

KÖPEKLERDE HIZLI PROGESTERON KİTİ YARDIMI İLE YAPILAN ÇİTLEŞTİRMELERLE GEBELİK ORANLARININ ARTIRILMASI

Aytekin Günay¹@

Ülgen Günay²

Improvement of Pregnancy Ratios in the Mating of Bitches Carried Out with The Aid of Rapid Progesterone Assay

Özet: Bu çalışmada farklı ırklardan 24 adet sağlıklı dişi köpek materyal olarak kullanıldı. Köpekler iki eşit gruba ayrıldılar. Birinci gruptaki 12 köpek proöstrus kanaması başladıktan sonraki 12-14. günler arasında çiftleştirildi. İkinci gruptaki 12 köpekte ise proöstrus başlangıcından sonra uygulanan vaginal sitolojide süperfasial hücre oranının % 80'nin üzerine çıkmasının ardından hızlı progesteron kitleri ile progesteron düzeyi 2.5-8 ng/ml olan köpeklerin 5'i bir kez, 7'si ise 12-24 saat aralıklarla 2 kez çiftleştirildiler. Birinci grupta % 66.6 (8/12) , ikinci grupta ise % 83.3 (10/12) doğum oranı elde edildi. Süperfasial hücre oranı, östrus döneminin başladığı ve progesteron değerinin C2 seviyesinde belirlendiği dönemde % 83.75±1.08, çiftleşmenin yapıldığı C3 seviyesinde ise 90.08±1.01 seviyesinde belirlendi (P<0.001). Proöstrus kanaması başladıktan 9.83±0.29 gün sonrasında süperfasial hücre yoğunluğu % 80'ler seviyesine ulaştı. Ancak çiftleşme için uygun dönem olarak belirlenen progesteron seviyesinin C3 seviyesine ulaşması ise 11.83±0.53 gün sonra şekillendi. Belirtilen bu iki değer arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01). Sonuç olarak; vaginal sitoloji eşliğinde uygulanan hızlı progesteron analizleri ile uygun çiftleşme gününün belirlenmesi ve bu sayede gebelik oranını artırmanın mümkün olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dişi Köpek, Vajinal Sitoloji, Hızlı Progesteron Test, Gebelik

Summary: This study was carried out with the aim of improving the pregnancy ratio through determining the mating time with the aid of rapid progesterone assay. Twenty-four healthy bitches from different breeds were used as material. The bitches were separated into two equal groups. Twelve bitches in the first group were mated between days 12-14 after prooestrus bleeding and their pregnancy ratios were evaluated. Twelve bitches in the second group were subjected to progesterone analyses via rapid progesterone assay after the ratio of superficial cells exceeded 80 % in the vaginal cytology applied following the onset of prooestrus. Five of the bitches with progesterone values between 2.5-8 ng/ml were mated once, and 7 of them were mated twice with 12-24 h intervals. Birth ratios of 8/12 and 10/12 were obtained in the first and second groups, respectively. Ratio of superficial cells was determined as 83.75±1.08 % in the period during which oestrus started and the progesterone value was determined at C2 level; and as 90.08±1.01 % at C3 level during which the mating was realised (P<0.001). The density of superficial cells reached 80 % level 9.83±0.29 days after the onset of prooestrus bleeding. However, the progesterone level reached C3 level after 11.83±0.53 days, which is the suitable period for mating. The difference between these two values was found statistically significant (P<0.01). As a result, it was concluded that it could be possible to improve the pregnancy ratio through determining the suitable day for mating via rapid progesterone assay applied together with vaginal cytology.

Key Words: Bitch, Vaginal Cytology, Rapid Progesterone Test, Pregnancy

Giriş

Yetiştiriciler açısından köpeklerde siklik aktivitenin başlamasındaki en önemli belirtiler vaginal kanama ve vulva ödemidir. Köpek yetiştiricileri genellikle proöstrusun başlamasından 12-14 gün sonra köpeklerinin çiftleştirilmesi gerektiğine inanırlar. Oniki -14. günler arasında yapılan çiftleştirmelerde erken yada geç ovulasyonların olabilmesi nedeniyle gebelik elde edilememekte veya düşük olarak elde edilmektedir (Freshman, 1991; England, 1996; England ve Concannon, 2002). Bu nedenle ideal çiftleştirmeler için ovulasyon döneminin belirlenmesi

önemlidir (Wright, 1991; Linde ve Karlsson, 1984). Bununla birlikte bazı köpeklerde ovulasyon proöstrusun başlamasından sonraki en erken 3. yada en geç 26. günlerde de oluşabilmektedir (Linde ve Karlsson, 1984; Christiansen 1984; Concannon ve Batista, 1989; England and Concannon 2002).

Progesteron düzeyinin 1 ng/ml olması östrustan önceki dönemler olarak kabul edilirken, ovulasyondan 2 gün öncesinde progesteron düzeyi 1 ng/ml'ye yükselmektedir (Wright, 1991; England ve Concannon, 2002). Ovulasyon dönemindeki progesteron

düzeyini kimi araştırmacılar (Concannon ve ark., 1975) 2-5 ng/ml, kimi araştırmacılar (Linde ve Karlsson, 1984; Post ve ark., 1990; Wright, 1991) ise 4-10 ng/ml olarak belirtmektedirler. Çok sayıda araştırmacı köpeklerde ideal çiftleşme zamanının belirlenmesinde hızlı progesteron testlerinin de yararlı olduğunu bildirmektedir (Concannon ve Battista, 1989; Arbeiter ve ark., 1990; Arbeiter ve ark., 1991; Freshman, 1991; Anderton ve Evans, 1993)

Köpeklerde siklus dönemlerinin belirlenmesinde vaginal sitolojiden sıklıkla yararlanılmaktadır (Christiansen, 1984; Post, 1985; Concannon, 1991). Anöstrus döneminde intermedier ve parabazal hücrelerin dominant olduğu, nötrofillerin bulunabileceği bildirilmektedir (Christiansen, 1984; Concannon, 1986; Feldman ve Nelson, 1996). Proöstrus döneminde erken ve geç proöstrus aşamalarında kademeli olarak parabazal ve intermedier hücrelerin süperfasiyal hücrelere dönüştüğü, ayrıca eritrositlerin sahada yaygın olduğu, nötrofil ve bazı bakterilerinde bulunabileceği belirtilmektedir (Christiansen, 1984; Post, 1985; Feldman ve Nelson 1996). Östrus döneminde süperfasiyal hücre oranı % 80-100 arasında değişkenlik göstermekle beraber, hücrelerin tümünde kornifikasyonun görülmesi genellikle söz konusu değildir (Concannon, 1986; Olson ve ark., 1987). Diöstrusta ise süperfasiyal hücrelerin aniden % 20'lere düşmesi, sahaya intermedier ve parabazal hücrelerin hakim olması karakteristiktir (Holst ve Phemister, 1974; Feldman ve Nelson, 1996).

Sunulan çalışma proöstrus kanamasının başlamasından sonraki 12-14. günler arasında çiftleşme yapılan ancak istenilen seviyede gebelik oranı elde edilemeyen özel bir işletmede, gebelik oranının artırılması amacıyla vaginal sitoloji eşliğinde progesteron düzeyinin de belirlenerek çiftleşme zamanının önemini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada yaş ortalamaları 27 ay ile 4 yaş arasında değişen, değişik ırklardan 24 adet sağlıklı dişi köpek materyal olarak kullanıldı. Araştırma köpek pansiyonu, eğitimi ve üretim hizmetleri verilen özel bir işletmede gerçekleştirildi.

Proöstrus dönemindeki köpeklerde serosanguinöz kanama, vulva ödemi, erkek köpeğe ilgi; östrus döneminde vulva ödeminde artış fakat ödemin yumuşaması, dişinin erkeği kabul etmesi ve vaginal akıntının renginin açılması gibi fiziksel belirtiler arandı.

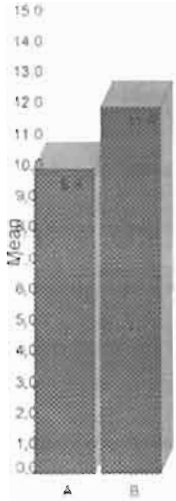
Köpekler iki eşit gruba ayrıldılar. Bunlardan I. gruptaki 12 köpek daha önce yetiştiricilerin uyguladığı gibi proöstrus kanaması başladıktan sonraki

12-14. günler arasında olmak üzere köpeklerin 3'ü bir, 9'u ise iki kez çiftleştirildiler. Daha sonra gebelik oranları değerlendirildi. İkinci gruptaki 12 köpeğe ise proöstrus başlangıcından sonra günde bir kez vaginal sitoloji uygulandı. Vaginal smearlar Giemsa Wright boyama tekniğine göre (Tekin ve ark., 1986) boyandı ve her bir preparatta 100 hücre sayılarak hücre oranları % olarak tespit edildi. Bütün smearlar X 40 objektif altında ışık mikroskobu kullanılarak incelendi. İncelenen smearlarda süperfasiyal hücre oranının % 80'nin üzerine çıkmasının ardından hızlı progesteron kiti (Target Canine Ovulation Test Kit, BioMetallics, USA) ile progesteron analizleri gerçekleştirildi. Analizler için vena sefalika'dan alınan kan örnekleri 5000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı ve ardından hızlı progesteron testi uygulandı. Progesteron değeri 2.5-8 ng/ml olan köpeklerin 5'i bir kez, 7'si ise 12-24 saat aralıklarla 2 kez çiftleştirildiler. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde "Paired Samples t-Test" kullanıldı.

Bulgular

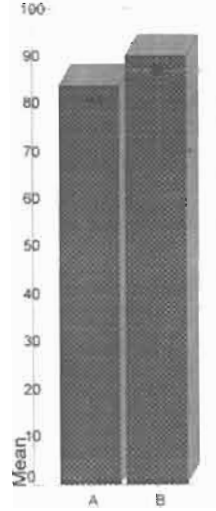
Materyal olarak kullanılan köpeklerin tamamında östrus davranışlarının fiziksel belirtileri klinik olarak gözlemlendi. Birinci gruptaki köpeklerden 2' si hariç 10'u 12. günde çiftleşmeyi kabul ettiler. İki köpekte ise östrus belirtileri olmasına rağmen erkek köpeğe pasif direnişin olduğu gözlemlendi. Bu iki köpek 14. günde çiftlikte daha önce uygulandığı gibi bakıcıların yardımı ile çiftleştirildiler. İkinci grupta bulunan köpeklerde proöstrus kanamasının başladığı günden itibaren uygulanan vaginal sitolojide proöstrusun erken dönemlerinde parabazal ve intermedier hücrelerin yoğun olması ve eritrositlerin görülmesi, proöstrusun geç safhasında ise çekirdekli süperfasiyal hücrelerin yoğunlaşmaya başlaması dikkati çekti. Süperfasiyal hücrelerin % 80 ve üzerine çıkması ise östrus dönemi olarak değerlendirildi.

İkinci gruba uygulanan vaginal sitoloji sonucunda % 80 süperfasiyal hücre oranına 9-12. günler arasında ulaşıldı. Süperfasiyal hücre oranı % 80 ve üzerine çıkan köpeklerde uygulanan progesteron analizi sonucunda 9 köpekte C2 seviyesi belirlenirken, diğer 3 köpekte ise C3 seviyesi belirlendi. Progesteron değeri C2 seviyesinde bulunan 9 köpeğe 48 ve 72. saatlerde tekrar progesteron analizi yapıldı ve 48. saatte 3 köpekte C3 seviyesi belirlenirken, 72. saatte ise diğer 6 köpekte C3 seviyesi belirlendi. Bu gruptaki köpeklerde hızlı progesteron kiti yardımı ile gerçekleştirilen progesteron analizleri sonucunda 12 köpekte C3 seviyesine 11-15. günler arasında ulaşıldı. Uygulanan smearlarda süperfasiyal hücre oranı östrus döneminin başladığı ve progesteron değerinin C2 seviyesinde belirlendiği dönemde % 83.75±1.08,



Şekil 1. A- Vajinal sitolojide %80 ve üzeri süperfasial hücre oranına ulaşıldığı gün (9.83±0.29)

Şekil 1. B- Progesteron analizinde ideal çiftleşme günü olarak kabul edilen C3 seviyesine (2.5-8 ng/ml) ulaşıldığı gün, (P<0.01)



Şekil 1. A- Progesteron analizinde C2 (0-2.5 ng/ml) seviyesinde iken belirlenen süper fasial hücre yoğunluğu (%83.75±1.08)

Şekil 1. B- Progesteron analizinde ideal çiftleşme dönemi olarak kabul edilen C3 seviyesinde (2.5-8 ng/ml) belirlenen süperfasial hücre oranı (%90.08±1.01), (P<0.001).

çiftleştirmenin yapıldığı C3 seviyesinde ise % 90.08±1.01 seviyesinde belirlendi (Şekil 2) (P<0.001). Proöstrus kanaması başladıktan 9.83±0.29 gün sonrasında süperfasial hücre yoğunluğu % 80'ler seviyesine ulaştı. Ancak çiftleşme için uygun dönem olarak belirlenen progesteron seviyesinin C3 seviyesine ulaşması ise 11.83 ± 0.53 gün sonra şekillendi (Şekil 1). Birinci grupta %66.6 (8/12) , II. grupta ise %83.3 (10/12) doğum oranı elde edildi.

Tartışma ve Sonuç

Araştırmacılar (Renton ve ark., 1991, England ve Concannon 2002; England, 1991; Freshman, 1991; Perkins ve Thomas, 1993a; 1993b) tarafından köpeklerde en önemli infertilite nedeni olarak uygun çiftleşme zamanının doğru belirlenememesi bildirilmektedir. Bu nedenle çiftleştirme zamanının belirlenmesinde klinik temel uygulamalardan vulvanın palpasyonu, vajinal sitoloji, vaginoskopi ve progesteron hormon ölçümleri gibi tekniklerin kullanılmasının gerekliliği vurgulanmaktadır (Linde ve Karlsson, 1984; Post, 1985; Bouchard ve ark., 1991; Badinand ve ark., 1993; England,1991; England ve Concannon, 2002).

Sunulan çalışmada 12-14. günler arasında kontrolsüz çiftleşme uygulanan I. gruptan (8/12) elde edilen doğum oranı II. gruba (10/12) göre daha düşük seviyede gerçekleşmiştir. Benzer şekilde çeşitli araştırmacılar da (Freshman 1991; England 1996; England

ve Concannon 2002; Erünel Maral, 2000) yetiştiricilerin yaygın olarak kullandığı proöstrus kanamasının başlamasının ardından yapılan kontrolsüz çiftleştirmelerden yeterli gebelik oranlarının alınmadığını belirtmişlerdir.

Sunulan araştırmada proöstrus kanamasının başlamasından sonraki 12-14. günler arasında çiftleşmenin uygulandığı I. gruptaki 2 köpek çiftleşmeyi kabul etmemiştir. Erkek köpeklerle bir araya getirmenin dışında hiçbir muayene yapılmayan bu gruptaki köpeklerin gerçekte uygun çiftleşme zamanında olup olmadıkları bilinmediğinden arzu edilen gebelik oranı elde edilememiştir. Kontrolün uygulanmadığı bu grupta elde edilen sonuçlar pek çok araştırmacının (Perkins ve Thomas, 1993a; 1993b; Jeffcoate ve Lindsay, 1989; Badinand ve ark., 1993; England ve Concannon, 2002) bulguları ile paralellik göstermektedir.

Bazı araştırmacılar (Arbeiter, 1990,1991; Post ve ark.,1990; England ve Concannon, 2002) çiftleştirmeler için uygun zamanın progesteron oranının 8-10 ng/ ml'ye hatta 15 ng/ml'ye çıkması gerektiğini vurgulamakta ve bu dönemi England ve Concannon (2002) fertilizasyon dönemi olarak tanımlamaktadırlar. Bu değer 2-4 ng/ml' nin üzerine çıktığı zamanda çiftleşmenin planlanması öneren araştırmacılar da bulunmaktadır (Wright 1991; Renton ve ark., 1992; England ve Concannon, 2002). Sunulan çalışmada da C3 seviyesinde 2.5-8 ng/ml

plazma progesteron seviyesi belirlenen 12 köpekten 10' unun gebe kalması ve güne dayalı kontrolsüz çiftleştirmenin yapıldığı I. gruba göre daha başarılı olarak değerlendirilmesi araştırmacıların belirttiği dönemle uyumlu olarak çiftleştirmelerin yapılmış olmasına bağlanabilir. Benzer bir araştırmada ise Erüenal Maral (2000), köpekleri üç gruba ayırmış ve I. gruba vaginal sitoloji, vaginoskopi ve hızlı progesteron test kitleri, II. gruba vaginal sitoloji ve vaginoskopi, III. gruba ise yalnızca vaginal sitoloji uygulayarak gruplar arası gebelik oranlarını karşılaştırmış ve en yüksek gebelik oranını % 94.1 ile I. gruptan elde ettiğini bildirmiştir. Sunulan çalışmada vaginal sitoloji ve test kitleri uygulanarak saptanan % 83.3 doğum oranı Erüenal Maral (2000)'in sonuçları ile paralellik göstermektedir. Başarılı ve fertil bir çiftleşmenin oluşmasında vaginal sitoloji bulguları ile vulvadaki yumuşama, vaginoskobik incelemeler ve progesteron hormon ölçümlerinin birlikte daha doğru ve gerçekçi sonuçlar verdiği bildirilmektedir (England ve Concannon, 2002; Erüenal Maral, 2000).

England ve Concannon (2002), fertil periyottaki çiftleştirmelerde hücrelerin % 80'inin süperfasiyal tipte olduğu, kornifiye hücrelerin ovulasyondan en erken 9 gün öncesi ile en geç 2 gün öncesinde % 80-90 seviyelerine çıktığını, bu yüzden de vaginal sitolojideki bu değişim ovulasyon zamanının tam tespitinde kullanılamadığını vurgulamıştır. Ancak Post (1985) çekirdeklerini kaybetmiş süperfasiyal hücrelerin östrus döneminde % 80'ler seviyesinde, ovulasyon zamanında ise % 100'ler seviyesine doğru arttığını, Tünay ve ark. (2002) ise östrusun ilerlemesi ile süperfasiyal hücre oranında artış olduğunu belirtmektedirler. Sunulan araştırmada da araştırmacıların (Post, 1985; Erüenal Maral, 2000; Tünay ve ark., 2002; England ve Concannon, 2002) tespiti ile uyumlu olarak süperfasiyal hücre oranı östrus döneminin başladığı dönemde % 80'lere yükselmekte ve progesteron değerinin C2 seviyesinde belirlendiği dönemde % 83.75±1.08 olarak, çiftleştirmenin yapıldığı C3 seviyesinde ise % 90.08±1.01 olarak belirlenmiştir. Bu iki değer arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (P<0.001). Sunulan çalışmada proöstrus kanaması başladıktan 9.83±0.29 gün sonrasında süperfasiyal hücre yoğunluğu % 80'ler seviyesine ulaşmıştır. Ancak çiftleşme için uygun dönem olarak belirlenen progesteron seviyesinin C3 seviyesine ulaşması ise 11.83 ± 0.53 gün sonra şekillenmiştir (P<0.01). Ayrıca sunulan çalışmada kornifikasyonun % 80'ler seviyesine ulaştığı zaman 9 köpekte progesteron oranı C2 değerinde (0-2.5 ng/ml) belirlenmiştir. Sunulan çalışmada eğer vaginal sitolojideki süperfasiyal hücre

oranındaki % 80'ler seviyesi çiftleşme için yalnız başına bir kriter olarak kabul edilseydi, ideal çiftleşme zamanından daha önceki günlerde çiftleştirmeler yapılmış olacaktı.

Sunulan araştırmadan elde edilen sonuçlar köpek yetiştiriciliğinde uygulanan proöstrus kanamasından sonraki 12-14. günlerdeki çiftleştirmeler ile istenilen oranda gebelik elde edebilmenin mümkün olamayacağını göstermektedir. Vaginal sitolojide süperfasiyal hücre oranının % 80'lere çıkmasının ardından uygulanan progesteron ölçümü ile daha başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Vaginal sitoloji, siklusu izleyebilmenin yanı sıra, gereksiz hormon analizi yapmaya ve çiftleşme amaçlı hayvan nakline engel olma açısından yarar sağlayacaktır. Sunulan çalışmada vaginal sitoloji eşliğinde uygulanan hızlı progesteron analizleri ile uygun çiftleşme gününü belirleyerek gebelik oranını artırmanın mümkün olabileceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Anderton, D.J., Evans J.M. (1993). In practice experiences with the semiquantitative mesarument of progesterone in bitches plasma to the optimum time to mate, *J. Reprod. Fertl. (Suppl.)*, 47-
- Arbeiter, K., Dobretsberger, M., Palme, R., Lorin, D. (1990). Die progesteron bestimmung im blut-ein verfahren zur prazisierung der deckzeit bei der hündin. *Wien Tierarztl. Mschr.*, 77, 190-192.
- Arbeiter, K., Dobretsberger, M., Müller, E., Holzmann, A. (1991). Ein indirector Nechweis der Ovulation und Fertilisation beim Hund durch Progesteronverfeufsuntersuehungen. *J. Vet. Med. A.38*, 696-701
- Badinand, F., Fontbonne, A., Maurel, M.C., Siliart, B. (1993). Fertilization time in the bitch in relation to plasma concentration of oestradiol, progesterone and luteinisation hormone and vaginal smears. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)*, 47, 63-67.
- Bouchard, G.F., Solorzand, N., Concannon, P.W., Youngquist, R.S., Bierschwall, C.J. (1991). Determination of ovulation time in bitches based on teasing, vaginal cytology and ELISA for progesterone. *Theriogenology*, 35, 3, 603-611.
- Christiansen, I.B.J., (1984). *Reproduction in Dog and Cat*, First ed., Baillere Tindall, England, 3-39.
- Concannon, P.W., Hansel, W., Visek, W.J. (1975). The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol. Reprod.*, 13, 112-121.
- Concannon, P.W. (1986). *Canine Physiology of Reproduction*. In "Small Animal Reproduction and Infertility", Ed., T.J. Burke, Lea &Febiger, Philadelphia.
- Concannon, P.W., Battista, M. (1989). *Canine Semen and Artificial Insemination*. In "Current Veterinary Therapy. Small Animal Practice", Ed., R.W. Kirk, W.B. Saunders

Company, Philadelphia.

Concannon, P.W.(1991). Reproduction in the Dog and Cat. In "Reproduction in Domestic Animals", Ed., P.T. Cupps, Academic Press, London.

England, G.C.W. (1991). ELISA determination of whole blood and plasma progesterone concentrations in bitches. *Vet. Rec.*, 7, 129, 221-222.

England, G.C.W. (1996). Infertility in the bitch and queen. In "Veterinary Reproduction and Obstetrics", Ed., G.H. Arthur, D.E. Noakes, H. Pearson, T.J., Parkinson, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

England, G.C.W., Concannon P.W. (2002). Determination of the optimal breeding time in the bitches: Basic considerations, 8 Jun. (www.ivis.org), Ithaca New York, USA.

Erüenal Maral, Nil. (2000). Dişi köpeklerde vaginal sitoloji, vaginoskopi ve hızlı progesteron test yöntemlerinin optimum çiftleşme zamanının saptanması amacıyla kullanımı, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Feldman, E.C., Nelson, R.W. (1996). Canine Female Reproduction. In "Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, Ed., D. Pedersen, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Freshman, J.L. (1991). Clinical approach to infertility in cycling bitch. *Small Anim. Pract.* 21,3, 427-435.

Holst, P.A., Phemister R.D., (1974). Onset of diestrus in the Beagle bitch: Definition and significance, *Am. J. Vet. Res.* 35, (3), 401-406.

Jeffcoate, I.A., Lindsay, F.E.F. (1989). Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and endoscopic appearance of the vagina in domestic bitches. *J. Reprod. Fert. (Suppl)*, 39, 277-287.

Linde, C., Karlsson, I. (1984). The correlation between the

cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch. *J. Small Anim Pract.*, 25, 77-82.

Olson , P.N., Behrendt, M.D., Weiss, D.E. (1987). Reproductive problems in the bitch: finding answer through cytology. *Vet. Med.*, 4, 344-351.

Perkins, N.R., Thomas, P.G.A. (1993a). Infertility in the bitch with abnormal oestrous cyclicity. *Aust.Vet.Prac.*, 23,2, 122-126.

Perkins, N.R., Thomas, P.G.A. (1993b). Infertility in the bitch with normal oestrous cyclicity. *Aust.Vet.Prac.*, 77-87.

Post, K. (1985). Canine vaginal cytology during the oestrous cycle. *Can. Vet.J.*, 26, 101-104.

Post, K., Cook, S.J., Rawlings, N.C. (1990). The evaluation of an enzyme immunoassay for the assessment of progesterone in canine plasma. *Can. Vet.*, 31, 708-709.

Renton, J.P., Boyd, J.S., Eckersall, P.D., Ferguson, J.M., Harvey, M.J.A., Mullaney, J., Perry, B. (1991). Ovulation, fertilization and early embryonic development in the bitch (*Canis familiaris*). *J. Reprod.Fert.*, 93, 221-231.

Renton, J.P., Boyd, S.J., Harvey, M.J.A., Ferguson, J.M., Nickson, D.A., Eckersall, P.D. (1992). Comparison of endocrine changes and ultrasound as means of identifying ovulation in the bitches. *Res. Vet. Sci.*, 53, 74-99.

Tekin, N., Izgür, H., Özyurt, M. (1986). Köpeklerde vaginal smear yöntemiyle kızgınlık siklusu evrelerinin tanısı üzerine çalışmalar. *A. Ü.Vet. Fak. Derg.*, 33 (2), 198-209.

Tünay, R., Tekin N., Daşkın, A. (2002). Köpeklerde östrus ve en uygun tohumlama zamanının saptanmasında vaginal sekresyonda glukoz içeriğinin kriter olarak değerlendirilmesi, *A. Ü.Vet. Fak. Derg.*, 49 (2), 107-112.

Wright, P.J. (1991). Practical aspects of the estimation of the time of ovulation and of insemination in the bitch. *Aust. Vet. J.*, 68,1, 10-13.