

Caracterización de la Función Luteal durante el primer ciclo post-parto inducido por medio de un Progestágeno en vacas *Cebú Brahman* en amamantamiento

C.A. SERRANO, M.V.; M.OIVERA. MV. DR.SCI. AGR.
PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN, FACULTAD DE MEDICINA U. DE ANTIOQUIA

RECIBIDO: MAYO 97; ACEPTADO: JULIO 97

Resumen

19 vacas de la raza *Cebú Brahman* entre 3-5 meses posparto, multíparas, en amamantamiento, con condición corporal óptima y en anestro, fueron seleccionadas para determinar la duración de la fase luteal y los patrones de producción de P4 durante el primer ciclo post-parto con el fin de determinar el tipo de insuficiencia luteal presente, a la cual se le ha atribuido las bajas tasa de preñez obtenidas durante este período de tiempo. El grupo inducido (n=12) recibió un implante subcutáneo que contenía 6 mg de Norgestomet y al mismo tiempo recibió una inyección IM de 3 mg de Norgestomet y 5 mg de Valerati de Estradiol, el implante se retiró a los 9 días. El 91,6% de las vacas inducidas presentaron calor entre 36-48 h luego del retiro del implante (contra 42,85% de las vacas control durante los 2 meses de observación). La tasa de preñez obtenida luego de la I.A. durante este primer celo inducido fue de 9% 8/11 (66%) animales inducidos que presentaron calor 72,7% mostraron actividad luteal, de estos, el 75% presentaron cuerpos lúteos con una duración media de <14 días. Las vacas con valores más bajos de p4 acumulada durante el ciclo se relacionan más con un "retardo" en su capacidad secretora durante los primeros días del ciclo, que con una lisis temprana del cuerpo lúteo. Este "retardo" es apenas superado alrededor del día 10 del ciclo, y es este mismo, el causante de la corta duración de las fases luteales correspondientes.

Palabras claves: vaca, cebú, post-parto, progesterona, progestágeno, cuerpo lúteo.

Introducción

En el trópico, la explotación del ganado de carne, se realiza mediante la práctica del amamantamiento libre.

Esta práctica se ha relacionado con unos prolongados períodos de reactivación ovárica (10,32) y con unas bajas tasas de preñez obtenidas luego del servicio durante el primer celo posparto (22).

La baja fertilidad asociada con la primera ovulación, ya sea espontánea (6) ó inducida por destete (25) se ha relacionado con la presentación de Cuerpos Lúteos de corta vida (12,14,5).

Debido a que el oocito liberado durante la fase luteal corta es capaz de ser fertilizado, de cursar un desarrollo temprano y de ser transportado al útero

(1), las bajas tasas de preñez se deberían a muerte embrional, ya sea por regresión temprana del cuerpo lúteo, o por un medio ambiente uterino hostil (1).

Lishman e Inskeep(1991) proponen tres posibles causas de insuficiencia luteal durante el primer ciclo luego de la inducción:—

- a) Falla en el soporte luteotrópico una vez el cuerpo lúteo se ha formado;
- b) Activación prematura del proceso luteolítico; y
- c) Deficiencias en los procesos de maduración en los folículos preovulatorios y/o defectos en el estímulo ovulatorio.—

Tratamientos de 9 días con Norgestomet, antes de la inducción de la formación de un cuerpo lúteo con hCG o GnRH resultaron en un mayor porcentaje de vacas con cuerpo lúteo de duración normal (25,23); este fármaco se ha relacionado con una mayor función folicular (9), aumento de los E2, mayor tamaño folicular (27) y mayor cantidad de receptores para LH en células de la teca y de la granulosa (8). Estos cambios pueden estar asociados con el incremento en PGF observado a partir de los días 3-8 del tratamiento con Norgestomet. Cortos períodos de tratamiento con progestágenos podrían, por consiguiente, influenciar la siguiente función luteal (28) mediante un mecanismo impulsor u organizacional de los eventos foliculares y endocrinos (31).

Los objetivos de este estudio fueron:

- Precisar la duración de la fase luteal durante el primer ciclo posparto inducido;
- Determinar los patrones de producción de progesterona durante el primer ciclo posparto inducido;
- Especificar si la baja tasa de fertilidad asociada al primer ciclo post-parto se debe a una insuficiencia luteal con respecto a su duración y/o a su capacidad secretora de progesterona.

Materiales y Métodos

19 vacas de la raza *Cebú Brahman* fueron seleccionadas a partir de un hato ubicado en cercanías a Fusagasugá, 60 Km al suroeste de Santafé de Bogotá, Colombia a 4° 21' N y 74° 22' O a 1.500 m.s.n.m., con una temperatura media anual de 19°C y con una precipitación anual de 1.250 mm clasificado como un clima templado húmedo. Los animales se hallan en pastoreo a base de pasto Estrella (*Cynodon plectostachyun*) y sal mineralizada a libre voluntad; durante el tiempo de estudio hubo plena disponibilidad de pastos. Los parámetros de escogencia de las vacas a estudiar fueron: a) 3-5 m posparto; b) ternero al pie; c) Anestro, comprobado por palpación rectal y niveles séricos de P4 en los días previos a la presentación de celo; y d) condición corporal entre 2,7 y 3,3 (en escala de 1-5). Los animales del grupo inducido (n=12) recibieron un implante subcutáneo, en la base de la oreja, que contenía 6 mg de Norgestomet,

al mismo tiempo se les administro una inyección IM de 3 mg de Norgestomet y 5 mg de Valerato de Estradiol. Se realizaron observaciones 2 veces al día durante 30 minutos en búsqueda de signos externos de calor y se contó con la ayuda de una vaca androgenizada dotada de un Chin-Ball.

La I.A. se realizó a las 12 h luego de observado el estro.

Se obtuvieron muestras de sangre 2 veces por semana a partir de la presentación de celo, por medio de punción de la vena coccigea usando Vacutainers. Estas muestras fueron centrifugadas y separadas de su componente celular para ser mantenidas a temperatura de congelación hasta la determinación de sus respectivas concentraciones de P4 en el laboratorio por medio de Radio Inmuno Análisis de fase sólida (Coat-A-Count Progesterone Kits; Diagnostic Products Corp., Los Ángeles, CA) conforme lo descrito por Plata y colaboradores (1990). Los porcentajes de máxima unión para cada uno de las dos pruebas corridas fueron de 33,4 y 35%. La sensibilidad de la prueba fue de 0,05 ng/ml. Los coeficientes de variación inter e intra ensayo fueron de 6,2 y 11,6% respectivamente. Las concentraciones (ng/ml) fueron determinadas mediante el programa RIA PC. Las fases luteales fueron determinadas a partir del día en que las concentraciones de P4 arribaron a 1 ng/ml hasta el día en que ésta concentración bajó de este nivel. La producción de P4 fue calculada como un valor acumulado a partir de la suma de los valores encontrados en cada medición durante el ciclo. Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva.

Resultados

De los 12 animales inducidos, 11 (91,6%) exhibieron síntomas de calor, y 8 (66%) mostraron actividad luteal. Las manifestaciones de calor se presentaron entre 36-48 h (42±5,9h) luego del retiro del implante y la tasa de preñez posterior a la I.A. durante este calor, fue de 1/11 (9%) (tabla 1).

Tres de los 7 animales del grupo control (42,85%) presentaron calor entre los 5 y los 22 días de iniciado el experimento, de los cuales el 100% mostraron actividad luteal. La tasa de preñez obtenida luego de la I.A. durante este calor fue de 1/3 (33,33%) (tabla 1).

TABLA 1. Respuesta de las vacas a la inducción

Grupo	N	Calor	Actividad Luteal	Preñez
Inducido	12	11(91,6%)	8(66%)	1(9%)
Control	7	3(42,85%)	3(100%)	1(33,33%)

De las 8 vacas del grupo inducido que mostraron actividad luteal, 6 (75%) correspondieron a cuerpos lúteos de corta duración (>14d), contra 2 (66,66%) del grupo control; y 2(25%) a cuerpos lúteos de duración normal (>/=14d), contra 1 (33,33%) del grupo control (Figura1).

La distribución de las vacas según su producción de P4 acumulada durante el ciclo se muestra en la Figura 2.

Los perfiles hormonales de las vacas que mostraron actividad luteal se muestran en las Figuras 3, 4 y 5.

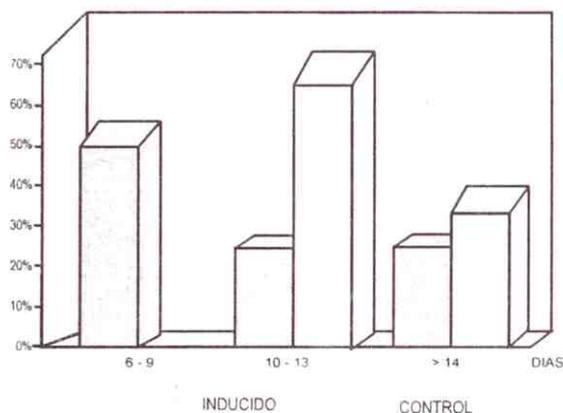


FIGURA 1
Duración del Cuerpo Lúteo obtenido durante el primer ciclo posparto.

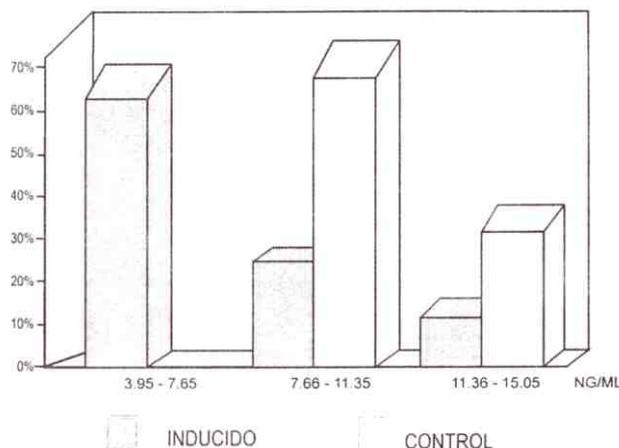


FIGURA 2
Concentración de Progesterona (P4) acumulada durante el primer ciclo posparto.

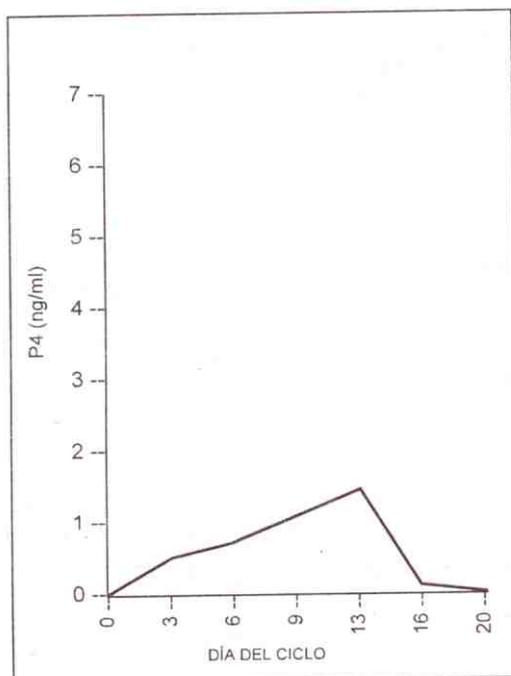
Discusión

La alta proporción de vacas inducidas que fueron observadas en calor (91,6%) y la baja tasa de preñez obtenida posterior a la I.A. durante este calor (9%), reitera lo enunciado por Olivera & Martínez (1990) con respecto a que aunque casi todas las vacas responden manifestando estro luego de una inducción con un progestágeno, las tasas de preñez obtenidas son muy bajas.

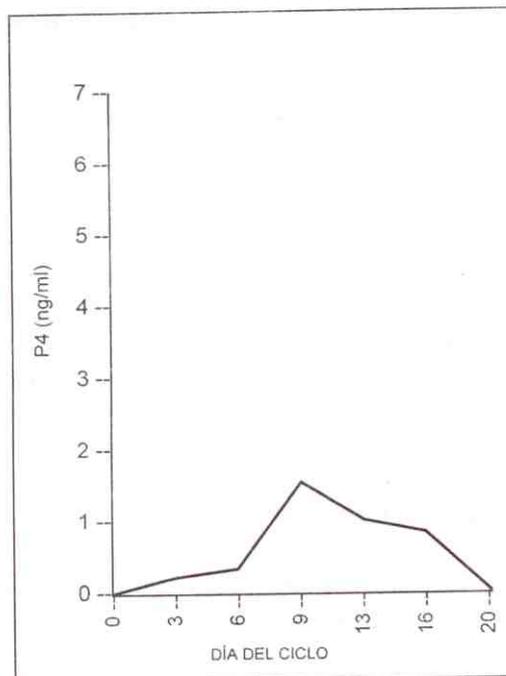
Al observar nuevamente la Figura 3, se distinguen claramente dos tipos de comportamiento en las vacas inducidas: el primero, corresponde a las vacas con actividad luteal dentro de los 5 primeros días del ciclo estral, las cuales representan el 50% del grupo inducido y en el cual se agrupan las vacas con cuerpos lúteos de >/=12 días de duración; el segundo tipo de

TABLA 2. Duración de los cuerpos lúteos y producción de Progesterona (P4) (C.L.) según su capacidad secretora durante la fase luteal (F.L.) temprana (primeros 10 días del ciclo).

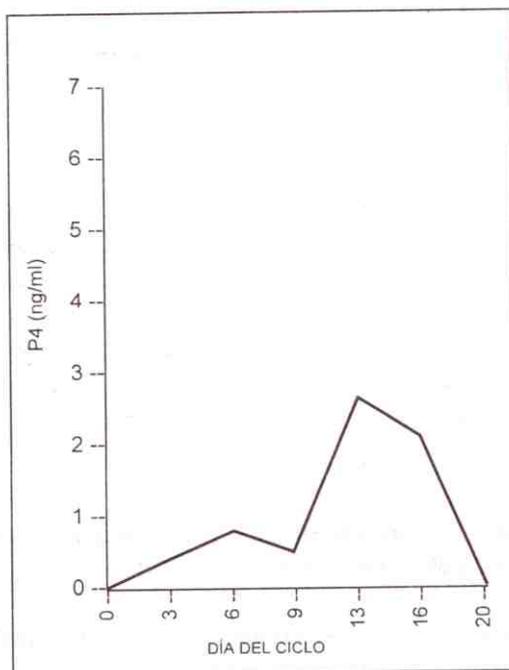
	Insuficiente F.L. temprana	Suficiente F.L. temprana	Control
Duración C.L. - Días	(6 - 12) 7,62+/-1,1	(12 ->/=14) 13,25+/-0,95	12->/=14) 13,16+/-0,76 (días)
P4 acumulado 10 primeros días (ng/ml)	1,95+/-0,4	4,52+/-1,32	(ng/ml)
P4 acumulado. Ciclo (ng/ml)	4,91+/-0,99	10,08+/-3,5	11,15+/-2,86 (ng/ml)



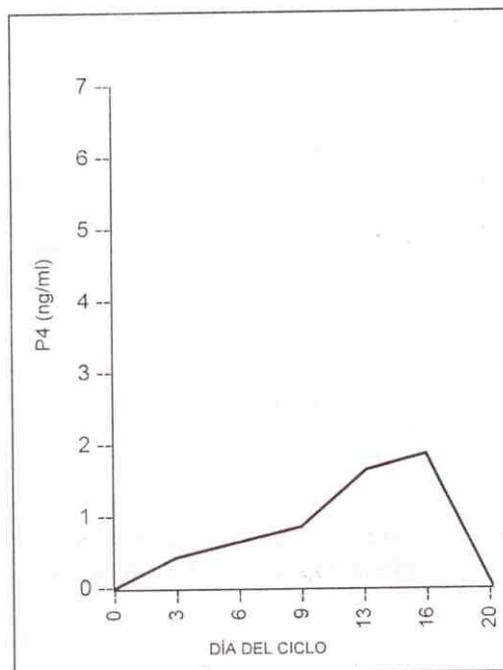
VACA 58 - 7



VACA 268 - 8

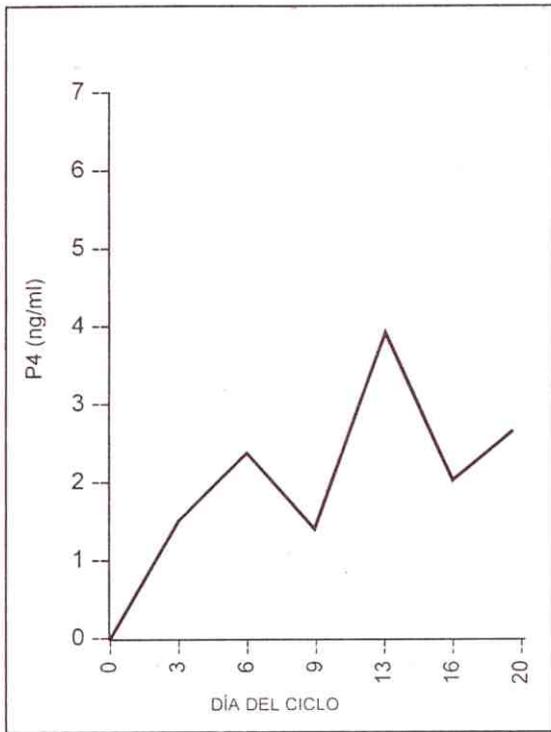


VACA 003 - 9

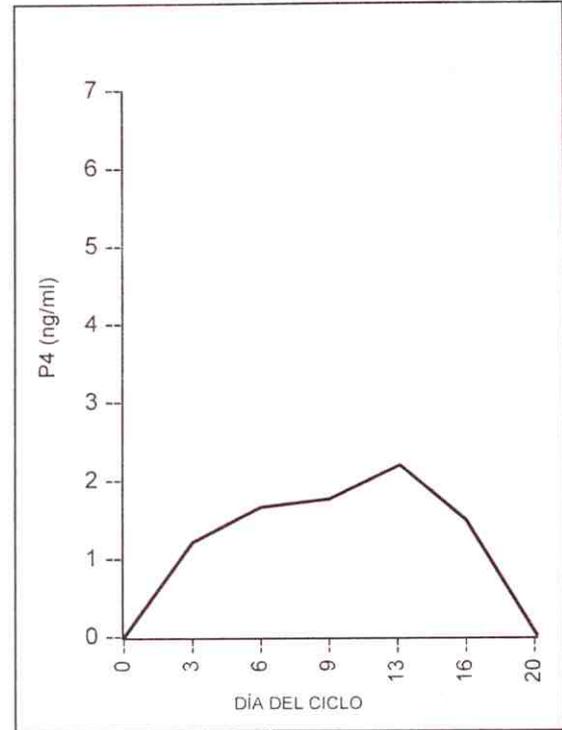


VACA 247 - 9

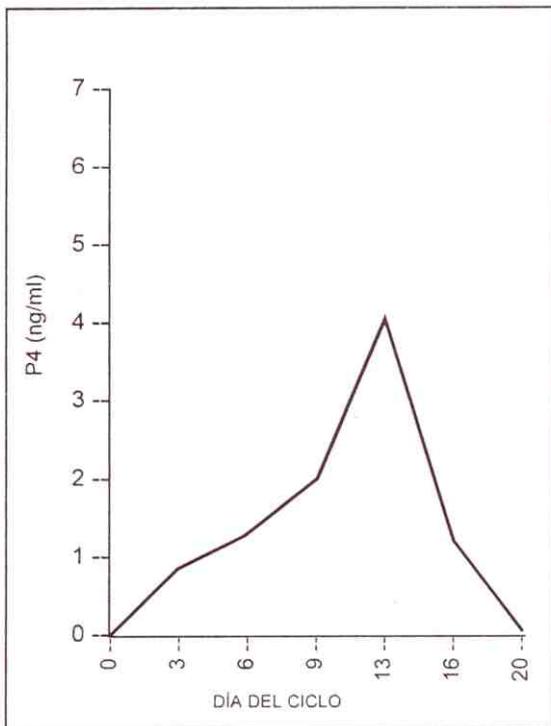
FIGURA 3. Perfiles hormonales de las vacas con actividad luteal. Grupo inducido CL \leq 12 días.



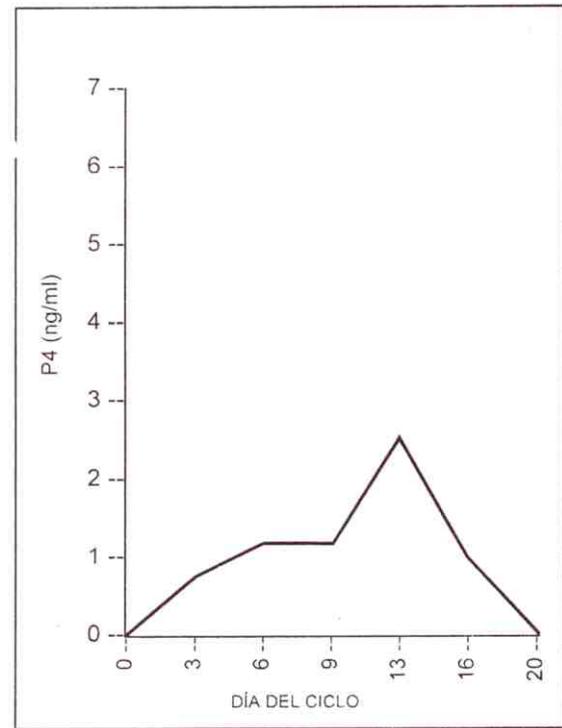
VACA 192 - 9



VACA 272 - 8

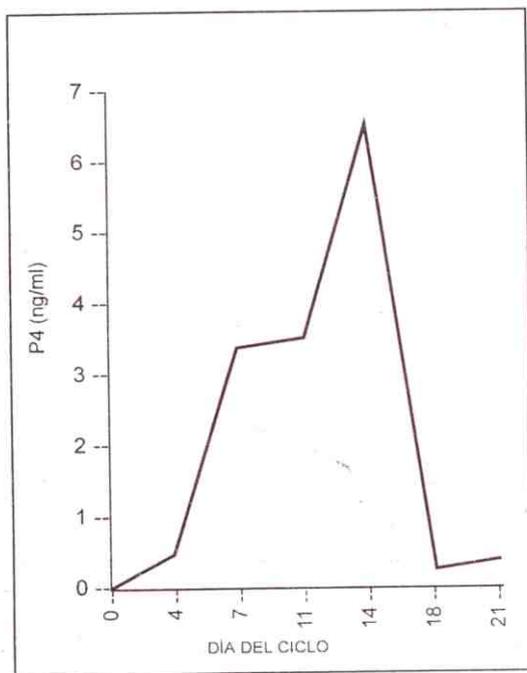


VACA 199 - 73

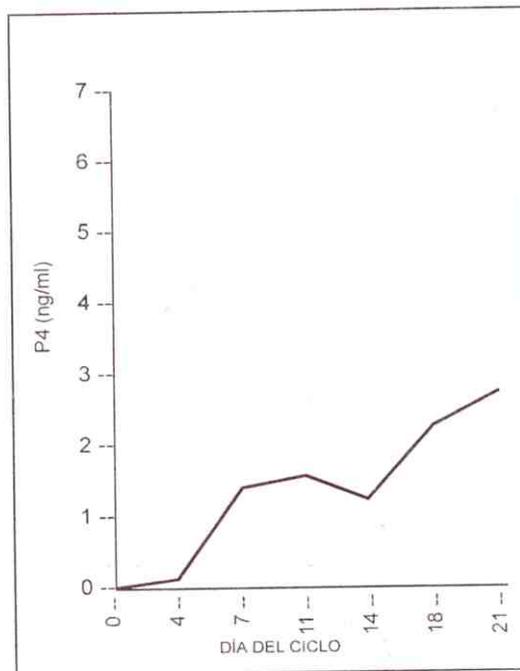


VACA 281 - 7

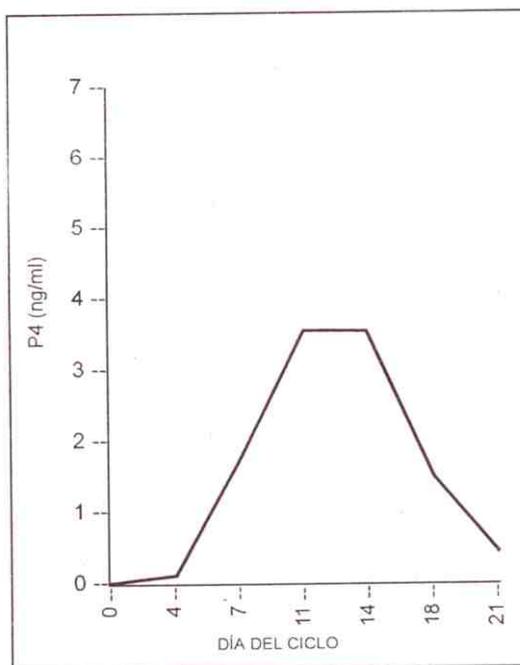
FIGURA 4. Perfiles hormonales de las vacas con actividad luteal. Grupo inducido CL \geq 12 días.



VACA 495 - 94



VACA 123 - 8



VACA 277 - 5

FIGURA 5. Perfiles hormonales de las vacas con actividad luteal. Grupo control.

comportamiento compromete a las vacas con un "retardo" en su actividad luteal, en el cual se encuentra el otro 50% agrupado la vacas con cuerpos lúteos de <12 días de duración (Figura 6).

Según los datos recopilados por Vélez y Randel (1993), un cuerpo lúteo de normal duración en vacas Cebú Branman, durante el primer ciclo posparto, tiene una producción acumulada media de 13,6 ng/ml y de 4,6 ng/ml durante los 10 primeros días del mismo (tomando como base los mismos días correspondientes a nuestro muestreo), lo cual comparando con nuestros datos, nos propone una marcada deficiencia en la producción de P4 durante la fase luteal temprana (Tabla 2).

Según Lishman e Inskeep (1991), los mecanismos de mala función del cuerpo lúteo inducido, pueden clasificarse dentro de tres categorías:

- 1 Deficiente soporte del cuerpo lúteo, una vez éste se ha formado;
- 2 Activación prematura del proceso luteolítico; y
- 3 Deficiencias en los procesos de maduración en los folículos pre-ovulatorios y/o defectos en el estímulo ovulatorio.

La hipótesis correspondiente a un inadecuado soporte luteotrópico plantea una disminución en los niveles de LH post-ovulatorios o disminución en número o falta de función en los receptores de LH (11).

Según Mallory y Colaboradores (1986), esta disrupción en cabras, resulta en regresión temprana del cuerpo lúteo; sin embargo, Niswender y colaboradores (1986) demostraron que una vez el cuerpo lúteo se ha formado.

Las alteraciones en las señales luterotrópicas parecen tener poco efecto sobre la secreción de P4.

Se han demostrado un gran número de receptores de LH en la superficie de las células luteales esteroideogénicamente activas (29,26), de la misma forma, Rutter & Randel (1984) demostraron que las concentraciones de LH fueron óptimas durante el primer ciclo posparto.

Según lo anterior y de acuerdo a nuestros resultados, donde observamos un efecto contrario con respecto a la concentración de P4 (Figura 6), la insuficiencia luteal no se debería a un deficiente soporte del cuerpo lúteo.

La segunda hipótesis planteada, supone una lisis temprana del cuerpo lúteo liberada por una liberación prematura de PGF2alfa a partir del útero, lo cual, podría, a su vez, ser consecuencia de una deficiencia

de receptores para P4 en el endometrio (5) consecuencia del estado anéstrico de las vacas.

En nuestro caso, la corta duración de las fases luteales estudiadas, no se debió a un efecto luteolítico anticipado, pues los tiempos de lisis de los cuerpos lúteos son muy similares en ambos grupos de vacas y se encuentran en los rangos normales (Figura 6).

La tercera y última hipótesis enunciada por Lishman, propone una inadecuada preparación del folículo en el proceso preovulatorio y supone que durante el post-parto temprano de la vaca, la liberación pulsátil de LH es insuficiente para promover la maduración final del folículo (7).

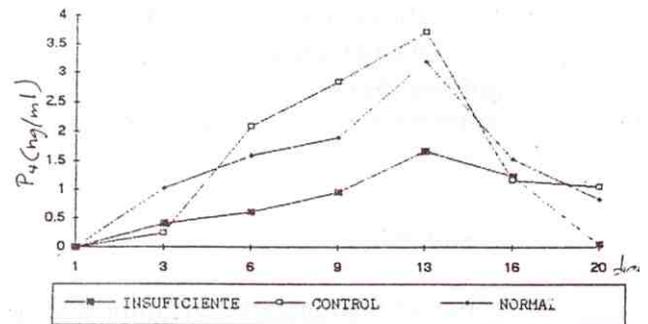


FIGURA 6
Perfiles hormonales de las vacas según su capacidad secretora durante la Fase Luteal temprana.

Nett (1987), propone que esta insuficiencia se debe a que durante la preñez, las altas y sostenidas concentraciones de P4 y E2 provocan una retroalimentación negativa prolongada en el eje hipotálamo-hipofisario que produce una insuficiencia de LH durante la lactancia temprana. Estando la síntesis de LH inhibida, las reservas en la pituitaria son agotadas hasta el punto que la liberación basal de LH se reduce. Luego del parto, ocurre una primera fase de recuperación (pasadas 2-5 semanas) durante la cual ocurre una liberación infrecuente de GnRH y una vez reestablecida la reserva en la pituitaria, la amplitud de pulsos de LH se aumenta hasta poder estimular el crecimiento folicular; en una segunda fase, al aumentar la LH circulante se promueve el crecimiento folicular conllevando a un aumento de E2 y a un aumento de la frecuencia de pulsos de LH necesaria para llevar a cabo el proceso ovulatorio (15).

Aunque es cierto que en vacas pretratadas con un progestágeno se logre un efecto positivo en la liberación de LH (4), podría ser que los patrones de LH, tras la inducción, no sean los mismos que ocurren naturalmente en vacas cíclicas para conllevar a un óptimo estado de maduración folicular.

Partiendo de que durante este proceso de recuperación, la LH sea insuficiente para conllevar a un óptimo estado de maduración folicular, una posibilidad es una deficiencia en número, tallas o proporciones entre pequeñas y grandes células luteales (19), mientras que otra es una deficiencia en los receptores a la luteotropina (10-26).

Las pequeñas células luteales se originan de las células de la teca interna del folículo preovulatorio(10), mientras que las células luteales grandes se originan de las células de la granulosa(20).

Una deficiencia de las células de la granulosa parece ser más significativa ya que su capacidad de mitosis luego de la ovulación es probablemente nula (20). El incremento de las células luteales grandes, reportado a ocurrir cerca de la mitad del ciclo estral

(3) podría deberse a la conversión de pequeñas a grandes células luteales ocurrida en este tiempo (2).

Aproximadamente el 80% de la P4 secretada es aportada por las células luteales grandes, mientras que cerca del 20% es aportado por las pequeñas (17).

Según lo anteriormente expuesto y con los resultados obtenidos en el presente estudio, nosotros pensamos que el "retardo" en la capacidad secretora de P4 observado en el 50% de las vacas inducidas, con una producción acumulada media durante los primeros 10 días del ciclo de $1,95 \pm 0,004$ ng/ml (contra $4,25 \pm 1,32$ ng/ml de las vacas con suficiente capacidad secretora durante la fase luteal temprana), podría deberse a una baja cantidad de células de la granulosa en el folículo destinado a ovular, lo que conllevaría a una deficiencia en las células luteales grandes, encargadas de la mayor parte de la P4 aportada, y que el incremento en su producción, observado en el día $9 \pm 1,1$ del ciclo, podría deberse a la diferenciación de pequeñas a grandes células luteales reportado a ocurrir en este tiempo.

Summary

Luteal function characterization during the first post-partum cycle induced by a progestagen in Brahman cows under suckled

Nineteen Brahman breed under suckled cows were studied. They reached 3-5 months post-partum, and were selected to determine the time period of luteal stage and the production patterns of P4 during the first post-partum cycle, in order to establish the kind of luteal deficiency related with low pregnancy rates. The induced group (n=12) received Norgestomet subcutaneously (6 mg), and intramuscularly (3 mg); and estradiol valerate (5 mg). The implant (subcutaneous) was removed ten days later. The 91.6% of the induced cows showed estrous between 36-48 h after the removal of the implant (against 42.85% of control cows during 2 months under observation). The pregnancy rate obtained after the artificial insemination (A.I) during this first induced estrous was 9%. Eight of 11 (66%) induced animals with estrous (72.7%) showed luteal activity. Of these, 75% showed corpus luteum with a mean life (>14 days). Cows with lower values of P4 had more relation with a "delay" in their secretory capacity during the cycle's first days, than with early corpus luteum lysis. That "delay" is just overcome by the day tenth of the cycle and causes the short time period of the corresponding luteal stage.

Referencia

1. Brewel, K. F.; Lewis, P.E.; Schrick, F.N.; Lishman, A.W.; Inskip, E.K. & Butcher, R.L. Factors affecting fertility in the postpartum cow: role of oocyte and follicle in conception rate. *Biol. Reprod.* 48: 655-661, 1993.
2. Farin, C.E.; Moeller, C.L.; Mayan, H.; Gamboni, F.; Sawyer, H.R. & Niswender, G.D. Effect of LH and hCG on cell populations in the bovine corpus luteum. *Biol. Reprod.* 38: 413, 1988.
3. Gamboni, F.; Fitz, T.A.; Hoyer, P.B.; Wise, M.E.; Mayan, M.H. & Niswender, G.D. Effect of hCG on induced bovine corpora lutea during the anoestrus season. *Dom. Anim. Endoc.* 1:79, 1984.
4. García-Winder, M.P.; Lewis, P.E.; Deaver, D.R.; Smith, V.G.; Lewis, G.S. & Inskip, E.K. Endocrine profiles associated with life span of induced corpora lutea in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 62: 1353, 1986.
5. Garverick, H.A. & Smith, M.F. Mechanisms associated with subnormal luteal function. *J. Anim. Sci.* 62 (Suppl 2): 92, 1986.
6. Graves, W.E.; Lauderdale, J.W.; Hauser, E.R. & Casida, L.E. Relation of postpartum interval to pituitary gonadotropin, ovarian follicular development and fertility in beef cows. *Div. Res. Bull.* 270: 23-26, 1968.
7. Hunter, M.G. & Southee, J.A. Treatment with progesterone affects follicular steroidogenesis in anoestus ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 14: 273, 1987.
8. Inskip, E.K.; Braden, T.D.; Lewis, P.E.; García-Winder, M. & Niswender, G.D. Receptors of LH and FSH in largest follicles of postpartum beef cows. *Biol. Reprod.* 38:87, 1988.
9. Johnson, S.K.; Lewis, P.E. & Inskip, E.K. Steroids and CaMP in follicles of postpartum beef cows treated with norgestomet. *J. Anim. Sci.* 69: 3747-3753, 1991.
10. Kesler, D.J.; Weston, G.; Pimentel, C.A.; Troxel, T.R.; Vincent, D.L. & Hix, J.E. Diminution of the in vitro response to LH by corpora lutea induced by GnRH treated of postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 53: 749, 1981.
11. Lishman, A.W. & Inskip, E.K. Deficiencies in luteal function during reinitiation breeding activity in beef cows and in ewes. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 21 (2): 59-75, 1991.
12. Lishman, A.W.; Allison, S.M.J.; Frogwell, R.L.; Butcher, R.L. & Inskip, E.K. Follicular development and function of induced corpora lutea in underfed postpartum anoestrous beef cows. *Can. J. Anim. Sci.* 63: 331-347, 1983.
13. Mallory, D.S.; Gust, C.M. & Dailey, R.A. Effects of pituitary stalk-transection and type of barrier on pituitary and luteal function during the estrous cycle of the ewe. *Dom. Anim. Endocr.* 3: 253, 1986.
14. Manns, J.G.; Humphrey, W.P. & Nkuu, J.R. Effect of P4 and temporary weaning on weaning on cyclic activity and fertility of beef cows at a prostaglandin-synchronized estrous. *Can. J. Anim. Sci.* 63: 325-330, 1983.
15. Nett, T.M. Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the postpartum period in ewes and cows. *J. Reprod. Fert. Suppl* 34: 201, 1987.
16. Niswender, G.D.; Farin, C.E.; Gamboni, F.; Sawyer, H.R. & Nett, T.M. Role of LH in regulation luteal function in ruminants. *J. Anim. Sci.* 62 (Suppl 2): I, 1986.
17. Niswender, G.D.; Schawall, R.H.; Fitz, T.A.; Farin, C.E. & Sawyer, H.R. Regulation of luteal function in domestic ruminants: new concepts. *Rec. Prog. Horm. Res.* 41:101, 1985.
18. Olivera, M. & Martínez, G. Evaluation of an implant to synchronize oestrus and/or to resolve suckling anoestrous in brahman cows. Reprint from *Livestock Reproduction in Latin America*. Pp 221-225, 1990.
19. O'Shea, J.D.; Rodgers, R.J. & Wright, P.J. Morphometric analysis and function in vivo and in vitro of corpora lutea from ewes treated with LhRH during seasonal anoestrus. *Reprod. Fert.* 72: 75, 1984.
20. O'Shea, J.D.; Cran, D.J. & Hay, M.F. Fate of the theca interna following ovulation in the ewe. *Cell. Tiss. Res.* 210: 305, 1980.
21. Plata, N.I.; Spitzer, J.C.; Thompson, C.E.; Henricks, D.M.; Reid, M.P. & Newby, T.J. Synchronization of estrus after treatment with luprostitol in beef cows and in beef and dairy heifers. *Theriogenology* 33: 943-952, 1990.
22. Porras, A. A. Control del estro en ganado bos indicus en condiciones tropicales: Efecto de la utilización de Norgestomet combinado con estrogenos. Tesis de Maestría. Fac. Med. Vet. Zoot. Univ. Nacional Autónoma de México D. F., 1990.
23. Pratt, B. R.; Berardinelli, J. G.; Stevens, L. P. & Inskip, E. K. Induced corpora lutea in the postpartum beef cows I. Comparison of GnRH and hCG and effects of progestagen and estrogen. *J. Anim. Sci.* 54: 822-829, 1989.
24. Priedkalns, J.; Weber, A. F. & Zemjanis, R. Qualitative and quantitative morphological studies of the cells of the membrane granulosa, theca interna and corpus luteum of the bovine ovary. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 85: 501, 1968.
25. Ramírez-Godínez, J. A.; Kiracofe, G. H.; Mckee, R. M.; Schalles, R. R. & Kittok, R.J. Reducing the incidence of short estrous cycles in beef cows with norgestomet. *Theriogenology*. 15: 613-623, 1981.
26. Rutter, L. M. & Randel, R. D. Luteal competency during resumption of ovarian cyclicity in postpartum brahman cows. *Theriogenology*. 21: 713, 1984.
27. Scheffel, C. E.; Pratt, B. R.; Ferrel, W. L. & Inskip, E. K. Induced corpora lutea in the postpartum beef cows II. Effects of treatment with progesterone and gonadotropins. *Anim. Sci.* 54: 830-836, 1989.
28. Smith, V. G.; Chenault, J. R.; McCallister, J. F. & Lauderdale, J. W. Response of postpartum beef cows to exogenous progestogens and gonadotropin releasing hormone. *J. Anim. Sci.* 64: 540, 1987.
29. Spicer, L. J.; Ireland, J. J. & Roche, J. F. Changes in serum LH, progesterone and specific binding of 125-I hCG to luteal cells during regression and development of bovine corpora lutea. *Biol. Reprod.* 25: 832, 1981.
30. Vélez, J. S. & Randel, R. D. Relationships between plasma P4 and 13-14 dihydro- 15 keto prostaglandin F2 alfa and resumption of ovarian activity during the postpartum period in brahman cows. *Texas Agric. Experim. Station, Overton*, 1990.
31. Williams, G. L.; McVey, W. R. Jr. & Hunter, J. F. Mammary somatosensory pathways are not required for suckling-mediated inhibition of LH secretion and delay of ovulation in cows. *Biol. Reprod.* 49: 1328-1337, 1993.
32. Williams, G. L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle. *A reiw. Anim. Sci.* 68: 931-852, 1990.