



INIA
INSTITUTO NACIONAL
DE INVESTIGACIONES
AGRÍCOLAS

AÑO 2019. VOL. 37 NÚM. 1-2

ZOOTECNIA TROPICAL

TABLA DE CONTENIDO Vol. 37 N° 1-2

Artículos Científicos

da Rosa, JV; de Souza, AIA; Timm, CD.

- Yersinia enterocolitica* em pescados do estuário da Lagoa dos Patos, Brasil** 7
 (*Yersinia enterocolitica* from fishes from the Lagoa dos Patos estuary, Brazil)

Silva, FFC; Ferreira, JLS; Calil, FN.

- Produtividade da forrageira Tamani em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) na região sul de Goiás** 15
 (*Tamani forage productivity in an integration crop-livestock-forest (ICLS) system in south of Goiás*)

Macías A., J; Vivanco M., Hurtado G., E; Carreño M., Á.

- Niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana y su relación con la población folicular en hembras Brahman** 25
 (*Plasma levels of the Anti-Müllerian Hormone and its relationship with the follicular population in Brahman females*)

Mesa F., A; Mesa P., C; Millán H., O; Luigi S., T; Ramírez M., L; Rojas, L.

- Evaluación de la calidad sanitaria durante el procesamiento del jamón cocido, en una empresa del estado Carabobo, Venezuela** 35
 (*Assesment of the sanitary quality during processing of cooked ham in a company of Carabobo state, Venezuela*)

Nota Técnica

Garcés M., J; Díaz L., Á; González, L.

- Caracterización preliminar de la pesca artesanal de arrastre camaronero en el occidente de Venezuela** 45
 (*Preliminary characterization of artisanal shrimp trawling fisheries in the western of Venezuela*)

- Instrucciones al autor 53

Niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana y su relación con la población folicular en hembras Brahman

Jorge Macias Andrade^{1*}, Henry Vivanco Mackie², Ernesto A. Hurtado¹, Ángela Carreño Mendoza¹

¹Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López" (ESPAM-MFL), Área Agropecuaria. Calceta, Ecuador. ²Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima, Perú. *Correo electrónico: jorgeignaciomacias@hotmail.com

Resumen

La hormona antimülleriana (HAM) funciona como un modulador del desarrollo folicular y su nivel plasmático es independiente de la etapa del ciclo estral. Dado que la diferencia en la población folicular dentro y entre razas, es un factor a considerar en la biotecnología reproductiva, se considera que el nivel plasmático de HAM es una herramienta útil para seleccionar donantes de embriones. Con la finalidad de determinar la relación entre los niveles plasmáticos de HAM y la población folicular en hembras Brahman, se seleccionaron al azar 60 individuos entre 18 y 132 meses de edad, en el cantón Paján, provincia de Manabí, Ecuador. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial de los tratamientos. El factor A correspondió a la categoría del animal (vacas y vaquillas) y el factor B correspondió a los niveles de HAM (100-200; 200-300 y más de 300 pg.mL⁻¹) con diez repeticiones. Se realizaron análisis estadístico descriptivo, análisis de varianza y ajustes de regresión. Se observó mayor número de folículos pequeños, grandes y totales a medida que aumentaron los niveles de HAM, los cuales fueron explicados a través de un ajuste cuadrático positivo, cuyo máximo fue alcanzado alrededor de 756 pg.mL⁻¹. A partir de ese nivel ocurrió el descenso en la población de folículos. Los niveles plasmáticos de HAM representaron un indicador confiable de la población de folículos y un biomarcador para predecir el potencial reproductivo de la hembra Brahman.

Palabras clave: folículos, niveles plasmáticos, HAM, cuerpo lúteo, reproducción.

Plasma levels of the Anti-Müllerian Hormone and its relationship with the follicular population in Brahman females

Abstract

The Anti-Müllerian hormone (AMH) works as a modulator of follicular development and its plasma level is independent of the stage of the estrous cycle. Given that the difference in follicular population within and between breeds is a factor to consider in reproductive biotechnology, the plasma level of AMH is considered to be a useful tool for selecting embryo donors. To determine the relationship between plasma AMH levels and the follicular population in Brahman females, 60 individuals between 18 and 132 months of age were randomly selected in the Paján canton, Manabí province, Ecuador. A completely randomized experimental design with a factorial arrangement of the treatments was used. Factor A corresponded to the category of the animal (cows and heifers) and factor B corresponded to AMH levels (100-200, 200-300 and more than 300 pg.mL⁻¹) with ten repetitions. Descriptive statistical analysis, analysis of variance and regression adjustments were made. A bigger number of small, large, and total follicles were found as levels of the AMH increased, which were explained through a positive quadratic adjustment, whose maximum was reached around 756 pg.mL⁻¹. From that level the decrease in the follicle population occurred. Plasma levels of the AMH accounted for a reliable indicator of the follicle population and a biomarker to predict the reproductive potential of the female Brahman.

Key words: follicles, plasma levels, AMH, corpus luteum, reproduction.

INTRODUCCIÓN

La hormona antimülleriana (HAM) es producida principalmente por folículos preantrales o antrales, pequeños y medianos (3 a 7 mm) en el ganado (Rico *et al.* 2009) y funciona como un modulador del desarrollo folicular, previniendo la atresia folicular temprana y el agotamiento de la reserva folicular pre-antral (Monniaux *et al.* 2012).

Aunque es altamente variable entre los individuos, su concentración sérica es altamente repetible dentro de los animales y muestra poca variabilidad a lo largo de las muchas etapas de los ciclos reproductivos y estros del ganado (Ireland, JJ *et al.* 2011).

La relación entre el nivel sérico de HAM y el número de folículos ha sido reportada por Broekmans *et al.* (2008). Rico *et al.* (2009) muestran que el nivel sérico de HAM se relaciona con el número de folículos ováricos y proponen un rol importante de esta hormona en la selección de folículos dominantes. La HAM participa en el desarrollo del folículo y es producida principalmente por folículos preantrales y antrales. Según Monniaux *et al.* 2012, la HAM inhibe la transformación de folículos primordiales a folículos primarios, durante el reclutamiento inicial de la foliculogénesis, e inhibe la sensibilidad a la hormona folículo estimulante en el reclutamiento cíclico.

Liang *et al.* (2016), reportaron que la concentración de HAM disminuyó al aumentar el diámetro folicular, observándose una concentración entre 4 a 12 veces mayor en folículos pequeños en comparación a la registrada en folículos medianos y grandes. Por su parte, Del Río *et al.* (2017) no encontraron evidencia estadística para asociar el tamaño del folículo con las concentraciones séricas de HAM.

Se indicado la posibilidad, que los niveles de AMH estén asociados con la calidad ovocitaria y la fertilidad (Ireland, JJ *et al.* 2009), la producción de andrógenos (Mossa *et al.* 2010) y la proporción y mantenimiento de embarazos (Ribeiro *et al.* 2014). También se correlaciona positivamente con la respuesta a la superovulación (Ireland, JJ *et al.* 2007), la producción de embriones en ganado lechero (Monniaux *et al.* 2010, Guerreiro *et al.* 2014) y con la longevidad del rebaño (Jimenez-Krassel *et al.* 2015).

Por lo tanto, la concentración de HAM representa un marcador genotípico confiable y puede ser de mucha utilidad en la identificación y posterior selección genética de bovinos con potencial reproductivo superior.

El agotamiento de la reserva ovárica folicular está relacionado con la senescencia reproductiva en las hembras de mamíferos, y existe una asociación positiva entre el tamaño de la reserva ovárica y el número de folículos antrales en la superficie del ovario (Ireland, JJ *et al.* 2007). Existe evidencia considerable de que las reducciones en la reserva ovárica se asocian con reducciones en la fertilidad, independientemente de la edad (Ball 2011). Sin embargo, estudios de Guerreiro *et al.* (2014) en ganado bovino no encontraron variaciones en la concentración plasmática de HAM a lo largo de la vida, especialmente entre individuos jóvenes y adultos.

Por otro lado, la raza parece tener una influencia significativa en la eficiencia de los programas de recolección y producción de embriones *in vitro* en el ganado. Se han informado mejores resultados en vacas y novillas cuando se utilizan las razas *Bos indicus* en lugar de las razas *Bos taurus* (Gimenes *et al.* 2015). En tal sentido, Batista *et al.* (2016) reportaron que las terneras *Bos indicus* (Nelore) tenían más folículos preantrales y antrales en sus ovarios que las novillas, lo que resultó en mayores concentraciones de HAM en este grupo de animales cuando fueron comparados con terneras y novillas *Bos taurus* (Holstein). Similarmente, Santa Cruz *et al.* (2018) indican, que las concentraciones de HAM no fueron útiles para seleccionar las novillas Hereford menos fértiles después del destete o el servicio previo, pero sí podrían ser de utilidad en la selección de novillas Braford, ya que con altos niveles de HAM alcanzan la pubertad a una edad temprana.

En función de lo antes descrito, la presente investigación tuvo como objetivo determinar la relación entre los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana y la población folicular de vacas y vaquillas de la raza Brahman.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización geográfica y rebaño experimental

El rebaño experimental se localizó en el establo de la compañía Aura Germania, emplazado en el cantón Paján, provincia de Manabí (01°33'0"S: 80°25'60"O), a altitud de 110 m.s.n.m., temperatura promedio anual 24°C y precipitación pluviométrica promedio anual de 1500 mm. Las determinaciones hormonales se realizaron en el Laboratorio Biotecnológico de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López" (ESPAM-MFL), localizado en el cantón Bolívar, (0°49'23"S: 80°11'01"O) y altitud de 15 m.s.n.m., ambas localidades en la República del Ecuador.

Se seleccionaron al azar 60 hembras, de un rebaño constituido por 1.500 bovinos de alto valor genético de la raza Brahman, mantenido en potreros donde destacaron las gramíneas *Cynodon nlemfuensis* y *Panicum maximum* (Saboya), y con suplementación mineral concentrada suficiente para cubrir sus requerimientos nutricionales de acuerdo a edad, peso, producción y condición fisiológica. El abastecimiento de agua de bebida fue realizado a través de fuentes naturales. Los animales seleccionados se organizaron en dos categorías, vaquillas entre 24 y 30 meses ($n = 30$), y vacas con más de 3 años de edad ($n = 30$). La condición corporal (CC) de los individuos en ambas categorías varió de 2,75 a 3 (escala del 1 al 5)

Evaluación reproductiva y sincronización ovárica

Se verificó la ausencia de animales prepúberes, en condición de anestro, la presencia de quistes ováricos o de otras patologías inflamatorias como

endometritis y píometra, mediante una revisión ginecológica con un ecógrafo (DP 50 Vet; Shenzhen Mindray) y transductor lineal de 7,5 MHz en modo B.

Se estableció un protocolo para el reinicio de una nueva onda folicular y sincronización de la ovulación (Figura 1). Para esto se usó un dispositivo con progesterona en el día 0 (DIB® 0.5; Zoetis) y una dosis de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis), el día 8 se retiró el dispositivo y se administró una dosis de 0,15 mg de prostaglandina (Ciclase DL®; Zoetis), el día 9 se inyectó 1 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis). A partir de la inserción del dispositivo con progesterona (día 0), todas las hembras fueron revisadas con ecografía transrectal en los días 4, 6, 8, 9, 10 y 13, como mecanismo de supervisión del protocolo hormonal

El número y tamaño de los folículos se determinó con ultrasonografía transrectal en el día 4 (inicio de la onda folicular) y en el día 8 (momento de la divergencia folicular), mientras que el tamaño del cuerpo lúteo se cuantificó por ultrasonografía a las 72 horas después de los signos de celo. El tamaño ovárico de los animales también fue medido por ecografía transrectal.

Determinación hormonal

Para la determinación de los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana se usó un kit ELISA específico (AHM ELISA simple test Kit Bovine Serum, 40 samples Max/Kit 21700/100; MOFA®). Antes del inicio del protocolo de sincronización, se realizó colecta de sangre (4 mL), mediante punción en la vena yugular, con el uso de tubos BD Vacutainer™ NH con heparina sódica (Becton Dickinson®).

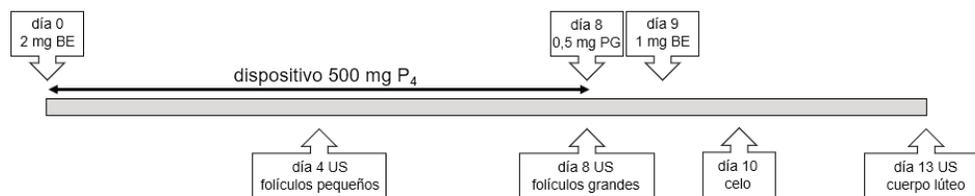


Figura 1. Protocolo de sincronización ovárica y evaluación ecográfica. BE: benzoato de estradiol, P₄: progesterona, PG: prostaglandina, US: ultrasonido.

Las muestras de sangre se procesaron por medio de centrifugación refrigerada a 3.200 g por 10 minutos a 4 °C y el plasma colectado fue almacenado a -20 °C hasta realizar el análisis ELISA.

Para el análisis de ELISA, las muestras de plasma fueron descongeladas en baño de maría, remezcladas en un agitador de vórtice y centrifugadas a 3.200 g por 10 minutos a 4 °C, luego incubadas por 12 horas a 4 °C en presencia de un primer anticuerpo; a continuación, se realizó una segunda incubación por 1,5 horas a temperatura ambiente en presencia del segundo anticuerpo; el proceso finalizó con la medida de absorbancia en el lector Infinite® 200 PRO, de acuerdo a los métodos descritos por Monniaux *et al.* (2008), Rico *et al.* (2009) y Rico *et al.* (2012). Las concentraciones de HAM se cuantificaron en muestras de 50 µL de plasma.

Diseño estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de los tratamientos. El factor "A" correspondió a la categoría del animal (vacas y vaquillas) y el factor "B" correspondió a los niveles de la hormona antimülleriana (100-200; 200-300 y más de 300 pg.mL⁻¹) establecidos de acuerdo al muestreo de sangre, con diez repeticiones, cada una representada por un animal.

Se realizó el análisis estadístico descriptivo de las variables, a través de medidas de tendencia central y de dispersión. Previo al análisis de

varianza (ANAVA), se evaluaron los supuestos de normalidad de los residuos y homocedasticidad mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett respectivamente, y se cumplieron las condiciones para el ANAVA. Las comparaciones de los valores promedios se realizaron por la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad.

De forma adicional, se determinó el grado de relación funcional de las variables cuantificadas a través de modelos de regresión. En las regresiones se ajustó la relación entre los niveles de la hormona antimülleriana y el número de folículos (pequeños, grandes y totales). Los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat® (Di Rienzo *et al.* 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis descriptivo de las variables evaluadas se muestra en el Cuadro 1, donde se destaca que los niveles de HAM presentaron promedio de 297,25 pg.mL⁻¹, mientras que la mediana fue de 250,65 pg.mL⁻¹, tal condición permite evidenciar que el valor promedio se aproxima más al tercer cuartil (310,4 pg.mL⁻¹), lo cual refleja una distribución sesgada hacia la izquierda, con pocos valores ubicados en los mayores niveles de HAM que tienen impacto sobre la media obtenida. Esta situación se refleja en los elevados coeficientes de variación obtenidos para esta variable (62,46 %).

Para las variables número de folículos pequeños, folículos grandes y folículos totales, la media y la mediana mostraron valores similares, lo cual es

Cuadro 1. Resumen descriptivo de las variables: niveles de la hormona antimülleriana (HAM) (pg.mL⁻¹), número de folículos -pequeños, grandes y totales-, tamaño del cuerpo lúteo (mm) y de ovarios (cm) en vacas y vaquillas Brahman.

Variable	n	Media	Mediana	Q ₁	Q ₃	D.E	CV
HAM	60	297,25	250,65	197,4	310,4	185,65	62,46
Folículos pequeños	60	20,68	18,50	13	27	10,24	49,50
Folículos grandes	60	14,22	13,00	11	18	5,16	36,29
Folículos Totales	60	34,88	34,00	24	42	13,89	39,83
Cuerpo lúteo	41	13,66	13,80	12	15	3,30	24,14
Ovario derecho	59	2,82	2,80	2,4	3,1	0,46	16,44
Ovario izquierdo	59	2,79	2,72	2,25	3,37	0,64	23,10

Q₁: primer cuartil, Q₃: tercer cuartil, D.E: desviación estándar, CV: coeficiente de variación.

Cuadro 2. Resumen del análisis de varianza para las variables: número de folículos; tamaño del cuerpo lúteo (mm) y tamaño de ovarios (cm), para la dinámica folicular de vacas y vaquillas Brahman.

Fuente de variación	gl	Cuadrados Medios					
		número de folículos			cuerpo lúteo (mm)	ovarios (cm)	
		pequeños	grandes	totales		Derecho	Izquierdo
Categoría	1	110,08 ^{ns}	2,61 ^{ns}	143,97 ^{ns}	21,92 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Rango HAM	2	1572,29 ^{**}	99,94 [*]	892,49 ^{**}	25,36 ^{ns}	0,64 ^{ns}	0,32 ^{ns}
Categoría*Rango HAM	2	72,12 ^{ns}	20,03 ^{ns}	16,94 ^{ns}	6,15 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Error	54	133,48	23,01	71,60	9,50	0,204	0,440
CV		23,18	23,62	28,64	15,80	11,18	16,64

gl: grados de libertad; (*): significancia de 0,05; (**): significancia de 0,01; ns: no significativo; CV: coeficiente de variación.

indicativo de una distribución normal de los datos; los valores promedio fueron de 20,68; 14,22 y 34,88 con coeficientes de variación de 49,50; 36,29 y 39,83 para folículos pequeños, grandes y totales, respectivamente. Similarmente, el tamaño del cuerpo lúteo y el tamaño de los ovarios también mostraron valores similares de media y mediana, con coeficientes de variación relativamente bajos.

En el análisis de varianza presentado en el Cuadro 2 se observó diferencias significativas en el factor Rango de HAM, para las variables número de folículos pequeños, grandes y totales; mientras que para las variables tamaño del cuerpo lúteo y tamaños de ovarios no se detectaron efectos significativos. Para el factor categoría del animal (vacas y vaquillas) y para la interacción Categoría*Rango HAM no se detectaron diferencias estadísticas para ninguna de las variables.

De manera general, la tendencia de los valores promedios para los tres tipos de folículos cuantificados, es que a mayores niveles de HAM, se tiene mayor cantidad de folículos (Cuadro 3). En todos los casos, los valores más elevados del número de folículos pequeños, grandes y totales están vinculados al rango de más de 300 pg.mL⁻¹ de HAM, que resultaron estadísticamente superiores a los valores promedios observados en los otros dos niveles de la hormona (100-200 y 200-300 pg.mL⁻¹), los cuales son similares entre sí.

Hernández (2012) señala, que la hembra bovina nace con aproximadamente 200 mil folículos, de los cuales muy pocos se activan o inician su crecimiento y la mayor parte de ellos sufre atresia en diferentes etapas de desarrollo. Al nacimiento los folículos están en la fase más elemental y se conocen como folículos primordiales. Posteriormente estos

Cuadro 3. Comparación de valores promedios para los diferentes rangos de la HAM en relación al número de folículos, tamaño de cuerpo lúteo y tamaño de ovarios en vacas y vaquillas Brahman.

Rango HAM (pg.mL ⁻¹)	número de folículos			cuerpo lúteo (mm)	ovarios (cm)	
	pequeños	grandes	totales		derecho	izquierdo
100 - 200	14,48 b	12,58 b	27,02 b	13,93 a	2,57 a	2,65 a
200 - 300	20,30 b	13,24 b	33,53 b	14,27 a	2,85 a	2,82 a
más de 300	29,37 a	17,17 a	46,54 a	15,28 a	2,96 a	2,91 a

Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por la prueba de Tukey a 5 %

folículos se activan y se transforman en primarios y secundarios, hasta este momento los folículos no tienen antro (etapa preantral) y su desarrollo es independiente de las gonadotropinas. Luego, con la formación del antro pasan a denominarse folículos terciarios y su desarrollo es dependiente de las gonadotropinas (etapa antral).

La dinámica folicular de las vacas ocurre en dos o tres ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral, iniciando con un conjunto de folículos reclutados a partir del grupo de folículos antrales más pequeños (2 a 4 mm), que han recibido una señal que les induce a crecer y desarrollarse en vez de sufrir regresión (Borges *et al.* 2001).

Cada onda folicular se divide en: reclutamiento, selección, desviación y dominancia. Durante el reclutamiento, una cohorte de folículos antrales es estimulado por el aumento transitorio de la hormona folículo estimulante. En la vaca, inicia el reclutamiento de un grupo de 5 a 10 folículos que posteriormente son sometidos a un proceso de selección, que tiene como resultado la dominancia de un único folículo y la regresión de los folículos restantes (Aerts y Bols 2010).

Ireland, JL *et al.* (2008), sostienen que la variación en el conteo de folículos antrales durante las olas foliculares está asociada a las alteraciones en las concentraciones circulantes de HAM. En tal sentido, Rojas *et al.* (2014) indican que esta hormona actúa inhibiendo el reclutamiento inicial de los folículos primordiales a primarios o disminuyendo el efecto de la hormona folículo estimulante sobre el crecimiento de folículos preantrales y antrales pequeños, con el fin de limitar el número de folículos antrales, regulando el número de folículos preovulatorios o asegurando la maduración de un solo ovulo.

Relación entre niveles de la hormona antimülleriana y número de folículos

La Figura 2 muestra el comportamiento del número de folículos en función de los niveles de la hormona antimülleriana. De manera general, se obtuvo un ajuste de tipo cuadrático que resultó significativo; constándose una relación causa-efecto entre las variables estudiadas.

El análisis de regresión entre los niveles de HAM y el número de folículos pequeños mostró diferencias significativas, presentando un ajuste cuadrático descrito por la ecuación 1.

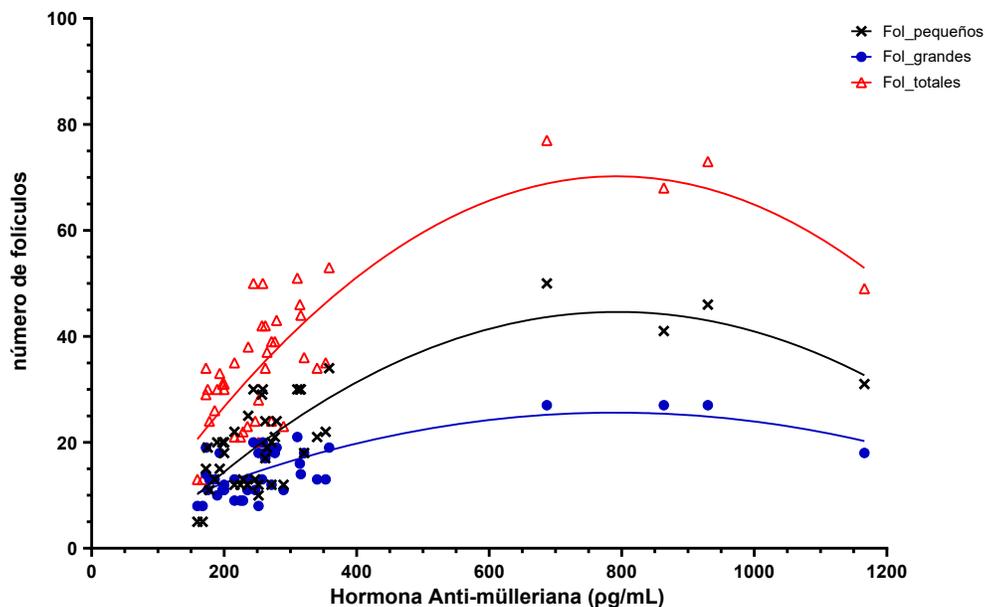


Figura 2. Relación entre niveles de la Hormona Anti-mülleriana hembras Brahman y el número de folículos pequeños, grandes y totales.

$$\hat{y} = -0,00009X^2 + 0,1362 - 9,40 \text{ Ec. 1}$$

con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,66. En el caso del número de folículos grandes se ajustó la ecuación 2.

$$\hat{y} = -0,00004X^2 + 0,0603X - 1,77 \text{ Ec. 2}$$

y el coeficiente de determinación (R^2) fue 0,51; finalmente para el número total de folículos se presentó un ajuste cuadrático definido por la ecuación 3.

$$\hat{y} = -0,0001X^2 + 0,1965X - 7,63 \text{ Ec. 3}$$

y su coeficiente de determinación (R^2) fue 0,67.

En las tres situaciones planteadas, la diferencia entre los valores observados y pronosticados fue significativa.

La tendencia observada ratifica que las hembras con mayor cantidad de folículos tienen mayores niveles de la hormona antimülleriana, hasta alcanzar un máximo que varía ligeramente dependiendo del tipo de folículo considerado, siendo que para los folículos pequeños el máximo se alcanzó con 757 (pg.mL⁻¹), para los folículos grandes el máximo correspondió a 754 (pg.mL⁻¹), mientras que para los folículos totales fue de 756 (pg.mL⁻¹), a partir de estos valores ocurre el descenso en la población de folículos.

En concordancia con los resultados obtenidos, diversos estudios señalan que la población de folículos antrales se correlaciona positivamente con la hormona antimülleriana (Baldrighi *et al.* 2014, Guerreiro *et al.* 2014). La expresión de HAM se observa en células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales en crecimiento (Rico *et al.* 2011), y se describe como un modulador prematuro del crecimiento folicular al controlar el agotamiento prematuro de la reserva folicular en los ovarios (Monniaux *et al.* 2012, Durlinger *et al.* 2002). La expresión de HAM intrafolicular aumenta hasta que el tamaño del folículo es de 5 mm en las vacas (Rico *et al.* 2011) y luego comienza a disminuir en los folículos antrales más grandes (Monniaux *et al.* 2008).

Similarmente, García-Guerra *et al.* (2017) señalan que, en las hembras, la producción de HAM se limita a las células granulosas de los folículos en crecimiento, siendo que el mayor aporte lo realizan los folículos preantrales grandes y

folículos antrales pequeños. En el ganado bovino, la HAM circulante está altamente correlacionada con contaje de folículos antrales y el número de ovocitos recuperados después de la captación del óvulo y la respuesta superestimuladora.

Rico *et al.* (2009), encontraron que las concentraciones de HAM fueron mayores en vacas con folículos antrales de 3 a 7 mm de diámetro, en comparación con aquellas con folículos grandes (más de 7 mm de diámetro), e infieren que los mayores niveles de HAM están asociados a la mayor proporción de folículos antrales pequeños y medianos que estaban activos en el momento de iniciarse la onda folicular.

Gobikrushanth *et al.* (2017), detectaron que para los niveles de la HAM se obtuvo mayor repetibilidad en relación al número de folículos antrales, este comportamiento sugiere que las concentraciones periféricas de HAM pueden ser un biomarcador más confiable que el conteo de folículos para evaluar la asociación con los resultados reproductivos; por otro lado, el estudio también señala la existencia de correlaciones moderadas e independientes en las etapas foliculares.

Por su parte, Koizumi y Kadokawa (2017) no detectaron ninguna relación entre la concentración plasmática de HAM y el número de folículos mayores de 5 mm, así como tampoco lograron detectar correlación entre el tamaño de los folículos más grandes, el cuerpo lúteo y la concentración plasmática de progesterona. Tal comportamiento se atribuyó a que gran parte de la HAM plasmática se originó a partir de células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales pequeños y no de los folículos antrales más grandes o del cuerpo lúteo (Bhide *et al.* 2016).

Varios estudios han demostrado que las concentraciones de HAM son variables entre los grupos genéticos y están fuertemente asociadas al número de folículos antrales. Guerreiro *et al.* (2014) reportaron que en novillas Nelore (24 - 26 meses de edad) las concentraciones promedio de HAM en suero alcanzaron un valor de 1,4 ng.mL⁻¹ y Pfeiffer *et al.* (2014) obtuvo concentraciones de HAM entre 0,042 y 0,054 ng.mL⁻¹ en Angus, Charolais y vaquillas cruzadas nulíparas, respectivamente. Las concentraciones de HAM y el número de

foliculos fueron mayores en Gyr (0,6 ng/ml y 60,0 respectivamente) en comparación con Holstein (0,24 ng.ml⁻¹ y 35,9; respectivamente) y búfalos (0,18 ng.mL⁻¹ y 25,6 respectivamente) de la raza Murrah (Baldrighi *et al.* 2014).

En búfalos, Liang *et al.* (2016) demostraron que la concentración de HAM intrafolicular disminuye a medida que aumenta el tamaño folicular, y los foliculos pequeños (3 a 5 mm) aportan la mayor parte de la HAM, de forma similar a otras especies. El contenido total de HAM por foliculo disminuyó significativamente en los foliculos medianos (5 a 8 mm) y se redujo aún más en los foliculos grandes (mayor a 8 mm).

Las diferencias significativas detectadas en el análisis de varianza para el número de foliculos pequeños, grandes y totales y la tendencia de aumento de sus valores a medida que se incrementan los niveles plasmáticos de HAM, constatadas por medio del análisis de regresión, ratifican la existencia de una relación causa-efecto entre los niveles de HAM y la población de foliculos. Tal planteamiento consolida la evidencia obtenida inicialmente por el análisis de correlación positiva entre esas variables como fue indicado por (Ireland, JL *et al.* 2008, Rico *et al.* 2009, Baldrighi *et al.* 2014, Guerreiro *et al.* 2014, Gobikrushanth *et al.* 2017 y García-Guerra *et al.* 2017). Lo anterior corrobora que los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana se constituyen en un indicador confiable para predecir la reserva folicular en las hembras de la raza Brahman.

CONCLUSIONES

Se constató la tendencia de que las hembras con mayor cantidad de foliculos pequeños, grandes y totales tienen mayores niveles de la hormona antimülleriana. Los mayores valores estuvieron vinculados al rango de más de 300 pg.mL⁻¹.

Se evidenció una mayor cantidad de foliculos a medida que las hembras bovinas presentaron mayores niveles de HAM hasta alcanzar un máximo alrededor de 756 pg.mL⁻¹. A partir de ese nivel ocurrió un descenso en la población de foliculos.

Los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana representaron un indicador confiable de la población de foliculos y un biomarcador para predecir el potencial reproductivo de la hembra Brahman.

LITERATURA CITADA

- Aerts, JM; Bols, PE. 2010. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reproduction in Domestic Animals* 45:180-187.
- Baldrighi, JM; Sá Filho, MF; Batista, EO; Lopes, RN; Visintin, JA; Baruselli, PS; Assunção, ME. 2014. Anti-Müllerian hormone concentration and antral ovarian follicle population in murrah heifers compared to holstein and gyr kept under the same management. *Reproduction in Domestic Animals* 49:1015-1020.
- Ball B. 2011. Embryonic loss. *Equine reproduction, Volume 2:2327-2338.*
- Batista, EO; Guerreiro, BM; Freitas, BG; Silva, JC; Vieira, L; Ferreira, RM; Rezende, RG; Basso, AC; Lopes, RN; Rennó, FP; Souza, AH; Baruselli, PS. 2016. Plasma anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for in vitro embryo production. *Domestic animal endocrinology* 54:1-9.
- Bhide, P; Homburg, R. 2016. Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome. *Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology* 37:38-45.
- Borges, AM; Torres, CA; Ruas, JR; Jr Rocha, VR; Carvalho, GR. 2001. Dinámica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 53(5):595-604.
- Broekmans, FJ; Visser, JA; Laven, JS; Broer, SL; Themmen, AP; Fauser, BC. 2008. Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 19(9):340-347.
- Del Río Avilés, AD; Nieto Villanueva, E; Sánchez Castro, MÁ; Zamorano Algardar, R; Torres

- Simental, JF; Méndez Castillo, MG; Acosta Bauza, S; Torres Garaygordobil, A; Luna Nevárez, P. 2017. La hormona anti-mülleriana como un marcador endócrino asociado a la fertilidad postparto en Vacas Holstein. *La Sociedad Académica* 49:50-56.
- Di Rienzo, JA; Casanoves, F; Balzarini, M; González, L; Tablada, M; Robledo, V. 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Durlinger, AL; Grujters, MJ; Kramer, P; Karels, B; Ingraham, HA; Nachtigal, MW; Uilenbroek, JT; Grootegoed, JA; Themmen, AP. 2002. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 143(3):1076-1084.
- García-Guerra, A; Motta, JC; Melo, LF; Kirkpatrick, BW; Wiltbank, MC. 2017. Ovulation rate, antral follicle count, and circulating anti-Müllerian hormone in Trio allele carriers, a novel high fecundity bovine genotype. *Theriogenology* 101:81-90.
- Gimenes, LU; Ferraz, ML; Fantinato-Neto, P; Chiaratti, MR; Mesquita, LG; Sá Filho, MF; Meirelles, FV; Trinca, LA; Rennó, FP; Watanabe, YF; Baruselli, PS. 2015. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pickup does not significantly affect in vitro embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis*. *Theriogenology* 83(3):385–393.
- Gobikrushanth, M; Dutra, PA; Bruinje, TC; Colazo, MG; Butler, ST; Ambrose, DJ. 2017. Repeatability of antral follicle counts and anti-Müllerian hormone and their associations determined at an unknown stage of follicular growth and an expected day of follicular wave emergence in dairy cows. *Theriogenology* 92:90–94.
- Guerreiro, BM; Batista, EO; Vieira, LM; Sá Filho, MF; Rodrigues, CA; Castro Netto, A; Silveira, CR; Bayeux, BM; Dias, EA; Monteiro, FM; Accorsi, M; Lopes, RN; Baruselli, PS. 2014. Plasma anti-müllerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. *Domestic animal endocrinology* 49:96–104.
- Hernández, CJ. 2012. Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros. Desarrollo foliular. Delegación Coyoacán México D.F. pp. 20-24.
- Ireland, JJ; Smith, GW; Scheetz, D; Jimenez-Krassel, F; Folger, JK; Ireland, JL; Mossa, F; Lonergan, P; Evans, AC. 2011. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reproduction, Fertility and Development* 23(1):1-14.
- Ireland, JJ; Ward, F; Jimenez-Krassel, F; Ireland, JL; Smith, GW; Lonergan, P; Evans, AC. 2007. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. *Human Reproduction* 22(6):1687-1695.
- Ireland, JJ; Zielak-Steciwo, AE; Jimenez-Krassel, F; Folger, J; Bettegowda, A; Scheetz, D; Walsh, S; Mossa, F; Knight, PG; Smith, GW; Lonergan, P; Evans, AC. 2009. Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. *Biology of Reproduction* 80(5):954-964.
- Ireland, JL; Scheetz, D; Jimenez-Krassel, F; Themmen, AP; Ward, F; Lonergan, P; Smith, GW; Perez, GI; Evans, AC; Ireland, JJ. 2008. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of Reproduction* 79(6):1219-1225.
- Jimenez-Krassel, F; Scheetz, DM; Neuder, LM; Ireland, JL; Pursley, JR; Smith, GW; Tempelman, RJ; Ferris, T; Roudebush, WE; Mossa, F; Lonergan, P; Evans, AC; Ireland, JJ. 2015. Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated

- with productive herd life. *Journal of Dairy Science* 98(5):3036-3045.
- Koizumi, M; Kadokawa, H. 2017. Positive correlations of age and parity with plasma anti-Müllerian hormone concentrations in Japanese Black cows. *The Journal of Reproduction and Development* 63(2):205-209.
- Liang, A; Salzano, A; D'Esposito, M; Comin, A; Montillo, M; Yang, L; Campanile, G; Gasparrini, B. 2016. Anti-Müllerian hormone (AMH) concentration in follicular fluid and mRNA expression of AMH receptor type II and LH receptor in granulosa cells as predictive markers of good buffalo (*Bubalus bubalis*) donors. *Theriogenology*. 86(4):963-970.
- Monniaux, D; Barbey, S; Rico, C; Fabre, S; Gallard, Y; Larroque, H. 2010. Anti-Müllerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle? *Reproduction, Fertility and Development* 22(7):1083-1091.
- Monniaux, D; Di Clemente, N; Touzé, JI; Belville, C; Rico, C; Bontoux, M; Picard, JY; Fabre, S. 2008. Intrafollicular steroids and Anti-Müllerian hormone during normal and cystic ovarian follicular development in the cow. *Biology of Reproduction* 79(2):387-396.
- Monniaux, D; Drouilhet, L; Rico, C; Estienne, A; Jarrier, P; Touzé, J; Sapa, J; Phocas, F; Dupont, J; Dalbiès-Tran, R; Fabre, S. 2012. Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals. *Reproduction, Fertility and Development* 25(1):1-16.
- Mossa, F; Jimenez-Krassel, F; Folger, JK; Ireland, JL; Smith, GW; Lonergan, P; Evans, AC; Ireland, JJ. 2010. Evidence that high variation in antral follicle count during follicular waves is linked to alterations in ovarian androgen production in cattle. *Reproduction* 140(5):713-720
- Pfeiffer, KE; Jury, LJ; Larson, JE. 2014. Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology* 46:58-64.
- Ribeiro, ES; Bisinotto, RS; Lima, FS; Greco, LF; Morrison, A; Kumar, A; Thatcher, WW; Santos, JE. 2014. Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *Journal of Dairy Science* 97(11):6888-6900
- Rico, C; Drouilhet, L; Salvetti, P; Dalbiès-Tran, R; Jarrier, P; Touzé, JL; Pillet, E; Ponsart, C; Fabre, S; Monniaux, D. 2012. Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. *Reproduction, Fertility and Development* 24(7):932-944.
- Rico, C; Fabre, S; Médigue, C; di Clemente, N; Clément, F; Bontoux, M; Touzé, JL; Dupont, M; Briant, E; Rémy, B; Beckers, JF; Monniaux, D. 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(1):50-59.
- Rico, C; Médigue, C; Fabre, S; Jarrier, P; Bontoux, M; Clément, F; 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.
- Rojas-García, PP; Recabarren, MP; Palma, S; Maliqueo, M; Carrasco, A; Sir-Petermann, T; Recabarren, SE. 2014. Morfometría ovárica y expresión del ARN mensajero de hormona antimülleriana (AMH), receptor de FSH (FSHR) y factor nuclear kappa B (NFkB) en folículos en crecimiento de borregas expuestas prenatalmente a testosterona. *Archivos de Medicina Veterinaria* 46(1):13-21.
- Santa Cruz, R; Cushman, RA; Viñoles, C. 2018. Antral follicular count is a tool that may allow the selection of more precocious Bradford heifers at weaning. *Theriogenology* 119:35-42.