



## Effect of Different Cooling Rates on Embryo Survivability and Pregnancy Rates in Freezing Sheep Embryos<sup>#</sup>

Elif KARAMAN ÖZTÜRK<sup>1</sup>, Kamber DEMİR<sup>2</sup>, Ramazan ARICI<sup>2</sup>, Sema BİRLER<sup>2</sup>,  
Serhat PABUCCUOĞLU<sup>2</sup>, Mithat EVECEN<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Öztürkler Veterinary Clinic, 39400, Vize, Kırklareli, TURKEY

<sup>2</sup>Department of Reproduction and Artificial Insemination, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University, 34320, Davacılar, Istanbul, TURKEY

\*Sorumlu Yazar /  
Corresponding Author:

Mithat Evecen  
e-mail: evecen@istanbul.edu.tr

Geliş Tarihi / Received:  
12 October 2015

Kabul Tarihi / Accepted:  
17 December 2015

**Anahtar Kelimeler:**  
Koyun, embriyo transferi, soğutma hızı, embriyo dondurma

**Key Words:**  
Sheep, embryo transfer, cooling rate, embryo freezing

### Abstract

In the first stage of the study, oocytes obtained from ovaries from abattoir (n=2990) were incubated in maturation medium for 24 h. The matured oocytes were left for *in vitro* fertilization (IVF) for 20 hours. The cleaved embryos (n=1305) were left for *in vitro* culture (IVC) for six days. Then morula-blastocyst stage embryos divided randomly in three groups (Grup I: 0.5°C/min, Grup II: 0.8°C/min, Grup III: 1°C/min). Embryos in each group (n=50) were frozen at different cooling rates in 1.5 M ethylene glycol containing freezing medium. As a result, 0.5°C/min cooling rate group was found as the most successful group (p<0.05). In the second stage of the study, *in vivo* embryos (morula-blastocyst) derived from donor sheep were frozen at 0.5 °C/min. Frozen-thawed thirteen embryos were transferred to hormonally pretreated seventeen recipients. At the 60<sup>th</sup> day of the transfer, three recipients were diagnosed as pregnant and one of them had twins. One of the three recipients gave birth and two sheep had early embryonic loss, are observed in the later ultrasound scanning. In the study, 0.5°C/min cooling rate in the slow freezing of sheep embryos was found out to be more successful cooling rates and pregnancy following a healthy lambing is achieved

### Özet

#### Koyun Embriyolarının Dondurulmasında Farklı Soğutma Hızlarının Embriyoların Canlılığı ve Gebelik Oranları Üzerindeki Etkisi

Çalışmanın ilk bölümünde, mezbahtan sağlanan ovaryumlardan kazanılan oositler (n=2990) olgunlaştırma medyumunda 24 saat süreyle olgunlaştırıldı. Ardından, 20 saat süreyle *In Vitro* Fertilizasyona (İVF) bırakıldılar. Yarıklanma gösteren embriyolar (n=1305), Sentetik Ovidukt Fluid (SOF) medyumuna içerisinde alınıp altı gün süresince *In Vitro* Kültüre (İVK) bırakıldılar. İVK sonrası elde edilen morula-blastocyst aşamasındaki embriyolar rastlantısal şekilde üç farklı dondurma hızı grubuna eşit olarak ayrıldılar (Grup I: 0,5 °C /dk, Grup II: 0,8 °C /dk, Grup III: 1 °C /dk). Her bir gruptaki embriyolar (n=50), 1,5 M etilen glikol bulunan dondurma medyumunda içerisinde farklı soğutma hızlarında donduruldu. Sonuçta 0,5 °C/dk soğutma hızının en başarılı grup olduğu belirlendi (p < 0,05). Çalışmanın ikinci bölümünde, verici koyunlardan elde edilen *in vivo* embriyolar (Morula-Blastosist) çalışmanın birinci bölümünde bulunan en başarılı soğutma hızı (0,5 °C /dk) ile soğutularak donduruldu. Dondurulan 19 adet embriyo hormonal olarak hazırlanmış 17 alıcı koyuna transfer edildi. Transfer sonrası 60. günde yapılan ultrason muayenesinde üç adet koyunda gebeliklere ait embriyonik keseler gözlemlendi ve bu koyunlardan birinde de ikiz gebelik saptandı. Gebe koyunlardan bir tanesinde doğum gerçekleşti; diğer iki koyunda ise ileriki dönemde yapılan ultrason muayenesinde gebeliklerin sonlandığı gözlemlendi. Çalışma sonucunda, koyun embriyolarının dondurulması sırasında 0,5°C/dk soğutma hızının en başarılı hız olduğu ve bu yöntemle dondurulan embriyoların transferinden de gebelik elde edilebildiği saptandı.

# This study is summarized from the first author's PhD work and was supported by the Research Fund of Istanbul University (Project No: 6662)











