



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA: PECUARIA

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO**

MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**NIVELES DE LA HORMONA ANTIMÜLLERIANA SOBRE LA
TASA DE PREÑEZ EN VACAS BRAHMAN TRATADAS CON UN
PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

AUTORES:

**ZAMBRANO MENDOZA JOHE SEBASTIÁN
ZAMBRANO VÉLEZ CRISTHIAN ALBERTO**

TUTOR:

DR. JORGE IGNACIO MACÍAS ANDRADE

CALCETA, DICIEMBRE 2019

DERECHOS DE AUTORÍA

JOHE SEBASTIÁN ZAMBRANO MENDOZA Y CRISTHIAN ALBERTO ZAMBRANO VÉLEZ, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

.....
JOHE S. ZAMBRANO MENDOZA

.....
CRISTHIAN A. ZAMBRANO VÉLEZ

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

DR. JORGE IGNACIO MACÍAS ANDRADE certifica haber tutelado el proyecto **NIVELES DE LA HORMONA ANTIMÜLLERIANA SOBRE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS BRAHMAN TRATADAS CON UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**, que ha sido desarrollada por **JOHE SEBASTIÁN ZAMBRANO MENDOZA Y CRISTHIAN ALBERTO ZAMBRANO VÉLEZ**, previa la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....
DR. JORGE IGNACIO MACÍAS ANDRADE, Mg.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **NIVELES DE LA HORMONA ANTIMÜLLERIANA SOBRE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS BRAHMAN TRATADAS CON UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL** , que ha sido propuesta, desarrollada por **JOHE SEBASTIÁN ZAMBRANO MENDOZA Y CRISTHIAN ALBERTO ZAMBRANO VÉLEZ**, previa la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....
M.V. KAROLINA M. RAUSCHEMBERG, Mg. Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....
M.V. JOFRE A. VERA CEDEÑO, Mg. Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....
M.V DERLYS H. MENDIETA CHICA Mg. Sc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A mis Padres que día a día me guiaron con sus consejos, enseñanzas, motivación, y siempre me dieron ese apoyo incondicional para poder alcanzar unas de mis metas propuestas.

A mi hermano, tíos, tías, primos y demás familiares que me motivaban con sus palabras para seguir adelante siempre.

También quería agradecer a los docentes que durante toda la carrera universitaria han aportado con sus conocimientos a mi formación profesional, a mi director de tesis, Dr. Jorge Ignacio Macías, quien, con sus conocimientos, experiencia, nos guio para que pudiéramos lograr este objetivo propuesto.

A mis compañeros por brindarme su amistad y ese apoyo día a día para poder alcanzar la meta propuesta.

JOHE SEBASTIÁN ZAMBRANO MENDOZA

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

Agradezco a Dios y a mis padres por darme la oportunidad de seguir mi carrera y ser el motivo de seguir luchando por mi objetivo

También quería agradecer a los docentes que durante toda la carrera universitaria han aportado con sus conocimientos a mi formación profesional, a mi director de tesis, Dr. Jorge Ignacio Macías quien, con sus conocimientos, experiencia, nos guio para que pudiéramos lograr este objetivo propuesto.

A mis compañeros por brindarme su amistad y ese apoyo día a día para poder alcanzar la meta propuesta.

CRISTHIAN ALBERTO ZAMBRANO VÉLEZ

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo de investigación principalmente a Dios por haberme dado salud, motivación e inspiración para seguir adelante cada maravilloso día para poder cumplir cada una de mis metas.

A mis padres que han sabido infundir buenos sentimientos, hábitos y valores así demostrándome su amor, apoyo incondicional y sacrificio ánimo que me brindan para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales.

De igual forma a mi hermano, y familia por su apoyo y ánimo.

JOHE SEBASTIÁN ZAMBRANO MENDOZA

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo a Dios por haberme dado salud, sabiduría y guiarme por el buen camino.

A mi familia, que ha sido el pilar fundamental para seguir guerreando día a día cada obstáculo.

A los docentes y mis compañeros que han sido parte de este proceso.

CRISTHIAN ALBERTO ZAMBRANO VÉLEZ

CONTENIDO GENERAL

	Pág.
CARÁTULA.....	i
DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
DEDICATORIA.....	viii
CONTENIDO GENERAL.....	ix
CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS.....	xii
PALABRAS CLAVES	xiv
ABSTRACT	xv
KEY WORDS	xv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. Planteamiento y formulación del problema	1
1.2. Justificación	2
1.3. Objetivos.....	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
1.4. Hipótesis	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Hormona antimülleriana	5
2.1.1. Propiedades	5
2.1.2. Estudios de amh en bovinos	7

2.1.3. Técnica para determinar amh, enzimoimmunoanálisis de adsorción (Elisa).....	8
2.1.4. Inseminación artificial	8
2.1.5. Inseminación artificial a tiempo fijo	9
2.1.6. Protocolos de sincronización	9
2.2. AMH e inseminación artificial	10
2.3. AMH en bovinos	11
2.4. AMH en otras tecnologías reproductivas.....	12
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	14
3.1. Ubicación de la investigación	14
3.1.1. Condiciones climáticas	14
3.2. Duración del trabajo de investigación.....	14
3.3. Factor en estudio.....	14
3.4. Diseño experimental.....	14
3.5. Unidad experimental.....	15
3.6. Variables	15
3.6.1. Variable independiente.....	15
3.6.2. Variable dependiente.....	15
3.7. Diseño experimental.....	16
3.7.1. Análisis de varianza.....	16
3.8. Manejo del experimento	16
3.8.1. Etapa 1: Efecto de los niveles de la hormona antimülleriana sobre la dinámica ovárica de vacas brahman tratadas con un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo.	18
3.8.2. Etapa 2: Determinar el efecto de los niveles de la hormona antimülleriana sobre la fertilidad de vacas brahman tratadas con un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo.	18
3.8.3. Etapa 3: Determinación del costo-beneficio entre la determinación del nivel de amh y la tasa de preñez vacas brahman tratadas con un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo.	19

3.9. Análisis estadístico	19
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1. Rango de concentración de la amh en suero sanguíneo	20
4.2. Análisis exploratorio de los datos	21
4.3. Relaciones entre variables	22
4.4. Tamaño de folículo (2 a 4 mm).....	22
4.5. Tamaño de folículo (4,1 a 7 mm).....	24
4.6. Tamaño de folículo dominante (más de 7.1 mm)	25
4.7. Tamaño de cuerpos lúteos	26
4.8. Tamaño del ovario.....	26
4.9. Tasa de preñez	27
4.10. Análisis de costo beneficio	29
4.11. Verificación de hipótesis.....	29
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	30
5.1. Conclusiones.....	30
5.2. Recomendaciones.....	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	39

CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 4.1. Análisis de varianza, variable Nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo.....	20
Cuadro 4.2. Prueba de LSD para variable nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo.....	20
Cuadro 4.3. Resumen descriptivo de las variables folículos de 2 a 4 mm, folículos de 4,1-7 mm, folículos >7 mm, tamaño de ovarios (cm) y tamaño del cuerpo lúteo (mm) en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.....	21
Cuadro 4.4. ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (2 a 4 mm)	23
Cuadro 4.5. Prueba de LSD para variable tamaño del folículo dominante (2 a 4 mm)	23
Cuadro 4.6. ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (4.1-7 mm).	24
Cuadro 4.7. ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (más de 7.1 mm).	25
Cuadro 4.8. ADEVA para variable tamaño de cuerpos lúteos	26
Cuadro 4.9. ADEVA para variable tamaño del ovario.....	26
Cuadro 4.10. Tasa de preñez de los animales estudiados.....	27
Cuadro 4.11. Bloque 0 del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.	28
Cuadro 4.12. Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.....	28
Cuadro 4.13. Prueba de significancia y validez Wald del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en	

suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF..... 29

Gráfico 4.1. Comportamiento del número total de folículos en función de los niveles de la AMH en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF..... 22

RESUMEN

Este estudio consistió en evaluar los niveles de la Hormona Antimülleriana sobre la tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con protocolo de Inseminación Artificial (IATF). Se implementó un estudio descriptivo que midió el tamaño folicular de cuerpos lúteos, ovárico y tasa de preñez. Se evaluaron 21 vacas con cría al pié de > de 3 partos, con condición corporal 3,5. Las unidades experimentales se agruparon en tres grupos correspondiente a tres rangos de rango de concentración: AMH 0 a 220 pg; rango de AMH 220 a 305 pg y rango de AMH > 305 pg. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS para análisis de varianza con valor $P < 0,05$. Esto evidenció que los rangos de la AMH influyen sobre la dinámica ovárica de vacas Brahman tratadas con protocolo de (IATF). Los animales con rangos de AMH superior a los 305 pg/mL registraron incremento de los folículos dominantes (2 a 4 mm) ($P \leq 0.001$). Mediante análisis de regresión logística, se encontró que no existe relación entre los rangos de AMH de las vacas vacías y preñadas. Se logró 52,4% de probabilidades de preñez cuando se encuentran altos niveles plasmáticos de AMH y una prueba ómnibus con los coeficientes del modelo, advirtieron cierto rango de eficiencia estadística en la predicción de la probabilidad de ocurrencia de la preñez (Chi cuadrado 19.50; $P < 0.001$) y una prueba de significancia y validez Wald inferior al 0.01, que denota una débil correlación entre las variables. Se confirmó 43,0 % de preñez en cada rango.

PALABRAS CLAVES

Folículo, dinámica ovárica, fertilidad, regresión logística.

ABSTRACT

This study consisted of evaluating the levels of the Antimüllerian Hormone on the pregnancy rate in Brahman cows treated with a fixed-time Artificial Insemination protocol (IATF). A descriptive study was implemented that measured the follicular size of luteal bodies, ovarian and pregnancy rate. Twenty-one Brahman cows were tested and sampled at the foot of > 3 deliveries, with body condition 3.5 (scale 1 to 5). The experimental units were grouped into three groups corresponding to three ranges of concentration range: AMH 0 to 220 pg; AMH range 220 to 305 pg and AMH range > 305 pg. The data were analyzed with the statistical package SPSS for analysis of variance with P value <0.05. The study showed that AMH ranges influence the ovarian dynamics of Brahman cows treated with the (IATF) protocol. Animals with AMH ranges greater than 305 pg / mL recorded an increase in dominant follicles (2 to 4 mm) ($P \leq 0.001$). Through logistic regression analysis, it was found that there is no relationship between the AMH ranges of empty and pregnant cows. A 52.4% chance of pregnancy was achieved when high plasma levels of AMH are found and an omnibus test with the model coefficients warned of a certain range of statistical efficiency in predicting the probability of pregnancy occurrence (Chi square 19.50; $P < 0.001$) and a Wald significance and validity test below 0.01, which denotes a weak correlation between the variables studied. 43.0% pregnancy was confirmed in each range.

KEY WORDS

Follicle, ovarian dynamics, fertility, logistic regression.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Los sistemas de producción bovina en general presentan baja tasa reproductiva. Las pérdidas económicas provocadas por baja fertilidad son altas y en ocasiones pueden superar las pérdidas ocasionadas por otros factores asociados a la biotecnología bovina (Aguayo, 2014).

La presencia de alteraciones en los órganos genitales de hembras bovinas, constituyen un aspecto negativo ya que afecta a la economía de los productores; por tal razón se debe dar mayor importancia al manejo reproductivo, ya que de ello depende en gran parte el éxito de una explotación pecuaria.

La Hormona Antimülleriana (AMH) también conocida como sustancia inhibidora Mülleriana, se le conoce así gracias a su acción principal de inhibir los conductos Müllerianos también conocidos como (paramesonéfricos), se le adjudicó este nombre gracias a experimentos llevados a cabo por el francés endocrinólogo, Alfred Jost, quien hizo su descubrimiento a la mitad del siglo XX, que a través de técnicas de ELISA o de inmunoensayo se puede determinar su concentración en suero y plasma sanguíneo, en líquido folicular y en el plasma seminal y en la cual se cuantifica como ng/mL (Pérez y Llinás, 2003).

Algunos individuos con poblaciones foliculares bajas presentan concentraciones elevadas de Hormona Folículo Estimulante (FSH), las cuales se relacionan con una baja reserva de ovocitos, así como un menor número de embriones disponibles para ser transferidos, requieren dosis mayores del tratamiento hormonal para la súper estimulación y presentan una mayor expresión de genes para la AMH (González, 2013).

Además, refiere que esta hormona producida por los folículos en crecimiento, tiene un efecto negativo sobre el reclutamiento de folículos primordiales e inhibe el efecto estimulador de FSH y sus concentraciones pueden ser utilizadas como un indicador de la respuesta súper estimuladora en bovinos.

Otro inconveniente asociado a la AMH es el problema de fertilidad causados por del Síndrome de Ovario Poliquístico entre otros trastornos de la reproducción bovina. Estudios complementarios determinaron la relación que existente entre la AMH con la superovulación en vacas. Se evidenció una correlación entre la respuesta superovulatoria y con el potencial de embriones, llegando a la conclusión que esta hormona podría convertirse en un método práctico y útil para predecir la repuesta folicular y la capacidad superovulatoria de cada vaca, mejorando la eficiencia de los programas de transferencia de embriones en ovulaciones múltiples en hatos lecheros (Souza et al., 2015).

Ante los antecedentes descritos se plantea la siguiente interrogante:

¿La presencia elevada de niveles plasmáticos de la AMH influye favorablemente los indicadores reproductivos de hembras Brahman sometidas a protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La hormona Antimülleriana (AMH) es un marcador utilizado en reproducción asistida para evaluar la reserva ovárica y, por tanto, el estado de la fertilidad de las hembras vacunas teniendo como incidencia en su estado de preñez (Yen, et al., 2011). Por su parte Rico et al. (2011) reporta que la AMH Se utiliza para determinar el nivel de fertilidad en algunas especies animales a partir de la capacidad folicular.

La AMH tiene incidencia sobre la reproducción de hembras vacunas teniendo relación con la superovulación en vacas. Se han evidenciado correlaciones entre la respuesta superovulatoria y el potencial de embriones, convirtiéndose en un método factible en la predicción de la capacidad folicular y superovulatoria de animal en beneficio de los programas reproductivos (Arteaga et al., 2019).

La evaluación hormonal se usa para la determinación de las concentraciones plasmáticas de la proteína (AMH) para optimizar el costo/beneficio de programas de reproducción bovinos (Vales et al., 2016).

Aunque es posible cuantificar la población folicular del ovario mediante ecografías seriadas, la presencia de elevadas concentraciones de hormona Antimülleriana (AMH) se relaciona positivamente con la reserva ovárica, lo que facilita la evaluación reproductiva del animal.

Un momento clave en el desarrollo de esta reserva ovárica se encuentra en el período prenatal, cuando se ha visto que estados de subnutrición de la hembra gestante pueden incrementar la testosterona maternal y, por ello, producir una descendencia alterada. Lo que se ha podido observar en estas crías es una menor reserva ovárica, menor número de folículos antrales en el ovario y una menor concentración de AMH1 (Calero *et al.*, 2017).

El presente estudio tuvo como finalidad Evaluar la influencia de la AMH sobre la tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF, en búsqueda de generar información valiosa para el futuro establecimiento de protocolos reproductivos comerciales en las unidades de producción de la región.

Estos protocolos podrán desarrollarse a través de metodologías útiles y prácticas que puedan ser validadas a través de una investigación de campo de tipo descriptiva. La principal razón para efectuar la presente investigación es contribuir con el estudio de nuevas alternativas para el mejoramiento de las condiciones de fertilidad de los hatos ganaderos de la zona. La investigación tiene como finalidad optimizar los programas de reproducción bovina en las unidades ganaderas del sector, incrementando las utilidades financieras y la gestión sostenible de los recursos naturales en observancia de los códigos y leyes de preservación ambiental vigentes en el Ecuador.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la influencia de los niveles de la AMH sobre la tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar la relación de tres niveles de AMH sobre la tasa de preñez en vacas Brahman sometidas a protocolos de IATF.

Comparar los niveles de AMH de las vacas vacías con respecto a las preñadas.

Efectuar el análisis de costo beneficio entre los niveles de AMH y la tasa de preñez.

1.4. HIPÓTESIS

Las vacas con rangos de AMH superiores a 305 pg/mL incrementan la tasa de preñez en vacas sometidas protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo que en vacas con rangos de AMH inferiores a 305 pg/mL.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. HORMONA ANTIMÜLLERIANA

2.1.1. PROPIEDADES

La hormona antimülleriana (AMH) es una glicoproteína de naturaleza homodimérica, que está ligada por enlaces disulfuro y contiene un peso molecular de 140 kDa (unidad de masa atómica unificada o dalton) (Karkanaki *et al.*, 2011).

En los ovarios se produce progesterona, estrógeno e inhibina. Los estrógenos son producidos por el folículo ovárico y tienen acción sobre diferentes órganos como son las trompas de Falopio, útero, vagina, vulva y el sistema nervioso central, en el cual estimulan la conducta del celo y, en el hipotálamo ejercen una retroalimentación negativa en el centro tónico y una retroalimentación positiva en el centro cíclico. La progesterona es producida por el cuerpo lúteo por acción de la hormona luteinizante. Esta hormona prepara el útero para la implantación del embrión y genera el ambiente apropiado para mantener la gestación. En cuanto al control del ciclo estral, la progesterona ejerce una retroalimentación negativa sobre el centro tónico (Callejas, 2014).

A pesar de la posibilidad de determinar indicios de preñes a través del conteo de la población folicular del ovario mediante ecografías seriadas, la existencia de elevadas concentraciones de la HAM se asocia con la reserva ovárica, lo que facilita la evaluación reproductiva del animal (Rodríguez y de Paula, 2018).

Forma parte de los factores de crecimiento transformantes tipo beta TGF-B (Chalabi *et al.*, 2012). La AMH tiene como función primordial la regulación de diversas actividades biológicas para la proliferación, migración y apoptosis en diferentes tipos celulares, tanto en el estado adulto como durante en el desarrollo embrionario (Gálvez *et al.*, 2004).

Estos receptores se encuentran presentes en sus órganos blancos como gónadas y conductos mullerianos, de ahí nace la significancia para acontecimientos reproductivos en mamíferos de importancia económica como bovinos (Karkanaki *et al.*, 2011).

Dentro de la naturaleza reproductiva de los bovinos, la AMH fue identificada por Batista *et al.* (2014) como agente predictor del número de folículos antrales, lo que la faculta como biomarcador endócrino. La AMH ha sido reconocida también como agente predictor de la generación de embriones (Monniaux *et al.*, 2011).

La concentración de AMH ha sido determinante en ciclo natural y sincronizado como marcador endócrino del estado de preñez. Las variables reproductivas generalmente responden al incremento o reducción de la presencia de la glicoproteína (Pfeiffer *et al.*, 2014).

La generación de esta hormona se produce en la gestación en la etapa embrionaria durante la diferenciación sexual, su manifestación inicial es independientemente de las gonadotropinas (Rey *et al.*, 2013). la AMH no se expresa durante la diferenciación sexual, viabilizando el desarrollo normal del tracto genital y su posterior producción (Almeida *et al.*, 2011).

La producción de la hormona AMH empieza en la etapa folicular y va desde el folículo primario hasta la formación inicial del antro (Karkanaki *et al.*, 2011). Cita Participan en el incremento del número de células de la granulosa después de un periodo de cultivo de 6 días, suplementado con la Bone Morphogenetic Protein 6 (BMP-6).

Rey *et al.* (2013) demostró que la AMH es capaz de modular 3 procesos fundamentales: 1) La producción de estrógenos al inhibir la actividad de la aromatasa en respuesta a la FSH. 2) El reclutamiento inicial de folículos primordiales independiente de gonadotropinas. 3) el reclutamiento cíclico de folículos secundarios dependiente de FSH.

Un momento clave en el desarrollo de esta reserva ovárica se encuentra en el periodo prenatal, cuando se ha visto que estados de subnutrición de la hembra gestante pueden incrementar la testosterona materna y, por ello, producir una descendencia alterada. Lo que se ha podido observar en estas crías es una menor reserva ovárica, menor número de folículos antrales en el ovario y una menor concentración de HAM1.

2.1.2. ESTUDIOS DE AMH EN BOVINOS

La determinación de marcador endócrino de la AMH en bovinos ha sido motivo de un sinnúmero de trabajos investigativos que la facultan en este nivel. Las investigaciones apuntan a la incidencia de la hormona sobre algunos factores reproductivos.

La investigación Hormona Antimülleriana (AMH) como predictor del potencial reproductivo en bovino (*Brangus*), propuesta por Anduaga *et al.* (2015), determinó la existencia de una correlación positiva y significativa entre la concentración de AMH y el número de ovocitos recuperados. Así mismo, se determinó la inexistencia de una correlación significativa entre la concentración de AMH y el número de embriones clivados.

De este modo, se estableció que la concentración de AMH sérica correlaciona positivamente con el número de ovocitos obtenidos tras una *Ovum Pick Up* (OPU). La AMH es un buen biomarcador endócrino y puede emplearse como herramienta diagnóstica del potencial reproductivo del animal (Anduaga *et al.*, 2015).

Por su parte Vales *et al.* (2016) demostraron que los hallazgos recientes relacionados con las altas concentraciones de AMH, y que la medición de AMH en estructuras foliculares de tamaño mayor al ovulatorio, podrían ser un indicador de persistencia folicular. Estos autores evidenciaron que grandes incidencias fisiológicas de la AMH traen consigo afecciones al comportamiento reproductivo del ovario bovino. Se producen cambios relacionados con la velocidad de crecimiento de las estructuras reproductivas bovinas.

Rico (2009), demostró una correlación directa entre la producción de AMH y la respuesta superovulatoria en vacas donantes. Este indicador sugiere la diferenciación básica para separar vacas con una producción sostenible de más o menos de 10 embriones transferibles (Bó y Mapletoft, 2018).

2.1.3. TÉCNICA PARA DETERMINAR AMH, ENZIMOINMUNOANÁLISIS DE ADSORCIÓN (ELISA)

Las concentraciones de hormonas se determinan de manera eficiente a través de la técnica de ELISA. Existen diversas variaciones de la técnica de ELISA, pero la más utilizada es la denominada ELISA en sándwich, la cual utiliza dos anticuerpos reactivos con diferentes epítomos del antígeno cuya concentración se desea determinar (Abbas *et al.*, 2012).

Para la determinación de la AMH vía ELISA se requiere centrifugar la muestra de sangre y separar el plasma o el suero y congelar de manera inmediata a menos que el dosaje se haga en los 2-3 días siguientes para evitar sobreestimaciones que pueden superar el 30%. Debe evitarse el congelamiento y descongelamiento repetido de las muestras. La conservación de muestras congeladas a -20 °C por más de 2 años también puede afectar los valores de manera muy significativa (Rey *et al.* 2013).

2.1.4. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

La inseminación artificial (IA) es una técnica fundamentada en el depósito de semen vía instrumental en el útero de las hembras previo a la ocurrencia de la ovulación (González *et al.*, 2017). La inseminación artificial representa la transferencia de espermatozoides desde una muestra preseleccionada hacia el útero (Silva y Pimentel, 2017). Se puede realizar una Inseminación Artificial Conyugal (IAC) o de un banco de semen: Inseminación Artificial de Donante (IAD), de acuerdo a las necesidades o condiciones existentes (Salgado *et al.*, 2015).

La previa del proceso inicia con la preparación del semen en el laboratorio, donde se aíslan espermatozoides móviles de material redundante (plasma seminal y otras células), optimizando la presencia de células sexuales habilitadas para cumplir su función (Pérez *et al.*, 2015).

Para la optimización del proceso e incremento de las probabilidades de preñez se estimulan hormonalmente los ovarios, controlando la ovulación con la finalidad de conocer el momento idóneo para efectuar la inseminación dentro del medio femenino (Parra *et al.*, 2017).

Entre los principales factores condicionantes del éxito o fracaso del proceso, están la calidad del semen, la idoneidad de los protocolos, entre muchos otros. Dentro de los protocolos de inseminación no existe la infalibilidad. Diferentes aspectos condicionan la preñez, muchos de los cuales están regidos a la genética o dinámica ovular, en consecuencia, representan factores incontrolables para el inseminador (Naveda *et al.*, 2015).

Según Leyva (1999) después del tercer o cuarto intento sin alcanzar la preñez, es recomendable implementar el cambio técnica o procedimiento a través de la Fecundación in Vitro (FIV) o gestión integral de embriones. Este último proceso mucho más costoso, pero más efectivo en función de la selectividad genética probable (por tratarse de un protocolo de vientres prestados). Los resultados obtenidos redundan en la eficiencia, valorándose la pureza genética deseada-obtenida (Medrano *et al.*, 2014).

2.1.5. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO

Una forma alternativa para implementar la técnica de IA es la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) constituida por manipular el ciclo estral de las hembras a través de la aplicación de hormonas con la finalidad de obtener una ovulación forzosa en un periodo determinado, en detrimento del celo natural en los animales (Bó *et al.*, 2001).

2.1.6. PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN

La sincronización de ciclos estrales o celo se efectúa desde diferentes técnicas. Uno de los principales es la aplicación de dispositivos intravaginales que contienen progesterona el día cero junto con la aplicación inyectable de 2 mililitros (mL) de Benzoato de Estradiol. Luego al día siete se retiran los dispositivos intravaginales y se les aplica 2 mL de Prostaglandina F2 alfa y 1 mL de Cipionato de Estradiol. Finalmente, el día 9, entre 48 a 54 horas posteriores de retirados los dispositivos, se procede a la inseminación artificial. El uso de IATF registra un nivel de eficiencia aproximado del 50 %, por lo que existe una alta probabilidad de fracaso en los intentos de inseminación (Bó, *et al.*, 2001).

Para el control del ciclo estral en bovinos se emplean tratamientos hormonales de dosis múltiples dispuestos en orden de acuerdo a la función de cada componente del tratamiento llamados protocolos de reproducción programada mediante técnicas como la (IATF), de acuerdo a esto la muestra se dividen en dos grupos, un grupo de 5 vacas a las que se le aplica el tratamiento 1, y el segundo grupo de 6 vacas se les aplica el tratamiento 2 (Bó, *et al.*, 2001).

2.2. AMH E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se fundamenta en el empleo de fármacos comercialmente disponibles con la finalidad de sincronizar el ciclo estral y la ovulación de hembras bovinas. De esta forma se posibilita la IA en momentos predeterminados, sin necesidad de la previa detección del celo. La técnica de IATF está adecuadamente esparcida por el mundo y representa un método seguro y certero en el desarrollo de la reproducción de los hatos ganaderos (García *et al.*, 2017).

A través de esta técnica se ha podido ir abandonando el clásico método de monta natural, reduciendo la problemática reproductiva y generando mejor desempeño de la ganadería en términos de rentabilidad. Algunos de los factores limitantes de la reproducción que son minimizados con el uso del método IATF son: escasez de mano de obra calificada en el campo, fallas en la detección del celo, elevado número de vacas (Balarezo *et al.*, 2016).

Según Baruselli *et al.* (2016), el empleo de las técnicas de inseminación artificial (IA) y transferencia de embriones (TE) para multiplicar individuos superiores resulta un significativo avance genético de las ganaderías. En muchos establecimientos agropecuarios la aplicación de sendas técnicas aún presenta limitaciones, principalmente, debidas a las dificultades de ejecución del manejo y de la escasa disponibilidad de mano de obra calificada.

El desarrollo y mejoramiento de las técnicas de sincronización para IATF y protocolos para transferencia de embriones a tiempo fijo TETF, asociadas a los programas de resincronización, son herramientas aptas para alcanzar elevada eficiencia reproductiva de forma organizada, pre-determinada y con alta precisión. Por lo tanto, una vez establecido el objetivo de la actividad rural, la

incorporación de los respectivos programas, aumenta la productividad y la rentabilidad del sistema de producción (Baruselli *et al.*, 2016).

Estudios como el efectuado por Rapa (2016) en Brasil evaluaron el inicio de la resincronización en hembras de carne 28 a 32 días posteriores a la primera IATF (A) en el día del diagnóstico de gestación y 22 días después de la primera IATF (B) antes del diagnóstico de gestación (Figura 1). La elección del momento para el inicio del protocolo de resincronización, dependerá del sistema de producción, del manejo de potreros y lotes en el establecimiento, de los costos de producción y de la mano de obra.

La concentración sérica de Hormona Antimülleriana, al momento de la inseminación artificial, tiene una correlación moderada con el número de embriones transferibles que se obtienen en hembras bovinas sometidas a tratamientos superovulatorios. Es necesario realizar nuevos trabajos con muestras tomadas en otros momentos y con un número mayor de animales estudiados para poder llegar a una conclusión definitiva en cuanto al rol de la AMH como predictor del número de embriones transferibles que dará una vaca donante (Vales *et al.*, 2016).

2.3. AMH EN BOVINOS

Pfeiffer *et al.* (2014) establecieron entre las principales funciones de la AMH sobre los bovinos está la predicción del nivel de fertilidad de las hembras bovinas. Para este fin es necesario realizar exámenes diagnósticos sobre la sangre de los animales, estableciendo relaciones científicas entre el nivel de la glicoproteína sobre el porcentaje de preñez (Ribeiro *et al.*, 2014).

Estudios de Jiménez *et al.* (2015) determinaron que la medición de la glicoproteína (hormona Antimülleriana) se ha utilizado para el diagnóstico de patologías de monorquidismo y neoplasias testiculares en equinos, caninos y felinos, teniendo incidencia sobre variables reproductivas de los animales evaluados.

Según Ricardes (2015) altos valores séricos representan neoplasia ovárica en la hembra bovina, siendo un indicador de la reserva folicular existente en las

estructuras reproductivas de los animales. Los niveles séricos adecuados son determinantes para el desarrollo normal de la esteroidogénesis.

Peña (2013) en su estudio respuesta superovulatoria asociada a los niveles de hormona Antimülleriana en vacas donadoras, evidenció que los niveles de AMH superiores a 400 pg/mL predeterminan una mayor cantidad de folículos, de cuerpos lúteos y de embriones transferibles en vacas superovuladas.

En bovinos machos valores séricos elevados de en un estado prepuberal, es un indicativo fiable para la buena función sertoliana, pero valores fuera del rango sería un indicativo de tumores y valores altos después de la pubertad serian indicativos de un posible trastorno endocrino. Por lo cual la determinación plasmática de esta hormona resulta como un gran reto en la valoración de la capacidad reproductiva tanto en hembras como en machos, usándose como un factor de predicción (Ricardes, 2015).

Según Peña (2013) el nivel de AMH resultó ser un predictor significativo de la respuesta a la superovulación, principalmente durante la época templada donde los valores de asociación y de predicción resultaron mayores con respecto al número de folículos, de cuerpos lúteos y de embriones transferibles.

Por lo anteriormente expuesto, la hormona Antimülleriana se constituye en un marcador endócrino asociado a la respuesta ovárica de ganado bovino sometido a un tratamiento super ovulatorio, este efecto se potencia en zonas con climas templados o de climatología fría (Peña, 2013).

2.4. AMH EN OTRAS TECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS

Algunas son las tecnologías que han sido adaptadas a la naturaleza de la AMH para mejorar su desempeño en el mecanismo reproductivo bovino. Las tecnología se desarrollan en base a las oportunidades fisiológicas encontradas en la anatomía de los vacunos (Rodríguez y de Paula-Lopes, 2018).

De acuerdo con Almeida, *et al*, (2011) el número de folículos está estrechamente asociado a los niveles circulantes de la AMH. Esta proteína se

produce en la granulosa de los folículos antrales sanos de pequeño diámetro, por lo que su concentración sérica permitirá conocer la reserva de folículos susceptibles de responder a las gonatropinas en el momento de iniciar el tratamiento y así predecir la respuesta.

Los programas de recolección de ovocitos (OPU, por siglas en inglés ovum pick up) son un método eficiente para viabilizar la transferencia de embriones. Algunos estudios compararon el efecto del uso de eCG o FSH, para la superestimulación del crecimiento del folículo, sobre el número y la calidad de los complejos ovocito-cúmulo (COC) obtenidas por OPU en donantes Brangus y Angus. No se observaron efectos significativos de la sincronización de la onda folicular por ablación folicular o tratamiento con BE+P4 en cuanto al número total de folículos adecuados para ser aspirados ($14,8 \pm 1,2$ vs $14,5 \pm 1,4$), número de COC recuperados ($8,3 \pm 0,9$ vs. $7,8 \pm 1,0$) y el número de COC cultivados ($5,3 \pm 0,8$) (Baruselli *et al.*, 2016)

Estudios recientes realizados por Vieira *et al.* (2014) que evaluaron efectos de la superestimulación en donantes Holstein lactantes y no lactantes sometidas a una sincronización de emergencia de la onda folicular reporta que la superestimulación antes del procedimiento de OPU aumentó la eficacia OPU-PIV, independientemente de la categoría de la donante.

Sin embargo, encontraron que cualquiera sea el tratamiento de superestimulación, las vacas Holstein no lactantes tuvieron mejores resultados en la PIV en comparación con las donantes en lactación. Un segundo experimento se realizó con el objetivo de evaluar la eficacia de una sola inyección IM de FSH combinada con ácido hialurónico (AH) en donantes no lactantes sometidas a procedimientos de OPU-PIV (Vieira *et al.*, 2015).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

Se efectuó un estudio no experimental de tipo descriptivo por el nivel de caracterización de las variables estudiadas. Se desarrolló un estudio de campo a través de la recolección de información en el sitio en el que se produjeron los hechos investigativos.

3.1. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación se implementó en la hacienda El Sombrero, ubicada en la parroquia Cascol, cantón Paján, provincia de Manabí, Ecuador. La localidad del estudio se halla a una altitud de 149 msnm, entre las coordenadas sur: 1° 33' 0" y oeste: 80° 25' 60".

Fuente: (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2017).

3.1.1. CONDICIONES CLIMÁTICAS

La investigación tuvo lugar en la hacienda El Sombrero, que tiene una precipitación media anual de 1800 mm, temperatura media anual de 24 °C, humedad relativa anual del 75 % y una evaporación media anual de 1428,5 mm.

Fuente: (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2017).

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación en fase de campo se inició el 5 de febrero y concluyó el 6 julio del 2018.

3.3. FACTOR EN ESTUDIO

Hormona Antimülleriana

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se implementó un estudio de campo de tipo descriptivo, a través del cual se evaluaron tres rangos de la AMH sobre la tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo. Los rangos considerados son AMH 0-220 pg; nivel de AMH 220-305 pg y rango de AMH > 305 pg.

3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL

Se utilizaron 21 hembras Brahman, cada una de ellas comprende una unidad experimental.

3.6. VARIABLES

3.6.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Rangos de la Hormona Antimülleriana.

3.6.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- Rango de concentración de la AMH en suero sanguíneo pg/ml
- Tamaño de folículo dominante (mm)
- Tamaño de cuerpos lúteos (mm)
- Tamaño de ovario (cm)
- Tasa de preñez (%).

3.6.2.1. TAMAÑO DE FOLÍCULO DOMINANTE

El tamaño de los folículos se determinó con ultrasonografía endorectal mediante el conteo y medición (mm), los días 3 y 5 de la onda folicular y en la divergencia folicular; para esto las vacas fueron sincronizadas para conocer el momento de inicio de la emergencia folicular.

3.6.2.2. TAMAÑO DE CUERPO LÚTEO

Se evaluó mediante ultrasonografía la presencia y tamaño de cuerpo lúteo 72 horas después de los signos de celo y al día 30 post inseminación.

3.6.2.3. TASA DE OVULACIÓN

La tasa de ovulación se determinó a través de ultrasonografía mediante conteo del número de cuerpo lúteo 72 horas después de los signos de celo.

3.6.2.4. TAMAÑO DE OVARIO

Se midió el tamaño del ovario (cm) mediante ecografía endorectal al inicio del experimento.

3.6.2.5. RANGOS DE CONCENTRACIÓN DE AMH EN SUERO SANGUÍNEO

Los animales fueron seleccionados sobre la base de los niveles plasmáticos de AMH en suero sanguíneo: de 0-220 pg (T1); de 220-305 pg (T2); > 305 pg.

3.6.2.6. TASA DE PREÑEZ

Para determinar la preñez en las vacas receptoras se consideraron todas las vacas que no retornaron a celo, se confirmó a través de la ecografía a los 30 y 60 días post inseminación.

3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.7.1. ANÁLISIS DE VARIANZA

Cuadro 3.2. Esquema del ADEVA

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Tratamientos	3
Réplicas	6
Error experimental	18
Total	27

3.8. MANEJO DEL EXPERIMENTO

Se utilizaron 21 vacas Brahman que fueron sincronizadas en 3 réplicas seleccionados sobre la base de los rangos plasmáticos de AMH en suero sanguíneo: de 0-220 pg (T1); de 220-305 pg (T2); > 305 pg. Al inicio de cada replica se realizó ultrasonografía transrectal (Mindray, DP-50VET®, de 7,5 MHz, con transductor endorectal lineal de ultrasonido, (Shenzhen, China), con el objetivo de verificar patologías reproductivas, actividad ovárica y ciclicidad.

Luego del procedimiento señalado, se tomaron las muestras de sangre (4 mL) obtenidas por punción de la yugular. Para ello se empleó tubos al vacío con heparina de sodio (BD Vacutainer® NH; Becton Dickinson and Co, USA).

Las muestras se mantuvieron en refrigeración hasta su posterior envío al laboratorio. Luego fueron procesadas en el laboratorio de UNIMEVET, en donde se las sometió a centrifugación refrigerada (3200 revoluciones/minutos a 4°C) y almacenadas inmediatamente a -20° C, hasta su posterior análisis por ELISA para determinar los rangos séricos de AMH.

Se efectuó una prueba de ELISA para determinación de AMH en suero sanguíneo de las vaquillas experimentales se efectuó con el uso de kits de MOFA® para muestras de bovino (AMH ELISA simple test Kit Bovine Serum, 40 samples Max/Kit 21700/100) y el lector "Infinite 200 PRO Multimode Multiplate Reader". Las concentraciones de AMH fueron medidas en muestras de 50 µL de suero.

Las muestras de suero fueron descongeladas en baño de maría justo antes de la prueba de ELISA, sometidas a sacudido en vortex (MRC, Modelo: SI-100) y centrifugadas (C2203, Liston) a 3,200 revoluciones/minuto a 4°C. Seguidamente, las muestras se incubaron por 12 horas a 4°C en presencia de un primer anticuerpo, luego por 1,5 horas a temperatura ambiente en presencia del segundo anticuerpo para inmediatamente hacer las lecturas.

Concomitantemente, se realizó la ultrasonografía endorectal del seguimiento de la dinámica folicular a través del conteo y medición del tamaño de los folículos ováricos, tamaño de ovario, hasta llegar a la ovulación; similarmente se midió el cuerpo lúteo.

Después de los procedimientos descritos anteriormente, se sincronizaron las vacas seleccionadas al Día 0: se efectuó la aplicación de dispositivo intravaginal (Dispocel 1.2 g) + 2mL de Benzoato de Estradiol (Von Franken). Día 8: retirado del dispositivo y aplicación de 2 mL de Prostaglandina (estrogest), + 1,5 mL de sincro ecg. Día 9: Aplicación de 1 mL de Benzoato de Estradiol. Día 10: Procedimiento de aplicación de la IATF 54 horas post retiro del dispositivo intravaginal. Día 30 post la IATF: Ultrasonografía para evaluación de preñez.

Día 60 Post IATF se realizó la Reconfirmación de preñez de las vacas por ultrasonografía con el ecógrafo anteriormente descrito.

Los animales fueron sometidos a un protocolo de sincronización de la ovulación, con los objetivos de conocer el inicio de la onda folicular en todas las vacas para ser evaluadas en un momento prefijado y de igual forma para su posterior inseminación. Luego de iniciado el protocolo se iniciaron las

ecografías en los días 3, 5 y 8 del protocolo de sincronización para tratar de coincidir con los momentos de reclutamiento, elección y dominancia folicular. Donde se midió y conto los folículos agrupándolos en 3 categorías 2 a 4 mm, 4 a 7 mm y más de 7 mm.

Luego de la presentación del celo en todas las vacas, 72 horas después se procedió a la revisión ecográfica para la revisión y medición del cuerpo lúteo. Además, se realizó la medición de diámetro ovárico en todas las vacas. Posterior a la inseminación artificial, en el día 60 se realizó una nueva revisión ecográfica para determinar la tasa de preñez.

3.8.1. ETAPA 1: EFECTO DE LOS NIVELES DE LA HORMONA ANTIMÜLLERIANA SOBRE LA DINÁMICA OVÁRICA DE VACAS BRAHMAN TRATADAS CON UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

Esta etapa se desarrolló en dos sub fases: la primera, compuesta por la selección de animales, la toma de muestra de sangre, la selección de animales por nivel de hormona y la aplicación de protocolos. La segunda sub fase inició con la segunda toma de muestras, continuó con el proceso de inseminación artificial y culminó con el diagnóstico de gestación.

Al final del diagnóstico se estableció el efecto de la Hormona Antimülleriana sobre la dinámica ovárica de vacas tratadas, obteniéndose conclusiones parciales a través del análisis estadístico. Para este fin se confrontó el tamaño de folículo dominante (mm); número de cuerpos lúteos (N°); tamaño de cuerpos lúteos (mm); tamaño de ovario (cm) y nivel de concentración de AMH en suero sanguíneo ($\mu\text{g}/\text{mL}^3$).

3.8.2. ETAPA 2: DETERMINAR EL EFECTO DE LOS NIVELES DE LA HORMONA ANTIMÜLLERIANA SOBRE LA FERTILIDAD DE VACAS BRAHMAN TRATADAS CON UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

En la etapa dos se determinó el efecto de los niveles de La Hormona Antimülleriana sobre la fertilidad de vacas tratadas. Para este fin se evaluaron variables reproductivas como la tasa de concepción.

3.8.3. ETAPA 3: DETERMINACIÓN DEL COSTO-BENEFICIO ENTRE LA DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE AMH Y LA TASA DE PREÑEZ VACAS BRAHMAN TRATADAS CON UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

En la etapa tres se implementó un análisis económico utilizando la metodología costo beneficio entre la determinación del rango de AMH y la tasa de preñez vacas. De este modo se estableció el tratamiento con mejor desempeño económico, con la finalidad de recomendar un protocolo viable y sostenible.

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza para el estudio de las distintas variables dependientes estudiadas. Previamente se probaron los distintos supuestos del análisis de varianza. Para la caracterización de las diferencias estadísticas entre los tratamientos, se procedió a las comparaciones múltiples de medias por el método de Método LSD (diferencia significativa mínima de Fisher).

Se efectuaron regresiones estadísticas sobre algunas variables. Se realizó una regresión estadística simple para determinar la significancia del rango de concentración de AMH sobre el total de folículos. Adicionalmente, se desarrolló un análisis de regresión logística binaria con el que se asocia el rango de concentración de la AMH sobre la tasa de preñez. Para este fin se emplearon indicadores como la prueba ómnibus de coeficientes, el chi cuadrado y el factor Wald.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RANGO DE CONCENTRACIÓN DE LA AMH EN SUERO SANGUÍNEO

En el Cuadro 4.1 se presenta un análisis de varianza para la variable nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo el ADEVA al 5% de significancia reportó un $P=0,0007$, que demostró la existencia de diferencias altamente significativas entre los tratamientos en estudio. El coeficiente de variación fue del 4,62.

Cuadro 4. 1. Análisis de varianza, variable Nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo.	858104	2	429052.00	11.17	0.0007
HAM	858104	2	429052.00	11.17	0.0007
Error	691432.57	18	38413.00		
Total	1549536.57	20			

Cuadro 4. 2. Prueba de LSD para variable nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo.

AMH	MEDIAS	N	E.E.	CATEGORÍAS
3 (> 305 pg/MI)	642	7	74.08	A
2 (220-305 pg/MI)	251.43	7	74.08	B
1 (< 220 pg/MI)	183.14	7	74.08	B

En el Cuadro 4.2 se representa la prueba de (nombre completo) LSD al 5 % de significancia. Se evidenció que existen dos categorías estadísticamente diferentes. En la categoría A se encuentra el rango con presencia de la AMH superior a los 305 pg/mL con 642 promedio. En la categoría B se registraron los rangos entre 220-305 e inferior a los 220 pg/mL con 251,43 y 183,14 respectivamente.

Los resultados evidenciados para la variable nivel de concentración de la AMH identificaron tres rangos. Inferior a los 220 pg/mL, entre 220 y 305 pg/mL y otro rango con animales con más de 305 pg/mL, determinaron diferencias estadísticas significativas. Los animales con mejor comportamiento para esta variable se ubicaron dentro del rango de más de 305 pg/mL (Cuadro 4.2).

Estos rangos difieren a los estimados por Vales *et al.* (2016), quienes establecieron tres niveles de concentración de la AMH dispuestos de la siguiente manera: < 100 pg/ml; entre 100 a 200 pg/ml y > 200 pg/ml.

4.2. ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS DATOS

En el Cuadro 4.3 se registran valores de las medidas de tendencia central (media y mediana) y las de dispersión (desviación estándar y coeficiente de variación) e intervalo de confianza de las variables evaluadas durante la investigación.

Los resultados alcanzados por el presente estudio determinaron una media de 34 folículos dentro del rango de 2 a 4 milímetros. Este promedio es inferior al obtenido por Okawa *et al.* (2017), quienes evidenciaron 39 folículos dentro del rango de 2 a 4 milímetros. La investigación desarrollada en Morgantown (USA), se planteó sobre el comportamiento folicular de 84 bovinos especializados en producción de leche.

Adicionalmente, esta investigación evidenció un promedio de 1,11 folículos dentro del rango de 4,1 a 7 mm. Resultados que difieren a los obtenidos por Rajak *et al.* (2017), quienes obtuvieron un promedio de 3,67 folículos dentro del rango. Así mismo, el promedio de folículos dentro del rango más de 7 milímetros estableció un promedio de 1,19 folículos. Estos resultados son similares a los establecidos por Okawa *et al.* (2017), quienes encontraron 1,22 folículos promedio en su estudio de reproducción bovino.

Con los indicios científicos evidenciados a partir de otros estudios, se determina que los resultados hallados a través de las variables estudiadas, están dentro de los rangos fisiológicos de estudios realizados a nivel mundial.

Cuadro 4.3. Resumen descriptivo de las variables folículos de 2 a 4 mm, folículos de 4,1-7 mm, folículos >7 mm, tamaño de ovarios (cm) y tamaño del cuerpo lúteo (mm) en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

Estadístico	Folículos			Tamaño cuerpo lúteo	Tamaño ovarios	
	2 a 4 mm	4.1 a 7 mm	> 7 mm			
Media	34.38	1.11	1.19	2.87	2.68	
Mediana	32.33	1.50	1.50	3.66	2.63	
Desviación estándar	12.91	0.56	0.51	1.63	0.68	
Coeficiente de variación	38.90	47.66	41.02	57.11	26.56	
Intervalo de confianza (95%)	Min	31.67	0.67	0.67	5	1.27
	Max	52.3	1.3	1.3	10	2.5

4.3. RELACIONES ENTRE VARIABLES

De acuerdo con el análisis de regresión efectuado para los niveles de la AMH y el número total de folículos (Gráfico 4.1), se evidenció diferencias significativas ($p \leq 0,04$). Este modelo permite reportar que existe una relación causa-efecto entre la variable independiente (niveles de la AMH) y la variable dependiente (número total de folículos), sin embargo el nivel de relación es débil a consecuencia de que el coeficiente de determinación extraído es de (21 %).

Este resultado es inferior al obtenido por Vales *et al.* (2016), quienes establecieron un coeficiente de determinación cercano a 0,60, lo que indicó una moderada correlación entre el número de embriones transferibles y la concentración de AMH en suero.

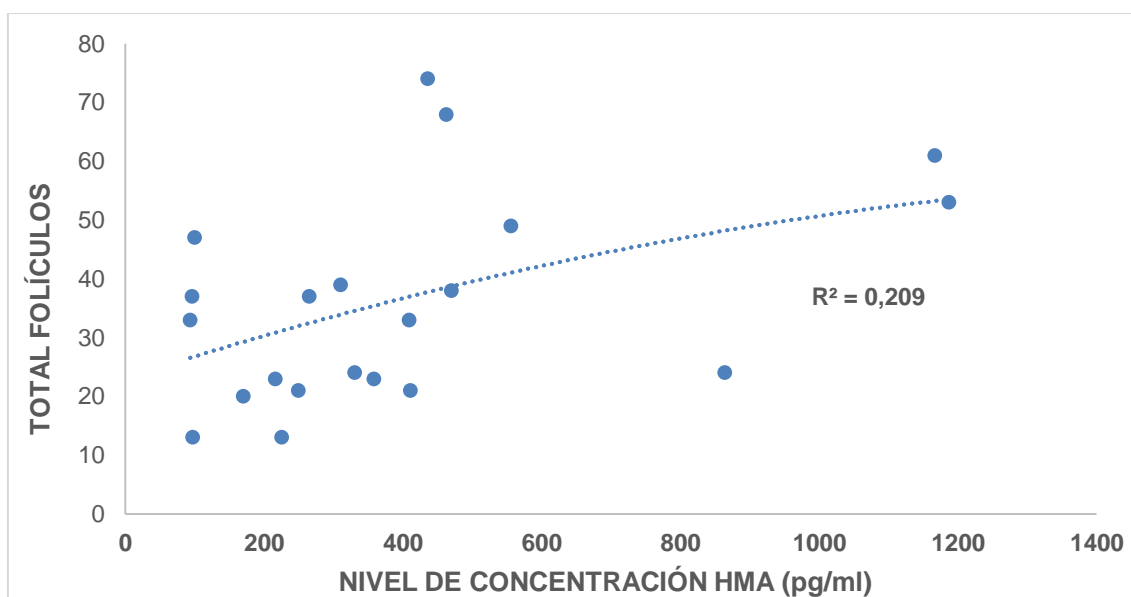


Gráfico 4.1. Comportamiento del número total de folículos en función de los niveles de la AMH en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

4.4. TAMAÑO DE FOLÍCULO (2 a 4 mm)

En el Cuadro 4.4 se presentan resultados para la variable tamaño del folículo (2 a 4 mm). El análisis de varianza al 5% de significancia estableció un p-valor (0,0023), lo que demuestra la existencia de diferencias significativas entre los niveles de AMH en estudio. El coeficiente de variación para esta variable fue del 9,32.

Cuadro 4. 4. ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (2 a 4 mm)

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3168.67	2	1584.33	8.67	0.0023
HAM	3168.67	2	1584.33	8.67	0.0023
Error	3290.29	18	182.79		
Total	6458.95	20			

FV= Frecuencia de variación. 9,32

Cuadro 4. 5. Prueba de LSD para variable tamaño del folículo dominante (2 a 4 mm)

AMH	MEDIAS	n	E.E.	CATEGORÍAS
3	51.71	7	5.11	A
2	26.71	7	5.11	B
1	24.71	7	5.11	B

En el Cuadro 4.5 se representa la prueba de LSD al 5 % de significancia. Se evidenció que existen dos categorías estadísticamente diferentes. En la categoría A se encuentra el rango con presencia de la AMH superior a los 305 pg/mL con 51,71 folículos como promedio. En la categoría B se registraron los rangos entre 220-305 e inferior a los 220 pg/mL con 26,71 folículos promedio y 24,71 respectivamente.

El estudio determinó que los tratamientos con animales con presencia de AMH superior a los 305 pg/mL, tuvieron un mejor comportamiento para la variable tamaño de folículo (2 a 4 mm). Esto establece que la AMH tuvo influencia positiva sobre la cantidad de esta estructura celular.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Rodríguez y Paula (2018), quienes evidenciaron un incremento del volumen de estructuras reproductivas en animales con presencia alta de AMH (superior a los 400 pg/mL). El estudio determinó una influencia positiva de la hormona sobre signos de preñez y fisiología reproductiva.

También Dickinson *et al.* (2016) determinó diferencias significativas sobre animales con presencia de AMH superior a los 350 pg/mL, para la variable tamaño de folículo dominante (2 a 4 mm). Las hembras estudiadas evidenciaron un mayor número de folículos entre los 2 y 4 milímetros en proporción al incremento de la presencia de la AMH.

Adicionalmente, Giraldo *et al.* (2017), demostraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos para la variable tamaño del folículo dominante (2 a 4 mm) sobre vacas con alto nivel de AMH. Se comprobó que el tamaño del folículo dominante resulta ser influenciado por la presencia de la AMH.

Recientemente, la atención se ha centrado en la hormona antimülleriana (AMH), brindando nueva información sobre el pool folicular y la respuesta a los tratamientos superovulatorios en bovinos. En esta especie, como en otras, la hormona antimülleriana se expresa específicamente por células de la granulosa de folículos antrales pequeños y disminuye durante el crecimiento folicular terminal y atresia (Monniaux, *et al.*, 2010)

4.5. TAMAÑO DE FOLÍCULO (4,1 a 7 mm)

En el Cuadro 4.6 se registran resultados para la variable tamaño del folículo (4,1 a-7 mm). El análisis de varianza al 5% de significancia muestra un p-valor (0,17), que evidencia que no existieron diferencias entre los tratamientos en estudio, en consecuencia, la mayor o menor presencia de la AMH no representa diferencias en el tamaño del folículo con tamaño superior a los cuatro milímetros; el coeficiente de variación para esta variable fue del 4,49.

Cuadro 4. 6. ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (4.1-7 mm).

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.52	2	0.76	1.92	0.17
HAM	1.52	2	0.76	1.92	0.17
Error	7.14	18	0.40		
Total	8.67	20			

FV= Frecuencia de variación. 4,49

Del mismo modo, Ricardes (2015) evidenció diferencias no significativas para el tamaño folicular superior a los 4,5 milímetros en vacas con nivel superior de presencia de AMH. Este autor determinó, sin embargo, que la presencia masiva de la AMH tiene efecto sobre valores de indicadores reproductivos como tasa de preñez, estructuración del aparato reproductivo y desarrollo ovular.

Contrasta con esta información los resultados obtenidos por Giraldo *et al.* (2017), quienes evidenciaron diferencias significativas para el tamaño folicular superior a los 4,5 milímetros en vacas con alto nivel de AMH. Se comprobó que el incremento del tamaño folicular es proporcional a la presencia de la AMH.

Los resultados también difieren con los obtenidos por Pierucci (2017) quien evidenció una fuerte incidencia del nivel de AMH sobre variables reproductivas como tamaño folicular superior a los 5 milímetros. Este efecto se debe a que existe una interrelación entre los indicadores de preñez y la AMH. Existen muchos estudios que indican la existencia de una correlación positiva entre el nivel de AMH y el número de folículos, el recuento de ovocitos y la respuesta de superovulación, respectivamente.

4.6. TAMAÑO DE FOLÍCULO DOMINANTE (más de 7.1 mm)

En el Cuadro 4.7 se registran resultados para la variable tamaño del folículo dominante (más de 7,10 mm). El análisis de varianza al 5% de significancia reveló un p-valor (0,16), que muestra la inexistencia de significancia entre los tratamientos en estudio. El coeficiente de variación para esta variable fue del 4,83.

Cuadro 4. 7. ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (más de 7.1 mm).

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.14	2	0.57	2.00	0.16
HAM	1.14	2	0.57	2.00	0.16
Error	5.14	18	0.29		
Total	6.29	20			

FV= Frecuencia de variación. 4.83

Estos resultados se asemejan a los de Ricardes (2015) quien evidenció diferencias no significativas para el tamaño folicular superior a los 7,10 milímetros en vacas con rango superior a los 305 pg/mL. Este autor determinó además que la presencia masiva de la AMH incide sobre valores de reproducción como tasa de preñez, estructuración del aparato reproductivo y desarrollo ovular.

En este contexto, Mohallem (2017) demostró que la AMH incide sobre el tamaño folicular superior a los 7,1 milímetros y otros indicadores reproductivos.

Con ello se demuestra que existe influencia del nivel de concentración de AMH sobre la actividad reproductiva de bovinos.

4.7. TAMAÑO DE CUERPOS LÚTEOS

En el Cuadro 4.8 se registran resultados para la variable tamaño de cuerpos lúteos. El análisis de varianza al 5% de significancia reveló un p-valor de (0,38), que evidencia no significancia entre los tratamientos en estudio. El coeficiente de variación para esta variable fue del 13,51.

Cuadro 4. 8. ADEVA para variable tamaño de cuerpos lúteos

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	72.24	2	36.12	1.01	0.38
HAM	72.24	2	36.12	1.01	0.38
Error	645.78	18	35.88		
Total	718.01	20			

FV= Frecuencia de variación. 13,51

Los resultados encontrados en el presente trabajo de investigación son similares a los obtenidos por Díaz (2016), quien en su estudio no encontró diferencias estadísticas significativas en lo que respecta al tamaño de cuerpos lúteos.

4.8. TAMAÑO DEL OVARIO

El análisis de varianza para la variable tamaño de ovario no mostró diferencias significativas, el p-valor obtenido es de 0,49 y el coeficiente de variación es de 9,15.

Cuadro 4. 9. ADEVA para variable tamaño del ovario

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo.	0.88	2	0.44	0.73	0.49
HAM	0.88	2	0.44	0.73	0.49
Error	10.97	18	0.61		
Total	11.85	20			

FV= Frecuencia de variación. 9,15

La no significancia del presente trabajo para la variable tamaño del ovario, concuerda con lo reportado por Chamba *et al.* (2017), quienes publicaron que el tamaño del ovario es indiferente en relación con las variables reproductivas de naturaleza bovina.

4.9. TASA DE PREÑEZ

Según el Cuadro 4.10, la tasa de preñez determinada por el examen respectivo, determinó a un 43 % de preñez en animales en todos los tratamientos.

Cuadro 4. 10. Tasa de preñez de los animales estudiados

Código de los animales estudiados	AMH	Preñez	Tasa de preñez
188	194	Vacía	
23	179	Preñada	
3259	160	Vacía	
20	209	Preñada	
203	216	Vacía	
182-9	156	Preñada	
1	168	Vacía	43
114	249	Vacía	
137	265	Vacía	
21	277	Vacía	
19	247	Preñada	
17	235	Preñada	
15	262	Preñada	
121	225	Vacía	43
18	930	Vacía	
62-9	864	Preñada	
182	456	Vacía	
vaca roja	1166	Vacía	
22	410	Preñada	
16	310	Preñada	
71-9	358	Vacía	43

Para establecer la relación entre el nivel de concentración de AMH en la sangre y la preñez de las vacas, fue necesario realizar un análisis de regresión logística. Los resultados extraídos determinaron un 52,4% de probabilidades de preñez, cuando se evidencian altos niveles de AMH (Cuadro 4.11).

Para la prueba ómnibus de coeficientes del modelo, la puntuación de eficiencia estadística indica que hay una mejoría significativa en la predicción de la probabilidad de ocurrencia de la preñez (Chi cuadrado 19,504; gl 1; $P < 0.001$), lo que asegura la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Al respecto Basuselli *et al.* (2015) comenta que la medición de la AMH circulante en el ganado puede ser útil para identificar animales con mayor probabilidad de haber mejorado respuestas superovulatorias al tratamiento con gonadotropina, así como los mejores donantes de ovocitos para la producción de embriones in vitro. Además, aunque no podemos descartar la posibilidad de utilizar AMH para seleccionar vacas con fertilidad mejorada; más investigación básica y aplicada son necesario para dilucidar si la carne de res puede usar AMH y operaciones lácteas para identificar animales con mayor fertilidad y vida productiva.

Cuadro 4. 11. Bloque 0 del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

Observado	PREÑEZ	Pronosticado		
		PREÑEZ	Porcentaje correcto	
Paso 0		,00	100,00	
		,00	11	0
		100,00	10	0
Porcentaje global				52.40

Cuadro 4. 12. Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

Paso 1		Chi-cuadrado	Gl	Sig.
	Paso	19.50	1	0.00
	Bloque	19.50	1	0.00
	Modelo	19.50	1	0.00

Adicionalmente, se evidenció que la prueba de significancia y validez Wald arrojó un resultado menor que 0,01, lo que demuestra que los resultados

asociados a la relación de las variables estudiadas, no pueden generalizarse a toda la población. El nivel de significancia (0,99) no representa diferencias significativas (Cuadro 4.13), lo que demuestra una débil correlación entre las variables estudiadas.

Cuadro 4. 13. Prueba de significancia y validez Wald del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

		B	Error estándar	Wald	Gl	Sig.	Exp. (B)
Paso	Nivel AMH	21.234	10689.261	0.000	1	0.998	1666295438.97
1^a	Constante	-42.755	21378.522	0.000	1	0.998	0.000

4.10. ANÁLISIS DE COSTO BENEFICIO

El análisis de costo-beneficio no determinó diferencias significativas entre los niveles de AMH en los animales estudiados. El porcentaje de preñez obtenido para cada uno de los niveles de AMH fue del 43 %. En consecuencia, el nivel de la hormona Antimülleriana no representa variaciones en los costos ni en la rentabilidad del protocolo.

4.11. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

En función de la hipótesis establecida al inicio de la investigación las vacas con rangos de AMH superiores a 305 pg incrementan la tasa de preñez en vacas sometidas protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo que en vacas con rangos de AMH inferiores a 305 pg una vez obtenido lo resultados, éstos permiten declarar la negación de la misma, toda vez que los indicadores estudiados no registraron influencia entre los rangos de AMH y la tasa de preñez.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Se evidenció que los rangos de la AMH influyen sobre la dinámica ovárica de vacas Brahman tratadas con un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo.

Animales con presencia de AMH superior a los 305 pg/mL tuvieron un incremento de los folículos dominantes (2 a 4 mm), que permite asumir que la AMH influyó sobre la cantidad de folículos de estas dimensiones. Adicionalmente, existieron diferencias numéricas, aunque no estadísticas para el tamaño folicular superior a los 4,1 milímetros y tamaño del ovario.

Se confirmó preñez del 43,0 % en cada grupo de vacas correspondientes a los niveles de AMH estudiados respectivamente. No se evidenció que exista relación entre los niveles de AMH de las vacas vacías y las preñadas. Los resultados obtenidos reportaron un 52,4% de probabilidades de preñez cuando se evidencian altos niveles de AMH.

El análisis de beneficio-costos no determinó diferencias numéricas ni estadísticas entre los niveles de AMH.

5.2. RECOMENDACIONES

Diseñar nuevas investigaciones sobre el efecto de los niveles de AMH sobre la fertilidad en vacas a diferentes edades.

Estructurar futuros estudios que evidencien la influencia de la AMH con la consideración de otras variables como número de partos, la edad de los animales, las razas y el nivel tecnológico implementado dentro de los protocolos de inseminación sobre los parámetros reproductivos.

Organizar estudios que tengan diferenciación de paquetes tecnológicos en sus biotecnologías reproductivas y que su implementación sea sujeta a evaluación respecto a la orientación de propiciar la mejora en la disponibilidad de información académica generada por los análisis económicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A., Lichtman, A., y Pillai, S. 2012. *Inmunología celular y molecular*. Barcelona: Elvevier.
- Aguayo, D. 2014. *Determinación de las alteraciones ováricas macroscópicas en hembras bovinas faenadas en el camal municipal frigorífico Ambato (Bachelor's thesis)*. Ambato: Universidad Técnica de Ambato.
- Alexander, S., y Irvine, C. 1993. FSH and LH. En McKinnon AO, Voss JL. *Equine Reproduction*. Lea y Febiger, 121-132.
- Almeida, J., Ball, B., Conley, A., Place, N., Liu, I., Scholtz, E., Moeller, B. 2011. Biological and clinical significance of anti-Müllerian hormone determination in blood serum of the mare. *Theriogenology*, 76:1393-1403.
- Anduaga, I., Lambrechts, P., Genesio, K., Grunwaldt, M., Cano, N., Rautenberg, G., Vautier, R. 2015. Hormona Antimülleriana (AMH) como predictor del potencial reproductivo en bovino (Brangus). *Pasaje Observatorio*, 12(3), 11-16.
- Arias, F. 2012. *El Proyecto de Investigación. Introducción a la metodología científica*. Caracas: 5ta. Fideas G. Arias Odón.
- Arslan, S., y Keles, I. 2017. The relationship between the levels of the fluoride ion and the thyroid hormones in goats with fluorosis. *Fluoride*, 50(1), 135.
- Arteaga, M., y Alcívar, V. 2019. *Evaluación de los niveles de hormona antimülleriana sobre la dinámica folicular en vaquillas Brahman*. Calceta: ESPAM MFL.
- Asamblea Nacional. 2008. *Constitución Política del Ecuador*. Quito: Registro Oficial.
- Balarezo, L., Díaz, J., Barreto, M., y López, R. 2016. Metabolic and reproductive state of Holstein cattle in the Carchi region, Ecuador. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(3).
- Baldrighi, J., Sá Filho, F., Batista, D., Lopes, N., Visintin, J., Baruselli, P., y Assumpção, E. 2014. Anti-Mullerian Hormone Concentration and Antral Ovarian Follicle Population in Murrah Heifers Compared to Holstein and Gyr Kept Under the Same Management. *Reproduction in domestic animals*, 49(6), 1015-1020.

- Baruselli, P. B., Vieira, L., y Souza, A. 2015. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. *Anim. Reprod.*, 12(3), 487-497.
- Batista, E., Macedo, G., Sala, R., Ortolan, M., Sa Filho, M., Del Valle, T., Baruselli, P. 2014. Plasma Antimullerian Hormone as a Predictor of Ovarian Antral Follicular Population in *Bos indicus*(Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) Heifers. *Reproduction in domestic Animal*, 49,1015-1020.
- Bó, G., y Mapletoft, R. 2018. Embryo Transfer Technology in Cattle. In *Animal Biotechnology 1. Springer Cham*, pp.107-133.
- Bó, G., Cutaia, L., G., B., M., M., Tribulo, R., y Tribulo, H. 2001. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestágenos y estradiol. *IV Simposio Internacional de Reproducción Animal*, 117-136.
- Calero, M., Gutiérrez, J., López, I., Mangano, A., Bailén, M., y Torrejón, R. 2017. Niveles de hormona antimulleriana en suero y líquidos foliculares como marcadores predictivos de respuesta ovárica en tratamientos de reproducción asistida. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica*, 4(1), 22-31.
- Callejas, S. 2014. *Fisiología del ciclo estral bovino*, pp 37 – 60. Palma, G.A.: Biotecnología de la Reproducción.
- Chalabi, S., Wattar, Y., y Algalili, I. 2012. Anti-Mullerian Hormone is a significant Marker for Male infertility. *Tikrit Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8:1-5.
- Chamba, H., Benítez, E., y Pesántez, M. 2017. Factores predisponentes para la enfermedad quística ovárica bovina y su efecto en la eficiencia reproductiva. *Revista de Medicina Veterinaria*, (35), 17-28.
- Chen, X., Wei, H., Yang, Y., Xue, H., Zhao, W., y Zhao, M. 2015. Serum hormone concentrations and ovarian follicular wave emergence in Jilin sika deer (*Cervus nippon hortulorum*) after synchronization of estrous cycles. *Animal Reproduction Science*, 153, 44-49.
- de Vet, A., Laven, J., de Jong, F., Themmen, A., y Fauser, B. 2002. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertility and sterility*, 77(2), 357-362.
- Díaz, P. 2016. Rol biológico de la BMPs y la AMH en la patogenia de la persistencia folicular relacionada con la Enfermedad Quística Ovárica Bovina. *Revista Veterinaria Argentina*, 1 (2) 23-39.

- Dickinson, S., Geary, T., Monnig, J., Pohler, K., Green, J., y Smith, M. 2016. Efeito da maturação do folículo pré-ovulatório no estabelecimento da prenhez em bovinos: o papel da competência oocitária e do ambiente materno. *Anais da XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*, 107.
- Fanchin, R., Schonäuer, L., Righini, C., Frydman, N., Frydman, R., y Taieb, J. 2003. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Human reproduction*, 18(2), 328-332.
- Filipiak, Y., Viqueira, M., y Bielli, A. 2016. Desarrollo y dinámica de los folículos ováricos desde la etapa fetal hasta la prepuberal en bovinos. *Veterinaria (Montevideo)*, 52(202), 2-2.
- Galvez, F., Sandoval, A., y Borunda, J. 2004. El factor de crecimiento transformante B como blanco terapéutico. *Salud Pública de México*, 46:341-350.
- García, J., Barreto, M., y Pazinato, J. 2017. Eficacia de dos tratamientos hormonales para la inducción del celo en la vaca lechera. *Archivos de zootecnia*, 66(253), 67-71.
- Gigli, I., Russo, A., y Agüero, A. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet*, 8(1), 183-204.
- Ginther, O. 1992. *Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. Cross Plains Wisconsin*, . Québec, Canadá: Equiservices Publishing.
- Giraldo, J., Ramirez, S., Oquendo, J., y Betancur, G. 2017. Evaluación de la estimulación ovárica y la calidad de oocitos bovinos obtenidos por aspiración folicular. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 6(1), 20-28.
- González, J. 2013. *Respuesta superestimuladora de vaquillas holstein tratadas con dos dosis de somatotropina*. Chapingo : Universidad Autónoma de Chapingo.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. 2010. *Metodología de la investigación*. México D.F.: Limusa.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. 2017. *Boletín Climatológico Anual*. Quito: INAHMI.
- Jimenez-Krassel, F., Scheetz, D., Neuder, L., Ireland, J., Pursley, J., Smith, G., Ireland, J. 2015. Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers

- is positively associated with productive herd life. *Journal of Dairy Science*, 98:3036-3045.
- Karkanaki, A., Vosnakis, C., y Panadis, D. 2011. The clinical significance of anti-Müllerian hormone evaluation in gynecological endocrinology. *Hormones*, 10 :95-103.
- Lahoz, B., Alabart, J., Monniaux, D., Mermillod, P., y Folch, J. 2012. Anti-Müllerian hormone plasma concentration in prepubertal ewe lambs as a predictor of their fertility at a young age. *BMC veterinary research*, 8(1), 118.
- Leyva, C. 1999. *Transferencia no quirúrgica de embriones en el ganado bovino*. Nueva Mexicali: Universidad de Baja California.
- Lisker, R., Zentella, A., y Grether, P. 2013. *Introducción a la genética humana*. México D.F.: Manual Moderno.
- Manniaux, D., Baril, G., Laine, A., Jarrier, P., Poulon, N., Cognie, J., y Fabre, S. 2011. Antimüllerian hormone as a predictive endocrine marker for embryo production in the goat. *Reproduction*, 142,185-194.
- Medrano, J., Evangelista, S., Sandoval, R., Ruiz, L., Delgado, A., y Santiani, A. 2014. Aplicación de la técnica no quirúrgica de transferencia de embriones bovinos en un establo de la cuenca lechera de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 25(1), 103-107.
- Mohallem, R. 2017. Caracterização da população de folículos ovarianos pré-antrais de fetos bovinos e cultivo in vitro de tecido ovariano associado a proteína morfogenética óssea. *Reprodução Bovina*, 4: 123-137.
- Monniaux, D., Barbey, S., Rico, C., Fabre, S., Gallard, Y., y Larroque, H. 2010. Anti-Müllerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 22 (7), 1083-1091.
- Naveda, N., Guamán, W., y Marín, P. 2015. Eficiencia reproductiva de diferentes genotipos bovinos en la Amazonia Ecuatoriana. *Maskana 6 (Supl.)*, 193-194.
- Okawa, H., Tomiki, M., Ishida, T., Kawaguchi, H., Wijayagunawardane, M., y Takagi, M. 2017. Clinical diagnosis of bovine granulosa cell tumour in a Holstein cow using plasma anti-Müllerian hormone concentration: a case report. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), 529-532.
- Padilla, M. 2016. *Formulación y evaluación de proyectos*. México D.F.: Ecoe Ediciones.

- Parra, M., Parra, C., Garzón, D., García, G. Á., Inga, C., y Viera, G. 2017. Superovulación con sincronización de la onda folicular y con celo natural en vacas Holstein. *Revista de Producción Animal*, 29(1), 41-44.
- Peña, C. 2013. *Respuesta superovulatoria asociada a los niveles de hormona Antimülleriana en vacas donadoras*. Tepic: Universidad de Baja California.
- Pérez, L., Romero, J., y Rojas, R. 2015. Evaluación de dos protocolos de inseminación artificial a término fijo (IATF) con dos inductores de ovulación (benzoato de estradiol y cipionato de estradiol) en vacas raza criollo caqueteño en el departamento del Caquetá. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(9), 1-11.
- Pfeiffer, K., Jurado, L., y Larson, J. 2014. Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology*, 46:58-64.
- Pierucci, J. 2017. Caracterização de polimorfismos do gene AMH e sua associação com características indicadoras de precocidade sexual em novilhas da raça Nelore. *Revista veterinária brasileira*, 10:95-103.
- Pixelis. 2018. *Coordenadas UTM de Cascol*. Obtenido de <https://maps.pixelis.es/>
- Rajak, S., Kumaresan, A., Attupuram, N., Chhillar, S., Baithalu, R., Nayak, S., y Yadav, S. 2017. Age-related changes in transcriptional abundance and circulating levels of anti-Müllerian hormone and Sertoli cell count in crossbred and Zebu bovine males. *Theriogenology*, 89, 1-8.
- Rapa, C. 2016. Reproducción y Fertilidad. *Revista Argentina de Producción Animal*, 36, 1-32.
- Ribeiro, E., Bisinotto, R., Lima, F., Greco, L., Morrison, A., Kumar, A., . . . Santos, J. 2014. Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *American Dairy Science Association*, 97:6888-6900.
- Ricardes, M. 2015. *Efectos de la hormona antimülleriana (AMH) en bovinos*. Torreón: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Rico, C. 2009. Anti-Müllerian Hormone is an Endocrine Marker of Ovarian Gonadotropin- Responsive Follicles and Can Help to Predict Superovulatory Responses in the Cow. *Biology of reproduction*, 80, 50-59.

- Rico, C., Médigue, C., Fabre, S., Jarrier, P., Bontoux, M., Clément, F., y Monniaux, D. 2011. Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biology of reproduction*, 84(3), 560-571.
- Rodríguez, T., y de Paula-Lopes, F. 2018. Efeitos deletérios da temperatura elevada na função de oócitos bovinos: o papel do fluido folicular. *VI Congreso Aupa-Asociación Uruguaya De Producción Animal*, p. 108.
- Russ, S. 1998. Play, Creativity, and Adaptive Functioning: Implications for Play Interventions. *Journal of Clinical Child Psychology*, Vol. 27, No.4, 469-480.
- Salgado, R., Vergara, M., y Vergara, O. 2015. Impacto de la utilización de inseminación artificial con detección de celo e inseminación artificial a término fijo en vacas mestizas manejadas bajo el sistema doble propósito. *Revista Científica*, 25(1).
- Sawyer, H., Smith, P., Heath, D., Juengel, J., Wakefield Kenneth, S., y McNatty, P. 2002. Formation of ovarian follicles during fetal development in sheep. *Biol Reprod*, 66(4):1134-50.
- Silva, E., Velásquez, E., Santos, A., Bartz, M., Lavelle, P., y Brown, G. 2015. Indicador general de calidad del suelo en diferentes sistemas de uso del suelo en el Sur de Brasil. *Revista Latinoamericana de Agroecología-SOCLA*, 27-28.
- Souza, H., Carvalho, D., Rosner, E., Vieira, M., Hackbart, S., Bender, W., . . . Wiltbank, C. 2015. Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98:169-178.
- Valderrama, P., Carbellido, S., y Domínguez, B. 1995. Ansiedad y estilos de afrontamiento en mujeres con cáncer cervicouterino. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 27(1).
- Vales, C., Recavarren, M., Gual, F., y Bianchi, C. 2016. *Relación entre las concentraciones de hormona antimülleriana y el número de embriones transferibles en hembras bovinas*. Tandil: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.
- Vieira, C., Rodrigues, A., Castro, B., Guerreiro, R., Silveira, J., Freitas, L., Baruselli, P. 2015. Superstimulation prior to the ovum pick-up to improve in vitro embryo production in lactating and non-lactating Holstein cows. *Theriogenology*, 34(1):178-187.

- Vieira, C., Rodrigues, A., Castro, B., Guerreiro, R., Silveira, J., Moreira, F., . . . Baruselli, P. 2014. Superstimulation prior to the ovum pick-up to improve in vitro embryo production in lactating and non-lactating Holstein cows. *Theriogenology*, 82(2):318-324.
- Watson, E., Bae, S., Thomassen, R., Thomson, S., Woad, K., y Armstrong, D. 2004. Insulin-like growth factors-1 and -2 and Insulin-like growth factor-binding protein-2 in dominant equine follicles during spring transition and the ovulatory season. *Reproduction*, 128(3): 321-9.
- Yen, S., Jaffe, R., y Barbieri, R. 2011. *Endocrinología de la reproducción: fisiología, fisiopatología y manejo clínico. Reproducción animal*. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.

ANEXOS

Anexo N.º 1: Registros estadísticos

HAM	TAMAÑO_FOL (2 a 4 mm)	TAMAÑO_FOL (4.1 a 7 mm)	TAMAÑO_FOL (más de 7.1 mm)	Tamaño de cuerpos lúteos (cm)	Tamaño del ovario (cm)	HMA	Preñez
1	32	1.5	0.5	0.5	2.18	194	0
1	35	1.5	1.5	3.66	2.4	179	0
1	11	1.5	1.5	3.96	3.81	160	0
1	45	0.5	1.91	0.5	2.85	209	0
1	17	1.91	1.5	3.82	2.45	216	0
1	22	0.5	1.5	0.5	2.45	156	0
1	11	1.5	1.5	3.36	3.4	168	0
2	21	0.5	0.5	0.5	2.69	249	0
2	35	1.5	1.5	3.66	3.1	265	0
2	37	1.5	1.5	3.66	3.25	277	1
2	22	1.5	1.5	4.24	2.73	247	0
2	21	1.5	1.5	4.24	2.7	235	0
2	33	0.5	0.5	4.11	2.9	262	1
2	18	1.91	1.5	3.96	2.6	225	1
3	73	0.5	1.5	1.72	3.65	930	1
3	68	0.5	0.5	4.37	1.85	864	1
3	38	0.5	0.5	0.5	0	456	1
3	47	1.5	1.5	4.37	3.15	1166	1
3	22	1.5	1.5	0.5	2.65	410	1
3	61	0.5	0.5	4.06	2.73	310	1
3	53	0.5	0.5	4.06	2.7	358	1

Anexo N.º 2: Análisis de varianza, variable Nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo.	858104	2	429052.00	11.17	0.0007
HAM	858104	2	429052.00	11.17	0.0007
Error	691432.57	18	38413.00		
Total	1549536.57	20			

Anexo N.º 3: Prueba de LSD para variable nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo.

AMH	MEDIAS	N	E.E.	CATEGORÍAS
3 (> 305 pg/MI)	642	7	74.08	A
2 (220-305 pg/MI)	251.43	7	74.08	B
1 (< 220 pg/MI)	183.14	7	74.08	B

Anexo N.º 4: Resumen descriptivo de las variables folículos de 2 a 4 mm, folículos de 4,1-7 mm, folículos >7 mm, tamaño de ovarios (cm) y tamaño del cuerpo lúteo (mm) en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

Estadístico	Folículos			Tamaño cuerpo lúteo	Tamaño ovarios	
	2 a 4 mm	4.1 a 7 mm	> 7 mm			
Media	34.38	1.11	1.19	2.87	2.68	
Mediana	32.33	1.50	1.50	3.66	2.63	
Desviación estándar	12.91	0.56	0.51	1.63	0.68	
Coefficiente de variación	38.90	47.66	41.02	57.11	26.56	
Intervalo de confianza (95%)	Min	31.67	0.67	0.67	5	1.27
	Max	52.3	1.3	1.3	10	2.5

Anexo N.º 5: ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (2 a 4 mm)

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3168.67	2	1584.33	8.67	0.0023
HAM	3168.67	2	1584.33	8.67	0.0023
Error	3290.29	18	182.79		
Total	6458.95	20			

Anexo N.º 6: Prueba de LSD para variable tamaño del folículo dominante (2 a 4 mm)

AMH	MEDIAS	n	E.E.	CATEGORÍAS
3	51.71	7	5.11	A
2	26.71	7	5.11	B
1	24.71	7	5.11	B

Anexo N.º 7: ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (4.1-7 mm).

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.52	2	0.76	1.92	0.17
HAM	1.52	2	0.76	1.92	0.17
Error	7.14	18	0.40		
Total	8.67	20			

Anexo N.º 8: ADEVA para variable tamaño del folículo dominante (más de 7.1 mm).

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.14	2	0.57	2.00	0.16
HAM	1.14	2	0.57	2.00	0.16
Error	5.14	18	0.29		
Total	6.29	20			

Anexo N.º 9: ADEVA para variable tamaño de cuerpos lúteos

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	72.24	2	36.12	1.01	0.38
HAM	72.24	2	36.12	1.01	0.38
Error	645.78	18	35.88		
Total	718.01	20			

Anexo N.º 10: ADEVA para variable tamaño del ovario

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo.	0.88	2	0.44	0.73	0.49
HAM	0.88	2	0.44	0.73	0.49
Error	10.97	18	0.61		
Total	11.85	20			

Anexo N.º 11: Tasa de preñez de los animales estudiados

Código de los animales estudiados	AMH	Preñez	Tasa de preñez
	T1		
188	194	Vacía	
23	179	Preñada	
3259	160	Vacía	
20	209	Preñada	
203	216	Vacía	
182-9	156	Preñada	
1	168	Vacía	43
	T2		
114	249	Vacía	
137	265	Vacía	
21	277	Vacía	
19	247	Preñada	
17	235	Preñada	
15	262	Preñada	
121	225	Vacía	43
	T3		
18	930	Vacía	
62-9	864	Preñada	
182	456	Vacía	
vaca roja	1166	Vacía	
22	410	Preñada	
16	310	Preñada	
71-9	358	Vacía	43

Anexo N.º 12: Bloque 0 del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

		Pronosticado			
		PREÑEZ		PREÑEZ	Porcentaje correcto
Observado Paso 0	PREÑEZ	,00	,00	100,00	
		11	10	0	100.0
		100,00		0	0.00
Porcentaje global					52.40

Anexo N.º 13: Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

		Chi-cuadrado	Gl	Sig.
Paso 1	Paso	19.50	1	0.00
	Bloque	19.50	1	0.00
	Modelo	19.50	1	0.00

Anexo N.º 14: Prueba de significancia y validez Wald del análisis de regresión logística para las variables nivel de concentración de la AMH en suero sanguíneo vs tasa de preñez en vacas Brahman tratadas con un protocolo de IATF.

		B	Error estándar	Wald	Gl	Sig.	Exp. (B)
Paso 1 ^a	Nivel AMH	21.234	10689.261	0.000	1	0.998	1666295438.97
	Constante	-42.755	21378.522	0.000	1	0.998	0.000

Anexo N.º 15: Toma de muestra



Anexo N.º 16: Aplicación de Dispositivo



Anexo N.º 17: Confirmación de preñez



Anexo N.º 18: Revisión de datos tomados

