بررسی ایجاد فحلی و میزان آبستنی در سگ ماده‌ی ژرمن شیپرد با استفاده از ترکیب گنادوتروفین‌های PMSG, HCG

سیامک علیزاده[1*]، مرتضی علوی شوشتری[2]، عبدالرضا رستگارنیا[3]

چکیده

به منظور ایجاد استروس در سگها هورمون PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropine) روانه به میزان IU/Kg ۲۰ به مدت ۵ روز به شش قلاده سگ ماده ژرمن شیپرد با آنستروس طبیعی به روش عضلانی تزریق گردید و روز ششم هم هورمون HCG (Human Chorionic Gonadotropine) با دوز ۱۰۰۰IU به صورت زیرجلدی تزریق شد. پنج سگ ماده در عرض ۷ ـ ۳ روز علائم پرواستروس واضحی را نشان دادند. از این تعداد چهار سگ ماده استروس طبیعی با تخمک‌گذاری را نشان داده و آبستن شدند و ۸۵ ـ ۷۲ روز بعد از شروع درمان توله‌های طبیعی به دنیا آوردند. تغییرات سلول‌شناس واژن در طی دوره درمان از نوع سلولهای پارابازال، بینابینی کوچک، بزرگ و وجود نوتروفیل به سمت مشاهده غالبیت سلولهای بینابینی بزرگ، گلبول قرمز و کم شدن نوتروفیل بود و در انتهای دوره درمان و بعد از آن به سمت سلولهای سطحی هسته‌دار و بدون هسته بود. نتایج خونگیری روز اول و آخر درمان با کیتهای پزشکی چندان دقیق نبود و نیاز به کیت‌های تخصصی دامپزشکی در این زمینه می‌باشد. در این بررسی میزان استروس۸۳درصد و آبستنی۶۵ درصد بود. نتایج نشان می‌دهد که PMSG و HCG در ایجاد استروس سگها می‌تواند موثر باشد.

واژگان کلیدی: فحلی، سگ ماده، PMSG، HCG، آبستنی.

مقدمه

امروزه مراجعات زیادی توسط صاحبان دام‌های کوچک برای ایجاد استروس در سگ به کلینیسین‌های دامپزشکی انجام می‌گیرد. تا به حال در این خصوص روش بالینی مشخص و با کارائی خوبی وجود نداشته است. گزارشات مختلف حاکی از متغییر بودن نتایج بدست آمده در کارهای انجام گرفته توسط محققین مختلف می‌باشد (۹،۱۰ و ۱۸).

سگ حیوانی با منواستروس غیر وابسته به فصل بوده و دوره‌ی آنستروس۱۰ ـ ۲ ماهه را متعاقب زایمان و یا چرخه‌های غیرآبستنی نشان می‌دهد. معمولاً فواصل

۱- عضو هیأت علمی گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نقده
۲ـ عضو هیأت علمی گروه مامایی و بیماریهای تولید مثلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه اورمیه
۳ـ عضو هیأت علمی گروه مامایی و بیماریهای تولید مثلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اورمیه
*-نویسنده مسئول s_alizadeh01@yahoo.com

بین استروس در سگ بین۱۲– ۵ ماه متغیر می‌باشد. برای ایجاد استروس خارج از فصل سگ روشهایی نظیر استفاده از GnRH و یا آگونیست‌های GnRH، آگونیست‌های دوپامین، استروژن، گنادوتروفین‌هایی مثل FSH، LH و HMG و... گزارش شده است (۱،۱۵و۱٦). با وجود این در بعضی موارد نتایج از نظر بالینی رضایت بخش نمی‌باشد. از طرف دیگر هورمون‌هایی که برای این منظور لازم هستند در دارونامه‌ی(فارماکوپه‌ی) دامپزشکی بسیاری از کشورها وجود ندارند (۱۷،۱۹).

بیشتر تحقیقات با گنادوتروفین‌هایی مثل PMSG و HCG صورت گرفته است که احتمالاً به دلیل قابل دسترس بودن این هورمون‌ها در خیلی از کشورها بوده است(۱،۱۵،۱۷و۱۹). در این خصوص نظر به اینکه در کلینیک‌های ما هم مراجعات زیادی در این خصوص وجود دارد سعی بر آن شد که یک ارزیابی اولیه بالینی در خصوص استفاده از این هورمونها صورت گیرد. امید است که با کارهای وسیع‌تر و دقیق‌تر از لحاظ بالینی و آزمایشگاهی گام‌های ارزنده‌ای در این مورد برداشته شود.

مواد و روش‌کار

مواد لازم: هورمون PMSG (با نام تجاری Chrono - gest ساخت کارخانه Intervet هلند) و هورمون HCG (با نام تجاری Chorulon ساخت کارخانه Intervet هلند)، شش قلاده سگ ماده به ظاهر سالم از نژاد ژرمن شیپرد با سابقه آنستروس، سرنگ ۵ میلی لیتری، سواب، لام، پنبه و الکل.

روش کار: به منظور ایجاد استروس شش قلاده سگ به ظاهر سالم نژاد ژرمن شیپرد با سابقه آنستروس که صاحبانشان متقاضی ایجاد استروس و آبستنی بودند تحت درمان قرارگرفتند. متوسط وزن سگ‌های تحت آزمایش۳۰ ـ ۲۵ کیلوگرم بود. سوابق تولید مثلی سگ‌های تحت درمان در جدول۱ آمده است.

جدول شماره ۱ـ سوابق تولید مثلی سگ‌های تحت درمان

سگ	سن	وزن (کیلوگرم)	تاریخ آخرین زایمان	ملاحظات
۱	حدود ۳ سال	۱۴	۷ ماه قبل	علائم فحلی توسط صاحب دام تا روز شروع درمان دیده نشده بود. حیوان از نظر جثه ضعیف بود.
۲	حدود ۲/۵ سال	۱۸	-	سابقه علائم فحلی را قبلاً داشته (حداقل ۵ ماه قبل) اما جفتگیری نکرده بود. وضعیت جسمانی دام خوب بود.
۳	۴ ساله	۲۰	حدود یک سال قبل	علائم فحلی توسط صاحب دام تا روز شروع درمان دیده نشده بود. وضعیت جسمانی دام خوب بود .
۴	۳ ساله	۱۸	۶ ماه قبل	پس از زایمان علائم فحلی از دام دیده نشده و وضعیت جسمانی حیوان خوب بود.
۵	۵ ساله	۲۰	۱ سال قبل	اواخر آبستنی سابقه سقط داشته است.چند ماه قبل از شروع درمان بنا به اظهاردامدار علائم فحلی دیده شده است اما سابقه جفتگیری نداشته است.وضعیت جسمانی دام خوب بود.
۶	۶ ساله	۲۲	۲ سال قبل	پس از زایمان علائم فحلی دیده شده است.آخرین فحلی بنا به اظهار دامدار حداقل ۷ ماه قبل دیده شده است.وضعیت جسمانی دام خوب بود.

برای ایجاد فحلی ابتدا هورمون PMSG با دوز ۲۰IU/Kg به مدت ۵ روز متوالی به روش عضلانی تزریق گردیده و سپس در روز ششم هورمون HCG با دوز ۱۰۰۰ IU/Dog به صورت زیرجلدی تزریق گردید(۱). تمامی سگ‌های تحت آزمایش در محل اصلی نگهداری خودشان تحت درمان و بازرسی‌های بعدی قرار گرفتند. به صاحبان دام‌ها آموزش داده شده بود که هرگونه تغییر علائم رفتاری، ترشحات خونی از فرج و ... را ثبت وگزارش‌کنند. سگ‌های تحت درمان همه روزه برای ارزیابی تورم و خون‌ریزی فرج و تغییر علائم رفتاری تحت مشاهده قرار می‌گرفتند و هرگونه علائم مشاهده شده ثبت می‌گردید.

تهیه گسترش مهبلی(اسمیر واژنی)

به منظور ارزیابی مراحل چرخه‌های فحلی سگ‌های تحت آزمایش از روز اول درمان تا روز آخر درمان (قبل از تزریقات هورمونی) و چند روز متعاقب آن با استفاده از روش سواب پنبه‌ای، گسترش مهبلی (اسمیر واژن) تهیه می‌گردید. برای این منظور ابتدا لبه‌های فرج را به آرامی به وسیله یک دست جدا کرده و با دست دیگر یک سواب پنبه‌ای را از زاویه بالای فرج به داخل برده، ابتدا نوک پنبه را به آرامی در سطح خلفی پشتی واژن برای اجتناب از ورود به حفره کلیتوریس فشار داده و سپس آن را در جهت قدامی- پشتی به طرف ستون مهره‌ها ادامه داده تا از روی قوس ورکی عبور کند. سپس سواب را در یک سمت چرخانده و اقدام به خارج کردن آن می‌شد. این عمل به آرامی و در زمان کوتاه انجام می‌گرفت. پس از خارج کردن سواپ، آنرا به آرامی از یک انتهای لام شیشه‌ای به طرف دیگر کشیده و برای حصول اطمینان سعی می‌شد سواب ۲ الی ۳ بار روی لام کشیده شود. در ضمن از هر سواب، دو یا سه نمونه تهیه می‌شد. سپس نمونه‌ها در مجاورت هوا خشک می‌شدند و برای رنگ‌آمیزی به آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نقده ارسال و از تکنیک رنگ‌آمیزی رایت برای این منظور استفاده می‌گردید. نتایج بررسی سلول‌های واژنی در مراحل مختلف چرخه در جدول شماره۲ آمده است.

جدول شماره ۲ـ نتایج بررسی سلول‌های واژنی در مراحل مختلف چرخه‌های تولید مثلی

نوع سلولها / سگ	روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم	روز پنجم	روز ششم
۱	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	بینابینی کوچک‌وبزرگ، پارابازال، نوتروفیل	بینابینی کوچک و بزرگ،RBS،نوتروفیل	بینابینی بزرگ وسطحی،RBS	بینابینی بزرگ‌و سطحی بیشتر می‌شوند
۲	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	بینابینی کوچک‌وبزرگ، پارابازال، نوتروفیل	بینابینی کوچک‌و بزرگ،RBS،نوتروفیل	بینابینی بزرگ و سطحی،RBS	بینابینی بزرگ و سطحی بیشتر می‌شوند
۳	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	بینابینی کوچک‌وبزرگ، پارابازال، نوتروفیل	بینابینی کوچک‌و بزرگ،RBS،نوتروفیل	بینابینی بزرگ و سطحی،RBS	بینابینی بزرگ و سطحی بیشتر می‌شوند
۴	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	بینابینی کوچک‌وبزرگ، پارابازال، نوتروفیل	بینابینی کوچک‌و بزرگ،RBS،نوتروفیل	بینابینی بزرگ و سطحی،RBS	بینابینی بزرگ و سطحی بیشتر می‌شوند
۵	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	پارابازال،بینابینیکوچک و بزرگ، نوتروفیل	بینابینی کوچک‌وبزرگ، پارابازال،نوتروفیل	پارابازال،بینابینی کوچک و بزرگ، نوتروفیل	بینابینی کوچک وبزرگ،پارابازال ،نوتروفیل	بینابینی کوچک و بزرگ،پارابازال، نوتروفیل
۶	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	پارابازال،بینابینی کوچک، نوتروفیل کم	بینابینی کوچک‌وبزرگ، پارابازال، نوتروفیل	بینابینی کوچک و بزرگ،RBS، نوتروفیل	بینابینی بزرگ و سطحی،RBS	بینابینی بزرگ و سطحی بیشتر می‌شوند

خون‌گیری

برای ارزیابی میزان پروژسترون خون در سگ‌های تحت درمان هر روز قبل از تزریق هورمونی اقدام به خونگیری می‌گردید. به این ترتیب که حیوان با استفاده از تزریق داروی آسه‌پرومازین ۲٪ (با دوز ۰/۲ mg/kg) آرام می‌شد و سپس اقدام به تراشیدن و ضدعفونی محل آناتومیکی ورید سفالیک می‌شد. با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتر خونگیری صورت می‌گرفت. نمونه خون بلافاصله به آرامی از سرنگ به داخل لوله استریل آزمایشگاهی منتقل می‌شد و در داخل یخ خشک به آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه ارومیه برای جدا سازی سرم و اندازه‌گیری میزان پروژسترون انتقال می‌یافت. نتایج حاصل از خونگیری و اندازه‌گیری پروژسترون با استفاده از روش رادیوایمنواسی در جدول شماره ۳ آمده است.

جدول شماره ۳- نتایج حاصل از خونگیری و اندازه‌گیری پروژسترون

مقادیر پروژسترون (ng/ml) / سگ	روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم	روز پنجم	روز ششم
۱	۰/۶	۱	۱/۵	۲/۵	۴	۵
۲	۱۱/۴	۱۰/۳	۹	۹/۵	۷/۷	۶/۹
۳	۴/۴	۴/۴	۳/۵	۳/۵	۴/۱	۴/۲
۴	۱۷/۳	۱۴/۴	۱۰/۱	۵/۵	۷/۲	۵/۹
۵	۴/۲	۴/۲	۴/۹	۵/۱	۴/۷	۴/۹
۶	۴/۲	۵/۱	۵/۱	۵/۳	۵/۴	۵/۵

نتایج

نتایج حاصل از تزریق هورمون‌های PMSG و HCG برای ایجاد فحلی و نتایج حاصل از وضعیت آبستنی سگ‌های تحت درمان در جداول شماره۵ و٤ به تفصیل آورده شده است.

جدول شماره ٤ـ نتایج حاصل از تزریق هورمون‌های PMSG و HCG برای ایجاد فحلی

سگ	ملاحظات
۱	علائم تورم فرج، وجود ترشحات خون آلود در فرج و علائم رفتاری را از روز چهارم نشان داد که در نهایت فحل شد و ۱۰ الی ۱۴ روز بعد اجازه جفت‌گیری داد و متعاقباً آبستن شد.
۲	روز چهارم ترشحات خونی فرج را همراه با تورم لبه های فرج نشان داد و از روز پنجم ترشحات خونی کاهش یافت و روز ششم هیچ ترشحی در فرج وجود نداشت. این سگ پس از دوره درمان سگ نر را جذب نکرد و اجازه جفت گیری نداد.
۳	روز چهارم تورم فرج و ترشحات خونی دیده شد. روز پنجم ترشحات واضح خونی دیده شد و روز ششم ترشحات کاهش یافت. این سگ هم ۱۰ الی ۱۴ روز بعد اجازه جفت گیری و پرش را به سگ نر داد و متعاقباً آبستن شد.
۴	روزهای سوم و چهارم ترشحات خونی و تورم فرج واضح بود و از روز پنجم به بعد ترشحات خونی کم شد. این سگ هم علائم کامل فحلی را نشان داد و حدود ۱۰ الی ۱۴ روز بعد اجازه جفتگیری به سگ نر را داد و متعاقباً آبستن شد.
۵	این سگ در نتیجه تزریقات روزهای سوم و چهارم تورم فرج را نشان داد ولی خونریزی مشاهده نشد. این سگ بعد از درمان اجازه جفت گیری به سگ نر را نداد.
۶	تورم فرج و ترشحات خونی را از روز چهارم نشان داد و حدود ۱۰ الی ۱۴ روز بعد از آن اجازه جفت گیری را به سگ نر داد و متعاقباً آبستن شد.

جدول ۵ ـ نتایج حاصل از وضعیت آبستنی سگ‌های تحت درمان

شماره سگ	استروس	آبستنی	تعداد توله ها	ملاحظات
۱	+	+	۵	زایمان طبیعی
۲	+	-	-	
۳	+	+	۳	زایمان طبیعی
۴	+	+	۳	زایمان طبیعی اما بنا به اظهار دامدار ۱۲ ساعت پس از زایمان توله‌ها توسط مادر خورده شده بودند.
۵	-	-	-	
۶	+	+	۱	سخت زایی در هنگام زایمان ومرگ توله

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از هورمون‌های PMSG و HCG در ایجاد استروس نشان می‌دهد که کارائی روش بکارگرفته شده در ایجاد استروس و آبستنی قابل قبول می‌باشد. پنج قلاده از شش قلاده سگ تحت درمان علائم استروس را نشان دادند. از این تعداد چهار قلاده سگ هم آبستن شدند. امروزه استفاده از PMSG و HCG برای ایجاد فحلی در خیلی از کشورها به دلیل قابل دسترس بودن این فرآورده در فارماکوپه دامپزشکی این کشورها رایج می‌باشد(۱۵،۱). بررسی انجام گرفته نشان می‌دهد که میزان استروس ۸۵ درصد و میزان آبستنی ٦۵ درصد در سگ‌های تحت درمان بوده است. اما نکته مهم دیگر میزان توله‌زایی در سگهای تحت درمان ما بود که میزان توله‌زایی پایینی داشتند. در این خصوص می‌توان بحث بهترین زمان جفت‌گیری از لحاظ توله‌زایی را مطرح نمود (٦). تهیه گسترش مهبلی برای مشخص کردن زمان جفت‌گیری اهمیت بسزایی دارد (١٤). از این روش می‌توان برای تفریق پرواستروس، استروس و دی‌استروس سگ‌های ماده استفاده نمود. نتایج حاصل از گسترش مهبلی در روزهای اول حاکی از غالبیت سلولهای تحت بررسی از نوع پارابازال، بینابینی کوچک و بزرگ به همراه نوتروفیل بوده که با ادامه روند درمان تیپ سلولها به سمت سلولهای سطحی، بینابینی بزرگ و بدون هسته تا حدی گلبول قرمز و عدم مشاهده نوتروفیل پیش می‌رفت که براساس اخذ سابقه تولید مثل از صاحب دام آنستروس بودن آنها تایید می‌شد. با ادامه روند تزریق PMSG در سگ‌هایی که نتایج مثبتی از آنها گرفته شد غالبیت سلولها از پارابازال، بینابینی و وجود نوتروفیل به سمت روئیت سلولهای سطحی و بدون هسته، گلبول‌های قرمز و عدم وجود نوتروفیل پیش می‌رفت. وجود سلولهای سطحی بزرگ و بدون هسته بیش از ۸۰٪ نشان دهنده استروس می‌باشد. در طی دوره درمان میزان پروژسترون روز اول و روز آخر(یا روز ششم درمان) مورد بررسی قرارگرفت. نکته‌ای که حائز اهمیت بود نتایج میزان پروژسترون نمونه‌ها زیاد دقیق نبود. در سگ شماره ۱ مقادیر پروژسترون از ۰/٦ ng/ml (یعنی زیر ۱ ng/ml) به سمت ۵ ng/ml افزایش یافت که دقیقاً مطابق با روندی بود که ما انتظار داشتیم ولی در سگ‌هایی که نتایج مثبتی از لحاظ ایجاد فحلی گرفته شد نتایج میزان پروژسترون زیاد دقیق نبود. شاید به دلیل اختصاصی نبودن کیت‌های تشخیص طبی پزشکی باشد که به ناچار استفاده کردیم.

اکثریت سگ‌ها بین۱۰ الی ١٤ روز بعد از مشاهده اولین علائم پرواستروس تخمک‌گذاری می‌کنند بر این اساس سعی کردیم جفت‌گیری سگ‌هایی که استروس را نشان دادند در این فاصله زمانی انجام گیرد. لازم به یادآوری است از آنجائیکه این فاصله زمانی یعنی شروع پرواستروس تا تخمک‌گذاری ثابت نیست و از۳۰ـ۵ روز متغییر می‌باشد بنابراین می‌بایستی جفتگیری سگ ١٦ـ١٢ روز بعد از شروع پرواستروس انجام گرفته باشد. نظر به اینکه امکان ارزیابی مقادیر LH و پروژسترون خون بطور دقیق میسر نشد (بدلیل عدم وجود کیت‌های نوع دامپزشکی در آزمایشگاه) بهترین زمان جفت‌گیری نیز مشخص نگردید.

احتمالاً بهترین زمان برای جفت‌گیری بلافاصله پیش از دوره Fertilization و یا از یک روز قبل تا ٦ـ ۵ روز بعد از قلیان LH باشد (۱۷). در سگ‌های نرمال ۱۳ـ۱۱ روز بعد از شروع خون‌ریزی عمل تخمک‌گذاری شروع می‌گردد. در طی ٤٨ ساعت بعد از تخمک‌گذاری بهترین زمان برای جفت‌گیری و یا تلقیح مصنوعی با اسپرم رقیق شده می‌باشد. اعتقاد بر این است که میزان توله‌زایی در این پریود بیشتر باشد(۱۷ و ۱۸).۷۰ ـ٦۰ ساعت بعد از تخمک‌گذاری (زمانی‌که میزان پروژسترون بالایng/ml ۷ است) بهترین زمان برای جفت‌گیری می‌باشد. چون امکان دسترسی به کیت‌های مذکور و آزمایشگاه اختصاصی در این مورد میسر نمی‌باشد امکان بررسی دقیق‌تر زمان جفت‌گیری نیز فراهم نگردید. صرفاً

بر اساس غالبیت درصد سلول‌های سطحی واژن در پاپ اسمیر و بر اساس طول مدت بعد از شروع علائم پرواستروس اجازه جفت‌گیری داده شد. در این بررسی میزان استروس۸۳ درصد و آبستنی٦٥ درصد بود. نتایج نشان می‌دهد که PMSG و HCG در ایجاد استروس سگها می‌تواند موثر باشد.

پیشنهادات

لزوم بررسی وسیع و کامل از لحاظ کلینیکی و پاراکلینیکی در خصوص استفاده از هورمون‌های گنادوتروفینی در ایجاد استروس.

لزوم کارهای تحقیقی وسیع‌تر بر روی دوزهای PMSG و HCG و مدت زمان تزریق هر یک از آنها برای افزایش کارائی روش فوق از لحاظ میزان آبستنی و توله‌زایی.

ارزیابی دقیق‌تر زمان جفت‌گیری در روش‌های بکارگرفته شده برای افزایش شاخص‌های باروری و تعمیم دادن این روش به عنوان یک روش بالینی برای درمانگاه و آموزش آن برای صاحبان دام.

منابع

1- Arnold, S., Arnold, P., Concannon, P.W., Weilenmann, R., Hubler, M., Casal, M., Dobeli, M., Fa iburn, A., Eggenberger, E., and Rusch, P. 2003. Effect of duration of PMSG treatment on induction of estrus, pregnancy rates and the complication of hyper- oestrogenism in dogs. J. repord. Fertil. Suppl.39: 115-112.

2- Arthur, G.H, Noakes. D. E. Pearson. H; Parkinson. T. 1999 Veterinary Reproduction and Obstetrics, seventh. Edition. W. B Saunders. C.L.PP.30-35.

3- Chaffaux S, Locci D, Pontois M, Deletang F, Thibier M. 1989 Induction of ovarian activity in anoestrus bitches. Br Vet J; ۱۴۰:191-195.

4- Concannon PW: 1998 Canine pregnancy and parturition. Vet Clin north Am (Small Animal Pract) 16:453.

5- De Coster R, et al: 1993 A Homologous radioimmunoassay for canine prolactin-plasma levels during the reproductive cycle. Acta Endocrinal 103:477.

6- England G.C.W., Allen WE: 1989 Real-time ultrasonic imaging of the ovary and uterus of the dog. J Reprod Fertil 39 (Suppl):91.

7- Feldmen,E.C;Nelson.R.W. 2002 Canine and Feline Endocrinology and Reprodution, W.B.Sunders. PA,section seven,P.P 525-546.

8- Hofftman. B; Riesenbeck. A; Kelin. R: 1996: Reproductive Endocrinology of bitches. Animal. Rep. Sci. (42). PP 275-288.

9- Jochle, W., Arbieter, K., Ballabio, R. and D'VER, a. s. 2000 J. Repord. Ferrtil. Suppl., 39.199.

10- Johnston SD, 1985 Canine theriogenology. J Soc Therriogenal 11:1.

11- Moses DL, Shile VM: 2004 Indution of estrus in bitches with prolonged idiopathic anestrous. JAVMA 192:1541.

12- Okkens, A. C., Bevers, M., Dieleman, S. and Willemse, S. 2005 Vet. Quart, 7, 173.

13- Okkens. AC 2005 shortening of the intereostrous interval and the lifespan of the corpus luteum in the cyclic dog by bromocriptine treatment. Vet Q 7: 173.

14- Olson PN,et al. 1989 Vaginal cytology. Part I. Its use in diagnosing canine reproductive disorders. Comp Cont Ed Pract vet 6:385.

15- Rayan EA, Enns L: 1998 Role of gonadotropine hormone in the induction of estrus, J Clin Endocrinal metab 67:344.

16- Talwar G, 2003 Bioeffective monoclonal antibody against the gonadotropin releasing hormone: Reacting determinant

and action on ovulation and estrus suppression. Proc Natl Acad Sci 82:1228.

17- Vanderlip SL, 2003 Ovulation induction in anestrous bitches by pulsatile administration of GnRH. Lab Animal Sci 27: 459.

18- Verstegen, J, P., Onclin, K., Silva, L.D.M. and Donnary. I. 1994 J. Reprod. Fertil. Suppl., 47,411.

19- Vickery B, McRae G: 2001 Effect of synthetics PG analogus on pregnancy in bitches, Biol Repord 22:438.

20- Worgul TJ, 1999 Evidence that brain aromatization regulates LH secretion in the male dog. Am. J. Physiol 241: E246.