

Produksi Embrio *In Vivo* Di Balai Embrio Ternak (BET) Cipelang dan Tren Perkembangan Embrio Transfer Global

Irma¹, Siti Darodjah¹, Nena Hilmia¹, Oloan Parlindungan², Ani Rosmayanti², Sri Wahyuni Siswanti², Septaria Jodiansyah², Darlian Fachruddin², Laelatul Choiriyah², Sikin², Weni Kurniati², Cece Sumantri³

¹ Program Studi Pascasarjana Ilmu Peternakan, Fakultas Peternakan,
Universitas Padjadjaran Bandung
Jl. Raya Bandung - Sumedang Km. 21
email: irma_fapetipb@yahoo.co.id

² Balai Embrio Ternak Cipelang, Bogor
Jl. KH. Halimi, Pasir Pogor, Desa Cipelang, Cijeruk, Bogor
³ Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis, Babakan, Dramaga, Kabupaten Bogor

Submit 2 Maret 2022, Review 16 Maret 2022, Revisi 19 Maret 2022, Diterima 21 Maret 2022

Abstrak

Perkembangan pasar global genetik mengalami perubahan strategi, tumbuhnya perusahaan genetik skala besar, kemajuan inseminasi buatan mendorong industrialisasi pasar embrio ternak. Hal tersebut berdampak kepada meningkatnya permintaan produksi embrio. Tujuan tulisan ini yaitu menyediakan gambaran perkembangan produksi embrio *in vivo* di BET Cipelang, Bogor, Indonesia dan meninjau perkembangan embrio transfer global. Produksi embrio *in vivo* berasal dari data sekunder tahun 2014-2020 dari BET sedangkan perkembangan embrio transfer dunia berasal dari asosiasi. Perolehan ova (oosit dan embrio) per superovulasi di BET berkisar antara 7-10 ova/flushing (rata-rata 8 ova) dengan embrio layak transfer antara 3-5 embrio/flushing (rata-rata 4 embrio). Persentase embrio layak transfer antara 36%-54% (rata-rata 48%). Efisiensi superovulasi produksi embrio *in vivo* bovidae di dunia tahun 2019 menunjukkan jumlah ova dan embrio layak transfer yaitu 10 ova/flushing, dengan embrio layak transfer sekitar 6 embrio/flushing. Secara umum, rataan produksi embrio *in vivo* dan embrio layak transfer meningkat setiap tahun. Tren produksi embrio dunia meningkat setiap tahun dengan embrio *in vivo* mengalami penurunan diiringi peningkatan embrio *in vitro*.

Kata Kunci: superovulasi, flushing, embrio, sapi, *in vivo* derived

Abstract

The development of the global genetic market has changed in strategy, large-scale genetic companies, and artificial insemination has driven the industrialization of embryo market. As a result, the demand for embryo production is increasing. The purpose of this report is to briefly explain the current situation of the *in vivo* embryo production at the Livestock Embryo Centre (LEC), and review the development trends of global embryo transfer. *In vivo* embryo production data comes from secondary data for 2014-2020 from the LEC, while world transfer embryo development data comes from embryo transfer association. The average of ova (oocyte and embryo) ranged from 7-10 ova/flushing (averages 8 ova) with transferable embryos ranging from 3-5 embryos/flushing (average 4 embryo). Percentage of transferable embryo ranged from 36%-54% (averages 48%). Estimated numbers of ova and transferable embryos per flush in the world were 10.5 and 6.4 in 2019, respectively. In general, the average production of *in vivo* embryos and transferable embryos at LEC increases every year. Trend of world embryo production increases while *in vivo* embryo decreased accompanied by an increase in *in vitro* embryo production.

Keywords: superovulation, flushing, embryo, cattle, *in vivo* derived

Pendahuluan

Balai Embrio Ternak Cipelang merupakan Unit Pelaksana Teknis Kementerian Pertanian yang mempunyai tugas dan fungsi memproduksi dan mendistribusikan

embryo di Indonesia. Produksi embrio dilaksanakan secara *in vitro* dan *in vivo*. Embrio kemudian di transfer ke sapi resipien menggunakan teknologi embrio transfer. Embrio yang diproduksi dan didistribusikan mengacu standar kualitas internasional

International Embryo Transfer Society (IETS) dan Standar Nasional Indonesia Nomor 7880:2013 tentang Embrio Ternak: Sapi.

Bioteknologi transfer embrio meningkatkan mutu genetik dalam program pemuliaan ternak karena sumber semen dan sel telur berasal dari pejantan dan betina unggul. Interval generasi menjadi pendek sehingga kemajuan genetik lebih cepat. Embrio transfer meningkatkan efisiensi reproduksi betina dimana secara alamiahnya hanya mengovulasikan satu sel telur. Keberhasilan embrio transfer berhubungan dengan faktor terkait kualitas embrio, resipien dan interaksi antara embrio dengan resipien (Lamb, 2005). Produsen embrio di dunia memproduksi embrio seefisien mungkin. Berdasarkan FAO (2014), Belanda menempati urutan pertama dalam hal intensitas penggunaan teknologi transfer embrio relatif terhadap populasi sapi di negara tersebut (Tabel 1).

Tabel 1. Intensitas (%) Transfer Embrio Sapi

Negara	Produksi Embrio	Populasi (juta)	%
Belanda	38.637	4.2	0.93
Kanada	87.113	12.2	0.71
Luksemburg	1.282	0.198	0.64
Amerika	506.626	88.5	0.57
Finlandia	3.617	0.914	0.40

Sumber: FAO (2014)

Produksi dan distribusi embrio di Indonesia dilaksanakan Balai Embrio Ternak yang berlokasi di dataran tinggi Gunung Salak Bogor (1.250 dpl). Harga embrio sapi menurut Peraturan Pemerintah Nomor 35 Tahun 2016 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan Negara Bukan Pajak yang Berlaku pada Kementerian Pertanian yaitu Rp 600.000/dosis untuk embrio teregistrasi. Harga tersebut jauh lebih rendah dibandingkan harga embrio *in vivo* di Amerika yaitu 150 Dolar atau embrio *in vitro* yaitu 200-250 Dolar¹. Spesifikasi embrio yang dihasilkan BET berasal dari sapi donor dan sapi pejantan unggul dengan silsilah yang lengkap, sehat dan bebas penyakit menular, dikemas dalam straw transparan ukuran 0.25ml, setiap straw berisi satu embrio dikemas lengkap dengan identitas embrio, dan sesuai SNI.

Kualitas embrio merupakan salah faktor berkaitan dengan produksi embrio. Embrio *in vivo* memiliki kualitas lebih baik dalam jumlah sel, morfologi, pertumbuhan dan kemampuan berkembang pasca pembekuan (Marsico et al., 2019). Embrio *in vitro* secara umum menunjukkan penurunan kualitas akibat

penurunan kemampuan perkembangannya yang berhubungan dengan *cryosurvival* pasca pembekuan. Diduga hal ini disebabkan oleh morfofungsional, seluler dan kompetensi molekuler (Marsico et al., 2019). Menurut Pontes et al. (2009), embrio *in vivo* menghasilkan tingkat kebuntingan lebih tinggi dibandingkan embrio *in vitro*. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Sartori et al. (2016) yang menunjukkan embrio *in vivo* menghasilkan tingkat kebuntingan lebih tinggi pada usia 30 dan 60 hari kebuntingan, kematian fetus dan keguguran yang lebih rendah, dan tingkat kesehatan kelahiran pedet yang lebih baik. Saat ini, studi tentang performa produksi embrio *in vivo* di Indonesia masih terbatas sehingga tujuan dari paper ini yaitu mengeksplorasi produksi embrio *in vivo* yang dihasilkan oleh BET dan mengkaji tren perkembangan produksi embrio dunia.

Materi Dan Metode

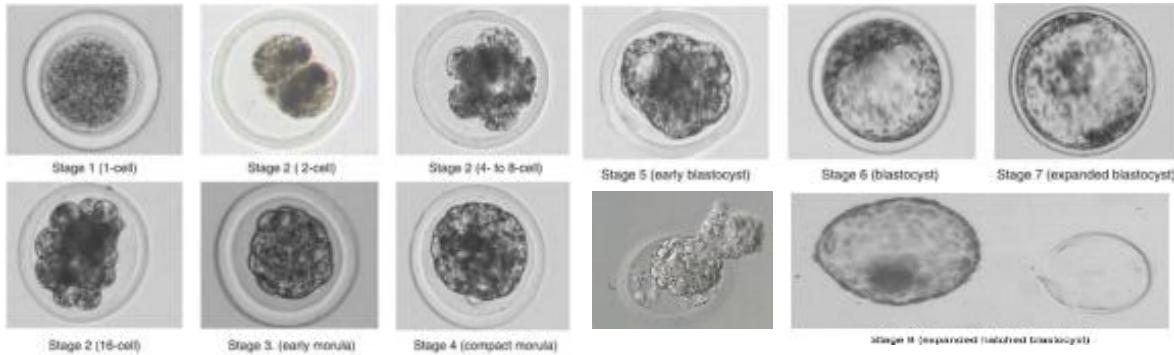
Produksi embrio *in vivo* tahun 2014-2020 berasal dari data sekunder yang tersedia di kanal resmi informasi publik Balai Embrio Ternak Cipelang. Produksi embrio terdiri dari jumlah embrio layak transfer, degeneratif, tidak terfertilisasi, dan total perolehan embrio dan oosit. Produksi embrio di dunia diperoleh dari data statistik yang dikeluarkan oleh asosiasi embrio transfer dunia (*International Embryo Transfer Society*) atau negara yang bersangkutan (*American Embryo Transfer Association* di Amerika dan *Brazilian Embryo Technology Society* di Brazil).

Hasil Dan Pembahasan

Penilaian Kualitas Embrio. Penilaian kualitas embrio berdasarkan tahap perkembangan dan tingkatan kualitas embrio. Kriteria baku standar kualitas embrio mengacu kepada IETS (Gambar 1). Kualitas embrio ditentukan secara visual berdasarkan karakteristik morfologis. Prediksi terbaik viabilitas embrio yaitu tahap perkembangan relatif terhadap hari terjadi fertilisasi (Philips, 2016).

Karakteristik yang mempengaruhi kualitas embrio yaitu bentuk embrio yang bulat, kompaksi blastomer, variasi jumlah sel, warna dan tekstur sitoplasma, diameter, keberadaan sel yang rusak, bentuk zona pelusida, dan keberadaan vesikel (Troxel, 2018). Perkembangan embrio terdiri dari tahap 1 (osit tidak terbuahi) sampai tahap 9 (*Expanded hatched blastocyst*) sedangkan grade terdiri dari kualitas 1 (sangat baik) sampai 4 (buruk) (Tabel 2). Deskripsi dari

masing-masing kualitas 1 hingga kualitas 4 dijelaskan pada Tabel 3 menurut kriteria IETS



Gambar 1. Tahapan Perkembangan Embrio Preimplantasi (Sumber: IETS, 2010)

Tabel 2. Kode Tahapan Perkembangan dan Kode Kualitas Embrio

Tahap Perkembangan Embrio		Kualitas Embrio	
Kode	Tahapan	Kode	Deskripsi
1	Tidak terbuahi (unfertilized)	1	Sangat Baik/Baik
2	2-12 sel	2	Cukup
3	<i>Early morula</i>	3	Buruk
4	<i>Morula</i>	4	Mati/degeneratif
5	<i>Early blastocyst</i>		
6	<i>Blastocyst</i>		
7	<i>Expanded blastocyst</i>		
8	<i>Hatched blastocyst</i>		
9	<i>Expanded hatched blastocyst</i>		

Sumber: IETS (2010)

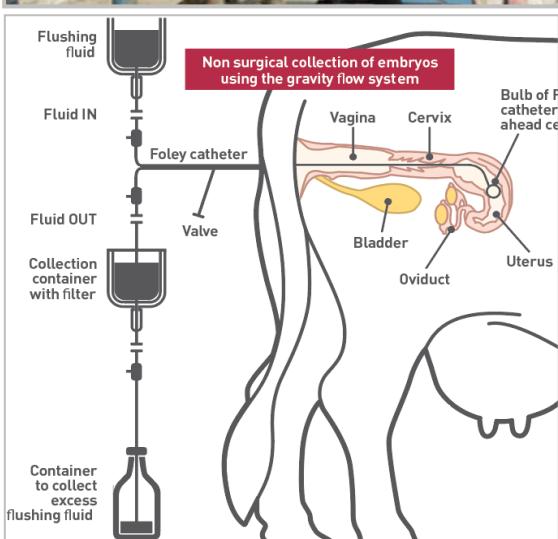
Tabel 3. Deskripsi Kualitas Embrio

Kode	Deskripsi	Penjelasan
1	Sangat baik atau baik (<i>Excellent</i> atau <i>Good</i>)	Stadia perkembangan embrio sesuai dengan stadia pada waktu recovery setelah estrus. Massa embrio simetris dan bulat dengan individual sel sel blastomer yang seragam dalam ukuran, warna, dan kepadatan. Ketidakaturan relatif minor dan paling sedikit 85% material seluler utuh dan merupakan massa embrio yang hidup. Penilaian tersebut harus berdasarkan proporsi sel sel embrio yang keluar dari ikatan kelompok blastomer yang masuk ke ruang perivitelin. Zona pelusida harus mulus dan tidak memiliki bentuk konkaf atau permukaan mendatar yang dapat menyebabkan embrio menempel ke cawan petri atau plastrik straw
2	Cukup (<i>Fair</i>)	Tingkat ketidakaturan sedang dalam semua bentuk massa embrio atau dalam ukuran, warna, dan kepadatan dari sel sel embrio. Paling sedikit 50% selular material harus utuh dan merupakan massa embrio yang viabel.
3	Buruk (<i>Poor</i>)	Tingkat ketidakaturan parah dalam semua bentuk massa embrio atau dalam ukuran, warna, dan kepadatan dari sel sel embrio. Paling sedikit 25% selular material harus utuh dan merupakan massa embrio yang viabel.
4	Mati/ <i>degenerating</i>	Embrio-embrio yang mengalami degenerasi, oosit, atau embrio-embrio satu sel, tidak viabel.

Sumber: IETS (2010)

Kriteria embrio layak transfer yaitu embrio dengan tahapan morula (tahap 4) hingga blastosis ekspand (tahap 7) dengan kualitas 1 dan 2. Embrio kualitas 3 ditransfer segar atau dikultur untuk perkembangan selanjutnya. Namun demikian, menurut Hasler (2014), tahap perkembangan embrio ke-6 dan 7 memiliki tingkat kebuntingan lebih tinggi dibandingkan tahap 4, 7, 8 pada sapi dari Holstein.

Produksi Embrio *In Vivo*. Produksi embrio *in vivo* meliputi seleksi sapi donor (performa, kesehatan, dan status reproduksi), superovulasi, inseminasi buatan (IB), dan pemanenan embrio (*flushing*). Pemanenan embrio dilakukan secara transervikal non bedah (*nonsurgical*) metode gravitasi irigasi (Gambar 2). Produksi embrio *in vivo* dan rataan produksi embrio per superovulasi disajikan Tabel 4 dan 5.



Gambar 2. Produksi Embrio *In Vivo* dan Pemanenan Non Bedah di BET-Tampak Luar (atas) dan ilustrasi tampak dalam saluran reproduksi sapi (bawah) (Sumber: <https://www.repro360.com.au/reproductivetechnologies/et>, diakses 15 Januari 2022)

Tabel 4. Produksi dan Kualitas Embrio *In Vivo*

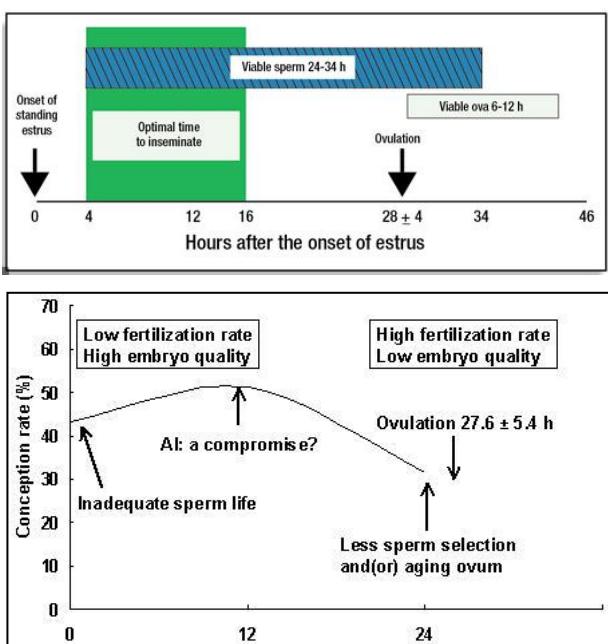
Tahun	Jumlah Embrio (%)			Total
	Layak Transfer	Mati	Tidak terfertilisasi	
2014	716 (36.13)	547 (27.60)	719 (36.27)	1.982
2015	1.237 (45.29)	683 (25.01)	811 (29.70)	2.731
2016	960 (50.16)	318 (16.61)	636 (33.23)	1.914
2017	877 (49.55)	416 (22.99)	486 (27.46)	1.770
2018	859 (47.70)	356 (23.10)	526 (29.20)	1.801
2019	994 (52.56)	419 (18.83)	541 (28.61)	1.891
2020	1.045 (53.92)	419 (21.62)	474 (24.46)	1.938
Rataan	955 (48%)	449 (22%)	599 (30%)	2.004 (100%)

Tabel 5. Rataan Produksi Embrio per Aplikasi Program Superovulasi atau Flushing

Tahun	Produksi Embrio			Σ
	Layak Transfer	Mati	Tidak terfertilisasi	
2014	3	2	3	8
2015	3	2	2	7
2016	4	1	3	8
2017	4	2	2	8
2018	5	2	3	10
2019	4	1	2	7
2020	5	2	2	9
Rataan	4	2	2	8

Percentase embrio layak transfer meningkat tahun 2014-2016 dan 2018-2020. Tahun 2017 mengalami penurunan. Hal tersebut terjadi karena pada tahun 2017, 34 ekor donor dari total 227 donor (14.98%) menunjukkan tidak respon terhadap perlakuan superovulasi. Tidak responnya donor berdampak kepada menurunnya perolehan embrio (*recovery rate*). Rata-rata jumlah donor yang disuperovulasi di BET periode 2014-2020 yaitu 257 ekor, dengan gambaran tingkat respon 77.85%, tidak respon 8.23% dan *non-recovery* (tidak diperoleh embrio) 13.84% (Data tidak ditampilkan). Rata-rata produksi oosit dan embrio setiap tahun yaitu 2.004 ova yang terdistribusi hampir 48%-nya adalah embrio layak transfer (Tabel 4). Efisiensi superovulasi pada donor menghasilkan rataan jumlah ova yaitu 8 buah dengan 4 diantaranya layak transfer (50%).

Embrio tidak layak transfer dapat disebabkan faktor tidak terfertilisasi dan degeneratif pada saluran reproduksi betina. Jumlah embrio tidak layak transfer berkisar 3-5 ova. Oosit tidak terfertilisasi kemungkinan terjadi akibat kerusakan sperma, transportasi sel telur, dan kualitas oosit yang sub-optimal. Tingginya angka persentase embrio degeneratif diduga disebabkan rendahnya fertilisasi (Sartori, 2004). Proses fertilisasi sperma dan sel telur ditentukan oleh kualitas viabilitas kedua sel gamet yang melebur pada waktu yang tepat pada periode fertil (Gambar 3). Sel sperma fertil yang membawa oosit matang yang telah mengalami *aging* atau sebaliknya, sel sperma yang mulai mengalami penurunan kualitas yang membawa sel telur matang berdampak kepada kualitas perkembangan embrio selanjutnya (Gambar 3).



Gambar 3. Viabilitas Sel Gamet (Atas) dan Tingkat Keberhasilan Fertilisasi pada saat Inseminasi Buatan (Bawah). Sumber Gambar: <https://www.progressivedairycanada.com/topic/s/a-i-breeding/timing-of-insemination-depends-on-method-of-heat-detection> (Atas) dan <https://dairy-cattle.extension.org/strategies-for-success-in-heat-detection-and-artificial-insemination/> (Bawah)

Tindakan untuk meningkatkan fertilitas dan mengurangi oosit tidak terfertilisasi dilakukan BET diantaranya melakukan IB pada waktu gejala estrus muncul jelas, dan melaksanakan IB hingga 3 kali. Sinkronisasi estrus dilakukan pada sapi donor yang akan disuperovulasi sehingga ketepatan waktu

estrus semakin presisi. Metode sinkronisasi estrus yang dilakukan diantaranya dengan pemasangan preparat progesteron intravaginal selama 11 hari seperti Cue-Mate (2 silicon pod =1.56g progesteron).

Menurut Hasler (2014), embrio dengan kualitas 1, 2 memberikan tingkat kebuntingan tertinggi. Namun demikian, kualitas embrio hanya merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kebuntingan. Terdapat faktor lain yaitu resipien dan interaksi embrio dengan resipien (Lamb, 2005). Menurut Rizos *et al.* (2002), embrio *in vivo* menghasilkan tingkat perkembangan blastosis lebih baik dibandingkan embrio *in vitro*. Marsisco *et al.* (2019) menambahkan bahwa kualitas embrio *in vivo* memiliki kualitas lebih baik. Penelitian Pontes *et al.* (2009) menunjukkan tingkat kebuntingan lebih tinggi pada resipien yang menerima embrio *in vivo*. Keunggulan lain embrio *in vivo* yaitu tingkat kematian fetus dan keguguran lebih rendah (Sartori *et al.*, 2016). Penyebabnya dapat ditelusuri dari perbedaan mendasar kedua metode tersebut dimana embrio *in vivo* di produksi secara alami di dalam reproduksi betina dibandingkan embrio *in vitro* (maturasi dan fertilisasi terjadi di dalam media kultur buatan) yang membuat embrio mudah terpapar resiko lingkungan luar.

Berdasarkan IETS Data Retrieval Committee (2020), efisiensi superovulasi produksi embrio *in vivo* bovidae di dunia menunjukkan jumlah ova dan embrio layak transfer per flushing sekitar 10.5 ova dan 6.4 embrio (Tabel 6). Hal tersebut menunjukkan persentase embrio layak transfer sekitar 60%. Benua Amerika (Utara dan Selatan) merupakan regional tertinggi yang memproduksi embrio dengan hampir 90% embrio dunia. Tren produksi embrio di dunia selama dua dekade terakhir meningkat dengan produksi embrio *in vitro* mendominasi (sekitar 73%).

Tabel 6. Produksi Embrio *In Vitro* dan *In Vivo* Dunia Tahun 2019

Wilayah	In Vitro	Embrio <i>In Vivo</i>		
		Flushing	Koleksi Ova	Layak Transfer
Afrika	3.645	1.071	6.616	4.413
Asia	0	26	115	94
Eropa	62.009	19.338	187.248	124.892
Amerika	955.433	40.053	442.771	258.370
Oceania	10.480	0	0	0
Total	1.031.567	60.488	636.750	387.769

Sumber: IETS (2020).

Berdasarkan Tabel 7, persentasi embrio viabel Regional Amerika rata-rata 58% (148.012 embrio viabel dari total 252.469 ova

yang dikoleksi). Rataan produksi ova *in vivo* kumulatif (perah maupun pedaging) di BET sama dengan rataan total produksi ova *in vivo* sapi perah Amerika yang mencapai 8 ova, namun lebih rendah dibandingkan rataan untuk pedaging yang mencapai 12 ova. Jumlah embrio layak transfer tahun 2020 yang sama yaitu 5 embrio baik di BET maupun di Amerika yaitu 5 embrio (perah), namun lebih rendah dibandingkan embrio layak transfer untuk pedaging yaitu 7 embrio (AETA, 2020).

Tabel 7. Produksi Embrio *In Vitro*, *In Vivo*, Efisiensi per superovulasi di Amerika Tahun 2020.

Tipe	In Vitro	In Vivo		
		Koleksi	Ova (x)	Viabel (x)
Perah	196.831	8.415	67.398 (8)	41.298 (5)
Pedaging	104.317	15.519	185.071 (12)	106.084 (7)
Total (Rataan)	301.148	23.934	252.469 (10)	148.012 (6)

Sumber : AETA (2021)

Brazil merupakan negara industri peternakan besar dunia di Benua Amerika, sekitar 208 juta populasi sapi dan 10.7 juta ton daging sapi di produksi negara tersebut (ABIEC, 2014). Produksi embrio *in vivo* relatif stabil selama 15 tahun dengan kisaran produksi 30.000-40.000 embrio/tahun. Sedangkan produksi embrio *in vitro* meningkat drastis dari 2.000 embrio di tahun 2000 menjadi 353.539 embrio di tahun 2015, yang merepresentasikan hampir 60% dari produksi

embrio dunia (Sartori *et al.*, 2016, Vianna *et al.*, 2017). Produksi embrio sapi perah didominasi dari sapi *Bos taurus*, sedangkan embrio pedaging memiliki porsi hampir sama baik *Bos taurus* maupun *Bos indicus* (Tabel 8). Tabel 8. Produksi Embrio *In Vitro* dan *In Vivo* di Brazil Tahun 2015

Tipe dan Bangsa	Embrio		Total
	<i>In Vivo</i>	<i>In Vitro</i>	
Perah			
<i>indicus</i>	172	13.481	13.653
<i>taurus</i>	5.759	188.853	194.612
Subtotal	5.931	202.334	208.265
Pedaging			
<i>indicus</i>	2.042	81.636	83.678
<i>taurus</i>	14.382	69.569	83.951
Subtotal	16.424	151.205	167.629
Total	22.355	353.539	375.894

Sumber: Viana *et al.* (2017)

Produksi embrio *in vivo* dipengaruhi banyak faktor diantaranya bangsa, umur, paritas dan status reproduksi. Selain itu, kualitas semen, waktu ketepatan pelaksanaan IB dan kemampuan inseminator dapat berpengaruh (Lamb, 2005). Tabel 9 merangkum penelitian produksi embrio *in vivo* dari faktor berkaitan dengan efisiensi superovulasi pada berbagai bangsa sapi. Berdasarkan perlakuan yang diujicobakan, terlihat rataan produksi embrio layak transfer bervariasi dari 2-10 embrio. Rataan jumlah produksi embrio *in vivo* layak transfer di BET tahun 2014-2020 dalam rentang tersebut yaitu berkisar 3-5 embrio.

Tabel 9. Produksi Ova (Embrio dan Oosit) dan Embrio Layak Transfer Program Superovulasi Pada Sapi

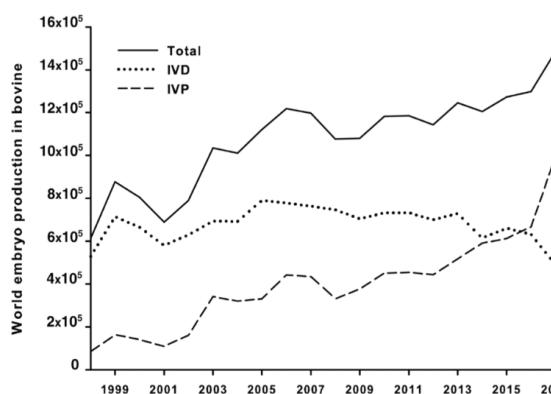
Perlakuan pada Superovulasi	Total embrio, oosit	Embrio layak transfer	Jenis Sapi	Referensi
Tipe Sapi				
Pedaging	9.2 ± 0.8	4.2 ± 0.4	Belgian Blue	Leroy <i>et al.</i> (2005)
Perah	10.2 ± 1.1	6.1 ± 0.7	FH	Leroy <i>et al.</i> (2005)
Kombinasi Hormon				
FSH	11.7 ± 2.5	5.7 ± 1.4	Bonsmara	Barajas <i>et al.</i> (2019)
FSH + 800 IU eCG	9.6 ± 1.5	5.3 ± 1.0	Bonsmara	Barajas <i>et al.</i> (2019)
FSH + 600 IU eCG	6.1 ± 1.1	4.3 ± 1.0	Bonsmara	Barajas <i>et al.</i> (2019)
Lama FSH				
Empat hari	11.3 ± 2.0	4.2 ± 1.5	Crossbred	Garcia <i>et al.</i> (2012)
Tujuh Hari	13.8 ± 2.3	6.3 ± 1.6	Crossbred	Garcia <i>et al.</i> (2012)
Frekuensi FSH/Hari				
Dosis dua kali	12.1 ± 0.6	6.7 ± 0.4	Angus, Brangus,	Rogan <i>et al.</i> (2010)
Dosis Tunggal	11.1 ± 0.8	6.4 ± 0.5		Tribulo <i>et al.</i> (2010)
Preparat progesteron				
Preparat CIDR	12.7 ± 1.1	8.7 ± 0.9	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2005)
Preparat DIB	13.6 ± 1.0	9.8 ± 0.9	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2005)
Dosis Hormon LH				
Dosis 25 mg	13.3 ± 1.3	9.8 ± 1.1	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2005)
Dosis 12.5 mg	13.2 ± 0.9	9.2 ± 0.8	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2005)
Pelepasan preparat				

P-12 tanpa GnRH	9.0 ± 1.1^a	5.0 ± 0.6	Angus	Chesta (2010)
P-24	21.2 ± 4.8	9.2 ± 2.4	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2002)
P-24 + GnRH	12.1 ± 1.3^b	5.8 ± 0.7	Angus	Chesta (2010)
P-36	17.7 ± 3.7	10.3 ± 1.9	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2002)
P-42	7.1 ± 1.5	5.1 ± 1.2^a	Nelore	Barros dan Nogueira (2001)
P-48	12.6 ± 1.9	7.2 ± 1.1	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2000)
P-54	4.5 ± 1.7	2.8 ± 1.3^b	Nelore	Baros <i>et al.</i> (2001)
P-60	10.5 ± 1.6	5.7 ± 1.3	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2000)
Waktu tunda LH				
LH 12 jam	7.5 ± 1.0	5.1 ± 0.5^a	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2002)
LH 24 jam	6.2 ± 1.0	3.1 ± 0.5^b	Nelore	Nogueira <i>et al.</i> (2002)
Frekuensi IB				
IB 1 kali	8.2 ± 0.9	4.3 ± 0.7	Nelore	Baruseli <i>et al.</i> (2006)
IB 2 kali	7.2 ± 0.8	4.2 ± 0.6	Nelore	Baruseli <i>et al.</i> (2006)
Dosis FSH				
Dosis 100 mg	10.0 ± 7.8	7.7 ± 7.4	Nelore	Baruseli <i>et al.</i> (2003)
Dosis 133 mg	9.9 ± 7.0	5.6 ± 4.1	Nelore	Baruseli <i>et al.</i> (2003)
Dosis 200 mg	10.6 ± 8.6	6.5 ± 7.7	Nelore	Baruseli <i>et al.</i> (2003)
Status Donor				
Dara	7.4 ± 0.7	3.6 ± 0.4	Holstein	Velazquez <i>et al.</i> (2005)
Induk	10.9 ± 1.5	6.5 ± 1.2	Holstein	Velazquez <i>et al.</i> (2005)
Tipe Donor				
Induk pedaging	14.7 ± 3.0	10.3 ± 2.5	Pedaging	Bader <i>et al.</i> (2005)
Induk perah	7.0 ± 1.8	4.3 ± 1.4	Holstein	Tangavelu <i>et al.</i> (2007)
Dara pedaging	8.8 ± 0.0	5.8 ± 0.0	Pedaging	Childs <i>et al.</i> (2008)
Induk perah	7.9 ± 1.1	3.1 ± 0.5	Holstein	Petit <i>et al.</i> (2008)
Interval Flushing				
28-30 hari	11.1 ± 0.5	6.5 ± 0.3	-	Bó dan Mapletoft (2014)
31-45 hari	9.8 ± 0.4	6.1 ± 0.3	-	Bó dan Mapletoft (2014)
46-60 hari	10.9 ± 0.5	6.2 ± 0.3	-	Bó dan Mapletoft (2014)
61-90 hari	9.2 ± 0.7	5.1 ± 0.5	-	Bó dan Mapletoft (2014)
91-180 hari	9.5 ± 0.8	6.1 ± 0.3	-	Bó dan Mapletoft (2014)
Bangsa Donor				
Holstein	7.6 ± 2.1	4.5 ± 2.4	Holstein	Darlian (2021)
Belgian Blue	10.4 ± 5.0	7.8 ± 5.8	Belgian Blue	Darlian (2021)
Simmental	9.8 ± 5.3	6.8 ± 4.4	Simmental	Darlian (2021)
PO	9.7 ± 4.9	3.5 ± 2.6	PO	Imron (2016)
Brahman	13.8 ± 8.7	7.3 ± 5.7	Brahman	Peixoto <i>et al.</i> (2006)
Gyr	7.3 ± 5.9	4.1 ± 3.9	Gyr	Peixoto <i>et al.</i> (2006)
Guzerat	9.9 ± 7.9	5.7 ± 5.4	Guzerat	Peixoto <i>et al.</i> (2006)
Nelore	10.2 ± 7.9	5.1 ± 5.3	Nelore	Peixoto <i>et al.</i> (2006)
Sinkronisasi				
Tanpa CIDR	4.0 ± 4.8	1.3 ± 4.1	Nelore	Nasser <i>et al.</i> (2011)
CIDR	4.7 ± 3.5	3.9 ± 3.4	Nelore	Nasser <i>et al.</i> (2011)
Estrus Alami	7.1 ± 7.3	2.7 ± 5.8	Simmental	Jodiansyah (2013)
CIDR	6.7 ± 3.1	2.3 ± 3.3	Simmental	Jodiansyah (2013)
Synchro Mate B	15.6 ± 9.7	8.9 ± 7.5	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2002)
CIDR-B	17.3 ± 8.8	9.9 ± 7.0	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2002)
Tanpa sinkronisasi	15.8 ± 10.8	8.3 ± 7.4	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2002)
BCS				
BCS < 2.5	7.0 ± 1.4	3.7 ± 1.1	Nelore	Velazquez (2005)
BCS > 2.5	14.1 ± 2.3	8.9 ± 1.8	Nelore	Velazquez (2005)
Siklus Estrus + CIDR				
Estrus hari ke-0	14.2 ± 11.3	7.4 ± 6.9	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2003)
Hari ke-9 sd ke-12	13.3 ± 10.4	7.1 ± 6.2	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2003)
Hari ke-2 sd ke-6	13.5 ± 2.3	8.1 ± 6.7	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2003)
Hari ke-7 sd ke-12	17.4 ± 9.9	9.4 ± 6.9	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2003)
Hari ke-13 sd ke-16	16.9 ± 8.8	9.8 ± 8.1	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2003)
Hari ke-17 sd ke-20	13.0 ± 7.8	7.2 ± 6.9	Nelore	Andrade <i>et al.</i> (2003)
Umur Sapi				

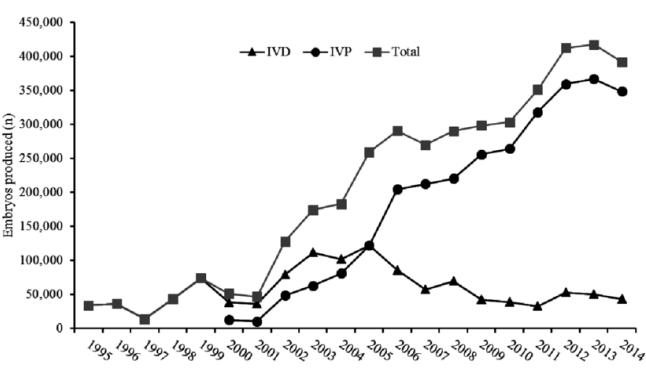
7.8-9.9 Bulan	5.6 ± 1.0 ^a	2.8 ± 0.5 ^a	Holstein	Ax <i>et al.</i> 2005
10-11.9 Bulan	8.1 ± 0.6 ^b	4.8 ± 0.4 ^b	Holstein	Ax <i>et al.</i> 2005
12-13.9 Bulan	7.9 ± 0.4 ^b	4.8 ± 0.3 ^b	Holstein	Ax <i>et al.</i> 2005
>14 Bulan	7.6 ± 0.5 ^b	4.8 ± 0.4 ^b	Holstein	Ax <i>et al.</i> 2005
Metode Pembilasan				
Tunggal	8.3 ± 0.4	4.7 ± 0.3	Limousin	Castro Neto <i>et al.</i> (2005)
Ganda	12.7 ± 0.7	6.9 ± 0.5	Limousin	Castro Neto <i>et al.</i> (2005)
Tunggal	7.9 ± 0.5	4.5 ± 0.4	Guzera	Castro Neto <i>et al.</i> (2005)
Ganda	11.5 ± 0.9	6.4 ± 0.7	Guzera	Castro Neto <i>et al.</i> (2005)
Induksi Ovulasi				
pLH 12 jam	7.5 ± 1.0	6.2 ± 1.0	Nelore	Baruseli <i>et al.</i> (2005)
pLH 24 jam	5.1 ± 0.5	3.1 ± 0.5	Nelore	Baruseli <i>et al.</i> (2005)
Musim dan Status Donor				
Dingin	5.2 ± 0.5	4.4 ± 0.4	Holstein dara	Vieira <i>et al.</i> (2014)
Panas	4.1 ± 0.4	3.2 ± 0.4	Holstein dara	Vieira <i>et al.</i> (2014)
Dingin	8.5 ± 0.7	4.3 ± 0.5	Holstein induk	Vieira <i>et al.</i> (2014)
Panas	6.7 ± 0.7	2.4 ± 0.4	Holstein induk	Vieira <i>et al.</i> (2014)

Perkembangan produksi embrio dunia menunjukkan bahwa produksi embrio *in vivo* (*In Vivo Derived/IVD*) mengalami penurunan dan sebaliknya produksi embrio *in vitro* (*In Vitro Fertilization/IVF*) mengalami peningkatan (Gambar 4). Hal ini didorong aspek efisiensi usaha produksi yang menjadi kegiatan utama bisnis pasar embrio. Perkembangan teknologi reproduksi seperti teknologi pencitraan berbasis USG, teknologi IB, sexing sperma, sinkronisasi estrus, media kultur, dan kriopreservasi semakin mendorong embrio

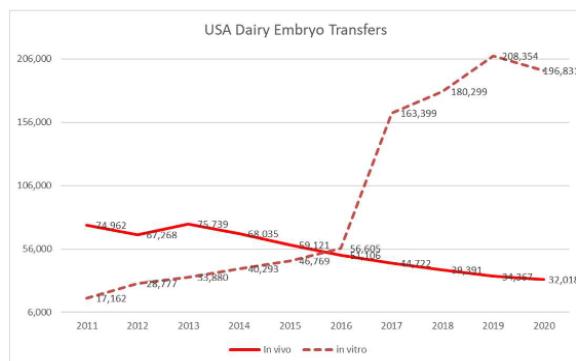
transfer menjadi kegiatan ekonomi di produsen dan eksportir embrio dunia. Amerika mengespor embrio hampir ke 49 negara dunia dengan total 29.262 embrio di ekspor yang sebagian besarnya (75%) merupakan embrio sapi perah. Negara Cina, Rusia, Australia, Selandia Baru, dan Inggris merupakan pasar utama embrio dari Amerika (AETA, 2020). Amerika sebagian besar memproduksi embrionya secara *in vitro* (69%), begitu juga dengan Brazil.



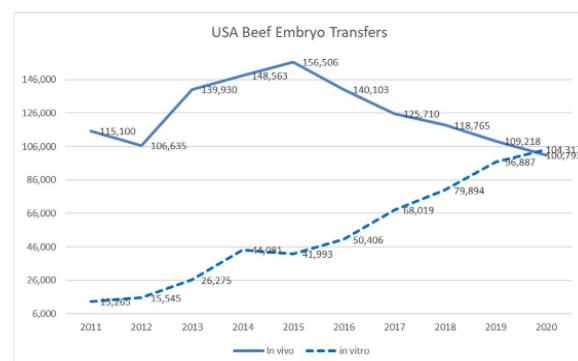
(a) Trend Produksi Embrio Bovidae Dunia



(b) Trend Produksi Embrio Bovidae di Brazil



(c) Trend Produksi Embrio Sapi Perah di AS



(d) Trend Produksi Embrio Pedaging di AS

Gambar 4. Perkembangan Produksi Embrio Dunia (Sumber: Viana *et al.*, 2017 dan 2018 (Grafik A), Sartori *et al.*, 2016 (Grafik B), Demetrio dan Looney (Grafik C dan D)

Trend perkembangan produksi embrio di Brazil selama kurun waktu 1995-2014, menunjukkan produksi embrio *Bos indicus* mengalami penurunan diiringi dengan peningkatan produksi embrio *Bos taurus* dan persilangannya. Hampir 75% embrio taurus diproduksi tahun 2015 dan 96% total produksi embrio di Brazil dilakukan secara *in vitro* dengan rasio 55% perah dan 45% pedaging. Peningkatan produksi embrio *Bos taurus* mungkin dikarenakan faktor ketahanan embrio *Bos taurus* terhadap kriopreservasi. Penelitian Sudano *et al.* (2014) mengungkap embrio *Bos taurus* menunjukkan tingkat superioritas lebih baik terhadap vitrifikasi karena kadar lipid embrio yang tinggi yang berfungsi sebagai pelindung. Informasi bahwa terdapat variasi profil membran lemak dan spingomielin antara *Bos taurus* dan *Bos indicus* yang berdampak terhadap kriopreservasi (Sudano *et al.*, 2012).

Pertimbangan metode produksi embrio *in vivo* atau *in vitro* relatif terhadap kondisi embrio tersebut di produksi. Beberapa ahli merekomendasikan kombinasi kedua metode tersebut. Pertimbangan regulasi pembatasan hormon yang berbeda, harga semen yang tinggi, dan intensitas penggunaan teknologi embrio transfer berkaitan dengan target produksi komersialisasi dalam rangka efisiensi bisnis menjadi pendorong digunakannya metode *in vitro*. Populasi sapi di Indonesia sekitar 18.5 juta ekor (Statistik Peternakan dan Kesehatan, 2021) dengan produksi embrio tahunan sekitar 900-1.000 embrio menunjukkan intensitas penggunaan teknologi transfer embrio masih rendah. Regulasi pelarangan pemotongan betina produktif berdampak terhadap pembatasan penggunaan limbah ovarium betina produktif yang tersedia di Rumah Potong Hewan (RPH) sebagai sumber oosit dalam produksi embrio *in vitro*.

Kesimpulan

Rataan produksi embrio *in vivo* dan embrio layak transfer di BET meningkat setiap tahun. Perolehan oosit dan embrio antara 7-10 ova/flushing (rata-rata 8 ova) dengan embrio layak transfer antara 3-5 embrio/flushing (rata-rata 4 embrio). Persentase embrio layak transfer antara 36%-54% (rata-rata 48%). Efisiensi superovulasi produksi embrio *in vivo* bovidae di dunia tahun 2019 menunjukkan angka jumlah ova dan embrio layak transfer yaitu 10 embrio/flushing, dengan embrio layak transfer sekitar 6 embrio/flushing. Perkembangan produksi embrio mengalami

peningkatan dengan embrio *in vivo* mengalami penurunan diiringi peningkatan embrio *in vitro*.

Daftar Pustaka

- Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. 2014. Estatísticas: balanço da pecuária. São Paulo, SP: ABIEC. pp. 19.
- Andrade JCO, Oliviera MAL, Lima PF, Santos Filho AS, Pina VMR. 2002. Use of steroid hormone treatment prior to superovulation in Nelore donors. *Anim. Reprod. Sci.*, 69: 9-14.
- Andrade JCO, Oliviera MAL, Lima PF, Guido SI, Bartolomeu CC, Filho FT, Pina VMR, Souza TCL, Paula NRO, Freitas JCC. 2003. The use of steroid hormones in superovulation of Nelore donors at different stages of estrous cycles. *Anim. Reprod. Sci.*, 77: 117-125.
- Ax RL, Armbrust S, Tappan R, Gilbert G, Oyarzo JN, Bellin ME, Selner D, Mc Cauley TC. 2005. Superovulation and embryo recovery from peripubertal holstein geifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 85: 71-80.
- Bader, J.F., Kojima, F.N., Wehrman, M.E., Lindsey, B.R., Kerley, M.S., Patterson, D.J. 2005. Effects of prepartum lipid supplementation on FSH superstimulation and transferable embryo recovery in multiparous beef cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 85: 61–70.
- Balai Embrio Ternak. 2020. Laporan Tahunan BET Cipelang Tahun 2020. <https://betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id/newsite/page-detail.php?id=44>
- Balai Embrio Ternak. 2019. Laporan Tahunan BET Cipelang Tahun 2019. <https://betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id/newsite/page-detail.php?id=44>
- Balai Embrio Ternak. 2018. Laporan Tahunan BET Cipelang Tahun 2018. <https://betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id/newsite/page-detail.php?id=44>
- Balai Embrio Ternak. 2017. Laporan Tahunan BET Cipelang Tahun 2017. <https://betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id/newsite/page-detail.php?id=44>
- Balai Embrio Ternak. 2016. Laporan Tahunan BET Cipelang Tahun 2016. <https://betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id/newsite/page-detail.php?id=44>

- Balai Embrio Ternak. 2015. Laporan Tahunan BET Cipelang Tahun 2015. <https://betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id/newsite/page-detail.php?id=44>
- Balai Embrio Ternak. 2014. Laporan Tahunan BET Cipelang Tahun 2014. <https://betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id/newsite/page-detail.php?id=44>
- Barajas, J.L. Cedeño, A. Andrade, S. Ortega, J. A. et al. 2019. Embryo production using follicle-stimulating hormone (FSH) or FSH+equine chorionic gonadotropin in beef donors. *Reprod, fertil, and Dev*, 31: 223 Lamb C. 2005. Factors affecting an embryo transfer program. *Proceeding, applied reproductive Strategies in Beef Cattle*, October 27 and 28, 2005, Reno, Nevada.
- Barros CM, Nogueira MFG. 2001. Embryo transfer in Bos indicus cattle. *Theriogenology*, 56(9):1483–1496. doi:10.1016/S0093-691X(01)00648-3.
- Baruselli PS, Sa Filho MF, Martins CM, Reis EL, Nasser LF, Bo GA. 2005. Novos avancos nos tratamentos de superovulacao em doadoras de embrio bovino. In: proceeding of the anais VI simposio internacional de reproduction animal.
- Baruselli PS, Manoel F. de Sa Filho, Claudiney M. Martins, Luiz F. Nasser, Marcelo F.G. Nogueira, Ciro M. Barros, Gabriel A. Bo. 2006. Superovulation and embryo transfer in Bos indicus cattle. *Theriogenology*, 65:77–88. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.10.006
- Bo GA, Mapleton RJ. 2014. Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology*, 81(1):38–48. doi:10.1016/j.theriogenology.2013.09.020.
- Castro Neto AS, Sanches BV, Binelli M, Seneda MM, Perri SH, Garcia JF. 2005. Improvement in embryo recovery using double uterine flushing. *Theriogenology* 63: 1249-1255
- Childs, S., Carter, F., Lynch, C.O., Sreenan, J.M., Lonergan, P., Hennessy, A.A., Kenny, D.A. 2008. Embryo yield and quality following dietary supplementation of beef heifers with n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Theriogenology*, 70: 992–1003.
- Darlian F, Susilowati T, Wahjuningsih S. 2021. The successful rate of embryo production in belgian blue crossbred cattle. Proceeding International Conference Innovation of Animal Science, 28 Juni 2021
- [DRC] Data Retrievel Committe of IETS. 2020. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals 2019 in Embryo Technology Newsletter, 38(4)
- Demetrio D and Looney C. 2021. 2021 Statistical Information Committee Report (2020 DATA). 2021 Annual Report of the AETA Statistical Information Committee. (https://www.aeta.org/docs/2020_Stats.pdf?v=2, diakses 15 Januari 2022)
- Food Agriculture Organization (FAO). 2014. Cattle inventory. Available on: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>.
- Garcia GA, Tribulo A, Yapura J, Singh J, Mapleton RJ. 2012. Lengthening the superstimulatory treatment protocol increases ovary response and number of transferable embryo in beef cattle. *Theriogenology*, 78: 353-360
- Hasler JF. 2014. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal Theriogenology, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology*. 81: 152-169
- Hussein MM, Aziz RLA, Abdel-Wahab A, El-Said H. 2014. Preliminary study of factors affecting the superovulatory response of high producing dairy cows superstimulated regardless of the stage of estrous cycle in Egypt. *Journal of Basic and Applied Science*. 3: 286-292.
- [IETS] International Embryo Transfer Society. 2010. Manual of The International Embryo Transfer Society. 4th Ed. Stringfellow DA dan MD. Givens, editor. Champaign (IL): International Embryo Transfer Society.
- Imron M. 2016. Respon superovulasi dengan penyuntikan tunggal FSH dalam ruang epidural berbasis pertumbuhan gelombang folikel pada sapi Peranakan Ongole. Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB.
- Jodiansyah S, Imron M, Sumantri C. 2013. Tingkat Respon Superovulasi dan Produksi Embrio in vivo dengan Sinkronisasi CIDR (Controlled Internal Drug Releasing) pada Sapi Donor Simmental. *J. Ilmu Produksi dan Teknol. Has. Peternak*. 1(3):184–190. doi:10.29244/jipthp.1.3.184-190.
- Lamb C. 2005. Factors affecting an embryo transfer program. Proceeding, applied reproductive Strategies in Beef Cattle, October 27 and 28, 2005, Reno, Nevada.

- Leroy J.L.M.R, Opsomer G, De Vligher S, Valholder T, Goosens L, Geldhof A, Bols P.E.J, de Kruif A, Van Soom A. 2005. Comparison of embryo quality in high yielding dairy cows, in dairy heifers, and in beef cows. *Theriogenology* 64: 2022-2036. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.05.003
- Marsico TV, de Carmago J, Valente R, Sudano MJ. 2019. Embryo competence and cryosurvival: molecular and cellular feature. Proceeding of the 33rd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), Brazil 15-19 August 2019. *J. Anim Reprod.* 16: 423-439.
- Nasser LF, Sá Filho MF, Reis EL, Rezende CR, Mapleton RJ, Bó GA, Baruselli PS. 2011. Exogenous progesterone enhances ova and embryo quality following superstimulation of the first follicular wave in Nelore (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*. 2011 Jul 15;76(2):320-7. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.02.009.
- Nogueira MFG, Barros BJP, Teixeira AB, Trinca LA, D'Occhio MJ, Barros CM. 2002. Embryo recovery and pregnancy rates after the delay of ovulation and fixed-time insemination in superstimulated beef cows. *Theriogenology*, 57: 1625-34.
- Nogueira MFG, Fragnito PS, Trinca LA, Barros CM. 2005. Effectiveness of the P36 superstimulatory protocol, associated with fixed-time AI, on embryo production in a commercial herd of beef cattle. *Theriogenology*
- Peixoto MGCD, Bergmann JAG, Fonseca CG, Penna VM, Pereira CS. 2006. Effects of environmental factors on multiple ovulation of zebu donors. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 58 (4): 567-574
- Petit HV., Cavalieri, F.B., Santos, G.T.D., Morgan, J., Sharpe, P., 2008. Quality of embryos produced from dairy cows fed whole flaxseed and the success of embryo transfer. *J. Dairy. Sci.* 91: 1786-1790.
- Phillips PE, Jahnke MM. 2016. Embryo Transfer (Techniques, Donors and Recipients). *J. CVFA.* Doi: 10.1016/j.cvfa.2016.01.018.
- Pontes JHF, Nonato Junior I, Sanches BV, Ereno Junior JC, Uvo S, Barreiros TRR, Oliveira JA, Hasler JF, Seneda MM. 2007. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology* 71: 690-697.
- Rogan, D., Tríbulo, A., Tríbulo, H., Tríbulo, R., Carballo Guerrero, D., Tribulo, P., Mapletoft, R. J., and Bó, G.A. (2010). Dose titration for superstimulation of Brangus and Bonsmara donors with Folltropin®-V by a single intramuscular injection. *Reprod. Fertil. Dev.* 22, 365. [Abstract] doi:10.1071/RDV22N1AB416
- Sartori R, Souza AH, Guenther JN, Caraviello DZ, Geiger LN, Schenk JL, Wiltbank MC. 2004. Fertilization rate and embryo quality in superovulated Holstein heifers artificially inseminated with X-sorted or unsorted sperm. *Anim. Reprod.* 1 (1): 86-90.
- Sartori, Roberto & Prata, Alexandre & Silva de Figueiredo, Ana Cristina & Sanches, Bruno & Pontes, G.C.S. & Viana, Joao & Pontes, J.H. & Vasconcelos, Jose & Pereira, M.H.C. & Dode, Margot & Monteiro, Pedro & Baruselli, Pietro. (2016). Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. 13. 300-312. 10.21451/1984-3143-AR873.
- Satrio FA, Ni Wayan Kurniani Karja, M Imron, Yuni Siswani, Oloan Parlindungan, Bambang Purwantara. 2018. In Vivo Embryo Production at Cipelang Livestock Embryo Centre. Proceedings of the 20th FAVA & the 15th KIVNAS PDHI.
- Sudano MJ, Caixeta ES, Paschoal DM, Martins A, Machado R, Buratini J, Landim-Alvarenga FDC, 2014. Cryotolerance and global gene expression pattern of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* in vitro and in vivo produced blastocysts. *Reprod Fertil Dev* 26: 1129-1141.
- Sudano MJ, Santos VG, Tata A, Ferreira CR, Paschoal DM, Machado R, Buratini J, Eberlin MN, Landim-Alvarenga FD. Phosphatidylcholine and sphingomyelin profiles vary in *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* in vitro- and in vivo-produced blastocysts. *Biol Reprod.* 2012 Dec 6;87(6):130. doi: 10.1095/biolreprod.112.102897. PMID: 23053436.
- Tríbulo A., Tríbulo, H., Tríbulo, R., Carballo Guerrero, D., Tríbulo, P., Rogan, D., Mapletoft, R. J., and Bó, G. A. (2010). Superstimulation of angus donors with a single intramuscular injection of Folltropin®-V. *Reprod. Fertil. Dev.* 22, 367. [Abstract] doi:10.1071/RDV22N1AB420

- Troxel TR. 2018. Embryo Transfer in Cattle. *Agriculture and Natural Resources*. Division of Agriculture, Research and Extension, University of Arkansas System. <https://www.uaex.edu/publications/PDF/FSA-3119.pdf>
- Velazquez MA, Newman M, Christie MF, Cripps PJ, Crowe MA, Smith RF, Dobson H. 2005. The usefulness of a single measurement of insulin-like growth factor-1 as a predictor of embryo yield and pregnancy rates in a bovine MOET program. *Theriogenology* 64(9):1977–1994.
doi:10.1016/j.theriogenology.2005.05.001.
- Vieira LM, Rodrigues CA, Mendanha MF, Sa Filho MF, Sales JNS, Souza AH, Santos JEP, Baruselli PS. 2014. Donor category and seasonal climate associated with embryo production and survival in multiple ovulation and embryo transfer program in Holstein cattle. *Theriogenology*, 82: 204-212.
- Viana JHM. 2017. Statistics of embryo collection and transfer in domestic farm animals. *Embryo Transfer. Newsletter*, 36:08-25.
- Viana JHM, Figueiredo ACS, Siqueira LGB. 2017. Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for future. Proceeding of the 31st Annual Meeting of the Brazilian EMbryo Technolog Society (SBTE). Brazil, 17-19 Agustus 2017. *J. Anim. Reprod.*
- Viana JHM, Figueiredo ACV, Gonçalves RLR, Siqueira LGB. 2018. A historical perspective of embryo-related technologies in South America. *Anim Reprod*, 15:963- 970.
- ¹<https://www.progressivedairy.com/topics/a-i-breeding/reproductive-strategies-for-dairy-herd-improvement-moet-or-opu-ivf>