

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHÈSE

La mortalité embryonnaire

1. Aspects cliniques et facteurs étiologiques dans l'espèce bovine

HANZEN CH.*, DRION P.V.**, LOURTIE O.*, DEPIERREUX C.***, CHRISTIANS E.***

Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire

* Service d'Obstétrique et de Pathologie de la Reproduction – B41 Sart Tilman, 4000 Liège

** Service de Physiologie de la Reproduction – B41 Sart Tilman, 4000 Liège

*** Service d'Histologie -Embryologie – B43 Sart Tilman, 4000 Liège

RESUME. En reproduction bovine, l'infertilité demeure un problème aux conséquences économiques redoutables. Son diagnostic symptomatique semble relativement aisé. Il est ainsi devenu habituel de considérer comme infertile un animal dont on n'a pas obtenu une gestation après deux inséminations. De même au niveau du troupeau, la présence de plus de 15 % d'individus inséminés plus de deux fois doit donner à penser à une infertilité de groupe. A l'inverse, le diagnostic étiologique de l'infertilité demeure bien souvent difficile compte tenu du fait que les moyens cliniques potentiels font encore bien souvent défaut pour distinguer l'absence de fécondation, la mortalité embryonnaire précoce et tardive. Par ailleurs, ce diagnostic est rendu difficile par la multiplicité de facteurs impliqués qu'ils soient individuel ou de troupeau, qu'ils soient de nature hormonale ou non. Aussi, les auteurs se sont-ils proposés au travers de trois articles au demeurant complémentaires de faire le point sur cet important syndrome que constitue l'infertilité. Le présent article rappelle aux lecteurs les principales étapes du développement embryonnaire c'est-à-dire de la période comprise entre la fécondation et la fin de l'organogénèse soit le 45^e jour environ de la gestation.

Cette introduction est suivie d'une présentation des méthodes potentielles pour quantifier la mortalité embryonnaire et des fréquences déterminées par chacune d'entre elles. Force est de reconnaître que la plupart ne concerne que la mortalité embryonnaire tardive. Ce chapitre est complété par une présentation des principales manifestations cliniques. Les facteurs étiologiques ont été répartis en 5 groupes. Le premier concerne l'embryon : anomalies chromosomiques, sexe, nombre. Le second l'influence potentielle des parents : facteurs paternels et maternels : milieux tubaire et utérin, âge, nombre d'inséminations. Les facteurs relatifs à la fécondation in vitro ont été rassemblés dans un troisième groupe. Le quatrième groupe rassemble les facteurs biologiques susceptibles d'exercer une action délétère sur l'embryon à la fois in vivo et in vitro. Le cinquième groupe enfin revêt une connotation pratique plus évidente car il traite de l'influence possible de l'alimentation, de la saison, du diagnostic manuel de gestation et des traitements hormonaux.

INTRODUCTION GENERALE

L'amélioration de la fertilité demeure un des objectifs prioritaires pour optimiser le potentiel de reproduction et donc de production de l'élevage bovin. On peut en effet raisonnablement estimer que sur 100 vaches ou génisses inséminées, 50 d'entre elles seulement donneront naissance 9 mois plus tard à un veau vivant. C'est dire l'importance des pertes

rencontrées qui schématiquement relèvent de 4 grands syndromes que constituent l'absence de fécondation, la mortalité embryonnaire, l'avortement et l'accouchement prématuré.

Diverses études ayant eu recours à l'abattage des animaux 2 à 3 jours après l'insémination ont démontré que le taux de fécondation est compris entre 71 et 100 % (Diskin et

Sreenan 1980, Roche et al. 1981, Linares 1981, Maurer et Chenault 1983, Kidder et al. 1954, Bearden et al. 1956, Ayalon et al. 1978, Christensen et al. 1975). Chez les animaux infertiles c'est-à-dire inséminés plus de deux fois, ce pourcentage est par contre compris entre 60 et 72 % (Gustaffson et Larsson 1983, O'Farrell et al. 1983, Tanabe et al. 1985). Lors de superovulation,

cette absence de fécondation est également plus fréquente chez les animaux infertiles que chez les animaux normaux (Greve 1980).

De même diverses publications ont été consacrées au problème des avortements et/ou accouchements prématurés. Ces travaux ont fait état de leur fréquence ainsi que de leur étiologie. En ne considérant que les cas diagnostiqués par l'éleveur ou le vétérinaire, la fréquence des avortements serait en moyenne de 1.9% (0.4 à 5.5%). Elle serait en moyenne de 6.9% (3.6 à 10.6%) si sont pris en compte non seulement les cas cliniques d'avortement mais également les pertes non cliniquement diagnostiquées, situation habituelle au cours des 150 premiers jours de gestation (Dennis 1980, Barr et Anderson 1993, Forar et al. 1995, Forar et al. 1996, Kirkbride 1992, Larson 1996, Norton et Campbell 1990).

Les synthèses consacrées à la mortalité embryonnaire sont demeurées à ce jour relativement peu nombreuses (Diskin et Sreenan 1986, Zavy et Geisert 1994). Il est vrai que l'analyse de cet important problème aux conséquences économiques redoutables n'est pas chose aisée. La période embryonnaire classiquement définie comme la période comprise entre la fécondation et la fin de l'organogenèse soit le 42^e jour de gestation environ (Committee on Reproductive Nomenclature 1972) implique pour son déroulement un synchronisme optimal entre les divers aspects morphologiques, physiologiques, endocrinologiques, biochimiques, immunologiques et génétiques qu'elle implique. Par ailleurs, son étude *in vivo* n'est pas chose aisée. Cependant, l'important développement des recherches dans les domaines de la biotechnologie de l'embryon a permis de lever une partie du voile sur les facteurs potentiellement responsables. Il nous a donc semblé utile de faire au travers d'une série de trois articles le point sur cet important problème. Les deux premiers concerneront plus spécifiquement l'espèce bovine même si pour la compréhension du sujet il sera fait état de données relatives aux autres ruminants voire aux espèces équine et porcine. Le dernier basé sur des

connaissances plus fondamentales fera davantage référence aux animaux de laboratoire. Le premier article traitera des aspects morphologiques du développement embryonnaire ainsi que des manifestations cliniques et des facteurs étiologiques démontrés ou putatifs non-hormonaux impliqués dans la mortalité embryonnaire. Le second article sera consacré plus spécifiquement au mécanisme hormonal du maintien de la gestation et à son implication dans la pathogénie de la mortalité embryonnaire. Enfin, le troisième et dernier article en évoquera plus spécifiquement les mécanismes moléculaires.

CHRONOLOGIE DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

L'ovulation survient chez la vache une trentaine d'heures environ après le début de l'œstrus. Elle consiste en l'émission d'un ovocyte qui sous l'effet du pic préovulatoire de l'hormone lutéotrope (LH) a expulsé son premier globule polaire et se trouve bloqué au stade métaphase de la seconde division méiotique. La rapidité d'expulsion (dans les 16 à 20 heures) de ce premier globule polaire sous l'effet de la LH semble, selon certains auteurs, déterminante pour le développement futur de l'embryon (Dominiko et First 1992). Ainsi, *in vitro*, 85% des ovocytes mis en culture franchissent cette étape avec succès (Barnes et Eyestone 1990).

2.1. Premières divisions cellulaires

L'ovocyte est pénétré par le spermatozoïde dans les deux heures suivant l'ovulation (Betteridge et Flechon 1988). Cette pénétration déclenche l'expulsion par l'ovocyte du second globule polaire, la reprise de la mitose cellulaire et la formation des deux premiers blastomères une trentaine d'heures après la fécondation, la seconde division cellulaire s'observant 10 à 12 heures plus tard (Hamilton et Laing 1946, Thibault 1966). *In vitro*, cette reprise du développement est quelque peu retardée, la première division cellulaire

s'observant 44 heures en moyenne après le contact des ovocytes avec des spermatozoïdes capacités (Sirrard et Lambert 1985). Cette reprise de la division cellulaire est considérée comme critique pour le développement ultérieur de l'embryon. Ainsi, les embryons qui atteignent le stade 2 cellules 36 heures après la fécondation (Van Soom et al. 1992) voire le stade 4 cellules 48 heures après la fécondation se développent davantage que les autres jusqu'au stade blastocyste (Lonergan et al. 1994, Lonergan et al. 1992). Depuis la fécondation, la taille de l'embryon (70 à 14 microns) ne s'est pas modifiée. Il est entouré d'une zone pellucide. Celle-ci non seulement maintient les blastomères ensemble mais leur assure étant donné son rôle de filtration, un milieu périvitellin adéquat (Betteridge 1988). Les divisions cellulaires ultérieures présentent deux caractéristiques, elles sont asynchrones (Massip et al. 1983), certaines apparaissant plus précocement que d'autres et elles aboutissent à la formation de deux populations cellulaires, l'une de petite taille et l'autre de grande taille (Ziomek et Johnson 1981). Les premières, résultant d'une division plus précoce, donnent naissance au bouton embryonnaire (ICM, Inner Cell Mass) et les secondes au trophoctoderme ou trophoblaste (Fehilly et Willadsen 1986). Ce dernier se divisera par la suite en deux couches cellulaires, l'une interne est le cytotrophoblaste et l'autre externe est le syncytiotrophoblaste. Il est intéressant de noter le caractère totipotent, non différencié que présentent les cellules jusqu'au stade 8. Au 4^e jour suivant l'insémination d'animaux superovulés, 72% des embryons normaux ou dégénérés et des ovocytes récoltés après abattage de l'animal sont au stade de 8 cellules. Au 5^e et 6^e jour de gestation 78 et 81% d'entre eux sont respectivement au stade 16 et plus de 16 cellules (Hackett et al. 1993). En général, l'embryon passe dans l'utérus vers le 5^e jour de gestation (Cook et Hunter 1978). Des récoltes séquencées réalisées après abattage de vaches superovulées ont permis de préciser que 4, 5 et 6 jours après l'insémination, respectivement 60% des embryons sont dans l'ovi-

ducte et 80 et 91 % dans l'extrémité de la corne utérine (Hackett et al. 1993).

Ces divisions cellulaires aboutissent à la formation d'une morula (32-64 cellules) qui va être l'objet du phénomène dit de la compaction le plus souvent observé 5 à 6 jours après la fécondation (Van Soom et al. 1992). La compaction consiste en la formation de zones de contacts et de jonctions de communication (gap-junctions) entre les blastomères (Valdimarsson et Kidder 1995) aboutissant à la formation d'une cavité blastocoelique et à l'expansion du blastocyste (Dubicella et Anderson 1975). Celle-ci résulte de la présence d'un gradient ionique différent entre les parties internes et externes du blastocyste ayant pour résultat d'induire par osmose une accumulation de liquides dans la morula. Sa formation indique que l'embryon a franchi avec succès la phase de blocage observée *in vitro* au stade 8-16 cellules (4^e division cellulaire) chez la plupart des embryons de mammifères à l'exception des primates et de la lapine. Ce blocage implique que soient davantage maîtrisés *in vitro* les facteurs qui en seraient responsables et qui sont encore à ce jour imparfaitement connus.

C'est également au cours des premières divisions cellulaires (stade 2 dans l'espèce caprine, stade 4 dans les espèces porcine et humaine, stade 8 dans l'espèce bovine et stade 16 dans l'espèce ovine) que le contrôle du développement embryonnaire passe du génome maternel au génome de l'embryon lui-même (Telford et al. 1990).

Sortie de pellucide et phase d'élongation

Le jeune blastocyste comprend une centaine de cellules (Picard et al. 1986). Son diamètre est de 160 microns et l'épaisseur de sa zone pellucide de 12 microns (Linares et King 1980). L'accumulation de liquides dans le blastocyste est responsable de son expansion. Celle-ci se traduit par une augmentation de 60% de son diamètre qui passe d'un diamètre de 400 à 700 microns (Massip et Mulnard 1980). Il en résulte un

amincissement de la pellucide à l'origine de sa rupture. L'éclosion c'est-à-dire la sortie du blastocyste hors de sa pellucide (hatching) vers le 9^e-10^e jour suivant la fécondation ne résulte pas d'une lyse enzymatique (des membranes pellucides intactes peuvent être retrouvées dans l'utérus), mais de la formation d'un point de perforation. Ce processus a une durée moyenne de 12 heures. La phase d'expansion est continue ou discontinue, dans le premier cas, elle est suivie de l'éclosion; dans le second cas, elle peut être entrecoupée de quelques phases de contraction se terminant ou non par une éclosion normale (Massip et Mulnard 1980). Cette phase d'extrusion blastocyttaire au travers d'une zone pellucide incomplètement perforée pourrait expliquer la formation de vrais jumeaux (Massip et al. 1983).

Vers le 11^e-12^e jour de gestation, le blastocyste se compose de 1000 cellules environ 25 % d'entre elles seulement constituant le bouton embryonnaire recouvert jusqu'à ce moment par le trophoctoderme (Renard et al. 1978)

De sphérique, le blastocyste prend progressivement un aspect ovoïde avant d'entamer vers le 12^e-14^e jour sa phase d'élongation (Betteridge et al. 1980). Le début de cette phase varie selon les espèces et les individus, le cas le plus extrême étant celui de la diapause présentée par le chevreuil (Aitken 1981). Elle peut également être très rapide puisque dans l'espèce porcine, le blastocyste s'allonge de 30 à 45 mm par heure entre le 12^e et le 14^e jour de gestation (Geisert et al. 1982).

L'implantation

Le trophoblaste différencié vers le 5^e-6^e jour de gestation est un tissu dont la croissance est très rapide. Constitué de l'endoderme et du trophoctoderme, il forme le chorion et est à l'origine des cotylédons. Il débute à ce moment sa phase d'élongation jusqu'à atteindre une longueur de 2.5 cm en moyenne au 16^e jour de gestation. D'importantes variations individuelles ont été décrites à ce stade de gestation (Betteridge et Flechon 1988). L'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme sont à ce

moment bien différenciés et le trophoblaste est environ 50 fois plus long que le disque embryonnaire proprement dit.

Les premiers contacts tissulaires entre le trophoblaste et la surface utérine s'observeraient selon les auteurs entre le 11^e jour de gestation (Winters et al. 1942) et le 90^e jour (Kingman 1948). Des études plus spécifiques ont confirmé qu'en fait, c'est vers le 20^e-30^e jour de gestation qu'un processus d'adhésion entre les structures maternelles et embryonnaires se mettrait en place (Leiser 1975, Cook et Hunter 1978, King et al. 1979, King et al. 1980).

Morphologiquement, la période embryonnaire présente chez les ruminants et la truie plusieurs caractéristiques qu'il n'est pas inutile de rappeler pour mieux comprendre la pathogénie de la mortalité embryonnaire (Cook et Hunter 1978). Ces trois espèces se caractérisent par un allongement extrêmement important du blastocyste, résultat d'une intense prolifération trophoblastique, une fois ce dernier sorti de sa pellucide. Elles se distinguent également par une durée de vie libre relativement longue qui rend l'embryon beaucoup plus dépendant du contenu utérin. Par ailleurs et à la différence des rongeurs et des primates qui ont un placenta de type hémochorial (réaction déciduale), l'implantation de l'embryon est, chez les ruminants et la truie, beaucoup plus superficielle, le placenta étant de type syndesmochorial (ruminants) ou épithéliochorial (truie). Elle ressemble de ce fait davantage à une fixation qu'à une nidation. Le moment de cette fixation est variable selon les espèces. Elle s'observerait au plus tôt vers le 13^e jour de gestation chez la truie (Crombie 1970), le 15^e jour chez la brebis (Boshier 1969), le 30^e jour chez la vache (Cook et Hunter 1978) et le 37^e jour chez la jument (Moor et al. 1975)

C'est également au cours de cette période que les embryons vont dans les espèces plus fréquemment polytociques se distribuer (plus que migrer au sens strict) dans les cornes utérines de manière passive (Cook et Hunter 1978). Chez la vache, la migration de l'embryon demeure ex-

ceptionnelle. Elle est plus fréquente chez la brebis (Scanlon 1972, Reimers et al. 1973). Chez la jument, elle est particulièrement importante entre le 10^e et le 19^e jour de gestation (Ginther 1984). Elle a été impliquée dans le mécanisme du maintien de la gestation.

ASPECTS CLINIQUES DE LA MORTALITÉ EMBRYONNAIRE

Quantification de la mortalité embryonnaire

La quantification de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine n'est pas chose aisée. Il faut y voir le manque d'harmonisation de sa définition et donc de la période considérée mais également l'emploi de méthodes aussi différentes que l'abattage des animaux, la récolte d'embryons, les dosages hormonaux, la palpation rectale ou l'échographie. La quantification de la mortalité embryonnaire tardive procède en fait le plus souvent de l'association de méthodes précoces de diagnostic de nature hormonale (progestérone, PAG/PSPB), échographique ou manuelle et de méthodes tardives faisant habituellement appel à la palpation manuelle ou à la simple notation du retour en chaleurs de l'animal ou de sa réinsémination (Tableau 1). On comprend aisément que ces méthodes de quantification sont de nature à surévaluer ou sous-évaluer selon les circonstances la fréquence de la mortalité embryonnaire. Divers biais de quantification sont en effet possibles. Ils résultent de différences voire de variations en fonction du stade de gestation de la sensibilité des méthodes utilisées d'autant que le statut de gestation ou de non-gestation sont rarement connus en pratique dans un troupeau avant la mise en place de l'une ou l'autre méthode de diagnostic. Ils peuvent également relever du fait que certaines méthodes telle la palpation manuelle peuvent dans certaines circonstances être responsables d'une mortalité embryonnaire. Enfin le degré d'exactitude du diagnostic peut également dépendre de la qualité de la détection des chaleurs. Ainsi la confirmation prog-

Tableau 1
Fréquence de la mortalité embryonnaire tardive déterminée par échographie et par palpation manuelle

N	Diagnostic/symptômes	Stade (J)	%	Références
309	Echographie	NP	16	Humblot et Thibier 1984
34	Echographie	10-24	12	Kastelic et al. 1989
200	Echographie	16-31	30	Badtram et al. 1991
148	Echographie	21-33	16	Pieterse et al. 1990
100	Echographie	21-60	5	Chaffaux et al. 1986
201	Echographie	21-70	2	Taverne et al. 1985
304	Echographie	24-81	6	Hanzen et Delsaux 1987
85	Echographie	26-33	10	Willemse et Taverne 1989
1766	Echographie	26-70	9	Hanzen et Laurent 1991
	Palpation manuelle			
19411	GMF	28 - 77	8.4	Thurmond et Picanso 1993b
679	GMF	30 - 45	6.5	Alexander et al. 1995
1393	PVA	30 - 68	17	White et al. 1989
802		<35 J	5.8	Paisley et al. 1978
138	PFL	35 - 42	5.8	Abbitt et al. 1978
139	PFL+PVA	35 - 42	6.5	Abbitt et al. 1978
144	PFL+GMF	35 - 42	9.0	Abbitt et al. 1978
802		35-45 J	6	Paisley et al. 1978
482	GMF ou PVA ou PFL	35-51	8.5	Abbitt et al. 1978
341	GMF ou PVA ou PFL	37 - 43	7.3	Warnick et al. 1995
3022	PFL+CJ	42- 150	9.6	Lopez-Gatus et al. 1996
85	GMF+PVA+PFL	42 - 46	9.5	Franco et al. 1987
85	GMF+PVA+PFL	42 - 46	11.8	Franco et al. 1987
445	GMF ou PVA ou PFL	44 - 50	4.7	Warnick et al. 1995
802		> 45 J	0.9	Paisley et al. 1978
7500	GMF	<50 J	7.2	Vaillancourt et al. 1979
	GMF	> 50 J	5.6	Vaillancourt et al. 1979
385	GMF ou PVA ou PFL	51 - 57	3.1	Warnick et al. 1995
410	GMF ou PVA ou PFL	52-70	3.7	Abbitt et al. 1978
326	GMF ou PVA ou PFL	58 - 64	3.7	Warnick et al. 1995
180	GMF ou PVA ou PFL	65 - 71	2.7	Warnick et al. 1995
277	GMF ou PVA ou PFL	> 72	1.8	Warnick et al. 1995

GMF, glissement des membranes fœtales
PVA, palpation de la vésicule amniotique
PFL, palpation d'une fluctuation liquidienne
CJ: corps jaune

téronique d'une gestation peut être erronée si l'animal inséminé 21 jours plus tôt n'était pas en chaleurs. De même, la manifestation d'une chaleur par un animal auparavant confirmé gestant ne constitue pas nécessairement la preuve d'une interruption de gestation. Pour interpréter la fréquence de la mortalité embryonnaire tardive, il nous semble donc important de considérer non seulement le stade de gestation auquel le diagnostic précoce a été posé mais également la méthode

et le délai utilisés pour en établir le diagnostic tardif.

Déterminées par *abattage des animaux* au cours des 35 premiers jours de la gestation, les pertes imputables à la mortalité embryonnaire sont comprises entre 10 et 36 % chez les animaux normaux (Bearden et al. 1956, Kidder et al. 1954, Boyd et al. 1969, Ayalon 1978) et entre 24 et 72 % chez les animaux repeat-breeders (Tanabe et Almquist 1953, Tanabe et Casida 1949, Hawk et al. 1955, O'Farrell et al. 1983). Les ré-

coltes d'embryons réalisées vers le 7^e jour de gestation estiment entre 7 et 16 % le nombre d'embryons dégénérés (Diskin et Sreenan 1980, Roche et al. 1981, Maurer et Chenault 1983, Ayalon 1981).

Le degré d'exactitude d'un diagnostic précoce (J21 à J24) de gestation par dosage de la progestérone est compris entre 75 et 85 % (Booth et Holdsworth 1976, Dobson et Fitzpatrick 1976, Gowan et Etches 1979, Heap et al. 1976, Hoffman et al. 1976, Pennington et al. 1976, Pope et al. 1976, Shemesh et al. 1978). Des suivis journaliers ou bi voire trihebdomadaires de la progestéronémie au cours des premières semaines de la gestation sont venus par ailleurs confirmé que la fréquence de la mortalité embryonnaire au cours des 40 à 50 premiers jours de la gestation était comprise entre 12 et 23 % (Franco et al. 1987, Bulman et Lamming 1979, Gowan 1982).

Évaluée sur base d'un diagnostic précoce de gestation par échographie, la fréquence de la mortalité embryonnaire serait selon les études comprise entre le 1^{er} et le 3^e mois de gestation entre 2 et 30 % (Humblot et Thibier 1984, Kastelic et al. 1989, Badtram et al. 1991, Pieterse et al. 1990, Chaffaux et al. 1986, Taverne et al. 1985, Hanzen et Delsaux 1987, Willemse et Taverne 1989, Hanzen et Laurent 1991).

De même entre le 2^e et le 5^e mois de gestation, la fréquence d'interruption de la gestation évaluée par l'association d'un diagnostic manuel précoce et tardif de la gestation est comprise entre 1 et 31 % (Thurmond et Picanso 1993b, Abbitt et al. 1978, Alexander et al. 1995, White et al. 1989, Paisley et al. 1978, Warnick et al. 1995, Lopez-Gatius et al. 1996, Franco et al. 1987, Vaillancourt et al. 1979).

Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques de la mortalité embryonnaire et par conséquent la possibilité d'en faire le diagnostic dépendent étroitement du moment de son apparition. Cliniquement il semble logique de distinguer la mortalité embryonnaire pré-

coce de la mortalité embryonnaire tardive. La première ferait référence à la période pour laquelle on ne dispose d'aucun moyen de diagnostic de gestation soit environ les 20 premiers jours suivant l'insémination. La seconde concernerait la période pendant laquelle peuvent être mises en place des méthodes de confirmation de gestation, qu'elles soient hormonales (progestérone, PAG, PSPB), échographique ou manuelles. Il semble donc opportun d'envisager séparément le devenir clinique d'une mortalité embryonnaire précoce et tardive.

Les conséquences cliniques d'une mortalité embryonnaire précoce sont non seulement frustrées mais étroitement dépendantes du moment de son apparition et plus précisément de la possibilité pour l'embryon d'avoir ou non eu le temps de synthétiser le signal inhibiteur de la lutéolyse (trophoblastine). Ainsi une mortalité embryonnaire observée avant le 14^e-16^e jour de gestation ne modifie pas la longueur du cycle. À l'inverse, observée naturellement ou induite par l'ablation chirurgicale de l'embryon après le 14^e-16^e jour suivant l'insémination elle se traduit par un allongement de 5 à 10 jours du cycle voire par une absence de retour en chaleurs de l'animal (Humblot et Dalla-Porta 1984, Betteridge et al. 1980, Martal et al. 1979, Laing 1949, Wiltbank et al. 1956). Cette seconde possibilité est davantage rencontrée chez des génisses normales que chez des génisses repeat-breeders dont les embryons présentent plus fréquemment un retard de développement et des altérations morphologiques du bouton embryonnaire (Albihn et al. 1991). Cette observation est importante puisque la capacité de production de la trophoblastine dépend de la taille de l'embryon, celle-ci devant être acquise à un moment bien particulier et peut être influencée par différents facteurs dont en particulier le stress thermique (Biggers et al. 1987). Ainsi, seuls les embryons ayant une taille supérieure à 15 mm entre le 15^e et le 17^e jour de gestation sont chez la vache capable de synthétiser la trophoblastine de type 1 (Geisert et al. 1988).

L'échographie et les suivis hormonaux ont permis de préciser le devenir de l'embryon et des liquides embryonnaires lors d'une mortalité embryonnaire tardive observée naturellement ou induite manuellement ou pharmacologiquement. L'absence de battements cardiaques constitue le signe le plus évident d'une mortalité embryonnaire (Kahn et Leidl 1989, Pierson et Ginther 1984b, Curran et al. 1986b). Celle-ci est habituellement précédée d'une diminution de la fréquence cardiaque.

Le devenir de l'embryon et de ses annexes va dépendre du fait que la mortalité embryonnaire précède ou non la régression lutéale. La mort naturelle de l'embryon ou induite par une injection intra-utérine de colchicine ou par un écrasement manuel de la vésicule embryonnaire s'accompagne d'une régression lutéale dont la durée moyenne est de 3 jours mais peut être de 42 jours (Kastelic et al. 1991). Il s'en suit la possibilité d'une rétention prolongée de l'embryon et de ses enveloppes qui dans ce cas prennent un aspect dégénéré (mortalité embryonnaire primaire) (Dawson 1974, Ball et Carroll 1963, Parmigiani 1978, Kassam et al. 1987). À l'inverse, l'injection d'une prostaglandine 24 jours (Kastelic et Ginther 1989), 40 jours (Kosugyama et al. 1978), 29 à 52 jours (Millar 1974) ou 35 à 70 jours (Lindell et al. 1980/1981) après l'insémination ou une mortalité embryonnaire spontanée faisant suite à une régression lutéale (Kastelic et al. 1991) se traduit habituellement par l'expulsion dans les quelques jours suivants d'un embryon non dégénéré et de ses enveloppes (mortalité embryonnaire secondaire). Dans les deux cas cependant, l'embryon et ses enveloppes sont plus fréquemment expulsés au travers du col utérin que résorbés (Kastelic et Ginther 1989). Il semblerait donc que le phénomène de résorption souvent évoqué soit erroné.

Sur le plan hormonal, l'injection d'une prostaglandine ou l'induction artificielle d'une infection utérine au moyen d'*Actinomyces pyogenes* s'accompagne d'une diminution de la concentration plasmatique de la

PSPB. La progestéronémie diminue brutalement après l'injection d'une prostaglandine mais se maintient à un niveau élevé pendant une vingtaine de jours après l'administration d'*Actinomyces pyogenes* (Semambo et al. 1992). Lors de mortalité embryonnaire tardive spontanée, la progestéronémie diminue 3 à 42 jours plus tard (Kastelic et al. 1991, Kassam et al. 1987). Cette diminution s'accompagne dans 60 % des cas de celle de la PSPB. L'absence de corrélation entre ces deux hormones implique donc la détermination simultanée de leurs concentrations pour contrôler une mortalité embryonnaire (Humblot et al. 1988). La mortalité embryonnaire ne s'accompagne d'aucune libération importante de prostaglandine F2 alpha (Kassam et al. 1987).

ETIOLOGIE DE LA MORTALITE EMBRYONNAIRE

Facteurs propres à l'embryon

Les anomalies chromosomiques

Lors de la fusion des gamètes, le zygote reconstitue chaque paire chromosomique en recevant un chromosome à une chromatide de chacun de ses parents. Une altération du caryotype ou plus spécifiquement de l'un ou l'autre chromosome (délétion, translocation, inversion, duplication) peut apparaître au moment de la maturation des gamètes (non disjonction), de la fécondation (polyspermie, non expulsion du second globule polaire) ou des premières divisions des cellules embryonnaires (variations de ploïdie) (Figure 1).

La non-disjonction méiotique est observée dans 18 à 19 % des ovocytes humains avec une augmentation drastique suivant l'âge de la femme alors qu'elle n'est que de 5.5 % chez la jument (King et al., 1990) et de 2.4 % chez la souris (Zackowsky et Martin Deleon 1988).

Les anomalies caryotypiques peuvent également concerner les premières divisions cellulaires de l'embryon. Ainsi, des mosaïques aneuploïdiques présentant plus de 25 % de cellules polyplôïdes ont été dé-

crites (King 1985, Hare et al. 1980). L'évolution de ces embryons va dépendre du nombre de cellules concernées mais également de leur destination (lignée embryonnaire ou trophoblastique). Un embryon peut en effet être constitué en partie de cellules présentant un caryotype anormal. Celles-ci seront soit compensées par des cellules normales, soit coloniseront les annexes fœtales et pourront, ce faisant, survivre sans entacher la viabilité de l'embryon. Ces anomalies ne sont pas sans effet sur le devenir de l'embryon. Récemment, une étude caryotypique plus spécifique d'embryons au jour 5, obtenus par fécondation in vitro a identifié un taux de développement plus lent des embryons haploïdes ou polyplôïdes que des embryons mixoploïdes (embryons avec des blastomères de ploïdies différentes) ou diploïdes (Kawarsky et al. 1996).

La fréquence des anomalies chromosomiques (translocations, mutations) d'embryons produits in vivo et analysés avant le 18^e jour de gestation serait en moyenne de 10 % (7 à 36 %) (King et al. 1990, King et al. 1995). Elles concernent le plus souvent les embryons âgés de moins de 7 jours. Cette fréquence diminue avec l'âge de l'embryon, preuve indirecte de leur implication dans la mortalité embryonnaire, celle-ci pouvant être considérée comme un élément régulateur essentiel des embryons anormaux (King et al. 1990, Iwasaki et al. 1992). Elles représenteraient une des causes majeures de mortalité embryonnaire et fœtale. Les translocations 1/29 et 7/21 sont les principales décrites dans l'espèce bovine (King 1991, Hanada et al. 1981, Gustavsson et Rockborn 1964, Gustavsson 1979). La translocation 1/29 est héritable (Langhammer et Schwerin 1985) et commune à de nombreuses races de bovins mais plus particulièrement aux races Pie Rouge suédoise, Charolaise et Simmenthal (Gustavsson 1979). Comme la translocation 7/21 (Hanada et al. 1995), elle entraîne une réduction de 3 à 8 % de la fertilité (Langhammer et Schwerin 1985, Maurer et Vogt 1988) mais se traduit davantage encore par une mortalité embryonnaire que par une absence de fécondation (Schmutz et

al. 1991). Résultant d'une ségrégation anormale des chromosomes au cours de la méiose, elle entraînerait la formation d'un chromosome submetacentrique suite à la fusion de deux chromosomes non homologues acrocentriques (1 et 29) (King et al. 1991). Les bovins homozygotes ou hétérozygotes pour cette translocation auraient respectivement 58 ou 59 chromosomes.

En pratique, la fécondation in vitro ou les traitements de superovulation (la PMSG davantage que la FSH) contribuent à augmenter la fréquence des anomalies chromosomiques. Ces méthodes favoriseraient la polyspermie, l'absence d'émission du second globule polaire voire l'activation parthénogénétique de l'ovocyte (King 1985, Iwasaki et al. 1992).

Le sexe de l'embryon

Le sexe du fœtus est déterminé au moment de la fécondation, son expression n'apparaissant que beaucoup plus tard. Une capacité de développement dépendante du sexe a été démontrée chez les embryons bovins produits in vivo et in vitro. Les embryons de sexe mâle se développeraient plus rapidement que ceux de sexe femelle tout au moins jusqu'au stade de blastocyste (Avery 1989, Avery et al. 1989, Xu et al. 1992, Yadav et al. 1993). En effet, 95 % des embryons sexés au 7^e jour de gestation se révèlent être des mâles (Avery et al. 1991). De même, les embryons de sexe femelle seraient plus sensibles à une biopsie réalisée en vue de la détermination du sexe (Gutierrez et al. 1995).

L'absence de différences significatives du sex-ratio habituellement rapportée à l'encontre des veaux nouveau-nés laisse supposer que les embryons de sexe mâle seraient davantage exposés à une mortalité embryonnaire ou fœtale (Berg et al. 1992).

Le nombre d'embryons

Dans l'espèce bovine, la double ovulation s'observe dans 75 % des cas sur le même ovaire (Hanranhan 1983). Elle s'accompagne ou non, en cas de gestation (Sreenan et Diskin 1989), d'un plus grand

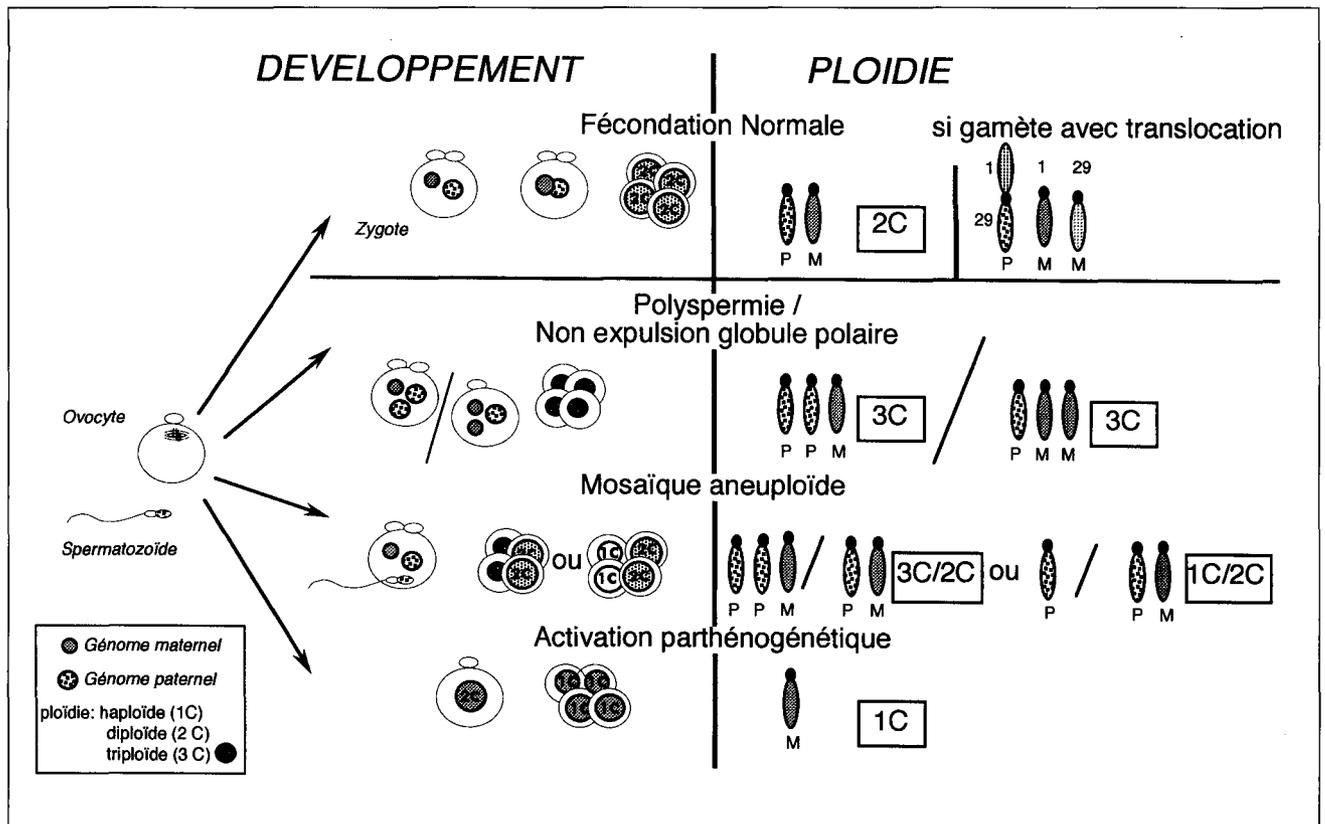


Figure 1 – Les anomalies chromosomiques.

Le zygote reçoit les génomes haploïdes (1C) des gamètes paternelle et maternelle. Chaque cellule issue du zygote est diploïde (2C) et comporte pour chaque paire de chromosome un exemplaire paternel (P) et maternel (M). Certaines anomalies chromosomiques ne touchent qu'un ou plusieurs chromosomes, c'est le cas de la translocation 1/29. Le dessin montre cette translocation transmise par le spermatozoïde alors que les chromosomes 1 et 29 normaux sont apportés par l'ovocyte maternel. D'autres anomalies altérant le nombre d'exemplaires paternels ou maternels de chaque chromosome. Lors d'une fécondation anormale par polypsermie ou non émission du globule polaire, l'embryon sera triploïde (3C) avec respectivement deux exemplaires paternels ou maternels. Certains embryons anormaux peuvent comporter deux types de populations cellulaires avec des ploïdies variables (1 ou 2 ou 3 C), ce sont des mosaïques aneuploïdes. Celles-ci peuvent également résulter d'une fécondation avec polypsermie. Enfin l'activation de l'ovocyte sans fécondation peut mener à un développement parthénogénétique qui s'interrompt au plus tard au début de l'organogénèse.

risque de mortalité embryonnaire (Gordon et al. 1962, Rowson et al. 1971, Erb et Morrison 1959, Day et al. 1995). Celle-ci est plus fréquente si les deux gestations se développent dans la même corne utérine (Day et al. 1995) et davantage encore si la corne droite est concernée (Echternkamp et al. 1990). Chez la brebis, la mortalité embryonnaire est plus fréquente chez les femelles qui présentent deux ou plus de deux ovulations surtout si celles-ci concernent le même ovaire (Willingham et al. 1986, White et al. 1981, Casida et al. 1966). D'autres auteurs ont fait cependant des observations inverses (Doney et al. 1973). Il est intéressant d'observer que dans l'espèce ovine la migration utérine d'un embryon est beaucoup plus fréquente lorsque les deux ovulations sont observées sur le même ovaire que sur des ovaires différents

(Scanlon 1972). Par ailleurs, il n'est pas exclu que les changements de présentation du ou des fœtus en cours de gestation puissent également être à l'origine de pertes embryonnaires et ou fœtales (Reimers et al. 1973).

Le transfert d'embryons offre une méthode alternative intéressante à l'augmentation du nombre de veaux produits par un même animal donneur. Il est couramment admis que le transfert chirurgical ou non de deux embryons entraîne un taux de gestation supérieur à celui obtenu par le transfert d'un seul embryon (36 à 67% vs 60 à 91%) (Renard et al. 1977, Brand et al. 1977, Heyman et al. 1977, Renard et al. 1978, Heyman 1985). Semblable observation a été faite après transfert de trois embryons (Izaike et al. 1991). Cependant, le nombre d'embryons

perdus est proportionnel au nombre d'embryons transférés. Ainsi, trois mois après le transfert de deux ou de trois embryons à des receveuses, le pourcentage d'embryons encore présents était respectivement de 37% et de 30%. La perte de tous les embryons transférés est plus fréquemment observée après le transfert de trois (23% des cas) que de deux embryons (29% des cas) (Izaike et al. 1991). De même, le taux de survie des embryons transférés dans la corne contralatérale au corps jaune est habituellement inférieur (31 à 39%) à celui observé à l'encontre des embryons transférés dans la corne ipsilatérale (46 à 69%) (Heyman et al. 1977, Tervit et al. 1977, Kastelic et al. 1991, Christie et al. 1979, Del Campo et al. 1983). Ce fait a été imputé au mécanisme local de l'effet antilutolytique de l'embryon (Christie et al. 1979).

Tant chez la souris et la lapine que la truie on a observé une réduction de la taille de la portée avec l'âge de l'animal (Talbert et Krohn 1966, Adams 1970, Gosden 1979, Hill et Webb 1982). Chez la souris, cette observation a été imputée à une modification de la vascularisation et du contenu en collagène de l'endomètre. Chez la truie, espèce polytocique, la taille de la portée dépend bien sûr du nombre d'ovulations mais également de l'espace utérin dévolu à chaque embryon ou fœtus (Wu et al. 1987), l'effet réducteur sur le nombre d'embryons se manifestant surtout après le 35^e jour de gestation. Ainsi, jusque 14 embryons, la taille de la portée dépend surtout du nombre d'ovulations. Au delà de ce nombre, elle est davantage fonction de la longueur de l'utérus (Wu et al. 1989). Il est également intéressant de noter que dans cette espèce, la position de l'embryon dans la corne utérine peut hypothéquer son devenir. Ainsi, les embryons localisés à l'extrémité des cornes ont davantage d'espace que ceux localisés à leur base. Ceci explique sans doute pourquoi l'incidence des mofications foetales est plus grande dans le tiers inférieur que supérieur de la corne (Dziuk et Hentzel 1977). Chez la brebis, il existe une relation entre le nombre et le poids des cotylédons et le poids de l'agneau (Alexander 1964), les agneaux simples sont plus lourds que les jumeaux et ceux-ci le sont davantage que les triplés (Bradford et al. 1986).

Facteurs parentaux

Facteurs paternels

Diverses publications ont fait état de l'effet négatif exercé par un sperme de mauvaise qualité sur le risque de mortalité embryonnaire précoce (Courrot et Colas 1986, Dejarnette et al. 1992, Setchell et al. 1988). De même l'influence du taureau sur le développement embryonnaire a été observé dans diverses expériences de fécondation in vivo (Coleman et al. 1987, Miller et al. 1982) et in vitro (Eyestone et First 1989b, Hillery et al. 1990, Shi et al. 1990). Le rôle des spermatozoïdes accessoires a été démontré (Saacke et al. 1991).

Le taureau serait sans effet sur la fréquence de la mortalité embryonnaire tardive évaluée par le taux de non-retour entre 25 et 35 jours (Humblot et Denis 1986, Mares et al. 1961, Bar Anan et al. 1979) ou par un suivi progestéronique (Ball 1978). D'autres auteurs ont fait des observations inverses (Wijeratne 1973, Bulman 1979).

Facteurs maternels

Environnement de l'oviducte

L'oviducte et plus particulièrement la jonction utéro-tubaire est le siège de la fécondation et des premières étapes du développement embryonnaire jusqu'au stade 8 à 16 cellules, atteint vers le 2^e-3^e jour de gestation. Son rôle a particulièrement été identifié dans le cadre de la fécondation in vitro, la levée du blocage au stade 8-16 cellules ne pouvant être obtenu que par une coculture avec les cellules de l'oviducte (Eyestone et First 1989a). Il exerce également un rôle essentiel dans le cadre de la migration des embryons. En effet, lors de superovulation, l'augmentation du nombre d'embryons dégénérés récoltés a été imputée à leur passage trop rapide dans l'utérus suite à une accélération de leur transport dans l'oviducte sous l'effet de l'augmentation trop précoce de la progestérone synthétisée par des follicules prématurément lutéinisés (El Banna et Hafez 1970).

Plusieurs dizaines de protéines et facteurs de croissance ont été identifiés dans le liquide tubaire, mélange de transsudat sanguin et de sécrétions des cellules épithéliales (Malayer et al. 1988, Gerena et Killian 1990). Leur rôle mitotique sur les premiers stades du développement embryonnaire a été suggéré (Gandolfi et al. 1989, Gandolfi et al. 1992, Gandolfi 1994). Par ailleurs, on a identifié dans l'oviducte des concentrations en ions, vitamines et acides aminés (taurine, glycine) fort différentes des concentrations plasmatiques (Leese 1988). Cependant, à ce jour l'addition dans le milieu de culture de facteurs de croissance n'a pas eu les résultats espérés (Flood et al. 1993).

Ces découvertes jointes à celles relatives au métabolisme énergétique de

l'embryon (Rieger 1992) offrent des perspectives intéressantes dans la compréhension du développement in vitro des embryons.

Environnement utérin

Réalisant des transferts croisés d'embryons entre donneuses et receveuses repeat-breeders et normales Tanabe conclut à l'importance plus grande du milieu utérin que de l'origine de l'embryon. (Tanabe et al. 1985).

Les recherches relatives aux relations existantes entre l'environnement utérin et l'embryon ont essentiellement concerné les protéines d'origine endométriale et embryonnaire. Cependant, de nombreuses inconnues subsistent encore et seul le rôle de quelques unes d'entre elles a été approché. Ainsi, la phosphatase alcaline a été impliquée dans les interactions endomètre-trophoblaste observées entre le 22^e et le 24^e jour de gestation (Leiser et Wille 1975). Plus récemment, on a observé une augmentation de la concentration endométriale d'une synthétase entre le 15^e et le 18^e jour de gestation (Schmitt et al. 1993). De même, une protéine de liaison dont la synthèse est stimulée par la progestérone a été rendue responsable du transfert à l'embryon du rétinol (Thomas et al. 1992). Des facteurs de croissance tels que l'IGF I et II (Insulin Growth Factors) ont été isolés dans le liquide de lavage utérin d'animaux gestants et non-gestants (Geisert et al. 1991).

Les protéines d'origine embryonnaire ont fait l'objet de davantage d'études en particulier celles impliquées dans le mécanisme de reconnaissance de la gestation telles la trophoblastine (Thatcher et al. 1989) et les interférons (Roberts et al. 1992).

Etudiant la composition du milieu utérin au 7^e jour de la gestation, Wiebold rapporte une augmentation significative du glucose, des protéines totales, du calcium, du magnésium et du potassium lorsqu'un embryon dégénéré était récolté. De même, il observe une tendance à l'augmentation du zinc et du phosphore (Wiebold 1988). Ayalon rapporte également une augmentation du calcium, du phosphore, du potassium et du zinc en cas d'embryons

dégénérés mais n'observe pas de modifications de la concentration en protéines (Ayalon 1978). Chez les animaux repeat-breeders, on a observé des concentrations utérines plus faibles en protéines, sodium, phosphore et glucose mais plus élevées en calcium, potassium et magnésium que chez les animaux normaux (Lamothe et Guay 1970).

Race et âge de l'animal

Plusieurs études ont confirmé il y a de nombreuses années déjà l'absence de relations entre la race et la fréquence de la mortalité embryonnaire (Casida 1950, Kidder et al. 1954, Boyd 1965). Cependant plusieurs auteurs ont confirmé l'effet négatif exercé par l'inbreeding sur la fréquence de la mortalité embryonnaire (Mares et al. 1961, Conneally et al. 1963).

L'effet de l'âge de l'animal sur les pertes embryonnaires et fœtales a rarement été décrit. Il est vrai que ce genre d'étude comporte un biais important, à savoir le faible pourcentage, parmi les vaches âgées, des animaux qui ont déjà présenté un avortement. En effet, le plus souvent cette pathologie s'accompagne de la réforme de l'animal (Thurmond et al. 1990, Thurmond et Picanso 1993a).

Selon les études, la mortalité embryonnaire est plus fréquente chez les primipares (Erb et Holtz 1958) ou chez les vaches avec plus de 5 lactations (Boyd et Reed 1961, Ball 1978) que les vaches entre la deuxième et la quatrième lactation. D'autres études confirment la plus grande fréquence d'avortements chez les vaches âgées de 3 et 4 ans (Mitchell 1960, Withers 1957). Semblable corrélation avec l'âge n'a pas été observée par d'autres auteurs (Erickson et al. 1976).

Nombre d'inséminations

La fréquence de la mortalité embryonnaire est 4 fois plus élevée chez les animaux inséminés plus de trois fois que chez les autres (20.3 % vs 5.2 %) (Vaillancourt et al. 1979). Wijeratne observe également une augmentation de la mortalité embryonnaire avec le numéro d'insémination, que les animaux aient été in-

séminés avec du sperme frais ou congelé (Wijeratne 1973). De même, le pourcentage d'embryons dégénérés ou anormaux est significativement plus élevé chez des génisses repeat-breeders que chez des génisses normales (Linares 1981/1982, Gustafsson 1985).

De même, le moment de l'insémination par rapport à l'ovulation revêt une certaine importance et remet ce faisant en exergue l'importance de la qualité de la détection des chaleurs. En effet, réalisant un suivi échographique journalier du moment de l'ovulation (JO), Kastelic observe une fréquence plus élevée de mortalité embryonnaire entre le 29^e et le 32^e jour de gestation parmi les animaux inséminés deux jours avant l'ovulation (3/40) que le jour précédant l'ovulation (0/96) (Kastelic et al. 1991).

La fécondation in vitro

Interprétation des résultats et conséquences

A ce jour, les taux de gestation observés après transfert d'embryons frais ou congelés obtenus après fécondation in vitro d'ovocytes prélevés sur des ovaires d'animaux abattus ou par ponction échoguidée (Greve et Madison 1991, Brackett et Zuelke 1993, Hanzen et Goffin 1998) sont comparables voire légèrement inférieurs à ceux rencontrés après transfert d'embryons récoltés in vivo (Takada et al. 1991, Reichenbach, 1992a, 1992b, Xu et al. 1987, Looney et al. 1994). Une publication récente a fait le point sur les résultats de la fécondation in vitro. Selon les conditions expérimentales, la fertilisation d'ovocytes obtenus par ponction d'ovaires prélevés après abattage des animaux, s'observe dans 41 à 76 % des cas et le stade morula ou blastocyste est atteint dans 12 à 20 % des cas (Brackett et Zuelke 1993). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus après prélèvement des ovocytes par ponction échoguidée des follicules puisqu'en moyenne 15 % (3 à 41 %) des ovocytes mis en maturation atteignent le stade de morula ou de blastocyste (Hanzen et Goffin 1998).

Force est cependant de constater que les études comparatives conduites dans des environnements contrôlés sont rares. Des différences existent et leurs raisons en sont multiples. Tout d'abord, les embryons obtenus in vivo et in vitro présentent des caractéristiques morphologiques et physiologiques fort différentes (Pollard et Leibo 1994, Brackett et Zuelke 1993, Hackett et al. 1993, Wright et Ellington 1995). Par exemple, la densité moindre des embryons produits in vitro les rend plus sensibles à la congélation (Pollard et Leibo 1994). Ces différences peuvent également résulter de la qualité fort variable des gamètes mâles et femelles utilisés mais également de la difficulté de définir un milieu optimal de maturation des ovocytes et de développement des premiers stades embryonnaires (Hackett et al. 1993). De même, l'interruption de la gestation pendant la période embryonnaire ou fœtale est plus fréquente après le transfert d'embryons obtenus in vitro ou par clonage (20 %) qu'in vivo (5 %) (Betteridge et Loskutoff 1993, Kruip et Den Haas 1997) et surtout si les embryons obtenus in vitro ont été congelés (Ishimori et al. 1993, Massip et al. 1983, Zhang et al. 1993).

Il importe également que soient davantage précisés voire harmonisés les critères d'évaluation de la qualité des ovocytes et des embryons, condition préalable à l'interprétation et à la comparaison des résultats obtenus. Classiquement, la qualité des ovocytes est déterminée par examen microscopique en se référant à des critères morphologiques tels que le degré de compacité des cellules du cumulus ou encore l'homogénéité et l'opacité du cytoplasme de l'ovocyte (De Loos et al. 1989, Hazeleger et al. 1995). Celle des embryons peut être évaluée par coloration (Purcell et al. 1985), par la mesure de son activité enzymatique (O'Fallon et Wright 1986), ou de sa capacité à absorber le glucose (Brinster 1968) ou encore par des critères ultrastructuraux tel l'aspect du réticulum endoplasmique (Hyttel et Nieman 1990). Cependant, pour des raisons pratiques évidentes, cette évaluation fait appel à des critères morphologiques

(Lindner et Wright 1983, Shea 1981) tels que la forme de l'embryon, la couleur du cytoplasme, le nombre et le degré de compaction des cellules, la taille de l'espace périvitellin, le nombre de cellules dégénérées, la fréquence et la taille des vésicules cytoplasmiques. Ces critères permettent de vérifier en fait que l'embryon a atteint un degré de développement correspondant au stade de gestation. En effet, chez les bovins, un asynchronisme de 3 jours ou plus se traduit par une réduction du pourcentage de gestation après transfert (Elsden et al. 1978). Initialement 4 catégories de qualité d'embryon ont été distinguées. L'embryon excellent est sphérique avec des cellules de taille, de couleur et d'aspect comparables. L'embryon dit de bonne qualité est fort semblable et ne présente que quelques blastomères de forme irrégulière et très peu de vésicules cytoplasmiques. L'embryon de qualité moyenne ne présente que peu de problèmes si ce n'est la présence de vésicules dans des cellules dégénérées. L'embryon de mauvaise qualité se caractérise par un nombre important de blastomères dégénérés, des cellules de taille variable et un grand nombre de vésicules. Transférés à des animaux receveurs, le taux de gestation est respectivement de 45, 44, 27 et 20 % (Lindner et Wright 1983). En l'absence de différence significative entre les embryons de classe 1 et 2, un système de classification en trois classes a été proposé, bon, moyen et mauvais (Farin et Farin 1995). Ces systèmes d'évaluation, bien qu'en partie subjectifs, sont néanmoins étroitement corrélés avec le taux de gestation (Hasler et al. 1987, Lindner et Wright 1983 in 10870). Ainsi, après le 42^e jour de gestation, le pourcentage d'avortements est plus élevé après le transfert d'un embryon de mauvaise (7.7 %) que de bonne (4 %) qualité (Callesen et al. 1992).

Les conséquences de l'obtention d'un embryon obtenu in vitro sur son développement ultérieur jusqu'au stade fœtal voire néonatal commencent à être étudiées (Walker et al. 1996). Dans l'espèce ovine, cette méthode de reproduction se

traduit par un allongement significatif de la durée de la gestation et du poids de l'agneau (Walker et al. 1992, Holm et al. 1994). Dans l'espèce bovine, les embryons de classe 1 obtenus in vitro présentent plus fréquemment de la mortalité embryonnaire que les embryons morphologiquement de même qualité, produits in vivo. Par ailleurs, leur durée de gestation est plus longue. De même, à 7 mois leur poids est 17 % plus élevé et leurs mensurations squelettiques sont disproportionnées par rapport à leur poids corporel. Enfin, bien que comparables en couleur et aspect, le nombre des cotylédons est moindre comparé au poids corporel des fœtus (Farin et Farin 1995). Cette observation n'est pas sans relation avec l'effet multiplicateur sur le bouton embryonnaire rapporté à l'encontre d'embryons bovins (Iwazaki et al. 1990) ou porcins (Papaion-naou et Ebert 1988) transférés dans des oviductes de rongeurs.

Facteurs propres à l'ovocyte

L'embryon acquiert avant la fécondation sa capacité à se développer. Les techniques de prélèvement in vivo d'ovocytes en vue de leur maturation et fécondation in vitro ultérieures ont mis en exergue l'importance de divers facteurs susceptibles d'influencer la qualité des follicules ponctionnés et dès lors celle de l'ovocyte qu'ils renferment mais surtout sa capacité à être fécondé et à produire un embryon de qualité normale. On sait par exemple que la maturation nucléaire est plus rapide in vitro qu'in vivo (King et al. 1986). Au nombre de ces facteurs, il est important de mentionner de manière prioritaire le stade du cycle auquel le prélèvement est réalisé, l'état corporel et l'âge des animaux prélevés. Ainsi, l'état de sous-nutrition des animaux prélevés, réduit la qualité du développement ovocytaire et embryonnaire (Lopez Ruiz et al. 1996, Dominguez 1995). Aucun effet de l'âge ne semble à ce jour avoir été démontré (Katska et Smorag 1984, Revel et al. 1995) pour autant que les animaux soient âgés de plus de 6 à 8 mois (Duby et al. 1996). Le stade du cycle a davantage d'impor-

tance. La capacité de développement jusqu'au stade de blastocyste est plus grande pour des ovocytes prélevés en milieu qu'en fin ou en début de cycle (Machatkova et al. 1995). De même, la présence d'un corps jaune sur l'ovaire ponctionné influencerait favorablement la qualité du développement embryonnaire (Thonon et al. 1993) mais serait sans influence sur celle de la maturation ovocytaire (Fukui et Sakuma 1980). Plus spécifiquement, le potentiel de développement des ovocytes prélevés dans des follicules de diamètre égal ou supérieur à 6 mm est plus grand que s'ils ont été prélevés au sein de follicules de taille inférieure (Mc Caffrey et al. 1992). Cette observation est complémentaire du fait qu'à la différence des ovocytes maturés in vivo dans le follicule, les ovocytes prélevés au sein de follicules immatures ne peuvent être fertilisés que si leur maturation est réalisée en présence de cellules folliculaires et d'hormones appropriées (Leibfreid-Rutledge et al. 1989). L'importance de l'environnement hormonal préalable se trouve conforté par le fait que les traitements de superovulation sont susceptibles de le modifier et dès lors d'influencer négativement la qualité des ovocytes et des embryons obtenus (voir infra) (Greve et al. 1989). De même, certains cas de repeat-breeding chez les génisses s'expliqueraient indirectement par l'allongement de l'intervalle entre le début de l'œstrus et le pic de l'hormone LH et par la libération insuffisante de cette hormone (Gustafsson et al. 1986, Erb et al. 1976, Maurer et Echterkamp 1982).

Le clonage constitue une méthode intéressante pour multiplier le potentiel génétique d'un animal. Il suppose le recours à des ovocytes receveurs obtenus in vivo ou in vitro. La méthode d'obtention de l'ovocyte est sans influence sur le pourcentage de développement après inoculation d'un noyau embryonnaire (Barnes et al. 1993, Yang et al. 1993). Cependant, le taux de reprise du développement apparaît être moindre si l'embryon donneur a été obtenu in vitro plutôt qu'in vivo (Heyman et al. 1994, Yang et al. 1993).

Les facteurs biologiques

Données cliniques

De nombreuses études ont été consacrées aux germes spécifiques et non-spécifiques du tractus génital au cours du post-partum, chez les repeat-breeders, lors d'endométrites ou d'avortements (Bartlett et al. 1986, Chaffaux et al. 1991, Cohen et al. 1995, Dohoo et al. 1984, Eaglesome et al. 1992a, 1992b, Griffin et al. 1974a, 1974b, Hussain et al. 1990, Hartigan 1977, Olson et al. 1984, Vallet et al. 1987).

Quelques publications ont fait état d'une relation entre la manifestation par l'animal d'une pathologie utérine et la possibilité d'une interruption de la gestation. Ainsi, parmi les 15 cas d'interruptions de gestation observés au cours des 100 premiers jours suivant la fécondation, 73 % des animaux avaient été traités pour endométrites, cervicites, repeat-breeding ou avaient présenté un cycle allongé (Paisley et al. 1978). Une étude plus récente observe également une multiplication par 2.6 et 1.8 du risque d'interruption de gestation entre le 42^e et le 150^e jour respectivement chez les animaux qui ont présenté un pyomètre ou une rétention placentaire, la manifestation par l'animal d'un kyste ovarien ou de repeat-breeding étant sans effet (Lopez-Gatius et al. 1996).

L'implication directe des germes spécifiques et surtout non-spécifiques n'a fait l'objet que de quelques publications au demeurant fort contradictoires. Ainsi, une mortalité embryonnaire est-elle observée dans les 6 jours suivant l'injection expérimentale d'*Actinomyces pyogenes* entre le 27^e et le 41^e jour de gestation (Semambo et al. 1991). De même, l'inoculation d'*Haemophilus somnus* à des génisses superovulées entraîne une diminution du nombre d'embryons récoltés et une réduction de leur capacité à se développer en culture (Kaneene et al. 1986, 1987). L'injection intraveineuse de ce germe est susceptible d'induire une mortalité embryonnaire ou un avortement (Widders et al. 1986). Par contre, aucune *Brucella abortus* n'est retrouvée dans le liquide de récolte de vaches, brucelliques ou inoculées,

superovulées (Stringfellow et al. 1982, Voelkel et al. 1983). L'administration intra-utérine de *Leptospira interrogans hardjo* n'induit aucun signe d'infection utérine (Vahdat et al. 1983), ni ne diminue le taux de gestation (Whitmore 1985). Les études cliniques ou expérimentales relatives à *Mycoplasma* ont apporté des conclusions opposées (Hirth et al. 1970, Erno et Philipses 1969). L'exposition in vitro d'embryons à *Ureaplasma diversum* n'en induit aucune altération visible (Britton et al. 1988). L'injection expérimentale par voie intraveineuse du virus *BHV-1* à des génisses séro-négatives 7 à 14 jours après l'insémination induit une mortalité embryonnaire (Miller et Van der Maaten 1986, 1987), conséquence possible d'une atteinte endométriale, embryonnaire (Bowen et al. 1985) ou lutéale (Miller et Van der Maaten 1985). L'administration intra-utérine au moment de l'insémination (Grahn et al. 1984) ou en début de gestation (Archbald et al. 1979) du virus de la maladie des muqueuses (BVD) induit une diminution du pourcentage de fécondation et augmente celui d'embryons dégénérés, conséquence résultant davantage d'une atteinte endométriale qu'embryonnaire (Donis 1988).

Effets indirects de la fécondation in vitro

Le recours de plus en plus fréquent au transfert d'embryons et à la fécondation in vitro pose le problème du rôle potentiel de ces méthodes dans la transmission d'infections virales ou bactériennes et donc dans la mortalité embryonnaire. Le risque semble néanmoins limité eu égard aux résultats des recherches entreprises en ce domaine (Guerin et al. 1997, Singh 1988).

Contamination de l'ovocyte

A ce jour, seule la contamination intracellulaire de l'ovocyte par le parvovirus (Bane et al. 1990) ou par le *Campylobacter fetus* (Bielanski 1994) a été démontrée. La contamination intrafolliculaire de l'ovocyte par *Leptospira hardjo* a également été observée après une induction expérimentale de l'infection (Bielanski et Surujballi 1996). On ne peut

néanmoins exclure la possibilité pour certains virus tels le BVD (Bielanski et Dubuc 1994b) ou le BHV-1 (Miller et Van Der Maaten 1984, Miller et Van Der Maaten 1985, Miller et Van Der Maaten 1986, Miller et Van Der Maaten 1987 in 6433, Bielanski et Dubuc 1994a, Guerin et al. 1989, Singh et al. 1982, Booth et al. 1995, Booth et al. 1992) dans l'espèce bovine, le virus de la scrapie chez les ovins (Foster et al. 1992) et le parvovirus chez les porcins (Bane et al. 1990) de pénétrer dans l'ovocyte au moment de la fécondation, leur présence ayant été démontrée dans le liquide folliculaire, les cellules de la granuleuse ainsi que dans l'ovaire, l'oviducte ou l'utérus.

Contamination de l'embryon dans le tractus génital

L'embryon transféré ou non peut être contaminé lors de son transit dans l'oviducte ou la corne utérine par des germes connus pour leur tropisme génital et leur capacité de liaison à la membrane pellucide tels *Brucella*, *Campylobacter*, *Leptospira*, *Vibrio*, *Infectious Pustular Vaginitis virus*, *Haemophilus somnus*, *Chlamydia*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Ureaplasma diversum* (Britton et al. 1988, Kaneene et al. 1986, Kapoor et al. 1989, Rohde et al. 1990, Otoi et al. 1992). En ce qui concerne le prion responsable de la BSE, aucun tropisme génital n'a été démontré à son encontre (Barlow et al. 1990).

Contamination du matériel animal utilisé pour la FIV

Le matériel animal (ovaires, cellules d'oviductes, sperme, sérum) utilisé pour la fécondation in vitro (FIV) peut également constituer une source de contamination des embryons par un virus (Bielanski et al. 1993, Guerin et al. 1988, Guerin et al. 1989, Booth et al. 1992, Avery et al. 1993, Bielanski et Dubuc 1994a, Bielanski et Dubuc 1994b, Rossi et al. 1990).

De même, on ne peut exclure la possibilité que certains virus tels les virus herpès bovins et porcins ou le virus de la stomatite vésiculeuse ou que certaines bactéries comme *Brucella ovis*, *E. Coli*, *M. paratuber-*

culosis, *Streptococcus spp.* ou *Mycoplasma spp.* puissent restés adhérents et contaminer l'embryon une fois celui-ci sorti de sa membrane pellucide. De même, on sait que certains virus tels le BVD ou le BHV-1 peuvent se fixer aux spermatozoïdes et constituer ce faisant une source d'infection lors de la fécondation in vivo ou in vitro (Bielanski et al. 1993, Guerin et al. 1990). Il est communément admis que la membrane pellucide d'embryons obtenus in vivo constitue une barrière de protection efficace quelque soit la taille de l'agent causal suspecté et la durée d'exposition. Néanmoins, il n'est pas impossible de penser que la différence de structure et de contenu protéique entre des membranes pellucides obtenues in vivo et in vitro (Riddell et al. 1993) puisse être responsable d'une modification de leur résistance à l'infection (Stringfellow et Wrathall 1995) et que la fécondation in vitro constitue un facteur de risque supplémentaire d'infection et donc de mortalité embryonnaire.

Ces éventualités semblent néanmoins avoir des effets limités. En effet, à l'heure actuelle, l'effet délétère sur la qualité et le nombre d'embryons obtenus n'a été observé que dans des conditions d'infection expérimentale (Bielanski et al. 1993, Wentinck et al. 1991) ou après utilisation de sperme provenant d'un taureau infecté de manière persistante par le virus du BVD (Guerin et al. 1992). Le risque est limité par le recours à des procédés (gradients de percoll, procédures de swim-up...) visant à réduire, voire éliminer, les bactéries présentes dans le sperme utilisé pour la fécondation in vitro (Bielanski et al. 1992), par l'addition d'antibiotiques aux milieux de culture (Otoi et al. 1992), par le lavage des embryons au moyen de trypsine, méthode connue pour éliminer les particules virales (Stringfellow et al. 1990, Singh et al. 1982, Gillespie et al. 1990) ou encore par l'utilisation de sérums décontaminés par irradiation (Rossi et al. 1990) ou de substituts de sérum (Seidel et al. 1990, Palasz et al. 1993, Palasz et al. 1995). Semblables précautions peuvent se révéler néanmoins insuffisantes notamment à l'encontre des mycoplasmes et uréaplasmes (Thompson

et al. 1988), du parvovirus porcin (Gradil et al. 1994) ou du virus de la stomatite vésiculeuse (Stringfellow et al. 1989), voire du BVD (Bielanski et al. 1992). Par ailleurs, à ce jour, aucun risque de transmission par transfert d'embryon n'a été démontré à l'encontre de la maladies des muqueuses (Mc Vicar et al. 1986, Mebus et al. 1991, Singh et al. 1986), de la leucose enzootique Bouillant et al. 1981, Eaglesome et al. 1994), de la fièvre catarrhale ovine (BT : blue tongue) (Bowen et al. 1983, Thomas et al. 1983), de la brucellose (Barrios et al. 1988, Del Campo et al. 1987, Stringfellow et al. 1988) et du BHV-1 (Thibier et Nibart 1987).

Facteurs environnementaux

Alimentation

Il est depuis longtemps connu que les vaches ou génisses qui gagnent du poids pendant la période de reproduction ont un taux de gestation supérieur à celles qui en perdent (Wiltbank et al. 1962). Il a été suggéré qu'une balance énergétique négative se traduirait par une concentration en progestérone plus faible (Villa-Godoy et al. 1988).

La quantité et la qualité des apports protéiques ne sont pas sans conséquences. Ainsi, l'augmentation de protéines non-dégradables dans le rumen constituerait un risque d'augmentation de la concentration en ammoniacque (Jordan et al. 1983) et donc de l'urée plasmatique et urinaire (Elrod et Butler 1993). Plusieurs études ont confirmé la relation inverse existante entre la fertilité et l'urémie (Kaim et al. 1983, Ferguson et al. 1991, Canfield et al. 1990, Elrod et Butler 1993).

Chez les petits ruminants par contre ces relations ont davantage été étudiées (Ashworth 1995). Les embryons provenant de brebis sous-alimentées sont de moins bonne qualité (Mc Kelvey et al. 1988). Semblable observation a été faite à l'encontre de chèvres receveuses (Mani et al. 1994). A l'inverse, il est bien connu qu'une suralimentation des brebis au début de gestation est habituellement associée à une augmentation de la mortalité embryonnaire

(Williams et Cumming 1982). Un excès alimentaire serait responsable d'une augmentation de l'afflux sanguin au niveau du tractus digestif et de l'ovaire (Parr 1992). Ce processus accélérerait le catabolisme de la progestérone. La diminution de la progestéronémie entraînerait une diminution et une modification des polypeptides et autres enzymes synthétisés par l'endomètre et responsables du transport de nutriments au travers du placenta (Ashworth et al. 1989b). L'exemple le plus étudié est la retinol-binding-protein impliquée dans le transport de la vitamine A et sécrétée à la fois par l'embryon (Trout et al. 1991) et l'endomètre (Harney et al. 1993) sous l'influence de la progestérone (Thomas et al. 1992). Un autre exemple fréquemment évoqué est celui des facteurs de croissance et en particulier de l'insuline growth factor (IGF) et de ses protéines de liaisons (Ko et al. 1991).

Les mycotoxines et la zéaralénone en particulier ont été à une occasion rendues responsables d'avortements dans l'espèce bovine (Kallela et Ettala 1984). Le gossypol, un composé phénolique trouvé dans les graines de coton et la gossypolone, un de ses principaux métabolites, sont connus pour inhiber le développement embryonnaire in vitro (Zirkle et al. 1988) ainsi que la synthèse de progestérone par les cellules lutéales (Gu et al. 1990, Gu et al. 1991).

Température, saison

Les variations saisonnières des performances de reproduction doivent être interprétée à la lumière des influences réciproques, au demeurant difficilement quantifiables et donc le plus souvent confondues, exercées par les changements rencontrés au cours de l'année dans la gestion du troupeau, l'alimentation, la température, l'humidité et la photopériode. Dans les régions tropicales et subtropicales, divers auteurs ont enregistré une diminution de la fertilité au cours des mois d'été coïncidant habituellement avec des périodes prolongées de température élevée (Thatcher 1974, Badinga et al. 1985, Coleman et al. 1985). L'effet de la température sur les perfor-

mances de reproduction se traduirait par une diminution des signes de chaleurs (Stott et Williams 1962, Vincent 1972), par la diminution de la progestéronémie significativement plus basse selon certains auteurs en été qu'en hiver (Rosenberg et al. 1977) ou par une réduction du taux basal ainsi que de la libération pré-ovulatoire du taux de LH (Madan et Johnson 1973). Chez la vache, Vaillancourt n'observe aucune variation de la fréquence de la mortalité embryonnaire avec la saison (Vaillancourt et al. 1979). Dans l'espèce ovine, certains auteurs ont constaté une augmentation de la fréquence de la mortalité embryonnaire chez les animaux inséminés en fin de période de reproduction (Asworth et al. 1989a). De même, les brebis exposées à des températures ambiantes élevées donnent naissance à des agneaux de poids plus faible et présentant un plus grand risque de mortalité (Shelton 1964). La cause pourrait résider dans le fait que sous ces conditions, le sang se trouverait davantage dirigé vers la périphérie du corps que vers l'utérus chez la brebis (Reynolds et al. 1985) ou que l'hyperthermie serait responsable d'une diminution de l'appétit des mères (Wetteman et al. 1984).

La température peut également exercer un effet délétère sur la fécondation et la survie de l'embryon. Comparant la qualité des embryons obtenus chez des vaches de race Holstein dans deux environnements thermiques différents (12 à 25°C vs 26 à 39°C), certains auteurs observent une augmentation significative d'ovocytes non fécondés et d'embryons dégénérés lorsque les températures extérieures augmentent (Monty et Racowsky 1987). De même, l'insémination de génisses donneuses d'embryons soumises pendant l'œstrus à un stress thermique de 42°C et à un taux d'humidité de 75 %, réduit de 10 % le taux de fécondation et augmente de 56 % le nombre d'embryons dégénérés (Putney et al. 1989, 1988d). A l'inverse, l'analyse de la viabilité d'embryons obtenus par superovulation et du pourcentage de gestation obtenu après transfert n'identifie aucun effet de températures extérieures comprises entre 0 et 43°C

(Putney et al. 1988a). Comparant les résultats de récoltes d'embryons après inséminations réalisées dans deux environnements thermiques différents (15 à 20°C vs 44 à 53°C), Ryan n'observe pas d'effet négatif de la température sur le pourcentage de fécondation mais constate une augmentation de la fréquence de la mortalité embryonnaire au cours de la première semaine de gestation pendant la saison « froide » et au cours de la deuxième semaine pendant la saison « chaude » (Ryan et al. 1993) confirmant ce faisant les observations réalisées dans des régions tempérées par d'autres auteurs (Diskin et Sreenan 1980, Roche et al. 1981, Geisert et al. 1988).

L'effet de la température semble dépendre de sa durée et du stade de gestation auquel elle s'exerce. L'embryon serait davantage sensible à une augmentation de la température au cours des 24 premières heures chez la vache (Ealy et al. 1993) et au cours des 48 premières heures chez la brebis et la truie (Dutt 1961, Omtvedt et al. 1967).

Plusieurs expériences en ont précisé le mécanisme. Ainsi, un stress thermique réduirait de 72 % la synthèse de trophoblastine par l'embryon et augmenterait celle de prostaglandines par l'endomètre et l'embryon (Putney et al. 1988b, 1988c). De même, l'application d'un stress thermique (37°C, avec un taux d'humidité relative comprise entre 27 et 38%) pendant la deuxième et troisième semaine de gestation s'accompagne d'une réduction du poids de l'embryon et de la concentration progestéronique (Biggers et al. 1987). De même, on sait que toute cellule est capable de synthétiser des protéines spécifiques (HSP : Heat Shock Protein) (Burel et al. 1992) pour lutter contre la dénaturation de ses protéines induite par un stress thermique. Cette capacité serait dans l'espèce bovine (Lindquist 1986, Burel et al. 1992) mais pas dans l'espèce porcine (Kojima et al. 1996), acquise par l'embryon dès les premiers stades de son développement (Ealy et Hansen 1994, Ealy et al. 1993) avant même l'activation de son génôme (Edwards et al. 1997). Cette synthèse a été observée dès le

stade 2 à 8 cellules (Edwards et Hansen 1997), au stade blastocyttaire (Burel et al. 1992, Menck et al. 1997) mais aussi au 17^e jour de gestation (Putney et al. 1988d).

Les implications pratiques de telles observations sont évidentes surtout dans les régions du monde confrontées à des étés chauds. Des recommandations pratiques ont été formulées. Elles consistent à rafraîchir les animaux au cours de la période périœstrale voire à leur administrer avant le 3^e jour de gestation du glutathion, agent connu pour avoir un effet protecteur contre l'hyperthermie (Hansen et al. 1992).

Palpation rectale

La palpation manuelle est classiquement utilisée pour effectuer un diagnostic de gestation. Habituellement cependant, ni le fœtus ni les cotylédons ne peuvent être palpés jusqu'au 60^e voire 75^e jour de gestation (Roberts 1971). Avant cette période, le diagnostic se basera sur l'identification d'une distension de la corne par les liquides, ou sur le glissement des membranes fœtales ou la palpation de la vésicule amniotique (Roberts 1971, Wisnicky et Casida 1948, Zemjanis).

Divers facteurs liés à la palpation manuelle du tractus génital sont de nature à influencer la fréquence de la mortalité embryonnaire. Il existe des différences entre *troupeaux* (Thurmond et Picanso 1993b, Thompson et al. 1994). De même, l'expérience du clinicien est-elle à souligner. Ainsi, la fréquence de mortalité embryonnaire plus élevée habituellement observée dans les troupeaux suivis par des établissements universitaires pourrait résulter d'une manipulation plus intense voire plus répétée des animaux par des personnes moins expérimentées (Ball et Carroll 1963, White et al. 1989, Abbitt et al. 1978, Thompson et al. 1994).

Plus importants sont cependant la méthode de diagnostic et le stade de gestation.

La *méthode de diagnostic* utilisée peut influencer la fréquence de la mortalité embryonnaire ou d'avortement. Ainsi, le diagnostic de gestation basé sur le glissement des mem-

branes fœtales, méthode plus facile d'application après qu'avant le 40^e jour de gestation (Roberts 1986), a été considéré comme un facteur de risque par certains auteurs (Abbitt et al. 1978, Hawk et al. 1955) mais pas par d'autres (Alexander et al. 1995, Vaillancourt et al. 1979). En effet, Alexander, utilisant simultanément le dosage d'une protéine spécifique de la gestation (PSPB, Pregnancy Specific Protein de type B) exclut un effet significatif d'un diagnostic manuel basé sur le glissement des membranes fœtales sur le risque de mortalité embryonnaire entre le 30^e et le 45^e jour de gestation (Alexander et al. 1995). De même, le risque de mortalité embryonnaire semblerait également plus important si la gestation est identifiée par palpation de la vésicule amniotique (Abbitt et al. 1978, Ball et Carroll 1963, Rowson et Dott 1963, Bellows et al. 1975, Dawson 1974) et à fortiori lorsque cette méthode est utilisée pour induire l'avortement avant le 70^e jour de gestation (Parmigiani et al. 1978). L'interprétation des différences observées doivent prendre en compte le stade de gestation auquel le diagnostic est posé.

Le *stade de gestation* exerce en effet une influence certaine. Indépendamment de la méthode utilisée, la plupart des auteurs confirment un plus grand risque de réforme ou de pertes embryonnaires voire fœtales chez les animaux examinés par palpation manuelle avant le 37^e (Warnick et al. 1995), 45^e (Paisley et al. 1978), (White et al. 1989), 48^e (Lemire et al. 1993) ou le 50^e jour de gestation (Vaillancourt et al. 1979). On a également observé un intervalle de vêlage significativement plus court chez les animaux examinés 51 à 56 jours après l'insémination par rapport à ceux examinés avant ou après ce stade (White et al. 1989, Mohammed et al. 1991). A l'inverse, une étude concernant 19411 vaches laitières constate une fréquence moins élevée de la mortalité embryonnaire entre le 28^e et le 35^e jour de gestation (8.3%) qu'entre le 35^e et le 42^e jour de gestation (11.7%) (Thurmond et Picanso 1993b). Il existe peu de raisons à cette observation mis à part

une sensibilité moins élevée de l'embryon et de ses annexes à un stade où ils sont encore relativement mobiles et peu attachés à la paroi utérine.

Une analyse plus circonstanciée de l'effet de la méthode de diagnostic utilisée en fonction du stade de gestation conclut qu'un diagnostic basé sur le glissement des membranes fœtales engendre davantage de pertes que la palpation de la vésicule amniotique entre le 45^e et le 70^e jour de gestation (6.3 vs 4.3%) tandis que cette seconde méthode induit plus de pertes entre le 30^e et le 44^e jour de gestation (5.1 vs 4.8%) (Callahan 1969). De même, Vaillancourt observe également une fréquence de mortalité embryonnaire plus élevée lorsque le diagnostic de gestation est posé par l'identification du glissement des membranes fœtales avant qu'après le 50^e jour de gestation (Vaillancourt et al. 1979). Comparant trois méthodes manuelles de diagnostic de gestation, Abbitt observe également une diminution de la fréquence de la mortalité embryonnaire avec le stade de gestation lorsque le diagnostic est basé sur l'identification de la présence de liquides associée à la palpation de la vésicule amniotique ou du glissement des membranes fœtales. A l'inverse un diagnostic basé uniquement sur l'identification de la présence de liquides ne s'accompagne d'aucune variation de la fréquence de la mortalité embryonnaire (Abbitt et al. 1978). La fréquence de la mortalité embryonnaire dépend davantage de la palpation conjointe des liquides, de la vésicule amniotique et du glissement des membranes fœtales entre le 42^e et le 46^e jour de gestation que de l'expérience du clinicien (Franco et al. 1987).

Traitements hormonaux

Traitements de superovulation

Diverses expériences ont démontré que les traitements de superovulation réalisés au moyen d'eCG, de FSH étaient responsables d'une absence de fécondation et d'une augmentation de la fréquence d'embryons dégénérés récoltés (Moor et al. 1984). Il faut y voir l'effet des

traitements hormonaux non seulement sur le transport du sperme dans les voies génitales (Saacke et al. 1994) mais aussi sur l'induction d'un profil hormonal anormal se caractérisant par une concentration plasmatique trop élevée en progestérone pendant l'œstrus induit et par une insuffisance de la libération préovulatoire d'hormone LH voire par l'ovulation prématurée d'un follicule dominant éventuellement présent lors de la mise en place du traitement de superovulation (Jensen et al. 1982, Goff et al. 1986), ces modifications hormonales modifiant la maturation nucléaire et cytoplasmique de l'ovocyte (Hyttel et al. 1991). On a par ailleurs observé que l'intervalle entre l'injection d'une prostaglandine et la lutéolyse était réduit de 20 heures chez les animaux superovulés (40h vs 60h) (Jensen et al. 1982). Malheureusement les traitements palliatifs proposés tels la ponction échoguidée du follicule dominant, l'injection d'œstrogènes, d'hCG, de GnRH ou de progestérone n'ont dans l'ensemble pas amélioré les résultats potentiels (Armstrong 1993, Madill et al. 1994).

Prostaglandines

Administrées par erreur à des animaux gestants, elles induisent une mortalité embryonnaire précoce ou tardive voire un avortement entre le 10^e et le 150^e jour de gestation. Au 15^e jour de gestation, leur effet lutéolytique et donc inducteur d'une mortalité embryonnaire peut être partiellement inhibé par l'administration de 9 mg de norgestomet 24 heures après leur injection (Lulai et al. 1994).

Zéranol

L'obtention d'une puberté précoce constitue un objectif de rentabilité économique bien démontré (Leismester et al. 1973). C'est notamment dans ce but qu'a été préconisé aux Etats-Unis notamment l'utilisation de promoteurs de croissance tels que le zéranol (King et al. 1992). Diverses études ont confirmé son effet négatif sur les performances de reproduction en général (Cohen et al. 1987, Kirkwood et al. 1991) et la mortalité embryonnaire entre le 25^e et le 53^e jour de gestation (King et al.

1994, King et al. 1995). Le mécanisme de cet effet a été peu investigué. Néanmoins, il n'est pas impossible de penser que la réduction du diamètre des cornes utérines induite par le zéranol (King et al. 1995) puisse contribuer à diminuer la surface de contact entre l'utérus et l'embryon et ainsi limiter l'absorption par ce dernier de substances nutritives (Izaïke et al. 1991).

SUMMARY

Embryonic mortality

1. Clinical aspects and etiological factors in the bovine species

Bovine infertility remains a major problem with wide economical consequences. Symptomatic diagnosis seems rather easy to be done. An animal is considered as infertile as soon as gestation can

not be obtained following two inseminations. Furthermore, group infertility should be suspected when more than 15% of animals have to be inseminated more than twice. In contrast, etiological diagnosis are uneasy; first, because suitable clinical ways/means are not available to investigate absence of fertilization, early or late embryonic lethality; secondly, because numerous factors either hormonal or not, affecting either individuals or groups might be involved.

Therefore we have been interested in describing infertile syndrome in a review divided in three complementary papers. The first part will remind the main steps of embryonic development, from fertilization to the 45th day of gestation when organogenesis is completed. Following this introduction, possible methods to diagnose embryonic lethality will be presented as

well as their efficiencies. It is worth mentioning that most of these methods are dealing with late embryonic lethality. This part includes a description of the main clinical signs. Etiological factors have been divided in 5 groups. The first one is focused on the embryo itself: chromosomal abnormalities, sex, number. The second group describes the possible influence exerted by both parents: paternal and maternal factors, oviductal and uterine environments, number of insemination. Factors linked to in vitro fertilization are presented in the third group. Biological factors that could hamper embryonic development either in vivo or in vitro belong to the fourth group. Regarding more practical aspects, the last group analyzes effects of alimentation, season, direct uterine palpation and hormonal treatments.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBITT B., BALL L., KITTO G.P., SITZMAN C.G., WILGENBURG B., RAIM L.W., SEIDEL G.E. Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. *J.A.V.M.A.*, 1978, **173**, 973-977.
- ADAMS C.E. Ageing and reproduction in the female mammal with particular référence to the rabbit. *J. Reprod. Fert.*, 1970, Suppl., **12**, 1-16.
- AITKEN R.J. Aspects of delayed implantation in the roe deer (*Capreolus capreolus*). *J. Reprod. Fert.*, 1981, suppl **29**, 83-95.
- ALBIHN A., GUSTAFSSON H., HURST M., RODRIGUEZMARTINEZ H. Embryonic ability to prolong the interoestrous interval in virgin and repeat breeder heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 1991, **26**, 193-210.
- ALEXANDER B.M., JOHNSON M.S., GUARDIA R.O., VANDEGRAAF W.L., SINGER P.L., SASSER R.G. Embryonic Loss from 30 to 60 Days Post Breeding and the effect of palpation per rectum on pregnancy. *Theriogenology*, 1995, **43**, 551-556.
- ALEXANDER E. G. Studies on the placenta of the sheep (*Ovis aries* L), Effect of surgical reduction in the number of caruncles. *J. Reprod. Fert.*, 1964, **7**, 307-322.
- ARCHBALD L.F., FULTON R.W., SEGER C.L., AL-BAGDADI F., GODKE R.A. Effects of the bovine viral diarrhoea (BVD) virus on preimplantation bovine embryos, a preliminary study. *Theriogenology*, 1979, **11**, 81-89.
- ARMSTRONG D.T. Recent advances in superovulation of cattle. *Theriogenology*, 1993, **39**, 7-24.
- ASWORTH C.J. Maternal and conceptus factors affecting histotrophic nutrition and survival embryos. *Livestock Prod. Sci.*, 1995, **44**, 99-105.
- ASWORTH C.J., SALES D.I., WILMUT I. Evidence of an association between the survival embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *J. Reprod. Fert.*, 1989, **87**, 23-32.
- AVERY B. Impact of asynchronous ovulations on the expression of sex-dependent growth rate in bovine preimplantation embryos. *J. Reprod. Fert.*, 1989, **87**, 627-631.
- AVERY B., GREVE T., RONSHOLT L., BOTNER A. Virus screening of a bovine in vitro embryo production system. *Vet. Rec.*, 1993, **132**, 660.
- AVERY B., MADISON V., GREVE T. Sex and development in bovine in-vitro fertilized embryos. *Theriogenology*, 1991, **35**, 953-963.
- AVERY B., SCHMIDT M., GREVE T. Sex determination of bovine embryos based on embryonic cleavage rates. *Acta Vet. Scand.*, 1989, **30**, 147-153.
- AYALON N. A review of embryonic mortality in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 1978, **54**, 483-493.
- AYALON N. Embryonic mortality in cattle. *Zuchthyg.*, 1981, **16**, 97-109.
- BADINGA L., COLLIER R.J., THATCHER W.W., WILCOX C.J. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environments. *J. Dairy Sci.*, 1985, **68**, 78-85.
- BADTRAM G.A., GAINES J.D., THOMAS C.B., BOSU W.T.K. Factors influencing the accuracy of early pregnancy detection in cattle by real-time ultrasound scanning of the uterus. *Theriogenology*, 1991, **35**, 1153-1167.
- BALL L., CARROLL E.J. Induction of fetal death in cattle by manual rupture of the amniotic vesicle. *J.A.V.M.A.*, 1963, **142**, 373-374.
- BALL P.J.H. The relationship of age and stage of gestation to the incidence of embryo death in dairy cattle. *Res. Vet. Sci.*, 1978, **25**, 120-122.
- BANE A. Microbiology of the genital tract; etiology of genital infections. *Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem.*, 1980, **2**, 473-481.
- BANE D.P., JAMLES J.E., GRZADIL C.M., MOLITOR T.W. In vitro exposure of preimplantation porcine embryos to porcine parvovirus. *Theriogenology*, 1990, **33**, 553-561.

- BAR ANAN R., OSTERKORN K., HEIMAN M., FRAUSSLICH H. Environmental and genetic effects on the interval between subsequent insemination. *Z. Tierz. Zuchtungs biol.*, 1979, **95**, 89-97.
- BARLOW R.M., MIDDLETOWN D.J. Is BSE simply scrapie in cattle? *Vet. Rec.*, 1990, **126**, 295.
- BARNES F.L., ENDEBROCK M.K., LOONEY C., POWELL R., WESTHUSIN M., BONDIOLI K. Embryo cloning in cattle, the use of in vitro matured oocytes. *J. Reprod. Fert.*, 1993, **97**, 317-320.
- BARNES F.L., EYESTONE W.H. Early cleavage and the maternal transition in bovine embryos. *Theriogenology*, 1990, **33**, 141-152.
- BARR B.C., Anderson M.L. Infectious diseases causing bovine abortion and fetal loss. *Vet. Clinics North Amer. Food Anim. Pract.*, 1993, **9**, 343-368.
- BARRIOS D.R., KRAEMER D.C., BESSOU DO E., ADAMS L. Failure to isolate *Brucella abortus* from embryos or ova from culture-positive superovulated cows. *Theriogenology*, 1988, **29**, 353-361.
- BARTLETT P.C., KIRK J.H., WILKE M.A., KANEENE J.B., MATHER E.C. Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle. Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Prev. Vet. Med.*, 1986, **4**, 235-248.
- BEARDEN H.J., HANSEL W., BRATTON R.W. Fertilization and embryonic mortality rates of bulls with histories of either low or high fertility in artificial breeding. *J. Dairy Sci.*, 1956, **39**, 312.
- BELLOWS R.A., RUMSEY T.S., KASSON C.W., BOND J., WARWICK E.J., PANISH O.F. Effects of organic phosphate systemic insecticides on bovine embryonic survival and development. *Am. J. Vet. Res.*, 1975, **36**, 1133-1140.
- BERG U., REICHENBACH H.D., LIEBRICH J., BREM G. Sex ratio of calves born after transfer of in vitro produced embryos. *Theriogenology*, 1992, **37**, 191.
- BETTERIDGE K.J., EAGLESOME M.D., RANDALL G.C.B., MITCHELL D. Collection, description and transfer of embryos from cattle 10-16 days after oestrus. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **59**, 205-216.
- BETTERIDGE K.J., FLECHON J.E. The anatomy and physiology of pre-attachment bovine embryos. *Theriogenology*, 1988, **29**, 155-187.
- BETTERIDGE K.J., LOSKUTOFF A. Prospects for improving the survival rate of transferred embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 1993, **36**, 262-265.
- BIELANSKI A. Effect of *Campylobacter fetus* on in vivo fertilization and early in vitro development of bovine embryos. *Theriogenology*, 1994, **41**, 163 (abstr).
- BIELANSKI A., DUBUC C. In vitro fertilization and culture of ova from heifers infected with bovine herpesvirus-1 (BHV-1). *Theriogenology*, 1994a, **41**, 1211-1217.
- BIELANSKI A., DUBUC C. In vitro fertilization of bovine oocytes exposed to bovine herpesvirus 1 (BHV-1). *Reprod. Dom. Anim.*, 1993, **28**, 285-288.
- BIELANSKI A., DUBUC C. In vitro fertilization of ova from cows experimentally infected with a non-cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus. *Anim. Reprod. Sci.*, 1994b, **38**, 215-221.
- BIELANSKI A., DUBUC C., HARE W.C.D. Failure to remove bovine diarrhoea virus (BVDV) from bull semen by swim-up and other separatory sperm techniques associated with in vitro fertilization. *Reprod. Dom. Anim.*, 1992, **27**, 303-306.
- BIELANSKI A., SURUJBALLI O. Association of *Leptospira borgpetersinii* serovar hardjo type hardjo bovis with embryos produced by in vitro fertilization. *Theriogenology*, 1996, **46**, 45-55.
- BIGGERS B.G., GEISERT R.D., WETTEMAN R.P., BUCHANAN D.S. Effect of heat stress on early embryonic development in the cow. *J. Anim. Sci.*, 1987, **64**, 1512-1518.
- BOOTH J.M., HOLDSWORTH R.J. The establishment and operation of a central laboratory for pregnancy testing in cows. *Br. Vet. J.*, 1976, **132**, 518-528.
- BOOTH P.J., STEVENS D.A., COLLINS M.E., BROWNLIE J. Detection of bovine viral diarrhoea virus in ovarian and oviductal tissue. *J. Reprod. Fert.*, 1992, Abstract series N° 9, 28.
- BOOTH P.J., STEVENS D.A., COLLINS M.E., BROWNLIE J. Detection of bovine viral diarrhoea virus antigen and RNA in oviduct and granulosa cells of persistently infected cattle. *J. Reprod. Fert.*, 1995, **105**, 17-24.
- BOSHIER D.P. A histological and histochemical examination of implantation and early placental formation in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 1969, **19**, 51-61.
- BOUILLANT A.M.P., RUCKERBAUER G.M., EAGLESOME M.D., SAMAGH B.S., SINGH E.L., HARE W.C.D., RANDALL G.C.B. Attempts to isolate bovine leukemia and bovine syncytial viruses from blood, uterine flush fluid, unfertilized ova and embryos from infected donor cattle. *Ann. Rech. Vet.*, 1981, **12**, 385-395.
- BOWEN R.A., ELSDEN R.P., SEIDEL G.E. Infection of early bovine embryos with bovine herpesvirus-1. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46**, 1095-1097.
- BOWEN R.A., HOWARD T.H., ELSDEN R.P., SEIDEL G.E. JR. Embryo transfer from cattle infected with bluetongue virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, **44**, 1625-1628.
- BOYD H. Embryonic death in cattle, sheep and pigs. *Vet. Bull.*, 1965, **35**, 251-266.
- BOYD H., BACSICH P., YOUNG A., MCCracken J.A. Fertilization and embryonic survival in dairy cattle. *Br. Vet. J.*, 1969, **125**, 87.
- BOYD H., REED H.C.B. Investigations into the incidence and causes of infertility in dairy cattle; influence of some management factors affecting the semen and insemination conditions. *Br. Vet. J.*, 1961, **117**, 74-86.
- BRACKETT B.G., ZUELKE A. Analysis of factors involved in the in vitro production of bovine embryos. *Theriogenology*, 1993, **39**, 43-64.
- BRADFORD G.E., QUIRKE J.F., SITORUS P., INOUNE I., TIESNAMURTI B., BELL F.L., FLETCHER I.C., TORELL D.T. Reproduction in Javanese sheep. Evidence for a gene with large effect on ovulation rate and litter size. *J. Anim. Sci.*, 1986, **63**, 418-431.
- BRAND A., AARTS M.H., ZAAYER D., OXENDER W.D. Recovery and transfer of embryos by non-surgical procedures in lactating dairy cattle. In , Control of reproduction in the cow. E.E.C. Conference, Galway, 1977.
- BRINSTER R.L. Carbon dioxide production from glucose by the preimplantation rabbit embryo. *Exp. Cell. Res.*, 1968, **51**, 330-334.
- BRITTON A.P., MILLER R.B., RUHNKE H.L., JOHNSON W.M. The recovery of ureaplasmas from bovine embryos following in vitro exposure and ten washes. *Theriogenology*, 1988, **30**, 997-1003.
- BULMAN D.C. A possible influence of the bull on the incidence of embryonic mortality in cattle. *Vet. Rec.*, 1979, **105**, 420-422.
- BULMAN D.C., LAMMING G.E. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat-breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 1978, **54**, 447-458.
- BUREL C., MEZGER V., PINTO M., RALLU M., TRIGON S., MORANGE M. Mammalian heat shock protein families. Expression and function. *Experientia*, 1992, **48**, 629-634.
- CALLAHAN C.J. Clinical observations on normal and abnormal reproduction in the dairy cow. *Southwest Vet.*, 1969, **22**, 193-199.
- CALLESEN H., GREVE T., BAK A. Embryotechnology in dairy cattle breeding. In , Embryonic development and manipulation in animal production., Eds. , Lauria A., Gandolfi F. Portland Press, London and Chapell Hill, 1992, pp. 207-214.
- CANFIELD R.W., SNIFFEN C.J., BULTER W.R. Effects of excess degradable protein on post-partum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1990, **173**, 2342-2349.
- CASIDA L.E. The repeat breeder cow. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, 1950, **19**, 273-283.
- CASIDA L.E., WOODY C.O., POPE A.L. Inequality in function of the right and left ovaries and uterine horns of the ewe. *J. Anim. Sci.*, 1966, **25**, 1169-1171.
- CHAFFAUX S., LAKHDISSI H., THIBIER M. Etude épidémiologique et clinique des endométrites postpuerpérales chez les vaches laitières. *Rec. Méd. Vet.*, 1991, **167**, 349-358.

- CHAFFAUX S., REDDY G.N.S., VALON F., THIBIER M. Transrectal real-time ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and monitoring embryonic mortality in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 1986, **10**, 193-200.
- CHRISTENSEN R.K., ECHTERNKAMP S.E., LASTER D.B. Oestrus, LH, ovulation and fertility in beef heifers. *J. Reprod. Fert.*, 1975, **43**, 543-546.
- CHRISTIE W.B., NEWCOMB R., ROWSON L.E.A. Embryo survival in heifers after transfer of an egg to the uterine horn contralateral to corpus luteum and the effect of treatments with progesterone or HcG on pregnancy rate. *J. Reprod. Fert.*, 1979, **56**, 701-706.
- COHEN R.D., JANZEN E.D., NICHOLSON H.H. Effect of repeated implantation with zeranol from birth or weaning on growth and reproduction in beef heifers. *Can. J. Anim. Sci.*, 1987, **67**, 37-42.
- COHEN R.O., BERNSTEIN M., ZIV G. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Actinomyces pyogenes* recovered from the uterus of dairy cows with retained membranes and post parturient endometritis. *Theriogenology*, 1995, **43**, 1389-1397.
- COLEMAN D.A., DAILEY R.E., LEFFEL R.E., BAKER R.D. Estrous synchronization and establishment of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *J. Dairy Sci.*, 1987, **70**, 858-866.
- COLEMAN D.A., THAY N.E., DAILEY R.A. Factors affecting reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1985, **68**, 1793-1803.
- Committee on Reproductive Nomenclature, Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. *Cornell Vet.*, 1972, **62**, 216-237.
- CONNALLY P.M., STONE W.H., TYLER W.J., CASIDA L.E., MORTON N.E. Genetic load expressed as fetal death in cattle. *J. Dairy Sci.*, 1963, **46**, 232-236.
- COOK B., HUNTER R.H.F. Systemic and local hormonal requirements for implantation in domestic animals. *J. Reprod. Fert.*, 1978, **54**, 471-482.
- COUROT M., COLAS G. The role of the male in embryonic mortality (cattle and sheep). In: Greenan J.M., Diskin M.G. (eds), *Embryonic mortality in Farm Animals*. Dordrecht, Martinus Nijhoff, 1986, 195-203.
- CROMBIE P.R. Ultrastructure of the foetal-maternal attachment in the pig. *J. Physiol. Lond.*, 1970, **210**, 101P.
- CURRAN S., PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonic appearance of the bovine conceptus from days 20 through 60. *J.A.V.M.A.*, 1986, **189**, 1295-1302.
- DAWSON F.M.L. Methods for early termination of pregnancy in the cow. *Vet. Rec.*, 1974, **94**, 542-548.
- DAY J.D., WEAVER L.D., FRANTI C.E. Twin pregnancy diagnosis in holstein cows - discriminatory powers and accuracy of diagnosis by transrectal palpation and outcome of twin pregnancies. *Can. Vet. J.*, 1995, **36**, 93-97.
- DE LOOS F., VAN VLIET C., VAN MAURIK P., KRUIP TH.A.M. Morphology of immature bovine oocytes. *Gamete Research*, 1989, **24**, 197-204.
- DEJARNETTE J.M., SAACKE R.G., BAME J., VOLGER C.J. Accessory sperm, Their importance to fertility and embryo quality, and attempts to alter their numbers in artificially inseminated cattle. *J. Anim. Sci.*, 1992, **70**, 484-491.
- DEL CAMPO M.R., ROWE R.F., CHAICHAREON D., GINTHER O.J. Effect of the relative locations of embryo and corpus luteum on embryo survival in cattle. *Reprod. Nutr. Develop.*, 1983, **23**, 303-308.
- DEL CAMPO M.R., TAMAYO R., DEL CAMPO C.H. Embryo transfer from brucellosis-positive donors, a field trial. *Theriogenology*, 1987, **27**, 221.
- DENNIS S.M. Infectious bovine abortion a practitioner's approach to diagnosis. *Vet. Med. Small Animal. Clinic.*, 1980, **75**, 459-463.
- DISKIN M.G., SREENAN J.M. Early embryonic mortality in the cow, its relationship with progesterone concentration. *Theriogenology*, 1993, **39**, 7-24.
- DISKIN M.G., SREENAN J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **59**, 463-468.
- DISKIN M.G., SREENAN J.M. Progesterone and embryo survival in the cow, in *Embryonic Mortality in Farm Animals*, Sreenan J.M. and Diskin M.G., Eds., Martinus Nijhoff, Netherlands, 1986, 142-158.
- DOBSON H., FITZPATRICK R.J. Clinical application of the progesterone-in-milk test. *Br. Vet. J.*, 1976, **132**, 538-542.
- DOBSON H., TG ROWAN, IS KIPPAX, P HUMBLOT. Assessment of Fetal Number, and Fetal and Placental Viability Throughout Pregnancy in Cattle. *Theriogenology*, 1993, **40**, 411-425.
- DOHOO I.R., MARTIN S.W., MAC MILLAN I., KENNEDY B.W. Disease, production and culling in Holstein-Friesian cows. 2. Age, season and sire effects. *Prev. Vet. Med.*, 1984, **2**, 655-670.
- DOMINGUEZ M.M. Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. *Theriogenology*, 1995, **43**, 1405-1418.
- DOMINIKO T., FIRST N.L. Kinetics of bovine oocyte maturation allows selection for developmental complete and is affected by gonadotropins. *Theriogenology*, 1992, **37**, 203.
- DONEY J.M., GUNN R.G., SMITH W.F. Transuterine migration and embryo survival in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 1973, **34**, 363-367.
- DONIS R.O. Bovine viral diarrhea, the unraveling of a complex of clinical presentations. *Bovine Proceed.*, 1988, **20**, 16-22.
- DUBICELLA T., ANDERSON P. Cell shape and membrane changes in the eight-cell mouse embryo. Prerequisites for morphogenesis of the blastocyst. *Dev Biol.*, 1975, **47**, 45.
- DUBY R.T., DAMIANI P., LOONEY C.R., FISSORE R.A., ROBL J.M. Prepuberal calves as oocyte donors, promises and problems. *Theriogenology*, 1996, **45**, 121-130.
- DUTT R.H. Critical period for early embryo mortality in ewes exposed high ambient temperature. *J. Anim. Sci.*, 1961, **22**, 713.
- DZIUJ P.J., HENTZEL M.D. Intrauterine effect on fetal development in the pig. *Abst. Am. Soc. Anim. Sci. Annu. Meet.* 1977, 154.
- EAGLESOME M.D., BIELANSKI A., HARE W.C.D., RUNHKE H.L. Studies on inactivation of pathogenic micro-organisms in culture media and in bovine semen by photosensitive agents. *Vet. Microbiol.*, 1994, **38**, 277-284.
- EAGLESOME M.D., GARCIA M.M. Microbial agents associated with bovine genital tract infections and semen. 1. *Brucella abortus*, *Leptospira*, *Campylobacter fetus* and *Tritrichomonas foetus*. *Veterinary Bulletin*, 1992a, **62**, 743-775.
- EAGLESOME M.D., GARCIA M.M., STEWART R.B. Microbial agents associated with bovine genital tract infections and semen. 2. *Haemophilus somnus*, *Mycoplasma* spp and *Ureaplasma* spp. *Chlamydia*; Pathogens and semen contaminants; treatment of bull semen with antimicrobial agents. *Veterinary Bulletin*, 1992b, **62**, 887-910.
- EALY A.D., DROST M., HANSEN P.J. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 2899-2905.
- EALY A.D., HANSEN P.J. Induced thermotolerance during early development of murine and bovine embryos. *J. Cell. Physiol.*, 1994, **160**, 463-468.
- ECHTERNKAMP S.E., GREGORY K.E., DICKERSON G.E., CUNDIFF L.V., KOCH R.M., VANVLECK L.D. Twinning in cattle. 2. Genetic and environmental effects on ovulation rate in puberal heifers and post-partum cows and the effects of ovulation rate on embryonic survival. *J. Anim. Sci.*, 1990, **68**, 1877-1888.
- EDWARDS J.L., EALY A.D., MONTERROSO V.H., HANSEN P.J. Ontogeny of temperature-regulated heat shock protein 70 synthesis in preimplantation bovine embryos. *Molecular Reproduction and Development*, 1997, **48**, 25-33.
- EDWARDS J.L., HANSEN P.J. Elevated temperature increases heat shock protein 70 in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. *Biol. Reprod.*, 1996, **55**, 340-346.
- EL BANNA A.A., HAFEZ E.S. Egg transport in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 1970, **30**, 430-432.
- 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**, 694-701.

- ELSDEN R.P., NELSON L.D., SEIDEL G.E. Jr. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mares serum gonadotropin. *Theriogenology*, 1978, **9**, 17-26.
- ERB R.E., GAVERICK H.A., RANDEL R.D., BROWN B.L., CALLAHAN C.J. Profile of reproductive hormones associated with fertile and non-fertile inseminations of dairy cows. *Theriogenology*, 1976, **5**, 227-242.
- ERB R.E., HOLTZ E.W. Factors associated with estimated fertilization and service efficiency of cows. *J. Dairy Sci.*, 1958, **41**, 1541-1552.
- ERB R.E., MORRISON R.A. Effects of twinning on reproductive efficiency in a Holstein-friesian herd. *J. Dairy Sci.*, 1959, **42**, 512-518.
- ERICKSON B.H., REYNOLDS B.H., MURPHREE R.L. Ovarian characteristics and reproductive performance of the aged cow. *Biol. Reprod.*, 1976, **15**, 555-560.
- ERNO H., PHILIPSE H. Mycoplasmosis, cervical and uterine inoculation of heifers with a Danish strain of *Mycoplasma bovis*. *Acta Vet. Scand.*, 1969, **10**, 108-110.
- EYESTONE W.H., FIRST N.L. Co-culture of early cattle embryos to the blastocyst stage with oviductal tissue or in conditioned medium. *J. Reprod. Fertil.*, 1989a, **85**, 715-720.
- EYESTONE W.H., FIRST N.L. Variation in bovine embryo development in vitro due to bulls. *Theriogenology*, 1989b, **31**, 191.
- FARIN P.W., FARIN C.E. Transfer of bovine embryos produced in vivo or in vitro, survival and fetal development. *Biol. Reprod.*, 1995, **52**, 676-682.
- FEHILLY C.B., WILLADSEN S.M. Embryo manipulation in farm animals. In , Oxford Reviews for reproductive Biology, Vol. 8 Ed JR Clarke, Clarendon Press, Oxford, 1986, pp. 379-413.
- FERGUSON J.D., GALLIGAN D.T., BLANCHARD T. Blood urea nitrogen and conception rate, the usefulness of test information. *J. Dairy Sci.*, 1991, (suppl. 1), 242 (abstract).
- FLOOD M.R., GAGE T.L., BUNCH T.D. Effect of various growth-promoting factors on preimplantation bovine embryo development in vitro. *Theriogenology*, 1993, **39**, 823-833.
- FORAR A.L., GAY J.M., HANCOCK D.D. The frequency of endemic fetal loss in dairy cattle. A review. *Theriogenology*, 1995, **43**, 989-1000.
- FORAR A.L., GAY J.M., HANCOCK D.D., GAY C.C. Fetal loss frequency in ten Holstein dairy herds. *Theriogenology*, 1996, **45**, 1505-1513.
- FOSTER J.D., MCKELVEY W.A.C., MYLNE M.J.A., WILLIAMS A., HUNTER N., HOPE J., FRASER H. Studies on maternal transmission of scrapie using embryo transfer. *Vet. Rec.*, 1992, **132**, 341-343.
- 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.
- FUKUI Y., SAKUMA Y. Maturation of bovine oocytes cultured in vitro, relation to ovarian activity, follicular size and the presence or absence of cumulus cells. *Biol. Reprod.*, 1980, **22**, 669-673.
- GANDOLFI F. Autocrine, paracrine and environmental factors influencing embryonic development from zygote to blastocyst. *Theriogenology*, 1994, **41**, 95-100.
- GANDOLFI F., BREVINI T.A.L., MODINA S., PASSONI L. Early embryonic signals, embryo-maternal interactions before implantation. *Anim. Reprod. Sci.*, 1992, **28**, 269-276.
- GANDOLFI F., BREVINI T.A.L., MOOR R.M. Effects of oviduct environment on embryonic development. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 1989, **38**, 107-115.
- GEISERT R.D., LEE C.-Y., SIMMEN F.A., ZAVY M.T., FLISS A.E., BAZER M.W., SIMMEN R.C.M. Expression of messenger RNAs encoding insulin-like growth factor-I, II, and insulin-like growth factor binding protein-2 in bovine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1991, **45**, 975-983.
- GEISERT R.D., THATCHER W.W., ROBERTS R.M., BAZER F.W. Establishment of pregnancy in the pig. II. Cellular remodeling of the porcine blastocyst during elongation on day 12 of pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1982a, **27**, 941-955.
- GEISERT R.D., THATCHER W.W., ROBERTS R.M., BAZER F.W. Establishment of pregnancy in the pig. III. Endometrial secretory response to oestradiol valerate administered on Day 11 of the oestrous cycle. *Biol. Reprod.*, 1982b, **27**, 957-965.
- GEISERT R.D., ZAVY M.T., BIGGERS B.G., GARRETT J.E., WETTEMANN R.P. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. *Anim. Reprod. Sci.*, 1988, **16**, 11-25.
- GERENA R.L., KILLIAN G.J. Electrophoretic characterization of proteins in oviduct fluid of cows during the estrous cycle. *J. Exp. Zool.*, 1990, **256**, 113-120.
- GILLESPIE J.H., SCHLAFFER D.H., FOOTE R.H., QUICK S., DOUGHERTY E., SCHIFF E., ALLEN S., Comparison of persistence of seven bovine viruses on bovine embryos following in vitro exposure. *Disch Tierärztl. Wschr.*, 1990, **97**, 65-68.
- GINTHER O.J. Intrauterine movement of the early conceptus in barren and postpartum mares. *Theriogenology*, 1984, **21**, 633-644.
- GOFF A.K., GREVE T., BOUSQUET D., KING W.A. Progesterone and luteinizing hormone profiles in heifers used as oocyte donors. *Theriogenology*, 1986, **26**, 577-586.
- GORDON I., WILLIAMS G., EDWARDS J. The use of sérum gonadotrophin (P.M.S.) in the induction of twin-pregnancy in the cow. *J. Agric. Sci. (Cambridge)*, 1962, **59**, 143-198.
- GOSDEN R.G. Effects of age and parity on the breeding potential of mice with one or two ovaries. *J. Reprod. Fert.*, 1979, **57**, 477-487.
- GOWAN E.W., ETCHES R.J., BRYDEN C., KING G.J. Factors affecting accuracy of pregnancy diagnosis in cattle. *J. dair. sci.*, 1982, **65**, 1294-1302.
- GOWAN E.W., ETCHES R.J. A solid-phase radioimmunoassay for progesterone and its application to pregnancy diagnosis in the cow. *Theriogenology*, 1979, **12**, 327-336.
- GRAHN T.C., FAHNING M.L., ZEMJANIS R. Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984, **185**, 429-432.
- GREVE T. Embryo transplant in cattle. Non surgical recovery of embryos from repeat-breeders. *Acta Vet. Scand.*, 1980, **21**, 26-33.
- GREVE T., CALLESEN H., HYTTEL P. Follicular correlates with in vitro fertilization in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 1989, Suppl., **38**, 117-126.
- GREVE T., MADISON V. In vitro fertilization in cattle, a review. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1991, **31**, 147-157.
- GRIFFIN J.E.T., HARTIGAN P.J., NUNN W.R. Non specific intrauterine infection and bovine fertility. 1. Infection patterns and endometritis during the first seven weeks post-partum. *Theriogenology*, 1974a, **1**, 91-106.
- GRIFFIN J.E.T., HARTIGAN P.J., NUNN W.R. Non specific intrauterine infection and bovine fertility. 1. Infection patterns and endometritis before and after services. *Theriogenology*, 1974b, **1**, 107-114.
- GU Y., LI P.K., LIN Y.C., RIKIHISA Y., BRUEGGEMEIER R.W. Gossypolone suppresses progesterone synthesis in bovine luteal cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1991, **38**, 709-715.
- GU Y., LIN Y.C., RIKIHISA Y. Inhibitory effect of gossypol on steroidogenic pathways in cultured bovine luteal cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1990, **169**, 455-461.
- GUERIN B., CHAFFAUX S., LE GUIENNE B., ALLIETTA M., THIBIER M. IVF and IV culture of bovine embryos using semen from a bull persistently infected with BVDV. *Theriogenology*, 1992, **37**, 217 (Abs).
- GUERIN B., LE GUIENNE B., ALLIETTA M., HARLAY T., THIBIER M. Effets de la contamination par le BHV-1 sur la maturation et la fécondation in vitro des ovocytes des bovins. *Rec. Med. Vet.*, 1990, **166**, 911-917.
- GUERIN B., LE GUIENNE B., CHAFFAUX S., HARLAY T., ALLIETTA M., THIBIER M. Contamination des ovocytes et des embryons fécondés in vitro après infection expérimentale de vaches

- donneuses par le virus bovin de type 1 (BHV-1). *Rec. Med. Vet.*, 1989, **165**, 827-833.
- GUERIN B., LE GUIENNE B., THIBIER M. Absence de contamination microbiologique des embryons bovins fécondés in vitro. *Bull. Acad. Vet. France.*, 1988, **61**, 513-520.
- GUERIN B., NIBART M., MARQUANT B., LE GUIENNE B., HUMBLLOT P. Sanitary risks related to embryos transfer in domestic species. *Theriogenology*, 1997, **47**, 33-42.
- GUSTAFSSON H., LARSSON K. Reciprocal embryo transfer between repeat-breeder and virgin heifers. An experimental model. *Acta Vet. Scand.*, 1983, **24**, 59-64.
- GUSTAFSSON H., LARSSON K. Embryonic mortality in heifers after artificial insemination and embryo transfer, differences between virgin and repeat breeder heifers. *Res. Vet. Sci.*, 1985, **39**, 271-274.
- GUSTAFSSON H., LARSSON K., KINDAHL H., MADEJ A. Sequential endocrine changes and behaviour during oestrus and metoestrus in repeat breeder and virgin heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 1986, **10**, 261-273.
- GUSTAVSSON I. Distribution and effects of 1.29 Robertsonian translocation in cattle. *J. Dairy Sci.*, 1979, **62**, 825-835.
- GUSTAVSSON I., ROCKBORN G. Chromosomal abnormalities in three cases of lymphatic leukemia in cattle. *Nature (London)*, 1964, **99**, 203.
- GUTIERREZ A., DELAFUENTE J., FUENTES S., PAYAS A., UGARTE C., PINTADO B. Influence of biopsy sexing and in-vitro culture on losses of female mouse and bovine embryos animal. *Biotechnology*, 1995, **6**, 101-109.
- HACKETT A.J., DURNFORD R., MAPLETOFT R.J., MARCUS G.J. Location and status of embryos in the genital tract of superovulated cows 4 to 6 days after insemination. *Theriogenology*, 1993, **40**, 1147-1153.
- HAMILTON W.J., LAING J.A. Development of the egg of the cow up to the stage of blastocyst formation. *Journal of Anatomy*, 1946, **80**, 194-204.
- HANADA H., GESHI M., SUZUKI O. Additional evidence of the formation of unbalanced embryos in cattle with the 7/21 Robertsonian translocation. *Theriogenology*, 1995, **44**, 499-505.
- HANADA H., MURAMATSU S., ABE T., FUKUSHIMA T. Robertsonian chromosome polymorphism found in a local herd of Japanese Black cattle. *Ann. Genet. Sel. Anim.*, 1981, **13**, 205-211.
- HANAHAN D.J. Platelet activating factor : a biologically active phosphoglyceride. *Annu. Rev. Biochem.*, 1986, **55**, 483-509.
- HANRANHAN J.P. The inter-ovarian distribution of twin ovulations and embryo survival in the bovine. *Theriogenology*, 1983, **20**, 3-11.
- HANSEN P.J., THATCHER W.W., EALY A.D. Heat stress effects on reproductive function. p.116 in Large Herd Dairy Management. 2nd ed. H.H. Van Horn and C.J. Wilcox, ed. ADSA Manage. Serv., Champaign, IL., 1992.
- HANZEN CH., DELSAUX B. Use of transrectal B-mode ultrasound imaging in bovine pregnancy diagnosis. *Vet. Rec.*, 1987, **121**, 200-202.
- HANZEN CH., GOFFIN L. Application de l'échographie à la ponction des follicules ovariens. *Ann. Méd. Vét.*, 1998, **142**, 81-91.
- HANZEN CH., LAURENT Y. Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1991, **135**, 481-487.
- HARE W.C.D., SINGH E.L., BETTERIDGE K.J., EAGLESOME E.D., RANDALL G.C.B., MITCHELL D., BILTON R.J., TROUNSON A.O. Chromosomal analysis of 159 bovine embryos collected 12 to 18 days after estrus. *Can. J. Genet. Cytol.*, 1980, **22**, 615-626.
- HARNEY J.P., OTT T.L., GEISERT R.D., BAZER F.W. Retinol binding protein gene expression in cycli and pregnant endometrium of pigs, sheep and cattle. *Biol. Reprod.*, 1993, **49**, 1066-1073.
- HARTIGAN P.J. The role of non-specific uterine infection in the infertility of clinically normal repeat-breeder cows. *Vet. Sci. Comm.*, 1977, **1**, 307-321.
- HASLER J.F., MC CAULEY A.D., LATHROP W.F., FOOTE R.H. Effect of donor embryo recipient interactions on pregnant rate in a large scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 1987, **27**, 139-168.
- HAWK H.W., WILTBANK J.N., KIDDER H.E., CASIDA L.E. Embryonic mortality between 16 and 34 days postbreeding in cows of low fertility. *J. Dairy Sc.*, 1955, **38**, 673-676.
- HAZELEGER N.L., HILL D.J., STUBBIJNGS R.B., WALTON J.S. Relationship of morphology and follicular fluid environment of bovine oocytes to their developmental potential in vitro. *Theriogenology*, 1995, **43**, 509-522.
- HEAP R.B., HOLDSWORTH R.J., GADSBY J.E., LAING J.A., WALTERS D.E. Pregnancy diagnosis in the cow from milk progesterone progesterone concentration. *Br. Vet. J.*, 1976, **132**, 445-464.
- HEYMAN Y. Factors affecting the survival of whole and half-embryos transferred in cattle. *Theriogenology*, 1985, **23**, 63-75.
- HEYMAN Y., CHESNE P., LEBOURHIS D., PEYNOT N., RENARD J.P. Developmental ability of bovine embryo after nuclear transfer based on the nuclear source, in vivo versus in vitro. *Theriogenology*, 1994, **42**, 695-702.
- HEYMAN Y., RENARD J.P., OZIL J.P., DU MESNIL DU BUISSON F. Cervical embryo transfer at different stages in cattle. In: Control of reproduction in the cow. E.E.C. Conférence, Galway, 1977.
- HILL W.G., WEBB A.J. Genetics reproduction of the pig. In The control of Pig reproduction. pp561-564. Eds D.J.A. Cole and G.R. Foxcroft. Butterworths, London.
- HILLERY F.L., PARRISH J.J., FIRST N.L. Bull specific effect on fertilization and embryo development in vitro. *Theriogenology*, 1990, **33**, 249.
- HIRTH R.S., NIELSEN S.W., TOURTELLOTTE M.E. Characterization and comparative genital tract pathogenicity of bovine mycoplasmas. *Infect. Immun.*, 1970, **2**, 101-104.
- HOFFMAN B., HAMBURGER R., GUNZLER O., KORDORFER L., LOHOFF H. Milk progesterone as a parameter for fertility control in cattle: methodological approaches and present status of application in Germany. *Br. Vet. J.*, 1976, **132**, 469-476.
- HUMBLLOT P., DENIS J.B. Sire effects on cow fertility and late embryonic mortality in the Montbeliard breed. *Livest. Prod. Sci.*, 1986, **14**, 139-148.
- HUMBLLOT P., CAMOUS S., MARTAL J., CHARLÉREY J., JEANGUUYOT N., THIEBER M., SASSER R.G. Pregnancy specific Protein B, progesterone concentration and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 1988a, **83**, 215-223.
- HUMBLLOT P., CAMOUS S., MARTLA J., CHARLÉREY J., JEANGUYOT N., THIBIER M., SASSER R.G. Diagnosis of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy specific protein in the plasma of dairy cows. *Theriogenology*, 1988b, **30**, 257-269.
- HUMBLLOT P., DALLA- PORTA M.A. Effect of conceptus removal and intrateurine administration of conceptus tissue on luteal function in the cow. *Reprod Develop.*, 1984, **24**, 529-541.
- HUMBLLOT P., THIBIER M. Effect of gonadotropin releasing hormone (GnRH) treatment during the midluteal phase in repeat-breeder cows. A preliminary report. *Theriogenology*, 1981, **16**, 375-378.
- HUMBLLOT P., THIBIER M. Evaluation comparée des méthodes de diagnostic de gestation chez les bovins. *Elevage et Insémination*, 1984, **200**, 3-18.
- HUSSAIN A.M., DANIEL R.C.W., O'BOYLE D. Postpartum uterine flora following normal and abnormal puerperium in cows. *Theriogenology*, 1990, **34**, 291-302.
- HUSSAIN A.M., JILLELLA D., DANIEL R.C.W., FROST A.J. Studies on some bacteriological aspects of non-surgical embryo transfer in cattle. *Reprod. Domest. Anim.*, 1994, **29**, 55-60.
- HYTTEL P., CALLESEN H., GREVE T., SCHMIDT M. Oocyte maturation and sperm transport in superovulated cattle. *Theriogenology*, 1991, **35**, 91-108.
- HYTTEL P., NIEMANN H. Ultrastructure of porcine embryos development in vitro versus in vivo. *Mol. Reprod. Dev.*, 1990, **27**, 136-144.

- ISHIMORI H., SAEKI K., INAI M., NAGAO Y., TITASAKA J., MIKI Y., SEIKE N., KAINUMA H. Vitriification of bovine embryos in a mixture of ethylene glycol and dimethyl sulfoxide. *Tyheriogenology*, 1993, **40**, 427-433.
- IWASAKI S., HAMANO S., KUWAYAMA M., YAMASHITA M., USHIIJIMA H., NAGAOKA S., NAKAHARA T. Developmental changes in the incidence of chromosome anomalies of bovine embryos fertilized in vitro. *J. Exp. Zool.*, 1992, **261**, 79-85.
- IZAIKE Y., SUZUKI O., SHIMADA K., TAKENOUCHE N., TAKAHASHI M. Observation by ultrasonography of embryonic loss following the transfer of 2 or 3 embryos in beef cows. *Theriogenology*, 1991, **36**, 939-947.
- JENSEN A., GREVE T., MADEJ A., EDQVIST L.E. Endocrine profiles and embryo quality in the PMSG-PGF2a treated cows. *Theriogenology*, 1982, **18**, 33-44.
- JORDAN E.R., CHAPMAN T.E., HOLTAN D.W., SWANSON L.V. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1983, **66**, 1854-1862.
- KAHN W., LEIDL W. Ultrasonic characteristics of pathological conditions of the bovine uterus and ovaries. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. M.M. Taverne and A.H. Willems (Eds), Kluwer Academic Publisher, 1989, 53-65.
- KAIM M., FOLMAN Y., NEUMARK H., KAUFMAN W. The effect of protein intake and lactation number on postpartum bodyweight loss and reproductive performance of dairy cows. *Anim. Prod.*, 1983, **37**, 229-235.
- KALLELA K., ETTALA E. The oestrogenic Fusarium toxin (zearalenone) in hay as a cause of early abortions in the cow. *Nord. Veterinaermed.*, 1984, **36**, 305-309.
- KANEENE J.B., COE P.H., GIBSON C.D., YAMINI B., MARINEZ R.O., MORROW D.A. The role of Haemophilus somnus in bovine early embryonic death. 1. The effect of the organism on embryos by day 8 postbreeding. *Theriogenology*, 1986, **26**, 189-198.
- KANEENE J.B., COE P.H., GIBSON C.D., YAMINI B., MORROW D.A., MARINEZ R.O. The role of Haemophilus somnus in bovine early embryonic death. 1. The effect of the organism on embryos by day 21 postbreeding. *Theriogenology*, 1987, **27**, 737-749.
- KANEENE J.B., COE P.H., GIBSON C.D., YAMINI B., MORROW D.A., MARINEZ R.O. The role of Haemophilus somnus in bovine early embryonic death. 2. Persistence of the organism in the uterus following intrauterine exposure. *Theriogenology*, 1986, **26**, 795-801.
- KAPOOR P.K., GARG D.N., MAHAJAN S.K. Isolation of Mycoplasma mycoides subsp. mycoides (LC variant, Y-goat) from naturally aborted bovine fetuses. *Theriogenology*, 1989, **32**, 683-689.
- KASSAM A., ET AL. Clinical and endocrine responses to embryonic and fetal death induced by manual rupture of the amniotic vesicle during early pregnancy in cows. *J.A.V.M.A.*, 1987, **191**, 417-420.
- KASTELIC J.P., CURRAN S., GINTHER O.J. Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology*, 1989, **31**, 813-820.
- KASTELIC J.P., GINTHER O.J. Fate of conceptus and corpus luteum after induced embryonic loss in heifers. *J.A.V.M.A.*, 1989, **194**, 922-928.
- KASTELIC J.P., NORTHEY D.L., GINTHER O.J. Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers. *Theriogenology*, 1991, **35**, 351-363.
- KATSKA L., SMORAG Z. Number and quality of oocytes in relation to age in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 1984, **7**, 451-460.
- KAWARSKY S.J., BASRUR P.K., STUBBINGS R.B., HANSEN P.J., KING W.A. Chromosomal abnormalities in bovine embryos and their influence on development. *Biol. Reprod.*, 1996, **54**, 53-59.
- KIDDER H.E., BLACK W.G., WILTBANK J.N., ULBERG L.C., CASIDA L.E. Fertilization rates and embryonic death rates in cows bred to bulls of different levels of fertility. *J. Dairy Sci.*, 1954, **37**, 691-697.
- KING B.D., BERGEN R.D., MCKINNON J.J., COHEN R.D.H., KIRKWOOD R.N. The effect of zeranol implants on carcass traits and live ultrasound measurement of fat deposition in beef heifers. *Can. J. Anim. Sci.*, 1992, **72**, 965-968.
- KING B.D., BO G.A., KIRKWOOD R.N., GUENTHER C.L., COHEN R.D.H., MAPLETOFT R.J. The effect of zeranol implants on growth and pregnancy loss in beef heifers. *Can. J. Anim. Sci.*, 1994, **74**, 73-76.
- KING B.D., BO G.A., LULAI C., KIRKWOOD R.N., COHEN R.D.H., MAPLETOFT R.J. Effect of zeranol implants on age at onset of puberty, fertility and embryo fetal mortality in beef heifers. *Can. J. Anim. Sci.*, 1995, **75**, 225-230.
- KING G.J., ATKINSON B.A., ROBERTSON H.A. Development of the bovine placentome during the second month of gestation. *J. Reprod. Fert.*, 1979, **55**, 173-180.
- KING G.J., ATKINSON B.A., ROBERTSON H.A. Development of the bovine placentome from days 20 to 29 of gestation. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **59**, 95-100.
- KING W.A. Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 1990, **34**, 229-250.
- KING W.A. Intrinsic embryonic factors that may affect survival after transfer. *Theriogenology*, 1985, **23**, 161-174.
- KING W.A., SUPPLIZI A.V., DIOP H.E.P., BOUSQUET D. Chromosomal analysis of embryos produced by artificially inseminated superovulated cattle. *Genet. Sel. Evol.*, 1995, **27**, 189-194.
- KINGMANN H.E. The placentome of the cow. *Am. J. Vet. Res.*, 1948, **9**, 125-150.
- KIRKBRIDE C.A. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1992, **4**, 175.
- KIRKWOOD R.N., COHEN R.D.H., KING B.D., THACKER P.A. The influence of zeranol implantation on growth and pregnancy loss in beef heifers. *Can. J. Anim. Sci.*, 1991, **71**, 1253-1256.
- KO Y., YOUNG LEE C., OTT T.L., DAVIS M.A., SIMMEN R.C.M., BAZER F.W., SIMMEN F.A. Insulin-like growth factor in sheep uterine fluids, concentrations and relationship to ovine trophoblast protein-1 production during early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1991, **45**, 135-142.
- KOJIMA T., UDAGAWA K., ONISHI A., IWAHASHI H., KOMATSU Y. Effect of heat stress on development in vitro and in vivo and on synthesis of heat shock proteins in porcine embryos. *Molecular Reproduction and development*, 1996, **43**, 452-457.
- KOSUGIYAMA M., BRITT J.H., HAFS H.D. Abortion after PGF2a in heifers with multiple pregnancies following superovulation with FSH and PGF2a. *Theriogenology*, 1978, **9**, 523-534.
- KRUIP TH.A.M., DEN HAAS J.H.G. In vitro produced and cloned embryos, effect on pregnancy, parturition and offspring. *Theriogenology*, 1997, **47**, 43-52.
- LAING J.A. Infertility in cattle associated with death of ova at early stages after fertilisation. *J. Comp. Pathol. Ther.*, 1949, **59**, 97-108.
- LAMOTHE P., GUAY P. Electrolytes des sécrétions intra-utérines bovines lors d'infertilité sine materia. *Can. J. comp. Med.*, 1970, **34**, 167-176.
- LANGHAMMER H., SCHWERIN M. Die 1/20 translokation beim Fleischrind unde deren Auswirkungen auf Fruchtbarkeit. Arch. Tierzucht Berlin, 1985, 28, 511-518.
- LARSON B.L. Diagnosing the cause of bovine abortions and other perinatal deaths. *Vet. Med.*, 1996, **91**, 478-486.
- LEESE H.J. The formation and function of oviduct fluid. *J. Reprod. Fert.*, 1988, **82**, 843-856.
- LEIBFREID-RUTLEDGE M.L., CRITSER E.S., PARISH J.J., FIRST N.L. In vitro maturation and fertilization of bovine oocytes. *Theriogenology*, 1989, **31**, 61-74.
- LEISER R. Kontaktaufnahme zwischen trophoblast und utersepipel wahrend der fruhren implantation beim rind. *Anat. Histol. Embryol.*, 1975, **4**, 63-86.
- LEISER R., WILLE K.H. Alkaline phosphatase in the bovine endometrium and trophoblast during the early phase of implantation. *Anat. Embryol.*, 1975, **148**, 145-157.

- LEISMESTER J.L., BUFENING P.J., BLACKWELL R.L. Date of first calving in beef cows and subsequent calf production. *J. Anim. Sci.*, 1973, **36**, 1-6.
- LEMIRE G.E., STALHEIM S.P., LEMIRE M.R., TIEMANN M., VERDON L. Monitoring pregnancy losses in small dairy herds. *Can. V. et J.*, 1993, **34**, 33-35.
- LINARES T. Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination. *Anim. reprod. Sci.*, 1981, **4**, 189-198.
- LINARES T., KING W.A. Morphological study of the bovine blastocyst with phase contrast microscopy. *Theriogenology*, 1980, **14**, 123-133.
- LINARES T., LARSSON K., EDQVIST L.E. Plasma progesterone levels from oestrus through day 7 after A.I. in heifers carrying embryos with normal or deviating morphology. *Theriogenology*, 1982, **17**, 125-132.
- LINDELL J.-O., KINDAHL H., EDQVIST L.-E. Prostaglandin induced early abortions in the bovine. Clinical outcome and endogenous release of prostaglandin F2a and progesterone. *Anim. Reprod. Sci.* 1980/1981, **3**, 289-299.
- LINDNER G.M., WRIGHT R.W. Jr. Morphological evaluation of bovine embryos. *Theriogenology*, 1983, **20**, 407-416.
- LINDQUIST S. The heat-shock response. *Annu. Rev. Biochem.*, 1986, **55**, 1151-1191.
- LONERGAN P. Growth of preimplantation bovine embryos. *Acta Vet. Scand.*, 1994, **35**, 307-320.
- LONERGAN P., FAIR T., GORDON I. Effects of time of transfer to granulosa cell monolayer and cell stage at 48 hours post-insemination on bovine oocyte development following IVM/IVF/IVC. 8th Scientific meeting of the European Embryo Transfer Association, Lyon 11-12th September, 1992, 136.
- LOONEY C.R., LINDSEY B.R., GONSETH C.L., JOHNSON D.L. Commercial aspects of oocyte retrieval and in vitro fertilization (IVF) for embryo production in problem cows. *Theriogenology*, 1994, **41**, 67-72.
- LOPEZ RUIZ L., ALVAREZ N., NUNEZ I., MONTES I., SOLANO R., FUENTES D., PEDROSO R., PLAMA G.A., BREM G. Effect of body condition on the development competence of IVM/IVF bovine oocytes. *Theriogenology*, 1996, **45**, 292, (Abs).
- LOPEZ-GATIUS F., LABERNIA J., SANTOLARIA P., LOPEZ-BEJAR M., RUTLLANT J. Effect of reproductive disorders previous to conception on pregnancy attrition in dairy cows. *Theriogenology*, 1996, **46**, 643-648.
- LULAI C., KASTELIC J.P., CARRUTHERS T.D., MAPLETOFT R.J. Role of luteal regression in embryo death in cattle. *Theriogenology*, 1994, **41**, 1081-1089.
- MAC MILLAN, K.L., W.W. THATCHER. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.*, 1991, **45**, 883-887.
- MACHATKOVA B., JOKOSEVA E., PETILIKOVA J., DVORACEK V. Development competence of bovine embryos derived from oocytes collected at various stages of the estrous cycle. *Theriogenology*, 1995, **44**, 801-810.
- MADAN M.L., JOHNSON H.D. Environmental heat effects on bovine luteinizing hormone. *J. Dairy Sci.*, 1973, **56**, 575-580.
- MADILL S., RIEGER D., JOHNSON W.H., WALTON J.S., RAWLINGS N.C. Effects of an LHRH antagonist on the time of occurrence and amplitude of the preovulatory LH surge, progesterone and estradiol secretion and ovulation in superovulated holstein heifers. *Theriogenology*, 1994, **41**, 951-960.
- MALAYER J.R., HANSEN P.J., BUHI W.C. Secretion of proteins by cultured bovine oviducts collected from estrus through early diestrus. *J. Exp. Zool.*, 1988, **248**, 345-353.
- MANI A.U., WATSON E.D., MCKELVEY W.A.C. The effects of subnutrition before or after embryo transfer on pregnancy rates and embryo survival in does. *Theriogenology*, 1994, **41**, 1673-1678.
- MARES S.E., MENGE A.C., TYLER W.J., CASIDA L.E. Genetic factors affecting conception rate and early pregnancy loss in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.*, 1961, **44**, 96-103.
- MARTAL J., LACROIX M.C., LOUDES C., SAUNIER M., WINTENBERGER-TORRES. Trophoblastin, an antiluteolytic protein present in early pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 1979, **56**, 63-73.
- MASSIP A., MULNARD J. Time-lapse cinematographic analysis of hatching of normal and frozen-thawed cow blastocyst. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **58**, 475-478.
- MASSIP A., ZWIJSEN W., MULNARD J. Cinematographic analysis of the cleavage of the cow egg from 2-cell to 16-cell stage. *Arch. Biol.* 1983, **94**, 99-106.
- MAURER R.R., CHENAULT J.R. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 1983, **56**, 1186-1189.
- MAURER R.R., ECHTERNKAMP S.E. Hormonal asynchrony and embryonic development. *Theriogenology*, 1982, **17**, 11-22.
- MAURER R.R., VOGT D.W. Decreased fertility in related females heterozygous for the 1/29 chromosome translocation. *Theriogenology*, 1988, **30**, 1149-1157.
- MC CAFFREY C., LU K.H., FREEMAN J.M. Development of in vivo and in vitro fertilized (IVF) cattle ova during in vitro culture. *12th Int. Congr. Anim. Reprod.*, 1992, **1**, 366-368.
- MC KELVEY W.A.C., ROBINSON J.J., AITKEN R.P. The use of reciprocal embryo transfer to separate the effects of pre- and post-mating nutrition on embryo survival and growth of the ovine conceptus. *Proc. 11th Int. Congr. Anim. Reprod. artif. Insem.*, Dublin, 1988, 176.
- MC VICAR J.W., SINGH E.L., MEBUS C.A., HARE W.C.D. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. XIII Failure to detect foot and mouth disease viral infectivity associated with embryos collected from infected donor cattle. *Theriogenology*, 1986, **26**, 595-601.
- MEBUS C.A., SINGH E.L. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. XIII. Failure to transmit foot-and-mouth disease virus through the transfer of embryos from viraemic donors. *Theriogenology*, 1991, **35**, 435-441.
- MENCK M.C., MERCIER Y., LOBO R.B., HEYMAN Y., RENARD J.P., THOMPSON E. In vivo luminescent selection of putative transgenic bovine blastocysts. *Theriogenology*, 1997, **47**, 227.
- MILLAR P.G. Methods for early termination of pregnancy in the cow. *Vet. Rec.*, 1974, **94**, 626.
- MILLER D., HRUDKA M., CATES W.F., MAPLETOFT. Infertility in a bull with a nuclear sperm defect, A case report. *Theriogenology*, 1982, **17**, 611-621.
- MILLER J.M., VAN DER MAATEN M.J. Early embryonic death in heifers after inoculation with bovine herpesvirus-1 and reactivation of latent virus in reproductive tissues. *Am. J. Vet. Res.*, 1987, **48**, 1555-1558.
- MILLER J.M., VAN DER MAATEN M.J. Effect of primary and recurrent infectious bovine rhinotracheitis virus infection on the bovine ovary. *Americ. J. Vet. Res.*, 1985, **46**, 1434-1437.
- MILLER J.M., VAN DER MAATEN M.J. Experimentally induced infectious bovine rhinotracheitis virus infection during early pregnancy, effect on the bovine corpus luteum and conceptus. *Am. J. Vet. Res.*, 1986, **47**, 223-228.
- MILLER J.M., VAN DER MAATEN M.J. Reproductive tract lesions in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1984, **45**, 790-794.
- MITCHELL D. Bovine abortion. An analysis of 227 cases. *Can. Vet. J.*, 1960, **1**, 337-343.
- MOHAMMED H.O., WHITE M.E., LAFAYANCE N. Multivariate analysis of factors associated with calving interval and calving rate in dairy cows. *Theriogenology*, 1991, **35**, 443-449.
- MONTY D.E., RACOWSKY C. In vitro evaluation of early embryo viability and development in summer heat-stressed superovulated cows. *Theriogenology*, 1987, **28**, 451-465.
- MOOR R.M., ALLEN W.R., HAMILTON D.W. Origin and histogenesis of equine endometrial cups. *J. Reprod. Fert.*, 1975, Suppl. 23, 391-396.

- MOOR R.M., KRUIP TH.A.M., GREEN D. Intraovarian control of folliculogenesis, limits to superovulation. *Theriogenology*, 1984, **21**, 103-116.
- NORTON J.H., CAMPBELL R.S.F. Non-infectious causes of bovine abortion. *Veterinary Bulletin*, 1990, **60**, 1137-1147.
- O'FALLON J.V., WRIGHT R.W.Jr. Quantitative determination of the pentose phosphate pathway in preimplantation mouse embryos. *Biol. Reprod.*, 1986, **34**, 58-64.
- O'SHEA J.D., CRAN D.G., HAY M.F. Fate of the theca interna following ovulation in the ewe. *Cell. Tissue res.*, 1980, **210**, 305-319.
- O'FARRELL K.J., LANGLEY O.H., HARTIGAN P.J., SERRANT J.M. Fertilization and embryonic survival rates in dairy cows culled as repeat-breeders. *Vet. Rec.*, 1983, **112**, 95-97.
- OLSON J.D., BALL L., MORTIMER R.G., FARIN P.W., ADNEY W.S., HUFFMAN E.M. Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. *Am. J. Vet. Res.*, 1984, **45**, 2251-2255.
- OMTVEDT I.T., NELSON R.E., EDWARDS R.L. Influence of heat stress during early, mid and late pregnancy of gilts. *J. Anim. Sci.*, 1967, **32**, 312.
- O'NEILL C., COLLIER M., RYAN J.P., SPINKS N.R. Embryo derived platelet activating factor. *J. Reprod. Fert.*, 1989, Suppl. **37**, 19-27.
- OTOI T., TACHIKAWA S., KONDO S., SUSUKI T. Effect of antibiotic treatment of in vitro fertilised embryos to remove adhering bacteria. *J. Vet. Med. Sci.*, 1992, **54**, 763-765.
- PAISLEY L.G., LARRY G., DUANE MICKELSEN W., FROST O.L. A survey of the incidence of prenatal mortality in cattle following pregnancy diagnosis by rectal palpation. *Theriogenology*, 1978, **9**, 481-489.
- PALASZ A.T., ALKEMADE S., MAPLETOFT R.J. Sodium Hyaluronate as a substitute for biological proteins in bovine and mouse embryo freezing. *Cryobiology*, 1993, **30**, 172-178.
- PALASZ A.T., TORNESI M.B., ARCHER J., MAPLETOFT R.J. Media alternatives for the collection, culture and freezing of mouse and cattle embryos. *Theriogenology*, 1995, **44**, 705-714.
- PAPAIONNAOU V.E., EBERT K.M. The preimplantation pig embryo, cell number and allocation to trophectoderm and inner cell mass of the blastocyst in vivo and in vitro. *Development*, 1988, **102**, 793-803.
- PARMIGIANI E., BALL L., LEFEVER D., RUPP G., SEIDEL G.JR. Elective termination of pregnancy in cattle by manual abortion. *Theriogenology*, 1978, **10**, 283-290.
- PARR R.A. Nutrition progesterone interaction during early pregnancy in sheep. *Reprod. Fert. Dev.*, 1992, **4**, 297-300.
- PENNINGTON J.A., SPAHR S.L., LODGE J.R. Pregnancy diagnosis in dairy cattle by progesterone concentration in milk. *J. Dairy Sci.*, 1976, **59**, 1528-1531.
- PICARD I., GREVE T., KING W.A., BETTERIDGE K.J., HOLMJORGENSEN P. Bisection of post-compaction bovine embryos, the difference in viability between the two monozygotic halves. *Acta. Vet. Scand.*, 1986, **27**, 33-48.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. Ultrasonography for the detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology*, 1984b, **22**, 225-233.
- PIETERSE M.C., SZENIC O., WILLEMSE A.H., BAJCSY S.A., DIELEMAN S.J., TAVERNE M.A.M. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology*, 1990, **33**, 697-708.
- POLLARD J.W., LEIBO S.P. Chilling sensitivity of mammalian embryos. *Theriogenology*, 1994, **41**, 101-106.
- POPE G.S., MAJZLIK I., BALL P.J.H., LEAVER J.D. Use of milk progesterone concentrations in plasma and milk in the diagnosis of pregnancy in domestic cattle. *Br. Vet. J.*, 1976, **132**, 497-506.
- PURCELL V.G., WALL R.I., REXROAD C.E., HAMMER R.E., BRINSTER R.L. A rapid whole mount staining procedure for nuclei of mammalian embryos. *Theriogenology*, 1985, **24**, 687-700.
- PUTNEY D.J., THATCHER W.W., DROST M., WRIGHT J.M., DE LORENZO M.A. Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States. *Theriogenology*, 1988a, **30**, 905-922.
- PUTNEY D.J., DROST M., THATCHER W.W. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 postinsemination. *Theriogenology*, 1988b, **30**, 195-209.
- PUTNEY D.J., GROSS T.S., THATCHER W.W. Prostaglandin secretion by endometrium of pregnant and cyclic cattle at day 17 after oestrus in response to in vitro heat stress, *J. Reprod. Fert.*, 1988c, **84**, 475-483.
- PUTNEY D.J., MALAYER J.R., GROSS T.S., THATCHER W.W., HANSEN P.J., DROST M. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. *Biol. Reprod.*, 1988d, **39**, 717-728.
- PUTNEY D.J., MULLINS S., THATCHER W.W., DROST M., GROSS T.S. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperature between the onset of estrus and insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, 1989, **19**, 37-51.
- RASBY R.J., WETTEMAN R.P., GEISERT R.D., RICE L.E., WALLACE C.R. Nutrition, body condition and reproduction in beef cows: fetal and placental development, and estrogens and progesterone in plasma. *J. Anim. Sci.*, 1990, **68**, 4267-4276.
- REICHENBACH H.D., LIEBRICH J., BERG U., BREM G. Pregnancy rates and births after unilateral or bilateral transfer of bovine embryos produced in vitro. *J. Reprod. Fert.*, 1992a, **95**, 363-370.
- REICHENBACH H.D., LIEBRICH J., BERG U., BREM G. Pregnancy results following transfer of frozen-thawed in vitro produced bovine embryos to recipients. *Reprod. Dom. Animals*, 1992b, **27**, 58-59.
- REIMERS T.J., DZIUK P.J., BAHR J., SPRECHER D.J., WEBEL S.K., HARMON D.G. Transuterine embryonal migration in sheep, anteroposterior orientation of pig and sheep fetuses and presentation of piglets at birth. *J. Anim. Sci.*, 1973, **37**, 1212-1217.
- RENARD J.P., HEYMAN Y., DU MESNIL DU BUISSON F. Unilateral and bilateral cervical transfer of bovine embryos at the blastocyst stage. *Theriogenology*, 1977, **7**, 189-194.
- RENARD J.P., MENEZO Y., SAUMANDE F., HEYMAN Y. Attempts to predict the viability of cattle embryos produced by superovulation. In, Control of reproduction in the cow. Ed. JM Serrant, Martinus Nijhoff. The Hague, 1978, 398-417.
- REVEL F., MERMILLOD P., PEYNOT N., RENARD J.P., HEYMAN Y. Low development capacity of in vitro matured and fertilized oocytes from calves compared with that of cows. *J. Reprod. Fert.*, 1995, **103**, 115-120.
- REYNOLDS L.P., FERRELL C.L., NEINABER J.A. Effects of chronic environmental heat stress on blood flow and nutrient uptake of the gravid bovine uterus and fetus. *J. Agric. Sci. Cambridge*, 1985, **104**, 289-297.
- RIDDELL K.P., STRINGFELLOW D.A., GRAY B.W., RIDELL M.G., WRIGHT J.C., GALIK P.K. Structural and viral association comparisons of bovine zona pellucida from follicular oocytes day-7 embryos and day-7 degenerated ova. *Theriogenology*, 1993, **40**, 1281-1291.
- RIEGER D. Relationships between energy metabolism and development of early mammalian embryos. *Theriogenology*, 1992, **37**, 75-93.
- ROBERTS R.M., CROSS J.C., LEAMAN D.W. Interferons as hormones of pregnancy. *Endocr. Rev.*, 1992, **13**, 432-452.
- ROBERTS S.J. Veterinary Obstetrics and Genital Disease, ed 2. Ann Arbor, Mich, Distributed by Edwards Brothers, Inc., 1971, **127**, 14-22, 36-37.
- ROBERTS S.J. Veterinary Obstetrics and genital disease. *Theriogenology*. 3rd ed. publ. S.J. Roberts, Woodstock, V.T. 1986.
- ROCHE J.F., BOLAND M.P., MCGEADY T.A. Reproductive wastage following artificial insemination of heifers. *Vet. Rec.*, 1981, **109**, 401-404.

- ROHDE R.F., SHULAW W.P., HUESTON W.D., BECH-NIELSEN S., HAIBEL G.K., HOFFSIS G.F. Isolation of Mycobacterium paratuberculosis from washed bovine ova after in vitro exposure. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, **51**, 708-710.
- ROSENBERG M., HERZ Z., DAVIDSON M., FOLMAN Y. Seasonal variations in postpartum progesterone level and conception in primiparous and multiparous dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 1977, **51**, 363-367.
- ROSSI C.R., BRIDGMAN B.S., KIESEL G.K. Viral contamination of bovine fetal lung cultures and bovine fetal serum. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, **41**, 1680-1681.
- ROWSON L.E.A., DOTT H.M. A hazard of pregnancy diagnosis in cattle, early foetal size. *Vet. Rec.*, **75**, 865-866.
- ROWSON L.E.A., LAWSON R.A.S., MOOR R.M. Production of twins in cattle by egg transfer. *J. Reprod. Fert.*, 1971, **25**, 261-268.
- RYAN D.P., PRICHARD J.F., 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.
- SAACKE R.G., DE JARNETTE M.L., NEBEL R.L., NADIR S. Assessing bull fertility. Proc. Soc. Theriogenology, San Diego, 1991, 56-69.
- SAACKE R.G., NADIR S., NEBEL R.L. Relationship of Semen Quality to Sperm Transport, Fertilization, and Embryo Quality in Ruminants. *Theriogenology*, 1994, **41**, 45-50.
- SCANLON P.F. Frequency of transuterine migration of embryos in ewes and cows. *J. Anim. Sci.*, 1972, **34**, 791-794.
- SCHMITT R.A.M., GEISERT R.D., ZAVY M.T., SHORT E.V., BLAIR R.M. Uterine cellular changes in 2', 5'-oligoadenylate synthetase during the bovine estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1993, **48**, 460-466.
- SCHMUTZ S.M., MOKER J.S., BARTH A.D., MAPLETOFT M.J. Embryonic Loss in Superovulated Cattle Caused by the 1-29 Robertsonian Translocation. *Theriogenology*, 1991, **35**, 705-714.
- SEIDEL G.E. JR., ELSDEN R.P., BRINK Z. Cryopreservation of bovine embryos in media with chemically defined macromolecules. *Theriogenology*, 1990, **33**, 322 abstr.
- SEMAMBO D.K.N., AYLIFFE T.R., BOYD J.S., TAYLOR D.J. Early abortion in cattle induced by experimental intrauterine infection with pure cultures of *Actinomyces pyogenes*. *Vet. Rec.*, 1991, **129**, 12-16.
- SEMAMBO D.K.N., ECKERSALL P.D., SASSER R.G., AYLIFFE T.R. Pregnancy specific protein b and progesterone in monitoring viability of the embryo in early pregnancy in the cow after experimental infection with *Actinomyces Pyogenes*. *Theriogenology*, 1992, **37**, 741-748.
- SETCHELL B.P., D'OCCHIO M.J., HALL M.S., LOURIE M.S., TUCKER M.J., ZUPP J.L. Is embryonic mortality increased in normal female rats mated to subfertile males? *J. Reprod. Fert.*, 1988, **83**, 567-574.
- SHEA B.F. Evaluating the bovine embryo. *Theriogenology*, 1981, **15**, 13-42.
- SHELTON M. Relation of environmental temperature during gestation to birth weight and mortality of lambs. *J. Anim. Sci.*, 1964, **23**, 360-364.
- SHEMESH M., SHALEV E., NERYA A., SCHINDLER H., MILGUIR F. Milk progesterone measurement in dairy cows: correlation with estrus and pregnancy determination. *Theriogenology*, 1978, **9**, 343-352.
- SHI K.S., LU K.H., GORDON I. Effect of bulls on fertilization of bovine oocytes and their subsequent development in vitro. *Theriogenology*, 1990, **33**, 324.
- SINGH E.L. The potential of semen and embryos for introducing pathogens into the uterus. IN, 11th Intern. Cong. Anim. Reprod. A.I., Dublin 1988, 72-79.
- SINGH E.L., MCVICAR J.W., HARE W.C.D., MEBUS C.A. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VII. The in vitro exposure of bovine and porcine embryos to foot-and-mouth disease virus. *Theriogenology*, 1986, **26**, 587-593.
- SINGH E.L., THOMAS F.C., PAPP-VID M.D., EAGLESOME M.D. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. II The in vitro exposure of preimplantation bovine embryos to infectious bovine rhinotracheitis virus? *Theriogenology*, 1982, **18**, 133-140.
- SIRARD M.A., LAMBERT R.D. In vitro fertilization of bovine follicular oocytes obtained by laparoscopy. *Biol. Reprod.*, 1985, **33**, 487-494.
- SREENAN J.M., DISKIN M.G. Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 1989, **87**, 657-664.
- STOTT G.G., WILLIAMS R.J. Causes of low breeding efficiency in dairy cattle associated with seasonal high temperatures. *J. Dairy Sci.*, 1962, **45**, 1369-1375.
- STRINGFELLOW D.A., HOWELL V.L., SCHURRENBERGER P.R. Investigations into the potential for embryo transfer from *Brucella abortus* infected cows without transmission of infection. *Theriogenology*, 1982, **18**, 733-743.
- STRINGFELLOW D.A., LAUERMAN L.H., NASTI K.B., GALIK P.K. Trypsin treatment of bovine ova after in vitro exposure to IBR virus or bovine herpesvirus-4. *Theriogenology*, 1990, **34**, 427-434.
- STRINGFELLOW D.A., LAUERMAN L.H., THOMSON M.S. Trypsin treatment of bovine ova after in vivo exposure to vesicular stomatitis virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1989, **50**, 990-992.
- STRINGFELLOW D.A., PANANGALA V.S., GALIK P.A., Recovery and culture of ova from *Brucella abortus* infected cows. *Theriogenology*, 1988, **29**, 1105-1112.
- STRINGFELLOW D.A., WRATHALL A.E. Epidemiologic implications of the production and transfer of IVF embryos. *Theriogenology*, 1995, **43**, 89-96.
- TAKADA N., OHISA N., NUMABE T., ISHIKAWA Y. Production of twin calves by transfer of embryos produced in vitro. *Vet. Rec.*, 1991, **128**, 307.
- TALBERT G.B., KROHN P.L. Effect of maternal age on viability of ova and uterine support of pregnancy in mice. *J. Reprod. Fert.*, 1966, **11**, 399-406.
- TANABE T.Y., ALMQUIST J.O. Some causes of infertility in dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, 1953, **36**, 586 (Abs).
- TANABE T.Y., CASIDA L.E. The nature of reproductive failures in cows of low fertility. *J. Dairy Sci.*, 1949, **32**, 237.
- TANABE T.Y., HAWK H.W., HASLER J.F. Comparative fertility of normal and repeat-breeding cows as embryo recipients. *Theriogenology*, 1985, **23**, 687-698.
- TAVERNE M.A.M., SZENCI O., SZETAG J., PIORS A. Pregnancy diagnosis in cows with linear-array real time ultrasound scanning, a preliminary note. *The Veterinary Quarterly*, 1985, **7**, 264-270.
- TELFORD N.A., WATSON A.J., SCHULTZ G.A. Transition from maternal to embryonic control in early mammalian development: a comparison of several species. *Mol. Reprod. Dev.*, 1990, **26**, 90-100.
- TERVIT H.R., HAVIK P.G., SMITH J.F. Egg transfer in cattle, pregnancy rate following transfer to the uterine horn ipsilateral or contralateral to the functional corpus luteum. *Theriogenology*, 1977, **7**, 3-10.
- THATCHER W.W., HANSEN P.J., GROSS T.S., HELMER S.D., PLANTE C., BAZER F.W. Antiluteolytic effects of bovine trophoblast protein-1. *J. Reprod. Fert.* (Suppl.), 1989, **37**, 91-99.
- THATCHER W.W. Effects of season, climate and temperature on reproduction and lactation. *J. Dairy Sci.*, 1974, **57**, 360-368.
- THIBAUT C. La culture in vitro de l'œuf de vache. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 1966, **6**, 159-164.
- THIBIER M., NIBART M. Disease control and embryo importations. *Theriogenology*, 1987, **27**, 37-47.
- THOMAS F.C., SINGH E.L., HARE W.C.D. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. III. Non-transmission of bluetongue virus from viraemic cattle. *Theriogenology*, 1983, **19**, 425-431.
- THOMAS P.G.A., LESLIE M.V., HANSEN P.J. Retinol-binding protein is produced by the ovine endometrium and accumulates in

- uterine secretions in a progesterone-dependent manner. *Anim. reprod. Sci.*, 1992, **27**, 55-66.
- THOMPSON J.A., MARSH W.E., CALVIN J.A., ETHERINGTON W.G., MOMONT H.W., KINSEL M.L. Pregnancy attrition associated with pregnancy testing by rectal palpation. *J. Dairy Sci.*, 1994, **77**, 3382-3387.
- THOMPSON M.S., STRINGFELLOW D.A., LAUERMAN L.H. Adherence of *Haemophilus somnus* to bovine embryos after in vitro exposure. *Am. J. Vet. Res.*, 1988, **49**, 63-66.
- THONON F., ECTORS F.J., DELVAL A., FONTES R.S., TOUATI K., BECKERS J.F. In vitro maturation, fertilization and development rates of bovine oocytes connected with reproductive status of the donor. *Theriogenology*, 1993, **39**, 330 (abs).
- THURMOND M.C., PICANSO J.P. Consideration of culling bias in assessing the relationship between fetal survival and maternal age in dairy cows. *Prev. Vet. med.*, 1993a, **16**, 31-38.
- THURMOND M.C., PICANSO J.P. Fetal loss associated with palpation per rectum to diagnose pregnancy in cows. *J.A.V.M.A.*, 1993b, **203**, 432-435
- THURMOND M.C., PICANSO J.P., JAMESON C.M. Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal loss in dairy cows. *J.A.V.M.A.*, 1990, **197**, 1305-1312
- TROUT W.E., MCDONNELL J.J., KRAMER K.K., BAUMBACH G.A., ROBERTS R.M. The retinol binding protein of the expanding pig blastocyst, molecular cloning and expression in trophectoderm and embryonic disk. *Mol. Endocrinol.*, 1991, **5**, 1533-1540.
- VAHDAT F., BEY R.F., WILLIAMSON N.B., WHITMORE H.L., ZEMJANIS R., ROBINSON R.A. Effects of intrauterine challenge with *Leptospira interrogans* serovar hardjo on fertility in cattle. *Theriogenology*, 1983, **20**, 549-557.
- VAILLANCOURT D., BIERSCHWAL C.J., OGWU D. Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. *J.A.V.M.A.*, 1979, **175**, 466-468.
- VALDIMARSSON G., KIDDER GM ... Temporal control of gap junction assembly in preimplantation mouse embryos. *J. Cell. Sci.*, 1995, **108**, 1715-1722
- VALLET A., CARTEAU M, SALMON A, CHATELIN Y. Epidémiologie des endométrites des vaches laitières. *Rec. Méd. Vet.*, 1987, **163**, 189-194.
- VAN SOOM A., VAN VLAENDEREN I., MAMOUDZADEH A.R., YSEBAERT M.T., DELUYKER H., DE KRUIF A. Compaction rate of in vitro fertilized bovine embryos related to the interval from insemination to first cleavage. *Theriogenology*, 1992, **38**, 905-919.
- VILLA-GODOY HUGHES A., HUGHES T.L., EMERY R.S., CHAPIN L.T., FOGWELL R.L. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1988, **71**, 1063-1072.
- VINCENT C.K. Effects of season and high environmental temperature on fertility in cattle. A review. *J.A.V.M.A.*, 1972, **161**, 1333-1338.
- VOELKEL S.A., STUCKEY K.W., LOONEY C.R., ENRIGHT F.M., HUMES P.E., GODKE R.A. An attempt to isolate *Brucella abortus* from uterine flushings of brucellosis-reactor donor cattle. *Theriogenology*, 1983, **19**, 355-366.
- WALKER S.K., HARTWICH K.M., SEAMARK R.F. The production of unusually large offspring following embryo manipulation. concepts and challenges. *Theriogenology*, 1996, **45**, 111-120.
- WALKER S.K., HEARD J.M., SEAMARK R.F. In vitro culture of sheep embryos without coculture, successes and perspectives. *Theriogenology*, 1992, **37**, 111-126.
- WARNICK L.D., MOHAMMED H.O., WHITE M.E., ERB H.N. The relationship of the interval from breeding to uterine palpation for pregnancy diagnosis with calving outcomes in Holstein cows. *Theriogenology*, 1995, **44**, 811-825.
- WENTINCK G.H., AARTS T., MIRCK M.H., VAN EXESEL A.C.A. Calf from a persistently infected heifer born after embryo transfer with normal immunity to BVD. *Vet. Rec.*, 1991, **129**, 449-450.
- WETTEMANN R.P., BAZER F.W., THATCHER W.W., HOAGLAND T.A. Environmental influences on embryonic mortality. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. and Artif. Insem., 1984, IV Vol. XIII, 26-32.
- WHITE D.H., RIZZOLI D.J., CUMMING I.A. Embryo survival in relation to number and site of ovulations in the ewe. *Austr. J. Exp. Agri. Anim. Husb.*, 1981, **21**, 32-38.
- WHITE M.E., LAFAUNCE N., MOHAMMED H.O. Calving outcomes for cows diagnosed pregnant or nonpregnant by per rectum examination at various intervals after insemination. *Can. Vet. J.*, 1989, **30**, 867-870.
- WHITMORE H.L. Effects of leptospirosis on pregnancy rates in cattle. Proc. 92th Sci. Semin. Calif. Vet. Med. Assoc., 1985, 344.
- WIDDERS P.R., PAISLEY L.G., GOGOLEWSKI R.P., EVERMANN J.F., SMITH J.W., CORBELL L.B. Experimental abortion and the systemic immune response to *Haemophilus somnus* in cattle. *Infect. Immun.*, 1986, **54**, 555-560.
- WIEBOLD J.L. Embryonic mortality and the uterine environment in first-sevice lactating dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 1988, **84**, 393-399.
- WIJERATNE W.V.S. A population study of apparent embryonic mortality in cattle, with special reference to genetic factors. *Anim. Prod.*, 1973, **16**, 251-259.
- WILLEMSE A.H., TAVERNE M.A.M. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of transrectal real-time ultrasound scanning of the uterus. In: Taverne MM, Willemse AH, eds. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. Kluwer Academic Publisher., 1989, 67-72.
- WILLIAMS A.H., CUMMING I.A. Inverse relationship between concentrations of progesterone and nutrition in ewes. *J. Agric. Sci.*, 1982, **98**, 517-522.
- WILLINGHAM T., SHELTON M., THOMPSON P. An assessment of reproductive wastage in sheep. *Theriogenology*, 1986, **26**, 179-188.
- WILTBANK J.N., HAWK H.W., KIDDER H.E. ET AL. Effect of progesterone therapy on embryo survival in cows of lowered fertility. *J. Dairy Sci.*, 1956, **3**, 456-461.
- WILTBANK J.N., ROWDEN W.W., INGALLS J.E., GREGORY K.E., KOCH R.M. Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. *J. Anim. Sci.*, 1962, **21**, 219-225.
- WINTERS L.M., GREEN W.W., COMSTOCK R. Prenatal development of the bovine. *Tech. Bull. Minn. Agr. Exp. Stn.*, 1942, 151.
- WISNICKY W., CASIDA L.E. A manual method for the diagnosis of pregnancy in cattle. *J.A.V.M.A.*, 1948, **113**, 451-452.
- WITHERS F.W. Wastage and disease incidence in dairy herds. *Vet. Rec.*, 1957, **69**, 446-453.
- WRIGHT R.W., ELLINGTON J. Morphological and physiological differences between in vivo and in vitro produced preimplantation embryos from livestock species. *Theriogenology*, 1995, **44**, 1167-1189.
- WU M.C., CHEN Z.Y., JARRELL V.L., DZIUK P.K. Effect of initial length of uterus per embryo on fetal survival and development in the pig. *J. Anim. Sci.*, 1989, **67**, 1767-1792.
- WU M.C., HENTZEL M.D., DZIUK P.J. Relationships between uterine length and number of fetuses and prenatal mortality in pigs. *J. Anim. Sci.*, 1987, **65**, 767-770.
- XU K.P., GREVE T. CALLESEN H., HYTTTEL P. Pregnancy resulting from cattle oocytes matured and fertilized in vitro. *J. Reprod. Fert.*, 1987, **81**, 501-504.
- XU K.P., YADAV B.R., KING W.A., BETTERIDGE K.J. Sex-related differences in developmental rates of bovine embryos produced and cultured in vitro. *Molecular Reproduction and Development*, 1992, **31**, 249-252.
- YADAV B.R., KING W.A., BETTERIDGE K.J. Relationships between the completion of first cleavage and the chromosomal complement, sex, and the developmental rates of bovine embryos generated in vitro. *Mol. repro. Dev.*, 1993, **36**, 434-439.
- YANG X., JIANG S., FARRELL P., FOOTE R.H., MCGRATH A. Nuclear transfer in cattle, effect of nuclear donor cells, cytoplasmic age, co-culture and embryo transfer. *Mol. Reprod. Dev.*, 1993, **35**, 29-36.
- ZACKOWSKY J.L., MARTIN DELEON P.A. Second meiotic nondisjunction is not increased in post-ovulatory aged murine

- oocytes fertilized in vitro. *In vitro Cell. Dev. Biol.*, 1988, **24**, 133-137.
- ZAVY M.T., GEISERT R.D. Embryonic mortality in domestic species. CRC Press, 1994.
- ZEMJANIS R. Diagnostic and therapeutic. Techniques in animal reproduction. Williams and Wilkins, Baltimore, 1970, 47-78.
- ZHANG L., BARRY D.M., DENNISTON R.S., BUNCH T.D., GODKE R.A. Birth of live calves after transfer of frozen-thawed bovine embryos fertilised in vitro. *Vet. Rec.*, 1993, **132**, 247-249.
- ZIOMEK C.A., JOHNSON M.H. Properties of polar and apolar cells from the 16 cell mouse morula. *Roux's Arch. Devlm. Biol.*, 1981, **190**, 287-296.
- ZIRKLE S.M., LIN Y.C., GWAZDAUSKAS F.C., CANSECO R.S. Effect of gossypol on bovine embryo development during the preimplantation period. *Theriogenology*, 1988, **30**, 575-582.