

Straty ciążyowe w okresie zarodkowym u bydła

Anna Świątek, Adam Okólski

z Katedry Rozrodu i Anatomii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie

Nowoczesne systemy utrzymania i długoletnia praca hodowlana nad poprawą wydajności bydła doprowadziły do obniżenia płodności, a przede wszystkim wskaźnika wycieleń (1). Utrata ciąży jest jedną z głównych przyczyn jałowienia krów. Wpływa też na ekonomię przemysłu przetwórstwa mlecznego ze względu na wydłużony okres przerwy między wycieleniami, obniżony dochód ze sprzedaży mleka, dodatkowych kosztów zakupu pasz, nasienia i powtarzaniego zabiegu inseminacji. Szacuje się, że w USA średni koszt utraty ciąży wynosi około 555 dolarów, a w pojedynczych przypadkach nawet 1370 dolarów, w zależności od stadium laktacji i wartości genetycznej krowy. Straty roczne to około 1,4 mld dolarów (2).

Śmiertelność zarodków w znacznym stopniu ogranicza płodność zwierząt. Problem ten dotyczy wszystkich gatunków zwierząt hodowlanych. Odsetek strat zarodkowych u swni wynosi 30–50%, u owiec 20–30%, a u koni 15–24%. W największym stopniu problem ten dotyczy bydła i wynosi 45–65% (3). Trudności z zacieleniem krowy w zaplanowanym czasie mogą generować wiele stanów patologicznych, mających wpływ na

układ hormonalny krowy i rozwój zarodka. Wskaźnik zapłodnienia dla jałówek i krów mlecznych wynosi 90–100%, natomiast wskaźnik wycieleń 55%, co wskazuje na śmiertelność zarodkową i płodową, na poziomie 35–45% (4, 5). Stosunkowo niewiele zarodków zamiera przed 8 dniem ciąży w fazie blastocysty. Szacuje się, że 70–80% wszystkich strat zarodków ma miejsce między 8 a 16 dniem po inseminacji, w czasie rozpoznawania ciąży przez organizm matki, kolejne 10% między 16 a 42 dniem, w okresie tworzenia się błon płodowych oraz organogenezy. Dalsze 5–8% strat ma miejsce po 42 dniu ciąży, kiedy implantacja zarodka jest zakończona (6). Straty ciąży do 24 dnia po inseminacji określane są wczesną śmiercią zarodkową (early embryonic mortality – EEM), między 24–42 dniem po inseminacji – późną śmiercią zarodkową (late embryonic mortality – LEM), po 42 dniu ciąży mówimy o poronieniach.

Wielu autorów podkreśla zależność wskaźnika śmiertelności zarodków od pory roku oraz stanu fizjologicznego krowy (7, 8, 9, 10). Najwyższą śmiertelność zarodków stwierdzono u krów w laktacji w sezonie letnim, a najniższą u jałówek i krów zasuszonych w sezonie zimowym.

Early pregnancy losses during embryonic period in cattle

Świątek A., Okólski A., Department of Animal Reproduction and Anatomy, University of Agriculture in Krakow.

The aim of this paper was to present the problem of early pregnancy losses in cows, an important problem in cattle obstetrics. Embryo mortality significantly reduces the animals fertility. This problem affects all species of livestock. The percentage of embryonic losses varies in livestock: in pigs reaches 30–50%, in sheep 20–30%, in horses 15–24% and in cattle can be as high as 45–65%. This biological problem strongly influences the economy of milk production. Relatively not many embryos die before 8th day after insemination. It is estimated that 70–80% of all embryo mortality cases takes place between 8 and 16 days of gestation. Embryonic death is a result of complex process influenced by many factors. They include condition, milk yield and hormonal profile of cow, the quality of gametes as well as the synchronization between mother and embryo and also existing genetic and immunologic defects. It is difficult to determine embryonic death in cows under field conditions. The problem of early losses of pregnancy is a consequence of breeding program oriented on the increase of cattle productivity and it can't be easily solved.

Keywords: embryonic death, gestation, cows.

W przypadku wysokomlecznych krów w laktacji mniej niż 50% wykazywało obecność zarodka w macicy w 7 dniu po inseminacji (9). Osiągnięte na drodze postępu hodowlanego zmiany przesunęły

wykorzystanie energii paszy na produkcję mleka, osłabiając wiele procesów wpływających na zdrowie i rozród krów. Duża część zarodków uzyskanych od krów wysokoprodukcyjnych jest złej jakości lub opóźniona w rozwoju (11). Krowy wysokomleczne w większym stopniu narażone są na stratę ciąży w późnym okresie rozwoju zarodkowego (12, 13). Korelacja między wydajnością mleczną a śmiertelnością zarodków jest jednak nadal kontrowersyjna. Na brak zależności pomiędzy produkcją i składem mleka a późną zamieralnością zarodków wskazuje Silke (14), który sugeruje, że wysoka wydajność mleczna ma tylko wpływ na zarodki we wczesnym etapie rozwoju.

Wpływ na kompetencje rozwojowe zarodków ma również kondycja krowy. Powszechnie przyjmuje się, że stan odżywienia wpływa na funkcje rozrodcze u bydła mlecznego. Niedobory energetyczne mogą prowadzić do obniżenia sekrecji progesteronu, opóźnienia dojrzewania pęcherzyków jajnikowych, wydłużenia okresu od wycielenia do pierwszej rui. W szczególności utrata kondycji, która występuje tuż po porodzie, wydaje się niekorzystnie wpływać na rozwój zarodka i płodu. Krowy, które utraciły kondycję między 28 a 56 dnia ciąży miały wyższy wskaźnik śmiertelności zarodkowej (11,6%) w porównaniu z tymi, które utrzymały kondycję (4,7%) lub ją poprawiły (5,7%) w tym samym okresie (14). Spadek kondycji o 1 jednostkę (BCS; skali 1–5) do 30 dni po porodzie prowadzi do 2,4-krotnego zwiększenia strat ciążowych (15). Nadmierna utrata kondycji w okresie wczesnej laktacji może upośledzać inwolucję macicy i ma negatywny wpływ na łożysko (15). Inna hipoteza sugeruje, że nagłe pogorszenie stanu odżywienia krowy powoduje zwiększenie podatności na występowanie chorób metabolicznych i zakaźnych w konsekwencji niekorzystnie wpływa na przeżywalność zarodków (16). Również nadmiar spożytej energii może doprowadzić do zwiększenia śmiertelności zarodków. Podwyższony poziom białka w żwaczu zwiększa stężenie mocznika w osoczu krwi, co prowadzi do zakwaszenia środowiska macicy, pogarsza jakość oocytów i szkodliwie wpływa na rozwój zarodków (17). Powszechnie uważa się, że stan odżywienia krowy może mieć wpływ na przeżywalność zarodków we wczesnych stadiach rozwoju, jednak mechanizmy tego procesu pozostają do wyjaśnienia (18).

Jedną z najważniejszych przyczyn śmierci zarodkowej jest brak synchronizacji między zarodkiem a matką (19, 20, 21, 22). We wczesnych etapach ciąży rozwój zarodka musi być zsynchronizowany ze zmianami zachodzącymi w środowisku

macicy, by zapobiec nieprawidłowościom w implantacji. Asynchroniczność może być spowodowana niepełną dojrzałością oocytów, opóźnieniem pierwszych podziałów mejotycznych oraz zaburzeniami sekrecji progesteronu (19, 20, 23). Progesteron jest kluczowym czynnikiem wpływającym na prawidłowy rozwój ciąży i przeżycie zarodka. Jednakże zależności między śmiercią zarodków a stężeniem tego hormonu we wczesnej fazie lutealnej nie zostały precyzyjnie określone. Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy prawdopodobieństwem przeżycia zarodka i stężeniem progesteronu w mleku w 4–7 dniu po inseminacji (24, 25). Krowy, które wykazują tendencję do utraty zarodków we wczesnej fazie ich rozwoju mają niskie stężenie progesteronu w mleku (26). Jednak progowe stężenie tego hormonu we krwi lub mleku, poniżej którego występuje zjawisko śmiertelności zarodków nie są znane. Możliwe jest, że stężenie obwodowe progesteronu wpływa w mniejszym stopniu na przeżycia zarodków niż lokalna koncentracja w tkankach i świetle macicy (27, 28). Niski poziom progesteronu może prowadzić do asynchronizacji środowiska macicy (23), a także nadmiernego stężenia innych hormonów (np. estradiolu), które mogą oddziaływać na komórki jajowe, obniżając ich jakość lub zaburzając prawidłowy rozwój zarodków (29). Obniżona sekrecja progesteronu prowadzi do reakcji immunologicznej macicy przeciwko zarodkowi (30). Niskie stężenie progesteronu może być wynikiem zmniejszonej produkcji i wydzielania tego hormonu przez ciało żółte lub zwiększonego metabolizmu progesteronu przez wątrobę (27, 28).

U wysokowydajnych krów mlecznych w następstwie dużego spożycia paszy i zwiększonego przepływu krwi przez wątrobę poziom progesteronu jest obniżony (31). Taki stan może prowadzić do nieprawidłowego sygnalizowania przez zarodek swojej obecności. Utrzymanie syntezy progesteronu w ciałku żółtym warunkuje wydzielenie odpowiednich stężeń interferonu τ przez trofoblast. Białko to, uwalniane w okresie implantacji zarodka, działa parakrynnie na komórki błony śluzowej macicy, hamuje ekspresję receptorów oksytocynowych i pulsacyjne uwalnianie $\text{PGF}_{2\alpha}$. Efektem tego działania jest zmiana profilu produkcji prostaglandyn w komórkach nabłonka błony śluzowej macicy z $\text{PGF}_{2\alpha}$ na korzyść PGE_2 , będącej inhibitorem luteolizy i utrzymanie aktywnej działalności ciała żółtego (32). Mimo udokumentowanego wpływu interferonu τ na przeżywalność zarodków, podawanie egzogennej interferonu τ krowom po inseminacji nie przyniosło poprawy wskaźnika cielności. Stosowanie natomiast spirala dopochwowych PRID, zawierających

1,55 g progesteronu i 10 mg estradiolu przynosi efekty w postaci wyższej liczby prawidłowych zarodków, o większych rozmiarach oraz zwiększenie średnicy ciała żółtego (33). Poprawę wskaźnika wycieleń uzyskano przez podanie gonadoliberyny (GnRH) w dniu 11–14 po kryciu/inseminacji (34). GnRH powoduje luteolizę pęcherzyków jajnikowych i opóźnienie resorpcji ciała żółtego, a zarodek ma więcej czasu na zainicjowanie zdolności do syntezy interferonu τ .

U przeżuwaczy wydzieliny błony śluzowej macicy są szczególnie ważne dla przetrwania i rozwoju płodu ze względu na długi okres przed zagnieżdżeniem zarodka. Wydzieliny te warunkują jego przedimplantacyjny rozwój, umożliwiają odebranie sygnałów o istnieniu zarodka i uznanie ciąży przez organizm krowy (35). Uszkodzenia błony śluzowej macicy i zaburzenia wydzielniczej funkcji endometrium mogą prowadzić do śmierci zarodków we wczesnych etapach ciąży. Również pH macicy ma wpływ na potencjał rozwojowy zarodka. Nadmiar białkowych dodatków paszowych powoduje zakwaszenie środowiska macicy, zmianę właściwości wydzielin endometrium oraz wpływa niekorzystnie na metabolizm i przeżywalność zarodków przeżuwaczy (36, 37, 38, 39).

Jedną z przyczyn wysokiej śmiertelności embrionów jest obecność przeciwciał matki skierowanych przeciwko antygenom zarodka pochodzenia ojcowskiego (40). Zarodek jest traktowany przez organizm matki jak ciało obce. Aby przetrwać w macicy, musi wytworzyć szereg mechanizmów obronnych przed układem odpornościowym matki. Komórki trofoblastu mogą syntetyzować substancje, które działają lokalnie immunosupresyjnie między funkcjonalnym układem odpornościowym matki i allogenicznym przeszczepem, jakim jest zarodek (41), mogą także eksponować na swojej powierzchni kompleks zgodności tkankowej (42). W ciągu ostatnich kilku lat badania nad głównym kompleksem zgodności tkankowej (major histocompatibility complex – MHC) wykazały, że jego wpływ na komórki trofoblastu we wczesnej ciąży jest niezbędny do ochrony zarodka przed atakiem układu odpornościowego matki (43). Gdy zarodek nie jest zdolny do aktywacji któregośkolwiek z mechanizmów obronnych przed systemem odpornościowym matki, jej przeciwciała blokują jego rozwój.

Przeżywalność embrionów jest determinowana także procesami zachodzącymi przed zapłodnieniem. Zdolność zarodka do przetrwania i rozwoju przede wszystkim zależy od jakości gamet. Oocyty pochodzące z przetrwałych dominujących

pęcherzyków wykazują różne zaburzenia morfologiczne spowodowane zbyt zaawansowanym stanem dojrzałości (44). Po zapłodnieniu powstałe z nich zygoty cechuje opóźniony rozwój i z reguły wczesna śmierć zarodkowa pojawia się zwykle przed 16-komórkowym etapem rozwoju zarodka. Krowy z przetrwałymi pęcherzykami przedowulacyjnymi wykazują niską płodność (32). Ponadto przetrwałe pęcherzyki jajnikowe produkują większe ilości estrogenów niż normalne, co szkodliwie wpływa na przeżywalność zarodków. Niski wskaźnik zacieleń i duże straty zarodków obserwuje się również u krów owulujących przedwcześnie. U tych krów stężenie progesteronu wzrasta wolniej niż u krów owulujących w terminie, a to może osłabiać rozwój zarodków (45). Badania na temat zamieralności zarodków skupiają się głównie na obserwacji samicy, pomijając wpływ samca. O prawidłowym rozwoju zarodka w takim samym stopniu decyduje jakość plemników, jak i oocytów, wpływając na zapłodnienie, jak również nadając zarodkom cechy, które determinują ich przetrwanie (32).

Głównymi wadami plemników prowadzącymi do śmierci zarodka są nieprawidłowości chromosomalne, takie jak nondysjunkcja spermatogenezy (nieprawidłowy rozdział chromosomów do przeciwnych biegunów wrzeczona podziałowego w czasie mejotycznego podziału komórki; 46), 1/29 translokacja Robertsonowska (połączenie dwóch niehomologicznych chromosomów akrocentrycznych ich centromerami, prowadzi do powstania aneuploidalnych zarodków) lub uszkodzone struktury chromatyny (47). Gamety złej jakości oraz zaburzenia w procesie zapłodnienia prowadzą do powstania zarodków z wadami morfologicznymi i genetycznymi. Najbardziej poznaną wadą genetyczną jest niedobór syntetazy monofosforanu urydyny (deficiency of uridine monophosphate synthase DUMPS) – letalna recesywna mutacja genu enzymu biorącego kluczowy udział w syntezie DNA i RNA, występująca u czarno-białego i czerwono-białego bydła holsztyńskiego-fryzjskiego.

W wyniku szerokiego stosowania sztucznej inseminacji zespół DUMPS rozprzestrzenił się w światowym pogłowie bydła holsztyńskiego. Homozygoty zmutowanego genu syntetazy urydynomonofosfatazy (DP/DP) zamierają około 40 dnia ciąży w okresie implantowania się zarodka w macicy. Z tego też powodu gen ten nazwano „genem wczesnej zamieralności zarodków”. Zespół zniekształceń kręgosłupa (complex vertebral malformation – CVM) – letalny defekt o charakterze recesywnym występuje u bydła holsztyńsko-fryzjskiego. Negatywne skutki

tego defektu mogą występować w każdym okresie rozwoju prenatalnego, objawiając się resorpcją zarodków. Wśród wad genetycznych należy także wymienić aneuploidia i diploidia, czyli niewłaściwy rozdział chromosomów dotyczący 15% zarodków. Wady genetyczne lub morfologiczne mogą powstawać na wszystkich etapach rozwoju zarodka. Zarodki są najbardziej wrażliwe na niesprzyjające warunki w czasie aktywacji genomu, kompaktacji, formowania blastocysty, sekrecji interferonu τ oraz przekształcania komórek węzła zarodkowego w tkanki płodu.

W celu zbadania przyczyn i mechanizmów śmierci zarodkowej niezbędne są wiarygodne techniki diagnozy ciąży przed 45 dniem po inseminacji. Do najczęściej stosowanych metod diagnozy niecielinych krów należy kontrola długości okresu międzyrurowego. Obserwacja rui 18–24 dnia po inseminacji nadal jest najtańszą, najprostszą i najpopularniejszą metodą diagnozy ciąży. Jednak w ostatnich latach wykrywalność rui zmniejszyła się do poziomu 50%. Pomiar progesteronu wskazywały, że 20% inseminowanych krów nie jest w rui (48). Do obniżenia wiarygodności metody przyczyniają się również zakażenia macicy, będące wynikiem inseminacji lub krycia oraz obecność przetrwałego ciała żółtego na jajniku. Nieregularne ruje w niewielkim stopniu pozwalają zdiagnozować zamieralność zarodków. Największy procent zarodków zamiera przed 15 dniem po inseminacji, więc ruja występuje w normalnym czasie.

Drugą najpopularniejszą metodą diagnozy ciąży w stadach bydła jest badanie palpacyjne *per rectum*. Jest to metoda stosunkowo wiarygodna i tania, co uzasadnia jej szerokie zastosowanie. Jednak, podobnie jak w przypadku kontroli okresu międzyrurowego, metoda ta pozwala na późne wykrycie ciąży, pomiędzy 5 a 7 tygodniem po inseminacji (u jałówek wcześniej niż u krów wieloródek), tym samym nie jest przydatna przy diagnozie wczesnej śmierci embriionów. W stadach, w których badanie palpacyjne wykonywane jest rutynowo notowane są większe straty zarodków, o około 9% (49). Mniej inwazyjną, dużo wiarygodniejszą i umożliwiającą diagnozę wcześniejszych etapów ciąży jest metoda ultrasonografii rektalnej, znajdująca coraz szersze zastosowanie w polskich stadach. Wiarygodność metody ultrasonograficznej w diagnozie ciąży pomiędzy 21 a 24 dniem jest szacowana na 80–85%, pomiędzy 25 a 30 dniem – powyżej 95%. Pomocna w ultrasonograficznej ocenie ciąży jest negatywna diagnoza w oparciu o stwierdzenie braku ciała żółtego na jajnikach (50).

Dodatkowo badanie ultrasonograficzne pozwala na kontrolę rozwoju zarodka.

Największy odsetek zarodków zamiera przed 35 dniem ciąży, a więc w okresie, kiedy niemożliwe jest postawienie diagnozy samym badaniem palpacyjnym. Alternatywnymi metodami wczesnej diagnozy ciąży są metody laboratoryjne. Najpowszechniejsza jest metoda oparta na ocenie stężenia progesteronu we krwi lub mleku krowy. Ocena poziomu progesteronu w mleku 18–24 dnia po inseminacji jest uznawana za metodę wiarygodną (wiarygodność 96%). Badanie można wykonać metodą radioimmunologiczną w specjalistycznym laboratorium lub przy użyciu testu immunoenzymatycznego, który łatwo można przeprowadzić w gospodarstwie za pomocą komercyjnych zestawów. Testy te obarczone są pewnym marginesem błędów, wynikającym z zaburzeń funkcji narządów rozrodczych. Dobrymi markerami ciąży są obecne we krwi krowy białka produkowane i wydzielane przez zarodek. Umożliwiają one diagnozę ciąży na bardzo wczesnych etapach. Białka pochodzące z trofoblastu, takie jak swoiste dla ciąży białko B (pregnancy specific protein B – PSPB) czy glikoproteiny ciążowej (pregnancy-associated glycoproteins – PAG) stanowią idealny antygen dla testu ciążowego bydła. U krów poziom PSPB wzrasta od 15 dnia ciąży. Rozwój specyficznych testów radioimmunologicznych pozwolił na dopracowanie czułości metody do poziomu 90–92% (51). W krwiobiegu cielnej krowy od 24 dnia po inseminacji można monitorować obecność PAG, której stężenie wzrasta do 240 dnia ciąży. Jednocześnie klas tej glikoproteiny pozwala nie tylko na diagnozowanie ciąży, ale również na kontrolę rozwoju łożyska. Test obecności glikoproteiny obciążony jest marginesem błędu, ponieważ PAG utrzymuje się w krwiobiegu do 100 dni po porodzie, co może fałszować wynik testu kolejnej ciąży. Najodpowiedniejszym testem laboratoryjnym dla diagnozy zamieralności zarodków mógłby być test obecności specyficznego wczesnego białka ciążowego (early pregnancy factor – EPF). Białko to pojawia się we krwi krowy już 6–24 godzin po zapłodnieniu i zanika w kilkanaście godzin po stracie zarodka. Niestety metodyka rozetkowego testu wykrywania EPF we krwi jest bardzo skomplikowana, a czas wykonania długi. Test ten wymaga dalszego dopracowania, by mógł być wykorzystany w warunkach terenowych.

Należy stwierdzić, że największy wpływ na poziom śmiertelności zarodkowej mają predyspozycje genetyczne, zdrowie, żywienie i liczba potomstwa uzyskana od krowy. Prawie 65% przypadków śmierci zarodkowej występuje pomiędzy 6–18 dniem ciąży. Brak jest jednoznacznego

postępowania weterynaryjnego bądź terapii hormonalnej, które pozwoliłyby zmniejszyć poziom śmiertelności zarodkowej. Dopóki programy hodowlane będą dążyły do zwiększenia produkcji mlecznej, hodowcy muszą zaakceptować stosunkowo wysoki poziom śmiertelności zarodkowej. Niezbędne są dalsze badania dla lepszego zrozumienia procesu śmiertelności zarodkowej.

Piśmiennictwo

- Lucy M.C.: Fertility in high producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement. *Society of Reproduction and Fertility Supplement*. 2007, **64**, 237-254.
- De Vries A.: Economic value of pregnancy in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2006, **89**, 3876-3885
- Noakes D.E., Parkinson T.J., England G.C.: *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Saunders Elsevier, 2009.
- Sreenan J.M., Diskin M.G.: The extent and timing of embryonic mortality in cattle. W: Zavy M.T., Geisert R.D. (edit.): *Embryonic Mortality in Domestic Species*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1994, s. 142-158.
- Diskin M.G., Morris D.G.: Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod. Domest. Anim.* 2008, **43**, Suppl 2, 260-267.
- Loneragan P.: Using basic approaches to address applied problems in dairy reproduction *Reproduction Supplement RRS* 2010
- Wiebold J.L.: Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 1988, **84**, 393-399
- Ryan D.P., Prichard J.K., Kopel E., Godke R.A.: Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. *Theriogenology* 1993, **39**, 719-737
- Sartori R., Bastos M.R., Wiltbank M.C.: Factors affecting fertilisation and early embryo quality in single- and superovulated dairy cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 2010, **22**, 151-158.
- Cerri R.L., Juchem S.O., Chebel R.C., Rutigliano H.M., Bruno R.G., Galvao K.N., Thatcher W.W., Santos J.E.: Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2009, **92**, 1520-1531.
- Diskin M.G., Murphy J.J., Sreenan J.M.: Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Anim. Reprod. Sci.* 2006, **96**, 297-311.
- Vasconcelos J.L.M., Silcox R.W., Lacerda J.A., Pursley J.R., Wiltbank M.C.: Pregnancy rate, pregnancy loss and response to heat stress after AI at two different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.* 1997, *Supplement 1*, abstract 230.
- Grimard B., Freret S., Chevallier A., Pinto A., Ponsart C., Humblot: Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. *Anim. Reprod. Sci.* 2006, **91**, 31-44.
- Silke V., Diskin M.G., Kenny D.A., Boland M.P., Dillon P., Mee J.F., Sreenan J.M.: Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2002, **71**, 1-12.
- López-Gatius F., Santolaria P., Yáñez P., Rutllant J., López-Béjar M.: Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Anim. Reprod. Sci.* 2002, **57**, 1251-1261.
- Heuer C., Schukken Y.H., Dobbelaar P.: Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 1999, **82**, 295-304.
- Armstrong D.G., McEvoy T.G., Baxter G., Robinson J.J., Hogg C.O., Woad K.J., Webb R., Sinclair K.D.: Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biol. Reprod.* 2001, **64**, 1624-1632.
- Boland M.P., Loneragan P.: Effects of nutrition on fertility in dairy cows. *Adv. Dairy Technol.* 2003 **15**, 19-33.
- Roberts R.M., Xie S., Mathialagan N.: Maternal recognition of pregnancy. *Biol. Reprod.* 1996, **54**, 294-302.
- Goff A.K.: Embryonic signals and survival. *Reprod. Dom. Anim.* 2002, **37**, 133-139.
- Johnson G.A., Burghardt R.C., Bazer F.W., Spencer T.E.: Osteopontin: roles in implantation and placentation. *Biol. Reprod.* 2003, **69**, 1458-1471.
- Green M.P., Hunter M.G., Mann G.E.: Relationship between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2005, **88**, 179-189.
- Mann G.E., Lamming G.E.: Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 2001, **121**, 175-180.
- Stronge A.J.H., Sreenan J.M., Diskin M.G., Mee J.F., Kenny D.A., Morris D.G.: Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology* 2005, **64**, 1212-1224.
- McNeill R.E., Diskin M.G., Sreenan J.M., Morris D.G.: Association between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology*, 2006, **65**, 1435-1441.
- Franco O.J., Drost M., Thatcher M.J., Shille V.M., Thatcher W.W.: Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum. *Theriogenology*, 1987, **27**, 631-644.
- Lucy M.C.: ADSA Foundation Scholar Award. Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 2001, **84**, 1277-1293.
- Chagas e Silva J., Lopes da Costa L.: Luteotrophic influence of early bovine embryos and the relationship between plasma progesterone concentrations and embryo survival. *Theriogenology*, 2005, **64**, 49-60.
- Inskeep E.K.: Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentration of progesterone on embryonic survival in the cow. *J. Anim. Sci.* 2004, **82** (E. Suppl.) E24-E39.
- Hansen P.J.: Regulation of uterine immune function by progesterone – lesson from the sheep. *J. Reprod. Immunol.* 1998, **40**, 63-79.
- Sangsritavong S., Combs D.K., Sartori R., Amentano L.E., Wiltbank M.C.: High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2002, **85**, 2831-2842.
- Hansen P.J.: Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *J. Anim. Sci.* 2002, **80**, (E. Supplement 2): E33-E44.
- Carter F., Forde N., Duffy P., Wade M., Fair T., Crowe M.A., Evans A.C., Kenny D.A., Roche J.F., Loneragan P.: Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reprod. Fertil. Dev.* 2008, **20**, 368-375.
- Starbuck M.J., Dailey R.A., Inskeep E.K.: Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2004, **84**, 27-39.
- Gray C.A., Bartol FF., Tarleton B.J., Wiley A.A., Johnson G.A., Bazer F.W., Spencer T.E.: Developmental biology of uterine glands. *Biol. Reprod.* 2001, **65**, 1311-1323.
- Elrod C.C., Butler W.R.: Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.* 1993, **71**, 675-681.
- McEvoy T.G., Robinson J.J., Aitken R.P., Findlay P.A., Robertson I.S.: Dietary excesses of urea influence the viability and metabolism of preimplantation sheep embryos and may affect fetal growth among survivors. *Anim. Reprod. Sci.* 1997, **47**, 71-90.
- Rhoads M.L., Gilbert R.O., Lucy M.C., Butler W.R.: Effects of urea infusion on the uterine luminal environment of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2004, **87**, 2896-2901.
- Meza-Herrera C.A., Ross T., Hawkins D., Hallford D.: Interactions between metabolic status, pre-breeding protein supplementation, uterine pH, and embryonic mortality in ewes: preliminary observations. *Tropical Animal Health and Production* 2006, **38**, 407-413.
- Thatcher W.W., Bartol FF., Knickerbocker J.J., Curl J.S., Wolfenson D.: Maternal recognition of pregnancy in cattle. *J. Dairy Sci.* 1984, **67**, 2797-2811.
- Staple L.D., Brown D., Binns R.M., Heap R.B.: The influence of protein hormones and conceptus extracts on sheep lymphocyte transformation induced in vitro. *Placenta* 1983, **4**, 125-131.
- Croy B.A.: Embryo survival in domestic mammals: immunological aspects. W: Zavy M.T., Geisert R.D. (edit.): *Embryonic Mortality in Domestic Species*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1994, s. 153-178.
- Davies C.J.: Why is the fetal allograft not rejected? *J. Anim. Sci.* 2007, **85**, (E. Suppl.): E32-E35.
- Mihm M., Curran N., Hyytel P., Knight P.G., Boland M.P., Roche J.F.: Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. *J. Reprod. Fert.* 1999, **116**, 293-304.
- Perry G.A., Geary T.W., Lucy M.C., Smith M.F.: Effect of follicle size at the time of induced ovulation on luteal function and fertility. Proceeding, Western Section, *American Society of Animal Science*. 2002, **55**, 45-48.
- Logue D.N., Harvey M.J.A.: Meiosis and spermatogen sis in bulls heterozygous for a presumptive 1/29 Robertsonian translocation. *J. Reprod. Fert.* 1978, **4**, 159-165.
- Ballachey B., Evenson D., Saacke R.: The sperm chromatin structure assay: relationship with alternate test of semen quality and heterospermic performance of bull. *J. Andrology* 1988, **9**, 109-115.
- Loneragan P.: State-of-the-art embryo technologies in cattle. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl* 2007, **64**, 315-325.
- Fricke P.M.: Methods for diagnosis and monitoring of pregnancy in dairy cattle and their implementation. *Extension* 2008
- Boryczko Z., Pawlak M., Witkowski M., Zajac S.: Wczesne rozpoznawanie ciąży u bydła jako element sterowania rozrodem. *Zycie Wet.* 2010, **85**, 928-932.
- Humblot P.: Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology*. 2001, **56**, 1417-1433.

Anna Świątek, Katedra Rozrodu i Anatomii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków