidad embrionaria tardía, en este caso dicha asociación no fue significativa ($p<0.05$). Sin embargo, cuando buscamos la asociación entre la presentación de mortalidad embrionaria tardía y el número de partos, hemos observado que los animales con mayor parto tienen más posibilidades de presentar mortalidad embrionaria de 3 veces más si tuvieron un parto y de 14 veces más si tuvieron más de 1 parto.

Tabla 2. Raza y número de partos como factores asociados a la presentación de Mortalidad embrionaria tardía en vacas

Variable	Odds Ratio (OR)	Intervalo de confianza del OR		Significancia
		Inferior	Superior	
Raza (Brown Swiss)	1			0.525
Holstein	0.472	0.099	2.246	0.346
Cruzada	1.118	0.293	4.269	0.870
Número de partos (sin parto)	**1**			**0.026**
Un parto	**3.127**	**0.142**	**69.013**	**0.470**
Más de un parto	**14.039**	**1.583**	**124.487**	**0.018**

El diagnóstico ecográfico para detectar MET se realizó a los 28, 35 y 42 días post-inseminación artificial y se registró la producción de leche a los 60 días y 90 días de lactación. Los niveles de producción de leche clasificados en producción baja, media y alta a los 60 y 90 días no evidencian una asociación con respecto a la presentación de mortalidad embrionaria tardía

Tabla 3. Factores asociados a la presentación de mortalidad embrionaria tardía en vacas

Variable	Odds Ratio (OR)	Intervalo de confianza del OR		Significancia
		Inferior	Superior	
Producción láctea - 60 días (Producción baja)	1			0.767
Producción media	0.505	0.049	5.178	
Producción alta	1.06	0.23	4.89	
Producción láctea - 90 días (Producción baja)	1			0.767
Producción media	0.777	0.09	6.719	
Producción alta	0.241	0.024	2.42	

8. DISCUSIÓN

La crianza altoandina de ganado lechero está muy extendida a pesar de haber tenido dificultades debido a los efectos negativos de la altura sobre esta producción. Es así que la susceptibilidad a enfermarse por efecto de la altitud es variable y depende de la raza, genética, alimentación y otros factores; siendo el bovino Holstein más susceptible que el Brown Swiss; los terneros después del destete son más susceptibles debido al estrés que produce este cambio nutricional; las vaquillonas gestantes y las vacas gestantes en el último tercio de gestación y en los primeros meses de producción pueden verse afectadas por el estrés de su nueva condición productiva. Cambios en el manejo productivo y nutricional o enfermedades ocasionarán estrés que puede derivar a alteraciones relacionadas a la hipoxia de altura (Cueva *et al*., 1979; Cueva *et al*., 1989; Lira *et al*., 2007). Sin embargo, en la actualidad se ha podido reducir significativamente la morbilidad y mortalidad por la altitud, haciendo de la ganadería lechera altoandina una actividad sostenible y rentable.

La crianza de ganado lechero en altura, así como en nivel de mar tienen los mismos problemas en el área reproductiva como la ME, aunque las presentaciones e incidencias podrían ser distintas. En el presente estudio se ha determinado la presentación de la ME y su relación con el número de partos y la producción de leche en bovinos Brown Swiss, Holstein y cruzados. Nuestros datos indican en la raza Brown Swiss que la presentación de ME es de 7 % (7/103), en Holstein 6 % (3/54) y en cruzados 9 % (5/46) con una media del total de los animales de 7% (15/203). La ME es un factor importante que contribuye a la baja eficiencia reproductiva y la rentabilidad en los sistemas de producción de ganado. Si bien la concepción se logra en la gran mayoría de los casos (más del 85%), si la inseminación se realiza correctamente; una proporción significativa de los embriones resultantes no llega a término (ME en menos del 20 %, siendo 70% de estos no infecciosos) (Diskin y Morris, 2008; Wiltbank *et al*., 2016; Vanroose *et al*., 2000).

Comprender las causas de la baja fertilidad en el ganado lechero es complejo y puede deberse a un desarrollo folicular comprometido que afecta la calidad de los ovocitos, una situación subóptima del tracto reproductivo que es incapaz de apoyar el desarrollo normal del embrión (Walsh *et al*., 2011). Gran parte de esta pérdida embrionaria ocurre antes del reconocimiento maternal, en el período comprendido entre la fertilización y el día 16 después de la inseminación (Diskin y Morris, 2008; Diskin *et al*., 2016).

En el presente estudio también hemos podido demostrar que existe una asociación entre el número de partos y la posibilidad de presentar MET, evidenciando que a mayor número de partos mayor posibilidad de presentar MET ($p \leq 0.05$) en el ganado lechero altoandino, lo que podría estar relacionado a la edad de los animales. Según mencionan Vanroose *et al*. (2000) los animales más viejos tienen menor actividad folicular y menor calidad de ovocitos, lo que resulta en una disminución de la capacidad de desarrollo de los embriones. Además, la calidad del endometrio se deteriora con la edad.

El diagnóstico ecográfico para detectar MET, se realizó a los 28, 35 y 42 días post-inseminación artificial y se registró la producción de leche a los 60 días y 90

días de lactación. Los niveles de producción de leche clasificados en producción baja, media y alta a los 60 y 90 días no evidencian una asociación con respecto a la presentación de mortalidad embrionaria tardía, al igual que el estudio realizado en el estado de Zulia, Venezuela; en 355 vacas en el cual no se evidencio la mortalidad embrionaria con respecto a la producción de leche a los 100 días (Portillo *et al*., 1995). Al parecer en animales cruzados criados en altura no habría una asociación entre la producción láctea y la presentación de ME, puesto que las producciones de leche no mostraron diferencias significativas en este grupo. Sin embargo, ya hace varias décadas se ha observado que la fertilidad de las vacas lecheras de alta producción ha disminuido, lo que ha sido asociado con la alta producción de leche (Lonergan *et al*., 2016).

Los cambios fisiológicos y metabólicos asociados con una alta producción de leche como la disminución (glucosa, insulina, IGF-I) o el aumento (ácidos grasos no esterificados y cuerpos cetónicos) de metabolitos circulantes durante la distribución de nutrientes asociados con el balance energético negativo, así como las enfermedades reproductivas y no reproductivas se han relacionado con una pobre eficiencia reproductiva. También se ha propuesto que la alta producción lechera podría afectar la calidad de los ovocitos debido a un microambiente folicular deficiente, un entorno del tracto reproductivo subóptimo para el embrión y por una comunicación embrionaria inadecuada (Lonergan *et al*., 2016).

Algunos estudios que relacionan calidad del ovocito y producción de leche mencionan efectos discrepantes. Por ejemplo, Snijders *et al.* (2000) observaron *in vitro* que una menor proporción de ovocitos de vacas lecheras con alto valor genético se desarrollaron hasta la etapa de blastocisto en comparación con los de vacas de valor genético medio. Rizos *et al*. (2005) no determinaron diferencias en la proporción de ovocitos de buena calidad sometidos a fertilización y desarrollo a la etapa de blastocisto entre vacas lactantes y novillas después de fecundación *in vitro*. Varios estudios (Gwazdauskas *et al*., 2000; Kendrick *et al*., 1999; Walters *et al*., 2002) demostraron que las condiciones relacionadas con la lactancia temprana tienen un efecto negativo sobre la calidad de los ovocitos y las medidas endocrinas en el ganado lechero; sin embargo, en estos artículos, la calidad de los ovocitos se evaluó basándose únicamente en la morfología, por lo que estos datos tienen un

valor limitado. También se plantea que las vacas lecheras de alta producción, debido a su mayor consumo de alimento y por tanto una mayor metabolización hepática de hormonas como la progesterona (P4) y estradiol (E2), podría tener un descenso de la fertilidad (Sangsritavong et al., 2002).

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9.1 Conclusiones:

- Nuestros datos indican que la MET en animales criados en altura es baja respecto a otros datos reportados.

- Existe una asociación entre la presentación de MET y la cantidad de partos de la vaca, lo que indicaría que la edad y el desgaste del sistema reproductor podría interferir en la permanencia del embrión, siendo un factor para tomar en cuenta en la presentación de MET.

- Las variables raza, y producción de leche a los 60 y 90 días en lactancia no muestran una asociación en la presentación de MET, en el presente estudio.

9.2 Recomendaciones

La presentación de MET es un factor limitante en la producción láctea que debe ser disminuida al máximo. Es necesario desarrollar más estudios que puedan determinar otros factores que influyen en la presentación de MET, como la nutrición, la estacionalidad, el tipo de semen, el manejo reproductivo e inclusive la sanidad.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ***Adesogan AT, Dahl GE. 2020.*** MILK Symposium Introduction: Dairy production in developing countries. J Dairy Sci. 103(11):9677-9680. doi: 10.3168/jds.2020-18313. PMID: 33076180.
2. ***Al-Katanani YM, Drost M, Monson RL, Rutledge JJ, Krininger 3rd CE, Block J.2002.*** Pregnancy rates following timed embryo transfer with fresh or vitrified in vitro produced embryos in lactating dairy cows under heat stress conditions. Theriogenology. 58:171–82.
3. ***Andrew AH, Blowey RW, Byod H, Eddy RG. 2006.*** A Text of Books of Bovine Medicine, Disease and Husbandry of cattle. 2nd ed. London: Bailliere, Tinadall, pp: 521-524.
4. ***Barnwell CV, Farin PW, Ashwell CM, Farmer WT, Galphin SP, Farin CE. 2016.*** Differences in mRNA populations of short and long bovine conceptuses on Day 15 of gestation. Molecular Reproduction and Development. 83, 424–441. https://doi.org/10.1002/mrd.22640
5. ***Bastin C, Berry DP, Soyeurt H, Gengler N. 2012.*** Genetic correlations of days open with production traits and contents in milk of major fatty acids predicted by mid-infrared spectrometry. J Dairy Sci. 95(10):6113-21. doi: 10.3168/jds.2012-5361.
6. ***Bauersachs S, Ulbrich SE, Gross K, Schmidt SE, Meyer HH, Wenigerkind H, Wolf E. 2006.*** Embryo-induced transcriptome changes in bovine endometrium reveal species-specific and common molecular markers of uterine receptivity. Reproduction. 132, 319–331.doi.org/10.1530/rep.1.00996
7. ***Bauersachs S, Ulbrich SE, Reichenbach HD, Reichenbach M, Buttner M, Meyer HH, Wolf E. 2012.*** Comparison of the effects of early pregnancy with human interferon, alpha 2 (IFNA2), on gene expression in bovine endometrium. Biology of Reproduction. 86:46.
8. ***Bazer FW, Wang X, Johnson GA, Wu G. 2015.*** Select nutrients and their effects on conceptus development in mammals. Animal Nutrition. 1, 85-95. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.07.005

9. ***Bender K, Walsh S, Evans AC, Fair T, Brennan L. 2010.*** Metabolite concentrations in follicular fluid may explain differences in fertility between heifers and lactating cows. Reproduction. 139: 1047–55.
10. ***Berg DK, van Leeuwen J, Beaumont S, Berg M, Pfeffer PL. 2010.*** Embryo loss in cattle between days 7 and 16 of pregnancy. Theriogenology. 73, 250–260. https://doi.org/10.1016/j. theriogenology.2009.09.005
11. ***Betteridge, K. J., Eaglesome, M. D., Randall, G. C., & Mitchell, D. 1980.*** Collection, description and transfer of embryos from cattle 10–16 days after oestrus. Journal of Reproduction and Fertility, 59, 205–216. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0590205
12. ***BonDurand R. 2007***. Selected diseases and conditions associated with bovine conceptus loss in the firts trimester.Theriogenology 68:461-473.
13. ***Bott R., Shley R, Henkes LE, Antoniazzi AQ, Bruemmer JE, Niswender GD, Hansen TR. 2010.*** Uterine vein infusion of interferón tau (IFNT) extends luteal life span in ewes. Biology of Reproduction. 82: 725-735. https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.079467
14. ***Britt JH. 1994.*** Follicular development and fertility: Potential impacts of negative energy balance. In:Proceedings of the National Reproduction Symposium, Pittsburgh. Ed. Ellen Rae Jordan. pp: 103-112.
15. ***Brooks K, Burns G, Spencer TE. 2014.*** Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol. J. Anim. Sci. Biotechnol. 5(1): 53.
16. ***Brooks K, Burns G, Spencer TE. 2014.*** Conceptus elongation in ruminants: Roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol. Journal of Animal Science and Biotechnology. 5: 53. https:// doi.org/10.1186/2049-1891-5-53
17. ***Brownson R, Zollinger B. 2003.*** Nitrates in cattle feed and water (CL355) In Cow-Calf Management Guide and Cattle Producer‟s Library, 2nd edition. University of Idaho, Moscow.
18. ***Burke JM, Hampton JH, Staples CR, Thather WW. 1997.*** Body condition influences maintenance of a persistent first wave dominant follicle in dairy cattle. J. Anim. Sci. 73: 230.
19. ***Butler ST. 2013.*** Genetic control of reproduction in dairy cows. Reproduction Fertility and Development. 26, 1–11. https://doi. org/10.1071/RD13304

20. ***Cerri RL, Rutigliano HM, Lima FS, Araujo DB, Santos JE. 2009.*** Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cows. Theriogenology. 71: 1127–37.
21. ***Chaffaux S, Reddy GNS, Valon F, Thibier M. 1986.*** Trans-rectal real-time ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and for monitoring embryonic mortality in dairy cattle. Anim. Reprod. Sci.10(3): 193-200.
22. ***Chapwanya AK, Meade G, Doherty ML, Callanan JJ, Mee JF, O"Farrelly C. 2009***. Histopathological and molecular evaluation of Holstein-Friesian cows postpartum: Toward an improved understanding of uterine innate immunity. Theriogenology. 71: 1396-1407.
23. ***Clemente M, de La Fuente J, Fair T, Al Naib A, Gutierrez-Adan A, Roche J, Lonergan P. 2009.*** Progesterone and conceptus elongation in cattle: A direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? Reproduction. 138: 507–517. https://doi. org/10.1530/REP-09-0152
24. ***Cueva S, Ayón M, Chauca O. 1989.*** Producción láctea e incidencia de mal de altura en crías de vacas Holstein a 3320 m de altitud. Resum 12a Reunión Cient Anu Asoc Peruana Prod Anim. 4: 16.
25. ***Cueva S, Chauca D, Candela E. 1979.*** Tipos de hemoglobina e hipertensión arterial pulmonar en vacunos Brown Swiss importados y expuestos a la altura. Resúmenes de Investigación realizados por la UNMSM. (II): 15.
26. ***De Winter PJ, Verdonck M, De Kruif A, Devriese LA, Haesebrouck F. 1995.*** Bacterial endometritis and vaginal discharge in the sow: prevalence of different bacterial species and experimental reproduction of the syndrome. Anim. Reprod. Sci. 37: 325-335.
27. ***Dematawewa CM, Berger PJ. 1998.*** Genetic and phenotypic parameters for 305-day yield, fertility, and survival in Holsteins. J Dairy Sci. 81(10):2700-9. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75827-8.
28. ***Demetrio DG, Santos RM, Demetrio CG, Vasconcelos JL. 2016.*** Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. J Dairy Sci. 90:5073–82.
29. ***Dirección Nacional de Investigación y Promoción de la Libre Competencia en el marco de la Guía de Estudios de Mercado del Indecopi.*** Octubre 2021. Disponible en

https://www.indecopi.gob.pe/documents/51771/6194832/informe+lanzamiento/leche.

30. ***Diskin MG, Morris DG. 2008.*** Embryonic and early foetal losses in cattle and other rumiants. Reprod Domest Anim. 43: Suppl 2: 260-267.
31. ***Diskin MG, Waters SM, Parr M H, Kenny DA. 2016.*** Pregnancy losses in cattle: Potential for improvement. Reproduction Fertility and Development, 28: 83–93.
32. ***Diskin MG, Murphy JJ, Sreenan JM. 2006.*** Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. Anim. Reprod. Sci. 96: 297-311.
33. ***Dunne LD, Diskin MG, Sreenan JM. 2000.*** Embryo and foetal loss in beef heifers beetwen day 14 of gestation and full term. Anim Repro Sci. 58: 39-44.
34. ***Elli M, Gaffuri B, Frigerio A, Zanardelli M, Covini D, Candiani M, Vignali M. 2001.*** Effect of a single dose of ibuprofen lysinate before embryo transfer on pregnancy rates in cows. Reproduction. 121: 151-154.
35. ***Elrod CC, Butler WR. 1993.*** Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. J. Anim. Sci. 71: 694-701.
36. ***Fléchon JE, Fléchon B, Degrouard J, Guillomot M. 2007.*** Cellular features of the extra-embryonic endoderm during elongation in the ovine conceptus. Genesis. 45: 709–715. https://doi.org/10.1002/dvg.20347
37. ***Ford SP, Christenson LK, Rosazza JP, Short RE. 1992.*** Effects of ponderosa pine needle ingestion on uterine vascular function in late-gestation beef cows. J. Anim. Sci. 70: 1609-1614.
38. ***Forde N, Beltman ME, Duffy GB, Duffy P, Mehta JP, O'Gaora P. 2011.*** Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. Biol Reprod. 84:266–78.
39. ***Forde N, Mehta JP, Minten M, Crowe MA, Roche JF, Spencer TE. 2012.*** Effects of low progesterone on the endometrial transcriptome in cattle. Biol Reprod. 87:124.
40. ***Forde N, O'Gorman A, Whelan H, Duffy P, O'Hara L, Kelly AK. 2015.*** Lactation-induced changes in metabolic status and follicular-fluid metabolomic profile in postpartum dairy cows. Reprod Fertil Dev. http://dx.doi.org/10.1071/RD14348. PMID: 26072962.

41. ***Forde N, Lonergan P. 2017.*** Interferon-tau and fertility in ruminants. Reproduction. 154(5): F33–F43. https://doi: 10.1530/REP-17-0432
42. ***Fricke PM. 2002.*** Scanning the future: Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. J. Dairy Sci. 85(8): 1918-1926.
43. ***Fricke PM, Lamb GC. 2002.*** Practical applications of ultrasound for reproductive management of beef and dairy cattle. Proceedings: The Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle Workshop, September 5-6, Manhattan, Kansas.
44. ***Friggens NC, Disenhaus C, Petit HV. 2010.*** Nutritional subfertility in the dairy cow: towards improved reproductive management through a better biological understanding. Animal. 4: 1197-1213.
45. ***Garnsworthy PC, Sinclair KD, Webb R. 2008.*** Integration of physiological mechanisms that influence fertility in dairy cows. Animal. 2(8): 1144-1152.
46. ***Geary TW, Burns GW, Moraes JG, Moss JI, Denicol AC, Dobbs KB, Spencer TE. 2016.*** Identification of beef heifers with superior uterine capacity for pregnancy. Biology of Reproduction. 95: 47. doi.org/10.1095/biolreprod.116.141390
47. ***Girard A, Dufort I, Sirard MA. 2015.*** The effect of energy balance on the transcriptome of bovine granulosa cells at 60 days postpartum. Theriogenology. 84:1350–1361.e6.
48. ***Gray CA, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW, Spencer TE. 2002.*** Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. Reproduction. 124: 289–300. https://doi.org/10.1530/ rep.0.1240289
49. ***Griffin JFT, Hartigan PJ, Nunn WR. 1974.*** Non-specific uterine infection and bovine infertility, infection pattern and endometritis during first seven weeks post-partum. Theriogenology. 1: 91.
50. ***Gwazdauskas FC, Kendrick KW, Pryor AW, Bailey TL. 2000.*** Impact of follicular aspiration on folliculogenesis as influenced by dietary energy and stage of lactation. J Dairy Sci. 83:1625–34.
51. ***Hadiya KK, Dhami AJ, Nakrani BB, Patel JA, Sarvaiya NP. 2015.*** Predictive efficiency of USG and plasma progesterone assay for detection of early pregnancy and embryonic mortality in cattle. G.J.B.B. 4(1): 277-281.

52. ***Hammon DS, Holyoak GR, Jenson J, Bingham HR. 2001.*** Effects of endometritis at the beginning of the breeding period on reproductive performance in dairy cows (abstract). Proc. 34th Annu. Conf. Am. Assoc. Bov. Pract., Vancouver: 142-143.
53. ***Hansen PJ. 2009.*** Effects of heat stress on mammalian reproduction. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 364:3341–50.
54. ***Hansen PJ. 2014.*** Genetic variation in resistance of the preimplantation bovine embryo to heat shock. Reproduction Fertility and Development. 27, 22–30. https://doi.org/10.1071/RD14311
55. ***Hansen TR, Sinedino LDP, Spencer TE. 2017.*** Paracrine and endocrine actions of interferon tau (IFNT). Reproduction, 154, F45–F59. https://doi.org/10.1530/REP-17-0315
56. ***Hernández V.*** 2016. Determinación de mortalidad embrionaria por ultrasonografía en vacas Hosltein Fresian de la tercera a sétima semana en un establo de Cartavio Perú. Trujillo. Tesis Médico Veterinario y Zootecnista. 38p
57. ***Hue I. 2016.*** Determinant molecular markers for peri-gastrulating bovine embryo development. Reproduction Fertility and Development. 28: 51–65. https://doi.org/10.1071/RD15355
58. ***Inskeep EK, Dailey RA. 2005.*** Embryonic death in cattle. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 21:437–61.
59. ***Jamrozik J, Fatehi J, Kistemaker GJ, Schaeffer LR. 2005.*** Estimates of genetic parameters for Canadian Holstein female reproduction traits. J Dairy Sci. 88(6):2199-208. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72895-2.
60. ***Jordaens L, Arias-Alvarez M, Pintelon I, Thys S, Valckx S, Dezhkam Y. 2015.*** Elevated non-esterified fatty acid concentrations hamper bovine oviductal epithelial cell physiology in three different in vitro culture systems. Theriogenology. 84:899–910.
61. ***Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. 2005.*** A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. Can Vet J. 46: 255-259.
62. ***Kastelic JP, Curran S, Pierson RA, Ginther OJ. 1988.*** Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. Theriogenology. 29(1): 39-54.

63. ***Kaufmann TB, Drillich M, Tenhagen BA, Forderung D, Heuwieser W. 2009.*** Prevalence of bovine subclinical endometritis 4h after insemination and its effects on first service conception rate. Theriogenology. 71: 385-391.
64. ***Kendrick KW, Bailey TL, Garst AS, Pryor AW, Ahmadzadeh A, Akers RM, Eyestone WE, Pearson RE, Gwazdauskas FC. 1999.*** Effects of energy balance of hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows using transvaginal follicular aspiration. J Dairy Sci. 82:1731-41.
65. ***Leroy JL, Valckx SD, Jordaens L, De Bie J, Desmet KL, Van Hoeck V. 2015.*** Nutrition and maternal metabolic health in relation to oocyte and embryo quality: critical views on what we learned from the dairy cow model. Reprod Fertil Dev. http://dx.doi.org/10.1071/ RD14363. PMID: 25690396.
66. ***Leroy JL, Opsomer G, Van Soom A, Goovaerts IGF, Bols PE. 2008.*** Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. Reprod. Domest. Anim. 43: 612-622.
67. ***Lira B, Ayón M, Cueva S, Vásquez M, Arana C, Ocampo N. 2007.*** Efecto del ketoprofeno sobre la presión arterial pulmonar en terneros jersey sometidos a hipoxia de la altura. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *18*(2): 94-98.
68. ***Lonergan P, Fair T, Forde N, Rizos D. 2016.*** Embryo development in dairy cattle. *Theriogenology*. *86*(1): 270-277.
69. ***Lonergan P, Forde N. 2015.*** The role of progesterone in maternal recognition of pregnancy in domestic ruminants. Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology. 216: 87–104. https://doi. org/10.1007/978-3-319-15856-3_6
70. ***Lucy MC. 2001.*** Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? J Dairy Sci. 84(6):1277-93. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0.
71. ***Maillo V, Rizos D, Besenfelder U, Havlicek V, Kelly AK, Garrett M. 2002.*** Influence of lactation on metabolic characteristics and embryo development in postpartum Holstein dairy cows. J Dairy Sci. 95:3865–76.

72. ***Mathew DJ, Sánchez JM, Passaro C, Charpigny G, Behura S, Spencer TE, Lonergan P. 2017.*** Interferon tau (IFNT)-dependent and -independent effects of the bovine conceptus on the endometrium during early pregnancy. Proceedings of the 50th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, Washington DC 13–16 July 2017, Abstract P87.
73. ***Matoba S, Bender K, Fahey AG, Mamo S, Brennan L, Lonergan P. 2014.*** Predictive value of bovine follicular components as markers of oocyte developmental potential. Reprod Fertil Dev. 26:337–45.
74. ***Matoba S, O'Hara L, Carter F, Kelly AK, Fair T, Rizos D. 2012.*** The association between metabolic parameters and oocyte quality early and late postpartum in Holstein dairy cows. J Dairy Sci. 95: 1257–66.
75. ***McNeill RE, Sreenan JM, Diskin MG, Cairns MT, Fitzpatrick R, Smith TJ, Morris DM. 2006.*** Effect of progesterone concentration on the expression of progesterone-responsive genes in the bovine endometrium during the early luteal phase. Reprod. Fertil. Dev. 18: 573-583.
76. ***Meadows CE. 1968.*** Importance of traits other than milk production in a breeding program. J Dairy Sci. 51(2):314-6. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(68)86980-2.
77. ***Meira EBS, Henriques LRMS, Gregory L. 2012.*** Comparison of ultrasonography and histopathology for the diagnosis of endometritis in Holstein Friesian cows. J. Dairy Sci. 95: 6969-6973.
78. ***Miglior F, Muir BL, Van Doormaal BJ. 2005.*** Selection indices in Holstein cattle of various countries. J Dairy Sci. 88(3):1255-63. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72792-2.
79. ***Moore SG, O'Gorman A, Brennan L, Fair T, Butler ST. 2015.*** Follicular fluid and serum metabolites in Holstein cows are predictive of genetic merit for fertility. Reprod Fertil Dev. http://dx.doi.org/10.1071/ RD15182. PMID: 26511586
80. ***Moraes JGN, Behura SK, Geary TW, Hansen PJ, Neibergs HL, Spencer TE. 2018.*** Uterine influences on conceptus development in fertility-classified animals. Proceedings of the National Academy of Science of the USA. 115: E1749–E1758. https://doi. org/10.1073/pnas.1721191115
81. ***Morris DG, Diskin MG, Sreenan JM. 2000.*** Protein synthesis and phosphorylation by elongating 13-15- day-old cattle blastocysts.

Reproduction Fertility and Development. 12: 39-44. https://doi.org/10.1071/RD00008

82. ***Morris DG, Waters S, McCarthy S, Patton J, Earley B, Fitzpatrick R, Murphy JJ, Diskin MG, Kenny D, Brass A, Wathes DA. 2009.*** Pleiotropic effects of negative energy balance in the post partum dairy cow on splenic gene expression: repercussions for innate and adaptive immunity. Physiol. Genomics. 39: 28-37.
83. ***Nakamura K, Kusama K, Suda Y, Fujiwara H, Hori M, Imakawa K. 2020.*** Emerging Role of Extracellular Vesicles in Embryo–Maternal Communication throughout Implantation Processes. International Journal of Molecular Sciences. 21(15), 5523.
84. ***Nebel RL, McGilliard ML. 1993.*** Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. J Dairy Sci. 76(10):3257-68. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77662-6.
85. ***Nebel RL, McGilliard ML. 1993.*** Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. J. Dairy Sci. 76: 3257-3268.
86. ***O'Hara L, Forde N, Kelly AK, Lonergan P. 2014.*** Effect of bovine blastocyst size at embryo transfer on day 7 on conceptus length on day 14: Can supplementary progesterone rescue small embryos? Theriogenology. 81: 1123–1128. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.041
87. ***Okumu LA, Forde N, Fahey AG, Fitzpatrick E, Roche JF, Crowe MA, Lonergan P. 2010.*** The effect of elevated progesterone and pregnancy status on mRNA expression and localisation of progesterone and oestrogen receptors in the bovine uterus. Reproduction. 140, 143–153. https://doi.org/10.1530/REP-10-0113
88. ***Onyango J. 2014.*** Cow postpartum uterine infection: A review of risk factors, prevention and the overall impact. Veterinary Research International. 2(2): 18-32.
89. ***Oral H, Sozmen M, Serin G, Kaya S. 2009.*** Comparison of the cytobrush technique, vaginoscopy and transrectal ultrasonography methods for the diagnosis of postpartum endometritis in cows. J. Anim. Vet. Adv. 8: 1252-1255.
90. ***Parmar SC, Dhami AJ, Hadiya K, Parmar CP. 2017.*** Early embryonic death in bovines: An overview. Raksha Tech. Review. 4(1).

91. ***Patel JA, Kavani FS, Derashri HJ, Sarvaiya NP. 2005.*** Use of ultrasonography in detection of early pregnancy and embryonic mortality in Holstein Friesian cow. Indian J. Dairy Sci. 58(5): 352-355.
92. ***Patton J, Kenny DA, McNamara S, Mee JF, O"Mara FP, Diskin MG, Murphy JJ. 2007.*** Relationships between milk production, energy balance, plasma analytes and reproduction in Holstein Friesian cows. J. Dairy Sci. 90: 649-658.
93. ***Perea F, Soto E, Gonzalez C, Soto G, Hernandez H. 2005.*** Factors affecting fertility according to the post-partum period in crossbred dual purpose suckling cows in the tropics. Trop. Anim. Health Prod. 37: 559-572.
94. ***Pérez RG, Pino GG, Ballester DG, Moreno RG. 2010***. Modelo de regresión logística para estimar la dependencia según la escala de Lawton y Brody. SEMERGEN-Medicina de Familia. 36(7): 365-371.
95. **Portillo M, Soto E, Osiris C. 1995**. Mortalidad embrionaria en vacas mestizas. Revista Científica, FCV-LUZ/ Vol.V, N° 3, 161-169.
96. ***Pryce JE, Royal MD, Garnsworthy PC, Mao IL. 2004.*** Fertility in the high-producing dairy cow. Livestock production science. 86(1-3), 125-135.
97. ***Radostits OM, Gay C, Blood D, Hinchliff K. 2002.*** Medicina veterinaria. 9a ed. Vol I. Madrid, España: McGraw Hill Interamericana.1206 p.
98. ***Randi F, Fernandez-Fuertes B, McDonald M, Forde N, Kelly AK, Bastos Amorin H, Lonergan P. 2016.*** Asynchronous embryo transfer as a tool to understand embryo-uterine interaction in cattle: Is a large conceptus a good thing? Reproduction Fertility and Development. 28, 1999–2006. https://doi.org/10.1071/RD15195
99. ***Rani P, Chandolia RK, Dutt R, Soni N, Dhaka SS, Kumar S, Pandey AK, Singh G. 2018.*** Ultrasonographic Assessment of Embryonic Mortality in Cows. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 7(6): 387-399.
100. ***Ribeiro ES, Gomes G, Greco LF, Cerri RLA, Vieira-Neto A, Monteiro PLJ, Santos JEP. 2016.*** Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 99, 2201–2220. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10337
101. ***Rizos D, Burke L, Duffy P, Wade M, Mee JF, O'Farrell KJ, MacSiurtain M, Boland MP, Lonergan P. 2005.*** Comparisons between nulliparous heifers

and cows as oocyte donors for embryo production in vitro. Theriogenology. 63:939-49.

102. ***Rizos D, Carter F, Besenfelder U, Havlicek V, Lonergan P. 2010.*** Contribution of the female reproductive tract to low fertility in postpartum lactating dairy cows. J Dairy Sci. 93:1022–9.
103. ***Rizos D, Scully S, Kelly AK, Ealy AD, Moros R, Duffy P, Lonergan P. 2012.*** Effects of human chorionic gonadotrophin administration on day 5 after oestrus on corpus luteum characteristics, circulating progesterone and conceptus elongation in cattle. Reproduction Fertility and Development. 24, 472–481. https://doi. org/10.1071/RD11139
104. ***Robinson RW, Mann GE, Lamming GE, Wathes DC. 2001.*** Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrus cycle and pregnancy in cows. Reproduction, 122: 965-979.
105. ***Sánchez JM, Mathew DJ, Passaro C, Charpigny G, Behura S, Butler ST, Lonergan P. 2017.*** Effect of conceptus size on embryo-maternal communication during early pregnancy in cattle. Proceedings of the 33rd Annual Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE); Bath, UK, September 8th and 9th, 2017. Animal Reproduction, 14, 979, Jul/Sept 2017. Abstract A335E.
106. ***Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Amentano LE, Wiltbank MC. 2002.*** High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 in dairy cattle. J. Dairy Sci. 85: 2831-2842.
107. ***Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvao KN. 2004.*** Effect of embryonic death rates in cattle on efficacy of estrus synchronization programme. Anim. Reprod. Sci. 82: 513-535.
108. ***Sartori R, Bastos MR, Wiltbank MC. 2010.*** Factors affecting fertilisation and early embryo quality in single- and superovulated dairy cattle. Reprod Fertil Dev. 22:151–8.
109. ***Sartori R. 2004.*** Fertilização e morte embrionária em bovinos. Acta Scientiae Veterinariae. 32:35-50
110. ***Shook GE. 1989.*** Selection for disease resistance. J Dairy Sci. 72(5):1349-62. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79242-0

111. ***Snijders SE, Dillon P, O'Callaghan D, Boland MP. 2000.*** Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. Theriogenology. 53:981-9.
112. ***Spencer TE, Hansen TR. 2015.*** Implantation and establishment of pregnancy in ruminants. Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology. 216: 105–135. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15856-3_7
113. ***Starbuck GR, Darwash AO, Mann GE, Lamming GE. 2001.*** The detection and treatment of post insemination progesterone insufficiency in dairy cows. Fertility in the high-producing dairy cow. Brit. Soc. Anim. Sci. 26: 447-450.
114. ***Starbuck MJ, Dailey RA, Inskeep EK. 2004.*** Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. Anim. Reprod. Sci. 84: 27-39.
115. ***Stronge AJH, Sreenan JM, Diskin MG, Mee JF, Kenny DA, Moris DG. 2005.*** Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. Theriogenology. 64: 1212-1224.
116. ***Sutton-McDowall ML, Yelland R, MacMillan KL, Robker RL, Thompson JG. 2014.*** A study relating the composition of follicular fluid and blood plasma from individual Holstein dairy cows to the in vitro developmental competence of pooled abattoir-derived oocytes. Theriogenology. 82:95–103.
117. ***Szenci O, Varga J, Bajcsy AC. 1998.*** Role of early pregnancy diagnosis by means of ultrasonography in improving reproductive efficiency in a dairy herd: a retrospective study. Bovine Practitioner. 32(2): 67-69.
118. ***Vallet JL, Bazer FW, Fliss MF, Thatcher WW. 1988.*** Effect of ovine conceptus secretory proteins and purified ovine trophoblast protein-1 on interoestrous interval and plasma concentrations of prostaglandins F-2 alpha and E and of 13,14-dihydro-15- keto prostaglandinF-2 alpha in cyclic ewes. Journal of Reproduction and Fertility. 84, 493–504. doi.org/10.1530/jrf.0.0840493
119. ***Van Hoeck V, Leroy JL, Arias Alvarez M, Rizos D, Gutierrez-Adan A, Schnorbusch K. 2013.*** Oocyte developmental failure in response to elevated nonesterified fatty acid concentrations: mechanistic insights. Reproduction. 145:33–44.
120. ***Van Hoeck V, Sturmey RG, Bermejo-Alvarez P, Rizos D, GutierrezAdan A, Leese HJ. 2011.*** Elevated non-esterified fatty acid concentrations during

bovine oocyte maturation compromise early embryo physiology. PLoS One 6:e23183.

121. ***VanRaden PM, Sanders AH, Tooker ME, Miller RH, Norman HD, Kuhn MT, Wiggans GR. 2004.*** Development of a national genetic evaluation for cow fertility. J Dairy Sci. 87(7):2285-92. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)70049-1.
122. ***Vanroose G, de Kruif A, Van Soom A. 2000.*** Embryonic mortality and embryo–pathogen interactions. *Animal Reproduction Science*. *60:* 131-143.
123. ***Vanroose G. 1999.*** Interactions of bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhea virus with bovine gametes and in-vitro produced bovine embryos. PhD dissertation, University of Gent, Belgium.
124. ***Vasconcelos JL, Demetrio DG, Santos RM, Chiari JR, Rodrigues CA, Sa Filho OG. 2006.*** Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. Theriogenology. 65:192–200.
125. ***Vasconcelos JL, Jardina DT, Sa Filho OG, Aragon FL, Veras MB. 2011.*** Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropinreleasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows. Theriogenology. 75:1153–60.
126. ***Vasconcelos JLM, Silcox RW, Lacerda JA, Pursley JR, Wiltbank MC. 1997.*** Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to head stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. Biol Reprod. 56: 140
127. ***Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO. 2011.*** A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. Animal Reproduction Science. 123 (3–4): 127–138.
128. ***Walters AH, Bailey TL, Pearson RE, Gwazdauskas FC. 2002.*** Parity-related changes 512 in bovine follicle and oocyte populations, oocyte quality, and hormones to 90 513 days postpartum. J Dairy Sci. 85:824-32.
129. ***Wiltbank MC, Baez GM, Garcia-Guerra A, Toledo M Z, Monteiro PLJ, Melo LF, Sartori R. 2016.*** Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. Theriogenology. 86(1): 239–253.
130. ***Zerbe H, Schuberth HJ, Engelke F, Frank J, Klug E, Leibold W. 2003.*** Development and comparison of in vivo and in vitro models for endometritis in cattle and mares. Theriogenology. 60: 209-223.

ANEXOS

ANEXO 1. N° animales por raza, partos, producción leche al día 60 y 90 postparto y animales con y sin mortalidad embrionaria (ME).

N°	F.servicio	Raza	Nº Partos	Px 60	Px 90	Ecografia 28	Ecografia 35	Ecografia 42	
2452	2/03/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
7252	8/04/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
5252	11/03/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
462	22/08/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
862	10/08/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
6442	2/03/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
652	26/01/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
1062	20/11/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
1072	3/07/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
4462	3/11/2017	Brown Swiss	0			+	-	-	ME

1472	16/07/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
3072	31/08/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
4862	25/12/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
4062	2/06/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
5462	18/12/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
4662	17/12/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
4462	2/01/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
4842	6/02/2016	Brown Swiss	0			+	+	+	
6672	15/08/2019	Brown Swiss	0			+	+	+	
272	8/10/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
5662	7/12/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
6452	12/09/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
7242	9/05/2017	Brown Swiss	0			+	+	+	
7272	3/02/2019	Brown Swiss	0			+	+	+	
7862	6/11/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
8042	3/03/2016	Brown Swiss	0			+	+	+	
8262	8/04/2019	Brown Swiss	0			+	+	+	
8272	9/04/2019	Brown Swiss	0			+	+	+	
8672	14/05/2019	Brown Swiss	0			+	+	+	
6862	21/07/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
7062	10/02/2018	Brown Swiss	0			+	+	+	
642	8/04/2017	Brown Swiss	1	12.52	11.22	+	+	+	
2442	21/02/2017	Brown Swiss	1	15.02	15.32	+	+	+	
2042	26/03/2017	Brown Swiss	1	18.97	13.38	+	+	+	
1642	24/03/2017	Brown Swiss	1	15.5	12.94	+	+	-	ME
5242	13/03/2017	Brown Swiss	1	6.94	6.94	+	+	+	
4642	29/04/2017	Brown Swiss	1	9.5	10.26	+	+	+	
5842	1/03/2017	Brown Swiss	1	9.51	8	+	+	+	
5442	26/03/2017	Brown Swiss	1	8.72	9.21	+	+	+	
252	1/09/2017	Brown Swiss	1	14.5	12.08	+	+	+	
652	13/06/2018	Brown Swiss	1	14.8	14.16	+	+	+	
1062	9/02/2019	Brown Swiss	1	6.08	6.42	+	+	+	
4842	8/02/2017	Brown Swiss	1	14.04	14.5	+	+	+	
3662	13/03/2019	Brown Swiss	1	11.3	10.7	+	+	+	
5462	31/05/2019	Brown Swiss	1	9.4	7.96	+	+	+	
6442	16/07/2018	Brown Swiss	1	14.46	13.18	+	+	+	
2052	3/08/2018	Brown Swiss	1	12.08	11.36	+	+	+	

5662	26/09/2019	Brown Swiss	1	11.06	5.8	+	+	+	
4862	24/02/2019	Brown Swiss	1	7.87	9.78	+	+	+	
5252	20/07/2018	Brown Swiss	1	12.58	11.4	+	+	+	
6862	11/10/2019	Brown Swiss	1	12.2	8.3	+	+	+	
6452	5/06/2019	Brown Swiss	1	14.54	11.74	+	+	+	
7242	14/07/2018	Brown Swiss	1	15.3	16.34	+	+	+	
7062	23/08/2019	Brown Swiss	1	11.78	11.56	+	+	+	
8042	25/05/2017	Brown Swiss	1	11.7	12.1	+	+	+	
7252	18/02/2019	Brown Swiss	1	11.36	13.64	+	+	+	
2232	5/07/2017	Brown Swiss	2	16.34	17.16	+	+	-	ME
2032	30/01/2017	Brown Swiss	2	12.24	14.88	+	+	+	
3832	30/01/2017	Brown Swiss	2	13.8	12.54	+	+	+	
4612	26/01/2017	Brown Swiss	2	24	21.6	+	+	+	
2422	20/03/2017	Brown Swiss	2	10	10.72	+	+	+	
3612	6/02/2017	Brown Swiss	2	17.48	13.36	+	+	+	
2042	10/06/2018	Brown Swiss	2	13.76	14.24	+	+	+	
5242	2/08/2018	Brown Swiss	2	7.26	5.86	+	+	+	
252	1/02/2019	Brown Swiss	2	11.72	12.2	+	+	+	
642	26/07/2018	Brown Swiss	2	18.1	17.8	+	+	+	
4642	30/07/2018	Brown Swiss	2	17.98	14.58	+	+	+	
6442	15/08/2019	Brown Swiss	2	15.6	11.74	+	+	+	
1272	25/03/2017	Brown Swiss	6	17.82	18.1	+	+	+	
4842	4/06/2018	Brown Swiss	2	15.86	13.12	+	+	+	
5252	19/07/2019	Brown Swiss	2	6.28	12.78	+	+	+	
5842	13/06/2018	Brown Swiss	2	13.12	13.82	+	+	+	
4022	7/09/2018	Brown Swiss	2	16.92	14.82	+	+	+	
2442	30/09/2018	Brown Swiss	2	13.22	13.5	+	+	+	
8042	8/09/2018	Brown Swiss	2	16.2	14.21	+	+	+	
2222	31/01/2017	Brown Swiss	3	15.04	12.5	+	+	+	
4202	8/03/2017	Brown Swiss	3	11.3	13.3	+	+	+	
3202	4/02/2017	Brown Swiss	3	20.3	14.8	+	+	+	
1432	6/10/2017	Brown Swiss	3	16.06	14.07	+	+	+	
1812	20/04/2017	Brown Swiss	3	17.76	16.62	+	+	+	
212	4/02/2017	Brown Swiss	3	22.6	19.3	+	+	+	
2032	28/05/2018	Brown Swiss	3	20.7	23.04	+	+	+	
3832	10/06/2018	Brown Swiss	3	16.61	15	+	+	+	
4432	18/03/2019	Brown Swiss	3	15	11.3	+	+	+	

5842	9/08/2019	Brown Swiss	3	11.78	11.34	+	+	+	
3492	20/03/2017	Brown Swiss	4	13.5	11.94	+	+	-	ME
1432	24/06/2019	Brown Swiss	4	17.76	18.54	+	+	+	
6602	12/04/2017	Brown Swiss	4	12.7	14.52	+	+	-	ME
1812	2/06/2018	Brown Swiss	4	20.82	19.1	+	+	+	
4202	5/06/2019	Brown Swiss	4	17.97	16.3	+	+	+	
4402	12/10/2018	Brown Swiss	4	20.51	15.52	+	+	+	
3202	24/06/2018	Brown Swiss	4	25.08	21.78	+	+	+	
7082	4/04/2016	Brown Swiss	4	16.79	12.16	+	-	-	ME
2222	28/07/2018	Brown Swiss	4	20.7	17.29	+	+	+	
2482	2/02/2017	Brown Swiss	4	20.64	16.92	+	+	+	
7082	15/09/2017	Brown Swiss	5	15.16	15.86	+	+	+	
5692	5/03/2017	Brown Swiss	5	14.68	12.5	+	+	+	
2482	27/02/2019	Brown Swiss	6	21.9	19.08	+	+	+	
3292	19/12/2018	Brown Swiss	6	22.62	19.42	+	+	-	ME
7082	19/12/2018	Brown Swiss	6	14.06	9.8	+	+	+	
5692	11/08/2018	Brown Swiss	6	14.96	12.28	+	+	+	
1842	1/02/2017	Brown Swiss	8	17.14	16.7	+	+	+	
1842	14/06/2018	Brown Swiss	9	14.42	13.72	+	+	+	
4451	11/03/2017	Holstein	0			+	+	+	
5851	12/08/2017	Holstein	0			+	+	+	
7651	5/03/2017	Holstein	0			+	+	+	
1251	26/01/2017	Holstein	0			+	+	+	
1461	3/09/2017	Holstein	0			+	+	+	
2261	22/11/2017	Holstein	0			+	+	+	
3461	2/11/2017	Holstein	0			+	+	+	
5651	26/02/2017	Holstein	0			+	+	+	
7851	2/05/2017	Holstein	0			+	+	+	
3861	3/09/2017	Holstein	0			+	+	+	
3871	1/08/2018	Holstein	0			+	+	+	
3271	7/11/2018	Holstein	0			+	+	+	
1261	10/09/2018	Holstein	0			+	+	+	
6631	26/01/2017	Holstein	1	18.7	16.52	+	+	+	
4441	9/09/2017	Holstein	1	15.62	13.46	+	+	+	
1631	23/03/2017	Holstein	1	19.14	10.1	+	+	+	
1051	6/10/2017	Holstein	1	18.76	17.06	+	+	+	
1241	23/09/2017	Holstein	1	16.3	15.3	+	+	+	
5641	2/06/2017	Holstein	1	18.78	18.38	+	+	+	
1251	5/07/2018	Holstein	1	16.98	14.98	+	+	+	
1461	22/08/2018	Holstein	1	14.88	15.56	+	+	+	

3861	24/09/2018	Holstein	1	12.34	13.74	+	+	+	
7851	21/07/2018	Holstein	1	18	14.8	+	+	+	
2261	16/11/2018	Holstein	1	16.43	14.96	+	+	+	
1031	8/04/2017	Holstein	1	18.79	22.3	+	+	+	
4411	2/07/2017	Holstein	2	21.2	20.96	+	+	+	
5231	22/07/2017	Holstein	2	24.26	20.76	+	+	+	
5631	14/11/2017	Holstein	2	17.1	16.7	+	+	+	
1041	4/11/2017	Holstein	2	20.3	19.44	+	+	+	
1841	16/11/2017	Holstein	2	17.7	17.9	+	-	-	ME
1061	5/07/2018	Holstein	2	20	19.2	+	+	+	
1051	12/07/2019	Holstein	2	15.26	13.78	+	+	+	
1841	22/07/2018	Holstein	2	13.7	18.86	+	+	+	
5641	30/07/2018	Holstein	2	20.5	17.5	+	+	+	
5231	16/08/2018	Holstein	2	16.6	16.3	+	+	+	
5631	16/02/2019	Holstein	3	18.2	19.21	+	+	+	
221	27/12/2017	Holstein	3	26.8	26.3	+	+	+	
2811	22/06/2017	Holstein	3	29.12	21.6	+	-	-	ME
1801	7/04/2018	Holstein	3	19.44	20.02	+	+	+	
411	26/09/2017	Holstein	3	22.28	19.56	+	+	+	
221	2/08/2019	Holstein	4	23	22	+	+	+	
4491	12/02/2017	Holstein	4	21.44	17.98	+	+	+	
2811	27/02/2019	Holstein	4	20.94	14.86	+	+	+	
3661	30/01/2017	Holstein	4	21.88	20.56	+	+	+	
201	16/09/2017	Holstein	5	21.72	20.3	+	+	+	
1401	16/06/2017	Holstein	5	18.22	18.2	+	+	+	
4491	12/02/2018	Holstein	5	27.04	25.3	+	+	+	
681	26/06/2017	Holstein	6	20.76	15.18	+	+	+	
271	18/01/2017	Holstein	6	16.84	18.18	+	+	+	
2071	10/02/2017	Holstein	6	30	26.64	+	+	+	
3081	27/07/2017	Holstein	6	25.12	23.68	+	-	-	ME
201	11/12/2018	Holstein	6	20.9	18.32	+	+	+	
1401	3/08/2018	Holstein	6	16.66	13.1	+	+	+	
681	3/08/2018	Holstein	7	19.02	14.9	+	+	+	
683	6/08/2019	Cruzada	0			+	+	+	
1283	19/08/2019	Cruzada	0			+	+	+	
1453	16/05/2016	Cruzada	0			+	+	+	
483	26/04/2019	Cruzada	0			+	+	+	
6053	2/02/2017	Cruzada	0			+	+	+	
2063	21/08/2017	Cruzada	0			+	+	+	
3263	15/08/2017	Cruzada	0			+	+	+	
853	2/02/2017	Cruzada	0			+	+	+	
4653	6/02/2017	Cruzada	0			+	+	+	
5053	6/02/2017	Cruzada	0			+	+	+	
5453	2/02/2017	Cruzada	0			+	+	+	
7643	10/02/2017	Cruzada	0			+	+	+	

4053	11/03/2017	Cruzada	0			+	+	+	
4253	1/03/2017	Cruzada	0			+	+	+	
4853	27/02/2017	Cruzada	0			+	+	+	
6033	24/01/2017	Cruzada	1	15.68	12.3	+	+	+	
243	4/02/2017	Cruzada	1	16	14.16	+	+	+	
2643	12/03/2017	Cruzada	1	19.26	13.6	+	+	+	
2843	27/04/2017	Cruzada	1	12.96	11.82	+	+	+	
6243	20/03/2017	Cruzada	1	15.28	18.96	+	+	+	
6843	10/03/2017	Cruzada	1	11.61	11.24	+	+	+	
1453	20/10/2017	Cruzada	1	14.26	12.28	+	+	+	
6833	13/09/2017	Cruzada	2	15.06	14.24	+	+	+	
4033	11/09/2017	Cruzada	2	19.4	20.04	+	+	+	
2833	7/02/2017	Cruzada	2	10.38	13.1	+	+	+	
4233	9/02/2017	Cruzada	2	12.52	10.9	+	+	+	
5223	5/03/2017	Cruzada	2	15.68	17.6	+	+	+	
5423	8/03/2017	Cruzada	2	21	20.46	+	+	+	
1013	12/01/2016	Cruzada	2	13	12.08	+	+	+	
1453	19/03/2019	Cruzada	2	12.64	11.48	+	+	+	
243	14/04/2018	Cruzada	2	17.8	19.42	+	+	+	
3813	8/02/2017	Cruzada	3	9.36	13.84	+	-	-	ME
4213	20/04/2017	Cruzada	3	21.12	17.1	+	+	+	
243	2/06/2019	Cruzada	3	23.26	17.98	+	+	+	
3823	14/11/2017	Cruzada	3	25.48	19.02	+	-	-	ME
5813	8/08/2017	Cruzada	4	14.12	11.5	+	+	+	
1003	31/05/2016	Cruzada	4	18.62	18.66	+	+	+	
2693	7/04/2017	Cruzada	4	18.9	17.74	+	+	+	
5483	31/01/2017	Cruzada	5	22.8	23.88	+	+	+	
1003	15/11/2017	Cruzada	5	24.3	17.64	+	+	+	
1003	9/03/2019	Cruzada	6	16.58	18.04	+	+	+	
8263	12/02/2017	Cruzada	6	20.5	19	+	-	-	ME
1483	6/04/2017	Cruzada	6	17.82	18.1	+	+	+	
2683	18/04/2017	Cruzada	6	23.68	21.54	+	-	-	ME
2883	23/02/2017	Cruzada	6	18.58	16.4	+	+	+	
4643	22/02/2017	Cruzada	9	21.9	21.82	+	-	-	ME