

LABORATUVAR HAYVANLARINDA REPRODÜKSİYON

(DERLEME)

(Reproduction in Laboratory Animals)

(A Review)

Serpil SARIÖZKAN¹

¹Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü

ÖZET

Laboratuvar hayvanları, seksüel sikluslarının, östrus ve gebelik sürelerinin kısa oluşu, bakımlarının kolaylığı ve daha ucuza temin edilmesi gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca laboratuvar hayvanları üzerindeki deneyler yılın tüm mevsiminde başarıyla uygulanabilir. Laboratuvar hayvanları ilaç, toksikoloji, mikoloji, doku ve organ kültürü, immunoloji, onkoloji ve reproduktif biyoloji çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Dişi fareler ve ratlar (Aschheim- Zondek method) ile ergin dişi tavşanlardan (Friedman test) insanlarda gebeliğinin teşhisinde de yararlanılmaktadır. Bilimsel çalışmalarda kullanılacak laboratuvar hayvanlarının iyi bir fiziksel kondisyona sahip olması gerekir. Laboratuvar hayvanlarının performansları ve fiziksel durumları yaşadıkları yer, düzenli egzersiz, mikroçevre ve beslenme gibi faktörlere bağlıdır. Başarılı bir laboratuvar hayvanları yetiştiriciliği için reproduksiyonla ilgili bilgiler önem taşımaktadır. Bu derlemede bazı laboratuvar hayvanlarında reproduksiyonla ilgili bilgiler verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, laboratuvar hayvanları, östrus siklusu, reproduksiyon

SUMMARY

Laboratory animals has some advantages like shorter period of sexual cycle, oestrus and pregnancy, easier management and lower cost. Also experiments on laboratory animals can be applied succesfully in all seasons of the year. Laboratory animals have been used extensively for basic research in drug, toxicology, mycology, tissue and organ culture, immunology, oncology and reproductive biology. Female mice and rats (Aschheim- Zondek method) and adult female rabbits (Friedman test) are used to diagnose human pregnancy. Laboratory animals which will be used in the scientific researchs must be a good physical condition. The physical condition and performance of laboratory animals depends on such factors as their living space, orderly exercise, microenvironment and diet. Reproductive performance of some laboratory animals were reviewed.

Key Words: Laboratory animals, oestrus cycle, pregnancy, reproductio

GİRİŞ

Reproduktif biyoloji, rodentler, tavşanlar, primatlar ve çiftlik hayvanları gibi birçok memelide çalışılmaktadır. Türler arasında anatomi, fizyoloji, reproduktif organlar, seksüel siklus, ovulasyon, ejakulasyon yeri, gebelik periyodu, fetal beslenme, yavru sayısı, laktasyon periyodu, reproduktif hastalıklar ve yaşam uzunluğu yönünden farklılıklar bulunmaktadır (10).

Bu derlemede deneysel çalışmalara materyal teşkil eden çeşitli laboratuvar hayvanlarının kimi reproduktif özelliklerinden bahsedilmiştir.

TAVŞANLAR

Avrupa tavşanının atası *Oryctolagus cuniculus*'tur. Ortalama yaşam süreleri 5-6 yıl, üreme süresi 1-3 yıl kadardır. Vücut ağırlıkları Chinchilla, Flemish gibi büyük ırklarda 6.4–7.3 kg, California, Yeni Zelanda gibi orta büyüklükteki ırklarda 1.8–7.3 kg, küçük ırklarda ise 0.9–1.8 kg arasında değişir (13).

Uterus tamamen duplidedir, iki uzun uterus kornusu ve tamamen ayrı iki servikal kanalı olup, her birinin bir eksternal ve bir internal ağzı vardır (10). Ortalama büyüklükte bir erkek tavşanda sperma miktarı genellikle 0.5-1 ml, jel miktarı 1.7 gr/ejakulat, yoğunluğu

10-1000 x 10⁶ spp/ml (ortalama 700 x 10⁶ spp/ml) dur. Yaşayabilirlikleri ise 24-36 saat arasında değişir (21).

Cinsiyet Ayrımı

Erkekler yuvarlak bir uretral açıklıkla birlikte dışarı çıkan penis kılıfına, dişiler ise açıklıkla gerilip uzatılabilen vulvaya sahiptir (11).

Östrus Siklusu

Damızlıkta ilk kullanma yaşı erkeklerde 6 - 10 ay, dişilerde ise 4 - 9 aydır.

Rodentlerin aksine tavşanlar düzenli bir östrus siklusu göstermezler (11).

Foliküler siklusun, folliküler büyümenin ve ovulasyonun kontrolü tavşanlar gibi provake ovulasyona sahip olan hayvanlarda farklıdır (8). Ovulasyon kopulasyondan veya çeşitli uyarımlardan (LH, elektriksel uyarım, vaginanın mekanik uyarımı gibi) 10-13 saat sonra oluşur (11). Tavşanlar kopulasyonu takiben 9-13. saatlerde ovum bırakırlar. Tavşanlar atretik foliküllerin yerini alan yeni bir folikül dalgalanması sırasında, kısa bir inaktif periyodu (1-2 günlük) takiben 11-12 gün süren erkeği kabul periyoduna sahiptirler (16).

Gebelik

Tavşanlarda gebelik süresi 29-35 gündür. Gebeliğin yaklaşık 10-14. günlerinde ventral abdomenin palpasyonunda uterustaki bilye büyüklüğündeki fötüs fark edilebilir. Yavru sayısı 1-22 (ortalama 8) arasında değişir. Bazı dişiler yavru yeme (kanibalistik infantisit) eğilimi gösterirler. Bu durum herediter faktörlere, aşırı heyecan, plasentofaji, uygun olmayan çevre koşulları, düşük enerjili diyet, ilk kez doğurma veya dişinin rahatsız edilmesine bağlı olarak şekillenebilir (13).

Yalancı Gebelik

Yalancı gebelik LH enjeksiyonu, dişinin diğer bir dişiye veya yavrularını aşmaya çalışması veya steril çiftleşmeyi takiben şekillenebilir. 16-17 gün sürer. Yalancı gebelik süresince corpus luteum (CL) progesteron salgılar ve meme bezlerinin büyümesine neden olur(7).

Sun'i Tohumlama

Sperma, bir partnerin yardımıyla uyarılan erkek tavşandan haftada 2-3 kez alınabilir (19). Tohumlama dozunda 5-10 x 10⁶ motil spermatozoa içeren spermalar sulandırılarak sun'i tohumlamada kullanılmıştır (27). Tohumlamayı izleyerek ovulasyonu uyarmak için tohumlamadan önceki 5 saatlik sürede kulak venası içine LH enjeksiyonu, bir gonodotropin releasing hormonun intramusküler enjeksiyonu ya da dişinin vazektomize erkek tavşanla kopulasyonu sağlanmalıdır (25).

RATLAR

Ratlar, *Rattus Norwegicus*' tan köken almışlardır. *Rattus Norwegicus*, bilimsel amaçla sistematik olarak evcilleştirilmiş ilk memeli türüdür (23).

Ratlarda doğum ağırlığı 5-6 gram, ergin dişi vücut ağırlığı 250-300 gram, ergin erkek vücut ağırlığı 450-520 gramdır. Yaşama süreleri 2.5-3.5 yıl olup, erkek ve dişiler 65-110 günlük olduklarında üremede kullanılabilir. Üremede 9 ay/1 yıl kadar kullanılabilir (13,8). Ratlarda ovaryumlar, ovarian bursalar içinde yer alır. Periovarial aralık peritoneal boşluğa açılır (10, 28).

Ratların seksüel siklusunun kısa sürmesi, inaktif bir luteal faza sahip olması ve siklustaki olayların fotoperiyodik kontrol altında olmasıyla, spontane ovulasyon gösteren diğer memelilerden ayrılır (9). Pubertasa erişmemiş ratlarda devamlı ışığın kısa periyotlarla kullanılması FSH seviyesini artırırken, LH seviyesini baskılar. Uzun periyot ışık kullanımı ise her iki hormonu da baskılar (6). Erkek ratlarda spermatogonial hücreler doğumdan sonra yaklaşık 4. günde testis seminifer epitelyumunda ilerlerler. Spermatojenik siklus 48-52 günde tamamlanır (4).

Cinsiyet Ayrımı

Ratlarda cinsiyet ayrımı genital papilla ile anogenital aralığın büyüklüğü temeline dayanır (4).

Tablo: Ratlarda Ortalama Ano-genital Aralık (mm)

Yaş	Erkek	Dişi
Yeni Doğan	2.8	1.2
7 Günlük	5.2	2.7
14 Günlük	8.2	4.9
20 Günlük	12.0	7.0
42-50 Günlük	21.0	13.0

Östrus Siklusu

Ratlar poliöstrik sıklusa sahiptirler. Spontane ovulasyon görülmektedir (8). Ratların östrus siklusu 4-5 gün sürer. Östrus süresi yaklaşık 12 saattir. Östrus farelerde olduğu gibi geceleri oluşmaktadır. Whitten etki (dişi ratlarda, erkek kokusu ve varlığının etkisiyle östrusun uyarılması) ve senkronizasyon farelerden daha az gerçekleşmektedir (13).

Gebelik ve Doğum

Ratların çiftleşmelerinden sonra beyaz ve solgun bir kopulatör tıkaç, çiftleşme sonrası 12-24 saat kadar vaginada kalır. Gebeliğin tanısında vaginal tıkaç yanında çiftleşme sonrası alınan vaginal smearda spermatozoonların bulunması ya da gebeliğin 14. gününde meme gelişimi kullanılabilir (13).

Gebelik 21-23 gün sürmektedir. Gebelik süresi annenin laktasyonda olmasına ve yavru sayısının üçten fazla olmasına bağlı olarak 12-16 gün uzayabilir (4). Yavru sayısı 6-12 arasında değişir. Eğer doğumu izleyen birkaç günde aşırı gürültü, yüksek ses ile birlikte altlık materyali yetersiz ise rat yavrularını parçalayabilir (3).

Sun'i Tohumlama

Pernosteron ve yohimbin karışımının enjeksiyonu ratlarda ejakulasyona sebebiyet vermektedir. Parasempatomimetik ilaçların örneğin Pilokarpin ve parakloro amfetamin (PCA) kullanımı bu cevabı kolaylaştırır. Spermatozoa, epididimis (proksimal-distal kauda epididimis) ve vas deferensten ya da elektroejakulasyon ile toplanabilir (26).

Ratlarda semen miktarı 1-2 damla kadar olup yoğunluğu ejakulat başına $50-60 \times 10^6$ spermatozoa dolayındadır. Düşük sıcaklıklarda saklanma ve dondurma işlemi, fare ve rat spermatozoasında akrozom yapılarının genişliğine bağlı olarak başarısız olabilmektedir (4).

Ratlar cerrahi veya cerrahi olmayan tekniklerle tohumlanabilir. Biriktirilmiş spermatozoa uterus cornusunun yukarı kısmına ya da ovarium bursası içerisine enjekte edilebilir. Her iki teknikte de gebelik sağlanabilir (24).

FARELER

En yaygın laboratuvar faresi Rodentaların Mus cinsi, Mus alt cinsine ait ev fareleridir. Bilimsel adı *Mus domestecus domesticus*'dur (23). İki aylıkken pubertaya ulaşırlar. Üremede kullanım süresi 1-1.5 yıl kadardır. Vücut ağırlığı ergin erkeklerde 20-40 g, ergin dişilerde 25-40 g'dır. Üreme erkekte 50, dişide ise 50-60 günlük yaşta başlar. Yaşam süreleri 1.5-3 yıl kadardır. Farelerde ovariumlar şeffaf ovarian kapsül içinde böbreklerin arkasında yer alır (10, 8).

Cinsiyet Ayrımı

Ratlarda ve farelerde cinsiyet tayini genital papilla ile anogenital aralığın uzunluğu temeline dayanır (4). Erkeklerde genital papilla dişilerdekinden daha geniştir. Ayrıca dişilerde henüz 9 günlük iken şekillenen meme başları da ayırt edici bir özelliktir (13).

Östrus Siklusu

Laboratuvar fareleri yıl boyunca poliöstriktir. Seksüel siklusları 4-5 günde tamamlanır. Östrusları 9-20 saat kadar sürer. Östrus sırasında vaginal epitelyumda dikkate değer değişiklikler oluşur. Siklusun safhalarının tespitinde vaginal smear mükemmel bir indikatördür (4). Spontane ovulasyon östrusun başlangıcından 2-3 saat sonra gerçekleşir (8).

Farelerde çiftleşmenin olması vaginal tıkaçın görülmesiyle belirlenir. Bu tıkaç erkek veziküler ve koagulat bezlerinin sekresyonlarından oluşmuştur. Bu tıkaçın şekillenmesi dişinin ön hipofizinin sinirsel uyarımında bir rol oynar ve plasentasyon oluşana kadar aktif

korpus luteum sekresyonunu sağlar. Eğer ovum fertilize olmamışsa (13 gün) yalnız gebelik oluşur (4).

Gruplar halinde yaşayan dişiler bazen anöstrus periyoduna girebilirler. Bu durum feromonlarla engellenebilir. Farelerde reprodüktif feromonlar gonadlar ve idrar gibi ekstraktlarca sekrete edilebilir. Erkek farelerin idrarları iki feromonal etkiye sahiptir. İlk feromonal etki, prolaktin sekresyonunun inhibisyonuna bağlı olarak gebeliğin bloke edilmesidir (Bruce effect). İkinci feromonal etki ise (Whitten effect) gonadotropinlerin salıverilmesine bağlı olarak nonparous farelerde östrus siklusunun senkronizasyonu ve uyarılmasıdır (15).

Gebelik ve Doğum

Serviks ve vagina östrus sırasında uyarıldığında (mekanik veya çiftleşme ile) corpus luteumun progesteron salgılayabilmesi için ön hipofizden prolaktin salgır. Bu sekresyon plasenta tamamen gelişip progesteron üretimini üstleneceği zamana kadar yaklaşık 13 gün devam eder. Eğer fertilizasyon olmaz ise bu periyot yalnız gebelik olarak değerlendirilir (4).

Gebelik ilerledikçe (gebeliğin 11. gününde) memesel yapılar gelişir ve yavru palpe edilebilir hale gelir. Emzirmeyen bir dişide gebelik süresi 19-21 gün arasında değişir. Gebelik ve laktasyonun aynı zamanda meydana gelmesi implantasyonu geciktirir ve yavrunun büyüklüğüne bağlı olarak gebeliği 3-10 gün uzatabilir (4).

Sun'i Tohumlama

Farelerden sperma, epididimis ile vas deferensten cerrahi müdahalelerle ya da elektroejakulatör yardımıyla alınabilir. Sperma miktarı 1-2 damla olup, yoğunluğu ise ejakulat başına 50-60 x 10⁶ dolayındadır. Tohumlama cerrahi veya cerrahi olmayan tekniklerle yapılabilir. Cerrahi olmayan teknikte, spekulum yardımıyla serviksten uterusu sperma bırakılır (4). Fare spermasının dişiye intrauterin enjeksiyonunu takiben %78 dolayında gebelik elde edildiği bildirilmiştir (14).

GERBİLLER

Gerbiller Rodentilerin myomorpha alt takımındandır (23).

Gerbillerde, dişiler 9-12, erkekler 10-12 haftalık yaşta pubertaya erişirler. Ergin bir erkek gerbil 65-100 g, dişi gerbil 55-85 g ağırlığındadır. Doğum ağırlığı 2.5-3 g'dır. Yaşam süreleri 3-4 yıldır. Vaginal açılma 41. günde, testislerin skrotuma inmesi 28-45. günlerde gerçekleşir. Erkekte üremenin başlaması 70-85. günlerde, dişide 65-85. günlerdedir. Üremede kullanılma süreleri 12-17 ay veya 4-10 doğumdur. Bir doğumda doğan yavru sayısı 1-12 dir (13).

Cinsiyet Ayrımı

Sütten kesilmiş erkekler koyu bir skrotuma sahiptir. Ayrıca genital papilla ile anogenital aralık cinsiyet tayinini kolaylaştırır (4).

Östrus Siklusu

Gerbiller yıl boyunca reprodüktif aktive gösteren poliöstrik hayvanlardır. Gerbiller 10-12 haftalık yaşta ve yaklaşık 55-70 g ağırlıkta iken çiftleştirilirler. Östrus siklusu 4-6 gün sürer. Östrus ise 12-15 saat kadar sürmektedir (2). Dişi gerbillerde steril çiftleşme, servikal stimülasyonu takiben şekillenen yalnız gebelik 13-18 gün sürebilir (1).

Çiftleşmiş dişilerin vaginal smearlarında ise kopulasyon tıkaçının çıkmasını takiben çok sayıda spermatozoa görülür (20). Gerbillerde ovulasyon spontanedir. Ovulasyon östrusun başlangıcından 6-19 saat sonra meydana gelir (8).

Gebelik ve Doğum

Laktasyonda olmayan gerbillerde gebelik 24-26 gün sürer. Postpartum östrustan yararlanılması, gebelik ve laktasyonun aynı zamanda olmasına neden olur. Bu implantasyonun gecikmesine, gebelik periyodunun uzamasına yol açar (13).

Gebeliğin 12.-13. gününden itibaren vaginal smearda kan görülür ve bu durum doğuma kadar devam eder. Bu durum gebeliğin güvenilir bir kriteridir. Dişiler doğum

sonrası östrus gösterirler (postpartum östrus) ve doğumdan sonraki ilk üç gün içerisinde çiftleşirler. Bu çiftleşmelerin çoğunluğu (% 60-86) fertildir. Laboratuvarda yavrular 21 günlükten süten kesilirler (1).

Sun' i Tohumlama

Fare ve ratlardaki suni tohumlama teknikleri gerbillere de adapte edilmiştir. Araştırmacılar spermayı ergin erkeğin cauda epididimisinden elde etmişler ve dişinin cornularına enjekte etmişlerdir (18).

KOBAYLAR

Kobay, *Cavia porcellus*, küçük, bodur vücutlu, kısa bacaklı ve kuyruksuzdur. Kobayların seçici yemek yeme alışkanlıkları, vitamin C bağımlı diyetleri, uzun gebelik süreleri, büyük ve erken gelişen yetişkinleri ile özelleşmişlerdir (13).

Dişi kobaylarda iki internal servikal açıklık bir eksternal açıklıkla son bulur. İntestinal ve üriner kanallar fossa anovaginoüthralis denen bir oluğa açılır. Vajinanın alt son kısmı epitelyal membran ile sarılı olup, östrusta ve doğum sırasında periyodik olarak açılır (12).

Vücut ağırlığı ergin erkekte 900-1200 g, ergin dişide 700-900 g'dır. Doğum ağırlığı 70-100 g arasındadır. Yaşam süreleri 4-5 yıldır. Erkek kobayda üreme 3-4 aylık (600-700 g), dişide ise 2-3 aylık (350-450) yaşta başlar. 18 aylık-4 yaş arasında damızlıkta kullanılırlar (13).

Erkek kobaylarda seksüel davranışlar 30 günlükten görülmeye başlanır. Ejakulasyon için ortalama yaş 56. gündür. İlk fertil ejakulasyonun gözlemlendiği ortalama yaş 81 gündür. Testiste yapımı başlayan spermatozoa epididimiste tamamlanır. Spermatozoanın epididimis başından ductus deferens anterior sonuna ulaşması 14-18 gün alır (22).

Cinsiyet Ayrımı

Kobaylarda cinsiyet ayrımı için genital bölge civarına hafifçe basınç uygulanır. Erkeklerde penis veya testis palpe edilebilir

veya parmak basıncıyla penis ortaya çıkartılabilir. Dişi kobayın üretral orificiumu ile anüsü arasındaki çıkıntıda sığ, U şekilli östrus ve gebelik dışında kapalı olan vaginal membran vardır (13).

Östrus Siklusu

Kobaylar poliöstrik hayvanlar olup, siklusları 16-19 gündür. Östrus ise 6-15 saat sürmektedir. Dişilerin çoğunda doğumdan 2-15 saat sonra östrus görülür (postpartum östrus). Eğer bu dönemde çiftleşirlerse % 60-80 oranında gebelik oluşabilmektedir (22).

Gebelik ve Doğum

Kobaylarda gebelik 59-72 gün sürer. Gebeliğin süresi yavrunun büyüklüğüne bağlıdır. Kısa gebelik süresi yavrunun büyük olması ile ilgilidir. Kobaylarda doğum için yuva yapılmaz. Bir doğumda yavru sayısı 1-6 arasında değişir. Kobaylarda yalancı gebelik nadirdir, olduğunda ise 17 gün kadar devam edebilir. Yavrular 18-21 günde veya 180 g ağırlığa ulaştıklarında süten kesilirler (13).

Sun' i Tohumlama

Kobay yetiştirme programında, suni tohumlama kullanılmasının bir avantajı yoktur. Suni tohumlama uygulanmış kobayların % 84' ünde gebeliğin sağlandığı bildirilmiştir. Bu teknikte erkekler öldürülerek, epididimisleri alınmış, 2ml'lik Locke solusyonunda epididimis diseke edilmek suretiyle spermatozoa toplanmıştır (5). Sperma östrustaki dişiye, dişinin tutulmasını takiben vajinadan verilir (22).

HAMSTERLER

Hamster Rodentia takımının Cricetidae ailesinin 7 alt grubundan biri olarak tanımlanır. (23). Vücut ağırlığı ergin erkek hamsterlerde 85-130 g, dişilerde 95-150 g'dır. Doğum ağırlıkları ise 2 g düzeyindedir. Yaşam süreleri 18-24 aydır. Üreme erkekte 10-14, dişide ise 6-10 haftalık yaşta başlar. Yetiştirmede 10-12 ay (5-7 doğum) kullanılabilir (13).

Golden hamsterler bipolar elektrotlarla uyarıldıklarında 0,01-0,02 ml ve 180000-280000 spp/ml ve % 60 motilitede sperma verirler (17).

Cinsiyet Ayrımı

Erkek hamsterlerin arka kısımları skrotal keselerin varlığından dolayı yuvarlaktır. Dişilerin arkaları ise kuyruğa doğru yönelmiş durumdadır. Karın kısmının aşağısına uygulanan hafif bir baskı, testislerin meydana çıkmasını sağlar. Erkekler dişiden daha büyük bir anogenital aralığa ve genital papillaya sahiptirler. Erkeklerde bulunan flank organı, dişinkilerden daha pigmentlidir. Pigmentasyondaki bu yoğunluk erkek cinsiyet hormonu androjen aktivitesinin bir ürünüdür (13).

Östrus Siklusu

Golden hamsterlar 32-42 günde seksüel olgunluğa erişirler. Ancak üreme genellikle dişi 6-10 haftalığa, erkek ise 10-14 haftalığa gelinceye kadar ertelenir (13). Hamsterler poliöstrik olup, yaklaşık 4 gün süren bir östrus siklusuna sahiptirler. Spontane ovulasyon, östrus başlangıcından 8-12 saat sonra gerçekleşmektedir. Postpartum östrus genellikle ovulasyonsuz olduğundan infertildir. Fertil bir östrus doğumu takiben 2-18. günlerde gerçekleşir (8).

Gebelik ve Doğum

Golden hamsterlarda gebelik 15-16 gün sürer. Gebelik, hamsterlarda gebeliğin 5-9. günlerinde ovulasyon sonrası, zayıf, yarı şeffaf bir mukusun varlığının incelenmesiyle doğrulanabilir. Hamsterler gebe olsun olmasın yuva kurma eğilimindedirler. Aktif yuva yapma, hormonal fonksiyonların artmasıyla birlikte doğum ve laktasyonu artırabilir. Yavrular genellikle 21-30. günlerde süttten kesilirler (17).

Sonuç olarak laboratuvar hayvanları, seksüel sikluslarının kısa oluşu, reproduktif organları ve fizyolojileri açısından manipulasyonlara uygunlukları nedeniyle bilimsel çalışmalarda tercih edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Allanson M** (1970) *Gerbils*: In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 13.
- Barfield MA, Beeman AE** (1968) *The oestrous cycle in the Mongolian Gerbil, Meriones Unguiculatus*. Journal of Reproduction and Fertility, 17, 247-251.
- Barnett SA, Burn J** (1970) *Maternal and Infant Behavior*. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 9.
- Bennet JP, Vickery BH** (1970) *Rats and Mice*. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 17.
- Blandau RJ, Young WC** (1939) *The effects of delayed fertilization on the development of the guinea pig ovum*. American Journal of Anatomy, 64: 303-329.
- Campbell CS, Schwartz NB** (1980) *The impact of constant light on the estrous cycle of the rat*. Endocrinology. 106 (4): 1230-8
- Fischer B, Winterhager E, Bush LC** (1986) *Transformation of endometrium and fertility in the late stages of pseudopregnancy in the rabbit*. Journal of Reproduction and Fertility, 78 (2) 529-540
- Fox RR, Laird JW** (1970) *Sexual Cycles*. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 5.
- Freeman ME** (1988) *The Ovarian Cycle of the Rat*. In: Physiology of Reproduction. Ed: E. Knobil and J. Neill. Raven Press. New York. Chapter 45.
- Hafez ESE** (1970a) *Female Reproductive Organs*. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 4
- Hafez ESE** (1970b) *Rabbits*. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 16.
- Hafez ESE** (1987) *Reproduction in Farm Animals*. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 17.
- Harkness JE, Wagner JE** (1989) *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents* 3rd ed. Philadelphia, London. Chapter 2-4.
- Kile JC** (1951) *An improved method for the artificial insemination of mice*. Anatomical Record, 109, 109-110.
- Kovacic NMI** (1970) *Endocrinology of Reproduction*. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 1

16. **Litvinova LB** (1993) *The sexual cycle in reflexively ovulating rabbits*. Fiziologicheskii Zhurnal Imeni IM Sechenova, 79 (3) 103-8
17. **Magalhaes H** (1970) *Hamsters*. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 15.
18. **Marston JH, Chang MC** (1966) *Morphology and timing of fertilization and early cleavage in the Mongolian gerbil and deer mouse*. Journal of Embryology Experimental Morphology, 15,169-191.
19. **Morrel JM** (1995) *Artificial insemination in rabbits*. British Veterinary Journal, 151(5)477-488.
20. **Norris ML, Adams CE** (1981) *Time of mating and associated changes in the vaginal smear of the post-parturient Mongolian Gerbil (Meriones Unguiculatus)*. Laboratory Animals, 15 (2): 193-8
21. **Orgebin-Christ MC** (1968) *Gonadal and epididymal sperm reserves in the rabbit estimation of the daily sperm production*. Journal of Reproduction and Fertility, 15, 15-25.
22. **Phoenix CH** (1970) *Guinea Pigs*. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 14.
23. **Poyraz Ö** (1997) *Laboratuvar Hayvanları Yetiştiriciliği*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları. Teksir No:1
24. **Saito TR, Hokao R, Wakafuji Y, Igarashi N, Agematsu Y, Takahashi KW** (1996) *Parachloroamphetamine (PCA) induced ejaculation in aged rats, semen analysis and artificial insemination*. Laboratory Animals, 30 (4) 332-336
25. **Sevinç A** (1973) *Tavşanlarda Sun'i Tohumlama*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Dergisi 10 (1) 135-144.
26. **Slott VL, Suarez JD, Perreault SD** (1991) *Rat sperm motility analysis: metodologic considerations*. Reproductive Toxicology, 5 (5) 449-458.
27. **Tekin N, Keskin O, Aksu A** (1991) *Tavşanlarda Sun'i Tohumlama*. Doğa- Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 15: 349-360.
28. **Yockim JM, Shirer HW** (1981). *Evidence for a photoperiod-sensitive pacemaker for estrous cycle of the rat*. American Journal of Physiology, 241 (3) E261-7.