

# Wpływ ingerencji hormonalnych na skuteczność zacieleń u biorczyń zarodków

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, KRZYSZTOF URBANIAK\*

Pracownia Biotechniki Rozrodu Zwierząt Państwowego Instytutu Weterynaryjnego Oddział w Bydgoszczy,  
Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

\*Katedra Weterynarii Rolniczej Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt AR, ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań

Jaśkowski J. M., Urbaniak K.

## The influence of hormonal interference on pregnancy rate in recipient cows

### Summary

The article presents recent opinions concerning the efficiency, time-period, forms of application and reasons for biotechnical manipulations which involve supplementing cows with hormones such as progesterone, GnRH and hCG. A number of opinions confirm the positive influence these substances have on pregnancy results in cases where they are applied directly after embryo transfer. Other data, however, indicate that there is no correlation between hormone supplements and pregnancy results. The influence of factors such as heat synchronisation, quality of embryo and/or its development stage have a greater influence on pregnancy rate than hormone application.

**Keywords:** cows recipients, pregnancy rate, progesterone, GnRH and hCG.

Efektywność transferu zarodków zależna jest od różnych czynników. Na ogół za najistotniejsze z nich przyjmuje się jakość i stadium rozwoju zarodków, stopień zsynchronizowania cyklu rujowego u dawczyń i biorczyń, a także – prawidłową obserwację rui, optymalne żywienie oraz wiek i kondycję biorczyń, to wszystko zatem, co składa się na prawidłowe utrzymanie i nadzór. Niezależnie od stałej kontroli tych czynników, a równocześnie wobec nie zawsze zadawalających wyników transferu, stale poszukuje się prostych metod biotechnicznych, pozwalających na poprawę wskaźnika zacieleń u krów biorczyń zarodków. Pewnych możliwości upatruje się w uzupełnieniu ewentualnych niedoborów progesteronu.

Według niektórych autorów (11) decydujący wpływ na utrzymanie ciąży wywiera odpowiednie środowisko maciczne. Podczas wczesnej ciąży zapewnia je prawidłowy poziom wytwarzanego przez ciało żółte progesteronu. Hormon ten pobudza sekrecję *endometrium*, niezbędną do stymulacji wzrostu i różnicowania zarodka podczas wczesnej ciąży.

W wielu badaniach wykazywano ścisły związek pomiędzy stężeniem progesteronu we krwi a wynikami zacieleń u unasienianych krów oraz biorczyń zarodków świeżych i mrożonych (30, 42). Przykładowo stwierdzono, że w dniu transferu zarodka stężenie progesteronu we krwi krów cielných wynosi około 4 ng/ml i jest o 1 ng/ml wyższe niż u krów niezacielonych (30). Jed-

nocześnie większość autorów za prawidłowe w dniu wprowadzenia zarodka do macicy przyjmuje stężenie progesteronu wynoszące od 2 do 6 ng/ml (31, 32).

U znaczącego odsetka biorczyń stężenie progesteronu w dniu transferu jest jednak niedostateczne. Z badań krajowych wynika, że zaledwie 30% biorczyń wykazuje stężenie hormonu typowe dla końca pierwszej tercji cyklu rujowego (16). Z reguły istotnie gorsze wyniki zacieleń dotyczą tych biorczyń, u których w dniu transferu zarodka poziom progesteronu jest niższy od 2 ng/ml, lub wyższy od 6 ng/ml. Także inne obserwacje wskazują, że poziom progesteronu poniżej 1 ng/ml występuje u 14-39% zakwalifikowanych do transplantacji jałowic biorczyń zarodków (2, 15, 18). Niedomogę lutealną w pierwszych dniach po rui charakteryzuje zmniejszenie wrażliwości na czynniki luteotropowe (LH, PGF<sub>2α</sub>) oraz skłonność do wczesnej śmiertelności zarodkowej (38). Według niektórych autorów (13) notuje się ją częściej u krów, u których cykl rujowy był zsynchronizowany przy pomocy prostaglandyny (13). Na marginesie nadmienić trzeba, że niezależnie od niedoboru progesteronu, u pewnej liczby biorczyń w pierwszym okresie ciąży, obserwuje się nadmiernie podwyższone stężenie hormonu (14, 19, 41). Jego geneza oraz wpływ na rozwój ciąży nie zostały ostatecznie rozwiązane.

Zaburzenia w sekrecji progesteronu mogą być także następstwem manipulacji w szyjce macicznej pod-

czas wprowadzania zarodka oraz mechanicznego drażnienia błony śluzowej macicy. W konsekwencji dochodzić może z jednej strony do wzmożenia kurczliwości mięśni gładkich macicy, wskutek wyzwolonego efektu oksytocynowego, a w konsekwencji zagrożenia poronieniem, z drugiej do obniżenia sekrecji progesteronu wskutek inicjacji przedwczesnej regresji ciała żółtego (27, 50). Podobny efekt może powodować stres podczas zabiegu poskramiania krów biorczyń zarodków. Dodatkowo wprowadzenie zarodka do macicy wywołuje reakcję immunologiczną organizmu. Jej efektem jest przejściowy wzrost temperatury ciała oraz stężenia kortyzolu we krwi obwodowej (3, 28). W procesie immunosupresji, zapobiegającej odrzucaniu zarodka obserwuje się także wzrost stężenia prostaglandyny E<sup>2</sup>. Pełni ona rolę luteotroficzną oraz posiada działanie pyrogenne (10).

Niedomodze lutealnej oraz ubocznym skutkiem manipulacji w obrębie dróg rodnych oraz stresu (m.in. wzrost kurczliwości mięśni gładkich macicy, wzrost stężenia kortyzolu we krwi) w efekcie podwyższonemu ryzyku luteolizy w pierwszym tygodniu po transferze zarodka i wczesnej śmierci zarodkowej u krów biorczyń zarodków próbowano w różny sposób zapobiegać (21, 29).

Najprostszym i najtańszym sposobem okazała się doustna lub parenteralna aplikacja progesteronu. Egzogenny progesteron wzmacnia sekrecję progesteronu endogennego, pochodzącego z komórek lutealnych. Wpływ ten jest szczególnie wyraźny pomiędzy 5 a 10 dniem cyklu rujowego (21). Progesteron hamuje syntezę PGF<sub>2α</sub> i ogranicza aktywność receptorów oksytocynowych, uczula receptory adrenergiczne na działanie adrenaliny, H<sub>2</sub> histaminergiczne na histaminę i razem z melantoiną oraz PGE hamuje dynamikę skurczów macicy (6). Podany pomiędzy 10 a 17 dniem cyklu rujowego obniża sekrecję LH oraz produkcję estradiolu, hormonów, które sprzyjają lizie ciała żółtego.

Stosunkowo najwcześniej progesteron podawano w seriach krótko działających preparatów, później zastąpiono je preparatami o przedłużonym działaniu (25). O korzystnym wpływie Depo-Gestronu podawanego 10 dni po transferze zarodków na wyniki zacielen u biorczyń donoszono m.in. w kraju (25).

W połowie lat osiemdziesiątych zaproponowano zastosowanie specjalnie skonstruowanych gąbek poliuretanowych (PRD) nasączonych progesteronem (P) lub medroksyprogesteronem (MAP), które umieszczano w pochwie bezpośrednio po wprowadzeniu zarodka (35). W efekcie uzyskiwano wzrost wskaźnika zacielen z 44,6 do 51,7%. Prymitywne początkowo pesaria zastąpione zostały profesjonalnymi wkładkami dopochwowymi. Na rynku przyjęły się dwie ich postaci – spirale progesteronowe PRID, zawierające 1,5 mg progesteronu oraz kapsułę estradiolu oraz CIDR, zawierające o 0,4 mg progesteronu więcej (50). Wprowadzenie dopochwowych pesariów pozbawionym jaj-

ników krowom na 12 dni powoduje szybki wzrost stężenia progesteronu do wartości 4-6 ng/ml już po upływie 2 godzin (46). Stężenie to nie zmienia się przez kolejne 6 dni, a następnie obniża się stopniowo do 1-2 ng/ml. Zastosowanie CIDR-B bezpośrednio po transferze zarodków pozwalało na istotną poprawę wskaźnika zacielen zarówno w odniesieniu do zarodków świeżych jak i mrożonych (23, 26). donoszono także o umiarkowanym wzroście wskaźnika zacielen u krów, którym CIDR wprowadzano 7-14 dni po inseminacji (45).

Według niektórych autorów (33, 35) ochronne działanie progesteronu funkcjonuje wyłącznie w ściśle określonych warunkach. Przykładowo, zastosowanie CIDR-B nie poprawia wskaźnika zacielen u biorczyń zarodków świeżych, poprawia natomiast po transplantacji zarodków mrożonych (33). Podobnie, podawanie CIDR-B nie przynosi oczekiwanej poprawy w przypadku transferu zarodków 1 i 2 klasy, znacząco natomiast podnosi wskaźnik zacielen wówczas gdy przenoszono zarodki gorszej jakości (35). W nowszych badaniach nie uzyskiwano wzrostu wskaźnika zacielen u krów i jałowic biorczyń, którym wprowadzano dopochwowo wkładkę progesteronową CIDR-B (44). Podobnie odsetek zacielenych krów biorczyń po założeniu na 12 dni wkładek CIDR-B nie powodował istotnego wzrostu liczby zacielen (47).

Alternatywą dla wkładek dopochwowych stały się ostatnio podskórne implanty, zawierające wysoce aktywną, syntetyczną pochodną progesteronu – norgestomet (Synchronate-B, Crestar). Norgestomet, wprowadzany jest przy pomocy aplikatora pod skórę zewnętrznej powierzchni małżowiny usznej. Dowiedziono, że 140 µg norgestometu, wystarcza do stłumienia objawów rui u bydła. Analogiczną sytuację uzyskuje się u bydła podając porcję 45 mg progesteronu dziennie (20). Według opinii producentów, implant – w przeciwieństwie do wkładek dopochwowych – nie powoduje stanów zapalnych błony śluzowej pochwy, powstających w efekcie mechanicznego drażnienia. Wprowadzając norgestomet bezpośrednio po transferze zarodka i pozostawiając go do momentu badania na ciążę, uzyskiwano wzrost wskaźnika zacielen u jałowic z 57,3 do 67,8% (5). Poprawa wskaźnika zacielen nie dotyczyła jednak samic, które z różnych powodów zgubiły implant, a także tych, u których w dniu inlokacji zarodka stwierdzano podwyższone (> 6,5 ng/ml) stężenie progesteronu we krwi obwodowej (42). W przypadku podwyższonego poziomu progesteronu we krwi w dniu transferu zarodka podaż długo działającego preparatu zawierającego progesteron może działać regulująco poprzez supresję sekrecji progesteronu endogennego. Co interesujące, podanie progesteronu jałowicom, u których stężenie progesteronu było prawidłowe, pozostawało bez wpływu na wyniki zacielen. Znaczne rozbieżności w wynikach zacielen podczas stosowania egzogenego progesteronu mogą być spowodowane różnym czasem oddziaływania prepa-

ratu. Stwierdzono, że trzydniowa suplementacja progesteronem – pomiędzy 7 a 10 dniem po rui nie wywierała żadnego wpływu na sekrecję progesteronu endogennego i nie miała wpływu na wynik zacielenia. Z kolei podczas suplementacji trwającej około 10 dni następował stopniowy spadek sekrecji progesteronu egzogenego, umożliwiając sekrecję dodatkowych, własnych porcji progesteronu przez zarodek oraz czynników antyluteolitycznych przez komórki trofoblastu (12, 24).

Innym sposobem wyrównywania stężenia progesteronu i oddziaływania na wyniki zacielen jest podawanie w dniu rui lub krótko po unasienianiu substancji hormonalnych o działaniu luteinizującym – gonadoliberyny (GnRH) lub choriogonadotropiny kosmówkowej (hCG). Zainteresowanie gonadoliberyną wynika z faktu, że jej użycie umożliwia zacielenie biorczyń mimo asynchronicznego cyklu rujowego (7, 43). Osiem mikrogramów GnRH podawanych od 12 do 19 dnia po rui w 2-3 dniowych odstępach pozwalało na zacielenie 38,9% biorczyń, u których ruja wystąpiła 2,5 do 8 dni wcześniej niż u dawczyń (43). Dokonując jednokrotnej domięśniowej iniekcji GnRH w dniu wprowadzenia zarodka lub 4 do 8 dni później uzyskiwano nieznaczny wzrost wskaźnika zacielen (8, 9). Po podaniu GnRH jałowicom doświadczalnym, nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu progesteronu w porównaniu do samic kontrolnych. Inni poprawę wskaźnika zacielen odnoszą do terminu podania GnRH (45). Przykładowo istotny wzrost wskaźnika zacielen uzyskiwano u tych biorczyń, u których iniekcji dokonywano 6 dni po zabiegu transferu zarodka.

Z nowszych badań wynika, że sekrecję progesteronu może skutecznie stymulować podanie hCG w ściśle określonej fazie cyklu rujowego. Szczegółowe badania powierzchni jajników, możliwe dzięki wprowadzeniu do diagnostyki ultrasonografii – wykazały, że podczas cyklu rujowego u krów mają miejsce dwie lub trzy fale wzrostu pęcherzyków jajnikowych. Poszczególne fale kończy dominacja pęcherzyka przypadająca na 7, 14 i 21 dzień po rui (36). Szereg badań wskazuje, że pęcherzyki w tym okresie zawierają dostateczną liczbę receptorów hormonu luteinizującego, gwarantujących reakcję na egzogenną gonadotropinę. W efekcie w wyniku iniekcji hCG w okresie dominacji pierwszego lub drugiego pęcherzyka dominującego może w jego miejscu powstawać dodatkowe ciało żółte zdolne do syntezy progesteronu (34). Dalsze badania wykazały, że cechą charakterystyczną dodatkowego ciała żółtego są – przy podobnym do naturalnego okresie utrzymywania się na jajniku podczas cyklu rujowego – mniejsze rozmiary, a także niższa sekrecja progesteronu (39, 40). Synteza dodatkowych porcji endogenego progesteronu może obniżać ryzyko wczesnej śmiertelności zarodkowej (34). Za eliminacją dużych pęcherzyków jajnikowych przemawiają także badania, z których wynika, że obecność pęcherzyka w pierwszej fazie ciąży może sprzyjać wczesnej

śmierci zarodkowej (1). Nie można zatem wykluczać, że podanie hCG powinno poprawiać wynik zacielenia przynajmniej w grupie biorczyń, u których w dniu transferu zarodka stwierdza się na jajniku obecność pęcherzyka. Potwierdzeniem są nieliczne badania, w których hCG aplikowano biorczyń, u których oprócz ciała żółtego stwierdzano na jajniku obecność pęcherzyka jajnikowego o średnicy powyżej 8 mm co prowadziło do poprawy wskaźnika zacielen (47).

Z nielicznych badań eksperymentalnych wynika, że hCG podany w 7 lub 14 dniu po unasienianiu poprawia wskaźnik zacielen u krów. Równocześnie korzystniejszym okazał się wariant, w którym hCG podawano w 7 dniu po unasienianiu. W innych badaniach dokonując iniekcji gonadotropiny kosmówkowej w 5-6 dniu po inseminacji, nie stwierdzano jej korzystnego wpływu na wyniki zacielen, przydatność hCG do poprawy wyników zacielen odnosi się tylko do wąskiego okresu lata i ekspozycji krów na stres cieplny (37). Podobnie nie stwierdzano poprawy zapłodnialności podając hCG 4 dni przed rują, 4 dni po rui lub 4 dni przed i 4 dni po rui (4). Opinie dotyczące korzystnego wpływu hCG na wyniki zacielen nie są jednomyślne. Niektórzy autorzy (35) uważają, że daleko większy wpływ na zakończony ciążą transfer zarodków ma stopień synchronizacji biorczyń i dawczyń, stadium rozwoju zarodka oraz czy przeniesienia zarodka dokonywano po rui naturalnej czy indukowanej prostaglandyną.

Nieliczne są badania, w których porównywano różne metody hormonalnej suplementacji na wyniki zacielen u biorczyń. Z analiz przeprowadzonych w kraju wynika, że nie ma istotnych różnic w wartości wskaźnika zacielen u biorczyń, którym bezpośrednio po transferze zakładano na 12 dni dopochwową wkładkę CIDR-B lub podawano domięśniową iniekcję 1000 IU hCG (47). Także i w tych badaniach okazało się, że podawanie preparatów hormonalnych miało w odniesieniu do wyniku zacielenia znaczenie drugoplanowe. Daleko bardziej znaczący był wpływ stada, z którego wywodziły się biorczyń, stopień zsynchronizowania rui dawczyń i biorczyń oraz róg maciczny, do którego wprowadzany jest zarodek. Podkreślane jest także znaczenie interakcji pomiędzy stadium rozwojowym zarodka a zastosowanym preparatem hormonalnym.

Reasumując, wydaje się że w typowych warunkach terenowych powodzenie transferu u krów biorczyń zarodków w większym stopniu zależy od czynników natury organizacyjnej, środowiskowej oraz sprawności wykonującego zabieg transferu lekarza niż stosowania dodatkowych zabiegów biotechnicznych. Mając świadomość nadrzędnego znaczenia tych czynników dla zakończonego ciążą transferu z jednej strony, z drugiej – co najwyżej umiarkowanie korzystnego wpływu egzogenego progesteronu lub substancji stymulujących jego sekrecję – wydaje się celowa wcześniejsza, dokładna analiza konieczności podawania tych preparatów.

## Piśmiennictwo

1. Ahmad N., Schrick N. F., Buchter R. L., Inskip K.: Effects of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol. Reprod.* 1995, 52, 1129-1135.
2. Bamberg E., Stöckl W., Arbeiter K., Choi A. S.: Der Plasmalogesterongehalt bei normozyklischen und graviden Braunviehkühen. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 1975, 62, 130-133.
3. Bielański A., Wierzchoś E., Gajda B.: Koncentracja kortyzolu i progesteronu u bydła w czasie pozyskiwania i transplantacji zarodków. *Medycyna Wet.* 1981, 37, 369-370.
4. Breuel K. F., Spitzer J. G., Thompson C. E., Breuel J. F.: First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology* 1990, 34, 139-145.
5. Broadbent P. J., Sinclair K. D., Dolman D. F., Mullan J. S., McNally J. R.: The effect of a norgestomet ear implant (Crestar) on pregnancy rate in embryo transfer recipients. *proc. 12th Intern. Congr. Anim. Reprod.* Hauge 1992, 2, 782.
6. Dejneka J., Rauluszkiewicz S.: Wpływ czynników stresogennych na poporodową dynamikę skurczów macicy u krów. *Medycyna Wet.* 1995, 51, 153-156.
7. Drost M., Tan H. S., MacMillan K. L., Thatcher S. E.: Successful asynchronous embryo transfer in cattle. *Theriogenology* 1989, 31, 186 abstr.
8. Ellington J., Foote R., Webb J., Hasler J., McGrath A.: The use of a GnRH analog in an embryo transfer field trial. *Theriogenology* 1990, 33, 225 abstr.
9. Ellington J., Foote R., Farrell P. B., Hasler J. F., Webb J., Hendersen W. B., McGrath A. B.: Pregnancy rates after the use of a gonadotropin releasing hormone agonist in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology* 1991, 36, 1035-1042.
10. Gill Z., Wierzchoś E., Szarek J., Kural J.: Temperatura ciała i mleka u krów i jałówek biorczyń, po transplantacji zarodków. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 826-828.
11. Hare W. C., Mitchell D., Betteridge K. J., Eaglesome M. D., Randall G. B. C.: Sexing two-week old bovine embryos by chromosomal analysis prior to surgical transfer. *Theriogenology* 1976, 5, 243-253.
12. Helmer S. D., Hansen P. J., Thather W. W., Johnson J. W., Bazer F. W.: Intrauterine infusion of highly encephalated bovine trophoblast protein-1 complex exerts an antiluteolytic. *J. Reprod. Fert.* 1989, 87, 89-101.
13. Jackson S. P., Johnson C. T., Bulman D. C., Holdsworth R. J.: A study of cloprostenol - induced oestrous and spontaneous oestrus by means of the milk progesterone assay. *Br. Vet. J.* 1979, 135, 578-590.
14. Jaśkowski J. M.: Nietypowe poziomy progesteronu podczas okresu poporodowego oraz wczesnej ciąży u krów. *Medycyna Wet.* 1982, 38, 430-433.
15. Jaśkowski J. M., Wiese M., Wallenburg J.: Ultrasonograficzny obraz bydłych jajników w różnych fazach cyklu rujowego i zmienionych patologicznie. *Medycyna Wet.* 1993, 49, 270-273.
16. Jaśkowski J. M., Znaniecki R., Hutnikiewicz I. M., Sucharski M., Lewandowski Z.: Profil metaboliczny i zależność pomiędzy stężeniem progesteronu a wynikami zacielen u krów biorczyń zarodków. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 619-622.
17. Jaśkowski J. M.: Czynniki wywierające wpływ na wyniki zacielen u krów biorczyń zarodków. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 236-238.
18. Jaśkowski J. M., Zbylut J.: Przygotowanie i kwalifikacja biorczyń do transferu zarodków. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 766-768.
19. Judek J.: Przypadki nietypowych poziomów progesteronu w okresie okołorujowym i wczesnej ciąży u krów. *Medycyna Wet.* 1983, 39, 202-204.
20. Kesler D. J.: Norgestomet implants maintain pregnancy in ovariectomized heifers. *Theriogenology* 1996, 48, 89-98.
21. Kotwica J., Miszkiewicz G., Skarżyński D., Bogacki M.: Stymulujący wpływ progesteronu na własną syntezę w ciałku żółtym krowy. *Konf. Nauk. „Aktualne zagadnienia z zakresu embriotransferu, higieny mleka i rozrodu zwierząt. Polanica Zdr.* 1998, 1, 123.
22. Looney C. R., Oden A. J., Massey J. M.: Pregnancy rates following hCG administration at the time of transfer in embryo-recipient cattle. *Theriogenology* 1984, 21, 246.
23. Lynch P. R., Macmillan K. L.: Strategic use of an intravaginal device to synchronise returns-to-transfer and to allow early pregnancy testing in recipient heifers, New Zealand Embryo Transfer Workshop, Hamilton 1994, 1, 32-33.
24. Łukaszewska J., Hansel W.: Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fert.* 1980, 59, 485-493.
25. Łukaszewski Z., Marcinkowski K., Króliński J., Łukaszewska J.: Wpływ egzogenego progesteronu na wyniki zacielen w świetle badań klinicznych i endokrynologicznych. *Medycyna Wet.* 1993, 49, 322-323.
26. Macmillan K. L., Taufaj V. K., Hayman D. L.: Pregnancy rates in lactating dairy cows used as recipients for frozen/thawed embryos and receiving supplemental progesterone. *New Zealand Embryo Transfer Workshop, Hamilton* 1994, 1, 34-35.
27. Marcinkowski K., Dejneka J., Rauluszkiewicz S.: Wpływ oksytocyny i progesteronu na motorykę macicy krów - biorczyń, przygotowanych do transcewikalnego przeszczepu zygoty. *Medycyna Wet.* 1983, 39, 603-605.
28. Meyer M. D., Hansen P. J., Thather W. W.: Effect of bovine interferon - t on body temperature, and plasma progesterone concentrations in cyclic dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1995, 78, 1470-1476.
29. Mishra A. K., Mutha Rao M., Kasiraj R., Ranga Reddy N. S., Pant H. C.: Factors affecting pregnancy rate following nonsurgical embryo transfer in buffalo (Bubalus bubalis): a retrospective study. *Theriogenology* 1999, 52, 1-10.
30. Niemann H., Sacher B., Elsaesser F.: Pregnancy rates relative recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/thawed bovine embryos. *Theriogenology* 1985, 23, 631-639.
31. Northey D. L., Barnes F. L., Eyestone W. H., Frist N. L.: Relationship of serum progesterone, luteinizing hormone and the incidence of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology* 1985, 23, 214 abstr.
32. Payas A. J., Broadbent P. J., Dolman D. F., Christie W. B.: Factors affecting pregnancy rate in embryo transfer recipients with reference to plasma progesterone. *Theriogenology* 1989, 31, 238 abstr.
33. Peterson A. J., McMillan W. H., Macmillan K. L., Pugh P. A.: The effect of progesterone supplementation on preimplantation development of fresh and frozen/thawed cattle blastocysts, New Zealand Embryo Transfer Workshop, Hamilton 1994, 1, 36-37.
34. Rajamahendran R., Sianangama P. C.: Effect of human chorionic gonadotropin on dominant follicle in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *J. Reprod. Fert.* 1992, 95, 577-584.
35. Salgado R., Donaldson L. E.: The effect of intravaginal progesterone on pregnancy rates in cows receiving embryo transfer. *Theriogenology* 1984, 21, 258 abstr.
36. Savio J. D., Boland M. P., Hynes N., Mattiacci M. R., Roche J. F.: Will the first dominant follicle of estrus cycle of heifers ovulate following luteolysis on day 7. *Theriogenology* 1992, 33, 677-687.
37. Schmitt E. J.-P., Fredriksson W. E., Barros C. M., Drost M., Thatcher W. W.: Effect of a hCG injection on a day 5 post-insemination on conception rates in dairy heifers and dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1995, 73, 231, abstr. Supl. 1.
38. Shelton K., Gayerie De Abreu M. F., Hunter M. G., Parkinson T. J., Laming G. E.: Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. *J. Reprod. Fert.* 1990, 90, 1-10.
39. Sianangama P. C., Rajamahendran R.: Are corpora lutea induced by human chorionic gonadotropin (hCG) given on a day 7 of the bovine estrous cycle functional? *Theriogenology* 1996, 45, 583-592.
40. Sianangama P. C., Rajamahendran R.: Effect of hCG administration on day 7 of the estrous cycle on follicular dynamics and cycle length in cows. *Theriogenology* 1996, 45, 977-990.
41. Smith A. K., Broadbent P. J., Dolman D. F., Grimmer S. P., Davies D. A. R., Dobson H.: Norgestomet implants, plasma progesterone concentrations and embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Vet. Rec.* 1996, 116, 187-191.
42. Smorag Z., Skrzyszowska M., Wierzbowski S., Wiczorek B., Jura J.: Wpływ liczby ciałek żółtych na efektywność przenoszenia dzielonych zarodków owczych. *Mat. VIII Kongr. PTNW, Warszawa* 1987, 1, 117-118.
43. Thatcher W. W., Macmillan K. L., Hansen P. J., Drost M.: Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 1989, 31, 149-164.
44. Tribulo R., Nigro M., Burry E., Caccia M., Tribulo H., Bo G. A.: Pregnancy rates in recipients receiving CIDR-B devices immediately following embryo transfer. *Theriogenology* 1997, 47, 372 abstr.
45. Tubino F. A., Larocca C.: Pregnancy rates in embryo transfer recipients following GnRH administration on day 13 of the estrous cycle. *Theriogenology* 1999, 51, 405 abstr.
46. Uehlinger H., Binder H., Hauser B., Rüsch P., Zerobin K.: Hormonanalytischer Vergleich der Vaginaleinlagen CIDR und PRID bei ovariektomierten Kühen, Schweiz. *Arch. Tierheilk.* 1995, 137, 81-86.
47. Urbaniak K.: Wpływ egzo i endogennego progesteronu na wyniki zacielen u krów biorczyń zarodków. *Praca dokt. Puławy* 2000.
48. Van Cleeff J., Drost M., Thatcher W. W.: *Theriogenology* 1991, 36, 795-807.
49. Wilde M. H., Dinger J. E., Hoagland T. A., Graves-Hoagland R. L., Woody C. O.: The effects of cervical dilatation on plasma PGFM, progesterone and the duration of luteal function in diestrous mares. *Theriogenology* 1989, 32, 675-681.
50. Zbylut J., Jaśkowski J. M.: 94: Praktyczne możliwości wykorzystania dopochwowych wkładek progesteronowych w rozrodzie krów. *Magazyn Wet.* 1997, 6, 191-192.