

ANÖSTRUS DÖNEMİNDEKİ KÖPEKLERDE ÖSTRUS VE OVULASYONUN UYARILMASI ÜZERİNE ÇALIŞMALAR*

Aytekin GÜNAY**

M. Kemal SOYLU***

ÖZET

Çalışmada aynı bakım ve besleme koşullarında bulundurulmuş 35 adet Alman Çoban Köpeği ve 10 adet sokak köpeği materyal olarak kullanıldı. Anöstrus döneminde olduğu belirlenen köpeklerde aşağıdaki yöntemler uygulandı:

Gebe Kısrak Serum Gonadotropini (PMSG) ve İnsan Koriyonik Gonadotropini (HCG) Uygulamaları (I.Grup); Dietilstilbestrol (DES), HCG ve PMSG Uygulamaları (II.Grup); Pulzatil GnRH Uygulamaları (III.Grup); Cabergolin Uygulamaları (IV.Grup) Kontrol Grubu (V.Grup).

Tüm uygulama gruplarındaki köpeklerin gün aşırı vaginal sitolojik muayeneleri yapılarak, östrus gösteren köpekler erkek damızlık köpeklerle çiftleştirildiler.

Sonuç olarak I. Yöntemde % 100 östrus ve % 40 gebelik, II.Yöntemde % 70 östrus ve % 30 gebelik, III.Yöntemde % 10 östrus oranı elde edilirken gebelik elde edilemedi. IV.Yöntemde ise % 90 östrus ve % 80 gebelik elde edildi. Sonuçlar istatistik açıdan değerlendirilerek literatür verileri ile karşılaştırıldı.

Anahtar Kelimeler: Dişi Köpek, Anöstrus, Östrus, Ovulasyon, Uyarılma.

* Aynı isimli Doktora tezinden özetlenmiştir.

** Araş. Gör. Dr.; U. Ü. Vet. Fak. Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

*** Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

SUMMARY

Studies On The Induction Of Oestrus And Ovulation In Bitches In Anoestrus Period

In this study, 35 German Shepherd Dogs and 10 stray bitches of the same managemant conditions were used as material. All bitches were physically examined to determine that they were in anoestrus at the beginning of the study. Then following methods were carried out:

Pregnant Mare Serum Gonadotrophin (PMSG) and Human Chorionic Gonadotrophin (HCG) Application (1st.Method); Diethylstilbestrol (DES), HCG and PMSG Application (2nd.Method); Pulsatile Gonadatrophine Releasing Hormone (GnRH) Aplication (3rd.Method); Cabergoline Applications (4th.Method); Control Group (5th.Method:).

Vaginal cytological;examinations of all bitches were made every other day and bitches which showed oestrus were mated with the sires.

As a result 100 % oestrus and 40 % pregnancy in the 1st method; 70% oestrus and 30 % pregnancy in the 2nd method; 10 % oestrus and no pregnancy in the 3th method were found. In the 4th method 90 % oestrus and 80 % pregnancy were found the results were evaluated statistically and were compared with the results at the literatures.

Key Words: Bitches, Anoestrus, Oestrus, Ovulation, Induction.

GİRİŞ

Köpeklerde üreme aktivitesi, diğer memelilerdeki ve primatlardaki seksüel şemadan farklılıklar gösterir. Östrus ve ovulasyon, sığır, at, koyun, keçi ve domuzda kolay uyarılabilmesine karşın, köpekte bu kadar kolay ve pratik olmamaktadır. İnsanlarda hobi olarak başlayan safkan ve özel ırk köpek yetiştirme merakı ve bu olayın ekonomik kaynak yaratması köpek populasyonunda artışa neden olmakta, bu da bu hayvan türü için reproduktif fizyoloji konusundaki bilgilerin daha ayrıntılı bilinmesi gereksinimini doğurmaktadır. Köpeklerde östrus ve ovulasyonun uyarılması amacı ile aşağıdaki yöntemler kullanılmaktadır:

I. Eksojen Gonadotropin Uygulamaları

Bütün memelilerde ovulasyon aşamasında dikkat edilmesi gereken nokta, ovaryumlarda folliküllerin gelişmesi, olgunlaşması sonra da, ovulasyon ve Korpus Luteumun (CL) şekillenmesidir. Endojen FSH ve LH aktiviteleri bu hormonların uygulanması ile taklit edilebildiği gibi, PMSG, HCG ve GnRH bu amaçla kullanılmaktadır¹.

Gonadotropinler çok sayıda araştırıcı tarafından farklı doz ve sürelerde kullanılmıřtır²⁻¹². Anöstrus dönemindeki köpeklerde PMSG uygulamaları ile östrus ve ovulasyonu uyarmak için yapılan çalışmalarda^{2,4,8,11} toplam 500 IU PMSG'nin proöstrus kanaması başlayıncaya kadar veya 9-10 gün süreyle uygulandığı, son uygulamadan sonra ovulasyonun uyarılması amacı ile 500 IU HCG enjekte edildiği belirtilmiştir. Son östruslarından 3-5 ay geçmiş anöstrustaki köpeklerde 20 IU/kg dozda on günlük PMSG uygulamalarında^{8,12,13} östrus ve ovulasyonun sırası ile % 56, % 50, % 80 saptandığı, ilk çalışmada gebelik elde edilmediği, diğer iki çalışmada ise % 86, % 17 oranında gebelik elde edildiği bildirilmiştir. PMSG'nin 20 IU/kg dozda 5 günlük süreyle uygulanmasının daha başarılı ve yan etkilerinin daha az olduğu ifade edilmektedir^{6,13-15}.

2. Östrojen ve Gonadotropin Uygulamaları

Folikülogenezisin başlamasında östrojenin büyük rolü vardır. Östradiol FSH ile granuloza hücrelerindeki LH reseptörlerini uyarmakta, LH'nın bazal yoğunluğunun artması sonucunda folliküler gelişim ve östradiol üretimi gerçekteşmektedir^{16,17}.

Son östruslarının üzerinden dört ay geçmiş olan köpeklere proöstrus kanaması oluşuncaya kadar verilen DES'in ardından uygulanan hipofiz gonadotropinlerinin, östrus ve ovulasyonu uyarmada oldukça başarılı olduğu saptanmıřtır¹⁶⁻¹⁹. Moses ve Shille¹⁹, anöstrustaki köpeklerde proöstrus kanaması oluşuncaya kadar günde 5 mg DES, kanamanın başlamasından sonraki 5. günde 5 mg LH, 9-11. günlerde ise 10 mg FSH uygulamışlar ve proöstrus ve östrusun görölme oranının % 100 olduğunu saptamışlardır.

3. Pulzatil GnRH Uygulamaları

Eksojen GnRH'nın veya GnRH agonistlerinin kullanımı hipofizden endojen gonadotropinlerin salınımı sonucunda, folliküler gelişim ve östrusu başlatır^{20,21}. Yapılan çalıřmalarda²¹⁻²³ GnRH'nın hipotalamustan 70-90 dakika aralıklarla pulzatil olarak salgılandığı saptanmıştır. Cain ve ark.²¹ GnRH'yı 60-90 dakika aralıklarla günde toplam 20 mcg dozda uyguladıkları bütün köpeklerde proöstrus belirtilerinin yedinci günde başladığını belirtmişlerdir. Vanderlip ve ark.²⁴ yaptıkları benzeri bir araştırmada, GnRH uygulanmasından, 4-7 gün sonra proöstrus belirtilerini gözlemlediklerini ve % 65 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Concannon²³, deri altına yerleştirilen özel bir pompa aracılığı ile sürekli olarak lutelin içeren bir ilacın uygulanmasından 3-8 gün sonra proöstrusun başladığını bildirmiştir. Cain ve ark.²⁰ yaptıkları bir araştırmada sekiz saatlik aralıklarla 11 gün süreyle deri altı yolla GnRH uygulamaları sonucunda % 80 östrus görüldüğu ve köpeklerin tamamının gebe kaldıkları saptanmıştır.

4. Ergot Bileşiklerinin Kullanılması

Son yıllarda yine bir ergot derivatı olan cabergolinin luteolitik, antiprolaktin ve dopaminerjik etkileri üzerinde durulmaktadır. Yalancı gebelik problemi olan ve aylarca laktasyonu devam eden 3 köpeğe laktasyonu durdurmak amacı ile cabergolin uygulaması yapıldıktan sonra, laktasyonun kesildiği ve aynı zamanda proöstrus kanamasının başladığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonucunda çiftleştirilen 14 köpekten 12'sinin gebe kaldığı bildirilmiştir²⁵. Benzeri şekilde Jöchle ve ark.²⁶ klinik olarak anöstrus gösteren 28 köpekte cabergolin uyguladıklarını ve 5-18 gün sonra östrus belirtilerinin görüldüğünü belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, monoöstrik sıklusa sahip olmalarından dolayı kaçırılan bir sıklusta ya da çiftleşme ile gebelik elde edilemeyen dönemlerde, uzun bir anöstrus süresini beklemek zorunluluğu bulunan köpeklerde, siklusun uyarılması için kullanılacak en pratik ve en olumlu sonuç alınacak yöntemin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Araştırma materyali olarak, Gemlik Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkez Komutanlığına ait 27 adet, Bursa İli'ndeki özel bir köpek çiftliğinden 4 adet ve sahipleri tarafından östrus siklusları uyarılması istenen 4 adet olmak üzere, 2,5-6 yaşları arasında bulunan toplam 35 adet Alman Çoban Köpeği ile Nilüfer Belediyesi'nden temin edilen 10 adet ergin sokak köpeği kullanıldı. Östrustan sonra 3,5 aylık sürenin geçmiş olmasına dikkat edildi. Köpeklere vaginal smear uygulanarak anöstrusta oldukları tespit edildi.

Araştırmada biri kontrol grubu olmak üzere 5 grup oluşturuldu. İlaç uygulamalarından sonra proöstrus dönemine giren köpeklere gün aşırı vaginal smear uygulanarak süperfisyal hücre yoğunluğu incelendi^{27,28}.

Östrus döneminde, çiftleşmeyi kabul eden dişi köpekler damızlık erkek köpeklerle gün aşırı bir araya getirilerek, en az ikişer kez çiftleştirildi. Çiftleşmeyi kabul etmeyen köpeklere ise sun'i tohumlama uygulandı. Elde edilen sonuçlar khi-kare analizi yapılarak istatistiki açıdan değerlendirildi²⁹.

1. Grup: Bu grupta 5 gün süre ile, 20 IU/kg dozda PMSG ve 5. günde 500 IU HCG intramusküler (i.m) olarak uygulandı.

2. Grup: 5 mg DES içeren tabletler proöstrus kanaması başlayınca kadar en fazla 7 gün süreyle ağız yoluyla verildi. Proöstrus kanaması başladıktan sonraki 5. günde 500 IU HCG, 9 ve 11. günlerde ise 200 IU PMSG i.m. yolla enjekte edildi.

3. Grup: 25 mcg gonadorelin içeren 80 ml serum fizyolojik ile sulandırılan ilaç bileşimi Dosif-lov adlı zaman ve doz ayarlayıcı alet yardımı ile

10 ml/saat olarak günde 8 saat süreyle uygulandı. Uygulama süresi maksimum 14 gün olarak belirlendi.

4. Grup: Bu gruptaki köpeklere günlük 6 mcg/kg dozda cabergolin dereceli pipet yardımı ile ağız yoluyla verildi. Uygulama süresi maksimum 14 gün olarak belirlendi.

5. Kontrol grubu: Bu gruptaki köpeklere proöstrus başlangıcından itibaren, gün aşırı vaginal smear yapıldı. Östrusta oldukları belirlenen köpekler çiftleştirildi.

BULGULAR

Anöstrus döneminde, çalışma kapsamına alınmış köpeklere vaginal smear uygulanması sonucunda parabazal hücreler, az sayıda intermedier hücreler ve lökositler; proöstrus döneminin başlangıcında parabazal ve çok sayıda intermedier hücreler; geç proöstrus döneminde çok sayıda intermedier ve süperfisyal hücre yoğunluğu izlendi. Östrus döneminde ise çok sayıda çekirdekli ve çekirdeksiz süperfisyal hücre görüldü.

Östrus döneminde vaginal akıntının renginin açılarak sarıya dönüştüğü, vulva ödeminin arttığı, vagina mukozasında uzunlamasına katlanmaların olduğu, köpeklerin lordoz pozisyonunda durduğu ve erkek köpeklerle bir araya getirildiğinde kuyruğunu yana doğru çekerek çiftleşmeye izin verdiği belirlendi. Anöstrus dönemindeki köpeklerde östrus ve ovulasyonun uyarılmasında kullanılan ilaç uygulamalarında elde edilen sonuçlar Tablo I'de toplu olarak sunulmuştur.

Tablo: I
Uygulama Gruplarına ve Kontrol Grubuna Ait Toplu Sonuçlar

Gruplar	Köpek Sayısı	Proöstrus Gösteren Köpek Sayısı	Östrus Gösteren Köpek Sayısı	Doğuran Köpek Sayısı	Doğum Oranları (%)
PMSG+HCG	10	10	10	4	40
DES+Godanotropinler	10	10	7	3	30
Pulzatil GnRH	10	1	1	-	-
Cabergolin	10	0	9	8	80
Kontrol Grubu	5	5	5	5	100

Yapılan khi-kare analizi sonucunda östrus gösteren köpeklerde, gruplar arasındaki fark istatistiki olarak değerlendirildiğinde, pulzatil GnRH

uygulanan grupta önemli ($P < 0.001$); doğum oranları göz önüne alınarak yapılan istatistiki değerlendirmede cabergolin uygulanan gruptaki farklılık, önemli bulundu ($P < 0.01$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Köpeklerin monoöstrik siklus göstermeleri ve reproduktif fizyolojilerinin diğer hayvanlardan farklı olması, bu hayvanlarda östrus ve ovulasyonu kontrol altına almayı güçleştirmektedir. Evcil köpeklerde korpus luteumun regresyonundan sonra folliküler fazın başlayabilmesi için anöstrus süresinin beklenmesi gerekir.

PMSG ve HCG kullanılarak yapılan araştırmalar incelendiğinde, bu ilaçların farklı süre ve dozlarda kullanıldığı görülmüştür. On gün süreyle 500 IU dozda PMSG ve onuncu günde 500 IU HCG uygulayan araştırmacılar^{2,4,8}, uygulamaya başladıktan sonraki 6-7. günlerde proöstrus kanamasının başladığını; 9-16. günler arasında köpeklerin östrus göstererek çiftleştiklerini; yalnız bir araştırmada² % 30 gebelik elde edildiğini bildirmişlerdir. 20 IU/kg PMSG'nin on gün uygulanmasının ardından, onuncu günde 500 IU HCG uygulayan araştırmacılar da^{8,12,13}, uygulamaya başladıktan sonra 7-10. günler arasında proöstrusun başladığını belirtirlerken, ilk araştırmada⁸ gebeliğin incelenmediği; ikinci araştırmada¹² 25 köpektен 14'ünde östrus görüldüğü, östrusun kısa sürdüğü, gebelik oranının ise % 86 olarak tespit edildiği; üçüncü araştırmada¹³ ise gebeliğin elde edilmediği bildirilmiştir.

PMSG'nin 20 IU/kg dozda 5 gün süreyle ve 5. günde 500 IU HCG'nin uygulandığı bu çalışmada 4-5. günlerde proöstrus, 7-16. günler arasında daha önce belirtilen kriterlere göre östrus belirlenerek, % 40 doğum oranı elde edilmiştir. Sunulan çalışma ile aynı yöntem uygulanarak yapılan araştırmalarda^{6,13,15} proöstrus, östrus ve doğum oranlarının benzer olduğu; 20 IU/kg'dan yüksek dozda ya da 5 günden uzun süre PMSG uygulanan çalışmalarda^{2,4,8,12,13} doğum oranlarında farklılık olduğu görülmüştür.

PMSG'nin 20 IU/kg dozda uygulanmasının ovaryumlardaki folliküler gelişimi % 90 oranında uyandırabilirdiği^{6,8,11,13,15} ancak aynı dozdaki on günlük uygulamaların hiperöstrojenik etki oluşturduğundan fertilitiyi olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir¹³.

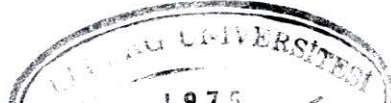
Follikülogenezisin başlamasında östrojen büyük rol oynamaktadır¹⁶. Östradiol FSH ile birlikte granuloza hücrelerindeki LH reseptörlerini uyarmaktadır. Benzer şekilde DES verilen köpeklerde proöstrusun fiziksel özelliklerinin açığa çıktığı; endojen östradiol düzeyinin artmaya başladığı bildirilmiştir¹⁶⁻¹⁹.

Bu alanda yapılan araştırmalarda, proöstrus kanaması başlayınca kadar en fazla yedi gün süreyle DES uygulanmıştır. Proöstrus kanamasının

ardından Moses ve Shille¹⁹ 5. günde 5 mg LH, 9-11. günlerde ise 10 mg FSH ; Shille ve ark.¹⁶ proöstrus kanamasının ardından 5. günde 1000 IU HCG, 9-11. günlerde ise 10 mg FSH; Bouchard ve ark.¹⁷ ise aynı günlerde yalnız 10 mg FSH uygulamışlardır. Bu çalışmalar sonucunda sırasıyla Moses ve Shille¹⁹ % 100, Shille ve ark.¹⁶ %100, Bouchard ve ark.¹⁷ ise sekiz köpekten altısında östrusun meydana geldiğini bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada günlük 5 mg DES verilerek proöstrus kanaması oluşturulduktan sonra, 500 IU HCG ve 9-11. günlerde 200 IU PMSG verilen köpeklerde daha önce belirtilen kriterlere göre östrus belirtileri değerlendirildiğinde on köpekten yedisinde östrus olduğu görüldü. Çiftleşme davranışlarının luteal dokunun gelişimiyle açığa çıktığı düşünüldüğünde, çiftleşmeyi kabul etmeyen üç köpekte folliküllerdeki luteinleşmeyi sağlayan 500 IU HCG'nin yetersiz kaldığı söylenebilir. Sunulan çalışmada doğum oranı % 30 olarak bulundu. Bu oran doğum oranlarını % 100¹⁹ ve %37.5¹⁷ olarak bildiren çalışmaların sonuçlarından düşük olmakla birlikte, Bouchard ve ark.¹⁷'nin sonucuna yakın bulundu. Sonuçtaki farklılık; DES uygulamalarının ardından hipofiz kökenli gonadotropinlerin, eksojen gonadotropinlerden daha olumlu ovaryum aktivitesine yol açmasından kaynaklanmış olabilir. Anöstrus dönemindeki köpeklerde gonadotropin uygulamalarından önce östrojen uygulanmasının başarıyı artırdığına ilişkin veriler olmasına karşın^{1,16,17,19,25}, sunulan araştırmada eksojen gonadotropin kullanımını dolayısıyla aynı başarı elde edilemedi.

Hipofiz ve ovaryumlar arasındaki fonksiyonel bütünlük için hipotalamustan pulzatil GnRH salınımına gereksinim vardır. Vanderlip ve ark.²⁴, anöstrus dönemindeki köpeklerde damar içi (i.v) GnRH uygulamalarını 90 dk aralıklarla yaptıklarını ve uygulamaya başladıktan sonraki 4-7 gün içinde proöstrus belirtilerinin görüldüğünü, benzer şekilde Cain ve ark.²¹ i.v. 90 dk aralıklarla pulzatil GnRH uyguladıkları bütün köpeklerin 7 gün içinde proöstrus gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda köpeklerde doğum oranlarının % 65²⁴ ve % 87.5²¹ olduğu saptanmıştır.

Anöstrus dönemindeki köpeklerde postpartum 30-150. günler arasında gonadotropin oranlarında artış olduğu, proöstrus başlangıcında GnRH'nın 70-90 dakika aralıklarla salgılandığı bildirilmektedir³⁰. Bu bilgiler doğrultusunda, yukarıda değinilen 90 dakika aralıklarla uygulanan pulzatil GnRH uygulamaları, doğal mekanizmadaki fizyolojik GnRH salınımına benzemektedir. Concannon²³, köpeklerde pulzatil subkutan GnRH uygulamalarını deri altına yerleştirilen bir pompa aracılığı ile sürekli uygulamaya başladıktan 3-8 gün sonra proöstrus belirtilerinin başladığını, östrus davranışlarının 9-16. günler arasında görüldüğünü ve uygulanan bu yöntemle 18 köpekten 9'unun gebe kaldığını belirtmektedir. Anılan araştırmada uygulanan sürekli GnRH pulzasyonu, proöstrus dönemindeki köpeklerde GnRH'nın fizyolojik salınımına uymamaktadır. Ancak, 24 köpekten 18'inde östrusun görülüp, 9 köpeğin gebe kalması ise başarılı olarak değerlendirilmektedir. Aynı şekilde Cain ve ark.²⁰, yaptıkları araştırmada 8'er saatlik aralıklarla deri altı GnRH uygulamaları



sonucunda 8 köpeğin hepsinde 11. günün sonunda östrus görüldüğünü ve gebe kaldıklarını bildirmektedirler. Bu uygulamadaki başarı araştırmacıların^{20,22,24} belirttiği düşük dozda dengeli ve düzenli GnRH uygulamalarının endojen GnRH salınımına yol açarak ovaryum işlevlerinin başlamasını sağladığı düşüncesini doğrular niteliktedir. Sunulan çalışmada gebelik oluşmamasının olası sebebi günde bir kez GnRH uygulanmasının, hipofizden gonadotropinlerin salgılanması için yeterli olmamasına bağlanabilir.

Bir ergot alkoloiti olan cabergolin, dopamin ve serotoninin gonadotropinler üzerindeki baskılayıcı etkisini engelleyerek plazma LH ve FSH düzeylerinde artışa ve böylece siklik aktivitenin başlamasına yol açar^{25,26,31}.

Arbeiter ve Barsch²⁵, yalancı gebelik problemi olan köpeklerde laktasyonu durdurmak amacıyla cabergolin verilmesinden sonra proöstrus kanamasının başladığını tesadüfen bulmalarından sonra yaptıkları çalışmada cabergolin kullanımıyla köpeklerde proöstrusun başladığını ve çiftleşen 14 köpektен 12'sinin gebe kaldığını bildirmişlerdir. Jöchle ve ark.'nın²⁶ yaptığı benzeri bir araştırmada cabergolin kullanılarak 28 köpekte östrusun oluştuğu, çiftleşen köpeklerde gebelik oranının % 93.3 olduğu belirtilmiştir.

Sunulan çalışmada anöstrus dönemindeki köpeklerde cabergolin uygulamaları sonucunda on köpektен dokuzunda östrus görülerek, çiftleştirilen köpeklerden % 80 gebelik elde edildi. Östrus ve gebelik oranı yönünden diğer araştırmacıların^{25,26} sonuçları ile karşılaştırıldığında arada önemli bir farkın olmadığı görülmektedir.

Bu sonuçlara göre, anöstrus dönemindeki köpeklerde östrus ve ovulasyonun uyarılması amacı ile yapılan çalışmada, PMSG uygulamaları ile follüküler gelişimin uyarılarak, ardından uygulanan HCG ile de luteinizasyonun ve ovulasyonun sağlanabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak PMSG uygulamalarının follüküler gelişimi aşırı uyararak hiperöstrojenik etki oluşturmaması için 20 IU/kg dozdan ve 5 günden fazla uygulanmaması gerekmektedir. İkinci grupta uygulanan DES+eksojen gonadotropin uygulamalarında ise başarı oranının birinci gruptaki uygulamalardan çok farklı olmadığı, uygulamalar sırasında östrojenin köpeklerde dikkatli kullanılması gerektiği unutulmamalıdır. Dördüncü grupta uygulanan cabergolin kullanımının östrus ve ovulasyonu uyarma, gebelik oranı ve uygulama kolaylığı bakımından en başarılı yöntem olduğu görülmektedir. Bu konuda ileri çalışmalara ve bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. CHAKRABORTY, P.K., WILDT, D.E., SEAGER, S.W.J.: Induction of estrus and ovulation in the cat and dog, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, Vol.12, No.1:85-92 (1982).

2. CHAFFAUX, D.L., PONTOIS, M., DELETANG, F., THIBIER, M.: Induction of ovarian activity in anestrus beagle bitches, *Br. Vet. J.*, 191-195 (1984).
3. ARTHUR, G.H., NOAKES, D.E., PEARSON, H.: Infertility in the bitch and cat in *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, sixth edition, Bailliere Tindall, London, 487-505 (1989).
4. RENTON, J.P., HARVEY, M.J.A., ECKERSALL, P.D.: Apparent pregnancy failure following mating of bitches at PMSG induced oestrus, *Veterinary Record*, 115: 383-384 (1984).
5. SHILLE, V.M., THATCHER, J.M., SIMMONS, J.K.: Efforts to induce estrus in the bitch, using pituitary gonadotrophins, *JAUMA*, Vol. 184, No. 12: 1469-1473 (1984).
6. ENGLAND, G.C.W., ALLEN, W.E.: Repeatability of events, during spontaneous and gonadotrophins-induced oestrus in bitches., *J. Reprod. Fert.*, 93: 443-448 (1991).
7. PRABHAKER, S., SHARMA, R.D., DHALIWAL, G.S.: Efficacy of hormonal and non-hormonal drugs for induction of oestrus in anoestrus bitches, *Indian Vet. J.*, 67: 433-435 (1990).
8. THUN, R., WATSON, P., JACKSON, L.G.: Induction of estrus and ovulation in the bitch, using exogenous gonadotrophins, *Amer. J. Vet. Res.*, Vol.38, No. 4: 483-486 (1977).
9. WRIGHT, P.J.: The induction of oestrus and ovulation in the bitch using pregnant mare serum gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin, *Australian Veterinary Journal*, Vol. 56, 137-140 (1980).
10. ARCHBALD, L.F., BAKER, B.A., CLOONEY, L.L., GOTKE, R.A.: Surgical method for collecting canine embryos after induction of estrus and ovulation with exogenous gonadotrophins, *Vet. Med. Small Anim. Clinic.*, 75: 2, 228-238 (1980).
11. TONIOLLO, G.H., CARLO, R.J., MOREIRA, E., FERREIRA, H.I., SILVA, L.A.F.: Effect of treatment with PMSG and HCG on the uterus and ovaries in the bitch, *Ars-Veterinaria*, 1: 1, 111-115 (1985).
12. CHAKRABORTY, P.K., SAEGER, J.W.: Estrus and ovulation induction in the bitch in small animal reproduction infertility, Ed. THOMAS, J.B., Lea and Febiger, Philadelphia, 193-195 (1986).
13. ARNOLD, S., ARNOLD, P., CONCANNON, P.W., WEILENMANN, R., HUBLER, M., CASAL, M., DÖBELI, A., FAIRBURN, A., EGGERBERGER, E., RUSCH, P.: Effect on duration of PMSG treatment on induction of oestrus, pregnancy rates and the complications of hyper-oestrogenism in dogs, *J.Reprod.Fert. Suppl.*39, 115-122 (1989).
14. EVANS, E.L.: Induction of estrus in the bitch, in *Current Therapy in Theriogenology*, Ed. Morrow D.A., Philadelphia, 618-620 (1980).

15. WEILENMAN, R., ARNOLD, S., DÖBELI, M., RÜSCH, P., ZEROBIN, K.: Brunstinduktion bei hündinnen durch verabreichung von PMSG und HCG, Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 135, 236- 241 (1993).
16. SHILLE, V.M., THATCHER, M.J., LLOYD, M.L., MILLER, D.D., SEYFERT, D.F., SHERR OD, J.D.: Gonadotrophic control of follicular development and the use of exogenous gonadotrophins for induction of oestrus and ovulation in the bitch., J. Reprod. Fert., Supp. 39: 103-113 (1989).
17. BOUCHARD, G., YOUAGQUIST, R.S., CLARK, B., CONCANNON, P.W., BRAUN,W.F.: Estrus induction in the bitch using a combination the ethylstilbestrol and FSH-P, Theriogenology, Vol.36, No.1, 51-65 (1991).
18. PAGE, S.W.: The ethylstilbestrol -clinical pharmacology and alternatives in small animal practice, Aust. Vet. Journall, Vol.68, No.7, 226-230 (1991).
19. MOSES,D.L., SHILLE,V.M.: Induction of estrus in Greyhound bitches with prolonged idiopathic anestrus or with suppression of estrus after testosterone administration, JAVMA, Vol. 192 No. 11: 1541-1545 (1988).
20. CAIN, JL., DAVIDSON, AP., CAIN, GR.: Induction of ovulation in bitches using subcutaneous injection of GnRH analog., Proc 8th Am. Coll. Vet. Int. Med. Forum, Washington, DC, May, 1 126, in CONCANNON, P.W.: Use of gonadotrophins GnRH and GnRH agonist for rapid induction of fertile estrus in dogs, XVII WSAVA World Congress,World small 11 Animal Veterinary Assosiation,24th-27th September, 1992, Rome, Italy, Ed. Delfiano A. Vol 2, 1405-1410 (1990).
21. CAIN, J.L., CAIN, G.R., FELDMAN, C.E., LASLEY, B.L., STABENFELDT, H.G.: Use of pulsatile intravenous administration of GnRH to induce fertile estrus in bitches, Amer. J. Vet.Res., 49: 11, 1993-1996 (1988).
22. MARSHALL, J.C., KELCH, P R.: GnRH: Role of pulzatile secretion in the regulation of reproduction, The New England Journal of Medicine, 315: 23, 1459-1468 (1986).
23. CONCANNON, P.W.: Induction of fertile oestrus in anestrus dogs by constant infusion of GnRH agonist, J. Rep. Fert., Suppl., 149-160 (1989).
24. VANDERLIP, S.L., WING, A.E., FELT, P., LINKIE, D., CONCANNON, P.W., LASLEY, B.L.: Ovulation induction in anestrus bitches by pulsatile administration of GnRH, Amer. Assos. Lab. Anim. Scie., 37: 4, 459-464 (1987).
25. ARBEITER, K., BARSCH, E.: Möglichkeiten der laufigkeit sinduktion bei der hündin mit einem ergolin-derivat, 1. Vet. Med. A., 35, 111-117 (1988).

26. JÖCHLE, W., ARBEITER, K., POST, K., BALLABIO, R.: Effects on pseudopregnancy, pregnancy and interestrus intervals of pharmacological suppression of prolactin secretion in female dogs and cats, J. Reprod. Fert. Suppl. 39, 199-207 (1989).
27. TEKİN, N., İZGÜR, H., ÖZYURT, M.: Köpeklerde vaginal smear yöntemiyle kızgınlık siklusu evrelerinin tanısı üzerinde çalışmalar., Ankara Ün. Vet. Fak. Derg., 33, 2: 198-209 (1986).
28. DİNÇ, D.A.: Karnivorlarda İnfertilite, alında Reprodüksiyon , Sun'li Tohumlama Doğum ve İnfertilite, Ed. Alaçam E, Dizgi Evi, Konya, 315-339 (1994).
29. SÜMBÜLOĞLU, K., SÜMBÜLOĞLU, V.: Biyoistatistik, 6. baskı, Özdemir yayım, (1995).
30. SHILLE, V.M., THATCHER, M.J., LLOYD, M.L.: Concentration of LH and FSH during selected periods of anestrus in the bitch, Biology of Reproduction, Suppl.36, 184, Abst.; (1987).
31. ŞANLI, Y., KAYA, S.: Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağıtım Seçenekleri, 2. baskı, Medisan yayınevi, Ankara, 387-390 (1994).