

**Manual Para el Proceso de Selección, Recolección y Procesamiento de Material Genético  
Bovino (Embriones, Ovocitos y Semen) Para Exportación en Latinoamérica Para la  
Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda**

**Durán Camargo Laura Lucía**

**Universidad de Santander**

**Facultad de Ciencias Exactas Naturales y Agropecuarias**

**Medicina Veterinaria**

**Bucaramanga**

**2022**

**Manual Para el Proceso de Selección, Recolección y Procesamiento de Material Genético  
Bovino (Embriones, Ovocitos y Semen) Para Exportación en Latinoamérica Para la  
Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda**

**Durán Camargo Laura Lucía**

**Trabajo de Grado Presentado Como Requisito Para Optar al Título de  
Médico Veterinario**

**Director**

**Quimbaya Ramírez John Jaime**

**Msc. Enfermedades Infecciosas**

**Coasesora**

**Tapias Rivera Johanna**

**Msc. en Investigación en Enfermedades Infecciosas**

**Universidad de Santander**

**Facultad de Ciencias Exactas Naturales y Agropecuarias**

**Medicina Veterinaria**

**Bucaramanga**

**2022**

## Página de Aceptación



UNIVERSIDAD DE SANTANDER - UDES  
 ACTA DE EVALUACIÓN PARA TRABAJO DE GRADO  
 PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA  
 ACTA No. 006

En Bucaramanga, a los 16 días del mes de junio de 2022, se reunió el Comité de Proyectos de Grado, con asistencia de los docentes que a continuación firman el acta de "Evaluación para trabajos de grado":

Laura Lucía Durán Camargo      CÓDIGO: 01160351023

**TITULO DEL PROYECTO:** "Manual para el proceso de selección, recolección y procesamiento de material genético (embriones, ovocitos y semen) bovino para exportación en Latinoamérica."

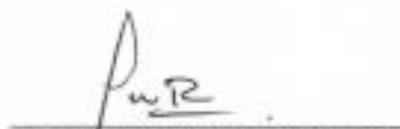
**CONCEPTO:** Aprobado      **CALIFICACIÓN TOTAL:** CUATRO PUNTO CINCO (4.5)  
**OBSERVACIONES:**

EN CONSTANCIA FIRMAN:

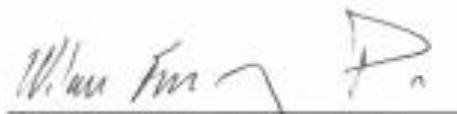
  
 Dr. ALBEIRO PATINO HERRERA  
 Director Programa MV

  
 Dr. JOHN JAIME QUIMBAYA RAMIREZ  
 Director Trabajo de Grado

  
 Dr. DIEGO ARMANDO VEGA BORDA  
 Codirector 1

  
 Dra. JOHANNA TAPIAS RIVERA  
 Codirector 2

  
 Dra. LAURA XIMENA ACOSTA BELTRAN  
 Jurado

  
 Dr. WILSON FRANCISCO DIAZ PINZON  
 Jurado

### **Dedicatoria**

A mis padres por brindarme el apoyo durante los años de carrera, a mis docentes que contribuyeron en mi formación profesional y me brindaron sus conocimientos con amor y vocación y a mi Universidad que me preparó para mi desempeño profesional.

### **Agradecimientos**

En estas líneas quiero agradecer la ayuda de muchas personas que me prestaron su apoyo y asesoría durante de elaboración y redacción de este trabajo. A mi tutor externo Diego Armando Vega Borda, mi director John Jaime Quimbaya Ramírez y mi coasesora Johanna Tapias Rivera, por su eficiente asesoría, acompañamiento y orientación en todos los momentos que necesité de sus luces y consejos.

De igual manera quiero expresar mis agradecimientos a la Universidad De Santander, cuyos programas me han hecho crecer día a día para convertirme en profesional, gracias por su paciencia, dedicación y profesionalismo.

Un agradecimiento especial a la docente Laura Ximena Acosta Beltrán por su apoyo incondicional y sus consejos.

**Tabla de Contenido**

	Pag
Introducción .....	12
1. Planteamiento del Problema .....	14
1.1 Descripción del Problema .....	14
2. Justificación .....	17
3. Objetivos.....	19
3.1 Objetivo General .....	19
3.2 Objetivos Específicos.....	19
4. Marco Referencial .....	20
4.1 Marco Teórico.....	20
4.1.1 Selección.....	21
4.1.2 Recolección.....	25
4.1.3 Procesamiento de Material Genético.....	30
4.2 Marco Contextual.....	37
4.3 Marco Legal .....	39
5. Metodología .....	42
5.1 Procedimientos.....	42
6. Resultados.....	44
7. Discusión .....	45
8. Conclusiones.....	47
9. Recomendaciones .....	48
Referencias Bibliográficas .....	49
Apéndices.....	53

**Lista de Tablas**

<b>Tabla 1</b> <i>Evaluación de Motilidad Masal</i>	31
<b>Tabla 2</b> <i>Porcentaje de Espermatozoides Vivos</i>	31
<b>Tabla 3</b> <i>Fórmula Para Concentracion Espermatoca</i>	32
<b>Tabla 4</b> <i>Fórmulas de Cálculo de Concentración de Eyaculado, Espermatozoides Viablos,</i> <i>Numero de Pajillas y Volumen Final</i>	34
<b>Tabla 5</b> <i>Disposiciones Legales</i>	40

## **Resumen**

### **Título**

Manual Para el Proceso de Selección, Recolección y Procesamiento de Material Genético Bovino (Embriones, Ovocitos y Semen) Para Exportación en Latinoamérica Para la Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda

### **Autor**

Durán Camargo Laura Lucía

### **Palabras Clave**

Biotecnología, Bovino, Exportación, Material Genético

### **Descripción**

Este proyecto fue realizado por Laura Lucía Durán Camargo, estudiante de Medicina Veterinaria de la UDES, aplicado a la empresa Biotecnología Ganadera La Esperanza, donde se elaboró un manual de proceso de selección, recolección y procesamiento de material genético bovino (embriones, ovocitos y semen) para exportación en Latinoamérica, con el principal objetivo de ofrecer a la empresa Ganadera La Esmeralda la información necesaria, ordenada y suficiente para la exportación de material genético bovino.

En la actualidad la empresa requiere de un manual de procedimientos que permita la estandarización y desarrollo de prácticas propias en los procesos de selección, recolección y procesamiento de material genético, el cual generará el máximo aprovechamiento de los recursos humanos, técnicos, científicos y económicos. Con la estandarización de los procesos la empresa satisfará de manera notable la demanda y diversidad de material genético a productores del sector pecuario de la región y de Latinoamérica cumpliendo con las exigencias propias del mercado.

La metodología parte de la identificación de procedimientos a través de información de plataformas científicas actuales, analizando y logrando la unificación de procedimientos que conllevarán a la propuesta de elaboración del manual.

Como resultado, el diseño del manual de procedimiento logra estandarizar la selección, recolección y procesamiento del material genético bovino para la empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda, como guía para la coordinación, dirección, control y consulta de actividades a realizar en la misma, vinculando a personal profesional que satisfaga la calidad de la demanda de los servicios que actualmente puede ofrecer la empresa.

## **Abstract**

### **Title**

Manual for the Process of Selection, Collection, and Processing of Bovine Genetic Material (Embryos, Oocytes and Semen) for Export in Latin America for the Company Biotecnología Ganadera La Esmeralda.

### **Author**

Durán Camargo Laura Lucía

### **Keywords**

Biotechnology, Bovine, Export, Genetic Material.

### **Description**

This project was carried out by Laura Lucía Durán Camargo, a student of Veterinary Medicine at UDES, applied to the company Biotecnología Ganadera La Esperanza, where a process manual for the selection, collection, and processing of bovine genetic material (embryos, oocytes and semen) for export in Latin America was developed, with the main objective of providing the company Ganadera La Esmeralda with the necessary, orderly and sufficient information for the export of bovine genetic material.

At present, the company requires a procedures manual that allows the standardization and development of its own practices in the processes of selection, collection and processing of genetic material, which will generate the maximum use of human, technical, scientific and economic resources. With the standardization of the processes, the company will satisfy in a remarkable way the demand and diversity of genetic material to producers of the livestock sector in the region and Latin America, complying with the market's own demands.

The methodology starts with the identification of procedures through information from current scientific platforms, analyzing and achieving the unification of procedures that will lead to the proposal for the elaboration of the manual.

As a result, the design of the procedure manual manages to standardize the selection, collection, and processing of bovine genetic material for the company Biotecnología Ganadera La Esmeralda, as a guide for the coordination, direction, control and consultation of activities to be carried out in the company, linking more professional staff to meet the quality of the demand for services that the company can currently offer.

## **Introducción**

El manual de procedimientos, producto de la práctica empresarial, se construyó como una herramienta aplicativa para el logro de los objetivos de la Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda, poniendo especial atención en los procesos de selección, recolección y procesamiento de material genético bovino (embriones, ovocitos y semen), tecnología que permite lograr grandes progresos en el campo de la reproducción y el mejoramiento genético poblacional del ganado bovino.

El manual de procedimientos comprende el plan de organización de todas las actividades para la selección, recolección y procesamiento de material genético que se generan entre las áreas administrativas y operacionales, especialmente entre el sector de laboratorios y el personal de veterinarios y administradores de fincas que componen la Empresa.

En la primera etapa se realizó la identificación de los procesos para facilitar la exportación de material genético, procedimientos que enmarcan selección, recolección y procesamiento de semen bovino para la empresa. En esta etapa, se recopila la información a través de la investigación del componente estructural y administrativo de la empresa, e igualmente se realiza acompañamiento a los médicos veterinarios que efectúan todo el proceso de colecta y crío preservación de semen, observando e identificando los procedimientos.

En la segunda etapa se efectúa un análisis de la información recopilada estableciendo los procedimientos de selección, recolección y procesamiento de material genético para la exportación de este en Latinoamérica.

En la tercera etapa de actividades se unifican las operaciones y se propone la presentación del manual que facilite a la empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda la gestión de exportación de material genético bovino.

En la cuarta etapa de las actividades, se realiza una socialización de la propuesta del manual de procedimientos, con los directivos y los médicos veterinarios de la Universidad y el representante de la empresa.

## **1. Planteamiento del Problema**

### **1.1 Descripción del Problema**

La globalización, entre muchas otras cosas, muestra desde los adelantos tecnológicos, que los países emprenden una carrera competitiva dentro de los múltiples procesos internos de investigación y desarrollo que poseen. Es importante, por lo tanto, que los gobiernos dediquen más esfuerzos y presupuesto para estar al día, en cuanto a investigación y capacitación tecnológica, por ejemplo, orientada a la exploración de los procesos de selección, recolección y procesamiento de material genético bovino (embriones, ovocitos y semen) como es el caso que nos atañe en este documento. (Montenegro Gómez & Hernández Ossa, 2015)

En el caso específico de las investigaciones tecnológicas de exploración de procesos de selección, recolección y procesamiento de material genético, es sabido que resulta más económico y rentable realizar inseminaciones artificiales que contar con especímenes de alta calidad que son altamente costosos para el objetivo de dichos procesos de fecundación.

Por otro lado, el gran crecimiento de la ganadería colombiana en los últimos años ha tenido como pilar fundamental el surgimiento de nuevas biotecnologías que permiten el mejoramiento de las diversas razas bovinas dedicadas para el aprovechamiento de sus subproductos. Una de estas biotecnologías es la obtención y utilización de semen en fresco o congelado y ovocitos, que hoy en día es una de las principales prácticas realizadas por los ganaderos con rendimientos favorables, permitiéndole tener a la mano diversidad de razas con los mejores patrones de calidad (Mahecha, Gallego, & Peláez, 2002)

En este orden de ideas, se logra la satisfacción de necesidades económicas de los productores para suplir un mercado potencial con excelentes ejemplares y o material genético. Se ha podido establecer que, durante años, los ganaderos colombianos han implementado diversas técnicas

para la evolución en las producciones cárnicas y lecheras y así mismo para el mejoramiento en el ámbito genético. Las técnicas de biotecnología aplicadas en la reproducción bovina es una de las herramientas más importantes para dicho mejoramiento productivo y genético. La inseminación animal a tiempo fijo (IATF), es un método que permite sincronizar y previamente detectar los celos para iniciar los protocolos de IATF con resultados favorables en tasas de preñez y sanidad. En esta búsqueda, actualmente existen aproximadamente 20 centros de bio-prospección moderna en Colombia, mientras que Brasil cuenta con más de 800 y Costa Rica con 43. Es patente que el desarrollo de este tipo de centros en Colombia está por debajo de sus capacidades, por lo tanto, se hace necesario la implementación de políticas institucionales de regulación y agilización de procesos biotecnológicos que desarrollen productos innovadores (Montenegro Gómez & Hernández Ossa, 2015). Estas son las claves para que diferentes biotecnologías tengan éxito comercial para el 2030, de acuerdo a la (OECD, 2009)

Es así, como el sector biotecnológico en Colombia tiene como meta para el 2030 ser uno de los principales líderes a nivel latinoamericano, siendo exportadores e importadores de material genético. Lograrlo llevaría al país a ubicarse dentro de los principales importadores y exportadores de material genético, lo que representaría grandes ingresos y avances para la industria bovina nacional. En el país, una de las instituciones que se encuentra luchando para obtener los resultados que espera para el 2030, es el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), entidad que se encarga entre otras, de reducir y prevenir los riesgos de materiales biológicos y químicos que pueden afectar a las actividades agropecuarias, forestales y pesqueras de Colombia. Esta entidad emite resoluciones y documentos para los protocolos de selección, recolección y procesamiento de material genético, las cuales indican como proceder ante la manipulación de materiales genéticos en Colombia, dentro de las que se encuentra la Resolución No. 003336 del

28 de diciembre de 2004, por la cual se adoptan medidas de índole sanitario para importaciones y exportaciones de animales y sus productos, se establecen algunas excepciones y se derogan las Resoluciones 1160 del 24 de mayo de 2002 y 3382 del 24 de noviembre de 2003.

De la mano de estas iniciativas, es importante tener en cuenta aspectos tales como que tanto el importador como el exportador cumplan con todos los requisitos sanitarios de cada jurisdicción. Para dar luces sobre este aspecto, el ICA emitió la resolución 020033 de 5 de mayo de 2016, por medio de la cual se establecen los requisitos sanitarios y de bioseguridad para el registro de centrales de recolección y procesamiento, unidades de procesamiento, unidades de recolección e importadores de material genético de especies de interés zootécnico y se dictan otras disposiciones. Seguir las pautas para el proceso de exportación, será una forma más segura de exportar e implantar material genético libre de enfermedades reproductivas que se transmiten mediante las biotecnologías.

En este orden de ideas, la empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda, dedicada a la reproducción bovina mediante la biotecnología, tiene como uno de sus objetivos expandir sus actividades más allá de las fronteras colombianas. La empresa ha manejado durante varios años la Biotecnología de la Reproducción a nivel nacional y necesita para convertirse en exportador, conocer todos los requerimientos normas y/o leyes y protocolos. Por tal razón un Manual para el proceso de selección, recolección y procesamiento de material genético bovino (embriones, ovocitos y semen) para exportación facilitará el cumplimiento de las normas y requisitos y del mismo modo asegurará el correcto quehacer y cumplimiento de protocolos. Los negocios de acuerdo con la ley y según las reglamentaciones existentes dan seguridad a los empresarios involucrados y facilitan el proceso.

## 2. Justificación

Se parte de la idea de que actualmente la Empresa Biotecnología Ganadera La Esperanza, no cuenta con procesos tecnológicos y metodológicos que le ofrezcan estrategias para llevar a cabo procesos de selección, recolección y procesamiento de material genético bovino (embriones, ovocitos y semen), lo que le permitiría el máximo aprovechamiento de los recursos humanos, técnicos y económicos, situación que le ha impedido competir comercialmente en el mercado exterior con sus productos y subproductos (especies bovinas, carne, leche y derivados). Por tanto, surge la necesidad de la realización de un manual de procedimientos que conlleve a la estandarización metodológica y desarrollo de dichas prácticas que le permitan ser una empresa totalmente competitiva y con estándares de calidad internacional.

Es claro que, en Colombia, existen pocos manuales o estándares que ofrezcan a las empresas una metodología en el campo tecnológico de procesos de selección, recolección y procesamiento de material genético bovino (embriones, ovocitos y semen), lo que ha segmentado el mercado en pocas empresas que se pueden presentar con estándares competitivos internacionalmente en este campo. El lograr que la empresa objeto de intervención establezca estos procesos metodológicos le permitirá exportar y catalogarse como una de las principales empresas del sector que ofrece estos procesos a nivel nacional e internacional. Es decir, estos procesos una vez organizados como procedimientos generan un plan o método de trabajo; posteriormente este método de trabajo establece una sucesión de operaciones relacionadas entre sí, con el objeto de realizar actividades o tareas específicas dentro de un ámbito predeterminado de aplicación para la obtención de un resultado concreto.

La innovación de la propuesta, se centra en el manual que establecerá de manera específica y detallada, cómo se realizan las actividades de selección, recolección y

procesamiento de material genético bovino. En consecuencia, a partir de estos procedimientos, la empresa se beneficiará identificando las personas, tareas, recursos y flujos de información que se emplean en la Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda para el desarrollo de los procesos de exportación con altos estándares de calidad.

Finalmente, como aporte profesional, se logrará el enriquecimiento del conocimiento adquirido en el desarrollo de la práctica empresarial y la confrontación de las teorías adquiridas como estudiante de Medicina Veterinaria con el desempeño práctico en el sector empresarial.

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo General**

Generar la información necesaria, ordenada y suficiente para la exportación de material genético bovino en Latinoamérica para la empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Identificar los procesos para facilitar la exportación de material genético.
- Establecer los procedimientos de selección, recolección y procesamiento de material genético para la exportación en Latinoamérica.
- Estructurar un manual que facilite a la empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda la gestión de exportación de material genético bovino.

## 4. Marco Referencial

### 4.1 Marco Teórico

El mejoramiento genético es una herramienta poderosa para mejorar la sostenibilidad de la agricultura animal porque los resultados son permanentes y acumulativos. A diferencia de las intervenciones nutricionales y de salud animal, que requieren aportes continuos, las mejoras genéticas realizadas en una generación se transmiten a la siguiente. Además, las soluciones genéticas para los problemas de salud y bienestar animal a menudo requieren menos insumos de mano de obra y materiales que los métodos químicos o mecánicos. Por ejemplo, la genética con cuernos o sin cuernos puede eliminar la necesidad de descornar físicamente a los animales, lo que se lleva a cabo para garantizar la seguridad tanto del trabajador como del animal, puede ahorrar tiempo y dinero a los ganaderos, además de abordar un problema de bienestar animal (Ortega & García, 2011).

La agricultura sostenible y el aumento de la eficiencia de la producción van de la mano. La eficiencia se define como: cómo lograr la máxima productividad con el mínimo desperdicio, o, en otras palabras, producir más producto con los mismos o incluso menos recursos. Los programas de mejora genética del ganado, comenzando con la cría selectiva utilizando métodos de predicción estadística, como los valores genéticos estimados (EBV) y, más recientemente, la selección genómica (GS), en combinación con las tecnologías de reproducción asistida (ART), han permitido una selección más precisa y una utilización intensa de padres genéticamente superiores para la próxima generación para acelerar las tasas de ganancia genética. La ganancia genética es la cantidad de mayor rendimiento, o la mejora en el valor genético promedio en una población que se logra anualmente a través de la selección. El aumento del rendimiento animal basado en la mejora genética da como resultado más producto

producido por animal, por lo que se requieren menos animales para satisfacer la misma cantidad de demanda, lo que reduce el impacto ambiental por unidad de producto pecuario. Por lo tanto, el aumento de las tasas de ganancia genética puede mejorar la eficiencia de la producción ganadera y, en última instancia, la sostenibilidad de la agricultura animal (ONU, 2010)

#### ***4.1.1 Selección.***

**4.1.1.1 Selección de Machos Bovinos.** El empeño por incrementar los números en la ganadería colombiana y para conseguir mejoramiento de las razas de carne y/o leche por medio de las biotecnologías de la reproducción, requiere que se realice una correcta selección de ejemplares para cumplir con estos propósitos. De esta forma la utilización de los ejemplares aptos para obtener semen, ovocitos, etc., necesita ser hecha cuidadosamente y siguiendo protocolos de calidad. Estos protocolos son los procesos y/o procedimientos que determinan el método del trabajo, las operaciones a realizar para la obtención de resultados satisfactorios. Una parte esencial del proceso está conformada por las personas, materiales, el espacio adecuado, los recursos y la información obtenida.

La productividad de un rebaño depende en gran medida de la eficacia reproductiva de sus componentes, machos y hembras, pero en producción animal la eficacia reproductiva del macho tiene mayor importancia que la de la hembra, puesto que un semental es capaz de cubrir, ya sea natural o artificialmente, a un elevado número de hembras; un fallo en la eficacia reproductiva del semental afectará al nivel reproductivo de todo el rebaño.

Dos tipos de machos son utilizados normalmente en un centro de inseminación artificial: Los machos son elegidos con base en sus datos genéticos (producciones o testaje de descendencia), para caracteres tales como la prolificidad, producción de leche, características de producción de carne etc. Y los jóvenes machos que están incluidos en un esquema de selección y que deben ser

testados sobre su descendencia. La organización de la selección determina las reglas por las que los machos jóvenes pueden ser candidatos para entrar dentro de un centro de IA. Como la producción ganadera es una empresa agrícola tradicional de envergadura, y como la cría tiene un gran impacto sobre dicha actividad, los programas reproductivos de ganado bovino tienden a ser más tutelados por las agencias gubernamentales que la cría avícola o porcina y suelen tener, por consiguiente, un enfoque más específico de país. La mayoría de los programas se iniciaron o mantuvieron con ayudas o subvenciones de las agencias gubernamentales nacionales (Wickham, Guellouz, Dimitriadou, & Mosconi, 2004)

El examen de aptitud reproductiva se encarga de evaluar al ejemplar de la forma más completa. La circunferencia escrotal debe encontrarse en la medida de 33cm en adelante y homogeneidad testicular. Se debe hacer un examen físico que evalúe la marcha del ejemplar, conformación y sanidad de sus miembros y condición corporal, inspección de ojos, boca y fosas nasales (Larson B. , 2008)

El espacio o central de procesamiento y recolección debe ser un lugar adecuado según la normativa de cada país, en el caso de Colombia el ICA y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y cumplir con los estándares exigidos tales como: espacio cerrado, con buena iluminación, con paredes y pisos fáciles de limpiar y desinfectar, sin acceso para personal diferente al del proceso en cuestión y con una ventanilla a través de la cual se entreguen muestras y materiales requeridos (ICA, 2016)

Los bovinos seleccionados deben haber pasado las siguientes pruebas, con resultados negativos: Tuberculosis bovina, Brucellosis bovina, *Campylobacter fetus* var. *Venerealis*, Tricomosis, Leptospirosis, Leucosis, Diarrea viral bovina, Lengua azul, fiebre aftosa, Estomatitis vesicular y Rinotraqueitis infecciosa bovina (ICA, 2022) Otras pruebas y constancias

de vacunación, pruebas serológicas, registros de la descendencia de los donantes, pueden ser exigidos por el país importador.

Los requisitos no varían mucho de un país a otro y se refieren a: producto, uso, especie, país de destino. Estos requisitos pueden ser consulados en la página oficial del ICA. Para tal efecto

Al centro de inseminación artificial, sólo podrán ingresar los bovinos clínicamente sanos y fisiológicamente normales, que cumplan los requisitos fijados por la Administración Veterinaria; igualmente deberán ser sometidos a pruebas en el período de 30 días anterior a su aislamiento en el centro, en especial los animales de más de 6 meses de edad que deberán someterse a la prueba de aislamiento del virus de la diarrea viral bovina realizada a partir de una muestra sanguínea. (OIE, 2000)

Los cuidados previos que se deben tener en cuenta con los toros que podrían ser donantes son:

El toro se mantendrá en condiciones correctas de higiene en pastizal, establo, suelto o sujeto; el pelaje deberá mantenerse limpio, corto y cepillado, la longitud del penacho de pelos del orificio prepucial, se cortará a unos 2 cm y se limpiarán minuciosamente, con cloruro de sodio; en el caso de un orificio prepucial anormalmente grande, antes de la toma del semen, se introducirá varias veces solución salina estéril dentro del prepucio, utilizando para ello un catéter acoplado a una jeringa o sifón. Esta precaución es vital si el eyaculado debe ser sometido a una prueba para la detección de bacterias patógenas. (OIE, 2013)

Es común esperar que se encuentren algunas bacterias mas no la ausencia total de ellas tanto en machos como en hembras.

**4.1.1.2 Selección de Hembras Bovinas.** Para las hembras y por medio de la sincronización de celos, se induce una súper-ovulación (mayor producción de óvulos). Entre 7 y 8 días después se inseminan estas vacas y posteriormente se realiza la colecta de embriones.

El proceso de selección de hembras donantes es muy importante ya que las hembras más productoras de leche no siempre son obligatoriamente las que responden positivamente al proceso de súper-ovulación.

Por tal motivo, es necesario practicar chequeos reproductivos y ecografías de ovarios y útero para certificar su condición. De todos modos, cuando se trata de mejoramiento genético se deben escoger las hembras más productivas como donadoras. Estas ejemplares deben cumplir con:

- Que sean de alto valor comercial
- Que no presenten enfermedades de la fertilidad
- Que no sufran de enfermedades hereditarias
- Que posean excelente historial de salud y reproducción
- Que sus ciclos estrales sean regulares
- No tener demasiada edad

En cuanto a las vacas receptoras, que son sujeto pasivo del proceso de transferencia, se recomienda que no tengan enfermedades reproductivas y que se constate que serán buenas amamantadoras.

Las receptoras ideales son hembras jóvenes, sanas, con conocida fertilidad y habilidad materna y tamaño adecuado para prevenir problemas a la hora del parto. No se debe tampoco olvidar que las hembras más fértiles con las que son producto de cruces. (Gutierrez N. , 2014)

### **4.1.2 Recolección**

**4.1.2.1 Recolección de Semen en Machos Bovinos.** Independientemente del método que se use para la recolección del semen, se deben seguir los siguientes parámetros para la higienización del macho a colectar:

- Lavado ventro abdominal con abundante solución estéril
- Secado con toalla de papel
- Recorte del exceso del ostio prepucial
- Lavado interno prepucial con solución salina.

**4.1.2.1.1 Recolección de Semen con Vagina Artificial.** Para la colecta de semen bovino con fines de inseminación, se utilizan dos técnicas: la más conocida y usada es la colecta mediante vagina artificial. La segunda técnica usada es el electroeyaculador. La vagina artificial es una herramienta que simula la monta natural, Esta herramienta se compone de tubo rígido, camisa de latex, posee una vulva que un su interior permite el llenado de agua a temperaturas de 40 a 45°C, sujetadores elásticos que sostienen el cono colector. (Villamizar Guerrero, 2014)

Este tipo de recolección es conveniente realizarlo en machos jóvenes que alcanzan su pubertad. Es un proceso que requiere mucha paciencia del recolector quien debe entrenar al animal en el sitio dispuesto para este proceso. Es imprescindible contar con hembras que manifiesten celo en el momento de la recolección, ya sea natural o inducido mediante hormonas. Para la monta se utiliza un señuelo que puede ser una vaca, un macho o un maniquí. Antes de colectar el semen se debe de tener en cuenta dos aspectos importantes: la higiene y el estímulo del semental. En este sentido, se apoya con el método más efectivo para estimular al toro, la monta falsa, que consiste en permitir al semental montar sobre el señuelo y desviar el pene tomando con la palma de la mano la piel del prepucio sin ofrecerle la vagina. Después de algunos

segundos de intento de búsqueda de la vagina, el animal desciende; nunca se deberá tocar con la mano la mucosa del pene. En el siguiente intento de monta se coloca la punta del pene desviado en la entrada de la vagina; inmediatamente el toro se lanza hacia adelante en un empuje final que acompaña a la eyaculación. La monta falsa en el bovino aumenta la calidad del semen en cuanto a volumen, concentración espermática y motilidad (Arieta Román, Fernandez Figueroa, & Menchaca Peña, 2014).

Las ventajas del método de la vagina artificial son: es muy parecido a una situación natural, el operador puede evaluar la capacidad de servicio del macho y sus reflejos de excitación sexual, se obtienen eyaculados limpios y el equipo no es costoso. Sin embargo, tiene como desventaja que se requieren animales dóciles o ya entrenados para el logro de la recolección y si el operador no tiene presente que el empuje del macho es muy fuerte, podría perder el equilibrio, dejar caer la vagina con la toma y en un caso peor, provocar lesiones en el pene del animal.

**4.1.2.1.2 Recolección de Semen por Masaje Transrectal.** Requiere dos operarios, uno para realizar el masaje y otro para recolectar el semen. El toro se coloca en un bretel, se remueven todas las heces de su recto. Este método consiste, en esencia, en aplicar un masaje longitudinal repetitivo hacia adelante y atrás, sobre la terminación de los canales deferentes, de las vesículas seminales y de la región de la próstata.

El semen fluye hacia la uretra pélvica y comienzan las pulsaciones en el músculo uretral. Se sincroniza el masaje con las pulsaciones y el segundo operario recoge el semen con una probeta de vidrio. Las ventajas de este método son: es recomendada para animales con lesiones de cuartos posteriores, no requiere de equipo costoso, no produce dolor. Las desventajas del procedimiento son: irritación de la mucosa rectal, como no hay protrusión del pene, las muestras

se pueden contaminar desde el prepucio, se necesitan dos operarios, es difícil excitar a machos con mal carácter, no se puede evaluar la libido del macho ni su comportamiento sexual.

**4.1.2.1.3 Recolección por Electro-Eyaculación.** El electro eyaculador es un equipo que está diseñado para estimular los nervios pélvicos simpáticos y parasimpáticos, con impulsos de diferentes niveles de voltaje y amperaje, y de esta forma conduce a la erección peneana y la eyaculación. El electro eyaculador está compuesto por una sonda rectal con 2 a 3 bandas de electrodos, ubicadas ventralmente que permiten la estimulación eléctrica; está compuesta igualmente por la unidad de control, un cable de energía, un cable de conexión de la sonda y un cono colector de semen. En este método de recolección de semen se utiliza un dispositivo eléctrico que consiste en un electrodo conectado a una batería que produce descargas de que estimulan los miembros pélvicos, da pulsos eléctricos leves a la próstata y las vesículas seminales, provocando en el macho una erección y la eyaculación.

Con la utilización del electroeyaculador, como método para la recolección de semen, la eyaculación es un proceso bifásico; primero ocurre la emisión y continúa con la erección y la eyaculación propiamente dicha. Cuando se produce la estimulación adecuada, esta viaja vía nervio pudendo interno hacia los centros lumbosacros de la columna vertebral; desde allí parte la respuesta vía nervios simpáticos lumbares (nervio erigente del plexus hipogástrico), lo cual estimula la contracción de la musculatura lisa que recubre la próstata, glándulas vesiculares y conductos deferentes, asegurando la progresión de la masa espermática hacia la uretra pélvica (emisión (Morillo, Salazar, & Castillo, 2012).

Antes del procedimiento al animal se le recortan los pelos del orificio prepucial, se limpia lavando y secando cuidadosamente el área, se limpia el recto y se estimula por medio de un masaje transrectal y seguidamente se introduce el electrodo. Se debe tener cuidado de no

recolectar líquido preseminal, pues este aporta falsos resultados. Cuando éste comienza a tornarse más opaco y espeso comienza la colección en el cono o tubo de examinación colocado directamente en el pene (Arieta Román, Fernandez Figueroa, & Menchaca Peña, 2014)

El fluido preseminal no debe recolectarse porque diluye el eyaculado y puede originar falsos resultados. Cuando éste comienza a tornarse más opaco, espeso, de color cremoso u opalescente comienza la colección en el cono o tubo de examen colocado en el pene.

Como ventajas de esta técnica podemos establecer que no requiere monta, no demanda mucho esfuerzo físico del operador, existen en el mercado diversos tipos de electroeyaculadores y algunos son automáticos y es muy confiable para producir la eyaculación. Su única desventaja es que es dolorosa para los animales. Como ventajas de esta técnica podemos establecer que no requiere monta, no demanda mucho esfuerzo físico del operador, existen en el mercado diversos tipos de electroeyaculadores y algunos son automáticos y es muy confiable para producir la eyaculación. Su única desventaja es que es dolorosa para los animales.

**4.1.2.1 Recolección de Ovocitos de Hembras Bovinas.** La transferencia de embriones constituye un método de obtención de óvulos fertilizados de una vaca donante y su transferencia al útero de otra receptora, donde se desarrolla la gestación y se produce el parto. Este procedimiento depende por completo de la disponibilidad de una fuente de embriones de calidad adecuada y el medio uterino propicio de la receptora al momento de la transferencia, por lo que ambas hembras tienen que estar en sincronía. En condiciones normales, cada vaca produce una sola cría al año, esto quiere decir que en toda su vida reproductiva cuando mucho producirá 6 a 8 becerros. A través de la inseminación artificial se pueden obtener miles de crías de un toro y con la transferencia de embriones se han llegado a tener más de cien crías de una vaca, facilitando el mejoramiento genético. Entre las ventajas que proporciona esta técnica están el provechar al

máximo al genotipo y el potencial reproductivo de hembras con características que nos interesa conservar en el resto del rebaño; se pueden utilizar los vientres de animales sanos y fuentes de escaso valor genético; obtener material genético de otros países; introducir una raza no existente en un país; transportar rebaños enteros en forma de embriones congelados; obtener más de una descendencia de cada embrión; reducir tiempo de cruzamiento entre razas; evitar enfermedades puesto que mediante receptoras sanas se obtienen crías sanas de alta calidad; obtener óvulos de terneras hijas de padres de alto valor genético antes de su primer parto, reduciendo el intervalo generacional.

**4.1.2.1.1 Aspiración Folicular.** La aspiración folicular in vivo u OPU se describió por primera vez en 1988. Se extendió rápidamente a muchos países, aportando una nueva visión en el campo de la biotecnología reproductiva. Hoy en día es ampliamente utilizada en los centros de reproducción asistida. Ese es un procedimiento no invasivo, se puede repetir en el mismo ejemplar y no compromete su futura fertilidad. La aspiración folicular transvaginal ha sido la mejor opción para la recuperación de ovocitos in vivo en la especie bovina. (Vilchis Ramos, 2011). Se utilizó también la laparoscopia transvaginal, la laparotomía y seguidamente se utilizó la ecografía que permitió observar fibrosis, adherencias de ovario etc... La OPU puede ser utilizada en hembras con problemas reproductivos, de avanzada edad, pre-púberes, saludables, no preñadas, gestantes o después del parto (60 días).

Requiere un ecógrafo, una bomba de aspiración y una guía de aguja que desemboca en un tubo colector. Maneja una presión de entre 50 y 85 mm de hg. Las hembras deben ser sedadas con anestesia epidural con 5 ml de lidocaína al 2% lo que ayudará a disminuir los movimientos peristálticos, insensibilizar el aparato reproductivo y facilitar la palpación de los ovarios. Seguidamente se hace la extracción del material fecal y la desinfección de la vulva con

desinfectante, abundante agua y toallas de papel. Una vez armada la guía se procede a ingresarla por la vagina y con ayuda del transductor y la visualización en la pantalla del ecógrafo se hace la búsqueda de los ovarios, ubicando en ellos los folículos, perforándolos y aspirándolos mientras que la aguja penetra la pared vaginal y folicular. Para la aspiración se usa una solución Buffer fosfatada + 1% de suero fetal bovino + 10 unidades de heparina por ml + 25 ug/ml de gentamicina. (Hasler J. , 1992).

### **4.1.3 Procesamiento de Material Genético.**

**4.1.3.1 Semen Bovino.** Según (Foote, 2010) el manejo del semen después de la recolección en vagina artificial debe ser cuidadoso, evitando: el shock por frío o sobrecalentamiento, la contaminación por agua, orina o agentes químicos, la excesiva agitación, y la exposición al aire o a la luz solar directa. Si el semen no se va a diluir dentro de las 2 horas siguientes, se lo puede dejar en un recipiente pequeño y cerrado, en un lugar oscuro a la temperatura ambiente. El semen no diluido de toros fértiles puede usarse para inseminación artificial 24-36 horas después de obtenido. Para este propósito, se lo debe colocar en un recipiente pequeño y cerrado inmediatamente después de recogido, y el espacio de aire puede llenarse con un aceite mineral neutro de alta graduación. El agente crio-protector más utilizado y efectivo para la crio-preservación de semen es el glicerol. Es por esto que es utilizado para congelar el semen de diversas especies, logrando así éxitos en la inseminación artificial. Ya recogido el semen se procede a hacer una evaluación macroscópica seminal, cuyos parámetros a evaluar son:

- Color (blanco lechoso uniforme)
- Volumen. Esto varía de acuerdo a los ejemplares.
- Olor (inodoro)

En la evaluación microscópica, se analizan las siguientes características:

- Motilidad masal (evalúa el movimiento seminal). Se toma una gota de semen y se analiza en microscopía a un objetivo de 40X. En la tabla 1 se observan las clasificaciones y descripciones de la evaluación de la motilidad masal. (Villamizar Guerrero, 2014)

**Tabla 1**

*Evaluación de Motilidad Masal*

<b>Código</b>	<b>Clasificación</b>	<b>Descripción</b>
0	Muy pobre	Sin movimiento
+	Pobre	Algunos grupos de espermatozoides se mueven
++	Aceptable	Presencia de ondas
+++	Bueno	Intensos movimientos de ondas bien marcadas
++++	Muy bueno	Movimientos formados a letra

*Nota.* Tomado de *Deschamps & Pimentel*. 1979.

- Vigor. Esta evaluación es generalmente subjetiva, analizando la velocidad con la que se movilizan los espermatozoides. Esta evaluación se hace mediante una dilución de 7µl de semen en 700 µl de solución de citrato de sodio al 2.94%, o también en solución fisiológica a una temperatura de 32 a 34°. Para el montaje se toma una gota de 10 µl en una lámina portaobjetos observándola por microscopía en 40X. (Villamizar Guerrero, 2014)

- Viabilidad. En tabla 2 se describe la clasificación de la viabilidad del semen:

**Tabla 2**

*Porcentaje de Espermatozoides Vivos*

<b>Porcentaje de espermatozoides vivos</b>	<b>Clasificación en grados (1 a 5)</b>
100 a 80% de vivos	5
80 a 60% de vivos	4
60 a 40% de vivos	3
40 a 20% de vivos	2
20 a 10% de vivos	1

*Nota.* Tomado de *Mies Filho*, 1987.

- **Concentración espermática.** Es el número de espermatozoide por ml cúbico. Se realiza con la utilización de cámara Neubauer o con equipos especializados de fotometría.

Para la evaluación de concentración espermática se requiere una dilución de 20µl de semen en 4 ml de formol salina, homogenizando la muestra. Iniciamos el montaje de la laminilla cubre objetos sobre la cámara, se aplica una muestra de la dilución, se recargan las dos entradas de la cámara Neubauer esperando que ocurra una sedimentación.

Se pasa la cámara Neubauer microscopía con un objetivo de 20X0 40X. Para la lectura se contarán 5 cuadrados, es decir, un total de 25 cuadros. Este conteo se realizará en forma de X, teniendo en cuenta únicamente las cabezas de los espermatozoides que se encuentran en las líneas demarcadas. (Villamizar Guerrero, 2014)

Posterior al conteo se realiza el cálculo de la concentración espermática, como se observa en la tabla 3:

### Tabla 3

#### *Fórmula Para Concentracion Espermatoca*

Formula estandar: $\frac{A}{B \times N \times 10} = \text{Numero de espermatozoides} / \text{mm}^3$	
A	Numero total de espermatozoides contados
B	Factor de dilución 1:200=200
N	Numero de cuadros contados
1/10	Altura de la camara

*Nota.* Tomado de *German Dario Guerrero*

Los requerimientos de los espermatozoides son, primariamente, para el mantenimiento de las funciones vitales para sobrevivir, incluyendo energía para su motilidad. Los espermatozoides deben estar vivos para ser fértiles, y la motilidad ha sido utilizada para determinar la viabilidad. La motilidad es, sin embargo, un reflejo de la actividad flagelar y no necesariamente garantiza que esa célula sea fértil.

La integridad del material genético en la cromatina del espermatozoide también debe ser preservada para lograr un desarrollo embrionario normal luego de la fertilización (Roberts, 2011) Existen varios diluyentes que cuidan los espermatozoides, entre ellos glucosa, sulfatos, soluciones salinas fisiológica, lecitinas y peptonas.

Sin embargo, ninguno de ellos alarga la vida de los espermatozoides. En 1939 se descubrió que la yema de huevo era óptima como diluyente y en 1949 sucedió lo mismo con el glicerol. En la actualidad se encuentra a decisión de cada profesional que diluyente le provee la máxima eficiencia para preservar la vida de los espermatozoides.

El semen obtenido de los toros se envasa en pajillas de procedencia francesa de 0,25 ml. Este procedimiento viene funcionando exitosamente por muchos años. También se ha hecho común el uso de pajillas más pequeñas, de 0.50 ml. (Villamizar Guerrero, 2014)

**4.1.3.1.1 Dilución de Semen.** La esperma colectada se debe diluir en crio-protectores o diluyentes cuya principal función es cuidar los espermatozoides de cambios en la temperatura. Comúnmente se utiliza como diluyente la yema de huevo adicionada con solución madre, glicerol, agua destilada, estreptomina, penicilina G sódica, ácido cítrico, fructosa y hidrociaminometano.

Este diluyente debe refrigerarse a 5°C lo cual permite su congelación. Se utiliza la siguiente fórmula para la dilución del semen recolectado:

**Tabla 4**

*Fórmulas de Cálculo de Concentración de Eyaculado, Espermatozoides Viables, Numero de Pajillas y Volumen Final*

<p>Numero de espermatozoides/ml X volumen del eyaculado = Concentración del eyaculado.</p> <p>Concentración del eyaculado X % de espermatozoides con motilidad = Espermatozoides viables</p> $\frac{\text{Espermatozoides viables}}{\text{Concentracion de espermatozoides en la pajilla}} = \text{Numero de pajillas}$ <p>Numero de pajillas X 0.5ml o 0,25 (volumen de la pajilla) = Volumen final (eyaculado + diluyente)</p>
--

*Nota.* Tomado de *German Darío Villamizar Guerrero*

Cumplida la dilución del semen se procede a, en su orden: identificar rejillas, empajillado y sellamiento de pajillas. (Villamizar Guerrero, 2014)

**4.1.3.1.2 Congelación de Pajillas – Crio-Preservación.** El siguiente paso es la congelación. Un gran número de protocolos de congelación han sido desarrollados, debido principalmente a las diferencias observadas entre especies, sin que se haya determinado con exactitud una curva estándar. Esto se debe principalmente a que los resultados dependen de factores tales como diluyentes, crio-protectores, calidad seminal (parámetro altamente variable entre individuos), etc. (Woelders, Zuidberg, & Hiemstra, 2003)

El mayor desafío para las células en el proceso de congelación no es resistir a las bajas temperaturas del nitrógeno líquido, sino mantener la viabilidad en un rango de temperaturas, entre los -15 y -60 °C (en el cual se producen los mayores daños) que las células experimentan por dos ocasiones, es decir, durante la congelación y durante la descongelación. A -196 °C no se

producen reacciones térmicas, puesto que debajo de los  $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$  no existe agua en el estado líquido (Mazur, 1984)

El proceso de crio-preservación incluye 5 etapas: dilución, refrigeración, adición del crioprotector, congelación y descongelación. Mientras que algunas fases son relativamente inocuas, otras son muy estresantes, como es el caso de la refrigeración y la congelación (Watson, 1995). Durante el proceso de congelación y posterior descongelación, el semen obtenido puede sufrir los siguientes daños:

- Deshidratación celular
- Aumento de la concentración de solutos intra y extracelulares
- Estrechez de los canales de líquidos extracelulares no congelados
- Alteraciones en el espermatozoide

Para prevenir estos daños, es importante la correcta utilización de un diluyente. Los diluyentes son compuestos químicos, o conjuntos de sustancias que preservan la viabilidad y fertilidad del semen, a la vez que posibilitan el procesamiento de un número previamente establecido de espermatozoides, acondicionados en envases adecuados, de un tamaño conveniente para la preservación (Viotti, 2011)

El transporte de las pajillas se realiza mediante un termo con nitrógeno líquido para la preservación y congelación del semen. (Villamizar Guerrero, 2014)

**4.1.3.2 Ovocitos.** El proceso de selección para el procesamiento de ovocitos es muy importante para determinar su viabilidad. Según Marquant, Lee et al., 1989: "...El contenido de la punción cae directamente a un tubo de recolección, el cual se mantiene a una temperatura favorable para los ovocitos ( $37^{\circ}\text{C}$ ) hasta el momento en que se procede a la búsqueda y clasificación de los ovocitos colectados. El diámetro del filtro utilizado no debe ser mayor de 100

micras (Filtro EMCON), posteriormente el contenido se lava con PBS adicionado con 0,4 % de SAB y 10 UI/mL de heparina sódica (37° C), con la finalidad de eliminar la sangre (Nibart & Marquant-Le, 1995) y facilitar la búsqueda y clasificación de los ovocitos, la cual se realiza mediante un estereoscopio o un microscopio. Para la búsqueda, en un vaso volumétrico de 100 ml se pasará el contenido aspirado mediante un filtro. En una placa Petri se lavará la parte trasera del filtro para que los ovocitos caigan en el medio de maduración. Se lleva la placa Petri al microscopio en el cual mediante una pipeta se seleccionan los ovocitos viables que deben tener las siguientes características:

- Cúmulus u oophorus compacto
- Zona pelúcida delimitada, sin espacios
- Una corona radiada
- Citoplasma y núcleo delimitados.

Con una pipeta Pasteur se lavan los ovocitos tres veces con fosfato buffer salino, penicilina, estreptomycin y albumina bovina sérica y otras 3 veces con 2ml de medio de maduración que contiene TCM199, hormona folicolu-estimulante, suero fetal bovino, estradiol, piruvato de sodio, sulfato de gentamicina. Aproximadamente 12 ovocitos se colocan en una gota 50µl de medio en una placa Petri, cubriéndose con aceite mineral y se incuban a 39°C y CO<sub>2</sub> al 5% por 22 horas. Al finalizar las 22 horas se extraen los ovocitos de las gotas de cultivo, se sacan las células del cumulus oofurus, se fija por 24 horas en ácido acético-etanol (1:3). Se tiñen con acetoorceina por 30 minutos y luego se aclaran con una solución decolorante. Los ovocitos aptos son los que poseen corpúsculo polar. Posterior a la maduración in vitro se inoculan los espermatozoides que en este momento penetran y se genera una unión en los gametos. Esta

fertilización dura entre 18 y 22 horas período durante el cual deben estar protegidos de la luz y la humedad (Parroquia, Susko-Parrish, & Leibfried-Rutledge, 1986)

Los ovocitos se deben transportar en un termo con solución salina al 0.9% de NaCl, el cual se puede sustituir por solución fosfato-tamponada salina, los cuales se conforman por antibióticos y otros nutrientes. Este transporte se debe hacer hasta máximo 6 horas después de la recolección (Madison, Avery, & Greve, Selection of immature bovine oocytes for development potential in vitro, 1992).

**4.1.3.2.1 Cultivo de Embriones.** Después de la fertilización los cigotos se retiran del medio in vitro. Se desechan las células del cumulus de los cigotos y se clasifican los de mejor calidad. El cultivo es el tiempo en el que se desarrollan las estructuras hasta convertirse en blastocistos con una duración entre 1 y 7 días. El medio de cultivo utilizado es un medio embrionario que posee características adecuadas para el desarrollo de los embriones. El medio de cultivo más utilizado es el fluido oviductal sintético (Holm P. , 1999). Las características más importantes para la clasificación de los embriones son: simetría, homogeneidad y coloración del embrión.

## **4.2 Marco Contextual**

Según (Puerta Gómez, 2006) para que el sector ganadero colombiano sea competitivo dentro de las actuales oportunidades comerciales internacionales, como la negociación del Tratado de Libre comercio (TLC), se ha desarrollado un plan estratégico para la ganadería, el cual tiene como una de sus metas aumentar el inventario nacional a una cabeza por habitante para el año 2030, es decir, lograr que el hato ganadero este compuesto por 56 millones de bovinos. Pero no solo se trata de incrementar el número de animales sino su eficiencia productiva

y reproductiva para así poder incursionar de manera rentable en el mercado internacional; evitando la posible invasión de productos de menor costo al país.

Según (Ugalde, 2014), la Biotecnología de la Reproducción es un conjunto de técnicas que van desde la inseminación artificial hasta la clonación, todas ellas encaminadas a aumentar la eficiencia reproductiva de los animales.

Del mismo modo (Gutiérrez, y otros, 2017), define que el mejoramiento genético se logra a través de técnicas serias y de gran importancia, para vencer las limitaciones impuestas por las condiciones del medio cuando se pretende la utilización de razas especializadas en la producción de leche y/o carne.

Específicamente en Colombia se encuentran algunas investigaciones sobre el tema, que hablan de la importancia de la Biotecnología reproductiva y dan acercamientos a lo que se ha hecho al respecto. Cabe mencionar entre los estudios, proyectos y o planes de mejoramiento y eficiencia reproductiva, el estudio de (Alzate Usme, Restrepo Marin, Ruiz Jaramillo, & Rodriguez, 2012) denominado Estado del Arte de la Biotecnología Reproductiva Bovina en Colombia, cuya investigación describe el uso de las técnicas de inseminación, su comercio, el mercado y los resultados obtenidos.

Así mismo, se ubica el estudio de (Bonilla León, Bonilla Trujillo, & Gómez Domínguez, 2021), denominada Producción de embriones bovinos del laboratorio INVITRO COLOMBIA; durante el año 2019, en el cual se ofrecen los resultados de un estudio, sobre la producción de un laboratorio dedicado a la producción de embriones in vitro. Por otro lado, se denota la investigación de (García Zapata, 2009), denominada Plan de mejoramiento productivo y reproductivo en la unidad ganadera de la granja los Alpes (2009), en su documento de práctica

empresarial presenta un plan de mejoramiento de la producción bovina para una granja específica, sin desconocer que el uso de la inseminación artificial es bajo, no solo en Colombia.

El proceso de recolección y análisis de la información se llevó a cabo a través de la intervención en práctica empresarial del área de medicina veterinaria de la UDES, y se desarrolló dentro de las instalaciones de la Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda, ubicada en el Municipio de San Alberto, Cesar. La misión de la empresa es ofrecer productos y servicios con tecnología de punta en el área de la reproducción bovina aplicada al mejoramiento genético, incentivando permanente a cada uno de sus clientes. Su visión es posicionarse en el año 2024 como una empresa líder a nivel nacional en aplicación y masificación de biotecnologías reproductivas en grandes animales. Es considerada una empresa líder en la aplicación de biotecnologías reproductivas en bovinos y equinos con el objetivo de aumentar la productividad de la ganadería por medio del mejoramiento genético con la asesoría y seguimiento permanente de especialistas con experiencia garantizando el éxito a través buenos resultados.

#### **4.3 Marco Legal**

Existe suficiente literatura concerniente a la selección, recolección y procesamiento de material genético animal, emitida por organizaciones nacionales e intergubernamentales a nivel mundial. Dos organizaciones son las más reconocidas en este campo. Ellas son:

La organización Mundial de la Salud Animal (OIE) cuyo principal objetivo es la sanidad y el bienestar animal para preservar el futuro. Se puede acceder a su página oficial en donde se encuentra información sobre sus publicaciones, convocatorias a eventos, códigos, manuales, publicaciones y directrices para el tratamiento, manejo y procedimientos en animales.

El Instituto Colombiano Agropecuario ICA, entidad pública nacional adscrita al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural cuya misión es trabajar por la sanidad agropecuaria

y la inocuidad agroalimentaria del campo colombiano. En su página oficial todos los interesados tienen la posibilidad de consultar información general, información de trámites, decretos, normativas y recibir atención personalizada.

A nivel nacional se han establecido procesos legislativos que van de la mano del objeto del presente documento y se pueden observar algunos de ellos en la Tabla 5.

**Tabla 5**

*Disposiciones Legales*

<b>Ley, Decreto, Resolución, Normativa, Sentencias.</b>	<b>Entidad Responsable</b>	<b>Objeto</b>
Artículo 79 de la Constitución Política de Colombia	República de Colombia	Es deber del Estado proteger la diversidad e integridad del ambiente, conservar las áreas de especial importancia ecológica y fomentar la educación para el logro de estos fines.
Resolución No.00001577 del 9 de Febrero de 2022	Instituto Colombiano Agropecuario	Por la cual se establecen los requisitos sanitarios y de bioseguridad para el registro de empresas como centrales de recolección y procesamiento, unidades de procesamiento, unidades de recolección e importadores de material genético de especies de interés zootécnico.
Decreto 2270 de 2012	Ministerio de Salud y Protección Social	Estable que todas las instalaciones y áreas requeridas en la producción primaria deben garantizar en su diseño, ubicación y mantenimiento, la protección y bienestar animal frente a los posibles riesgos zoonosológicos y de inocuidad que puedan enfrentar.

**Tabla 5 (Continuación)**

<b>Ley, Decreto, Resolución, Normativa, Sentencias.</b>	<b>Entidad Responsable</b>	<b>Objeto</b>
Decreto 2113 de 2017	Ministerio de Agricultura y Desarrollo	Bienestar animal para las especies de producción en el sector agropecuario”
Decreto 1071 de 2015	Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural	Impuso a cargo del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, la obligación de adoptar las normas necesarias para precisar las condiciones de bienestar animal propias para cada una de las especies de producción en el sector agropecuario.
Resolución número 00020277 de 2018	Instituto Colombiano Agropecuario	Por la cual se establecen los requisitos sanitarios y de inocuidad para obtener la certificación en Buenas Prácticas Ganaderas (BPG) en la producción primaria de ovinos y caprinos.
Ley 84 de 1989	Congreso de la República de Colombia	Estatuto Nacional de Protección de los Animales, establece que “(...) los animales tendrán en todo el territorio nacional especial protección contra el sufrimiento y el dolor, causados directa o indirectamente por el hombre.

## 5. Metodología

La metodología utilizada en esta práctica profesional se basó en la identificación de los pasos llevados a cabo dentro de la empresa objeto de intervención a través del análisis de la información obtenida, persiguiendo la uniformidad de los procedimientos solicitados en los objetivos del presente documento, de acuerdo con las normas y regulaciones de los países latinoamericanos, posibles clientes de la empresa en cuestión

Se investigó sobre los procesos para la selección, recolección y procesamiento de material genético, así como las interacciones o relaciones de interdependencia que existen entre cada uno de ellos.

Se asumió el proceso como el conjunto de actividades que recibe uno o más insumos y que crea un bien o servicio de valor para los clientes (exportación de material genético). Es decir, el proceso implica la utilización de recursos para transformar elementos de entrada en resultados de valor o útiles para el usuario interno o externo.

### 5.1 Procedimientos

Los procedimientos constituyen la parte medular del manual, toda vez que son la razón de dicho documento. Durante la recopilación de información secundaria o documental, se realizaron las siguientes actividades:

- Conocer y explorar todo el conjunto de fuentes con posibilidad de ofrecer alguna utilidad.
- Lectura sistemática a fin de seleccionar los documentos de utilidad.
- Recolección mediante apuntes del material pertinentes para el desarrollo de la práctica empresarial.

- Clasificación de apuntes de acuerdo con el contenido, ajustando lo hallado al esquema provisional, el cual fue efectuado directamente durante el proceso de transcripción informática y en un cuaderno destinado para el efecto.
- Se compara la información para luego analizarla, tratando de evaluar su confiabilidad.
- Finalmente se estructura el manual.

## 6. Resultados

El resultado de este trabajo de grado es un manual que describe técnicas y procedimientos para la selección, recolección y procesamiento de material genético bovino, destinado a la exportación en países latinoamericanos. El manual consta de:

El resultado de este trabajo de grado es un manual que describe técnicas y procedimientos para la terminar este trabajo de grado, se obtuvieron siguientes los resultados:

- Profundicé personalmente en los procesos para obtener y exportar material genético de calidad
- Puse en práctica la teoría aprendida durante la carrera y especialmente en este último semestre de pasantía, por medio de la visita y trabajo de campo.
- Se estructuró un manual para uso de la empresa Biotecnología Ganadera la Esmeralda, que facilite el cumplimiento de todos los niveles de los procesos.
- El manual estará disponible para consulta y posibles actualizaciones en la hemeroteca de la UDES

## 7. Discusión

La biotecnología de la reproducción representa el avance más importante en la determinación de las empresas, ganaderos, importadores y exportadores de lograr en un futuro no muy lejano hatos ganaderos con excelentes ejemplares con las mejores características en cuanto a reproducción y calidad de carne y/o producción de leche.

Los procesos para seleccionar animales de los cuales se obtendrá material genético óptimo para alcanzar los propósitos de mejoramiento genético son dispendiosos y requieren de protocolos estrictos. Es por esto que las centrales dedicadas a este entendido deben tener claridad para que los procesos sean exitosos.

Esta tecnología además de asegurar la obtención de ejemplares únicos, sanos y aptos, representa menores costos si se comparan con la exportación de animales en pie para lograr los cruces necesarios en el mejoramiento de los hatos ganaderos. Además de representar una considerable diferencia económica, se evitan los largos periodos de tiempo que se necesitarían para lograr obtener ejemplares F1, si se tuviera que limitar a la monta directa.

Un manual que contenga los protocolos para la selección, recolección y procesamiento de material genético facilita el conocimiento de los procedimientos correctos y legales para la exportación de material genético en Latinoamérica.

La empresa de Biotecnología Ganadera La Esmeralda aplica desde hace varios años las técnicas biotecnológicas para satisfacer las necesidades de los clientes interesados en el mejoramiento genético de sus hatos a nivel nacional. Es el momento en el cual el *“Manual Para el Proceso de Selección, Recolección y Procesamiento de Material Genético Para Exportación en Latinoamérica Para la Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda”*, le permite extender su campo de acción a países latinoamericanos.

Durante los procesos de selección, recolección y procesamiento de material genético no se deben dejar de lado las consideraciones éticas, las leyes, reglamentaciones y el respeto por el animal objeto de los procesos, en concordancia con la actual visión global de protección, respeto y cuidado del medio ambiente y todos los seres vivos.

## 8. Conclusiones

El manual producto de este estudio cumple con la función de recoger y ordenar la información suficiente para la exportación de material genético bovino en Latinoamérica para la empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda, siendo el resultado de una investigación minuciosa sobre procesos y normativas existentes y actualizadas sobre la materia.

El “*Manual Para el Proceso de Selección, Recolección y Procesamiento de Material Genético Para Exportación en Latinoamérica Para la Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda*” intenta identificar minuciosamente los pasos para facilitar el completo y correcto proceder para que la exportación de material genético sea una realidad desde Colombia y a nivel latinoamericano.

La empresa Biotecnología Ganadera la Esmeralda cuenta a partir de este momento con una guía completa para la gestión de exportación de material genético bovino

### **Recomendaciones**

Consultar el manual objeto de este trabajo de grado, para cumplir con todos los pasos de los diferentes procesos aquí tratados.

Actualizar el manual cuando la tecnología dicte nuevos procedimientos en el tema de este estudio.

Este manual está disponible para consultas, revisiones, actualizaciones y aportes.

El manual se puede consultar en el anexo #1 de este documento

### Referencias Bibliográficas

- Alzate Usme, D. M., Restrepo Marin, D. A., Ruiz Jaramillo, A. F., & Rodriguez, N. (2012). *Estado del arte de la biotecnología reproductiva bovina en Colombia*. Repositorio institucional Universidad CES.
- Amann, R., & Pickett, B. (1988). Principios de la criopreservación y revisión de la criopreservación de espermatozoides de sementa. *AGRIS*, Volumen 7 tema 3, pag 145 - 173.
- Arieta Román, R. J., Fernandez Figueroa, J. A., & Menchaca Peña, J. (mayo-junio de 2014). Métodos de Extracción de Semen Bovino. *15(5)*, 1-8. Málaga, España: REDVET.
- Arrieta Román, R. d., Fernandez Figueroa, J. A., & Menchaca Peña, J. (mayo-junio de 2014). Metodos de extraccion de semen bovino . Málaga, España: REDVET.
- Bonilla León, L., Bonilla Trujillo, D., & Gómez Domínguez, R. G. (2021). *PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS DEL LABORATORIO INVITRO COLOMBIA DURANTE EL AÑO 2019*. Working Papers ECAPMA, 1, 6 - 16.  
doi:<https://doi.org/10.22490/ECAPMA.4242>
- Equipo Editorial INTAGRI. (Noviembre de 2018). Biotecnología Aplicada a la Reproducción Bovina. Obtenido de <https://www.intagri.com/articulos/ganaderia/biotecnologia-aplicada-a-la-reproduccion-bovina>
- Foot, R. (2010). Influence of Light and Agitation on Bovine Spermatozoa Stored with Protective Agents. Ithaca, New YORK.
- García Zapata, L. C. (2009). PLAN DE MEJORAMIENTO PRODUCTIVO Y REPRODUCTIVO EN LA UNIDAD GANADERIA DE LA GRANJA LOS ALPES. Caldas, Antioquia: CORPORACIÓN UNIVERSITARIA LASALLISTA.
- Gutiérrez, C., Cifuentes, E., Pérez V., R., Romero Y., L., Martínez H., N., & González T., M. (12 de Septiembre de 2017). Transferencia de embriones fecundados in vitro en ganado bovino de doble propósito. *Revista MVZ Córdoba*, 6(1).  
doi:<https://doi.org/10.21897/rmvz.1067>
- Gutierrez, N. (2014). Tranferencia de embriones: Vacas donadoras y receptoras. Jalisco, Mexico.
- Gutierrez, N. (2014). TRANSFERENCIA DE EMBRIONES: VACAS DONADORAS Y RECEPTORAS. Obtenido de <https://sader.jalisco.gob.mx/fomento-ganaderoagricola-e-inocuidad/611>
- Hasler, J. (1992). Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. 2857-2879. *Journal of Dairy Science*. doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78049-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78049-7)

- Hasler, J. F. (1992). Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. 2857-2859. *Journal of Dairy Science*.  
doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78049-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78049-7)
- Holm , p. (1999). High bovine blastocis development in a static in vitro production system using sofaa medium supplemented with sodium citrate and myo-inocitol-with or with out serum - proteins. National library of medicine. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10734366/>
- Holm, P. (1999). High bovine blastocyst development in a static in vitro production system using sofaa medium supplemented with sodium citrate and myo-inositol with or without serum-proteins. National Library Of Medicine. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10734366/>
- ICA. (13 de Julio de 2009). Resolución 3336 de 2004.
- ICA. (5 de Mayo de 2016). Resolución 20033 de 2016.
- ICA. (02 de Septiembre de 2022). Resolución 00001577.
- ICA. (9 de 2 de 2022). Resolucion 00001577 . Colombia.
- Larson, B. (Mayo de 2008). Toros examen sanitario y aptitud reproductiva . *Revista angus*.
- Larson, B. (2008). TOROS: EXAMEN SANITARIO Y DE APTITUD. *Revista Angus, Bs. As.*, 241:43-44. Obtenido de <https://www.produccion-animal.com.ar/>
- Madison, V., Avery , B., & Greve , T. (febrero de 1992). Selection of immature bovine oocytes for development potentian invitro. *27(1)*, 1-11. doi:[https://doi.org/10.1016/0378-4320\(92\)90065-L](https://doi.org/10.1016/0378-4320(92)90065-L)
- Madison, V., Avery, B., & Greve, T. (Febrero de 1992). Selection of immature bovine oocytes for development potential in vitro. *27(1)*, 1-11. doi:[https://doi.org/10.1016/0378-4320\(92\)90065-L](https://doi.org/10.1016/0378-4320(92)90065-L)
- Mahecha, L., Gallego, L. A., & Peláez, F. J. (Agosto de 2002). Situación actual de la ganadería de carne en Colombia y alternativas para impulsar su competitividad y sostenibilidad. *15 No. 2*.
- Marquant-Le Guienne, B., Gerard, M., Solari, U., & Thibault, C. (s.f.). In vitro culture of bovine eggs fertilized either in vivo or in vitro. *Reprod Nutr Dev*. 1989;29(5):559-68.  
doi:10.1051/rnd:19890505. PMID: 2604870
- Mazur, P. (01 de Septiembre de 1984). Freezing of living cells: mechanisms and implications. Obtenido de <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpcell.1984.247.3.C125>
- Montenegro Gómez, S. P., & Hernández Ossa, Y. K. (01 de Enero de 2015). Biotecnología aplicada al desarrollo agropecuario colombiano. *6(2)*.  
doi:<https://doi.org/10.22490/21456453.1408>

- Morillo, M., Salazar, S., & Castillo, E. (2012). Evaluación del potencial reproductivo del macho bovino. 23-28. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS.
- Nibart, M., & Marquant-Le, G. (1995). Production d'embryons et de veaux par OPU-FIV chez les bovins. 1-23. *Elevage et Insémination* 266.
- OECD. (2009). *La Bioeconomía al 2030: diseñando una agenda política*.
- OIE. (2000). *Código Zoosanitario Internacioal de la OIE*. París: OIE.
- OIE. (2013). Toma y tratamiento de semen de bovinos, de pequeños rumiantes y de verracos. *Código Sanitario para los Animales Terrestres*, Capítulo 4.7.
- ONU. (2010). La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura. *Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura*.
- Ortega, J., & García, L. (Febrero de 2011). El Genoma bovino, métodos y resultados de su análisis. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias.
- Parroquia, J., Susko-Parrish, J., & Leibfried-Rutledge, M. (Abril de 1986). Bovine in vitro fertilization with frozen-thawed semen. National Library of Medicine. doi:10.1016/0093-691x(86)90143-3
- Pezzone, N. (2 de 7 de 2008). *Técnicas de extracción de semen de animales domesticos*.
- Puerta Gómez, L. F. (2006). *Aplicación de la biotecnología de la aspiración folicular OPU y fecundación in vitro FIV como herramienta para un mejor aprovechamiento de las hembras cebuinas dentro del plan de modernización del hato ganadero colombiano*. (F. d. Universidad de la Salle, Ed.) Bogotá.
- Roberts, S. (4 de Enero de 2011). *Obstetricia veterinaria y patologia de la reproduccion (teriogenologia)*. (1. Hemisferio Sur, Ed.)
- Ugalde, J. (2014). Biotecnologías reproductivas para el siglo XXI. 48, 33-34. (1, Trad.) La Habana, Cuba: *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*.
- Vilchis Ramos, J. L. (Junio de 2011). *MANUAL DE ASPIRACION FOLICULAR EN BOVINOS*. (U. A. Narro, Ed.) Torreón, México.
- Villamizar Guerrero, G. D. (2014). *Manual de procedimientos para la colecta y criopreservación de semen bovino para la empresa santa clara genética estado Paraná – Brasil*. (U. C. Colombia, Ed.) Bucaramanga.
- Villamizar, G. (2014). *Manual de procedimientos para la colecta y criopreservación de semen bovino para la empresa Santa Clara genetica estado Parana - Brasil*. Parana, Brasil: Universidad cooperativa de Colombia.

- Viotti, G. (2011). PROCESAMIENTO DE SEMEN BOVINO PARA LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL. MONTEVIDEO, URUGUAY : UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA FACULTAD DE VETERINARIA.
- Watson. (1995). Recent Developments and Concepts in the Cryopreservation of Spermatozoa and the Assessment of Their Post-Thawing Function. National Library of Medicine. doi:10.1071/rd9950871
- Wickham, B., Guellouz, M., Dimitriadou, A., & Mosconi, C. (2004). Establishing a shared cattle breeding database: Recent experience from Ireland. 339-342. (W. A. Publishers, Ed.)
- Woelders, H., Zuidberg, C., & Hiemstra, S. (2003). Applications, limitations, possible improvements and future of cryopreservation for livestock species, in: Workshop on Cryopreservation of Animal Genetic Resources in Europe. 67-76. (P. D. Planchenault, Ed.)

## Apéndices

## Apéndice A Formulario de Creación de Usuarios

 <b>FORMULARIO CREACIÓN DE USUARIOS SISAP ORACLE</b>	
DILIGENCIAR LA INFORMACIÓN SOLICITADA EN EL CUADRO A Ó B, SEGÚN EL CASO.	
<b>A. CREACIÓN AGENCIA DE ADUANA, TRANSPORTADORA, ETC.</b>	
NOMBRE O RAZÓN SOCIAL	
TIPO DE IDENTIFICACIÓN	
NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN	
DIRECCIÓN	
TELÉFONO	
FAX O CELULAR	
EMAIL	
PUERTO DE SALIDA	
<b>B. CREACIÓN IMPORTACIÓN Y/O EXPORTADOR SISAP</b>	
TIPO DE IDENTIFICACIÓN	
NUMERO	
DIGITO VERIFICACIÓN	
NOMBRE O RAZÓN SOCIAL	
DIRECCIÓN	
TELÉFONO	
DEPARTAMENTO	
CIUDAD	
FAX O CELULAR	
EMAIL	
<b>EN EL CASO DE NO TENER REGISTRO N/A</b>	
REGISTRO IMPORTADOR	
FECHA VENCIMIENTO	
REGISTRO EXPORTADOR	
FECHA VENCIMIENTO	
<b>MARCAR CON UNA X CUANDO APLIQUE</b>	
ÁREA AGRÍCOLA	
ÁREA PECUARIA	
COMERCIALIZADORA	SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
IMPORTADOR	
EXPORTADOR	
EXPORTADOR PECES	
<b>EN CASO DE SER COMERCIALIZADORA DILIGENCIAR</b>	
NOMBRE ASISTENTE	
APELLIDO ASISTENTE	
CÉDULA	
TARJETA PROFESIONAL	
TELÉFONO	
FAX	
DIRECCIÓN	
EMAIL	

## Apéndice B. Manual de Proceso

### Manual Para el Proceso de Selección, Recolección y Procesamiento de Material Genético Bovino (Embriones, Ovocitos y Semen) Para Exportación en Latinoamérica Para la Empresa Biotecnología Ganadera La Esmeralda

#### 1. Propósito

Este manual tiene como objeto determinar los procesos de selección recolección y procesamiento de material genético bovino para exportación en Latinoamérica.

#### 2. Alcance

Este manual va dirigido a la Empresa de Biotecnología Ganadera La Esmeralda y sus clientes interesados en la exportación de material genético en países latinoamericanos; sin embargo, se en encontrar disponible para cualquier consulta, actualización o referencia para la comunidad educativa.

#### 3. Descripciones

##### 3.1. Definiciones

- Crio preservación: Congelación a temperaturas entre 80° y 196|C y de esta manera disminuir las funciones vitales de microorganismos para que puedan mantener su vitalidad y preservación durante mucho tiempo. (Villamizar, 2014)
- Manual: Metodología en la cual se enumeran cronológicamente procedimiento u operaciones que conlleven a una actividad específica.
  - (mm): Milímetros
  - (cm): Centímetros
  - (ml): Mililitros
  - (µg): Microgramo
- Exportación: Se refiere a el trafico legal de bienes o servicios de una aduana a otra, con disposiciones legales y controles tributarios para los países a ingresar dicho material o servicio.
- Material genético: Productos que contienen información genética, la cual se almacena en el núcleo celular.
- Fertilización in vitro:
- Bioseguridad: Son un listado de normas que su objetivo principal es prevenir o minimizar algún riesgo para la salud humana, ambiental y animal.

##### 3.2. Desarrollo de Contenido

###### 3.2.1 *Requisitos Sanitarios Para Exportación*

La persona interesada en exportar material genético debe revisar previamente los requisitos sanitarios del país importador. Los requisitos no varían mucho de un país a otro y se refieren a: producto, uso, especie, país de destino. Estos requisitos pueden ser consulados en la página oficial del ICA.

Si en el país de interés no existen requisitos explícitos debe consultar directamente con el servicio veterinario del país de destino sobre las condiciones sanitarias que permitan exportar materiales procedentes de Colombia y comenzar un proceso de negociación sanitaria. Contáctese con: [asuntos.internacionales@ica.gov.co](mailto:asuntos.internacionales@ica.gov.co).

Si los requisitos del país de destino están especificados y entre ellos se encuentran el Certificado Zoonosanitario Para Exportación (CZE) proceda a:

1. Regístrese como usuario en el Sistema De Información Sanitaria Para Importación y Exportación De Productos Agrícolas Y Pecuarios (SISPAP). Adjunte copias escaneadas de.

- Certificado de cámara y comercio reciente
- Copia escaneada del RUT
- Forma 4-908 (Anexo 1)

Para acceder a la página del SISPAP, utilice el siguiente link. [https://www.ica.gov.co/servicios\\_linea/sispap\\_principal.aspx](https://www.ica.gov.co/servicios_linea/sispap_principal.aspx).

En el siguiente link, encontrara un video tutorial del proceso <https://www.youtube.com/watch?v=-njN5wXNb90>.

2. El productor debe estar registrado en la Dirección Técnica De Inocuidad e Insumos Veterinarios, como procesador y recolector de material genético. Para este requisito comuníquese con:

[aseduardo.murcia@ica.gov.co](mailto:aseduardo.murcia@ica.gov.co) o [asuntos.internacionales@ica.gov.co](mailto:asuntos.internacionales@ica.gov.co)

3. El material a exportar debe estar registrado en el SISPAP. Si no se encuentra enlistado, realice una solicitud de registro a [cuarentena.animal@ica.gov.co](mailto:cuarentena.animal@ica.gov.co). A través de este se le indicara el procedimiento a seguir.

4. Solicitar al SISPAP el CZE y su colilla de pago. Tenga en cuenta los siguientes datos.

- Uso / Destino / Material Genético
- Unidad de medida: dosis, unidades, etc.
- Valor FOB: Valor total del producto.
- Para que los funcionarios Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) revisen y tramiten su solicitud, esta debe ser pagada en línea con anticipación.

5. En este momento la solicitud se encontrará en la dirección técnica de cuarentena para revisión y tramite final. El exportador revisará un correo electrónico indicándole si fue:

- Aprobado: el CZE será entregado en las oficinas nacionales del ICA u oficinas autorizadas.
- Rechazada: En este caso deberá presentar y cancelar una nueva solicitud CZE por medio del SISPAP, con información clara, completa y consistente.

Por medio del SISPAP a través del sistema de pagos PSE se cancela esta solicitud. Esta inspección sanitaria se realiza entre 24 y 48 horas antes de la salida de los productos de Colombia para que funcionario ICA programe la inspección. La solicitud se realiza a través del SISPAP mediante los siguientes pasos:

- Dar click en el link Inspección
- Dar click en CIS
- Dar click en CIS Exportación Pecuaria
- Dar click en generar CIS
- Tener preparado el documento previo, para llenar los datos

### 3.3. Selección de Machos Bovinos

El empeño por incrementar los números en la ganadería colombiana para conseguir mejoramiento de las razas de carne y/o leche por medio de las biotecnologías de la reproducción, requiere que se realice una correcta selección de ejemplares para cumplir con estos propósitos. (ICA, 2022)

Parámetros para seguir para la selección de machos bovinos.:

- Ejemplar Inegativo para Tuberculosis bovina, Brucellosis bovina, Campylobacter fetus var. Venerealis, Tricomonirosis. (ICA, 2022)
- Circunferencia escrotal a la pubertad por encima de 28cm y en toros adultos por encima de 33cm (Larson B. , 2008)
- Consistencia testicular homogénea
- Observación del ejemplar en marcha, conformación y sanidad de sus miembros y su condición corporal. Examen físico del ejemplar, inspección de ojos, boca y ollares. (Larson B. , 2008)

### 3.4 selección de Hembras Bovinas

El proceso de selección de hembras donantes es muy importante ya que las hembras más productoras de leche no siempre son obligatoriamente las que responden positivamente al proceso de súper-ovulación. Por tal motivo, es necesario practicar chequeos reproductivos y ecografías de ovarios y útero para certificar su condición

Parámetros para la selección de hembras bovinas donadoras:

- Que sean de alto valor comercial
- Que no presenten enfermedades de la fertilidad
- Que no sufran de enfermedades hereditarias
- Que posean excelente historial de salud y reproducción
- Que sus ciclos estrales sean regulares
- No tener demasiada edad
- Folículo dominante superior a 10 mm.

Parámetros para la selección de hembras bovinas receptoras:

- Libres de enfermedades reproductivas.
- Que se constate que serán buenas amamantadoras.
- Las receptoras ideales son hembras jóvenes, sanas, con conocida fertilidad y habilidad materna y tamaño adecuado para prevenir problemas a la hora del parto. (Gutierrez N. , 2014)

### 3.5. Proceso de Recolección de Semen.

Para la recolecta del semen bovino con fines de inseminación, se utilizan varias técnicas: la más conocida y utilizada es con la ayuda de una vagina artificial. En la segunda técnica se utiliza un electroeyaculador. Esta última es usada en situaciones muy específicas, por ejemplo, cuando es imposible el uso de la vagina artificial, puesto que inflige dolor al animal.

Independientemente del método que se use para la recolección del semen, se deben seguir los siguientes parámetros para la higienización del macho a colectar:

- Lavado ventro abdominal con abundante solución estéril
- Secado con toalla de papel
- Recorte del exceso del ostio prepucial
- Lavado interno prepucial con solución salina.
- Estimulación y descarga del líquido pre-seminal.

#### 3.5.1 Recolección Mediante Vagina Artificial.

La vagina artificial es una herramienta útil para la colecta de semen y su funcionamiento es el más parecido a la monta natural que aparte de recolectar el semen, puede evaluar la monta del macho. La temperatura requerida para la vagina artificial esta entre 40 – 45°C. (Arrieta Román, Fernandez Figueroa, & Menchaca Peña, 2014)

- Uso de señuelo, vaca, macho o maniquí.
- Higiene del prepucio, tricotomía y lavado con solución estéril
- Estimulación del semental mediante monta falsa o masaje transrectal.
- Al momento de la monta introducir el pene en la vagina artificial y esperar el golpe de riñón y descarga. (Pezzone, 2008)

#### 3.5.2 Recolección Mediante Electroeyaculador.

El electroeyaculador es un equipo que estimula los nervios simpáticos y parasimpáticos, por medio de impulsos eléctricos leves que conducen a la erección y eyaculación. Se compone de: Sonda rectal con 2 o 3 bandas de electrodos, unidad de control, cable de energía que conecta la sonda con la unidad y un tubo colector.

El paso a paso para la colecta de semen, es como sigue:

- Inmovilización del toro
- Extracción manual de material fecal con guante de palpación
- Masaje longitudinalmente en la próstata y vesículas seminales
- Introducir vía rectal la bala del electro eyaculador lubricada
- Se procede a la iniciación de la estimulación eléctrica desde la frecuencia más baja
- El pene inicia su desenfunde
- Comienza la salida del líquido pre-seminal el cual no se colecta
- Colocamos el tubo colector en la punta del pene y colectamos su esperma
- Extracción de la bala electroeyaculadora.

En la fase de recolección se evalúan los siguientes parámetros selectivos:

Evaluación macroscópica seminal, cuyos parámetros a evaluar son:

- Hora de inicio
- Hora de eyaculado
- Color (blanco lechoso uniforme)
- Volumen en ml. (de acuerdo a los ejemplares).
- Olor (inodoro)

Evaluación microscópica, se analizan las siguientes características:

- Motilidad masal (evalúa el movimiento seminal).
- Vigor.
- Viabilidad.
- Concentración espermática.
- Hora de refrigeración
- Hora de congelación
- Observaciones (Villamizar, 2014)

### 3.5.3 Recolección de Ovocitos

La aspiración folicular es un proceso esencial Para la recolección de ovocitos, esta técnica debe ser realizada por un profesional con experiencia y cumpliendo los siguientes pasos:

- Disponer de la guía de aspiración folicular
- Aplicar 5 ml de lidocaína epidural al 2%
- Evacuar las heces en la cavidad rectal
- Se procede a desinfectar con detergente, abundante agua y toallas de papel.
- Mediante palpación se ubican los ovarios
- Mediante palpación transrectal se sujetan los ovarios y se introduce la guía vía vaginal.
- Con el transductor (previamente esterilizado) y con ayuda de gel lubricante se localizan los ovarios visualizándolos en la pantalla del ecógrafo mientras dirigimos la guía manualmente para aspirar los folículos.
- Al finalizar la aspiración mediante la presión de la bomba se llenan los tubos colectores con el material aspirado, se extrae la guía y el contenido se lleva a laboratorio para selección y procesamiento.
- Para la aspiración se usa una solución Buffer fosfatada + 1% de suero fetal bovino + 10 unidades de heparina por ml + 25 µg/ml de gentamicina. (Hasler J. F., 1992)

## 3.6 Procesamiento

### 3.6.1 procesamiento de Semen

Mediante el procesamiento y crio preservación de semen se asegura la viabilidad y durabilidad del material genético colectado. Posterior a la colecta el semen debe pasar por una dilución.

Para la dilución se utiliza la siguiente fórmula estándar para calcular la dosis del semen:

- No. De espermatozoides en mililitros X volumen del eyaculado = concentración
- Concentración X % espermatozoides con motilidad = espermatozoides viables
- Espermatozoides viables ÷ concentración en pajilla = # de pajillas

- # pajillas X 0,5 ml o 0.25ml (vol. pajilla escogida) – volumen final (eyaculado + diluyente)

### 3.6.2. identificación de rejillas

- Raza
- Nombre
- Número de registro
- Nombre de la central
- Fecha del eyaculado.

### 3.6.3 Empajillado del Semen

Este proceso se puede realizar mediante métodos manuales o con ayuda de equipos automatizados.

### 3.6.3 Sellamiento de Pajillas

Este proceso se realiza con un equipo manual que proporciona calor a un extremo de la pajilla. Otro sistema para el sellado utiliza polivinilo.

### 3.6.4 Congelación de Pajillas (Criopreservación)

- Se utilizan soportes de icopor con una distribución homogénea de pajillas cubiertas con papel aluminio.
- Se colocan en el refrigerador por 3 horas a temperatura de 4°C.
- Al finalizar las 3 horas de refrigeración retiramos el papel aluminio y comenzará la fase de congelación.
- Se introducen las pajillas en vapor de Nitrógeno líquido durante 30 minutos a distancia de 5 cm del vapor.
- Seguidamente, se introducen las pajillas en el nitrógeno líquido en los bastones del termo de congelación.

### 3.6.5 Descongelación de Pajillas

- Se descongela a baño maría a 37°C por 30 segundos.

### 3.6.6 Evaluación del Semen Congelado.

Posterior al proceso de recolección y congelamiento de semen se debe evaluar la motilidad masal mediante microscopía a 40X. (Villamizar, 2014)

### 3.6.2 Procesamiento de Ovocitos

Una vez aspirados los ovocitos se pasa a la siguiente etapa que es el procesamiento de los mismos.

- Se colecta el material aspirado en un tubo de recolección a 37°C
- Se procede a pasar el contenido por un filtro, el cual separara los ovocitos del medio de aspiración y desechos ováricos.

Se lleva la placa Petri al microscopio en el cual mediante una pipeta se seleccionan los ovocitos viables que deben tener las siguientes características:

- cúmulus oophorus compacto
- zona pelúcida delimitada, sin espacios

- una corona radiada
- citoplasma y núcleo delimitados.

### 3.6.2.1 Proceso de Maduración

- Lavado de ovocitos
- Se colocan entre 10 y 12 ovocitos en una gota de medio maduración en una placa Petri con aceite mineral
- 22 horas después se extraen los ovocitos de las gotas de cultivo, se sacan las células del cumulus ooforus, se fija por 24 horas en ácido acético-etanol (1:3). Se tiñen con acetoorceína por 30 minutos
- se inoculan los espermatozoides que en este momento penetran y se genera una unión en los gametos. Esta fertilización dura entre 18 y 22 horas período durante el cual deben estar protegidos de la luz y la humedad. Los ovocitos se deben transportar en un termo con solución salina al 0.9% de NaCl, el cual se puede sustituir por solución fosfato-tamponada salina, los cuales se conforman por antibióticos y otros nutrientes. Este transporte se debe hacer hasta máximo 6 horas después de la recolección (Madison, Avery , & Greve , Selection of immature bovine oocytes for development potential invitro., 1992)

### 3.6.2.1 Cultivo de Embriones

- los cigotos se retiran del medio in vitro. Se desechan las células del cumulus de los cigotos y se clasifican los de mejor calidad El cultivo es el tiempo en el que se desarrollan las estructuras hasta convertirse en blastocistos con una duración entre 1 y 7 días
- Las características que deben cumplir los embriones aptos son: simetría, homogeneidad y coloración del embrión. (Holm p. , 1999)