

INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS
ARXIU DE LES SECCIONS DE CIÈNCIES, CXXVI
SECCIÓ DE CIÈNCIES BIOLÒGIQUES

S. BONET, M. BRIZ, E. PINART, S. SANCHO, N. GARCÍA-GIL, E. BADIA

MORFOLOGIA ESPERMÀTICA EN PORCÍ
MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA EN PORCINO
MORPHOLOGY OF BOAR SPERMATOZOA

BARCELONA
2000

MORFOLOGIA ESPERMÀTICA EN PORCÍ
MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA EN PORCINO
MORPHOLOGY OF BOAR SPERMATOZOA

This One



T7T2-RZ4-WQ9J

FIGURES DE LA SOBRECORTA

- FIGURA 1. - Espermatzoide amb tres caps i la cua enrotllada.
- Espermatzoide con tres cabezas y la cola enrollada.
- *Tricephalic spermatozoon with a coiled tail.*

- FIGURA 2. - Secció transversal de la peça principal de la cua de dos espermatzoides. Observeu en una de les cues l'absència de la parella de microtúbuls centrals.
- Sección transversal de la pieza principal de la cola de dos espermatzoides. Obsérvese en una de ellas la ausencia de la pareja de microtúbulos centrales.
- *Cross-section of the principal piece of the tail of two spermatozoa. Note the absence of the central microtubule pair in one of them.*

INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS
ARXIU DE LES SECCIONS DE CIÈNCIES, CXXVI
SECCIÓ DE CIÈNCIES BIOLÒGIQUES

S. BONET, M. BRIZ, E. PINART, S. SANCHO, N. GARCÍA-GIL, E. BADIA

MORFOLOGIA ESPERMÀTICA EN PORCÍ
MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA EN PORCINO
MORPHOLOGY OF BOAR SPERMATOOZA

BARCELONA
2000

Biblioteca de Catalunya. Dades CIP

Morfologia espermàtica en porcí = Morfología espermática en porcino = Morphology of boar spermatozoa. — (Arxius de les seccions de ciències ; 126)
Text en català, castellà i anglès. — Bibliografia

ISBN 84-7283-533-2

I. Bonet, Sergi II. Durfort i Coll, Mercè, ed. III. Egozcue i Cuixart, Josep, ed.

IV. Institut d'Estudis Catalans. Secció de Ciències Biològiques

V. Títol: Morfologia espermàtica en porcí VI. Títol: Morfología espermática

en porcino VII. Títol: Morphology of boar spermatozoa VIII. Col·lecció:

Arxius de les seccions de ciències ; 126

1. Porcs — Espermatozoides

591.463.1:599.731

L'edició d'aquesta obra
ha estat a cura de Mercè Durfort i Josep Egozcue,
membres de l'Institut d'Estudis Catalans

© dels autors

© 2000, Institut d'Estudis Catalans, per a aquesta edició

Carrer del Carme, 47. 08001 Barcelona

Primera edició: novembre de 2000

Tiratge: 600 exemplars

Text revisat lingüísticament pel Servei de Correcció de l'IEC

Compost per ATM producció, SL

Gran Via de Carles III, 86, Torre Est. Local 11. Edificis Trade. 08036 Barcelona

Imprès a Limpergraf, SL

Polígon industrial Can Salvatella. Carrer de Mogoda, 29-31. 08210 Barberà del Vallès

ISBN: 84-7283-533-2

Dipòsit Legal: B. 44667-2000

Són rigorosament prohibides, sense l'autorització escrita dels titulars del *copyright*, la reproducció total o parcial d'aquesta obra per qualsevol procediment i suport, incloent-hi la reprografia i el tractament informàtic, la distribució d'exemplars mitjançant lloguer o préstec comercial, la inclusió total o parcial en bases de dades i la consulta a través de xarxa telemàtica o d'Internet. Les infraccions d'aquests drets estan sotmeses a les sancions establertes per les lleis.

TAULA

PRÒLEG	7
INTRODUCCIÓ	9
1. METODOLOGIA	11
1.1. Protocol per a la preparació d'extensions de semen tenyides amb la tècnica de coloració de Papanicolaou per ser observades amb el microscopi òptic de camp clar	11
1.2. Protocol per a la preparació d'extensions de semen tenyides amb el mètode panòptic ràpid per ser observades amb el microscopi òptic de camp clar	12
1.3. Protocol per a la preparació de mostres de semen per ser observades amb el microscopi òptic de contrast de fases positives o negatives, i de contrast interferencial de Nomarski	13
1.4. Protocol per a la preparació de mostres de semen per ser observades amb el microscopi electrònic de rastreig	14
1.5. Protocol per a la preparació de mostres de semen per ser observades amb el microscopi electrònic de transmissió	15
2. L'ESPERMATOZOIDE MADUR	17
2.1. Estructura i morfologia externa	17
2.2. Ultraestructura	17
2.2.1. El cap	17
2.2.2. La peça de connexió	18
2.2.3. La peça intermèdia	19
2.2.4. La peça principal	20
2.2.5. La peça terminal	22
3. ELS ESPERMATOZOIDES IMMADURS	25
4. ELS ESPERMATOZOIDES ABERRANTS	27
4.1. Morfologia externa i classificació	27
4.1.1. Malformacions que afecten la forma del cap	28

4.1.2. Malformacions que afecten la mida del cap	28
4.1.3. Malformacions que afecten el nombre de caps	28
4.1.4. Malformacions que afecten la trajectòria de la cua	29
4.1.5. Malformacions que afecten la mida de la cua	30
4.1.6. Malformacions que afecten el nombre de cues	30
4.2. Morfologia interna i classificació	30
4.2.1. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen	30
4.2.2. Espermatozoides amb la cua enrotllada	31
4.2.3. Espermatozoides amb dues cues	31
4.2.4. Espermatozoides amb malformacions cefàliques	31
4.2.5. Espermatozoides amb malformacions a la cua	31
5. ALTRES CÈL·LULES	33
5.1. Les cèl·lules somàtiques	33
5.2. Les cèl·lules procariotes	33
6. MORFOLOGIA ESPERMÀTICA EN PORCINO MORPHOLOGY OF BOAR SPERMATOOA	35 67
7. LAMINES	99
8. BIBLIOGRAFIA	237

PRÒLEG

M'és molt plaent fer una breu presentació d'aquesta obra que teniu a les mans. *Morfologia espermàtica en porcí* és el resultat d'un treball de recerca molt acurat que, al llarg d'una desena d'anys, s'ha dut a terme a la Facultat de Ciències de la Universitat de Girona, sota la direcció del doctor Sergi Bonet.

Sergi Bonet és catedràtic de Biologia Cel·lular de la Universitat de Girona, coordinador de la Secció de Biologia de la Reproducció de la Societat Catalana de Biologia i, alhora, membre de la xarxa temàtica de la mateixa denominació creada per la CIRIT (1994).

La ponència del premi August Pi i Sunyer 1998, formada pels doctors Josep Egozcue i Cuixart, Jesús A. García Sevilla i Jordi Sans i Sabrafen, va recomanar a la Secció de Ciències Biològiques la publicació d'un dels treballs que s'hi varen presentar. La Secció ho aprovà al juliol de 1998 i els curadors de l'obra van demanar als autors que remodelessin el treball per a convertir-lo en aquest Atlas.

De la recerca dels gàmetes masculins del porcí han sorgit dues tesis doctorals i un bon nombre de treballs publicats en revistes de prestigi internacional, alguns dels quals trobareu referenciats en la bibliografia d'aquesta obra.

Els qui emprem els microscopis òptics i electrònics en les seves diverses modalitats (transmissió i rastreig) com a eina de recerca imprescindible donem una gran importància a la metodologia utilitzada en la preparació de les mostres biològiques per fer-ne l'estudi.

Això determina que, davant un document gràfic, microfotografia o electromicrografia, se'n faci automàticament una valoració qualitativa exagerada pel no-expert en aquest àmbit d'estudi. Efectivament, l'obtenció d'una imatge "perfecta" depèn de tants factors que cal espigolar molts documents per escollir-ne uns pocs de vàlids per llur publicació, tant des del punt de vista resolutiu com des del punt de vista informatiu i, fins i tot, estètic.

Amb aquestes paraules vull destacar la qualitat iconogràfica d'aquesta obra i indicar al no-expert en ultraestructura cel·lular que les seccions ultrafines presentades en aquesta obra són representatives de les diferents orientacions dels talls, i permeten quantificar les anomalies morfològiques dels diferents compartiments cel·lulars d'aquesta cèl·lula tan altament especialitzada que és l'espermatozoide. I, amb això, es pot calibrar el grau d'alteracions morfològiques que determinen les anomalies funcionals del gàmeta.

Els resultats obtinguts, de gran qualitat tots ells, varen ésser aconseguits emprant la infraestructura del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat Autònoma de Barcelona i, posteriorment, els autors ja van disposar d'una infraestructura pròpia: els Serveis Tècnics de Recerca de la Universitat de Girona.

Existeixen pocs atlas d'aquests tipus que compaginen les observacions amb el microscopi òptic, el microscopi electrònic de transmissió i el de rastreig. Recentment, va aparèixer el d'Andolz i Bielsa (1995) sobre

semen humà, però no en conec cap sobre semen d'espècies d'interès ramader. Fa anys es va publicar un atlas, amb el qual vaig col·laborar, que estava totalment dedicat a la citologia i la histologia de l'aparell reproductor masculí d'amfibis i rèptils del País Basc (Arrayago i Bea, 1986). Aquest estudi, però, va ser fet únicament amb el microscopi òptic.

Morfologia espermàtica en porcí és, sens dubte, una obra que despertarà l'interès als estudiosos del tema i, també, a estudiants de facultats de Biologia, Medicina i Veterinària que tinguin matèries d'estudi optatives referents a la biologia de la reproducció.

Sense voler renunciar a res i donat el ventall de persones que potencialment poden interessar-se en aquesta obra, es va decidir publicar-la en tres idiomes.

Desitjo que aquesta iniciativa sigui ben acollida per la nostra comunitat científica.

Mercè DURFORT i COLL
Catedràtica de Biologia Cel·lular de la Universitat de Barcelona
Membre de la Secció de Ciències Biològiques

INTRODUCCIÓ

La morfologia espermàtica és un dels paràmetres avaluats en les anàlisis seminals rutinàries dels ejaculats de mascles reproductors porcins. De fet, una anàlisi seminal completa inclou un conjunt molt ampli de proves (volum, color, olor, viscositat, motilitat espermàtica, concentració espermàtica, vitalitat espermàtica, morfologia espermàtica, resistència osmòtica, pH, activitat respiratòria, índex de glucòlisi, determinació d'acrosina, determinació d'ATP, test de penetració espermàtica, etc.) i els seus valors ens indiquen la qualitat espermàtica dels ejaculats.

La qualitat espermàtica d'un ejaculat, definida pels resultats de les diverses proves practicades, ens indica si el semen obtingut reuneix les característiques mínimes requerides per poder ser utilitzat amb garanties suficients per obtenir una bona fertilitat i prolificitat.

Pels centres d'inseminació artificial i per a la majoria d'explotacions de selecció i multiplicació (en les quals la inseminació artificial, pels avantatges que ofereix respecte a la muntura natural, és una pràctica cada cop més estesa), l'avaluació correcta de tots els paràmetres de l'anàlisi seminal és fonamental. De tots aquests paràmetres que cal avaluar, una acurada anàlisi de la morfologia espermàtica ens pot suggerir, en alguns casos, quina ha estat la causa que ha pogut originar una davallada de la qualitat espermàtica i la fertilitat.

En aquest llibre s'aborden les diverses tècniques que poden ser utilitzades per a l'anàlisi microscòpica de la morfologia espermàtica, així com les múltiples morfologies espermàtiques (agrupades per tipologies) presents en la fracció espermàtica dels ejaculats de mascles reproductors porcins. No vol ser ni vol substituir cap dels excel·lents textos pràctics que hi ha en el mercat referents a l'anàlisi seminal i a les tècniques d'inseminació artificial. Es tracta d'un atlas de morfologia espermàtica en porcí i d'un manual de les tècniques per a llur estudi que vol aprofundir en els coneixements relatius a la morfologia espermàtica normal i en les malformacions espermàtiques presents en l'ejaculat.

Sovint es disposa de poques ocasions per poder arribar a un ampli col·lectiu de professionals i investigadors, com és l'edició d'un llibre, i fer-los coneixedors dels resultats obtinguts d'una dilatada i intensa recerca. Aquesta oportunitat ens l'ha ofert l'Institut d'Estudis Catalans quan ens va encarregar aquesta obra i voldríem agrair-li la sensibilitat que ha mostrat, en tot moment, al llarg de la seva edició. Així mateix, vull agrair a la Fundació Privada Girona: Universitat i Futur el suport econòmic rebut per a la realització de les microfotografies.

No vull desapropiar aquesta excel·lent plataforma de comunicació per agrair, molt especialment, a tres persones el suport que m'han donat des dels inicis de la meva activitat universitària. La Dra. Mercè Durfort (catedràtica de Biologia Cel·lular de la Universitat de Barcelona), el Dr. Josep Egozcue (catedràtic de Biologia Cel·lular de la Universitat Autònoma de Barcelona) i el Dr. Josep Maria Nadal (catedràtic de Filologia Catalana de la Universitat de Girona) han estat en tot moment una font inesgotable d'idees i bons consells. A tots tres amics, gràcies, moltíssimes gràcies.

DR. SERGI BONET MARULL
Girona, 23 de novembre de 1999

1. METODOLOGIA

Les mostres de semen utilitzades per a l'estudi morfològic amb el microscopi òptic i amb el microscopi electrònic provenen de la fracció rica dels ejaculats de mascles reproductors porcins postpuberals. Els ejaculats s'obtenen pel mètode de la mà enguantada (masturbació manual amb guant de goma) a partir de mascles muntats sobre un maniquí. Dels ejaculats obtinguts es menyspreen les fraccions preespermàtica i postespermàtica i es guarda la fracció espermàtica (fracció rica en espermatozoides), prèviament filtrada a través d'una gasa a fi i efecte d'eliminar les masses gelatinoses procedents de la secreció de les glàndules de Cowper.

La fracció espermàtica s'ha de diluir 1/10 amb diluent MR-A i es pot emmagatzemar, per un període no superior als tres dies, en flascons d'uns 80 ml a 15 °C.

1.1. PROTOCOL PER A LA PREPARACIÓ D'EXTENSIONS DE SEMEN TENYIDES AMB LA TÈCNICA DE COLORACIÓ DE PAPANICOLAOU PER SER OBSERVADES AMB EL MICROSCOPI ÒPTIC DE CAMP CLAR

1. Realitzeu extensions de semen a partir de la fracció espermàtica diluïda i deixeu-les assecar a l'aire.
2. Fixeu les extensions en etanol absolut: èter etílic (v/v) durant 5 minuts.
3. Hidrateu amb etanol 80 %; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.
4. Hidrateu amb etanol 70 %; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.
5. Hidrateu amb etanol 50 %; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.
6. Hidrateu amb aigua destil·lada; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.
7. Tenyiu amb la solució Papanicolaou núm. 1 (hematoxilina de Harris) durant 3 minuts.
8. Renteu amb aigua corrent durant 3 minuts.
9. Diferencieu amb etanol àcid; realitzeu 2 immersions d'1 segon cadascuna.
10. Freneu la diferenciació amb aigua corrent durant 3 minuts.
11. Vireu l'hematoxilina amb aigua de Scott durant 4 minuts.
12. Renteu amb aigua destil·lada; realitzeu 1 immersió d'1 segon.
13. Deshidrateu amb etanol 50 %; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.
14. Deshidrateu amb etanol 70 %; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.
15. Deshidrateu amb etanol 80 %; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.
16. Deshidrateu amb etanol 90 %; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.
17. Tenyiu amb la solució Papanicolaou núm. 2 (taronja G6) durant 2 minuts.
18. Diferencieu amb etanol 95 %; realitzeu 10 immersions d'1 segon cadascuna.

19. Tenyiu amb la solució Papanicolaou núm. 3 (EA-50) durant 5 minuts.
 20. Diferencieu amb etanol 95 %; realitzeu 15 immersions d'1 segon cadascuna.
 21. Deshidrateu amb etanol absolut durant 2 minuts.
 22. Aclariu amb xilol durant 1 minut.
 23. Aclariu novament amb xilol durant 1 minut.
 24. Munteu amb un medi hidròfob (ex: DPX, Entellan, Bàlsam del Canadà, etc.) i col·loqueu un cobreobjecte de 24 x 60 mm.
- Les preparacions s'observen a 1.000x-1.200x.

REACTIUS

L'estoig de les tres solucions de Papanicolaou es pot adquirir a diverses cases comercials (ex.: Merck).

- Etanol àcid

Etanol absolut	300 ml
Àcid clorhídric concentrat (HCl)	2 ml
Aigua destil·lada	100 ml
- Aigua de Scott

Bicarbonat sòdic (NaHCO ₃)	3,5 g
Sulfat de magnesi (MgSO ₄ · 7H ₂ O)	20,0 g
Aigua destil·lada	1.000 ml

RESULTATS

Aquesta coloració permet distingir bé les cèl·lules germinals dels diversos tipus de cèl·lules somàtiques presents en les extensions.

Regió acrosòmica	rosa
Regió postacrosòmica	blau fosc
Cua	rosa
Eritròcits	taronja-vermell
Cèl·lules acidòfiles	rosa
Cèl·lules basòfiles	verd-blau
Leucòcits	vermell pàl·lid

1.2. PROTOCOL PER A LA PREPARACIÓ D'EXTENSIONS DE SEMEN TENYIDES AMB EL MÈTODE PANÒPTIC RÀPID PER SER OBSERVADES AMB EL MICROSCOPI ÒPTIC DE CAMP CLAR

1. Realitzeu extensions de semen a partir de la fracció espermàtica diluïda i deixeu-les assecar a l'aire.

2. Submergiu les extensions en el reactiu núm. 1 (solució fixadora metfílica de triarilmetà); realitzeu 5 immersions de 2 segons cadascuna. Escorreu l'excés de fixador abans d'aplicar-hi el reactiu següent.
3. Submergiu les extensions en el reactiu núm. 2 (solució colorant basòfila de xantè, vermellosa); realitzeu 5 immersions de 2 segons cadascuna. Escorreu l'excés de colorant abans d'aplicar-hi el reactiu següent.
4. Submergiu les extensions en el reactiu núm. 3 (solució colorant acidòfila de tiazina, blavosa); realitzeu 5 immersions de 2 segons cadascuna. Escorreu l'excés de colorant.
5. Renteu les extensions amb aigua desionitzada i deixeu-les assecar a l'aire.
6. Munteu amb un medi hidròfob (ex.: DPX, Entellan, Bàlsam del Canadà, etc.) i col·loqueu un cobreobjectes de 24 x 60 mm.

Les preparacions s'observen a 1.000x-1.200x.

REACTIUS

L'estoig dels tres reactius es pot adquirir a diverses cases comercials (ex.: Quick Panoptic —QCA, SA—, Diff-Quik®, Hemacolor —Merck—).

RESULTATS

Aquesta coloració permet distingir les diverses regions de l'espermatozoide.

Cap (acrosoma)	blau pàl·lid
Peça de connexió	rosa
Peça intermèdia	violeta
Peça principal	blau fosc

1.3. PROTOCOL PER A LA PREPARACIÓ DE MOSTRES DE SEMEN PER SER OBSERVADES AMB EL MICROSCOPI ÒPTIC DE CONTRAST DE FASES POSITIVES O NEGATIVES, I DE CONTRAST INTERFERENCIAL DE NOMARSKI

1. Col·loqueu 1 ml de la fracció espermàtica diluïda en un tub d'assaig.
2. Immobilitzeu els espermatozoides submergint el tub en aigua a 55-60 °C durant 5 minuts.
3. Dipositeu una petita gota de l'esperma diluït en un portaobjectes i munteu amb un cobreobjectes de 22 x 22 mm.

Les preparacions s'observen des dels 400x fins als 1.200x.

RESULTATS

La microscòpia òptica de contrast de fases permet identificar els límits de les regions cefàliques, acrosòmica i postacrosòmica, i de les peces següents de l'espermatozoide: connexió, intermèdia, principal i terminal.

La microscòpia òptica de contrast interferencial de Nomarski (DIC) permet identificar el relleu cel·lular i, en aquest sentit, és idoni per a l'estudi de la forma plana del cap, de l'aspecte protuberant del segment acrosòmic apical i de la forma cilíndrica de la cua.

Si l'esperma diluït no ha estat prèviament immobilitzat (pas núm. 2 del protocol), l'observació de les mostres permet examinar la motilitat espermàtica.

Si es desitja obtenir un major contrast entre les estructures cel·lulars, les mostres han de ser prèviament fixades amb glutaraldèhid al 2,5 % i postfixades amb tetraòxid d'osmi a l'1 % d'acord amb el procediment següent:

1. Obteniu 1 ml de la fracció espermàtica i dipositeu-la en un tub d'assaig amb 9 ml de tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durant 10 minuts. Agiteu-ho suaument.
2. Centrifugueu durant 5 minuts a 1.200 rpm i descarteu el sobrenedant.
3. Fixeu el sediment amb 10 ml de glutaraldèhid al 2,5 % en tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durant 1 hora a 4 °C. Agiteu-ho suaument.
4. Centrifugueu durant 5 minuts a 1.200 rpm i descarteu el sobrenedant.
5. Renteu el sediment amb 9 ml de tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durant 10 minuts. Agiteu-ho suaument.
6. Centrifugueu durant 5 minuts a 1.200 rpm i descarteu el sobrenedant.
7. Postfixeu el sediment amb 1 ml de tetraòxid d'osmi a l'1 % en tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durant 1 hora a 4 °C. Agiteu-ho suaument.
8. Centrifugueu durant 5 minuts a 1.200 rpm i descarteu el sobrenedant.
9. Renteu el sediment amb 9 ml de tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durant 10 minuts. Agiteu-ho suaument.
10. Centrifugueu durant 5 minuts a 1.200 rpm i descarteu el sobrenedant.
11. Afegiu 9 ml de tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) i agiteu suaument per tal de resuspendre el sediment.
12. Dipositeu una petita gota de l'esperma diluït en un portaobjectes i munteu amb un cobreobjectes de 22 × 22 mm.
Les preparacions s'observen entre 400× i 1.200×.

1.4. PROTOCOL PER A LA PREPARACIÓ DE MOSTRES DE SEMEN PER SER OBSERVADES AMB EL MICROSCOPI ELECTRÒNIC DE RASTREIG

1. Col·loqueu 1 ml de la fracció espermàtica diluïda en un tub d'assaig i 9 ml de tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2). Agiteu-ho suaument durant 10 minuts.
2. Centrifugueu durant 10 minuts a 1.800 rpm i descarteu el sobrenedant.
3. Fixeu el sediment amb 10 ml de líquid de Karnovsky durant 1 hora a 4 °C. Agiteu-ho suaument.
4. Centrifugueu durant 10 minuts a 1.800 rpm i descarteu el sobrenedant.
5. Renteu el sediment amb 10 ml de tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durant 10 minuts a 4 °C. Agiteu-ho suaument.
6. Repetiu els passos núm. 4 i núm. 5 del protocol.
7. Centrifugueu durant 10 minuts a 1.800 rpm i descarteu el sobrenedant.
8. Postfixeu el sediment amb 1 ml de tetraòxid d'osmi a l'1 % durant 15 minuts. Protegiu el tub d'assaig de la llum i agiteu-lo suaument.
9. Repetiu els passos núm. 4 i núm. 5 del protocol.
10. Centrifugueu durant 10 minuts a 1.800 rpm i descarteu el sobrenedant.
11. Afegiu 10 ml d'aigua bidestil·lada i agiteu-ho suaument durant 10 minuts.

12. Centrifugueu durant 10 minuts a 1.800 rpm i descarteu el sobrenedant.
13. Deshidrateu el sediment amb 5 ml d'etanol al 30 % durant 10 minuts. Agiteu-ho suaument.
14. Centrifugueu durant 10 minuts a 1.800 rpm i descarteu el sobrenedant.
15. Repetiu els passos núm. 13 i núm. 14 amb la sèrie alcohòlica següent: etanol 50 %, etanol 70 %, etanol 90 %; etanol 96 % i 2 canvis d'etanol absolut.
16. Repetiu els passos núm. 13 i núm. 14 amb la sèrie d'infiltració següent: etanol absolut-acetat d'isoamil (2/1), etanol absolut-acetat d'isoamil (1/1), etanol absolut-acetat d'isoamil (1/2) i 2 canvis d'acetat d'isoamil.
17. Resuspeneu les mostres en 5 ml d'acetat d'isoamil i dipositeu tres gotes de la suspensió sobre un filtre de policarbonat (Nuclepore-Costar de 0,2 µm de diàmetre de porus, muntat sobre una càpsula de polietilè de 8 mm de diàmetre; prèviament s'ha retirat la base original de la càpsula).
18. Sotmeteu el conjunt a dessecació mitjançant el mètode de punt crític.
19. Retireu el filtre de la base de la càpsula i munteu-lo en un suport d'alumini o coure (*stub*).
20. Metal·litzeu les mostres amb una capa d'or-palladi d'uns 40-50 nm de gruix.

REACTIUS

- Tampó fosfat de Sörensen pH 7,2

Solució A. Fosfat sòdic, dibàsic	
(Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O)	11,876 g
Aigua destil·lada	1.000 ml

Solució B. Fosfat potàssic, monobàsic	
(KH ₂ PO ₄)	9,08 g
Aigua destil·lada	1.000 ml

Barregeu 72,6 ml de la solució A i enraseu fins a 100 ml amb la solució B.

- Líquid de Karnovsky

Dissoleu 1,2 g de paraformaldèhid en 20 ml d'aigua destil·lada a 80 °C. Aclariu la solució amb unes gotes de NaOH 1N fins que quedi del tot transparent (de dues a tres gotes solen ser suficients).

Deixeu refredar i afegiu 15 ml de tampó fosfat de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) i 5 ml de glutaraldèhid al 25 %.

Conserveu la mescla a 4 °C i utilitzeu-la abans de 24 hores.

- Tetraòxid d'osmi a l'1 %

Tetraòxid d'osmi (OsO ₄) al 2 %	
(en aigua destil·lada)	4 ml

Tampó fosfat de Sörensen	
(0,16M; pH 7,2)	4 ml

1.5. PROTOCOL PER A LA PREPARACIÓ DE MOSTRES DE SEMEN PER SER OBSERVADES AMB EL MICROSCOPI ELECTRÒNIC DE TRANSMISSIÓ

1. Seguiu les indicacions del protocol 1.4 (preparació de mostres per a ser observades amb el microscopi electrònic de rastreig) des del pas núm. 1 fins al núm. 15. Agiteu el sediment únicament en el pas núm. 1.

2. Resuspeneu el sediment en 1 ml d'etanol absolut i transferiu la suspensió a un tub *ependorf*.
3. Centrifugueu a 1.800 rpm durant 10 minuts i descarteu el sobrenedant.
4. Embeveu el sediment en 1 ml d'etanol-Spurr (1/1) durant 60 minuts.
5. Centrifugueu a 1.800 rpm durant 10 minuts i descarteu el sobrenedant.
6. Embeveu el sediment en 1ml de Spurr durant 12 hores (*overnight*) a 4 °C.
7. Centrifugueu a 1.800 rpm durant 5 minuts i descarteu el sobrenedant.
8. Embeveu el sediment en 1 ml de Spurr durant 2 hores a 4 °C.
9. Centrifugueu a 1.800 rpm durant 5 minuts i col·loqueu el tub *ependorf* a 60 °C durant unes 8-12 hores (*overnight*).
10. Procediu a l'obtenció de seccions fines d'uns 70-80 nm de gruix i dipositeu les seccions sobre reixetes de coure (3 mm de diàmetre). Deixeu assecar.
11. Contrasteu les seccions amb acetat d'uranil durant 7-8 minuts.
12. Renteu amb aigua bidestil·lada i deixeu-ho assecar.
13. Contrasteu novament les seccions amb la solució de Reynolds durant 15 minuts en una atmosfera pobre en oxigen.
14. Renteu-ho amb aigua bidestil·lada i deixeu-ho assecar.

REACTIUS

• Resina Spurr

La resina Spurr s'obté barrejant quatre components que es poden adquirir a diverses cases comercials.

La mescla ha de ser homogènia i, en conseqüència, la barreja caldrà fer-la lentament (evitant la formació de bombolles) aproximadament durant una hora. Un cop elaborada hom pot conservar-la a 4 °C durant una setmana.

<i>Casa comercial</i>	<i>Bio-Rad</i>	<i>Taab</i>
Components	ERL: 23 g NSA: 62 g DER: 14 g DMAE: 1 g	ERL: 10 g NSA: 26 g DER: 6 g S 1: 0,4 g

• Acetat d'uranil

Solució saturada d'acetat d'uranil en aigua bidestil·lada-acetona (1/1).

• Solució de Reynolds

Nitrat de plom

$Pb(NO_3)_2$ 1,33 g

Citrat sòdic, dibàsic

$Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ 1,76 g

Aigua destil·lada i bullida

30 ml

Agiteu-ho durant 30 minuts i afegiu 8 ml de NaOH 1 N. Enraseu fins a 50 ml amb aigua destil·lada i bullida. Conserveu la solució a 4 °C i protegiu-la de la llum. El temps de conservació és de 2-3 mesos.

2. L'ESPERMATOZOIDE MADUR

2.1. ESTRUCTURA I MORFOLOGIA EXTERNA

En un ejaculat normal de *Sus domesticus* hom pot trobar un percentatge d'entre el 80 % i el 95 % d'espermatozoides madurs. L'espermatozoide madur de *Sus domesticus* és un gàmeta de 45 µm de longitud en què es distingeixen tres parts: el cap, la peça de connexió o coll i la cua. La cua està formada per tres peces: la intermèdia o mitocondrial, la principal i la terminal.

El cap és oval i pla. Les seves mesures són: 7 µm de longitud, 3,7 µm d'amplada màxima i 0,4 µm de gruix. Les dues cares del cap no són iguals; mentre que una és plana, l'altra presenta una protuberància apical en forma de semilluna, d'uns 0,4 µm d'amplada, que s'estén pels marges del cap al llarg d'1,2 µm.

La peça de connexió o coll, de 0,7 µm de longitud per 0,5 µm de gruix, té forma cònica amb la base més ampla (1,3 µm) en contacte amb el cap, i la més estreta (0,6 µm) en contacte amb la peça intermèdia. En la zona més propera al cap hom pot observar una protuberància anular de 0,15 µm de diàmetre.

La cua té forma filamentosa i cilíndrica. La peça intermèdia té una longitud de 9 µm i un diàmetre de 0,7 µm. La peça principal té una longitud de 26,2 µm i un diàmetre de 0,4 µm i, finalment, la peça terminal té una longitud de 2,2 µm i un diàmetre de 0,2 µm.

2.2. ULTRAESTRUCTURA

2.2.1. EL CAP

En el cap de l'espermatozoide distingim les estructures següents: l'acrosoma, la làmina densa postacrosòmica, l'espai subacrosòmic, el material fibrós perinuclear i el nucli.

L'acrosoma és una vesícula que es disposa sobre el nucli en forma de caputxa i abasta el 80 % de la longitud nuclear. Aquesta part del cap que conté l'acrosoma és coneguda com a regió acrosòmica. La matriu de l'acrosoma conté un material amorf, distribuït homogèniament. Es distingeixen tres segments acrosòmics: apical, principal i equatorial. En aquest darrer segment, l'electrodensitat del contingut acrosòmic és lleugerament superior a la dels dos primers segments.

El segment apical de l'acrosoma és la zona més dilatada de la vesícula acrosòmica. Si bé la membrana acrosòmica interna es disposa per sobre de l'embolcall nuclear, la membrana acrosòmica externa se situa directament per sota de la membrana plasmàtica. Aquesta dilatació vesicular no presenta el mateix desenvolupament

lupament en les dues cares del cap. En la cara no plana del cap, el segment apical arriba a uns 0,72 μm de longitud per 270 nm de gruix màxim; i en la cara plana del cap, el segment apical assoleix uns 0,50 μm de longitud per 100 nm de gruix màxim.

El segment principal té una longitud de 2,5 μm en la cara plana del cap i de 2,8 μm en l'altra cara; el gruix d'aquest segment és d'uns 80 nm aproximadament.

El segment equatorial té una longitud de 2,3 μm , un gruix de 40 nm en les dues cares del cap i un gruix de 80 nm als costats del cap.

La làmina densa postacrosòmica es disposa paral·lela per sota de la membrana plasmàtica, abasta el 20 % de la longitud del nucli i coincideix amb la regió del nucli no coberta per la vesícula acrosòmica. Aquesta regió del cap, on es desenvolupa la làmina densa, és coneguda com a regió postacrosòmica. Aquesta làmina, formada per una capa homogènia de material fibrós i electrodens, presenta una longitud d'1,4 μm i un gruix de 25 nm. La membrana plasmàtica cobreix la vesícula acrosòmica i discorre estretament adherida a la làmina densa postacrosòmica. La membrana plasmàtica es desprèn molt fàcilment de la membrana acrosòmica externa però es manté estretament unida a la làmina densa postacrosòmica.

L'espai subacrosòmic (o perinuclear) és l'espai existent entre el nucli i la membrana acrosòmica interna o la cara interna de la làmina densa postacrosòmica. L'espai subacrosòmic està ocupat per una matriu poc electrodensa i un material fibrós perinuclear de major electrodensitat. Aquest espai es troba especialment desenvolupat en la regió supranuclear, és a dir, per sota del segment apical de l'acrosoma. En aquesta regió, l'espai subacrosòmic pren forma cònica, amb un diàmetre a la base de 80 nm i una alçada de 120 nm. Al llarg del segment principal de l'acrosoma i en les dues cares del cap, l'espai subacrosòmic es redueix a 25 nm de gruix. Al llarg del segment equatorial de l'acrosoma i en les dues cares del cap, l'espai subacrosòmic augmenta fins a 40 nm de gruix i arriba al desenvolupament màxim en la regió postacrosòmica (70 nm). L'espai subacrosòmic augmenta considerablement en els costats del cap (70 nm) corresponents als segments principal i equatorial de la vesícula acrosòmica. En els costats del cap corresponents a la regió postacrosòmica, l'espai subacrosòmic és pràcticament inexistent i es produeix el contacte entre el material fibrós perinuclear i la làmina densa postacrosòmica.

El material fibrós perinuclear (o subacrosòmic) es disposa formant una làmina electrodensa al voltant del nucli i a una distància d'aquest de 15 nm. El desenvolupament d'aquesta làmina és màxim en la regió postacrosòmica del cap i arriba a un gruix d'uns 15 nm. En la regió acrosòmica del cap, la làmina és més prima, menys compacta i menys electrodensa.

El nucli conté una cromatina molt condensada i electrodensa. La longitud del nucli és de 6,6 μm i el gruix varia en les dues regions del cap. En la regió acrosòmica, el gruix del nucli és de 220 nm i en la regió postacrosòmica, de 320 nm aproximadament.

2.2.2. LA PEÇA DE CONNEXIÓ

La peça de connexió o coll de l'espermatozoide és la regió que abasta des de la base del nucli fins al primer mitocondri de la peça intermèdia. Al llarg del recorregut de la membrana plasmàtica per la peça de connexió i la regió postacrosòmica del cap, s'observa una lleugera escotadura circular just en el límit entre ambdues parts del gàmeta. En la peça de connexió es distingeixen les estructures següents: la placa basal, els cossos laminars, el *capitulum*, les columnes segmentades, el cos basal i l'axonema.

La placa basal es troba situada a la base del nucli, i s'estén al llarg d'uns 0,6 μm , adherida a la membrana externa de l'embolcall nuclear. La placa basal està formada per un material electrodens, d'aspecte i gruix molt semblants als de la làmina densa postacrosòmica (30 nm de gruix).

Els cossos laminars procedeixen d'evaginacions molt pronunciades de l'embolcall nuclear que contenen un espai nuclear lliure de cromatina. Aquestes evaginacions parteixen del perímetre de la base nuclear i s'estenen al llarg d'1,2 μm fins als primers mitocondris de la beina mitocondrial de la peça intermèdia. Els cossos laminars es disposen com un cilindre, les parets del qual presenten un gruix de 150 nm.

El *capitulum* és una estructura arciforme que es disposa per sota i a uns 40 nm de la placa basal. Les columnes segmentades parteixen dels extrems del *capitulum* i es dirigeixen cap a la peça intermèdia. Així com els cossos laminars de la peça de connexió es continuen amb la beina mitocondrial de la peça intermèdia, les columnes segmentades de la peça de connexió es continuen amb les fibres denses de la peça intermèdia. El *capitulum* i les columnes segmentades són estructures electrodenses d'uns 130 nm de gruix.

Les columnes segmentades s'individualitzen en nombre de nou més enllà dels 0,3 μm de distància del *capitulum*. Al llarg dels primers 0,3 μm , les columnes segmentades es toquen entre si i, en conseqüència, en aquesta zona és més correcte referir-se a perllongaments del *capitulum* que a columnes pròpiament dites. Les columnes segmentades, ja individualitzades, presenten forma cilíndrica i recorren al llarg d'uns 0,8 μm cap a la peça intermèdia, i engloben d'aquesta manera l'axonema en un espai cilíndric d'uns 220 nm de diàmetre. Al llarg de les columnes segmentades s'hi observen dos tipus d'estriacions transversals de disposició periòdica alterna, unes més conspícues i les altres menys definides. La distància entre dues estries conspícues consecutives és de 80 nm, i entre una de conspícua i la menys definida consecutiva és de 40 nm.

El cos basal es disposa a la base de la convexitat que defineixen el *capitulum* i les columnes segmentades, és a dir, en un espai d'uns 220 nm de diàmetre per 260 nm d'alçada. Els triplets de microtúbuls del cos basal es disposen en petites depressions del *capitulum*. Aquestes depressions marquen els límits dels esbossos de les columnes segmentades. El cos basal es disposa en un angle de 45° respecte a l'eix longitudinal del gàmeta.

A partir del cos basal s'organitza un axonema que, travessant l'espai limitat per les columnes segmentades, s'estendrà al llarg de tota la cua de l'espermatozoide. Les nou columnes segmentades es disposen entre els cossos laminars i els respectius nou dobles de microtúbuls perifèrics de l'axonema.

2.2.3. LA PEÇA INTERMÈDIA

La peça intermèdia de la cua de l'espermatozoide s'estén des de la part distal de la peça de connexió fins a l'*annulus* (o anell de Jensen), un anell electrodens que marca el límit entre la peça intermèdia i la peça principal. En la peça intermèdia es distingeixen les estructures següents: l'axonema, la beina mitocondrial, les fibres denses i els grànuls perifèrics.

L'axonema ocupa l'eix central de la peça intermèdia, presenta la fórmula microtubular típica 9+2 i disposa dels elements axonemàtics típics (braços de dineïna, fibres de nexina, radis, pont i beina central). Els nou dobles de microtúbuls perifèrics es numeren de l'1 al 9 en el sentit de les agulles del rellotge, i el número 1 és l'únic doblet situat en un pla perpendicular al dels dos microtúbuls centrals. L'axonema s'estén al llarg de tota la cua de l'espermatozoide i en travessa les tres peces (intermèdia, principal i terminal).

Per sota de la membrana plasmàtica trobem la beina mitocondrial, la qual està formada per diversos mitocondris allargats (150 nm de diàmetre) disposats l'un darrere l'altre helicoidalment al voltant de l'axonema. Aquesta beina presenta un gruix d'uns 80 nm. La matriu mitocondrial és molt electrodensa i les crestes es disposen paral·lelament a la doble membrana mitocondrial.

Les fibres denses són estructures citoesquelètiques, filamentoses i electrodenses disposades entre la beina mitocondrial i cadascun dels dobles de microtúbuls perifèrics de l'axonema. S'estenen al llarg de la peça

intermèdia i del primer terç de la peça principal. El gruix i el diàmetre són màxims en la zona límit amb la peça de connexió i es van reduint progressivament al llarg de les dues peces següents.

Les fibres denses, numerades d'acord amb la seva associació amb els dobles microtubulars de l'axonema, presenten, en secció transversal, una forma característica. Totes elles tenen més o menys forma piramidal truncada amb la base estreta dirigida cap als dobles microtubulars i amb la base ampla, de contorn curvilini, dirigida cap a la beina mitocondrial. No totes les fibres denses presenten el mateix gruix ni el mateix diàmetre. En la zona proximal de la peça intermèdia, les fibres número 1, 5 i 6 presenten un gruix mitjà de 110 nm i un diàmetre de 150 nm, i les fibres número 2, 3, 4, 7, 8 i 9 presenten un gruix mitjà de 80 nm i un diàmetre de 110 nm. En la zona distal de la peça intermèdia, les fibres número 1, 5 i 6 presenten un gruix mitjà de 160 nm i un diàmetre de 40 nm, i les fibres restants un gruix mitjà de 70 nm i un diàmetre de 60 nm. És a dir, les fibres denses es van afinant al llarg del seu trajecte per la regió mitocondrial.

Els grànuls perifèrics poden observar-se únicament en la zona proximal de la peça intermèdia, distribuïts entre les fibres denses. Es tracta de grànuls electrodensos, d'uns 15 nm de diàmetre màxim, que van desapareixent a mesura que les fibres denses arriben a la zona distal de la peça intermèdia.

2.2.4. LA PEÇA PRINCIPAL

La peça principal és el segment més llarg de la cua de l'espermatozoide, s'estén des de l'*annulus* o anell de Jensen fins a l'extrem proximal de la peça terminal. En la peça principal distingim les estructures característiques següents: la beina fibrosa, les fibres denses, l'axonema i l'*annulus* o anell de Jensen.

La beina fibrosa de la peça principal presenta una electrodensitat molt elevada, i substitueix la beina mitocondrial de la peça intermèdia. La beina fibrosa està formada per dos eixos longitudinals continus o columnes (dorsal i ventral) coplanars amb la parella de microtúbuls centrals que es troben units per una sèrie de costelles que formen circumferències distribuïdes regularment al voltant de la peça principal.

Els eixos o columnes fibroses es disposen entre la membrana plasmàtica i les fibres denses número 3 i 8. El gruix dels eixos és màxim (110 nm) en el primer terç de la peça principal i, al llarg dels dos terços següents, disminueix progressivament fins a equiparar-se al gruix de les costelles (75 nm). Al llarg del primer terç de la peça principal, el gran desenvolupament dels eixos provoca la seva superposició i fusió amb les fibres denses número 3 i 8.

FIGURA 1. Representació esquemàtica de seccions longitudinals al nivell del cap, del coll i de la cua de l'espermatozoide de *Sus domesticus* en què s'indiquen els principals components.

- A. *Cap: segments apical i principal de la regió acrosòmica*
 ESA, espai subacrosòmic; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli; P, plasmalemma; SA, segment apical de la vesícula acrosòmica; SP, segment principal de la vesícula acrosòmica
- B. *Cap: segment equatorial de la regió acrosòmica i regió postacrosòmica*
 LD, làmina densa postacrosòmica; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli; P, plasmalemma; SE, segment equatorial de la vesícula acrosòmica
- C. *Cap: regió postacrosòmica. Peça de connexió o coll*
 C, capitulum; CB, cos basal; CL, cossos laminars; CS, columnes segmentades; LD, làmina densa postacrosòmica; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli; P, plasmalemma; PB, placa basal
- D. *Cua: peça intermèdia o regió mitocondrial*
 A, axonema; BM, beina mitocondrial; FD, fibres denses; P, plasmalemma
- E. *Cua: regió distal de la peça principal*
 A, axonema; BF, costelles de la beina fibrosa; P, plasmalemma

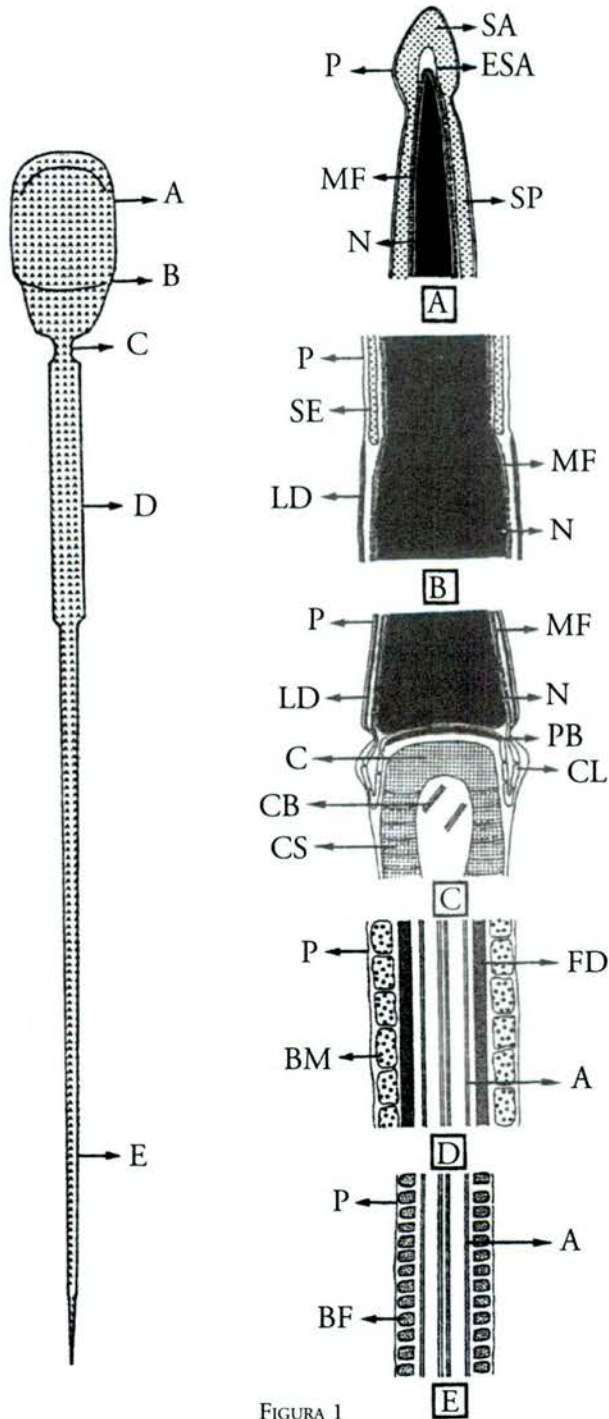


FIGURA 1

Les fibres denses restants, que únicament s'estenen al llarg del primer terç de la peça principal, disminueixen progressivament de gruix fins a desaparèixer. Els dos terços posteriors de la peça principal es distingeixen del primer terç per l'absència de fibres denses i perquè el gruix dels eixos fibrosos s'igualava al de les costelles fibroses (75 nm).

L'espai entre costella i costella és de 15 nm aproximadament, i el diàmetre, d'uns 40 nm, es manté constant al llarg de la peça principal. El gruix de les costelles, juntament amb el gruix dels eixos, es va reduint progressivament a mesura que la beina fibrosa s'aproxima a la peça terminal.

L'*annulus* o anell de Jensen és una estructura electrodensa disposada per sota de la membrana plasmàtica, i en el límit entre la peça intermèdia i la peça principal. L'*annulus* està en contacte amb el darrer mitocondri de la beina mitocondrial i a uns 15 nm de les primeres costelles de la beina fibrosa. La membrana plasmàtica s'adhereix estretament a l'*annulus*, una estructura anul·lar que separa la beina mitocondrial de la beina fibrosa i que impedeix el pas dels mitocondris cap a la peça principal. Té un gruix d'uns 130 nm i un diàmetre de 160 nm.

2.2.5. LA PEÇA TERMINAL

La peça terminal és l'últim i més curt segment de la cua de l'espermatozoide. En aquesta peça no hi ha cap estructura citoesquelètica. La peça terminal està formada, únicament, per l'axonema envoltat per la membrana plasmàtica. La membrana plasmàtica, que en altres peces de la cua descriu un contorn circular més o menys llis, en aquesta darrera peça pren un aspecte fistonejat. L'axonema es desorganitza progressivament a mesura que s'allunya de la peça principal. Finalment, la desorganització microtubular farà impossible distingir l'estructura axonemàtica 9+2, i el microtúbul B de cada doblet perifèric és l'element que desapareix en primer lloc.

FIGURA 2. Representació esquemàtica de seccions transversals al nivell del cap i de la cua de l'espermatozoide de *Sus domesticus* en què s'indiquen els principals components.

A. Cap: regió acrosòmica

MF, material fibrós perinuclear; N, nucli; P, plasmalemma; VA, vesícula acrosòmica o acrosoma

B. Cap: regió postacrosòmica

LD, làmina densa postacrosòmica; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli; P, plasmalemma

C. Cua: peça intermèdia o regió mitocondrial

A, axonema; BM, beina mitocondrial; FD, fibres denses; P, plasmalemma

D. Cua: regió proximal de la peça principal

A, axonema; BF, beina fibrosa; FD, fibres denses; P, plasmalemma

E. Cua: regió medial de la peça principal

A, axonema; CF, eixos o columnes de la beina fibrosa; EF, costelles de la beina fibrosa; FD, fibres denses; P, plasmalemma

F. Cua: regió distal de la peça principal

A, axonema; BF, beina fibrosa; P, plasmalemma

G. Cua: peça terminal

P, plasmalemma; A, axonema

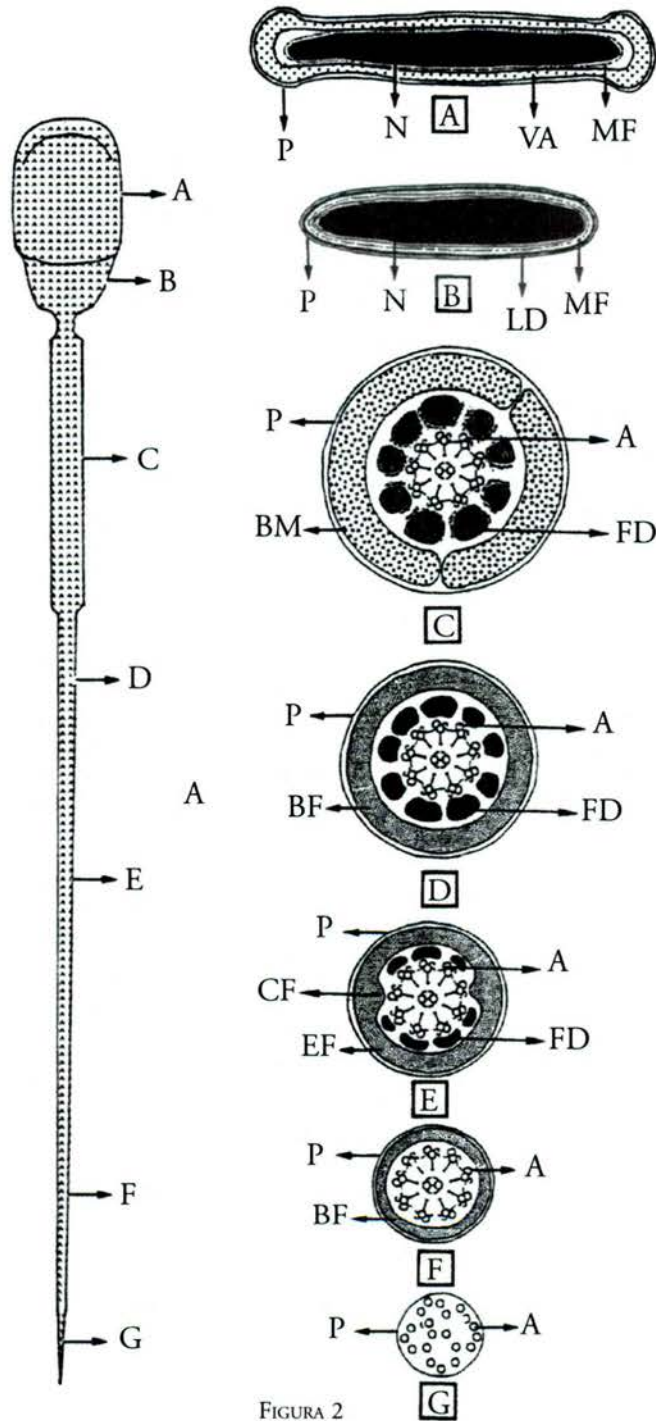


FIGURA 2

3. ELS ESPERMATOZOIDES IMMADURS

En un ejaculat normal de *Sus domesticus* hom pot trobar un percentatge d'entre el 5 % i el 15 % d'espermatozoides immadurs.

L'espermatozoide immadur presenta, respecte al madur, tres característiques diferencials: la presència de la gota citoplasmàtica, el major desenvolupament de la protuberància acrosòmica apical i la major flexibilitat del cap.

La gota citoplasmàtica, que engloba una petita part de la peça intermèdia, està formada per restes de citoplasma residual eliminat en les darreres etapes del procés espermiogènic. La gota té un diàmetre aproximat d'1,5 μm i, generalment, conté un citoplasma poc electrodens i ric en vesícules.

La peça intermèdia pot quedar emplaçada al centre de la gota citoplasmàtica o bé quedar situada molt desplaçada respecte del centre de la gota citoplasmàtica.

El nombre i el desenvolupament de les vesícules augmenten a mesura que la gota citoplasmàtica ocupa posicions més distals de la peça intermèdia. Hom pot observar dues modalitats vesiculars: les vesícules limitades per doble membrana i les vesícules limitades per una única membrana. Les vesícules de doble membrana presenten una matriu clara i un diàmetre constant d'aproximadament 0,2 μm ; provenen de cisternes del reticle endoplasmàtic llis que es tanquen sobre si mateixes i engloben material hialoplasmàtic. Les vesícules d'una única membrana, originades per dilatacions del reticle endoplasmàtic, també contenen una matriu d'escassa electrodensitat. Aquestes darreres vesícules es fusionen les unes amb les altres i donen lloc a vesícules molt més grans, de manera que el seu diàmetre és molt variable i oscil·la entre 0,1 μm i 0,9 μm .

La gota citoplasmàtica es pot trobar al nivell de la peça de connexió o a qualsevol nivell de la peça intermèdia. La gota apareix en la peça de connexió i, desplaçant-se al llarg de tota la longitud de la peça intermèdia, abandona l'espermatozoide just en el límit entre les peces intermèdia i principal. Hi ha dues posicions extremes de la gota citoplasmàtica: la proximal, quan ocupa la peça de connexió, i la distal, quan ocupa la zona de l'*annulus* o anell de Jensen. Així doncs, tenint en compte aquest criteri hom pot distingir, bàsicament, dos tipus d'espermatozoides immadurs: els espermatozoides amb gota citoplasmàtica proximal i els espermatozoides amb gota citoplasmàtica distal.

Els espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal s'originen en el testicle, i, al llarg del seu trajecte per l'epidídim, la gota citoplasmàtica es desplaça fins a l'anell de Jensen. Una vegada els espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal arriben al cauda epididimari, perden la gota citoplasmàtica i prenen l'aspecte d'un espermatozoide madur. Així doncs, la major o menor presència a l'ejaculat de les diverses tipologies d'espermatozoides immadurs ens permet conèixer el grau en què s'ha satisfet la maduració epididimària de l'esperma.

En els espermatozoides immadurs, la protuberància acrosòmica apical presenta un major desenvolupament que en els espermatozoides madurs. En l'espermatozoide madur l'amplada i la longitud externes de la protuberància apical són de 400 nm i 1,2 μm , respectivament; i en l'espermatozoide immadur l'amplada i la longitud externes d'aquesta protuberància augmenten fins als 600 nm i 4,5 μm , respectivament.

El cap dels espermatozoides immadurs presenta major flexibilitat que el dels espermatozoides madurs. En el cap dels espermatozoides immadurs és freqüent observar plegaments i deformacions de diversos tipus. Els plegaments cefàlics, més o menys intensos, es produeixen, generalment, a través d'un pla transversal i, més rarament, a través d'un pla longitudinal frontal. La malformació cefàlica més habitual és la desviació lateral de la regió acrosòmica del cap respecte a l'eix longitudinal de la cèl·lula.

L'espermatozoide immadur sol ser més fràgil que l'espermatozoide madur, de forma que s'hi poden observar fractures cefàliques (transversals o longitudinals) i de la cua.

Pel que fa a les gotes citoplasmàtiques, hom pot observar formes anòmales (ex.: gotes citoplasmàtiques molt voluminoses), posicions ectòpiques (ex.: gotes al final de la peça principal) i anomalies numèriques (ex.: dues gotes, una proximal i l'altra distal).

4. ELS ESPERMATOZOIDES ABERRANTS

4.1. MORFOLOGIA EXTERNA I CLASSIFICACIÓ

En un ejaculat normal de *Sus domesticus* hom pot trobar un percentatge d'entre l'1 % i el 5 % d'espermatozoides aberrants.

Malgrat que les malformacions dels espermatozoides es classifiquen considerant una estructura espermàtica aberrant, sovint en un espermatozoide hom pot trobar diverses estructures anòmales. Així la macrocefàlia o microcefàlia, la presència de caps o cues supernumeràries, la major o menor longitud de les cues, les diverses malformacions en la forma del cap, el doblegament o enrotllament de la cua, etc. poden ser malformacions aparellades en un mateix espermatozoide aberrant. Teòricament podríem trobar tantes tipologies d'espermatozoides aberrants com el resultat de combinar dos a dos les diverses malformacions possibles. De fet, a l'Atlas sovint podrà observar-se espermatozoides aberrants que a més de la malformació destacada presenten una altra malformació (ex.: espermatozoide aberrant amb el cap en forma de flama i la cua enrotllada). A fi i efecte d'establir una metodologia en la descripció de les diverses malformacions hom ha establert un criteri de classificació de les malformacions cefàliques (de forma, de mida i de nombre) i de la cua (de forma o trajectòria, de mida i de nombre) que, en molts casos, es presenten simultàniament.

D'acord amb la morfologia externa dels espermatozoides, les malformacions observades poden ser agrupades en els tipus següents:

<i>Tipus de malformació</i>	<i>Tant per mil * d'espermatozoides aberrants amb aquesta malformació</i>	<i>Modalitat</i>	<i>Tant per mil * d'espermatozoides aberrants amb aquesta malformació</i>
Cefàliques o del cap	15	De forma	10
		De mida	3
		De nombre	2
De la cua	35	De forma o trajectòria	25
		De mida	5
		De nombre	5
Total	50		

* Quan un espermatozoide presenta més d'una malformació, i, a efectes del càlcul dels percentatges, es prioritza la malformació que es troba més amunt del quadre.

Les diverses malformacions presents a l'ejaculat poden ser també classificades, d'acord amb el lloc on s'han originat, en primàries i secundàries. Les malformacions primàries són aquelles desenvolupades en el testicle al llarg de l'espermatogènesi o de l'espermioogènesi, i les malformacions secundàries són aquelles desenvolupades a l'epidídim al llarg del procés de maduració espermàtica.

En general, les malformacions cefàliques solen tenir un origen primari, tot i que les de nombre poden presentar també un origen secundari (ex.: aglutinació espermàtica). Les malformacions de mida i de nombre de la cua presenten un origen primari i les malformacions de trajectòria de la cua presenten un origen secundari.

4.1.1. MALFORMACIONS QUE AFECTEN LA FORMA DEL CAP

Amb el microscopi òptic hom pot observar espermatozoides amb formes cefàliques anòmales, com ara cap allargat, cap en forma de flama, cap oval i cap arrodonit. La major resolució del microscopi electrònic de rastreig, si es compara amb la microscòpia òptica convencional, permet precisar més detalls amb relació a les malformacions cefàliques que afecten la forma del cap.

Els espermatozoides amb el cap allargat poden ser de dos tipus: amb el cap cilíndric i amb el cap pla. Els del cap allargat i cilíndric es caracteritzen per una cua d'implantació abaxial i una longitud del cap d'uns 8 μm i un diàmetre d'uns 2,7 μm . Els espermatozoides de cap allargat i pla es caracteritzen per una implantació correcta de la cua i per una longitud del cap d'uns 9-10 μm i un diàmetre d'uns 3,5-4,1 μm .

Els espermatozoides amb el cap en forma de flama poden classificar-se, també, en dues tipologies: amb el cap en forma de flama curta i amb el cap en forma de flama més llarga. En aquesta darrera tipologia, la part cefàlica més apical sol caracteritzar-se per la presència d'una protuberància acrosòmica en forma de cràter.

Els espermatozoides amb el cap oval presenten, generalment, una excrescència acrosòmica apical de desenvolupament variable. Així mateix, hom pot distingir espermatozoides amb el cap en forma de pera caracteritzats per l'escàs desenvolupament de la regió cefàlica acrosòmica i l'elevat desenvolupament de la regió postacrosòmica.

Dins dels espermatozoides amb el cap arrodonit poden distingir-se diverses modalitats, des de caps globulars fins a caps plans amb diverses formes d'arrodoniment.

4.1.2. MALFORMACIONS QUE AFECTEN LA MIDA DEL CAP

Distingim dues modalitats d'espermatozoides atenent la mida del cap: els espermatozoides macrocefàlics i els espermatozoides microcefàlics.

Dins dels espermatozoides macrocefàlics, o amb el cap gegant, distingim dues tipologies: els espermatozoides amb una llargada del cap normal (7 μm) i amb una gran amplada (4,7 μm), i els espermatozoides amb un cap més llarg (7,7 μm) i més ample (5,5 μm). En aquesta darrera tipologia els espermatozoides solen presentar dues cues.

Dins dels espermatozoides microcefàlics, o amb el cap petit, distingim també dues tipologies: els espermatozoides amb el cap d'una amplada normal i una llargada reduïda (5,2 μm), i els espermatozoides amb un cap més curt (4,5 μm) i més estret (2,4 μm).

4.1.3. MALFORMACIONS QUE AFECTEN EL NOMBRE DE CAPS

Els espermatozoides amb més d'un cap solen presentar tantes cues fusionades com caps i aquestes solen presentar diversos graus d'enrotllament. Dins dels espermatozoides amb més d'un cap distingim els espermatozoides amb dos caps i els espermatozoides amb tres caps.

Els espermatozoides tricefàlics solen caracteritzar-se per presentar una cua totalment enrotllada i tres caps coplanaris disposats entre ells formant un angle no superior als 30° .

Els espermatozoides bicefàlics solen caracteritzar-se per presentar la cua totalment o parcialment enrotllada i dos caps que es disposen coplanaris o en plans encreuats. Quan tots dos caps són coplanaris, entre ells es pot formar un angle que va des dels 0° (caps superposats) fins als 180° (caps oposats). En aquest darrer cas, els caps es toquen per les seves bases, o bé estan separats per l'enrotllament de la cua. Quan tots dos caps es disposen en plans encreuats, aquests són ortogonals. En general, tots dos caps solen ser plans i s'implanten a l'extrem de la peça de connexió. En alguns espermatozoides bicefàlics, però, es pot observar un cap pla i l'altre globular, i en d'altres, un cap implantat a l'extrem de la peça de connexió i l'altre implantat sobre l'eix longitudinal d'aquesta peça.

L'aglutinació cap-cap o cua-cua dels espermatozoides és un dels possibles orígens dels espermatozoides amb més d'un cap.

4.1.4. MALFORMACIONS QUE AFECTEN LA TRAJECTÒRIA DE LA CUA

Pel tipus de malformació que afecta la trajectòria de la cua, hom pot distingir dos tipus d'espermatozoides: els espermatozoides amb la cua doblegada i els espermatozoides amb la cua enrotllada.

Entre els espermatozoides amb la cua doblegada distingim si el doblegament té lloc a l'anell de Jensen o a la peça intermèdia. Entenem per doblegament vertader de la cua quan aquesta es doblega totalment, de manera que les dues parts de la cua doblegada són antiparal·leles. El doblegament més habitual es dona en espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal a nivell de l'anell de Jensen. La cua es doblega de forma que la peça principal pren contacte i es fusiona, en primer lloc, amb la peça intermèdia i, en segon lloc, amb la cara plana del cap; finalment, la cua s'enrotlla i es fusiona, progressivament, amb el cap. Hom pot observar un doblegament menys habitual que afecta la peça intermèdia; es tracta d'espermatozoides immadurs que dobleguen la seva cua i afecten, generalment, tota la peça intermèdia. Pel gruix de la peça intermèdia i el diàmetre de la gota citoplasmàtica, aquest doblegament sol ser molt aparent i, en alguns casos, amb el microscopi òptic es podria arribar a confondre, per la seva mida i forma, amb un cap d'espermatozoide.

Els espermatozoides amb la cua enrotllada es caracteritzen per presentar la cua totalment o parcialment enrotllada. La modalitat més característica és la d'aquells espermatozoides en què la cua dóna voltes a l'entorn de la primera meitat de la peça intermèdia. Dins d'aquesta modalitat distingim diverses tipologies en consideració a la disposició que pren l'enrotllament respecte del cap, la mida i la forma d'aquest enrotllament. La mida de l'enrotllament pot anar des d'aproximadament la meitat de la mida del cap fins a una mida equivalent a la cefàlica. Aquesta variabilitat en la mida de l'enrotllament depèn de la intensitat de l'enrotllament i de la longitud de la cua enrotllada (si manca alguna peça de la cua o si alguna d'elles és més curta, la mida de l'enrotllament serà menor). A més, els eixos majors de l'enrotllament i del cap poden disposar-se formant un angle de 180° , 90° o 45° . L'enrotllament de la cua pot prendre una forma circular, esfèrica, ovoïdal o el·líptica. Una segona modalitat d'enrotllament de la cua és aquella en què la cua dóna voltes a l'entorn de la totalitat de la peça intermèdia. En aquest cas, l'enrotllament de la cua pren una forma el·líptica molt acusada. L'eix major de l'enrotllament i l'eix major del cap es poden disposar formant un angle de 180° , 90° o 45° . Finalment, hom pot observar formes d'enrotllament de la cua més inusuals com, per exemple, enrotllaments que afecten únicament les peces principal i terminal, enrotllaments que afecten només la peça terminal, enrotllaments que afecten la peça terminal i parcialment la peça principal, falsos enrotllaments, etc.

4.1.5. MALFORMACIONS QUE AFECTEN LA MIDA DE LA CUA

Dins d'aquest tipus de malformació distingim dues modalitats: espermatozoides amb la cua llarga i amb la cua curta.

Quan la cua de l'espermatozoide presenta una longitud superior a la normal, es deu normalment al fet que la peça principal presenta una major longitud.

Quan la cua de l'espermatozoide presenta una longitud inferior a la normal, la causa sol ser l'absència d'alguna peça o el menor desenvolupament d'alguna d'elles. Sovint la peça afectada sol ser la peça principal, sigui per absència o per menor desenvolupament.

4.1.6. MALFORMACIONS QUE AFECTEN EL NOMBRE DE CUES

Dins d'aquest tipus de malformació distingim dues modalitats: espermatozoides sense cua i espermatozoides amb dues cues.

La primera d'aquestes tipologies es caracteritza per la presència a l'ejaculat de caps isolats. Cal assenyalar que, sovint, la major part dels caps isolats trobats corresponen a fractures artefactuals del cap i de la cua. Per aquest motiu el recompte real d'aquesta malformació es fa a partir del recompte del nombre de caps isolats menys el nombre de cues isolades. Aquestes formes artefactuals són més freqüents a les vores de les extensions de semen.

Els espermatozoides amb dues cues poden classificar-se atenent a si les dues cues presenten o no la mateixa longitud, i si estan fusionades o no.

4.2. MORFOLOGIA INTERNA I CLASSIFICACIÓ

Els espermatozoides aberrants, atenent al tipus de malformacions estructurals observades, poden ser classificats en: 1r, espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen; 2n, espermatozoides amb la cua enrotllada; 3r, espermatozoides amb dues cues; 4t, espermatozoides amb anomalies cefàliques; i 5è, espermatozoides amb anomalies a la cua.

4.2.1. ESPERMATOZOIDES AMB LA CUA DOBLEGADA PER L'ANELL DE JENSEN

Els espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen cimenten el doblegament amb la gota citoplasmàtica distal. Més enllà del domini de la gota citoplasmàtica, la peça principal i la peça intermèdia recorren antiparal·leles. Les beines fibrosa i mitocondrial d'ambdues peces es toquen i, en la zona més proximal de la peça intermèdia, la beina fibrosa provoca una lleugera deformació de la beina mitocondrial. La peça principal recorre la peça intermèdia i marca una trajectòria helicoïdal que es posa de manifest observant l'evolució que segueix la relació de doblats enfrontats entre les peces intermèdia i principal. Al llarg de la regió cefàlica postacrosòmica, la peça principal es disposa entre el plasmalemma i la làmina densa postacrosòmica; i, a la regió cefàlica acrosòmica, la peça principal es disposa entre el plasmalemma i la vesícula acrosòmica.

4.2.2. ESPERMATOZOIDES AMB LA CUA ENROTLADA

Els espermatozoides amb la cua enrotllada presenten l'eix axonemàtic que descriu diverses circumvolucions a l'interior d'una massa citoplasmàtica rica en elements vesiculars de doble membrana i en restes del reticle endoplasmàtic llis. La morfologia d'aquest citoplasma és molt semblant a la que presenta la gota citoplasmàtica d'un espermatozoide immadur. L'eix axonemàtic es disposa a la perifèria de la massa citoplasmàtica. Hom pot observar figures cel·lulars degenerades caracteritzades per la plasmòlisi citoplasmàtica i per l'absència d'algunes estructures microtubulars dels eixos axonemàtics.

4.2.3. ESPERMATOZOIDES AMB DUES CUES

Es tracta d'espermatozoides amb dos eixos axonemàtics complets. Al llarg de tot el trajecte, els dos eixos axonemàtics corren paral·lels. Depenent de la zona examinada, hom pot trobar que els dos eixos axonemàtics: *a)* estan molt separats l'un de l'altre per una massa citoplasmàtica molt desenvolupada; o *b)* es troben en contacte per les respectives beines mitocondrials o beines fibroses. El citoplasma residual, molt abundant des de la peça de connexió fins a la zona medial de la peça intermèdia, es redueix considerablement a mesura que ens apropem a la zona distal de la peça intermèdia.

4.2.4. ESPERMATOZOIDES AMB MALFORMACIONS CEFÀLIQUES

Dins d'aquesta modalitat d'espermatozoides hom pot trobar malformacions que afecten els diversos segments de l'acrosoma, malformacions presents a la regió cefàlica postacrosòmica i malformacions nuclears.

El segment apical de l'acrosoma pot presentar diverses malformacions: elevat o escàs desenvolupament, formes i distribucions anòmales, vesiculització interna i matriu acrosòmica heterogènia. El segment principal de l'acrosoma pot presentar les malformacions següents: dilatació de la vesícula acrosòmica, escassa electrodensitat de la matriu i vesiculització. En el segment equatorial de l'acrosoma s'hi poden observar també diverses malformacions: elevat desenvolupament de l'espai subacrosòmic, i dilatació i fistonejat dels extrems laterals de la vesícula acrosòmica.

A la regió postacrosòmica hom pot trobar major o menor desenvolupament de fibres de mielina entre la làmina densa postacrosòmica i el material fibrós perinuclear.

Les malformacions nuclears més característiques solen ser les invaginacions de l'embolcall nuclear i els vacúols nuclears. Tot i així, hom pot observar també altres malformacions nuclears (nuclis doblegats per un eix longitudinal o per un eix transversal) seguides de malformacions acrosòmiques (generalment, vesiculització o plasmòlisi).

4.2.5. ESPERMATOZOIDES AMB MALFORMACIONS A LA CUA

Dins d'aquesta categoria de malformacions hom pot distingir aquelles que afecten l'estructura axonemàtica, la beina mitocondrial i el citoplasma perimitocondrial.

S'observen cinc modalitats d'anomalies axonemàtiques per absència d'elements microtubulars: absència dels doblats perifèrics (6, 8, 9, i 5 i 6) i absència de la parella de microtúbuls centrals. A més, també es pot

observar la desorganització general i la deformació de l'estructura axonemàtica per la presència de vesícules, més o menys desenvolupades, disposades entre la beina fibrosa i l'axonema.

Les dues principals anomalies de la beina mitocondrial són la tumefacció mitocondrial i la disposició irregular dels mitocondris de la beina. La tumefacció mitocondrial afecta, generalment, els primers mitocondris de la beina mitocondrial. Es tracta de mitocondris d'un diàmetre fins a cinc vegades superior al diàmetre dels mitocondris normals de la beina. Aquests mitocondris es caracteritzen per presentar una matriu molt clara i absència de crestes mitocondrials. La membrana mitocondrial interna no emet crestes i corre paral·lela a la membrana mitocondrial externa. Una altra modificació de la beina mitocondrial consisteix en la distribució anòmala dels mitocondris de la beina. En aquests casos, a més dels mitocondris de la beina, distribuïts regularment de forma helicoidal, apareixen mitocondris supernumeraris afegits externament a la beina que determinen una lleugera deformació del perímetre circular de la peça intermèdia. La beina, mitocondrial, a vegades, pot presentar un gruix reduït i un contorn fistonejat.

Pel que fa al citoplasma perimitocondrial destaquen diverses malformacions. Hom pot trobar vesiculització perifèrica a la peça de connexió i a qualsevol alçada de les dues primeres peces de la cua de l'espermatozoide. Les vesícules es disposen a la perifèria i alteren el perímetre circular de la cua. El desenvolupament de la vesícula és major a mesura que es va desplaçant des de la peça de connexió fins a la peça principal. A la peça de connexió, la vesícula (d'uns 0,30 μm de diàmetre) es disposa entre els cossos laminars i el plasmalemma. A la peça intermèdia, la vesícula (d'uns 0,35 μm de diàmetre) es disposa entre la beina mitocondrial i el plasmalemma i provoca una profunda deformació dels mitocondris de la beina. A la peça principal, la vesícula (d'uns 0,40 μm de diàmetre) es disposa entre la beina fibrosa i el plasmalemma i no provoca deformacions importants a les costelles de la beina fibrosa. Al nivell de la regió proximal de la peça principal es produeix la pèrdua de la vesícula per constricció a la seva base i posterior fusió del plasmalemma. L'origen d'aquestes vesícules es pot trobar en les grans vesícules presents en la gota citoplasmàtica dels espermatozoides immadurs o en les expansions citoplasmàtiques presents en les peces de connexió o intermèdia d'alguns espermatozoides. El citoplasma residual apareix en la peça de connexió i en la peça intermèdia de dues formes: *a*) com a expansions citoplasmàtiques; i *b*) com a pel·lícules citoplasmàtiques perimitocondrials. Les expansions citoplasmàtiques es disposen a la base del cap, just en el límit entre la peça de connexió i la regió cefàlica postacrosòmica. Es tracta d'evaginacions citoplasmàtiques digitiformes d'1 μm de longitud per 0,1 μm de diàmetre ocupades per un citoplasma homogeni lleugerament electrodens. Aquestes evaginacions poden encorbar-se fins a fusionar-se pel seu extrem lliure amb la membrana plasmàtica de la peça de connexió. Hom pot trobar, també, evaginacions citoplasmàtiques fungiformes o digitiformes al nivell de la regió més distal de la peça intermèdia. En aquests casos, l'expansió citoplasmàtica neix a partir d'una pel·lícula citoplasmàtica perimitocondrial molt desenvolupada.

5. ALTRES CÈL·LULES

5.1. LES CÈL·LULES SOMÀTIQUES

Les cèl·lules somàtiques presents en l'ejaculat de mascles porcins són esfèriques i d'uns 12 µm de diàmetre. Aquestes cèl·lules són poc freqüents i, algunes vegades, hom pot observar-les englobant la regió cefàlica d'espermatozoides immadurs, preferentment amb gota citoplasmàtica distal.

Les característiques ultraestructurals d'aquestes cèl·lules són les pròpies de les cèl·lules macrofàgiques. Són cèl·lules mononucleades però amb un nucli profundament lobulat. El nucli conté cromatina finament granular i unes masses heterocromàtiques escasses, disperses pel nucleoplasma o associades a l'embolcall nuclear. El nuclèol és molt prominent i mostra clarament diferenciades la part fibril·lar i granular. Aquesta morfologia nuclear és pròpia de cèl·lules amb una activitat nuclear molt elevada. El citoplasma és molt abundant i ric en vesícules lisosòmiques i fagocítiques.

Aquestes cèl·lules degeneren ràpidament en l'ejaculat, i, en conseqüència, es poden observar cèl·lules somàtiques caracteritzades per l'aspecte picnòtic del nucli i l'aspecte plasmolitzat del citoplasma.

5.2. LES CÈL·LULES PROCARIOTES

Les cèl·lules procariotes són poc abundants en l'ejaculat normal dels mascles porcins. Les cèl·lules procariotes presents a l'ejaculat són, normalment, bacteris Gram negatius de forma bacil·lar. L'àrea nuclear destaca de la resta del citoplasma per la seva baixa electrodensitat. La coberta bacteriana està constituïda per polisacàrids.

MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA EN PORCINO

ÍNDICE

PRÓLOGO	39
INTRODUCCIÓN	41
1. METODOLOGÍA	43
1.1. Protocolo para la preparación de extensiones de semen teñidas con la técnica de coloración de Papanicolaou para ser observadas con el microscopio óptico de campo claro	43
1.2. Protocolo para la preparación de extensiones de semen teñidas con el método panóptico rápido para ser observadas con el microscopio óptico de campo claro	44
1.3. Protocolo para la preparación de muestras de semen para ser observadas con el microscopio de contraste de fases positivas o negativas, y de contraste interferencial de Nomarski	45
1.4. Protocolo para la preparación de muestras de semen para ser observadas con el microscopio electrónico de barrido	46
1.5. Protocolo para la preparación de muestras de semen para ser observadas con el microscopio electrónico de transmisión	47
2. EL ESPERMATOZOIDE MADURO	49
2.1. Estructura y morfología externa	49
2.2. Ultraestructura	49
2.2.1. La cabeza	49
2.2.2. La pieza de conexión	50
2.2.3. La pieza intermedia	51
2.2.4. La pieza principal	52
2.2.5. La pieza terminal	54
3. LOS ESPERMATOZOIDES INMADUROS	57
4. LOS ESPERMATOZOIDES ABERRANTES	59
4.1. Morfología externa y clasificación	59
4.1.1. Malformaciones que afectan a la forma de la cabeza	60

4.1.2. Malformaciones que afectan al tamaño de la cabeza	60
4.1.3. Malformaciones que afectan al número de cabezas	61
4.1.4. Malformaciones que afectan a la trayectoria de la cola	61
4.1.5. Malformaciones que afectan al tamaño de la cola	62
4.1.6. Malformaciones que afectan al número de colas	62
4.2. Morfología interna y clasificación	62
4.2.1. Espermatozoides con la cola doblada por el anillo de Jensen	62
4.2.2. Espermatozoides con la cola enrollada	63
4.2.3. Espermatozoides con dos colas	63
4.2.4. Espermatozoides con malformaciones cefálicas	63
4.2.5. Espermatozoides con malformaciones en la cola	64
5. OTRAS CÉLULAS	65
5.1. Las células somáticas	65
5.2. Las células procariotas	65
6. MORPHOLOGY OF BOAR SPERMATOZOA	67
7. LÁMINAS	99
8. BIBLIOGRAFÍA	237

PRÓLOGO

Es un placer para mí hacer una breve presentación de esta obra que tiene en sus manos. *Morfología espermática en porcino* es el resultado de un trabajo de investigación muy esmerado que, a lo largo de diez años y bajo la dirección del doctor Sergi Bonet, se ha desarrollado en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Girona.

Sergi Bonet es catedrático de Biología Celular de la Universidad de Girona, coordinador de la Sección de Biología de la Reproducción de la Sociedad Catalana de Biología y, al mismo tiempo, miembro de la red temática que lleva el mismo nombre creada por la CIRIT (1994).

La ponencia del premio August Pi i Sunyer 1998, formada por los doctores Josep Egozcue i Cuixart, Jesús A. García Sevilla y Jordi Sans i Sabrafen, recomendó a la Sección de Ciencias Biológicas la publicación de uno de los trabajos que se presentaron. La sección lo aprobó en julio de 1998 y los curadores de la obra pidieron a los autores que remodelaran el trabajo para convertirlo en el presente Atlas.

De la investigación de los gametos masculinos del porcino han surgido dos tesis doctorales y un buen número de trabajos publicados en revistas de prestigio internacional, algunos de los cuales aparecen referenciados en la bibliografía de esta obra.

Los que utilizamos los microscopios ópticos y electrónicos en sus diversas modalidades (transmisión y rastreo) como herramienta de investigación imprescindible conferimos una gran importancia a la metodología utilizada en las preparación de las muestras biológicas para realizar un estudio de ellas.

Ello determina que, ante un documento gráfico, microfotografía o electromicrografía, se realice automáticamente una valoración cualitativa exagerada para el no experto en este ámbito de estudio. Efectivamente, la obtención de una imagen "perfecta" depende de tantos factores que se hace necesario espigar muchos documentos para escoger unos pocos que sean válidos para su publicación, tanto desde el punto de vista resolutivo como desde el punto de vista informativo y, incluso, estético.

Con estas palabras quiero destacar la calidad iconográfica de la presente obra, e indicar al no experto en ultraestructura celular que las secciones ultrafinas presentadas en esta obra son representativas de las diferentes orientaciones de los cortes y permiten cuantificar las anomalías morfológicas de los diferentes compartimentos celulares de esta célula tan altamente especializada que es el espermatozoide. Y, con ello, poder calibrar el grado de alteraciones morfológicas que determinan las anomalías funcionales del gameto.

Existen pocos atlas de este tipo que compaginen las observaciones con el microscopio óptico, el microscopio electrónico de transmisión y el de rastreo. Recientemente apareció el de Andolz y Bielsa (1995) sobre semen humano, pero no conozco ninguno sobre semen de especies de interés ganadero. Hace algunos años se publicó un atlas, con el que colaboré, que estaba totalmente dedicado a la citología y la histología del aparato

reproductor masculino de anfibios y reptiles del País Vasco (Arrayago y Bea, 1986). Este estudio, sin embargo, se realizó únicamente con el microscopio óptico.

Morfología espermática en porcino es, sin duda, una obra que interesará a los estudiosos del tema y, también, a estudiantes de aquellas facultades de Biología, Medicina y Veterinaria que tengan materias de estudio optativas referentes a la biología de la reproducción.

Sin querer renunciar a nada y dado el abanico de personas que potencialmente pueden interesarse en esta obra, se decidió publicarla en tres idiomas.

Deseo que esta iniciativa tenga buena acogida entre nuestra comunidad científica.

Mercè DURFORT i COLL
Catedrática de Biología Celular de la Universidad de Barcelona
Miembro de la Sección de Ciencias Biológicas

INTRODUCCIÓN

La morfología espermática es uno de los parámetros evaluados en los análisis seminales rutinarios de los eyaculados de machos reproductores porcinos. De hecho, un análisis seminal completo incluye un conjunto muy amplio de pruebas (volumen, color, olor, viscosidad, motilidad espermática, concentración espermática, vitalidad espermática, morfología espermática, resistencia osmótica, pH, actividad respiratoria, índice de glucólisis, determinación de acrosina, determinación de ATP, test de penetración espermática, etc.) y sus valores nos indican la calidad espermática de los eyaculados.

La calidad espermática de un eyaculado, definida por los resultados de las diversas pruebas practicadas, nos indica si el semen obtenido reúne las características mínimas requeridas para poder ser usado con garantías suficientes de obtener una buena fertilidad y prolificidad.

Para los centros de inseminación artificial y para la mayoría de explotaciones de selección y multiplicación (en las que la inseminación artificial, por las ventajas que ofrece respecto a la monta natural, es una práctica cada vez más extendida), la evaluación correcta de todos los parámetros del análisis seminal es fundamental. De todos estos parámetros que se deben evaluar, un minucioso análisis de la morfología espermática nos puede sugerir, en algunos casos, cuál ha sido la causa que ha podido originar una disminución de la calidad espermática y la fertilidad.

En este libro se abordan las diversas técnicas que pueden ser usadas para el análisis microscópico de la morfología espermática, así como las múltiples morfologías espermáticas (agrupadas por tipologías) presentes en la fracción espermática de los eyaculados de machos reproductores porcinos. No pretende ser ni pretende sustituir ninguno de los excelentes textos prácticos que hay en el mercado referentes al análisis seminal y a las técnicas de inseminación artificial. Se trata de un atlas de morfología espermática en porcino y de un manual de las técnicas para su estudio que quiere profundizar en los conocimientos relativos a la morfología normal y en las malformaciones espermáticas presentes en el eyaculado.

A menudo se dispone de pocas ocasiones para poder llegar a un amplio colectivo de profesionales e investigadores, como es la edición de un libro, y hacerles conocedores de los resultados obtenidos de una dilatada e intensa investigación. Esta oportunidad nos la ofreció el Institut d'Estudis Catalans cuando nos encargó esta obra y querríamos agradecerle la sensibilidad que ha mostrado, en todo momento, a lo largo de su edición. Asimismo, quiero agradecer a la Fundación Privada Girona: Universitat i Futur el apoyo económico recibido para la realización de las microfotografías.

No quiero desaprovechar esta excelente plataforma de comunicación para agradecer, muy especialmente, a tres personas el soporte que me han dado desde los inicios de mi actividad universitaria. La Dra. Mercè

Durfort (catedrática de Biología Celular de la Universidad de Barcelona), el Dr. Josep Egozcue (catedrático de Biología Celular de la Universidad Autónoma de Barcelona) y el Dr. Josep Maria Nadal (catedrático de Filología Catalana de la Universidad de Girona) han sido en todo momento una fuente inagotable de ideas y buenos consejos. A los tres amigos, gracias, muchas gracias.

DR. SERGI BONET MARULL
Girona, 23 de noviembre de 1999

1. METODOLOGÍA

Las muestras de semen utilizadas para el estudio morfológico con el microscopio óptico y con el microscopio electrónico provienen de la fracción rica de los eyaculados de verracos postpuberales. Los eyaculados se obtienen por el método de la mano enguantada (masturbación manual con guante de goma) a partir de machos montados sobre un maniquí. De los eyaculados obtenidos se desprecian las fracciones preespermática y postespermática y se guarda la fracción espermática (fracción rica en espermatozoides) previamente filtrada a través de una gasa con la finalidad de eliminar las masas gelatinosas procedentes de la secreción de las glándulas de Cowper.

La fracción espermática debe diluirse 1/10 con diluyente MR-A y se puede almacenar, por un periodo no superior a los tres días, en frascos de unos 80 ml a 15 °C.

1.1. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE EXTENSIONES DE SEMEN TEÑIDAS CON LA TÉCNICA DE COLORACIÓN DE PAPANICOLAOU PARA SER OBSERVADAS CON EL MICROSCOPIO ÓPTICO DE CAMPO CLARO

1. Realizar extensiones de semen a partir de la fracción espermática diluida y dejarlas secar al aire.
2. Fijar las extensiones con etanol absoluto: éter etílico (v/v) durante 5 minutos.
3. Hidratar con etanol 80 %; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.
4. Hidratar con etanol 70 %; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.
5. Hidratar con etanol 50 %; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.
6. Hidratar con agua destilada; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.
7. Teñir con la solución Papanicolaou n.º 1 (hematoxilina de Harris) durante 3 minutos.
8. Lavar con agua corriente durante 3 minutos.
9. Diferenciar con etanol ácido; realizar 2 inmersiones de 1 segundo cada una.
10. Frenar la diferenciación con agua corriente durante 3 minutos.
11. Virar la hematoxilina con agua de Scott durante 4 minutos.
12. Lavar con agua destilada; realizar 1 inmersión de 1 segundo.
13. Deshidratar con etanol 50 %; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.
14. Deshidratar con etanol 70 %; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.
15. Deshidratar con etanol 80 %; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.
16. Deshidratar con etanol 90 %; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.

17. Teñir con la solución Papanicolaou n.º 2 (naranja G6) durante 2 minutos.
 18. Diferenciar con etanol 95 %; realizar 10 inmersiones de 1 segundo cada una.
 19. Teñir con la solución Papanicolaou n.º 3 (EA-50) durante 5 minutos.
 20. Diferenciar con etanol 95 %; realizar 15 inmersiones de 1 segundo cada una.
 21. Deshidratar con etanol absoluto durante 2 minutos.
 22. Aclarar con xileno durante 1 minuto.
 23. Aclarar nuevamente con xileno durante 1 minuto.
 24. Montar con un medio hidrófobo (p. ej., DPX, Entellan, Bálsamo del Canadá, etc.) y colocar un cubre-objetos de 24 x 60 mm.
- Las preparaciones se observan a 1.000x-1.200x.

REACTIVOS

El *kit* de las tres soluciones de Papanicolaou se puede adquirir en diversas casas comerciales (p. ej., Merck).

- Etanol ácido

Etanol absoluto	300 ml
Ácido clorhídrico concentrado (HCl)	2 ml
Agua destilada	100 ml
- Agua de Scott

Bicarbonato sódico (NaHCO ₃)	3,5 g
Sulfato de magnesio (MgSO ₄ · 7H ₂ O)	20,0 g
Agua destilada	1.000 ml

RESULTADOS

Esta coloración permite distinguir bien las células germinales de los diversos tipos de células somáticas presentes en las extensiones.

Región acrosómica	rosa
Región postacrosómica	azul oscuro
Cola	rosa
Eritrocitos	naranja-rojo
Células acidófilas	rosa
Células basófilas	verde-azul
Leucocitos	rojo pálido

1.2. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE EXTENSIONES DE SEMEN TEÑIDAS CON EL MÉTODO PANÓPTICO RÁPIDO PARA SER OBSERVADAS CON EL MICROSCOPIO ÓPTICO DE CAMPO CLARO

1. Realizar extensiones de semen a partir de la fracción espermática diluida y dejarlas secar al aire.
2. Sumergir las extensiones en el reactivo n.º 1 (solución fijadora metélica de triarilmetano); realizar 5 inmersiones de 2 segundos cada una. Eliminar el exceso de fijador antes de aplicar el siguiente reactivo.
3. Sumergir las extensiones en el reactivo n.º 2 (solución colorante basófila de xanteno, rojiza); realizar 5 inmersiones de 2 segundos cada una. Eliminar el exceso de colorante antes de aplicar el siguiente reactivo.
4. Sumergir las extensiones en el reactivo n.º 3 (solución colorante acidófila de tiazina, azulada); realizar 5 inmersiones de 2 segundos cada una.
5. Lavar las extensiones con agua desionizada y dejarlas secar al aire.
6. Montar con un medio hidrófobo (p. ej., DPX, Entellan, Bálsamo del Canadá, etc.) y colocar un cubreobjetos de 24 x 60 mm.

Las preparaciones se observan a 1.000x-1.200x.

REACTIVOS

El *kit* de los tres reactivos se puede adquirir en diversas casas comerciales (p. ej., Quick Panoptic —QCA, S.A.— Diff-Quik®, Hemacolor —Merck—).

RESULTADOS

Esta coloración permite distinguir las diversas regiones del espermatozoide:

Cabeza (acrosoma)	azul pálido
Pieza de conexión	rosa
Pieza intermedia	violeta
Pieza principal	azul oscuro

1.3. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SEMEN PARA SER OBSERVADAS CON EL MICROSCOPIO ÓPTICO DE CONTRASTE DE FASES POSITIVAS O NEGATIVAS, Y DE CONTRASTE INTERFERENCIAL DE NOMARSKI

1. Colocar 1 ml de la fracción espermática diluida en un tubo de ensayo.
2. Inmovilizar los espermatozoides sumergiendo el tubo en agua a 55-60 °C durante 5 minutos.
3. Depositar una pequeña gota del esperma diluido en un portaobjetos y montar con un cubreobjetos de 22 x 22 mm.

Las preparaciones se observan desde los 400x hasta los 1.200x.

RESULTADOS

La microscopía óptica de contraste de fases permite identificar los límites de las regiones cefálicas: acrosómica y postacrosómica, y de las siguientes piezas del espermatozoide: conexión, intermedia, principal y terminal.

La microscopía óptica de contraste interferencial de Nomarski (DIC) permite identificar el relieve celular y, en este sentido, es idóneo para el estudio de la forma llana de la cabeza, del aspecto protuberante del segmento acrosómico apical y de la forma cilíndrica de la cola.

Si el esperma diluido no ha sido previamente inmovilizado (paso n.º 2 del protocolo), la observación de las muestras permite examinar la motilidad espermática.

Si se desea obtener un mayor contraste entre las estructuras celulares, las muestras deben ser previamente fijadas con glutaraldehído al 2,5 % y postfijadas con tetraóxido de osmio al 1 % de acuerdo con el procedimiento siguiente:

1. Obtener 1 ml de la fracción espermática y depositarla en un tubo de ensayo con 9 ml de tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durante 10 minutos. Agitar suavemente.
2. Centrifugar durante 5 minutos a 1.200 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
3. Fijar el sedimento con 10 ml de glutaraldehído al 2,5 % en tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durante 1 hora a 4 °C. Agitar suavemente.
4. Centrifugar durante 5 minutos a 1.200 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
5. Lavar el sedimento con 9 ml de tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durante 10 minutos. Agitar suavemente.
6. Centrifugar durante 5 minutos a 1.200 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
7. Postfijar el sedimento con 1 ml de tetraóxido de osmio al 1 % en tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durante 1 hora a 4 °C. Agitar suavemente.
8. Centrifugar durante 5 minutos a 1.200 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
9. Lavar el sedimento con 9 ml de tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durante 10 minutos. Agitar suavemente.
10. Centrifugar durante 5 minutos a 1.200 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
11. Añadir 9 ml de tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2). Agitar suavemente.
12. Depositar una pequeña gota del esperma diluido en un portaobjetos y montar con un cubreobjetos de 22 x 22 mm.

Las preparaciones se observan entre 400x y 1.200x.

1.4. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SEMEN PARA SER OBSERVADAS CON EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

1. Colocar 1 ml de la fracción espermática diluida en un tubo de ensayo y 9 ml de tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2). Agitar suavemente durante 10 minutos.
2. Centrifugar durante 10 minutos a 1.800 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
3. Fijar el sedimento con 10 ml de líquido de Karnovsky durante 1 hora a 4 °C. Agitar suavemente.
4. Centrifugar durante 10 minutos a 1.800 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
5. Lavar el sedimento con 10 ml de tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) durante 10 minutos a 4 °C. Agitar suavemente.
6. Repetir los pasos n.º 4 y n.º 5 del protocolo.
7. Centrifugar durante 10 minutos a 1.800 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
8. Postfijar el sedimento con 1 ml de tetraóxido de osmio al 1 % durante 15 minutos. Proteger el tubo de ensayo de la luz y agitar suavemente.
9. Repetir los pasos n.º 4 y n.º 5 del protocolo.
10. Centrifugar durante 10 minutos a 1.800 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
11. Añadir 10 ml de agua bidestilada y agitar suavemente durante 10 minutos.

12. Centrifugar durante 10 minutos a 1.800 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
13. Deshidratar el sedimento con 5 ml de etanol 30 % durante 10 minutos. Agitar suavemente.
14. Centrifugar durante 10 minutos a 1.800 r.p.m. y descartar el sobrenadante.
15. Repetir los pasos n.º 13 y n.º 14 con la serie alcohólica siguiente: etanol 50 %, etanol 70 %, etanol 90 %, etanol 96 % y 2 cambios de etanol absoluto.
16. Repetir los pasos n.º 13 y n.º 14 con la serie de infiltración siguiente: etanol absoluto-acetato de isoamilo (2/1), etanol absoluto-acetato de isoamilo (1/1), etanol absoluto-acetato de isoamilo (1/2) y dos cambios de acetato de isoamilo.
17. Resuspender la muestra en 5 ml de acetato de isoamilo y depositar tres gotas de la suspensión sobre un filtro de policarbonato (Nuclepore-Costar de 0,2 µm de diámetro de poro, montado sobre la base de una cápsula de polietileno de 8 mm de diámetro; previamente se ha retirado la base original de la cápsula).
18. Someter el conjunto a desecación mediante el método de punto crítico.
19. Retirar el filtro de la base de la cápsula y montarlo en un soporte de aluminio o cobre (*stub*).
20. Metalizar con una capa de oro-paladio de unos 40-50 nm de grosor.

REACTIVOS

- Tampón fosfato de Sörensen pH 7,2

Solución A. Fosfato sódico, dibásico

(Na₂HPO₄ · 2H₂O) 11,876 g

Agua destilada 1.000 ml

Solución B. Fosfato potásico, monobásico

(KH₂PO₄) 9,08 g

Agua destilada 1.000 ml

Mezclar 72,6 ml de la solución A y enrasar hasta 100 ml con la solución B.

- Líquido de Karnovsky

Disolver 1,2 g de paraformaldehído en 20 ml de agua destilada a 80 °C. Aclarar la solución con unas gotas de NaOH 1 N hasta quedar del todo transparente (de dos a tres gotas suelen ser suficientes).

Dejar enfriar y añadir 15 ml de tampón fosfato de Sörensen (0,16 M; pH 7,2) y 5 ml de glutaraldehído al 25 %.

Conservar la mezcla a 4 °C y utilizarla antes de 24 horas.

- Tetraóxido de osmio al 1 %

Tetraóxido de osmio (OsO₄) al 2 %

(en agua destilada) 4 ml

Tampón fosfato de Sörensen

(0,16 M; pH 7,2) 4 ml

1.5. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SEMEN PARA SER OBSERVADAS CON EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN

1. Seguir la indicaciones del protocolo 1.4 (preparación de muestras para ser observadas con el microscopio electrónico de barrido) desde el paso n.º 1 hasta el n.º 15. Agitar el sedimento únicamente en el paso n.º 1.

2. Resuspender el sedimento en 1 ml de etanol absoluto y transferir la suspensión a un tubo *ependorf*.
3. Centrifugar a 1.800 r.p.m. durante 10 minutos y descartar el sobrenadante.
4. Embeber el sedimento en 1 ml de etanol-Spurr (1/1) durante 60 minutos.
5. Centrifugar a 1.800 r.p.m. durante 10 minutos y descartar el sobrenadante.
6. Embeber el sedimento en 1 ml de Spurr durante 12 horas (*overnight*) a 4 °C.
7. Centrifugar a 1.800 r.p.m. durante 5 minutos y descartar el sobrenadante.
8. Embeber el sedimento en 1 ml de Spurr durante 2 horas a 4 °C.
9. Centrifugar a 1.800 r.p.m. durante 5 minutos y colocar el tubo *ependorf* a 60 °C durante unas 8-12 horas (*overnight*).
10. Proceder a la obtención de secciones finas de unos 70-80 nm de grosor y depositar las secciones sobre rejillas de cobre (3 mm de diámetro). Dejar secar.
11. Contrastar las secciones con acetato de uranilo durante 7-8 minutos.
12. Lavar con agua bidestilada y dejar secar.
13. Contrastar nuevamente las secciones con la solución de Reynolds durante 15 minutos en una atmósfera pobre en oxígeno.
14. Lavar con agua bidestilada y dejar secar.

REACTIVOS

- Resina Spurr

La resina Spurr se obtiene mezclando cuatro componentes que se pueden adquirir en diversas casas comerciales.

La mezcla tiene que ser homogénea y, en consecuencia, será preciso hacerla lentamente (*evitando la formación de burbujas*) aproximadamente durante una hora. Una vez elaborada se puede conservar a 4 °C durante una semana.

<i>Casa comercial</i>	<i>Bio-Rad</i>	<i>Taab</i>
Componentes	ERL: 23 g NSA: 62 g DER: 14 g DMAE: 1 g	ERL: 10 g NSA: 26 g DER: 6 g S 1: 0,4 g

- Acetato de uranilo

Solución saturada de acetato de uranilo en agua bidestilada-acetona (1/1).

- Solución de Reynolds

Nitrato de plomo

$Pb(NO_3)_2$ 1,33 g

Citrato sódico, dibásico

$Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ 1,76 g

Agua destilada y hervida 30 ml

Agitar durante 30 minutos y añadir 8 ml de NaOH 1 N. Enrasar hasta 50 ml con agua destilada y hervida. Conservar la solución a 4 °C y protegerla de la luz. El tiempo de conservación es de 2-3 meses.

2. EL ESPERMATOZOIDE MADURO

2.1. ESTRUCTURA Y MORFOLOGÍA EXTERNA

En un eyaculado normal de *Sus domesticus* se puede encontrar un porcentaje de entre el 80 % y el 95 % de espermatozoides maduros. El espermatozoide maduro de *Sus domesticus* es un gameto de 45 μm de longitud en el que se distinguen tres partes: la cabeza, la pieza de conexión o cuello y la cola. La cola está formada por tres piezas: la intermedia o mitocondrial, la principal y la terminal.

La cabeza es oval y llana. Sus medidas son: 7 μm de longitud, 3,7 μm de anchura máxima y 0,4 μm de grosor. Las dos caras de la cabeza no son iguales: mientras que una es llana, la otra presenta una protuberancia apical en forma de semiluna, de unos 0,4 μm de ancho, que se extiende por los márgenes de la cabeza a lo largo de 1,2 μm .

La pieza de conexión o cuello, de 0,7 μm de longitud por 0,5 μm de grosor, tiene forma cónica con la base más ancha (1,3 μm) en contacto con la cabeza, y la más estrecha (0,6 μm) en contacto con la pieza intermedia. En la zona más cercana a la cabeza se puede observar una protuberancia anular de 0,15 μm de diámetro.

La cola tiene forma filamentososa y cilíndrica. La pieza intermedia tiene una longitud de 9 μm y un diámetro de 0,7 μm . La pieza principal tiene una longitud de 26,2 μm y un diámetro de 0,4 μm y, finalmente, la pieza terminal tiene una longitud de 2,2 μm y un diámetro de 0,2 μm .

2.2. ULTRAESTRUCTURA

2.2.1. LA CABEZA

En la cabeza del espermatozoide distinguimos las estructuras siguientes: el acrosoma, la lámina densa postacrosómica, el espacio subacrosómico, el material fibroso perinuclear y el núcleo.

El acrosoma es una vesícula que se dispone sobre el núcleo en forma de capuchón y cubre el 80 % de la longitud nuclear. Esta parte de la cabeza que contiene el acrosoma es conocida como la región acrosómica. La matriz del acrosoma contiene un material amorfo, distribuido homogéneamente. Se distinguen tres segmentos acrosómicos: apical, principal y ecuatorial. En este último segmento la electrodensidad del contenido acrosómico es ligeramente superior a la de los dos primeros segmentos.

El segmento apical del acrosoma es la zona más dilatada de la vesícula acrosómica. Si bien la membrana acrosómica interna se dispone por encima de la membrana nuclear, la membrana acrosómica externa se sitúa por debajo de la membrana plasmática. Esta dilatación vesicular no presenta el mismo desarrollo en las dos

caras de la cabeza. En la cara no llana de la cabeza, el segmento apical llega a tener unos $0,72\ \mu\text{m}$ de longitud por $270\ \text{nm}$ de grosor máximo y, en la cara llana de la cabeza, el segmento apical alcanza unos $0,50\ \mu\text{m}$ de longitud por $100\ \text{nm}$ de grosor máximo.

El segmento principal tiene una longitud de $2,5\ \mu\text{m}$ en la cara llana de la cabeza y de $2,8\ \mu\text{m}$ en la otra cara; el grosor de este segmento es de unos $80\ \text{nm}$ aproximadamente.

El segmento ecuatorial tiene una longitud de unos $2,3\ \mu\text{m}$, un grosor de $40\ \text{nm}$ en las dos caras de la cabeza y un grosor de $80\ \text{nm}$ a los lados de la cabeza.

La lámina densa postacrosómica se dispone paralela por debajo de la membrana plasmática, cubre el 20% de la longitud del núcleo y coincide con la región del núcleo no cubierta por la vesícula acrosómica. Esta región de la cabeza, donde se desarrolla la lámina densa, es conocida como la región postacrosómica. Esta lámina, formada por una capa homogénea de material fibroso y electrodenso, presenta una longitud de $1,4\ \mu\text{m}$ y un grosor de $25\ \text{nm}$. La membrana plasmática cubre la vesícula acrosómica y discurre estrechamente adherida a la lámina densa postacrosómica. La membrana plasmática se desprende muy fácilmente de la membrana acrosómica externa pero se mantiene estrechamente unida a la lámina densa postacrosómica.

El espacio subacrosómico (o perinuclear) es el espacio existente entre el núcleo y la membrana acrosómica interna o la cara interna de la lámina densa postacrosómica. El espacio subacrosómico está ocupado por una matriz poco electrodenso y un material fibroso perinuclear de mayor electrodensidad. Este espacio se encuentra especialmente desarrollado en la región supranuclear, es decir, por debajo del segmento apical del acrosoma. En esta región, el espacio subacrosómico toma forma cónica, con un diámetro en la base de $80\ \text{nm}$ y una altura de $120\ \text{nm}$. A lo largo del segmento principal del acrosoma y en las dos caras de la cabeza, el espacio subacrosómico se reduce a $25\ \text{nm}$ de grosor. A lo largo del segmento ecuatorial del acrosoma y en las dos caras de la cabeza, el espacio subacrosómico aumenta hasta $40\ \text{nm}$ de grosor y alcanza su desarrollo máximo en la región postacrosómica ($70\ \text{nm}$). El espacio subacrosómico aumenta considerablemente en los lados de la cabeza ($70\ \text{nm}$) correspondientes a los segmentos principal y ecuatorial de la vesícula acrosómica. En los lados de la cabeza correspondientes a la región postacrosómica, el espacio subacrosómico es prácticamente inexistente y se produce el contacto entre el material fibroso perinuclear y la lámina densa postacrosómica.

El material fibroso perinuclear (o subacrosómico) se dispone formando una lámina electrodenso alrededor del núcleo y a una distancia de éste de $15\ \text{nm}$. El desarrollo de esta lámina es máximo en la región postacrosómica de la cabeza y alcanza un grosor de unos $15\ \text{nm}$. En la región acrosómica de la cabeza la lámina es más delgada, menos compacta y menos electrodenso.

El núcleo contiene una cromatina muy condensada y electrodenso. La longitud del núcleo es de $6,6\ \mu\text{m}$ y el grosor varía en las dos regiones de la cabeza. En la región acrosómica el grosor del núcleo es de $220\ \text{nm}$ y en la región postacrosómica de $320\ \text{nm}$, aproximadamente.

2.2.2. LA PIEZA DE CONEXIÓN

La pieza de conexión o cuello del espermatozoide es la región que va desde la base del núcleo hasta la primera mitocondria de la pieza intermedia. A lo largo del recorrido de la membrana plasmática por la pieza de conexión y la región postacrosómica de la cabeza, se observa una ligera escotadura circular justo en el límite entre ambas partes del gameto. En la pieza de conexión se distinguen las estructuras siguientes: la placa basal, los cuerpos laminares, el *capitulum*, las columnas segmentadas, el cuerpo basal y el axonema.

La placa basal se encuentra situada en la base del núcleo, y se extiende a lo largo de unos $0,6\ \mu\text{m}$, adherida a la membrana externa de la membrana nuclear. La placa basal está formada por un material electrodenso de aspecto y grosor muy semejantes a los de la lámina densa postacrosómica ($30\ \text{nm}$ de grosor).

Los cuerpos laminares proceden de evaginaciones muy pronunciadas de la membrana nuclear que contienen un espacio nuclear libre de cromatina. Estas evaginaciones parten del perímetro de la base nuclear y se extienden a lo largo de 1,2 μm hasta las primeras mitocondrias de la vaina mitocondrial de la pieza intermedia. Los cuerpos laminares se disponen como un cilindro, cuyas paredes presentan un grosor de 150 nm.

El *capitulum* es una estructura arciforme que se dispone por debajo y a unos 40 nm de la placa basal. Las columnas segmentadas parten de los extremos del *capitulum* y se dirigen hacia la pieza intermedia. Así como los cuerpos laminares de la pieza de conexión se continúan con la vaina mitocondrial de la pieza intermedia, las columnas segmentadas de la pieza de conexión se continúan con las fibras densas de la pieza intermedia. El *capitulum* y las columnas segmentadas son estructuras electrodensas de unos 130 nm de grosor.

Las columnas segmentadas se individualizan en número de nueve más allá de los 0,3 μm de distancia del *capitulum*. A lo largo de los primeros 0,3 μm las columnas segmentadas se tocan entre sí y, como consecuencia, en esta zona es más correcto referirse a las prolongaciones del *capitulum* que a las columnas propiamente dichas. Las columnas segmentadas, ya individualizadas, presentan forma cilíndrica y discurren a lo largo de unos 0,8 μm hacia la pieza intermedia, y engloban así el axonema en un espacio cilíndrico de unos 220 nm de diámetro. A lo largo de las columnas segmentadas se observan dos tipos de estriaciones transversales de disposición periódica alterna, unas más conspicuas y las otras menos definidas. La distancia entre dos estrías conspicuas consecutivas es de 80 nm, y entre una de conspicua y la menos definida consecutiva es de 40 nm.

El cuerpo basal se dispone en la base de la convexidad que definen el *capitulum* y las columnas segmentadas, es decir, en un espacio de unos 220 nm de diámetro por 260 nm de altura. Los tripletes de microtúbulos del cuerpo basal se disponen en pequeñas depresiones del *capitulum*. Estas depresiones marcan los límites de los esbozos de las columnas segmentadas. El cuerpo basal se dispone en un ángulo de 45° respecto al eje longitudinal del gameto. A partir del cuerpo basal se organiza un axonema que, atravesando el espacio limitado por las columnas segmentadas, se extenderá a lo largo de toda la cola del espermatozoide. Las nueve columnas segmentadas se disponen entre los cuerpos laminares y los respectivos nueve dobletes de microtúbulos periféricos del axonema.

2.2.3. LA PIEZA INTERMEDIA

La pieza intermedia de la cola del espermatozoide se extiende desde la parte distal de la pieza de conexión hasta el *annulus* (o anillo de Jensen), un anillo electrodenso que marca el límite entre la pieza intermedia y la pieza principal. En la pieza intermedia se distinguen las estructuras siguientes: el axonema, la vaina mitocondrial, las fibras densas y los gránulos periféricos.

El axonema ocupa el eje central de la pieza intermedia, presenta la fórmula microtubular 9+2 y dispone de los elementos axonemáticos típicos (brazos de dineína, fibras de nexina, radios, puente y vaina central). Los nueve dobletes de microtúbulos periféricos se numeran del 1 al 9 en el sentido de la agujas del reloj, y el número 1 es el único doblete situado en un plano perpendicular al de los dos microtúbulos centrales.

El axonema se extiende a lo largo de toda la cola del espermatozoide y atraviesa sus tres piezas (intermedia, principal y terminal).

Por debajo de la membrana plasmática encontramos la vaina mitocondrial, la cual está formada por diversas mitocondrias alargadas (150 nm de diámetro) dispuestas una tras otra helicoidalmente alrededor del axonema. Esta vaina presenta un grosor de unos 80 nm. La matriz mitocondrial es muy electrodensa y las crestas se disponen paralelamente a la doble membrana mitocondrial.

Las fibras densas son estructuras citoesqueléticas, filamentosas y electrodensas dispuestas entre la vaina mitocondrial y cada uno de los dobletes de microtúbulos periféricos del axonema. Se extienden a lo largo de la

pieza intermedia y del primer tercio de la pieza principal. El grosor y el diámetro son máximos en la zona límite con la pieza de conexión y se van reduciendo progresivamente a lo largo de las dos piezas siguientes. Las fibras densas, numeradas de acuerdo con su asociación con los dobletes microtubulares del axonema, presentan en sección transversal una forma característica. Todas ellas tienen más o menos forma piramidal truncada con la base estrecha dirigida hacia los dobletes microtubulares y con la base ancha, de contorno curvilíneo, dirigida hacia la vaina mitocondrial. No todas las fibras densas presentan el mismo grosor ni el mismo diámetro. En la zona proximal de la pieza intermedia, las fibras número 1, 5 y 6 presentan un grosor medio de 110 nm y un diámetro de 150 nm, y las fibras número 2, 3, 4, 7, 8 y 9 presentan un grosor medio de 80 nm y un diámetro de 110 nm. En la zona distal de la pieza intermedia, las fibras número 1, 5 y 6 presentan un grosor medio de 160 nm y un diámetro de 40 nm, y las fibras restantes un grosor medio de 70 nm y un diámetro de 60 nm. Es decir, las fibras densas se van afinando a lo largo de su trayecto por la región mitocondrial.

Los gránulos periféricos pueden observarse únicamente en la zona proximal de la pieza intermedia, distribuidos entre las fibras densas. Se trata de gránulos electrodensos, de unos 15 nm de diámetro máximo, que van desapareciendo a medida que las fibras densas llegan a la zona distal de la pieza intermedia.

2.2.4. LA PIEZA PRINCIPAL

La pieza principal es el segmento más largo de la cola del espermatozoide, se extiende desde el *annulus* o anillo de Jensen hasta el extremo proximal de la pieza terminal. En la pieza principal distinguimos las siguientes estructuras características: la vaina fibrosa, las fibras densas, el *annulus* o anillo de Jensen y el axonema.

La vaina fibrosa de la pieza principal presenta una electrodensidad muy elevada, y sustituye la vaina mitocondrial de la pieza intermedia. La vaina fibrosa está formada por dos ejes longitudinales continuos o columnas (dorsal y ventral) coplanares con la pareja de microtúbulos centrales, que se encuentran unidos por una serie de costillas que forman circunferencias distribuidas regularmente alrededor de la pieza principal.

Los ejes o columnas fibrosas se disponen entre la membrana plasmática y las fibras densas número 3 y 8. El grosor de los ejes es máximo (110 nm) en el primer tercio de la pieza principal y, a lo largo de los dos tercios siguientes, disminuye progresivamente hasta equipararse al grosor de las costillas (75 nm). A lo largo del primer tercio de la pieza principal, el gran desarrollo de los ejes provoca su superposición y fusión con las fibras densas número 3 y 8.

FIGURA 1. Representación esquemática de secciones longitudinales a nivel de la cabeza, del cuello y de la cola del espermatozoide de *Sus domesticus* en que se indican los principales componentes.

A. Cabeza: segmento apical y principal de la región acrosómica

ESA, espacio subacrosómico; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo; P, plasmalema; SA, segmento apical de la vesícula acrosómica; SP, segmento principal de la vesícula acrosómica

B. Cabeza: segmento ecuatorial de la región acrosómica y región postacrosómica

LD, lámina densa postacrosómica; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo; P, plasmalema; SE, segmento ecuatorial de la vesícula acrosómica

C. Cabeza: región postacrosómica. Pieza de conexión o cuello

C, capitulum; CB, cuerpo basal; CL, cuerpos laminares; CS, columnas segmentadas; LD, lámina densa postacrosómica; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo; P, plasmalema; PB, placa basal

D. Cola: pieza intermedia o región mitocondrial

A, axonema; BM, vaina mitocondrial; FD, fibras densas; P, plasmalema

E. Cola: región distal de la pieza principal

A, axonema; BF, costillas de la vaina fibrosa; P, plasmalema

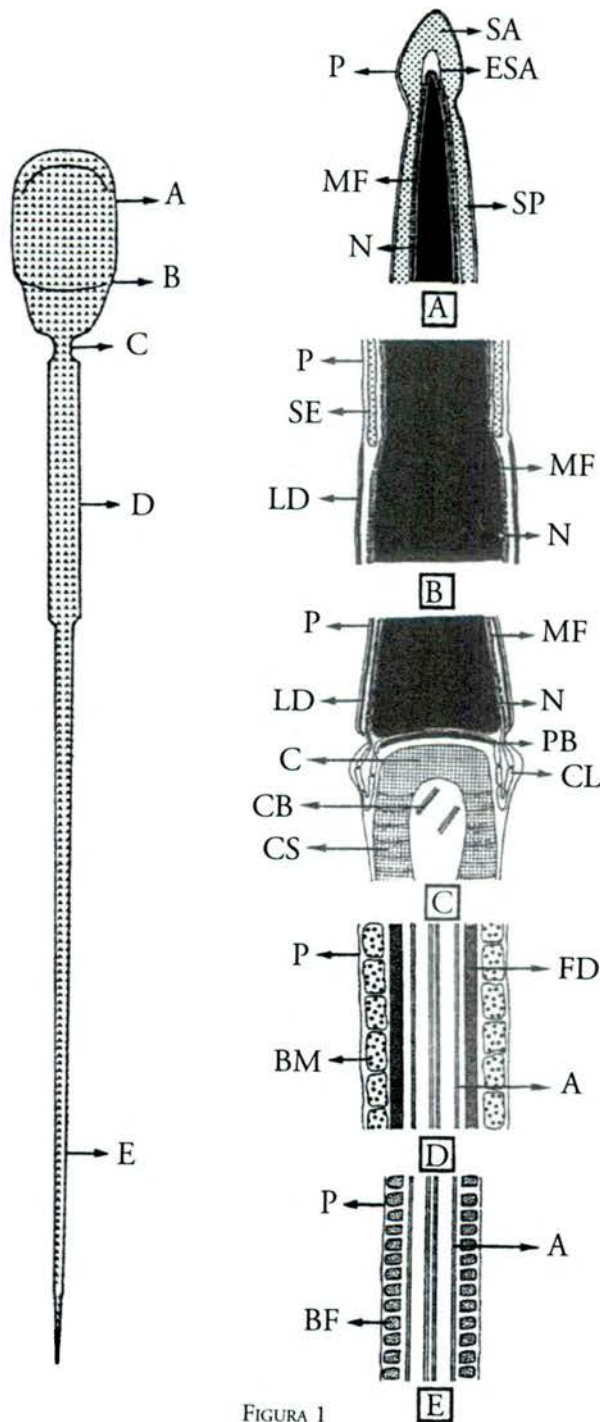


FIGURA 1

Las fibras densas restantes, que únicamente se extienden a lo largo del primer tercio de la pieza principal, disminuyen progresivamente de grosor hasta desaparecer. Los dos tercios posteriores de la pieza principal se distinguen del primer tercio por la ausencia de fibras densas y porque el grosor de los ejes fibrosos se iguala al de las costillas fibrosas (75 nm).

El espacio entre costilla y costilla es de 15 nm, aproximadamente, y el diámetro, de unos 40 nm, se mantiene constante a lo largo de la pieza principal. El grosor de las costillas, junto con el grosor de los ejes, se va reduciendo progresivamente a medida que la vaina fibrosa se aproxima a la pieza terminal.

El *annulus* o anillo de Jensen es una estructura electrodensa dispuesta por debajo de la membrana plasmática, y en el límite entre la pieza intermedia y la pieza principal. El *annulus* está en contacto con la última mitocondria de la vaina mitocondrial y a unos 15 nm de las primeras costillas de la vaina fibrosa. La membrana plasmática se adhiere estrechamente al *annulus*, una estructura anular que separa la vaina mitocondrial de la vaina fibrosa y que impide el paso de las mitocondrias de la vaina mitocondrial a la pieza principal. Esta estructura presenta un grosor de unos 130 nm y un diámetro de 160 nm.

2.2.5. LA PIEZA TERMINAL

La pieza terminal es el último y más corto segmento de la cola del espermatozoide. En esta pieza no hay ninguna estructura citoesquelética. La pieza terminal está formada, únicamente, por el axonema envuelto por la membrana plasmática. La membrana plasmática, que en otras piezas de la cola describe un contorno circular más o menos liso, en esta pieza toma un aspecto festoneado. El axonema se desorganiza progresivamente a medida que se aleja de la pieza principal. Finalmente, la desorganización microtubular hará imposible distinguir la estructura axonemática 9+2, y el microtúbulo B de cada doblete periférico será el elemento que desaparece en primer lugar.

FIGURA 2. Representación esquemática de secciones transversales a nivel de la cabeza y de la cola del espermatozoide de *Sus domesticus* en que se indican los principales componentes.

A. Cabeza: región acrosómica

MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo; P, plasmalema; VA, vesícula acrosómica o acrosoma

B. Cabeza: región postacrosómica

LD, lámina densa postacrosómica; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo; P, plasmalema

C. Cola: pieza intermedia o región mitocondrial

A, axonema; BM, vaina mitocondrial; FD, fibras densas; P, plasmalema

D. Cola: región proximal de la pieza principal

A, axonema; BF, vaina fibrosa; FD, fibras densas; P, plasmalema

E. Cola: región medial de la pieza principal

A, axonema; CF, ejes o columnas de la vaina fibrosa; EF, costillas de la vaina fibrosa; FD, fibras densas; P, plasmalema

F. Cola: región distal de la pieza principal

A, axonema; BF, vaina fibrosa; P, plasmalema

G. Cola: pieza terminal

P, plasmalema; A, axonema

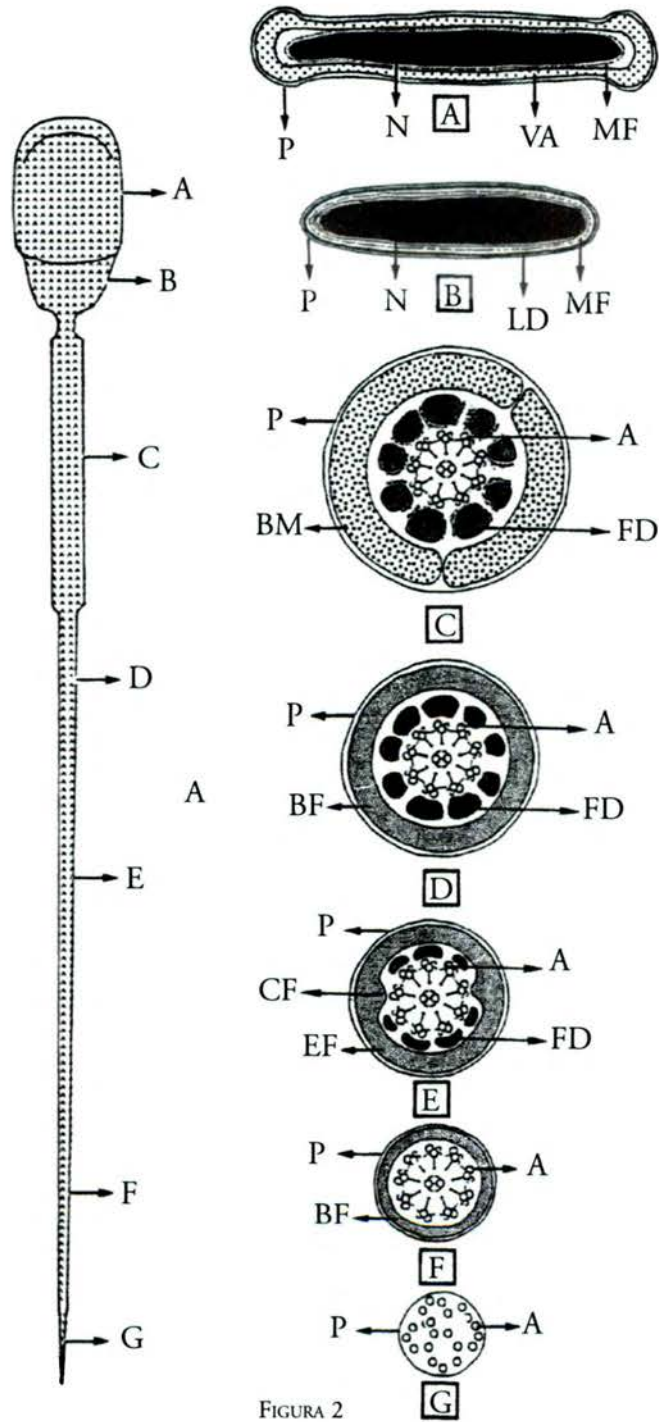


FIGURA 2

3. LOS ESPERMATOZOIDES INMADUROS

En un eyaculado normal de *Sus domesticus* se puede encontrar un porcentaje de entre el 5 % y el 15 % de espermatozoides inmaduros.

El espermatozoide inmaduro presenta, respecto al maduro, tres características diferenciales: la presencia de la gota citoplasmática, el mayor desarrollo de la protuberancia acrosómica apical y la mayor flexibilidad de la cabeza.

La gota citoplasmática, que engloba una pequeña parte de la pieza intermedia, está formada por los restos de citoplasma residual eliminado en las últimas etapas del proceso espermiogénico. La gota tiene un diámetro aproximado de 1,5 μm y, generalmente, contiene un citoplasma poco electrodensito y rico en vesículas.

La pieza intermedia puede quedar emplazada en el centro de la gota citoplasmática o bien quedar situada muy desplazada respecto del centro de la gota citoplasmática.

El número y desarrollo de las vesículas aumentan a medida que la gota citoplasmática ocupa posiciones más distales de la pieza intermedia. Se pueden observar dos modalidades vesiculares: la vesículas limitadas por doble membrana y las vesículas limitadas por una única membrana. Las vesículas de doble membrana presentan una matriz clara y un diámetro constante de aproximadamente 0,2 μm ; provienen de cisternas de retículo endoplasmático liso que se cierran sobre sí mismas y engloban material hialoplasmático. Las vesículas de una única membrana, originadas por dilataciones del retículo endoplasmático, también contienen una matriz de escasa electrodensidad. Estas últimas vesículas se fusionan las unas con las otras y dan lugar a vesículas mucho más grandes, de manera que su diámetro es muy variable y oscila entre 0,1 μm y 0,9 μm .

La gota citoplasmática se puede encontrar a nivel de la pieza de conexión o en cualquier nivel de la pieza intermedia. La gota aparece en la pieza de conexión y, desplazándose a lo largo de toda la longitud de la pieza intermedia, abandona el espermatozoide justo en el límite entre las piezas intermedia y principal. Hay dos posiciones extremas de la gota citoplasmática: la proximal, cuando ocupa la pieza de conexión, y la distal, cuando ocupa la zona del *annulus* o anillo de Jensen. Así pues, teniendo en cuenta este criterio se pueden distinguir, básicamente, dos tipos de espermatozoides inmaduros: los espermatozoides con gota citoplasmática proximal y los espermatozoides con gota citoplasmática distal.

Los espermatozoides inmaduros con gota citoplasmática proximal se originan en el testículo y, a lo largo de su trayecto por el epidídimo, la gota citoplasmática se desplaza hasta el anillo de Jensen. Una vez que los espermatozoides con gota citoplasmática distal llegan al caudal epididimario pierden la gota citoplasmática y toman el aspecto de un espermatozoide maduro. Así pues, la mayor o menor presencia en el eyaculado de las diversas tipologías de espermatozoides inmaduros nos permite conocer el grado en que se ha satisfecho la maduración epididimaria del esperma.

En los espermatozoides inmaduros, la protuberancia acrosómica apical presenta un mayor desarrollo que en los espermatozoides maduros. En el espermatozoide maduro la anchura y la longitud externas de la protuberancia apical son de 400 nm y 1,2 μm , respectivamente; y en el espermatozoide inmaduro la anchura y la longitud externas de esta protuberancia aumentan hasta los 600 nm y 4,5 μm , respectivamente.

La cabeza de los espermatozoides inmaduros presenta una mayor flexibilidad que la de los espermatozoides maduros. En la cabeza de los espermatozoides inmaduros es frecuente observar doblamientos y deformaciones de diversos tipos. Los doblamientos cefálicos, más o menos intensos, se producen, generalmente, a través de un plano transversal y, más raramente, a través de un plano longitudinal frontal. La malformación cefálica más habitual es la desviación lateral de la región acrosómica de la cabeza respecto al eje longitudinal de la célula.

El espermatozoide inmaduro suele ser más frágil que el espermatozoide maduro, de manera que se pueden observar fracturas cefálicas (transversales o longitudinales) y de la cola.

En cuanto a las gotas citoplasmáticas se pueden observar formas anómalas (p. ej.: gotas citoplasmáticas muy voluminosas), posiciones ectópicas (p. ej.: gotas al final de la pieza principal) y anomalías numéricas (p. ej.: dos gotas, una proximal y otra distal).

4. LOS ESPERMATOZOIDES ABERRANTES

4.1. MORFOLOGÍA EXTERNA Y CLASIFICACIÓN

En un eyaculado normal de *Sus domesticus* se puede encontrar entre el 1 % y el 5 % de espermatozoides aberrantes.

Pese a que las malformaciones de los espermatozoides se clasifican en atención a una estructura espermática aberrante, a menudo en un espermatozoide se pueden encontrar diversas estructuras anómalas. Así la macrocefalia o microcefalia, la presencia de cabezas o colas supernumerarias, la mayor o menor longitud de las colas, las diversas malformaciones en la forma de la cabeza, el doblamiento o enrollamiento de la cola, etc. pueden ser malformaciones apareadas en un mismo espermatozoide aberrante. Teóricamente podríamos encontrar tantas tipologías de espermatozoides aberrantes como el resultado de combinar de dos en dos las diversas malformaciones posibles. De hecho, en el Atlas a menudo podran observarse espermatozoides aberrantes que además de la malformación destacada presentan otra malformación (p. ej.: espermatozoide aberrante con la cabeza en forma de llama y la cola enrollada). Con el objeto de establecer una metodología en la descripción de las diversas malformaciones se ha establecido un criterio de clasificación de las malformaciones cefálicas (de forma, de tamaño y de número) y de la cola (de forma o trayectoria, de tamaño y de número) que, en muchos casos, se pueden presentar conjuntamente.

De acuerdo con la morfología externa de los espermatozoides, las malformaciones observadas pueden ser agrupadas en los siguientes tipos:

<i>Tipos de malformaciones</i>	<i>Tanto por mil * de espermatozoides aberrantes con esta malformación</i>	<i>Modalidad</i>	<i>Tanto por mil * de espermatozoides aberrantes con esta malformación</i>
Cefálicas o de la cabeza	15	De forma	10
		De tamaño	3
		De número	2
De la cola	35	De forma o trayectoria	25
		De tamaño	5
		De número	5
Total	50		

* Cuando un espermatozoide presenta más de una anomalía, y a efectos del cálculo de los porcentajes, se da prioridad a la malformación que aparece más arriba del cuadro.

Las diversas malformaciones presentes en el eyaculado pueden ser también clasificadas, en función del lugar donde se han originado, en primarias y secundarias. Las malformaciones primarias son aquellas desarrolladas en el testículo a lo largo de la espermatogénesis o la espermiogénesis, y las malformaciones secundarias son aquellas desarrolladas en el epidídimo a lo largo del proceso de maduración espermática.

En general, las malformaciones cefálicas suelen tener un origen primario, aunque las de número pueden presentar también un origen secundario (p. ej.: aglutinación espermática). Las malformaciones de tamaño y de número de la cola presentan un origen primario y las malformaciones de trayectoria de la cola presentan un origen secundario.

4.1.1. MALFORMACIONES QUE AFECTAN A LA FORMA DE LA CABEZA

Con el microscopio óptico se pueden observar espermatozoides con formas cefálicas anómalas como cabeza alargada, cabeza en forma de llama, cabeza oval y cabeza redondeada. La mayor resolución del microscopio electrónico de barrido permite, si se compara con la microscopía óptica convencional, precisar más detalles en relación a las malformaciones cefálicas que afectan a la forma de la cabeza.

Los espermatozoides con la cabeza alargada pueden ser de dos tipos: con la cabeza cilíndrica y con la cabeza llana. Los de la cabeza alargada y cilíndrica se caracterizan por una cola de implantación abaxial y una longitud de la cabeza de unos 8 μm y un diámetro de unos 2,7 μm . Los espermatozoides de cabeza alargada y llana se caracterizan por una implantación correcta de la cola y por una longitud de la cabeza de unos 9-10 μm y un diámetro de unos 3,5-4,1 μm .

Los espermatozoides con la cabeza en forma de llama pueden clasificarse, también, en dos tipologías, con la cabeza en forma de llama corta y con la cabeza en forma de llama más larga. En esta última tipología, la parte cefálica más apical suele caracterizarse por la presencia de una protuberancia acrosómica en forma de cráter.

Los espermatozoides con la cabeza oval presentan, generalmente, una excrecencia acrosómica apical de desarrollo variable. Así mismo, se pueden distinguir espermatozoides con la cabeza en forma de pera caracterizados por el escaso desarrollo de la región cefálica acrosómica y el elevado desarrollo de la región postacrosómica.

Dentro de los espermatozoides con la cabeza redondeada pueden distinguirse diversas modalidades, desde cabezas globulares a cabezas llanas con diversas formas redondeadas.

4.1.2. MALFORMACIONES QUE AFECTAN AL TAMAÑO DE LA CABEZA

Distinguimos dos modalidades de espermatozoides atendiendo al tamaño de la cabeza: los espermatozoides macrocefálicos y los espermatozoides microcefálicos.

Dentro de los espermatozoides macrocefálicos, o con la cabeza gigante, distinguimos dos tipologías: los espermatozoides con una longitud de cabeza normal (7 μm) y una gran anchura (4,7 μm), y los espermatozoides con una cabeza más larga (7,7 μm) y más ancha (5,5 μm). En esta última tipología los espermatozoides suelen presentar dos colas.

Dentro de los espermatozoides microcefálicos, o con la cabeza pequeña, distinguimos dos tipologías: los espermatozoides con la cabeza de una anchura normal y una longitud reducida (5,2 μm), y los espermatozoides con una cabeza más corta (4,5 μm) y más estrecha (2,4 μm).

4.1.3. MALFORMACIONES QUE AFECTAN AL NÚMERO DE CABEZAS

Los espermatozoides con más de una cabeza suelen presentar tantas colas fusionadas como cabezas y, éstas, suelen presentar diversos grados de enrollamiento. Dentro de los espermatozoides con más de una cabeza distinguimos los espermatozoides con dos cabezas y los espermatozoides con tres cabezas.

Los espermatozoides tricefálicos suelen caracterizarse por presentar una cola enrollada y tres cabezas coplanarias dispuestas entre ellas formando un ángulo no superior a los 30°.

Los espermatozoides bicefálicos suelen caracterizarse por presentar la cola total o parcialmente enrollada y dos cabezas que se disponen coplanarias o en planos cruzados. Cuando las dos cabezas son coplanarias, entre ellas se puede formar un ángulo que va desde los 0° (cabezas superpuestas) hasta los 180° (cabezas opuestas). En este último caso, las cabezas se tocan por sus bases, o bien están separadas por el enrollamiento de la cola. Cuando las dos cabezas se disponen en planos cruzados, éstas son ortogonales. En general, las dos cabezas suelen ser llanas y se implantan en el extremo de la pieza de conexión. En algunos espermatozoides bicefálicos, sin embargo, se puede observar una cabeza llana y la otra globular, y en otros una cabeza implantada en el extremo de la pieza de conexión y la otra implantada sobre el eje longitudinal de esta pieza.

La aglutinación cabeza-cabeza o cola-cola de los espermatozoides es uno de los posibles orígenes de los espermatozoides con más de una cabeza.

4.1.4. MALFORMACIONES QUE AFECTAN A LA TRAYECTORIA DE LA COLA

Atendiendo a la malformación que afecta a la trayectoria de la cola se pueden distinguir dos tipos de espermatozoides: los espermatozoides con la cola doblada y los espermatozoides con la cola enrollada.

Entre los espermatozoides con la cola doblada distinguimos si el doblamiento tiene lugar en el anillo de Jensen o en la pieza intermedia. Entendemos por doblamiento verdadero de la cola cuando ésta se dobla totalmente de manera que las dos partes de la cola doblada son antiparalelas. El doblamiento más habitual se da en espermatozoides inmaduros con gota citoplasmática distal a nivel del anillo de Jensen. La cola se dobla de forma que la pieza principal toma contacto y se fusiona, en primer lugar, con la pieza intermedia y, en segundo lugar, con la cara llana de la cabeza; finalmente, la cola se enrolla y se fusiona, progresivamente, con la cabeza. Se puede observar un doblamiento menos habitual que afecta a la pieza intermedia; se trata de espermatozoides inmaduros que doblan su cola afectando, generalmente, a toda la pieza intermedia. Por el grosor de la pieza intermedia y el diámetro de la gota citoplasmática, este doblamiento suele ser muy aparente y, en algunos casos, con el microscopio óptico se podría llegar a confundir, por su tamaño y forma, con una cabeza de espermatozoide.

Los espermatozoides con la cola enrollada se caracterizan por presentar la cola total o parcialmente enrollada. La modalidad más característica es la de aquellos espermatozoides en que la cola da vueltas en torno a la primera mitad de la pieza intermedia. Dentro de esta modalidad distinguimos diversas tipologías en atención a la disposición que toma el enrollamiento respecto a la cabeza y al tamaño y forma de este enrollamiento. El tamaño del enrollamiento puede ir desde aproximadamente la mitad del tamaño de la cabeza hasta un tamaño equivalente al cefálico. Esta variabilidad en el tamaño del enrollamiento depende de la intensidad del enrollamiento y de la longitud de la cola enrollada (si falta alguna pieza de la cola o si alguna de ellas es más corta, el tamaño del enrollamiento será menor). Además, los ejes mayores del enrollamiento y de la cabeza pueden disponerse formando un ángulo de 180°, 90° ó 45°. El enrollamiento de la cola puede tomar una forma circular, esférica, ovoidal o elíptica. Una segunda modalidad de enrollamiento de la cola es aquella en que la cola da vueltas en torno a la totalidad de la pieza intermedia. En este caso, el enrollamiento de la cola toma una forma elíptica muy acusada. El eje mayor del enrollamiento y el eje mayor de la cabeza se pueden disponer formando

un ángulo de 180°, 90° ó 45°. Finalmente, se pueden observar formas de enrollamiento de la cola más inusuales, como por ejemplo: enrollamientos que afectan únicamente a las piezas principal y terminal, enrollamientos que afectan sólo a la pieza terminal, enrollamientos que afectan a la pieza terminal y parcialmente a la pieza principal, falsos enrollamientos, etc.

4.1.5. MALFORMACIONES QUE AFECTAN AL TAMAÑO DE LA COLA

Dentro de este tipo de malformaciones distinguimos dos modalidades: espermatozoides con la cola larga y con la cola corta.

Cuando la cola del espermatozoide presenta una longitud superior a la normal se debe normalmente a que la pieza principal presenta una mayor longitud.

Cuando la cola del espermatozoide presenta una longitud inferior a la normal la causa suele ser la ausencia de alguna pieza o el menor desarrollo de alguna de ellas. A menudo la pieza afectada suele ser la pieza principal, sea por ausencia o por menor desarrollo.

4.1.6. MALFORMACIONES QUE AFECTAN AL NÚMERO DE COLAS

Dentro de este tipo de malformaciones distinguimos dos modalidades: espermatozoides sin cola y espermatozoides con dos colas.

La primera de estas tipologías se caracteriza por la presencia en el eyaculado de cabezas aisladas. Es necesario hacer notar que a menudo la mayor parte de las cabezas aisladas encontradas corresponden a fracturas artefactuales de la cabeza y de la cola. Por este motivo, el recuento real de esta malformación se hace a partir del número de cabezas aisladas menos el número de colas aisladas. Estas formas artefactuales son más frecuentes en los bordes de las extensiones de semen.

Los espermatozoides con dos colas pueden clasificarse atendiendo a si las dos colas presentan o no la misma longitud, y si están o no fusionadas.

4.2. MORFOLOGÍA INTERNA Y CLASIFICACIÓN

Los espermatozoides aberrantes, atendiendo al tipo de malformaciones estructurales observadas, pueden ser clasificados en: 1) espermatozoides con la cola doblada por el anillo de Jensen; 2) espermatozoides con la cola enrollada; 3) espermatozoides con dos colas; 4) espermatozoides con anomalías cefálicas; y 5) espermatozoides con anomalías en la cola.

4.2.1. ESPERMATOZOIDES CON LA COLA DOBLADA POR EL ANILLO DE JENSEN

Los espermatozoides con la cola doblada por el anillo de Jensen cimientan el doblamiento con la gota citoplasmática distal. Más allá del dominio de la gota citoplasmática, la pieza principal y la pieza intermedia discurren antiparalelas. Las vainas fibrosa y mitocondrial de ambas piezas se tocan y, en la zona más proximal de la pieza intermedia, la vaina fibrosa provoca una ligera deformación de la vaina mitocondrial. La pieza prin-

cial recorre la pieza intermedia y marca una trayectoria helicoidal que se pone de manifiesto observando la evolución que sigue la relación de dobletes enfrentados entre las piezas intermedia y principal. A lo largo de la región cefálica postacrosómica, la pieza principal se dispone entre el plasmalema y la lámina densa postacrosómica; y, en la región cefálica acrosómica, la pieza principal se dispone entre el plasmalema y la vesícula acrosómica.

4.2.2. ESPERMATOZOIDES CON LA COLA ENROLLADA

Los espermatozoides con la cola enrollada presentan el eje axonemático describiendo diversas circunvoluciones en el interior de una masa citoplasmática rica en elementos vesiculares de doble membrana y en restos de retículo endoplasmático liso. La morfología de este citoplasma es muy parecida a la que presenta la gota citoplasmática de un espermatozoide inmaduro. El eje axonemático se dispone en la periferia de la masa citoplasmática. Se pueden observar figuras celulares degeneradas caracterizadas por la plasmólisis citoplasmática y por la ausencia de algunas estructuras microtubulares de los ejes axonemáticos.

4.2.3. ESPERMATOZOIDES CON DOS COLAS

Se trata de espermatozoides con dos ejes axonemáticos completos. A lo largo de todo el trayecto, los dos ejes axonemáticos corren paralelos. Dependiendo de la zona examinada, se puede encontrar que los ejes axonemáticos: *a)* están muy separados el uno del otro por una masa citoplasmática muy desarrollada; o *b)* se encuentran en contacto por las respectivas vainas mitocondriales o vainas fibrosas. El citoplasma residual, muy abundante desde la pieza de conexión hasta la zona medial de la pieza intermedia, se reduce considerablemente a medida que nos acercamos a la zona distal de la pieza intermedia.

4.2.4. ESPERMATOZOIDES CON MALFORMACIONES CEFÁLICAS

Dentro de esta modalidad de espermatozoides se pueden encontrar malformaciones que afectan a los diversos segmentos del acrosoma, malformaciones presentes en la región cefálica postacrosómica y malformaciones nucleares.

El segmento apical del acrosoma puede presentar diversas malformaciones: elevado o escaso desarrollo, formas y distribuciones anómalas, vesiculización interna y matriz acrosómica heterogénea. El segmento principal del acrosoma puede presentar las malformaciones siguientes: dilatación de la vesícula acrosómica, escasa electrodensidad de la matriz y vesiculización. En el segmento ecuatorial del acrosoma se pueden observar también diversas malformaciones: elevado desarrollo del espacio subacrosómico, y dilatación y festoneado de los extremos laterales de la vesícula acrosómica.

En la región postacrosómica se puede encontrar mayor o menor desarrollo de fibras de mielina entre la lámina densa postacrosómica y el material fibroso perinuclear.

Las malformaciones nucleares más características suelen ser las invaginaciones de la membrana nuclear y las vacuolas nucleares. Aun así, se pueden observar otras malformaciones nucleares (núcleos doblados por un eje longitudinal o por un eje transversal) seguidas de malformaciones acrosómicas (generalmente, vesiculización o plasmólisis).

4.2.5. ESPERMATOZOIDES CON MALFORMACIONES EN LA COLA

Dentro de esta categoría de malformaciones se pueden distinguir aquellas que afectan a la estructura axonemática, a la vaina mitocondrial y al citoplasma perimitocondrial.

Se observan cinco modalidades de anomalías axonemáticas por ausencia de elementos microtubulares: ausencia de los dobletes periféricos (6, 8, 9, y 5 y 6) y ausencia de la pareja de microtúbulos centrales. Además, también se puede observar la desorganización general y la deformación de la estructura axonemática por la presencia de vesículas, más o menos desarrolladas, dispuestas entre la vaina fibrosa y el axonema.

Las dos principales anomalías de la vaina mitocondrial son la tumefacción mitocondrial y la disposición irregular de las mitocondrias de la vaina. La tumefacción mitocondrial afecta, generalmente, a las primeras mitocondrias de la vaina mitocondrial. Se trata de mitocondrias de un diámetro hasta cinco veces superior al diámetro de las mitocondrias normales de la vaina. Estas mitocondrias se caracterizan por presentar una matriz muy clara y ausencia de crestas mitocondriales. La membrana mitocondrial interna no emite crestas y corre paralela a la membrana mitocondrial externa. Otra modificación de la vaina mitocondrial consiste en la distribución anómala de las mitocondrias de la vaina. En estos casos, además de las mitocondrias de la vaina, distribuidas regularmente de forma helicoidal, aparecen mitocondrias supernumerarias añadidas externamente a la vaina que determinan una ligera deformación del perímetro circular de la pieza intermedia. La vaina mitocondrial, a veces, puede presentar un grosor reducido y un contorno festoneado.

En cuanto al citoplasma perimitocondrial destacan diversas malformaciones. Se puede encontrar vesiculización periférica en la pieza de conexión y a cualquier altura de las dos primeras piezas de la cola del espermatozoide. Las vesículas se disponen en la periferia y alteran el perímetro circular de la cola. El desarrollo de la vesícula es mayor a medida que se va desplazando desde la pieza de conexión a la pieza principal. En la pieza de conexión, la vesícula (de unos 0,30 μm de diámetro) se dispone entre los cuerpos laminares y el plasmalema. En la pieza intermedia, la vesícula (de unos 0,35 μm de diámetro) se dispone entre la vaina mitocondrial y el plasmalema, y provoca una profunda deformación de las mitocondrias de la vaina. En la pieza principal, la vesícula (de unos 0,40 μm de diámetro) se dispone entre la vaina fibrosa y el plasmalema y no provoca deformaciones importantes en las costillas de la vaina fibrosa. A nivel de la región proximal de la pieza principal se produce la pérdida de la vesícula por constricción en la base y posterior fusión del plasmalema. El origen de estas vesículas se puede encontrar en las grandes vesículas presentes en la gota citoplasmática de los espermatozoides inmaduros o en las expansiones citoplasmáticas presentes en las piezas de conexión o intermedia de algunos espermatozoides. El citoplasma residual aparece en la pieza de conexión y en la pieza intermedia de dos formas: *a*) como expansiones citoplasmáticas; y *b*) como películas citoplasmáticas perimitocondriales. Las expansiones citoplasmáticas se disponen en la base de la cabeza, justo en el límite entre la pieza de conexión y la región cefálica postacrosómica. Se trata de evaginaciones citoplasmáticas digitiformes de 1 μm de longitud por 0,1 μm de diámetro ocupadas por un citoplasma homogéneo ligeramente electrodens. Estas evaginaciones pueden curvarse hasta fusionarse por su extremo libre con la membrana plasmática de la pieza de conexión. Se pueden encontrar, también, evaginaciones citoplasmáticas fungiformes o digitiformes a nivel de la región más distal de la pieza intermedia. En estos casos, la expansión citoplasmática nace a partir de una película citoplasmática perimitocondrial muy desarrollada.

5. OTRAS CÉLULAS

5.1. LAS CÉLULAS SOMÁTICAS

Las células somáticas presentes en el eyaculado de los machos porcinos son esféricas y de unos 12 μm de diámetro. Estas células son poco frecuentes y, en algunas ocasiones, pueden ser observadas englobando la región cefálica de espermatozoides inmaduros, preferentemente con gota citoplasmática distal.

Las características ultraestructurales de estas células son las propias de las células macrofágicas. Son células mononucleadas pero con un núcleo profundamente lobulado. El núcleo contiene cromatina finamente granular y unas masas heterocromáticas escasas, dispersas por el nucleoplasma o asociadas a la membrana nuclear. El nucléolo es muy prominente y muestra claramente diferenciadas la parte fibrilar y granular. Esta morfología nuclear es propia de células con una actividad nuclear muy elevada. El citoplasma es muy abundante y rico en vesículas lisosómicas y fagocíticas.

Estas células degeneran rápidamente en el eyaculado y, como consecuencia, se pueden observar células somáticas caracterizadas por el aspecto picnótico del núcleo y el aspecto plasmolisado del citoplasma.

5.2. LAS CÉLULAS PROCARIOTAS

Las células procariotas son poco abundantes en el eyaculado normal de los machos porcinos. Las células procariotas presentes en el eyaculado son, normalmente, bacterias Gram negativas y de forma bacilar. El área nuclear destaca del resto del citoplasma por su baja electrodensidad. La cubierta bacteriana está constituida por polisacáridos.

MORPHOLOGY OF BOAR SPERMATOZOA

CONTENTS

PREFACE	71
INTRODUCTION	73
1. METHODOLOGY	75
1.1. Procedure to obtain semen smears stained by the Papanicolaou method for bright-field light microscopy examination	75
1.2. Procedure to obtain semen smears stained by the quick panoptic method for bright-field light microscopy examination	77
1.3. Procedure to obtain sperm samples for positive or negative phase-contrast light microscopy and Nomarski or differential interference contrast (DIC) light microscopy examination	77
1.4. Procedure to obtain sperm samples for scanning electron microscopy examination	78
1.5. Procedure to obtain sperm samples for transmission electron microscopy examination	79
2. THE MATURE SPERMATOZOON	81
2.1. Structure and external morphology	81
2.2. Ultrastructure	81
2.2.1. Head	81
2.2.2. Connecting piece	82
2.2.3. Midpiece	83
2.2.4. Principal piece	84
2.2.5. Terminal piece	86
3. THE IMMATURE SPERMATOOA	89
4. THE ABERRANT SPERMATOOA	91
4.1. External morphology and classification	91
4.1.1. Malformations affecting cephalic shape	92
4.1.2. Malformations affecting cephalic size	92
4.1.3. Malformations affecting cephalic number	92

4.1.4. Malformations affecting the tail trajectory	93
4.1.5. Malformations affecting the tail size	93
4.1.6. Malformations affecting the tail number	94
4.2. Internal morphology and classification	94
4.2.1. Spermatozoa with tail folded at the Jensen's ring	94
4.2.2. Spermatozoa with coiled tail	94
4.2.3. Spermatozoa with two tails	95
4.2.4. Spermatozoa with cephalic malformations	95
4.2.5. Spermatozoa with tail malformations	95
5. OTHER CELLS	97
5.1. The somatic cells	97
5.2. The procaryotic cells	97
7. PLATES	99
8. BIBLIOGRAPHY	237

PREFACE

It is a pleasure for me to write a brief presentation about the book you have in your hands. *Morphology of Boar Spermatozoa* is the result of very careful research done over a tenth years under the direction of Dr Sergi Bonet in the Science Faculty at the University of Girona.

Sergi Bonet is a professor of Cell Biology at the University of Girona, coordinator member of the Reproductive Biology Section of the Catalan Biology Society, as well as a member of the Reproductive Biology Network created in (1994) by CIRIT (Department of Health and Social Security).

The board of the 1998 August Pi i Sunyer Award made up of the Drs Josep Egozcue i Cuixart, Jesús A. García Sevilla and Jordi Sans i Sabrafen recommended the publication of one of the works presented to the Section of Biological Sciences. It was approved by the Section in July 1998, and the supervisors of the work asked the authors to reorganise it into this Atlas.

Two doctoral theses and a good number of research papers published in prestigious international magazines have sprung from the research on male boar gametes, some of which you will find in the bibliography in this book.

Those of us whom use different kinds of bright-field light and electronic microscopes (transmission and scanning) as a research tool give great importance to the methodology employed in the preparation of the biological samples in order to carry out our research.

This means that there is a qualitatively magnified evaluation for a non-expert in this area of study when facing a graphic, microphotographic, or electromicrographic document. Indeed, obtaining a "perfect" image depends on so many factors that it is necessary to examine many documents, both from the viewpoint of resolution and information -and even aesthetics- in order to choose a few valid ones to publish.

I would like to take this opportunity to point out the iconographical quality of this work, while indicating to the non-expert in cell ultrastructure that the extra-fine cross-sections in this work represent different directional cuts and allow for quantifying the morphological anomalies of the different cellular compartments of the highly specialised cell that is the spermatozoon. And that is what enables one to gauge the degree of morphological alterations that determine functional anomalies in the gamete.

There are few atlases of this kind, combining observations with the bright-field light microscope, the transmission and scanning electron microscope. Recently one was published by Andolz and Bielsa (1995) on human semen, but I do not know of any one on the semen of interest to animal breeders. Years ago, an atlas was published in which I collaborated; it was entirely devoted to the cytology and histology of the reproductive apparatus of amphibians and reptiles from the Basque Country (Arrayago and Bea, 1986). However, that study was done by using only bright-field light microscopy.

Morphology of Boar Spermatozoa is undoubtedly a work that will be of interest to scholars of this subject, as well as to students in Faculties of Biology, Medicine and Veterinary Medicine who choose reproductive biology as an optional subject.

So as not to lose any likely readers, and given the range of people that might be interested in this work, it was decided to publish the book in three languages.

I hope that this initiative will be well received by the scientific community.

Mercè DURFORT i COLL
Professor of Cell Biology at the University of Barcelona
Member of the Section on Biological Sciences

INTRODUCTION

Sperm morphology is one of the parameters evaluated in routine seminal analysis of boar ejaculates. In fact, a complete seminal analysis includes a wide range of tests, and their values indicate the sperm quality of the ejaculate (volume, colour, odour, viscosity, sperm motility, sperm concentration, sperm vitality, sperm morphology, osmotic resistance, pH, respiratory activity, glycolysis index, acrosin determination, ATP determination, sperm penetration test, etc.).

An ejaculate's sperm quality, established from the results of the different tests, indicates whether or not the collected semen unites the minimum characteristics required to be used with enough guarantees in order to obtain a high fertility and prolificity.

For the artificial insemination centers and for most of the selection and multiplication lifestocks (in which artificial insemination is an increasingly practice due to the greater advantages as compared with natural mating), the proper evaluation of all the parameters of the seminal analysis is basic. From all of these suitable parameters a careful analysis of the sperm morphology may indicate, in some cases, the likely cause of the sperm quality and fertility decrease.

This book deals with the different techniques that can be used for the microscopical analysis of sperm morphology, as well as the extremely wide variety of morphological forms of spermatozoa (grouped by typologies) occurring in the sperm fraction of the boar ejaculate. It neither tries to be a substitute nor an alternative for any of the excellent practical texts commercially available regarding seminal analysis and artificial insemination techniques. This book is an atlas and a manual devoted to the study of sperm morphology in boars and to the techniques required for its assessment which, means to go deeply into knowledge of normal sperm morphology and sperm malformations occurring in the ejaculate.

The opportunity to reach to a large number of professionals and researchers and to divulge the results obtained from extensive and in-depth research work, as is the publication of a book, is often difficult. Therefore, the authors would like to thank the Institut d'Estudis Catalans which offered us this chance when this work was entrusted to us. The authors also wish to thank the Institute for their sensitivity during the preparation of the book. Likewise, we are grateful to the Fundació Privada: Universitat i Futur for funding support for micrograph realization.

I would not like to let this excellent opportunity go by without sincerely thanking the following three persons for their support from the very beginning of my university activity: Dr Mercè Durfort (Professor of Cell Biology at the University of Barcelona), Dr Josep Egozcue (Professor of Cell Biology at the Autonomous

Universtiy of Barcelona), and Dr Josep Maria Nadal (Professor of Catalan Phylology at the University of Girona), all of whom have always been an inexhaustible source of ideas and helpful suggestions. To all three friends, thank you very much.

DR. SERGI BONET MARULL
Girona, 23rd November 1999

1. METHODOLOGY

The semen samples used for the morphologic study by light and electron microscopy came from the cell-rich fraction of the ejaculates of healthy and sexually mature boars. The ejaculates were obtained by mounting the males on a dummy and using the gloved-hand method (manual masturbation with a plastic glove-hand). The prespermatic and postspermatic fractions coming from the ejaculates were discarded, and the spermatic fraction (rich fraction related to spermatozoa number) was reserved. The spermatic fraction was previously strained with a thin gauze filter in order to eliminate all the gelatine masses coming from the Cowper's glands secretion.

The spermatic fraction must be diluted with MR-A diluent at a proportion of 1/10; this dilution keeps up to 3 days at 15 °C in special 80 ml flasks.

1.1. PROCEDURE TO OBTAIN SEMEN SMEARS STAINED BY THE PAPANICOLAOU METHOD FOR BRIGHT-FIELD LIGHT MICROSCOPY EXAMINATION

1. Make semen smears from the diluted spermatic fraction and allow them to air-dry thoroughly.
2. Fix semen smears in absolute ethanol ethylic ether (v/v) for 5 minutes.
3. Hydrate in 80 % ethanol; make 10 immersions of 1 second each.
4. Hydrate in 70 % ethanol; make 10 immersions of 1 second each.
5. Hydrate in 50 % ethanol; make 10 immersions of 1 second each.
6. Hydrate in distilled water; make 10 immersions of 1 second each.
7. Stain in Papanicolaou solution No. 1 (Harris' haematoxylin) for 3 minutes.
8. Wash in tap water for 3 minutes.
9. Differentiate in acid ethanol; make 2 immersions of 1 second each.
10. Stop differentiation by washing in tap water for 3 minutes.
11. Change haematoxylin colour ("bluing") with Scott's water for 4 minutes.
12. Wash in distilled water; make 1 immersion of 1 second each.
13. Dehydrate in 50 % ethanol; make 10 immersions of 1 second each.
14. Dehydrate in 70 % ethanol; make 10 immersions of 1 second each.
15. Dehydrate in 80 % ethanol; make 10 immersions of 1 second each.
16. Dehydrate in 90 % ethanol; make 10 immersions of 1 second each.
17. Stain in Papanicolaou solution No. 2 (Orange G6) for 2 minutes.

18. Differentiate in 95 % ethanol; make 10 immersions of 1 second each.
 19. Stain in Papanicolaou solution No. 3 (EA-50) for 5 minutes.
 20. Differentiate in 95 % ethanol; make 15 immersions of 1 second each.
 21. Dehydrate in absolute ethanol for 2 minutes.
 22. Rinse in xylene for 1 minute.
 23. Rinse again in xylene for 1 minute.
 24. Cover semen smears using a resinous medium (e.g., DPX, Entellan, Canada balsam, etc.) and mount with a 24 x 60 mm coverslip.
- Semen smears can be examined at a magnification of X1000-X1200.

REAGENTS

Papanicolaou staining kits, including solutions No. 1, No. 2 and No. 3, are available from several commercial suppliers (e.g., Merck).

- Acid ethanol

Absolute ethanol	300 ml
Concentrated hydrochloric acid (HCl)	2 ml
Distilled water	100 ml
- Scott's water

Sodium bicarbonate (NaHCO ₃)	3.5 g
Magnesium sulfate (MgSO ₄ · 7H ₂ O)	20.0 g
Distilled water	1,000 ml

RESULTS

This staining method allows the germinal cells to be distinguished from the different types of somatic cells present on semen smears.

Acrosomal region	pink
Postacrosomal region	dark blue
Tail	pink
Erythrocytes	orange-red
Acidic cells	pink
Basophilic cells	blue-green
Leukocytes	pale red

1.2. PROCEDURE TO OBTAIN SEMEN SMEARS STAINED BY THE QUICK PANOPTIC METHOD FOR BRIGHT-FIELD LIGHT MICROSCOPY EXAMINATION

1. Make semen smears from the diluted spermatic fraction and allow them to air-dry.
2. Immerse semen smears in No. 1 fixative solution (triarylmethane methylic solution); make 5 immersions of 2 seconds each. Allow excess solution to drain.
3. Immerse semen smears in No. 2 staining solution (xanthene basophilic solution, reddish); make 5 immersions of 2 seconds each. Allow excess stain to drain.
4. Immerse semen smears in No. 3 staining solution (thiazine acidic solution, bluish); make 5 immersions of 2 seconds each. Allow excess stain to drain.
5. Wash semen smears in deionized water and allow them to air-dry.
6. Cover semen smears using a resinous medium (e.g., DPX, Entellan, Canada balsam, etc.) and mount with a 24 x 60 mm coverslip.

Semen smears can be examined at a magnification of X1000-X1200.

REAGENTS

Quick panoptic staining kits are available from several commercial suppliers (e.g., Quick Panoptic-QCA, S.A., Diff-Quick®, Hemacolor-Merck).

RESULTS

This staining method allows the identification of the different regions of the spermatozoon.

Head (acrosome)	pale blue
Connecting piece	pink
Midpiece	violet
Principal piece	dark blue

1.3. PROCEDURE TO OBTAIN SPERM SAMPLES FOR POSITIVE OR NEGATIVE PHASE-CONTRAST LIGHT MICROSCOPY AND NOMARSKI OR DIFFERENTIAL INTERFERENCE CONTRAST (DIC) LIGHT MICROSCOPY EXAMINATION

1. Place 1 ml of the diluted spermatic fraction into a test tube.
2. Dip the test tube for 5 minutes into a vessel of water pre-heated to 55-60 °C, if immobilisation of the spermatozoa is desired.
3. Place a small drop of the diluted sperm on a microscope slide and mount with a 22 x 22 mm coverslip. Preparations can be examined from a magnification of X400 to X1200.

RESULTS

Phase-contrast light microscopy allows us to define the limit between the acrosomal and postacrosomal cephalic regions, as well as the limit of the connecting piece, midpiece, principal piece and terminal piece.

The Nomarski or differential interference contrast light microscopy (DIC) gives us images with a three dimensional-appearance, showing the flattened shape of the head, the apical acrosome protuberance and the cylindric form of the tail.

If the diluted sperm has not previously been immobilized (second step of the procedure, above), the direct observation of the semen samples by phase-contrast or DIC light microscopy will let us examine the sperm motility.

If a greater contrast between cellular structures is desired, sperm samples must previously be fixed in 2.5 % buffered glutaraldehyde and postfixed in 1 % osmium tetroxide in keeping with the following procedure:

1. Collect 1 ml of the spermatic fraction and place it into a test tube with 9 ml of Sörensen phosphate buffer (0.16 M; pH 7.2) for 10 minutes. Shake carefully.
2. Spin for 5 minutes in a centrifuge at 1,200 rpm and discard the supernatant.
3. Fix the pellet in 10 ml of 2.5 % glutaraldehyde in Sörensen phosphate buffer (0.16 M; pH 7.2) for 1 hour at 4°C. Shake carefully.
4. Spin for 5 minutes at 1,200 rpm and discard the supernatant.
5. Wash the pellet in 9 ml of Sörensen phosphate buffer (0.16 M; pH 7.2) for 10 minutes. Shake carefully.
6. Spin for 5 minutes at 1,200 rpm and discard the supernatant.
7. Postfix the pellet in 1 ml of 1 % osmium tetroxide in Sörensen phosphate buffer (0.16 M; pH 7.2) for 1 hour at 4 °C. Shake carefully.
8. Spin for 5 minutes at 1,200 rpm and discard the supernatant.
9. Wash the pellet in 9 ml of Sörensen phosphate buffer (0.16 M; pH 7.2) for 10 minutes. Shake carefully.
10. Spin for 5 minutes at 1,200 rpm. Discard the supernatant.
11. Add 9 ml of Sörensen phosphate buffer (0.16 M; pH 7.2) and shake carefully to resuspend the pellet.
12. Place a small drop of this suspension on a microscope slide and mount with a 22 x 22 mm coverslip. Preparations can be examined from a magnification of X400 to X1200.

1.4. PROCEDURE TO OBTAIN SPERM SAMPLES FOR SCANNING ELECTRON MICROSCOPY EXAMINATION

1. Place 1 ml of the diluted spermatic fraction into a test tube with 9 ml of Sörensen phosphate buffer (0.16 M; pH 7.2). Shake carefully for 10 minutes.
2. Spin for 10 minutes in a centrifuge at 1800 rpm and discard the supernatant.
3. Fix the pellet in 10 ml of Karnovsky's fixative for 1 hour at 4 °C. Shake carefully.
4. Spin for 10 minutes at 1,800 and discard the supernatant.
5. Wash the pellet in 10 ml of Sörensen phosphate buffer (0.16M; pH 7.2) for 10 minutes at 4 °C. Shake carefully.
6. Repeat steps No. 4 and No. 5 of this procedure.
7. Spin for 10 minutes at 1,800 rpm and discard the supernatant.
8. Postfix the pellet in 1 ml of 1 % osmium tetroxide for 15 minutes. Protect the test tube from light and shake carefully.
9. Repeat steps No. 4 and No. 5 of this procedure.
10. Spin for 10 minutes at 1800 rpm and discard the supernatant.
11. Add 10 ml of bidistilled water and shake carefully for 10 minutes.
12. Spin for 10 minutes at 1800 rpm and discard the supernatant.

13. Dehydrate the pellet in 5 ml 30 % ethanol for 10 minutes. Shake carefully.
14. Spin for 10 minutes at 1,800 rpm and discard the supernatant.
15. Repeat steps No. 13 and No. 14 with the following increasing alcoholic serie: 50 % ethanol, 70 % ethanol, 90 % ethanol, 96 % ethanol, and two changes of absolute ethanol.
16. Repeat steps No. 13 and No. 14 with the following embedment serie: absolute ethanol-isoamyl acetate (2/1), absolute ethanol-isoamyl acetate (1/1), absolute ethanol-isoamyl acetate (1/2), and two changes of isoamyl acetate.
17. Resuspend the sperm samples in 5 ml of isoamyl acetate and place three drops of this suspension on a polycarbonate filter (Nuclepore-Costar, 0.2 μm pore diameter) mounted on top of the base of a polyethylene capsule (8 μm diameter). The original base of the capsule has previously been removed.
18. Submit the samples to critical point drying.
19. Remove the filter from the base of the capsule and mount in an aluminium or copper support (stub).
20. Metallize the samples in a sputter coater with a 40-50 nm gold-paladium coat.

REAGENTS

- Sörensen phosphate buffer pH 7.2

Solution A. Sodium phosphate, dibasic	
($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	11.876 g
Distilled water	1,000 ml

Solution B. Potassium phosphate, monobasic	
(KH_2PO_4)	9.08 g
Distilled water	1,000 ml

Mix 72.6 ml of solution A and bring the volume to 100 ml with solution B.

- Karnovsky's fixative

Dissolve 1.2 g of paraformaldehyde in 20 ml of distilled water at 80 °C. Clear the solution with some drops of 1.0 N NaOH until it becomes completely transparent (2 or 3 drops are usually enough). Allow to cool and add 15 ml of Sörensen phosphate buffer (0.16 M; pH 7.2) and 5 ml of 25 % glutaraldehyde. Keep the mixture at 4 °C and use it before 24 hours are up.

- 1 % Osmium tetroxide

2 % Osmium tetroxide (OsO_4)	
(in distilled water)	4 ml
Sörensen phosphate buffer	
(0.16 M; pH 7.2)	4 ml

1.5. PROCEDURE TO OBTAIN SPERM SAMPLES FOR TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY EXAMINATION

1. Follow 1.4 procedure (preparation of sperm samples for scanning electron microscopy examination) from step No. 1 to step No. 15. Shake carefully the pellet only in step No. 1.

2. Resuspend the pellet in 1 ml of absolute ethanol and transfer the suspension to an eppendorf tube.
3. Spin for 10 minutes in a centrifuge at 1,800 rpm and discard the supernatant.
4. Embed the pellet in 1 ml of ethanol-Spurr resin (1/1) for 60 minutes.
5. Spin for 10 minutes at 1,800 rpm and discard the supernatant.
6. Embed the pellet in 1 ml of Spurr resin for 2 hours at 4°C.
7. Spin for 5 minutes at 1,800 rpm and discard the supernatant.
8. Embed the pellet in 1 ml of Spurr resin for 12 hours (overnight) at 4°C.
9. Spin for 5 minutes at 1,800 rpm and place the eppendorf tube at 60 °C for 8-12 hours (overnight).
10. Obtain thin sections, 70-80 nm thick, in an ultramicrotome and pick up them on copper grids (3 µm diameter). Allow to air-dry.
11. Counterstain the sections with uranyl-acetate for 7-8 minutes.
12. Wash in bidistilled water and allow to air-dry.
13. Counterstain again the sections with Reynolds' solution for 15 minutes in a poor oxygen atmosphere.
14. Wash in bidistilled water and allow to air-dry.

REAGENTS

- Spurr resin

Spurr resin is obtained from a mixture of four compounds that are available from several commercial suppliers.

The mixture must be homogeneous, thus it has to be prepared slowly (for about 1 hour) in order to avoid bubble formation. This mixture keeps for 1 week at 4 °C.

<i>Commercial suppliers</i>	<i>Bio-Rad</i>	<i>Taab</i>
Compounds	ERL: 23 g NSA: 62 g DER: 14 g DMAE: 1 g	ERL: 10 g NSA: 26 g DER: 6 g S 1: 0.4 g

- Uranyl acetate

Saturated solution of uranyl acetate in bidistilled water-acetone (1/1)

- Reynolds' solution

Lead nitrate

Pb(NO₃)₂ 1.33 g

Sodium citrate, dibasic

Na₃C₆H₅O₇ · 2H₂O 1.76 g

Boiled distilled water

30 ml

Shake for 30 minutes and add 8 ml of 1.0 N NaOH. Bring the volume to 50 ml with boiled distilled water. Keep in a lightproof container at 4 °C. This solution can be stored for 2-3 months at 4 °C.

2. THE MATURE SPERMATOZOON

2.1. STRUCTURE AND EXTERNAL MORPHOLOGY

The percentage of mature spermatozoa in a normal ejaculate of *Sus domesticus* is between 80 % and 95 %. The mature spermatozoon of *Sus domesticus* is a gamete of about 45 μm in length with three distinguishable regions: the head, the connecting piece or neck and the tail. The tail has three pieces: the midpiece or mitochondrial region, the principal piece and the terminal piece.

The head has a flattened and oval shape. Its dimensions are 7 μm in length, 3.7 μm at its widest point and 0.4 μm in thickness. The two faces of the head are not alike; whereas one of them is flat, the other shows a half moon-shaped apical protuberance, 0.4 μm in width, extending 1.2 μm along the edges of the head.

The connecting piece or neck, 0.7 μm in length per 0.5 μm in thickness, has conical shape with the wider base (1.3 μm) in contact with the head and the narrower base (0.6 μm) towards the midpiece. In the zone closer to the head a ring-shaped protuberance, 0.15 μm in diameter, can be observed.

The tail has a filamentous and cylindrical shape. The midpiece is 9 μm in length and 0.7 μm in diameter. The principal piece is 26.2 μm in length and 0.4 μm in diameter, and finally, the terminal piece is 2.2 μm in length and 0.2 μm in diameter.

2.2. ULTRASTRUCTURE

2.2.1. HEAD

The spermatozoon's head has the following structures: acrosome, postacrosomal dense lamina, subacrosomal space, perinuclear fibrous material and nucleus.

The acrosome is a vesicle forming a cap-like covering over the 80 % of the nucleus length. This part of the head containing the acrosome is called the acrosomal region. The acrosomal matrix consists of an amorphous material distributed homogeneously. Three acrosomal segments can be distinguished: apical segment, principal segment and equatorial segment. In this latest segment the electron density of the acrosomal matrix is slightly higher than that of the first two segments.

The acrosome apical segment is the most expanded zone of the acrosomal vesicle. Whilst the inner acrosomal membrane overlays the nuclear envelope, the outer acrosomal membrane lies directly beneath the plasmalemma. This vesicular expansion does not have the same development on the two faces of the head. On the non-flat face

of the head, the apical segment stretches down to $0.72\ \mu\text{m}$ in length per $270\ \text{nm}$ at its widest point; and in the flat face of the head, the apical segment reaches $0.50\ \mu\text{m}$ in length per $100\ \text{nm}$ at its widest point.

The principal segment is $2.5\ \mu\text{m}$ in length in the flat face of the head and $2.8\ \mu\text{m}$ in the other face; the thickness of this segment is about $80\ \text{nm}$.

The equatorial segment is $2.3\ \mu\text{m}$ in length, $40\ \text{nm}$ in thickness on the two faces of the head, and $80\ \text{nm}$ in thickness in the edges of the head.

The postacrosomal dense lamina lies parallel beneath the plasmalemma and overtakes 20 % of the nuclear length, coinciding with the region of the nucleus non covered by the acrosomal vesicle. This region of the head containing the postacrosomal dense lamina is called postacrosomal region. This lamina consists of an homogeneous layer of fibrous and electron dense material, having $1.4\ \mu\text{m}$ in length and $25\ \text{nm}$ in thickness. The plasmalemma encloses the acrosomal vesicle and overlays it firmly adhered to the postacrosomal dense lamina. The plasmalemma detaches very easily from the outer acrosomal membrane but it is firmly attached to the postacrosomal dense lamina.

The subacrosomal space (or perinuclear space) is the space separating the nucleus from the inner acrosomal membrane or the innermost face of the postacrosomal dense lamina. The subacrosomal space consists of a scant electron dense matrix and a perinuclear (or subacrosomal) fibrous material of greater electron density. This space is specially developed in the supranuclear region, i.e. beneath the acrosome apical segment. In this region, the subacrosomal space has a conical shape, with a base of $80\ \text{nm}$ in diameter and $120\ \text{nm}$ in length. Along the acrosome principal segment and on the two faces of the head, the subacrosomal space is reduced to $25\ \text{nm}$ in thickness. Along the acrosome equatorial segment and on the two faces of the head, the subacrosomal space increases up to $40\ \text{nm}$ in thickness and comes to its maximum development in the postacrosomal region ($70\ \text{nm}$). The subacrosomal space increases considerably in the borders of the head ($70\ \text{nm}$) corresponding to the acrosome principal and equatorial segments. On the borders of the head corresponding to the postacrosomal region, the subacrosomal space is practically nonexistent and the perinuclear fibrous material becomes connected with the postacrosomal dense lamina.

The perinuclear fibrous material (or subacrosomal fibrous material) forms an electron dense layer, coating the nucleus with a separation of $15\ \text{nm}$ between them. The maximum development of this layer is found in the postacrosomal cephalic region reaching about $15\ \text{nm}$ in thickness. In the acrosomal cephalic region this layer is thinner, poorly condensed and shows lesser electron density.

The nucleus consists of an extremely condensed and electron dense chromatin. Its dimensions are $6.6\ \mu\text{m}$ in length with a variable thickness in the two cephalic regions. In the acrosomal region, the nucleus is $220\ \text{nm}$ in thickness and in the postacrosomal region, it is approximately $320\ \text{nm}$.

2.2.2. CONNECTING PIECE

The spermatozoon's connecting piece or neck is the short linking segment between the base of the nucleus and the first mitochondrion of the midpiece. The outline of the plasmalemma along the connecting piece and the postacrosomal cephalic region shows a slight circular neckline just in the junction of these two regions of the gamete. The connecting piece has the following components: basal plate, laminar bodies, capitulum, segmented columns, basal body and axoneme.

The basal plate lies at the caudal surface of the nucleus, and extends along about $0.6\ \mu\text{m}$ ($30\ \text{nm}$ thick) adhered to the outer membrane of the nuclear envelope. The basal plate consists of an electron dense material very similar to that of the postacrosomal dense lamina.

The laminar bodies come from pronounced folds of redundant nuclear envelope enclosing chromatin-free nuclear space. These folds arise from the perimeter of the nuclear base and extend along 1.2 μm , terminating at the first mitochondria of the midpiece mitochondrial sheath. The laminar bodies have cylindrical disposition with walls of 150 nm in thickness.

The capitulum is a dome-shaped structure lying beneath the basal plate and separated from it by approximately 40 nm. The segmented columns arise from the capitulum ends and go down to the midpiece. While the laminar bodies of the connecting piece are attached to the mitochondrial sheath of the midpiece, the segmented columns of the connecting piece are attached to the outer dense fibres of the midpiece. The capitulum and the segmented columns are electron dense structures of about 130 nm in thickness.

The segmented columns individualise by the number of nine at the more distal end of the capitulum (0.3 μm of distance from it). Along the first 0.3 μm of distance, the segmented columns fuse between them, and therefore, it is more proper to refer to them as capitulum extensions than as columns. The individualised segmented columns are cylinder-shaped and range along 0.8 μm , down to the midpiece, enclosing the axoneme in a cylindrical space of 220 nm in diameter. The segmented columns present two types of cross-striations with alternate periodicity, one type more eminent and the other type less well defined. The distance between two consecutive eminent striations is 80 nm, and between an eminent striation and the consecutive less well-defined striation, there are 40 nm.

The basal body is located at the base of the convexity defined by the capitulum and the segmented columns, i.e., a space of 220 nm in diameter and 260 nm in height. The microtubular triplets of the basal body are arranged in small depressions of the capitulum. These depressions indicate the limits of the segmented columns drafts. The basal body is positioned at an angle of 45° to the longitudinal axis of the gamete.

The basal body marks the origin of the axoneme that, going across the space limited by the segmented columns, stretches to the full length of the spermatozoon's tail. The nine segmented columns lie between the laminar bodies and the respective nine evenly-spaced peripheral microtubule doublets of the axoneme.

2.2.3. MIDPIECE

The midpiece of the spermatozoon's tail stretches from the distal end of the connecting piece to the annulus or Jensen's ring: an electron dense ring marking the junction of the midpiece and the principal piece. The major distinguishing structures of the midpiece are: the axoneme, the mitochondrial sheath, the outer dense fibres and the peripheral granules.

The axoneme occupies the central axis of the midpiece, and has the classic 9+2 microtubular pattern, with the characteristic axoneme elements (dynein arms, nexin links, radial spokes, connecting bridge and central sheath). The nine peripheral microtubule doublets are numbered 1 to 9 in a clockwise direction with number 1 being the only doublet situated on a plane perpendicular to that of the two central microtubules. The axoneme stretches the full length of the spermatozoon's tail, through all three pieces (midpiece, principal and terminal pieces).

The mitochondrial sheath lies directly beneath the plasmalemma, and consists of several elongated mitochondria (150 nm in diameter) lying end to end in an helical arrangement around the underlying axoneme. This sheath is approximately 80 nm thick. The mitochondrial matrix consists of very electron dense material and the crests lie parallel to the double mitochondrial membrane.

The outer dense fibres are filamentous cytoskeletal structures consisting of electron dense material lying between the mitochondrial sheath and each of the peripheral microtubule doublets of the axoneme. The dense

fibres extend along the whole midpiece and the first third of the principal piece. Maximum thickness and diameter of the dense fibres are found in the distal end of the connecting piece and they decrease progressively along the two following pieces.

Dense fibres, numbered by their association with the microtubular doublets of the axoneme, have a characteristic shape in cross-section. All of them are approximately truncated pyramid-shaped with the narrower base towards the microtubular doublets and the wider base, with rounded edge, outermost towards the mitochondrial sheath. The dense fibres are not all of equal thickness and diameter. In the proximal region of the midpiece, fibres numbers 1, 5 and 6 averaged 110 nm in thickness and 150 nm in diameter, and fibres numbers 2, 3, 4, 7, 8 and 9 averaged 80 nm in thickness and 110 nm in diameter. In the distal region of the midpiece, fibres numbers 1, 5 and 6 averaged 160 nm in thickness and 40 nm in diameter, and the remaining fibres averaged 70 nm in thickness and 60 nm in diameter. Thus, dense fibres become slim along its passage by the mitochondrial region.

The peripheral granules distributed in the interstices between the outer dense fibres are only found in the proximal region of the midpiece. They consist of electron dense granules with a 15 nm of maximum diameter, which disappear progressively as the dense fibres reach the distal region of the midpiece.

2.2.4. PRINCIPAL PIECE

The principal piece is the longest segment of the spermatozoon's tail, extending from the annulus or Jensen's ring to the proximal end of the terminal piece. The principal piece is characterized by the presence of: the fibrous sheath, the outer dense fibres, the axoneme and the annulus, or Jensen's ring.

The fibrous sheath of the principal piece has a very high electron density, and replaces the mitochondrial sheath of the midpiece. The fibrous sheath consists of two continuous longitudinal axes or columns (dorsal and ventral) coplanar with the central microtubule pair, which are joined by a series of circumferential ribs regularly distributed around the principal piece.

The fibrous axes lie between the plasmalemma and the dense fibres 3 and 8. The axes reach their maximum thickness (110 nm) at the first third of the principal piece and they decrease progressively along the following two thirds, until being equal to the ribs' thickness (75 nm).

FIGURE 1. Diagrammatic representation of longitudinal sections through the head, neck and tail of the boar spermatozoon indicating the major components.

A. Head: apical and principal segments of the acrosomal region

ESA, subacrosomal space; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus; P, plasmalemma; SA, acrosome apical segment; SP, acrosome principal segment.

B. Head: equatorial segment of the acrosomal and postacrosomal region

LD, postacrosomal dense lamina; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus; P, plasmalemma; SE, acrosome equatorial segment.

C. Head: postacrosomal region. Connecting piece or neck

C, capitulum; CB, basal body; CL, laminar bodies; CS, segmented columns; LD, postacrosomal dense lamina; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus; P, plasmalemma; PB, basal plate.

D. Tail: midpiece or mitochondrial region

A, axoneme; BM, mitochondrial sheath; FD, dense fibres; P, plasmalemma.

E. Tail: distal region of the principal piece

A, axoneme; BF, fibrous sheath ribs; P, plasmalemma.

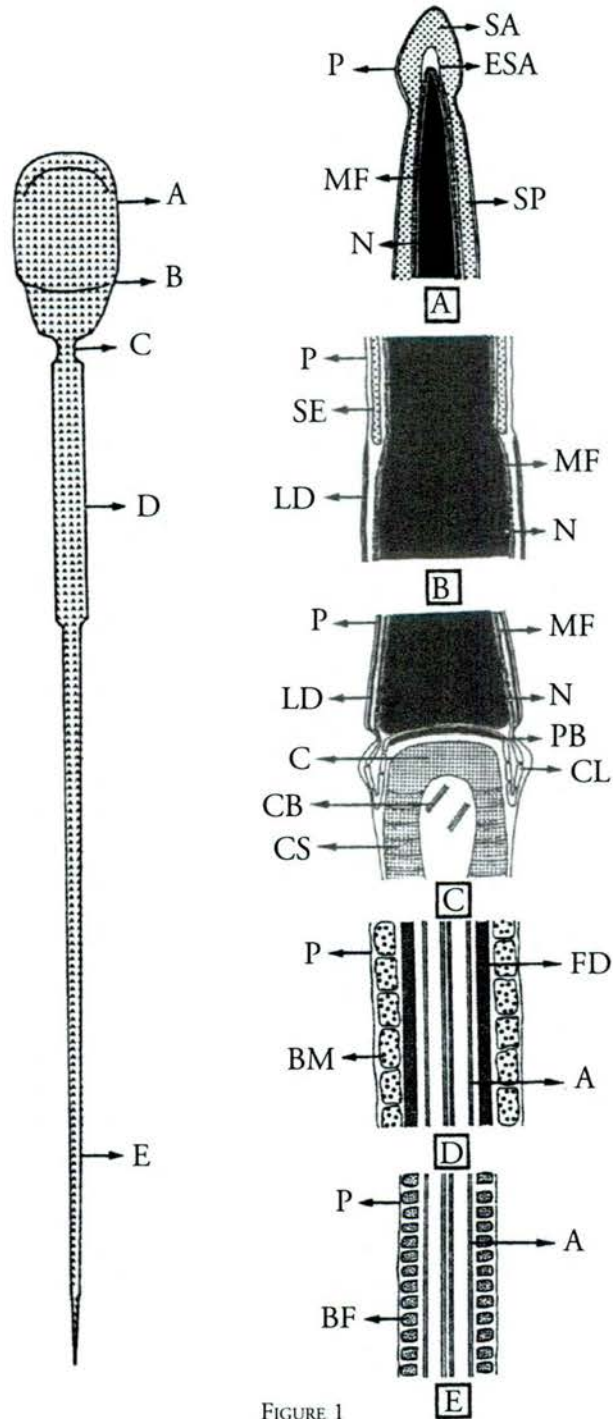


FIGURE 1

Along the first third of the principal piece, the great development of the axes determines its overlying and fusion with the dense fibres 3 and 8. The remaining dense fibres, that stretch along only the first third of the principal piece, decrease progressively in thickness until they disappear. The two posterior thirds of the principal piece differ from the first third by the lack of dense fibres and because the thickness of the fibrous axes is equal to that of the fibrous ribs (75 nm).

The fibrous ribs are approximately 15 nm apart and about 40 nm in diameter along the whole principal piece. The thickness of the ribs together with that of the axes decrease progressively as the fibrous sheath draws near the terminal piece.

The annulus or Jensen's ring consists of an electron dense structure underlying the plasmalemma and marking the junction of the midpiece and the principal piece. The plasmalemma attaches firmly to the annulus, a ring-shaped structure separating the mitochondrial sheath from the fibrous sheath, which prevents mitochondria going down to the principal piece. The annulus links up with the last mitochondrion of the mitochondrial sheath and it is separated from the first ribs of the fibrous sheath by approximately 15 nm. This structure is about 130 nm thick and 160 nm in diameter.

2.2.5. TERMINAL PIECE

The terminal piece is the last and shorter segment of the spermatozoon's tail. This short piece has no cytoskeletal structures. The terminal piece consists of only the axoneme enclosed by the plasmalemma. Whereas in other tail pieces the plasmalemma describes a more or less smooth circular outline, in this last piece it takes a festooned appearance. The axoneme disorganises progressively as it stretches down the principal piece, with B microtubule being the first disappearing element. Finally, microtubular disorganisation makes it impossible to distinguish the axonemal 9+2 pattern.

FIGURE 2. Diagrammatic representation of cross sections through the head and tail of the boar spermatozoon indicating the major components.

A. Head: acrosomal region

MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus; P, plasmalemma; VA, acrosomal vesicle or acrosome.

B. Head: postacrosomal region

LD, postacrosomal dense lamina; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus; P, plasmalemma.

C. Tail: midpiece or mitochondrial region

A, axoneme; BM, mitochondrial sheath; FD, dense fibres; P, plasmalemma.

D. Tail: proximal region of the principal piece

A, axoneme; BF, fibrous sheath; FD, dense fibres; P, plasmalemma.

E. Tail: intermediate region of the principal piece

A, axoneme; CF, fibrous sheath axes or columns; EF, fibrous sheath ribs; FD, dense fibres; P, plasmalemma.

F. Tail: distal region of the principal piece

A, axoneme; BF, fibrous sheath; P, plasmalemma.

G. Tail: terminal piece

P, plasmalemma; A, axoneme.

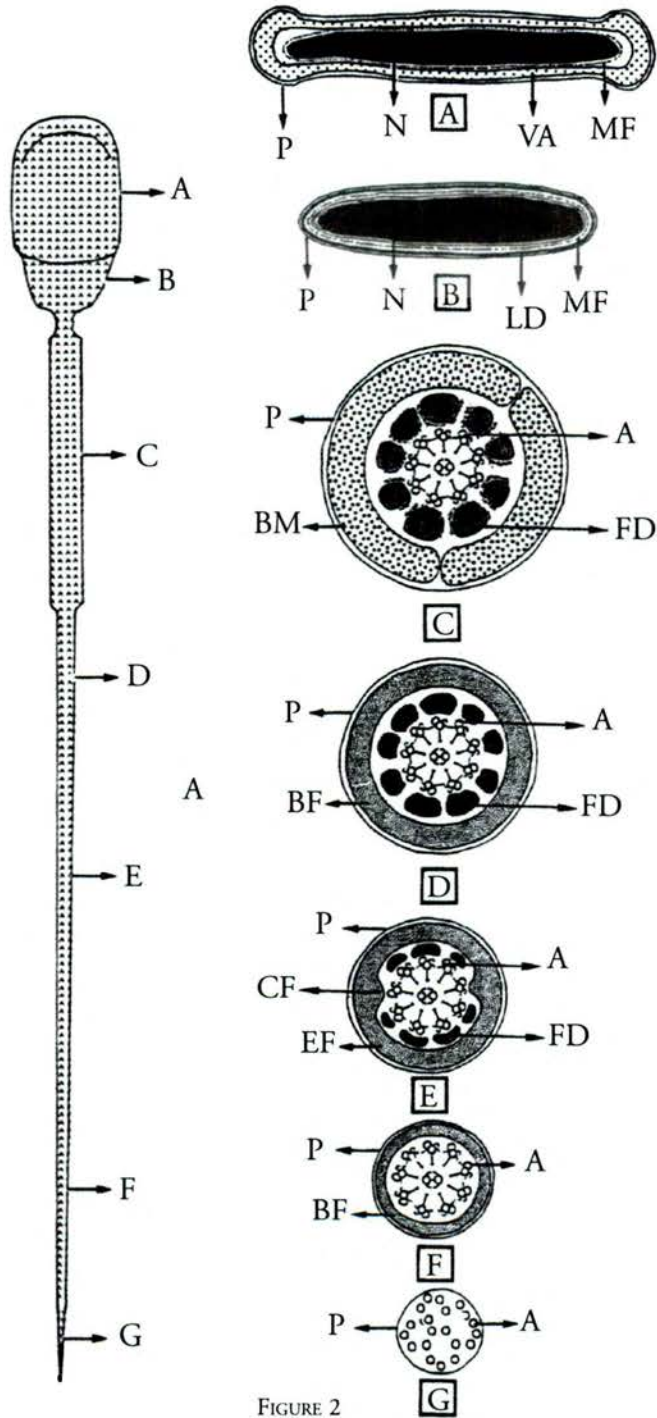


FIGURE 2

3. THE IMMATURE SPERMATOOZOA

The percentage of immature spermatozoa in a normal ejaculate of *Sus domesticus* ranges from 5 % to 15 %.

The immature spermatozoon presents three distinctive traits compared to the mature spermatozoon: presence of the cytoplasmic droplet, greater development of the acrosome apical protuberance and greater flexibility of the head.

The cytoplasmic droplet, and habitually encloses a small segment of the midpiece consists of the remains of the residual cytoplasm made redundant towards the end of spermiogenesis. The droplet is approximately 1.5 μm in diameter; and it contains a poorly electron dense cytoplasm rich in vesicles.

The midpiece can be located in the centre of the droplet or quite displaced from the centre, almost losing contact with the plasmalemma.

The number and development of the vesicles increase as the cytoplasmic droplet moves distally along the midpiece. Two types of vesicles can be observed: double membrane vesicles and simple membrane vesicles. Double membrane vesicles have a clear matrix and a constant diameter of approximately 0.2 μm ; they come from cisternae of the smooth endoplasmic reticulum which close up over themselves, enclosing hyaloplasmic material. Simple membrane vesicles also have a poor electron dense matrix, arising from expansion of the endoplasmic reticulum. These last vesicles fuse together giving rise to more greater vesicles, thus exhibiting a great variety of diameters ranging from 0.1 μm to 0.9 μm .

The cytoplasmic droplet can be found at the connecting piece location or at some variable level along the midpiece. The droplet appears at the connecting piece, and moving distally along the midpiece, it is shed just at the junction of the midpiece and the principal piece of the spermatozoon. The cytoplasmic droplet has two end positions: the proximal position, when placed at the connecting piece level; and the distal position, when placed at the annulus or Jensen's ring location. Hence, keeping this view in mind, one can basically distinguish two types of immature spermatozoa: the immature spermatozoa with proximal cytoplasmic droplet and the immature spermatozoa with distal cytoplasmic droplet.

The immature spermatozoa with proximal cytoplasmic droplet originates in the testis and, during passage through the epididymis, the cytoplasmic droplet moves distally up to Jensen's ring. Once the immature spermatozoa with distal cytoplasmic droplets reach the epididymal cauda, they shed the cytoplasmic droplets and take the mature spermatozoon appearance. Therefore, the greater or lesser incidence of the different typologies of immature spermatozoa in the ejaculate allow for the determination of the sperm epididymal maturation degree.

The acrosome apical protuberance shows a greater development in immature spermatozoa than in mature spermatozoa. The external width and length of the apical protuberance in the mature spermatozoon are 400 nm

and 1.2 μm , respectively; and they increase up to 600 nm and 4.5 μm , respectively, in the immature spermatozoon.

The head of the immature spermatozoa has greater flexibility than that of the mature spermatozoa. Different types of foldings and deformations are often observed on the head of the immature spermatozoa. More, or fewer, intense cephalic foldings frequently occur through a cross plane, and more rarely through a frontal longitudinal plane rarely. The most habitual cephalic malformation is the lateral deviation of the acrosomal region of the head with regard to the cell longitudinal axis.

The immature spermatozoon is often more fragile than the mature spermatozoon, thus it is not rare to observe transversely or longitudinally broken heads, and tail breakage.

As for the cytoplasmic droplets, abnormal morphologies (e.g., very voluminous droplets), ectopic positions (e.g., droplets at the end of the principal piece) and numerical abnormalities (e.g., two droplets, one proximal and the other one distal) can be observed.

4. THE ABERRANT SPERMATOZOA

4.1. EXTERNAL MORPHOLOGY AND CLASSIFICATION

The percentage of aberrant spermatozoa in a normal ejaculate of *Sus domesticus* is between 1 % and 5 %.

Even though spermatozoa malformations are classified with regard to one aberrant sperm structure, often several abnormal structures converge in the same spermatozoon. So then, macrocephaly or microcephaly: additional heads or tails, longer or shorter tails, different shape malformations of the head, folding or coiling of the tail, etc. can be malformations paired in a same aberrant spermatozoon. Theoretically, as many typologies of aberrant spermatozoa can be found as the result of combining, two by two, the several possible malformations. In fact, the atlas often shows aberrant spermatozoa that, besides the highlighted malformation, present another abnormality (e.g., aberrant spermatozoa with flame-shaped head and coiled tail). In order to establish a methodology for the description of the different malformations, a classification criterion of the cephalic malformations has been set (affecting shape, size and number) and the tail malformations (affecting shape or trajectory, size and number) which, frequently, appear simultaneously.

According to the external morphology of spermatozoa, the observed malformations can be grouped in the following types:

<i>Type of malformation</i>	<i>‰ *</i> <i>Aberrant spermatozoa with this malformation</i>	<i>Modality</i>	<i>‰ *</i> <i>Aberrant spermatozoa with this malformation</i>
Cephalic or affecting head	15	Shape	10
		Size	3
		Number	2
Affecting tail	35	Shape or trajectory	25
		Size	5
		Number	5
Total	50		

*The percentages in the above table are obtained giving priority to a top malformation when a spermatozoon presents more than one malformation.

The different malformations present in the ejaculate may also be classified in accordance with their place of origin as primary or secondary. Primary malformations are those developing during spermatogenesis or spermiogenesis in the testis, and secondary malformations are those developing during the sperm maturation process along the epididymis.

In general, cephalic malformations tend to be of primary origin, although the ones affecting number may also be of secondary origin (e.g., sperm agglutination). Size and number of malformations in the tail have primary origin and those affecting the tail trajectory have a secondary origin.

4.1.1. MALFORMATIONS AFFECTING CEPHALIC SHAPE

Spermatozoa with abnormal cephalic shapes, such as elongated heads, flame-shaped heads, oval heads and roundish heads, can be observed by light microscopy. The higher resolution of the scanning electron microscope, as compared with conventional light microscopy, allows for the detection of cephalic malformations of the shape more accurately.

Two types of spermatozoa with elongated heads can be found: spermatozoa with cylindrical heads and with flat heads. Spermatozoa with elongated and cylindrical heads, about 8 μm in length and 2.7 μm in diameter, are characterised by an abaxial tail attachment. Spermatozoa with elongated and flat heads, about 9-10 μm in length and 3.5-4.1 μm in diameter, are characterized by a normal tail attachment.

Spermatozoa with flame-shaped heads may also be classified into two typologies: spermatozoa with short flame-shaped heads and with long flame-shaped heads. In this last typology, the most apical cephalic region tends to be characterised by the craterlike appearance of the acrosomal protuberance.

Spermatozoa with oval heads present, generally, an apical acrosomal knob of variable development. Likewise, one can distinguish spermatozoa with pear-shaped heads, characterised by the scant development of the acrosomal cephalic region and the highly developed postacrosomal region.

Several typologies of the spermatozoa with roundish heads may be distinguished, ranging from globular to flat shapes, and exhibiting different degrees of rounded heads.

4.1.2. MALFORMATIONS AFFECTING CEPHALIC SIZE

Two types of spermatozoa in regard to the size of the head can be distinguished: macrocephalic and microcephalic spermatozoa.

Within the macrocephalic or giant-headed spermatozoa, two typologies can be found: spermatozoa with normal head length (7 μm) and a large width (4.7 μm), and spermatozoa with longer (7.7 μm) and wider (5.5 μm) heads. This last type of spermatozoa often have two tails.

Within the microcephalic or small head spermatozoa, two typologies can also be found: spermatozoa with normal head width and a reduced length (5.2 μm), and spermatozoa with shorter (4.5 μm) and narrower (2.4 μm) heads.

4.1.3. MALFORMATIONS AFFECTING CEPHALIC NUMBER

Spermatozoa with more than one head frequently have as many fused tails as heads; these tails often exhibit different degrees of coiling. Among the spermatozoa with more than one head, some can be found with two heads and others with three heads.

Tricephalic spermatozoa tends to present completely coiled tails and three coplanar heads, positioned giving rise to an angle not superior to 30° between them.

Bicephalic spermatozoa tend to present completely or partially coiled tails and two heads arranged in coplanarity in crossed planes. When the two heads are coplanar, an angle ranging from 0° (overlapped heads) to 180° (opposite heads) can be formed between them. In this last case, heads are joined at their bases or they are separated by the tail-coiling. When the two heads are positioned in crossed planes, these are orthogonal planes. In general, the two heads are often flat-shaped and attached to the connecting-piece end. Even though, in some bicephalic spermatozoa, flat-shaped heads and globular heads can be found, and in others, a head attached to the connecting-piece end and the other head attached over the longitudinal axis of this piece, can be observed.

The head-to-head or tail-to-tail agglutination of spermatozoa is one of the possible origins of spermatozoa with more than one head.

4.1.4. MALFORMATIONS AFFECTING THE TAIL TRAJECTORY

Depending on the type of malformation affecting the tail trajectory, one can distinguish two types of spermatozoa: spermatozoa with folded tails and spermatozoa with coiled tails.

Among the spermatozoa with folded tails, one differentiates between them depending on whether the folding occurs at the Jensen's ring location or at the midpiece location. The tail-folding is considered to be truthful when the tail bends completely so that the two parts of the folded tail are antiparallel. The most habitual folding occurs in immature spermatozoa with distal cytoplasmic droplets at the Jensen's ring location. The tail bends so that the principal piece makes contact and fuses initially with the midpiece, and afterwards with the flat face of the head; finally, the tail coils and fuses progressively with the flat face of the head. A more uncommon folding, affecting the midpiece, can also be observed: immature spermatozoa whose tails bend, generally affecting the whole midpiece. Because of the thickness of the midpiece and the diameter of the cytoplasmic droplets, this folding tends to be very apparent, and in some cases, it could be mistaken with a spermatozoon's head under light microscopy by its size and shape.

Spermatozoa with coiled tails are characterised by exhibiting completely or partially coiled tails. The most typical form is that of spermatozoa whose tails turn around the first half of the midpiece. Within this modality, several typologies can be distinguished in regard to the position of the coiling with respect to the head, and the size and shape of this coiling. The coiling size may vary from approximately one half of the head size to that of a normal-sized head. This variability of the coiling size depends on the coiling intensity and the length of the coiled tails (if they lack tailpieces or if any of them are shorter, the coiling will be of lesser size). Moreover, the major axes of the coiling tail and those of the head may be arranged so as to give rise to angles of 180° , 90° or 45° . The coiled tails may adopt circular, spherical, oval or elliptical shapes. A second type of tail-coiling is that of spermatozoa whose tails turn around the whole midpiece. In this case, the coiled tails adopt very clear elliptical shapes. The longer axis of the coiled tail and the longer axis of the head may be arranged so as to give rise to angles of 180° , 90° or 45° . Finally, more unusual tail-coiling shapes can be observed: for instance, coilings affecting only the principal and terminal pieces, coilings affecting solely the terminal piece, coilings affecting the terminal piece and partially, the principal piece, false coilings, etc.

4.1.5. MALFORMATIONS AFFECTING THE TAIL SIZE

Two modalities of this type of malformation can be distinguished: spermatozoa with long tails and with short tails.

When the spermatozoon's tail is longer than normal, it is habitually due to a longer principal piece.

When the spermatozoon's tail is shorter than normal, it is generally due to the absence of some piece or the lesser development of one of them. Often the affected piece used to be the principal piece, now absent or less developed.

4.1.6. MALFORMATIONS AFFECTING THE TAIL NUMBER

Two modalities of this type of malformation can be distinguished: tailless spermatozoa and spermatozoa with two tails.

The first typology is characterised by the presence of detached heads in the ejaculate. It is possible to say that the majority of detached heads corresponds to artifactitious breaking of the head and the tail. Therefore, the real determination of this malformation is carried out by the count of detached heads minus the number of detached tails. These artifactitious forms are more frequent in the semen smear edges.

Spermatozoa with two tails may be classified according to whether or not the two tails have the same length, and whether or not they are fused.

4.2. INTERNAL MORPHOLOGY AND CLASSIFICATION

Aberrant spermatozoa can be classified according to the type of structural malformation observed: (1) spermatozoa with tails folded at the Jensen's ring, (2) spermatozoa with coiled tails, (3) spermatozoa with two tails, (4) spermatozoa with cephalic malformations, and (5) spermatozoa with tail malformations.

4.2.1. SPERMATOZOA WITH TAIL FOLDED AT THE JENSEN'S RING

Spermatozoa with tail folded at the Jensen's ring consolidate the folding by means of the distal cytoplasmic droplets. Beyond the distal cytoplasmic domain, the principal piece and the midpiece overrun antiparallely. The fibrous and mitochondrial sheaths of both pieces come in contact, and at the proximal end of the midpiece, the fibrous sheath provokes a slight deformation on the mitochondrial sheath. The principal piece overruns the midpiece following a spiral path which is shown by the evolution of the series of doublets faced between the midpiece and principal piece. Along the postacrosomal cephalic region, the principal piece lies between the plasmalemma and the postacrosomal dense lamina; and, in the acrosomal cephalic region, the principal piece lies between the plasmalemma and the acrosomal vesicle.

4.2.2. SPERMATOZOA WITH COILED TAIL

Spermatozoa with coiled tail have an axonemal axis which makes several loops inside a cytoplasmic mass rich in double membrane vesicular elements, and remains of the smooth endoplasmic reticulum. This cytoplasm morphology is very similar to that of the cytoplasmic droplet of an immature spermatozoon. The axonemal axis is positioned at the periphery of the cytoplasmic mass. Degenerated cell figures can also be observed that are characterised by the cytoplasmic plasmolysis and by the absence of some microtubular structures of the axonemal axes.

4.2.3. SPERMATOOZA WITH TWO TAILS

These spermatozoa have two complete axonemal axes. Along their full paths, the two axonemal axes run parallel. Depending on the examined region, one can find: (a) the two axonemal axes that are quite separate from each other by a highly developed cytoplasmic mass, or (b) the two axonemal axes coming into contact by their respective mitochondrial and fibrous sheaths. The residual cytoplasm, abundant from the connecting piece to the intermediate region of the midpiece, declines considerably as reaching the distal end of the midpiece.

4.2.4. SPERMATOOZA WITH CEPHALIC MALFORMATIONS

This type of spermatozoa consists of malformations affecting the different acrosomal segments, the postacrosomal cephalic region and the nucleus.

The acrosome apical segment may show several malformations: high or low development, anomalous shapes and distributions, internal vesiculation and heterogeneous acrosomal matrix. The acrosome principal segment may exhibit the following malformations: acrosomal vesicle expansion, scant matrix electron density and vesiculation. The acrosome equatorial segment may also present different malformations: high development of the subacrosomal space, as well as the expanded and festooned edges of the acrosomal vesicle.

In the postacrosomal region, a greater or lesser development of myelin fibres between the postacrosomal dense lamina and the perinuclear fibrous material can be found.

The most typical nuclear malformations used to be the membrane-bound nuclear invaginations and the nuclear vacuoles. Moreover, other nuclear malformations can also be observed (folded nucleus on a longitudinal or on a transversal axis) accompanied by acrosomal malformations (generally, vesiculation or plasmolysis).

4.2.5. SPERMATOOZA WITH TAIL MALFORMATIONS

This type of malformations consists of those affecting the axonemal structure, the mitochondrial sheath and the perimitochondrial cytoplasm.

Five modalities of axonemal anomalies as a result of the absence of microtubular elements can be observed: absence of the peripheral microtubule doublets (6, 8, 9 and, 5 and 6) and absence of the central microtubule pair. Furthermore, the general disorganization and deformation of the axonemal structure can also be observed by the presence of more or less-developed vesicles, lying between the fibrous sheath and the axoneme.

The two main abnormalities of the mitochondrial sheath are the mitochondrial swelling and the irregular arrangement of the sheath mitochondria. Mitochondrial swelling generally affects the first mitochondria of the mitochondrial sheath. They are mitochondria, which are five times greater in diameter compared to normal sheath mitochondria. These mitochondria are characterised by a very clear matrix and the absence of mitochondrial cristae. The inner mitochondrial membrane does not form cristae and runs parallel to the outer mitochondrial membrane. Another alteration of the mitochondrial sheath consists of an anomalous distribution of the sheath mitochondria. In these cases, besides the sheath mitochondria regularly distributed in a spiral path, there are additional mitochondria, external to the sheath, which determine a slight deformation of the circular perimeter of the midpiece. The mitochondrial sheath may sometimes show a reduced thickness and a festooned contour.

As for the perimitochondrial cytoplasm, several malformations may be highlighted. Peripheral vesiculation can be found at the connecting piece and at any location on the first two tail pieces of the spermatozoon.

Vesicles are located peripherally and disturb the circular perimeter of the tail. The vesicle development is greater as it moves down from the connecting piece to the principal piece. At the location of the connecting piece, the vesicle (about 0.30 μm in diameter) lies between the laminar bodies and the plasmalemma. At the midpiece location, the vesicle (about 0.35 μm in diameter) lies between the mitochondrial sheath and the plasmalemma, provoking a noticeable deformation on the sheath mitochondria. At the principal piece location, the vesicle (about 0.40 μm in diameter) lies between the fibrous sheath and the plasmalemma, and does not provoke noteworthy deformations on the fibrous sheath ribs. Along the proximal region of the principal piece, the vesicle is released by becoming narrow at its base, and by the posterior fusion of the plasmalemma. These vesicles may come from the large vesicles within the cytoplasmic droplet of immature spermatozoa or from the cytoplasmic expansions present in the connecting piece or midpiece of some spermatozoa. The residual cytoplasm appears in two forms at the connecting piece and midpiece locations: (a) in the form of cytoplasmic expansions and (b) in the form of perimitochondrial cytoplasmic films. The cytoplasmic expansions lie at the base of the head, just at the junction of the connecting piece and the postacrosomal cephalic region. They are digitiform cytoplasmic evaginations, 1 μm in length per 0.1 μm in diameter, filled up with an homogeneous and slightly electron dense cytoplasm. These evaginations may bend until they fuse on its free end with the plasmalemma enclosing the connecting piece. Digitiform or fungiform cytoplasmic evaginations can also be found at the more distal region of the midpiece. In these cases, the cytoplasmic expansion arises from a very developed perimitochondrial cytoplasmic film.

5. OTHER CELLS

5.1. THE SOMATIC CELLS

The somatic cells present in the ejaculate of boars are spherical in shape and measure 12 μm in diameter. These cells are infrequent and they can sometimes be observed engulfing the cephalic region of immature spermatozoa, preferably with distal cytoplasmic droplets.

The ultrastructural characteristics of these cells are typical of macrophages. They are mononuclear cells but with an intensely lobed nucleus. The nucleus contains finely granulated chromatin and scanty heterochromatic masses, which are dispersed by the nucleoplasm or associated to the nuclear envelope. The very prominent nucleolus shows the clearly differentiated fibrillar and granular components. This nuclear morphology is typical of those cells with a very high nuclear activity. The cytoplasm is abundant and there is an abundance of lysosomal and phagocytic vesicles.

These cells degenerate quickly in the ejaculate giving rise to cells characterised by the pyknotic appearance of the nucleus and plasmolysis of the cytoplasm.

5.2. THE PROCARYOTIC CELLS

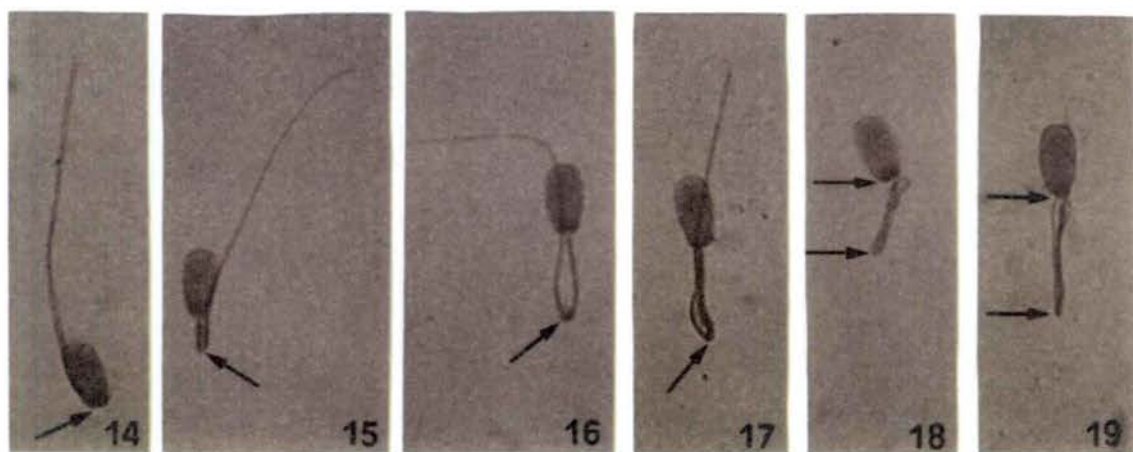
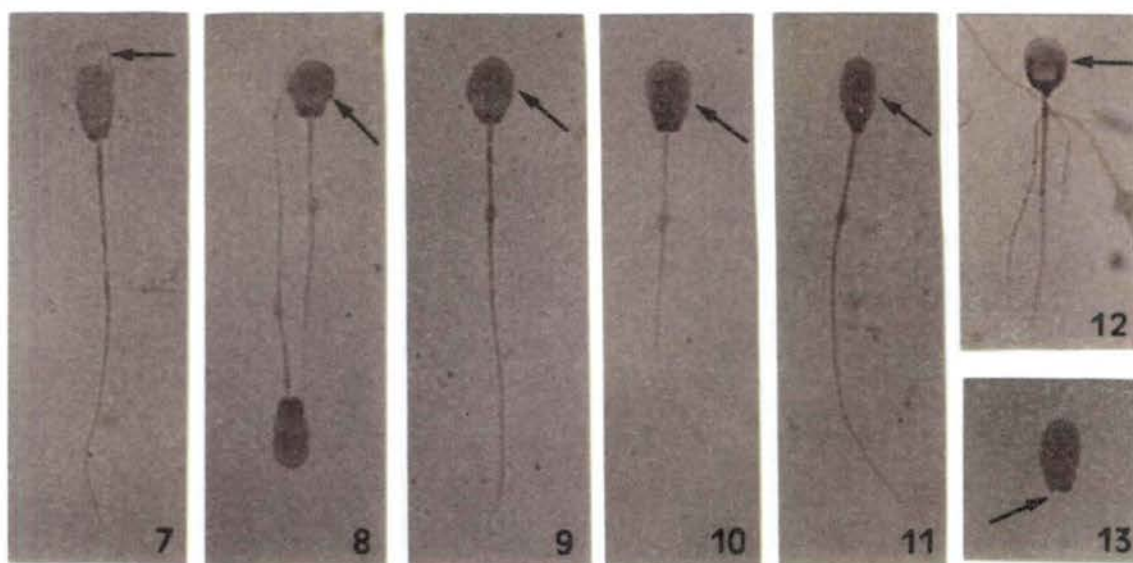
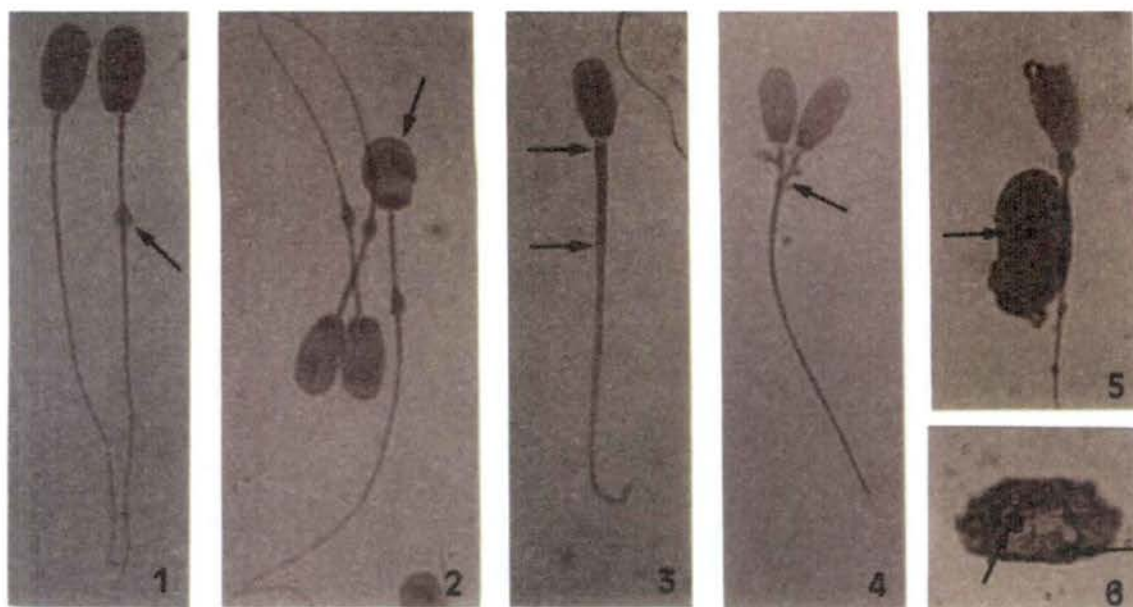
The procaryotic cells are scarce in the normal ejaculate of boars. The procaryotic cells found in the ejaculate are normally Gram-negative bacillar bacteria. The nuclear area stands out from the remaining cytoplasm by its low electron density. The cell envelope consists of polysaccharides.

7. LÀMINES
LÁMINAS
PLATES

LÀMINA 1 / LÁMINA 1 / PLATE 1

Microscòpia òptica de camp clar. Tinció de Papanicolaou.
 Microscopía óptica de campo claro. Tinción de Papanicolaou.
Bright-field light microscopy. Papanicolaou stain.

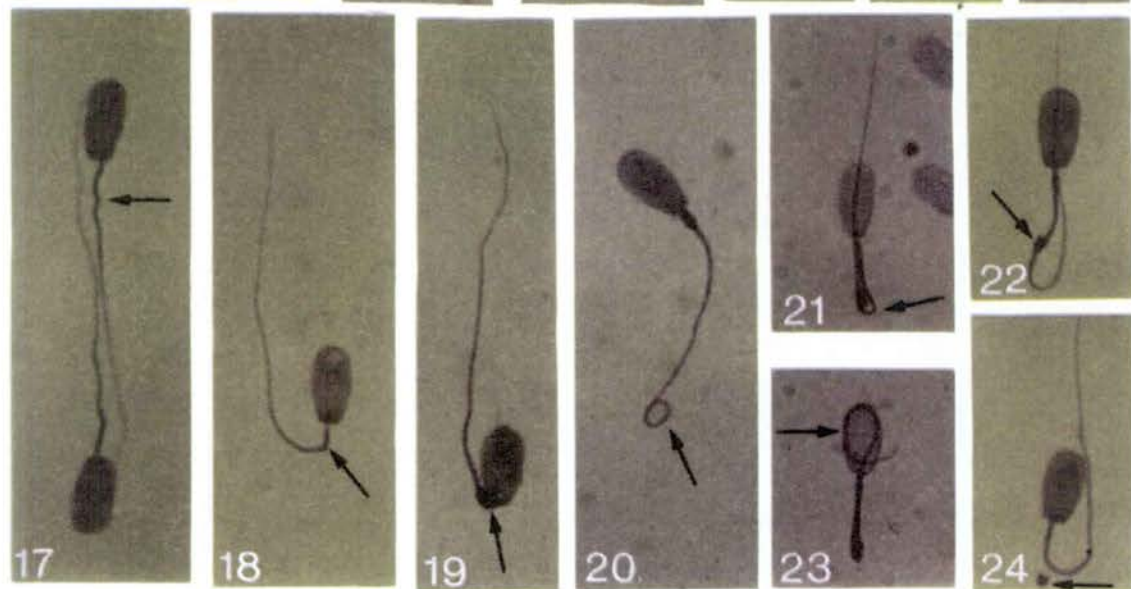
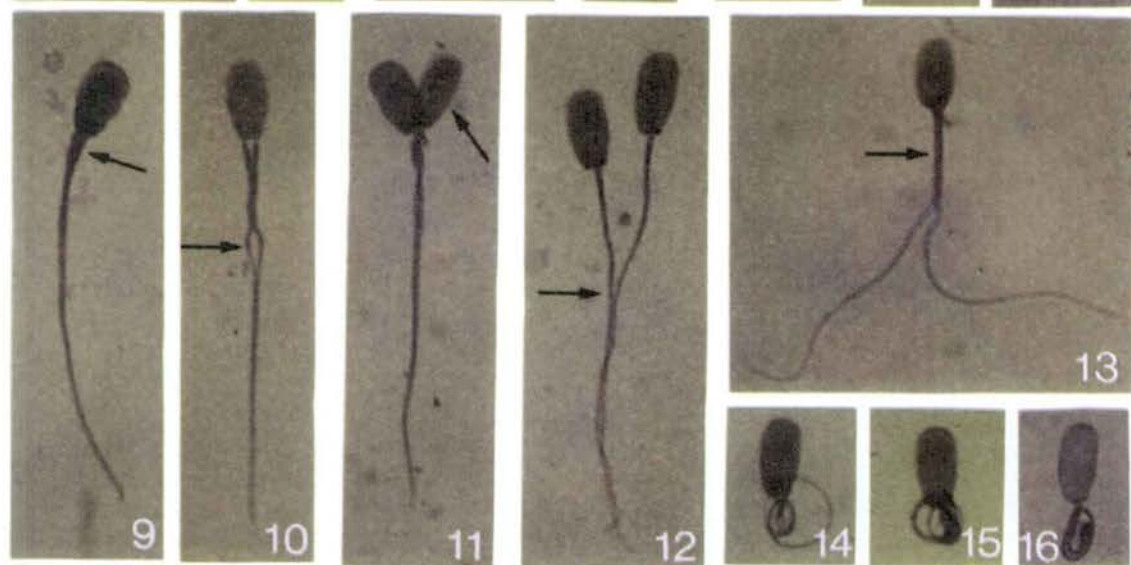
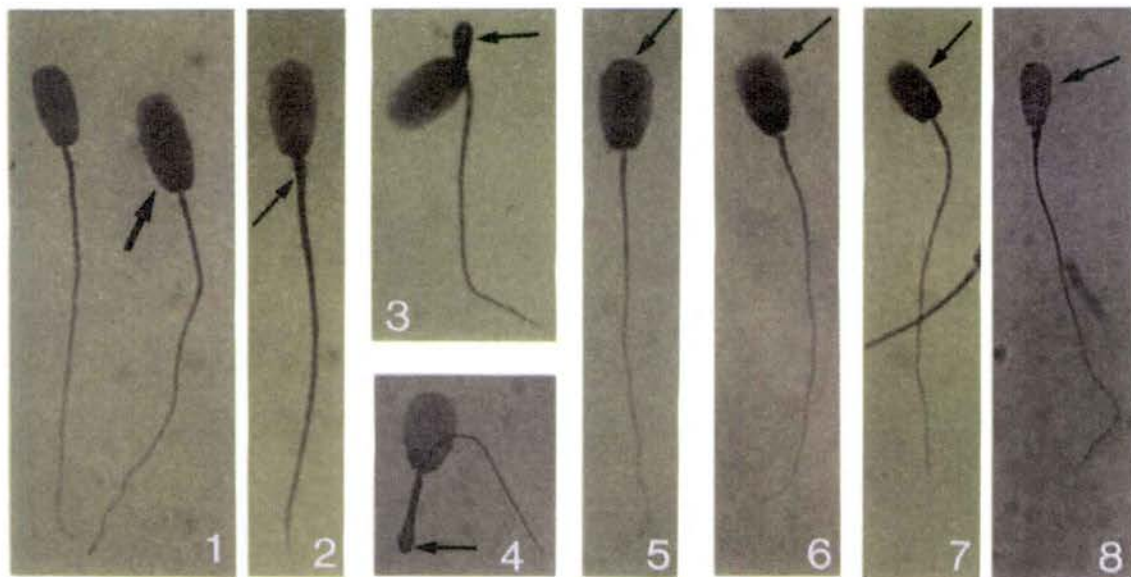
- FIG. 1. Espermatozoide madur i espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (→). Espermatozoide maduro y espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal (→). *Mature spermatozoon and immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet* (→). 1600x.
- FIG. 2. Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal, un d'ells amb el cap arrodonit (→). Espermatozoides inmaduros con gota citoplasmática distal, uno de ellos con la cabeza redondeada (→). *Immature spermatozoa with distal cytoplasmic droplet, one of them with roundish head* (→). 1500x.
- FIG. 3. Espermatozoide amb dues cues completament fusionades; observin-se els límits de la peça intermèdia (→). Espermatozoide con dos colas completamente fusionadas; obsérvense los límites de la pieza intermedia (→). *Spermatozoon with two completely fused tails; notice the limits of the midpiece* (→). 1400x.
- FIG. 4. Espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades a partir del primer terç de la peça intermèdia (→). Espermatozoide con dos cabezas y dos colas fusionadas a partir del primer tercio de la pieza intermedia (→). *Spermatozoon with two heads and two tails fused from the first third of the midpiece* (→). 1400x.
- FIG. 5. Macròfag inactiu de perfil regular, elevada relació nucleocitoplasmàtica i nucléol prominent (→). Macrófago inactivo de perfil regular, elevada relación núcleo-citoplasmática y nucléolo prominente (→). *Inactive macrophage with a regular profile, high nucleus / cytoplasm ratio and prominent nucleolus* (→). 1400x.
- FIG. 6. Macròfag actiu de perfil irregular; observi's la reducció de la relació nucleocitoplasmàtica i la presència de dos nucléols menys prominents (→). Macrófago activo de perfil irregular; obsérvese la reducción de la relación núcleo-citoplasmática y la presencia de dos nucléolos menos prominentes (→). *Active macrophage with an irregular profile; note the decrease of the nucleus / cytoplasm ratio and the presence of two less prominent nucleoli* (→). 1600x.
- FIG. 7. Espermatozoide amb l'acrosoma reaccionat (→). Espermatozoide con el acrosoma reaccionado (→). *Spermatozoon with reacted acrosome* (→). 1400x.
- FIG. 8. Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal, un d'ells amb el cap arrodonit (→). Espermatozoides inmaduros con gota citoplasmática distal, uno de ellos con la cabeza redondeada (→). *Immature spermatozoa with distal cytoplasmic droplet, one of them with roundish head* (→). 1400x.
- FIG. 9. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i el cap lleugerament el·líptic (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y la cabeza ligeramente elíptica (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and slightly elliptic head* (→). 1400x.
- FIG. 10. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i el cap piriforme (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y la cabeza piriforme (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and pyriform head* (→). 1400x.
- FIG. 11. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i el cap lleugerament prim (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y la cabeza ligeramente delgada (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and slightly thin head* (→). 1400x.
- FIG. 12. Espermatozoide amb el cap petit i arrodonit (→). Espermatozoide con la cabeza pequeña y redondeada (→). *Spermatozoon with small and roundish head* (→). 1400x.
- FIG. 13. Espermatozoide amb el cap isolat, sense cua (→). Espermatozoide con la cabeza aislada, sin cola (→). *Tailless or detached-head spermatozoon* (→). 1400x.
- FIG. 14. Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça de connexió (→). Espermatozoide con la cola doblada por la pieza de conexión (→). *Spermatozoon with tail folded at the connecting piece* (→). 1400x.
- FIG. 15. Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça intermèdia (→). Espermatozoide con la cola doblada por la pieza intermedia (→). *Spermatozoon with tail folded at the midpiece* (→). 1400x.
- FIG. 16. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i la cua doblegada per l'anell de Jensen (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y la cola doblada por el anillo de Jensen (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and tail folded at the Jensen's ring* (→). 1400x.
- FIG. 17. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i la cua doblegada per l'inici de la peça principal (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y la cola doblada por el inicio de la pieza principal (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and tail folded at the beginning of the principal piece* (→). 1400x.
- FIG. 18. Espermatozoide amb la cua plegada sobre els primers 2/3 de la peça intermèdia (→). Espermatozoide con la cola plegada sobre los primeros 2/3 de la pieza intermedia (→). *Spermatozoon with tail bent over the first 2/3 of the midpiece* (→). 1400x.
- FIG. 19. Espermatozoide amb la cua plegada sobre la peça intermèdia (→). Espermatozoide con la cola plegada sobre la pieza intermedia (→). *Spermatozoon with tail bent over the midpiece* (→). 1400x.



LÀMINA 2 / LÁMINA 2 / PLATE 2

Microscòpia òptica de camp clar. Tinció Diff-Quick®.
 Microscopía óptica de campo claro. Tinción Diff-Quik®.
 Bright-field light microscopy. Diff-Quick® stain.

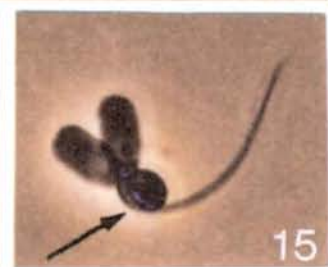
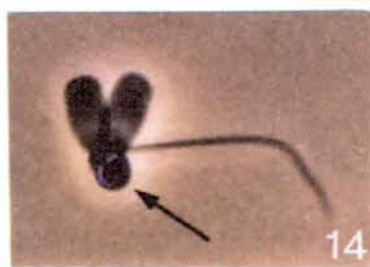
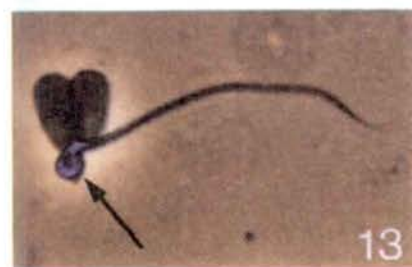
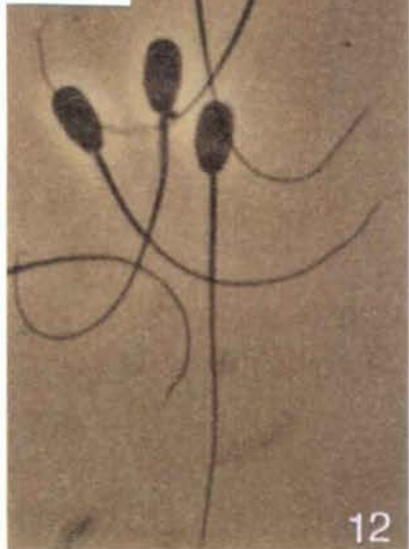
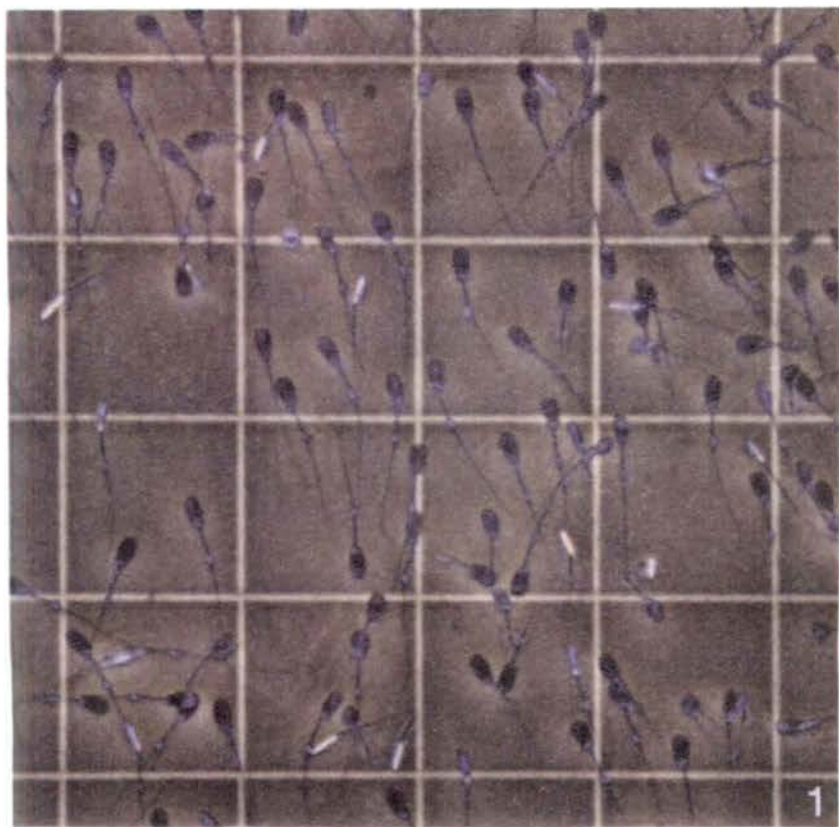
- FIG. 1. Espermatozoide madur i espermatozoide macrocefàlic (→). Espermatozoide maduro y espermatozoide macrocefàlico (→). *Mature spermatozoon and macrocephalic spermatozoon* (→). 1400x.
- FIG. 2. Espermatozoide macrocefàlic amb la cua engruixida (→). Espermatozoide macrocefàlico con la cola engrosada (→). *Macrocephalic spermatozoon with thickened tail* (→). 1400x.
- FIG. 3. Espermatozoide macrocefàlic amb la cua doblegada per la peça intermèdia (→). Espermatozoide macrocefàlico con la cola doblada por la pieza intermedia (→). *Macrocephalic spermatozoon with tail folded at the midpiece* (→). 1400x.
- FIG. 4. Espermatozoide macrocefàlic amb el cap arrodonit i la cua doblegada per l'anell de Jensen (→). Espermatozoide macrocefàlico con la cabeza redondeada y la cola doblada por el anillo de Jensen (→). *Macrocephalic spermatozoon with roundish head and tail folded at the Jensen's ring* (→). 1400x.
- FIG. 5. Espermatozoide macrocefàlic amb el cap arrodonit (→). Espermatozoide macrocefàlico con la cabeza redondeada (→). *Macrocephalic spermatozoon with roundish head* (→). 1400x.
- FIG. 6. Espermatozoide macrocefàlic amb el cap ovoïdal (→). Espermatozoide macrocefàlico con la cabeza ovoïdal (→). *Macrocephalic spermatozoon with slightly oval head* (→). 1400x.
- FIG. 7. Espermatozoide microcefàlic (→) amb la cua lleugerament curta. Espermatozoide microcefàlico (→) con la cola lleugerament curta. *Microcephalic spermatozoon* (→) with slightly shortened tail. 1400x.
- FIG. 8. Espermatozoide microcefàlic (→). Espermatozoide microcefàlico (→). *Microcephalic spermatozoon* (→). 1400x.
- FIG. 9. Espermatozoide amb el cap ovoïdal i dues cues fusionades (→). Espermatozoide con la cabeza ovoïdal y dos colas fusionades (→). *Spermatozoon with slightly oval head and two fused tails* (→). 1400x.
- FIG. 10. Espermatozoide amb dues cues fusionades (→). Espermatozoide con dos colas fusionades (→). *Spermatozoon with two fused tails* (→). 1400x.
- FIG. 11. Espermatozoide bicefàlic (→) amb dues cues fusionades. Espermatozoide bicefàlico (→) con dos colas fusionades. *Bicephalic spermatozoon* (→) with two fused tails. 1400x.
- FIG. 12. Dos espermatozoides madurs amb aglutinació parcial de les cues (→). Dos espermatozoides maduros con aglutinació parcial de las colas (→). *Two mature spermatozoa displaying partially agglutinated tails* (→). 1400x.
- FIG. 13. Espermatozoide amb dues cues fusionades per les peces intermèdies (→). Espermatozoide con dos colas fusionades per las piezas intermedias (→). *Spermatozoon with two tails fused by the midpieces* (→). 1400x.
- FIG. 14, 15, 16. Espermatozoides amb diferents intensitats d'enrotllament de la cua. Espermatozoides con diferents intensidades de enrollamiento de la cola. *Spermatozoa displaying different intensities of tail-coiling*. 1400x.
- FIG. 17. Espermatozoide amb la cua crenada en la peça intermèdia (→). Espermatozoide con la cola festoneada en la pieza intermedia (→). *Spermatozoon with corkscrew defect affecting the midpiece* (→). 1400x.
- FIG. 18. Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça intermèdia (→). Espermatozoide con la cola doblada por la pieza intermedia (→). *Spermatozoon with tail folded at the midpiece* (→). 1400x.
- FIG. 19. Espermatozoide immadur amb gota proximal i amb la cua doblegada per la peça de connexió (→). Espermatozoide immaduro con gota proximal y con la cola doblada por la pieza de conexión (→). *Immature spermatozoon with proximal droplet and tail folded at the connecting piece* (→). 1400x.
- FIG. 20. Espermatozoide immadur amb gota proximal i la cua parcialment enrotllada en la part terminal de la peça principal (→). Espermatozoide immaduro con gota proximal y la cola parcialment enrollada en la parte terminal de la pieza principal (→). *Immature spermatozoon with proximal droplet and tail partially coiled at the ending of the principal piece* (→). 1400x.
- FIG. 21. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen (→). Espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen (→). *Spermatozoon with tail folded at the Jensen's ring* (→). 1400x.
- FIG. 22. Espermatozoide immadur amb gota distal i la cua doblegada abans d'expulsar la gota (→). Espermatozoide immaduro con gota distal y la cola doblada antes de expulsar la gota (→). *Immature spermatozoon with distal droplet bending the tail before shedding of the droplet* (→). 1400x.
- FIG. 23. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen i enrotllada sobre el cap (→). Espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen y enrollada sobre la cabeza (→). *Spermatozoon with tail folded at the Jensen's ring and coiled over the head* (→). 1400x.
- FIG. 24. Espermatozoide madur poc després d'haver expulsat la gota citoplasmàtica (→). Espermatozoide maduro poco después de haber expulsado la gota citoplasmàtica (→). *Mature spermatozoon just after having shed the cytoplasmic droplet* (→). 1400x.



LÀMINA 3 / LÁMINA 3 / PLATE 3

Microscòpia òptica de contrast de fases positives. Fixació Glutaraldèhid-Tetraòxid d'osmi.
 Microscopía óptica de contraste de fases positivas. Fijación Glutaraldehído-Tetraóxido de osmio.
 Positive phase-contrast light microscopy. Glutaraldehyde-Osmium Tetroxide fixation.

- FIG. 1. Aspecte d'un recompte d'espermatozoides en la cambra de Makler. Aspecto de un recuento de espermatozoides en la cámara de Makler. *View of spermatozoa-counting as determined by the Makler chamber.* 550x.
- FIG. 2. Espermatozoide amb la cua intensament enrotllada. Espermatozoide con la cola intensamente enrollada. *Spermatozoon with intensely coiled tail.* 1400x.
- FIG. 3. Espermatozoide bicefàlic amb la cua intensament enrotllada. Espermatozoide bicefàlico con la cola intensamente enrollada. *Bicephalic spermatozoon with intensely coiled tail.* 1400x.
- FIG. 4. Espermatozoide sense cap (→). Espermatozoide sin cabeza (→). *Acephalic spermatozoon* (→). 1400x.
- FIG. 5. Espermatozoide sense cua (→). Espermatozoide sin cola (→). *Tailless spermatozoon* (→). 1400x.
- FIG. 6. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i amb la cua doblegada per l'anell de Jensen (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y con la cola doblada por el anillo de Jensen (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and tail folded at the Jensen's ring* (→). 1400x.
- FIG. 7. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal (→). *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet* (→). 1400x.
- FIG. 8. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica medial (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática intermedia (→). *Immature spermatozoon with intermediate cytoplasmic droplet* (→). 1400x.
- FIG. 9. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet* (→). 1400x.
- FIG. 10. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i la cua doblegada abans d'expulsar la gota (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y la cola doblada antes de expulsar la gota (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet bending the tail before shedding of the droplet* (→). 1400x.
- FIG. 11. Espermatozoide madur poc després d'haver expulsat la gota citoplasmàtica (→). Espermatozoide maduro poco después de haber expulsado la gota citoplasmática (→). *Mature spermatozoon just after having shed the cytoplasmic droplet* (→). 1400x.
- FIG. 12. Espermatozoides madurs. Espermatozoides maduros. *Mature spermatozoa.* 1400x.
- FIG. 13. Espermatozoide bicefàlic amb la cua enrotllada per la peça intermèdia i amb un enrotllament de baixa intensitat (→). Espermatozoide bicefàlico con la cola enrollada por la pieza intermedia y con un enrollamiento de baja intensidad (→). *Bicephalic spermatozoon with tail coiled at the midpiece displaying low-intensity coiling* (→). 1400x.
- FIG. 14. Espermatozoide bicefàlic amb la cua enrotllada per la peça intermèdia i amb un enrotllament d'intensitat moderada (→). Espermatozoide bicefàlico con la cola enrollada por la pieza intermedia y con un enrollamiento de intensidad moderada (→). *Bicephalic spermatozoon with tail coiled at the midpiece displaying moderate-intensity coiling* (→). 1400x.
- FIG. 15. Espermatozoide bicefàlic amb la cua enrotllada i amb un enrotllament d'alta intensitat (→). Espermatozoide bicefàlico con la cola enrollada y con un enrollamiento de alta intensidad (→). *Bicephalic spermatozoon with coiled tail displaying high-intensity coiling* (→). 1400x.



LÀMINA 4 / LÁMINA 4 / PLATE 4
 Microscòpia òptica de contrast interferencial de Nomarski.
 Microscopía óptica de contraste interferencial de Nomarski.
Nomarski interference contrast light microscopy.

FIG. 1. Espermatozoide madur. A, límit de la vesícula acrosòmica; PT, peça terminal. Espermatozoide maduro. A, límite de la vesícula acrosòmica; PT, pieza terminal. *Mature spermatozoon. A, acrosomal vesicle limit; PT, terminal piece.* 2700x.

FIG. 2. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal, amb el cap arrodonit i la cua doblegada per l'anell de Jensen (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal, con la cabeza redondeada y la cola doblegada por el anillo de Jensen (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet, roundish head and tail folded at the Jensen's ring* (→). 2700x.

FIG. 3 (a-g). Seqüència de l'enrotllament de la cua a partir d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal.

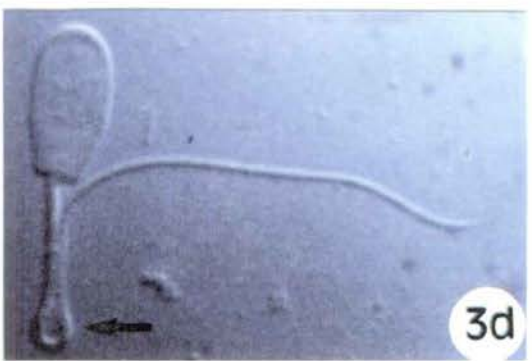
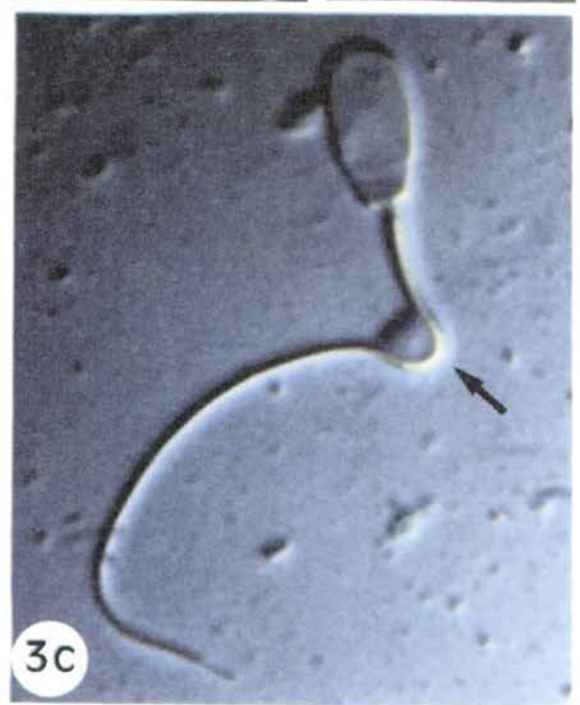
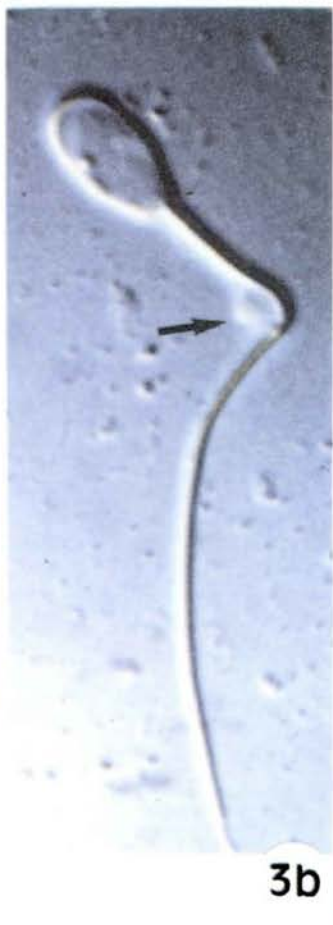
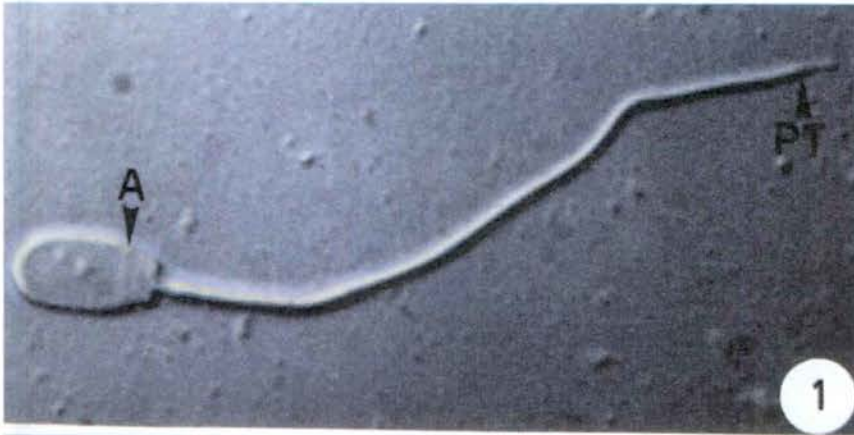
a) Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). 2700x. b) Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→) i amb la cua doblegada 90°. 2700x. c) Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→) i amb la cua doblegada 135°. 2700x. d) Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→) i amb la cua parcialment doblegada 180° per l'anell de Jensen. 3000x. e) Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→) i amb la cua completament doblegada 180° per l'anell de Jensen. 3000x. f) Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i amb la cua doblegada per l'anell de Jensen i enrotllada per sobre el cap (→). 3000x. g) Espermatozoide amb la cua enrotllada (→). 3000x.

Secuencia del enrollamiento de la cola a partir de espermatozoides inmaduros con gota citoplasmática distal.

a) Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). 2700x. b) Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→) y con la cola doblegada 90°. 2700x. c) Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→) y con la cola doblegada 135°. 2700x. d) Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→) y con la cola parcialmente doblegada 180° por el anillo de Jensen. 3000x. e) Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→) y con la cola completamente doblegada 180° por el anillo de Jensen. 3000x. f) Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y con la cola doblegada por el anillo de Jensen y enrollada sobre la cabeza (→). 3000x. g) Espermatozoide con la cola enrollada (→). 3000x.

Sequence of tail coiling from immature spermatozoa with distal cytoplasmic droplet.

(a) *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet* (→). 2700x. (b) *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet* (→) and 90° folded tail. 2700x. (c) *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet* (→) and 135° folded tail. 2700x. (d) *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet* (→) and 180° partially folded tail at the Jensen's ring. 3000x. (e) *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet* (→) and 180° completely folded tail at Jensen's ring. 3000x. (f) *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and tail folded at Jensen's ring and coiled over the head* (→). 3000x. (g) *Spermatozoon with coiled tail* (→). 3000x.



LÀMINA 5 / LÁMINA 5 / PLATE 5

Microscòpia òptica de contrast de fases positives i negatives, i de contrast interferencial de Nomarski.

Microscopía óptica de contraste de fases positivas y negativas, y de contraste interferencial de Nomarski.

Positive and negative phase-contrast light microscopy, and Nomarski interference contrast microscopy.

FIG. 1. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i la cua doblegada per l'anell de Jensen (A); espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal, la cua doblegada per l'anell de Jensen i l'acrosoma danyat (B); i espermatozoide amb la cua enrotllada (C). Microscòpia de contrast de fases positives. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal y la cola doblegada por el anillo de Jensen (A); espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal, la cola doblegada por el anillo de Jensen y el acrosoma dañado (B); y espermatozoide con la cola enrollada (C). Microscopía de contraste de fases positivas. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and tail folded at the Jensen's ring (A); spermatozoon with distal cytoplasmic droplet, tail folded at the Jensen's ring and damaged acrosome (B); and spermatozoon with coiled tail (C). Positive phase-contrast microscopy. 1800x.*

FIG. 2 (a, b). Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i la cua enrotllada (→). a) Microscòpia de contrast de fases negatives. b) Microscòpia de contrast de fases positives. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal y la cola enrollada (→). a) Microscopía de contraste de fases negativas. b) Microscopía de contraste de fases positivas. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and coiled tail. (a) Negative phase-contrast microscopy. (b) Positive phase-contrast microscopy (→). 2300x.*

FIG. 3 (a, b). Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i la cua doblegada per l'anell de Jensen (→). a) Microscòpia de contrast de fases negatives. b) Microscòpia de contrast de fases positives. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal y la cola doblegada por el anillo de Jensen (→). a) Microscopía de contraste de fases negativas. b) Microscopía de contraste de fases positivas. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and tail folded at Jensen's ring. (a) Negative phase-contrast microscopy. (b) Positive phase-contrast microscopy (→). 2300x.*

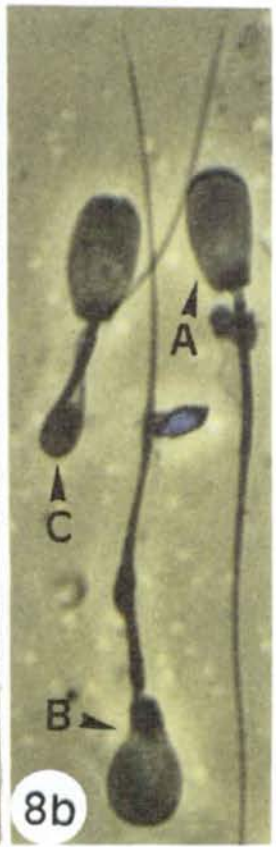
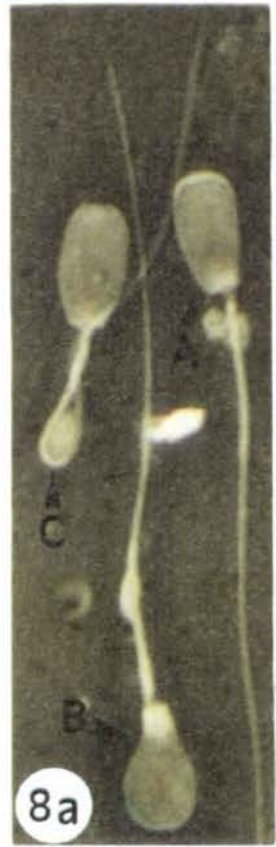
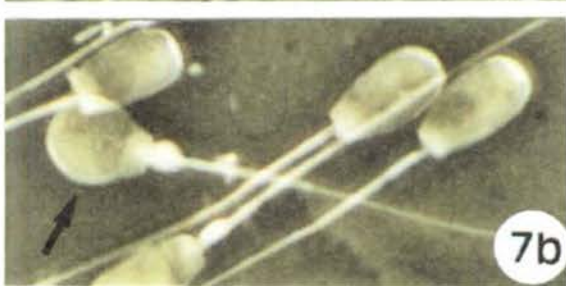
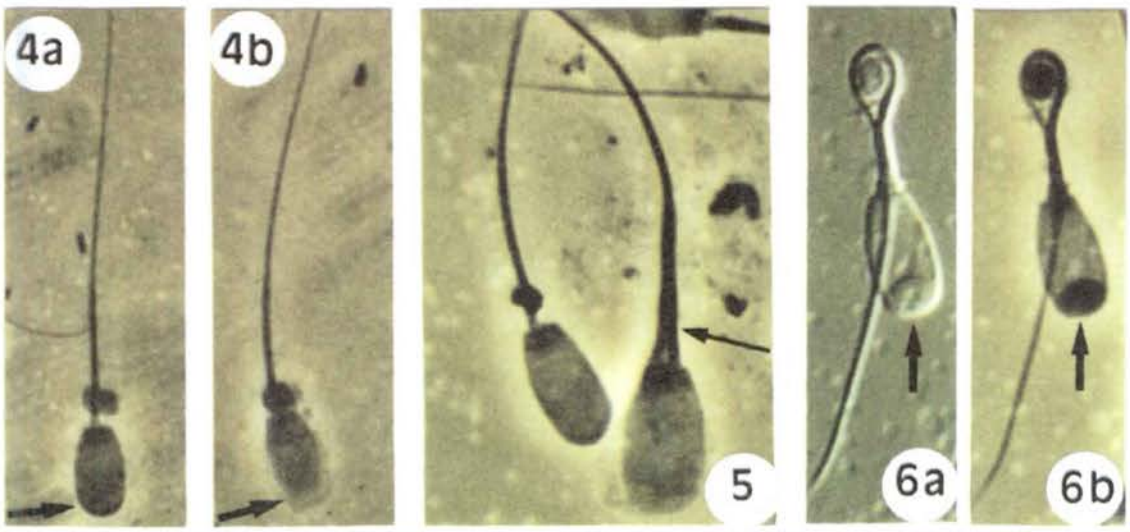
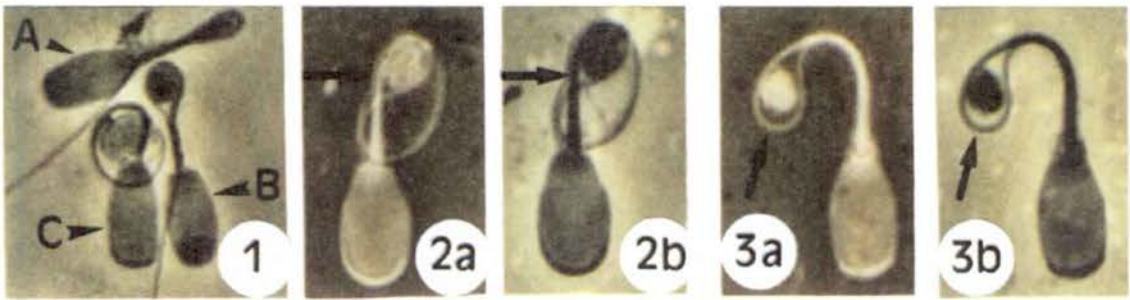
FIG. 4 (a, b). Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. a) Acrosoma intacte (→). b) Acrosoma reaccionat (→). Microscòpia de contrast de fases positives. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica proximal. a) Acrosoma intacto (→). b) Acrosoma reaccionado (→). Microscopía de contraste de fases positivas. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet. (a) Intact acrosome (→). (b) Reacted acrosome (→). Positive phase-contrast microscopy. 1800x.*

FIG. 5. Espermatozoide macrocefàlic amb dues cues fusionades (→). Microscòpia de contrast de fases positives. Espermatozoide macrocefàlic con dos colas fusionadas (→). Microscopía de contraste de fases positivas. *Macrocephalic spermatozoon with two fused tails (→). Positive phase-contrast microscopy. 2300x.*

FIG. 6 (a, b). Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal, cua doblegada per l'anell de Jensen i protuberància acrosòmica danyada (→). a) Microscòpia de contrast interferencial de Nomarski. b) Microscòpia de contrast de fases positives. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal, cola doblegada por el anillo de Jensen y protuberància acrosòmica dañada (→). a) Microscopía de contraste interferencial de Nomarski. b) Microscopía de contraste de fases positivas. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet, tail folded at Jensen's ring and damaged acrosomal protuberance (→). (a) Nomarski interference contrast microscopy. (b) Positive phase-contrast microscopy. 2300x.*

FIG. 7 (a-c). Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i cap arrodonit (→). a) Microscòpia de contrast interferencial de Nomarski. b) Microscòpia de contrast de fases negatives. c) Microscòpia de contrast de fases positives. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica proximal y cabeza redondeada (→). a) Microscopía de contraste interferencial de Nomarski. b) Microscopía de contraste de fases negativas. c) Microscopía de contraste de fases positivas. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet and roundish head (→). (a) Nomarski interference contrast microscopy. (b) Negative phase-contrast microscopy. (c) Positive phase-contrast microscopy. 2300x.*

FIG. 8 (a, b). Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (A); espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal, cap en forma de pera i implantació abaxial de la cua (B); i espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i cua doblegada per l'anell de Jensen (C). a) Microscòpia de contrast de fases negatives. b) Microscòpia de contrast de fases positives. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica proximal (A); espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal, cabeza en forma de pera y implantación abaxial de la cola (B); y espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal y cola doblegada por el anillo de Jensen (C). a) Microscopía de contraste de fases negativas. b) Microscopía de contraste de fases positivas. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet (A); immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet, pear-shaped head and abaxial tail attachment (B); immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and tail folded at Jensen's ring (C). (a) Negative phase-contrast microscopy. (b) Positive phase-contrast microscopy. 2300x.*



LÀMINA 6 / LÁMINA 6 / PLATE 6

Microscòpia òptica; altres tècniques.

Microscopía óptica; otras técnicas.

Light microscopy; other techniques.

FIG. 1. Microscòpia òptica de camp fosc. Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (→). Microscopía óptica de campo oscuro. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmática proximal (→). *Dark-field light microscopy. Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet* (→). 1200x.

FIG. 2. Microscòpia òptica de camp clar. Tinció amb hematoxilina-eosina. Espermatzoides madurs i espermatzoide amb dues cues fusionades (→). Microscopía óptica de campo claro. Tinción con hematoxilina-eosina. Espermatzoides maduros y espermatzoide con dos colas fusionadas (→). *Bright-field light microscopy. Haematoxylin-eosin staining. Mature spermatozoa and spermatozoon with two fused tails.* (→). 1200x.

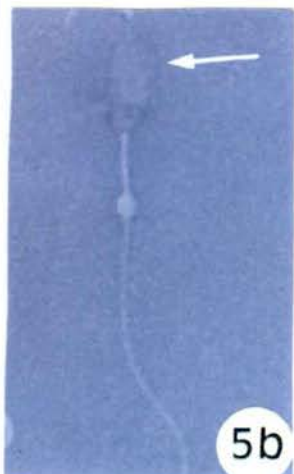
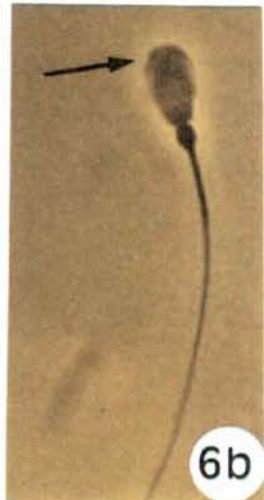
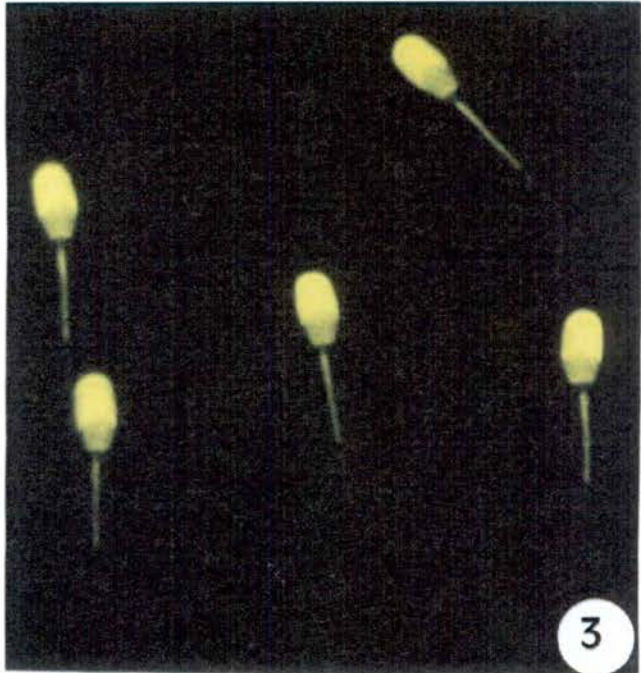
FIG. 3. Microscòpia òptica d'epifluorescència. Tinció amb taronja d'acridina (fluorocrom). Espermatzoides madurs vius. Microscopía óptica de epifluorescencia. Tinción con naranja de acridina (fluorocromo). Espermatzoides maduros vivos. *Epifluorescence light microscopy. Acridine orange staining (fluorochrome). Live mature spermatozoa.* 1200x.

FIG. 4 (a, b). Microscòpia òptica de camp clar. Tècnica de l'eosina per a la determinació de la vitalitat espermàtica. a) Espermatzoide viu (cap no tenyit) (→). b) Espermatzoide mort (cap rosat) (→). Microscopía óptica de campo claro. Técnica de la eosina para la determinación de la vitalidad espermática. a) Espermatzoide vivo (cabeza no teñida) (→). b) Espermatzoide muerto (cabeza rosada) (→). *Bright-field light microscopy. Eosin test to determine sperm vitality. (a) Live spermatozoon (unstained head) (→). (b) Dead spermatozoon (pink head) (→).* 1200x.

FIG. 5 (a, b). Microscòpia òptica de camp clar (filtre blau). Tècnica de l'eosina-nigrosina per a la determinació de la vitalitat espermàtica. a) Espermatzoide viu (cap no tenyit) (→). b) Espermatzoide mort (cap tenyit) (→). Microscopía óptica de campo claro (filtro azul). Técnica de la eosina-nigrosina para la determinación de la vitalidad espermática. a) Espermatzoide vivo (cabeza no teñida) (→). b) Espermatzoide muerto (cabeza teñida) (→). *Bright-field light microscopy (blue filter). Eosin-nigrosin test to determine sperm vitality. (a) Live spermatozoon (unstained head) (→). (b) Dead spermatozoon (stained head) (→).* 1200x.

FIG. 6 (a, b). Microscòpia òptica de contrast de fases. Tècnica ORT (test de resistència osmòtica). Medi isotònic de citrat sòdic (300 mosmol). a) Espermatzoide immadur normal. b) Espermatzoide immadur amb l'acrosoma danyat (→). Microscopía óptica de contraste de fases. Técnica ORT (test de resistencia osmótica). Medio isotónico de citrato sódico (300 mosmol). a) Espermatzoide inmaduro normal. b) Espermatzoide inmaduro con el acrosoma dañado (→). *Phase-contrast light microscopy. Isotonic medium of sodium citrate (300 mosmol). (a) Normal immature spermatozoon. (b) Immature spermatozoon with damaged acrosome* (→). 1200x.

FIG. 7 (a, b). Microscòpia òptica de contrast de fases. Tècnica ORT (test de resistència osmòtica). Medi hipotònic de citrat sòdic (150 mosmol). a, b) Espermatzoides amb l'acrosoma danyat (→) i amb doblegament i turgescència de la cua. Microscopía óptica de contraste de fases. Técnica ORT (test de resistencia osmótica). Medio hipotónico de citrato sódico (150 mosmol). a, b) Espermatzoides con el acrosoma dañado (→) y con doblamiento y tumescencia de la cola. *Phase-contrast light microscopy. Hypotonic medium of sodium citrate (150 mosmol). (a, b) Spermatozoa with damaged acrosomes (→) and folded, swollen tails.* 1200x.



LÀMINA 7 / LÁMINA 7 / PLATE 7

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoide madur.

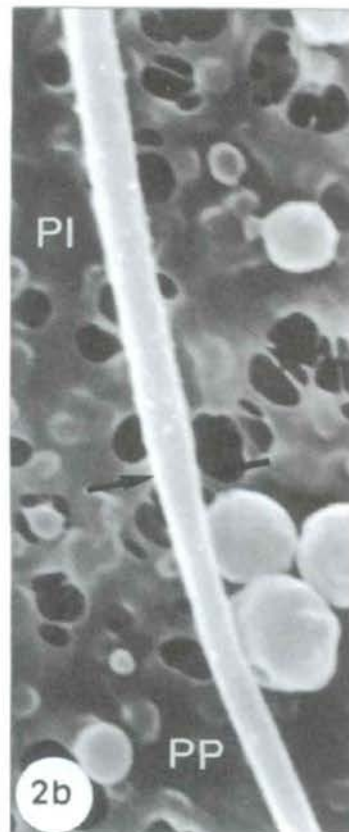
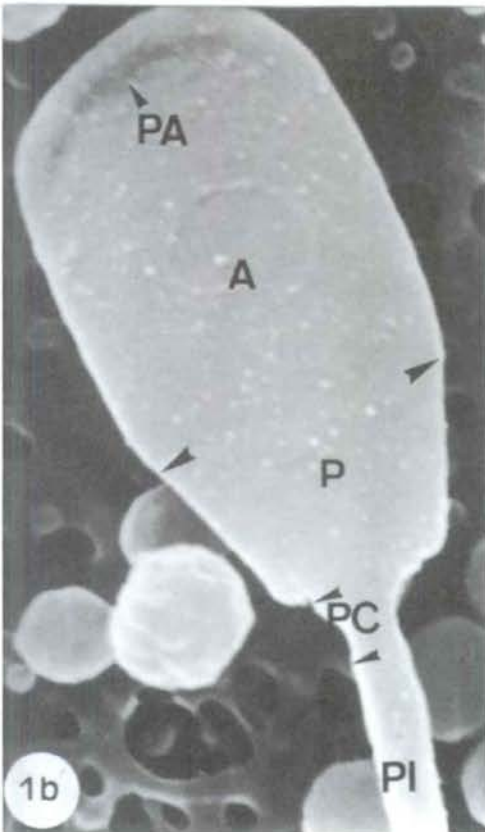
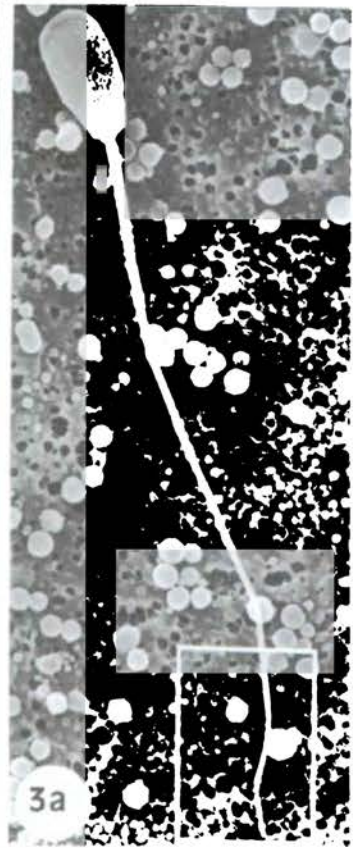
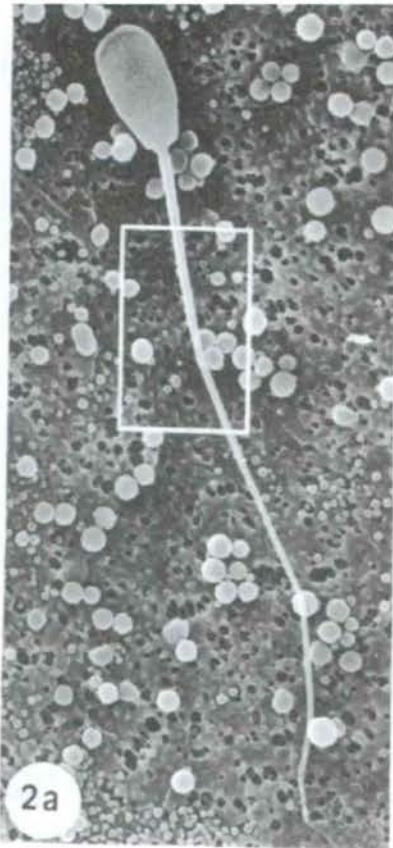
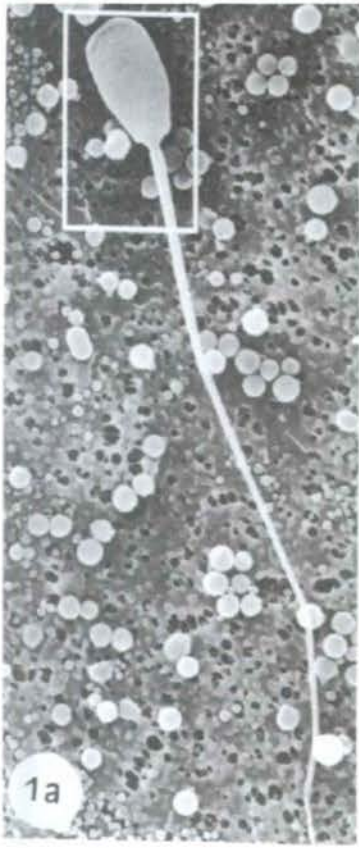
Microscopía electrònica de barrido. Espermatozoide maduro.

Scanning electron microscopy. Mature spermatozoon.

FIG. 1 (a, b). *a*) Aspecte general; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Les sagetes indiquen el límit entre diverses regions de l'espermatozoide. A, regió cefàlica acrosòmica; P, regió cefàlica postacrosòmica; PA, protuberància acrosòmica; PC, peça de connexió o coll; PI, peça intermèdia o mitocondrial. *a*) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Las puntas de flecha indican el límite entre diversas regiones del espermatozoide. A, región cefálica acrosómica; P, región cefálica postacrosómica; PA, protuberancia acrosómica; PC, pieza de conexión o cuello; PI, pieza intermedia o mitocondrial. *(a)* General view; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* The arrowheads point to the limits of several spermatozoic regions. A, acrosomal cephalic region; P, postacrosomal cephalic region; PA, acrosomal protuberance; PC, connecting piece or neck; PI, midpiece or mitochondrial piece. *a*) 2400x; *b*) 11400x.

FIG. 2 (a, b). *a*) Aspecte general; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Les sagetes indiquen el límit entre dues regions de la cua de l'espermatozoide. PI, peça intermèdia; PP, peça principal. *a*) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Las flechas indican el límite entre dos regiones de la cola del espermatozoide. PI, pieza intermedia; PP, pieza principal. *(a)* General view; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* The arrows indicate the limit between two regions of the spermatozoon's tail. PI, midpiece; PP, principal piece. *a*) 2400x; *b*) 11400x.

FIG. 3 (a, b). *a*) Aspecte general; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Les sagetes indiquen el límit entre dues regions de la cua de l'espermatozoide. PP, peça principal; PT, peça terminal. *a*) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Las flechas indican el límite entre dos regiones de la cola del espermatozoide. PP, pieza principal; PT, pieza terminal. *(a)* General view; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* The arrows indicate the limit between two regions of the spermatozoon's tail. PP, principal piece; PT, terminal piece. *a*) 2400x; *b*) 11400x.



LÀMINA 8 / LÁMINA 8 / PLATE 8

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoide madur.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoide maduro.

Scanning electron microscopy. Mature spermatozoon.

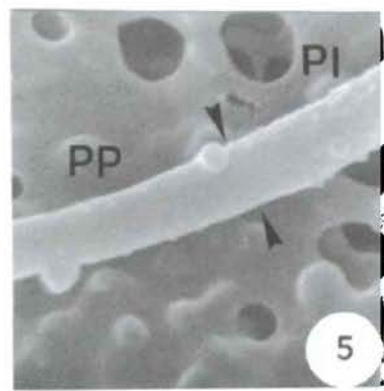
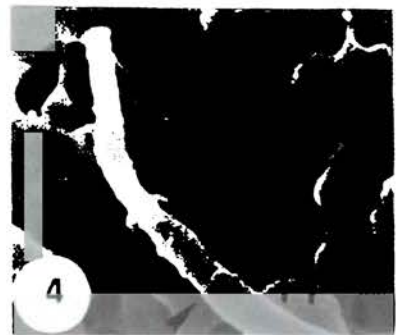
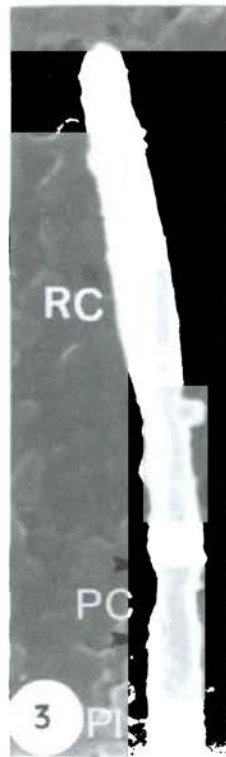
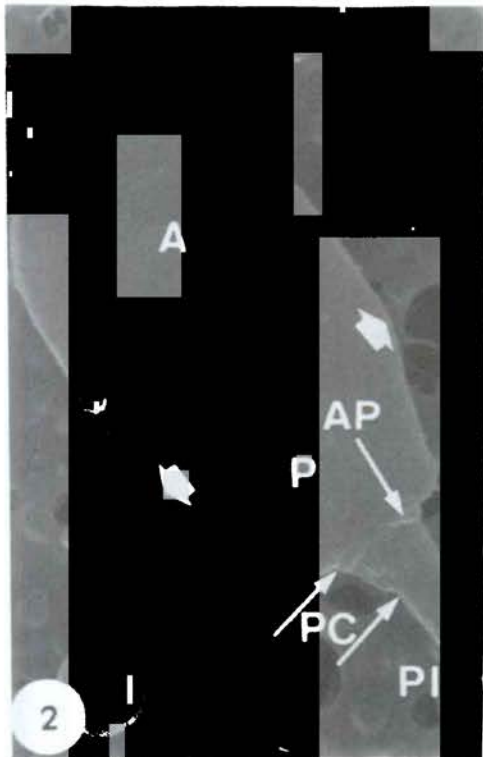
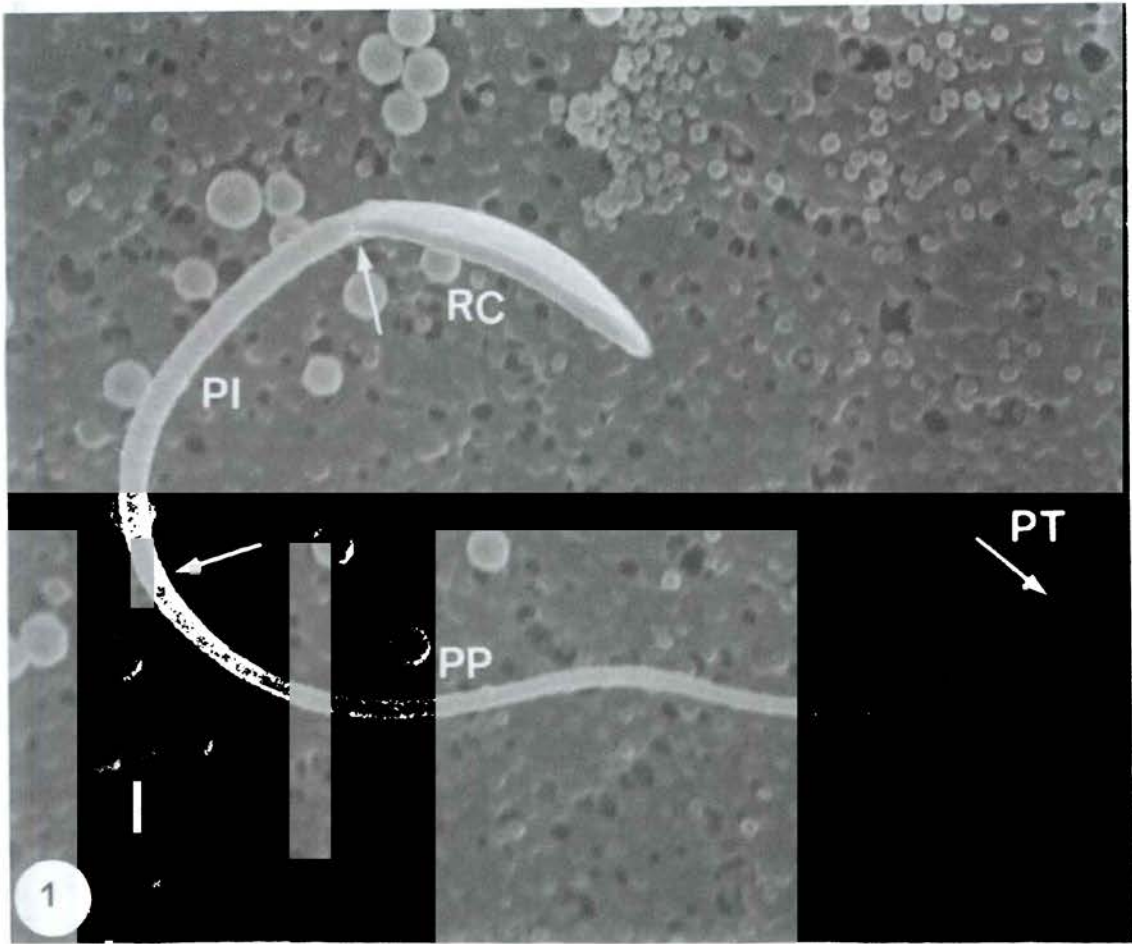
FIG. 1. Aspecte general del perfil d'un espermatozoide madur. Observi's el cap pla (RC). Les sagetes indiquen el límit entre diverses regions de l'espermatozoide. RC, regió cefàlica o cap; PI, peça intermèdia; PP, peça principal; PT, peça terminal. Aspecto general del perfil de un espermatozoide maduro. Obsérvese la cabeza llana (RC). Las flechas indican el límite entre diversas regiones del espermatozoide. RC, región cefálica o cabeza; PI, pieza intermedia; PP, pieza principal; PT, pieza terminal. *General side view of a mature spermatozoon. Notice the flat head. The arrows point to the boundaries between several spermatozoic regions. RC, cephalic region or head; PI, midpiece; PP, principal piece; PT, terminal piece. 5 800x.*

FIG. 2. Aspecte general de la regió cefàlica i de la peça de connexió. Les sagetes indiquen el límit entre diverses regions de l'espermatozoide. Observi's que aquesta cara del cap de l'espermatozoide no presenta la protuberància acrosòmica evident en l'altra cara (figura 1, làmina 7). Observi's l'anell postcefàlic (AP) en el límit entre el cap i la cua. A, regió cefàlica acrosòmica; P, regió cefàlica postacrosòmica; PC, peça de connexió; PI, peça intermèdia. Aspecto general de la región cefálica y de la pieza de conexión. Las flechas indican el límite entre diversas regiones del espermatozoide. Obsérvese como esta cara de la cabeza del espermatozoide no presenta la protuberancia acrosómica evidente en la otra cara (figura 1, lámina 7). Obsérvese el anillo postcefálico (AP) en el límite entre la cabeza y la cola. A, región cefálica acrosómica; P, región cefálica postacrosómica; PC, pieza de conexión; PI, pieza intermedia. *General view of the cephalic region and the connecting piece. The arrows point to the boundaries between several spermatozoic regions. Note that this face of the spermatozoon's head does not present the acrosomal protuberance evident in the other face (figure 1, plate 7). Note the postcephalic ring (AP) at the boundary line between the head and tail of the spermatozoon. A, acrosomal cephalic region; P, postacrosomal cephalic region; PC, connecting piece; PI, midpiece. 10 000x.*

FIG. 3. Perfil de la regió cefàlica (RC) i de la peça de connexió (PC). Observi's que el perfil de la peça de connexió és més estret que el de la peça intermèdia (PI). Les sagetes indiquen el límit entre diverses regions de l'espermatozoide. Perfil de la regió cefàlica (RC) y de la pieza de conexión (PC). Obsérvese que el perfil de la pieza de conexión és más estrecho que el de la pieza intermedia (PI). Las puntas de flecha indican el límite entre diversas regiones del espermatozoide. *Side view of the cephalic region (RC) and the connecting piece (PC). Note the narrower profile of the connecting piece compared to that of the midpiece (PI). The arrowheads point to the between several spermatozoic regions. 10 000x.*

FIG. 4. Límit (sagetes) entre les peces principal (PP) i terminal (PT) de la cua de l'espermatozoide. Límite (puntas de flecha) entre las piezas principal (PP) y terminal (PT) de la cola del espermatozoide. *Boundary (arrowheads) between the principal piece (PP) and the terminal piece (PT) of the tail of the spermatozoon. 17 000x.*

FIG. 5. Límit (sagetes) entre les peces intermèdia (PI) i principal (PP) de la cua de l'espermatozoide. Límite (puntas de flecha) entre las piezas intermedia (PI) y principal (PP) de la cola del espermatozoide. *Boundary (arrowheads) between the midpiece (PI) and the principal piece (PP) of the tail of the spermatozoon. 17 000x.*



LÀMINA 9 / LÁMINA 9 / PLATE 9

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmática proximal.

Scanning electron microscopy. Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet.

FIG. 1. Aspecte general; les zones emmarcades són ampliades en les figures 2, 3 i 4. Aspecto general; las zonas emmarcadas están ampliadas en las figuras 2, 3 y 4. *General view; the framed areas are enlarged in figures 2, 3 and 4.* 1 800×.

FIG. 2. La sageta indica el límit entre les peces principal (PP) i terminal (PT). La flecha indica el límit entre las piezas principal (PP) y terminal (PT). *The arrow points to the boundary between the principal (PP) and terminal (PT) pieces.* 14 000×.

FIG. 3. Detall del cap o regió cefàlica (RC) i de la gota citoplasmàtica (GC). Detalle de la cabeza o región cefálica (RC) y de la gota citoplasmática (GC). *Detail of the head or cephalic region (RC) and the cytoplasmic droplet (GC).* 7 500×.

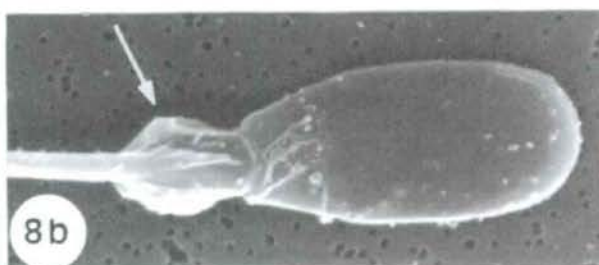
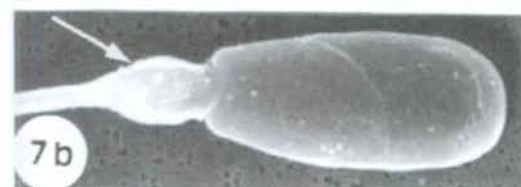
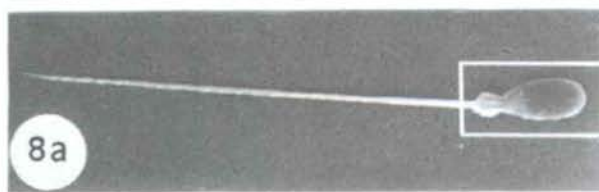
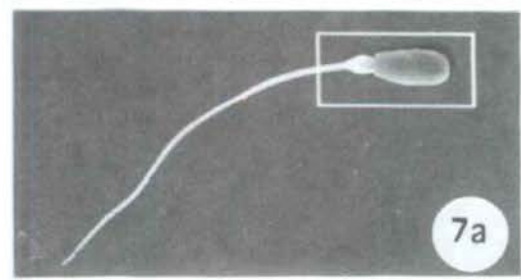
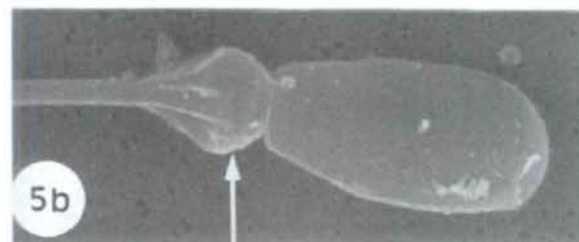
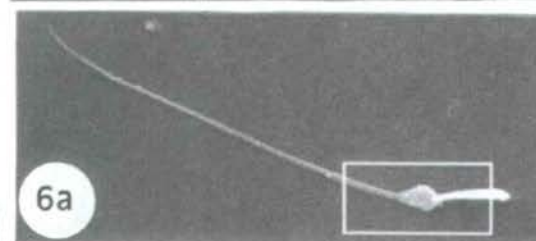
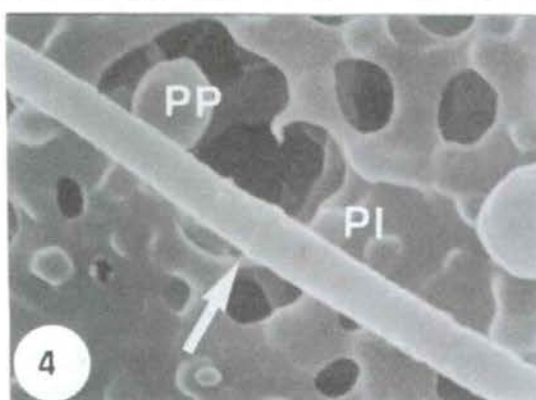
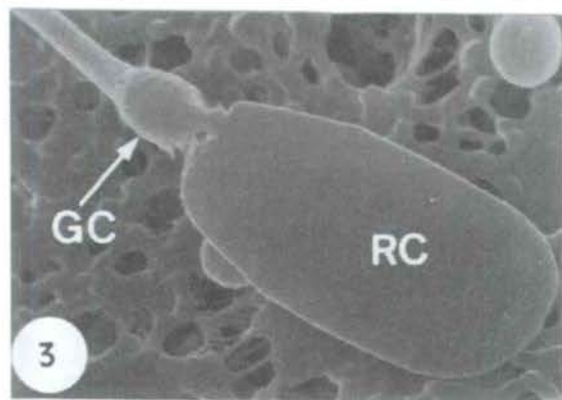
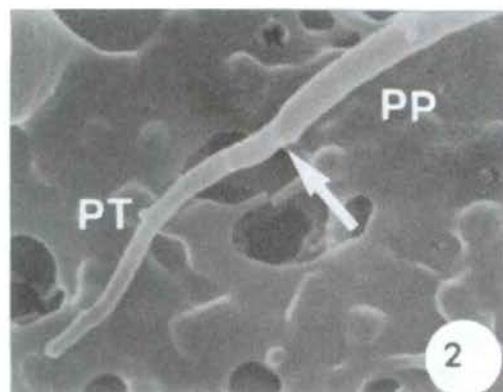
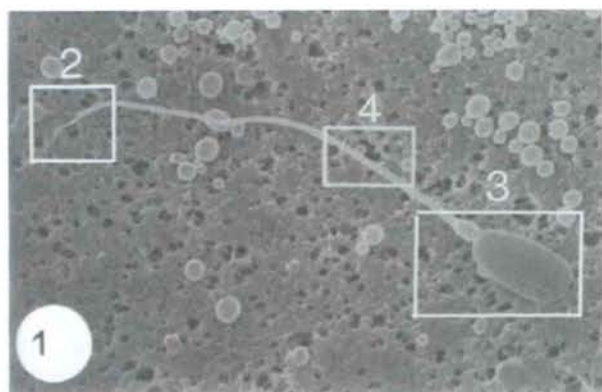
FIG. 4. La sageta indica el límit entre les peces intermèdia (PI) i principal (PP). La flecha indica el límit entre las piezas intermedia (PI) y principal (PP). *The arrow points to the junction of the midpiece (PI) and the principal piece (PP).* 14 000×.

FIG. 5 (a, b). Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal en fase inicial. a) Aspecte general; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de la gota citoplasmàtica; la massa principal de la gota (→) s'apropa al cap. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmática proximal en fase inicial. a) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la gota citoplasmática; la masa principal de la gota (→) se acerca a la cabeza. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet in initial phase. (a) General view; framed area enlarged in figure b. (b) Cytoplasmic droplet detail; the droplet principal mass (→) is nearing the head.* a) 1 100×; b) 4 400×.

FIG. 6 (a, b). Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal en fase inicial. a) Aspecte general i de perfil; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de la gota citoplasmàtica; la massa principal de la gota (→) s'apropa al cap. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmática proximal en fase inicial. a) Aspecto general y de perfil; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la gota citoplasmática; la masa principal de la gota (→) se acerca a la cabeza. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet in initial phase. (a) General and side view; framed area enlarged in figure b. (b) Cytoplasmic droplet detail; the droplet principal mass (→) is nearing the head.* a) 1 100×; b) 4 400×.

FIG. 7 (a, b). Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal en fase intermèdia. a) Aspecte general; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de la gota citoplasmàtica; la massa principal de la gota (→) ocupa la part central de la peça de connexió. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmática proximal en fase intermedia. a) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la gota citoplasmática; la masa principal de la gota (→) ocupa la parte central de la pieza de conexión. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet in intermediate phase. (a) General view; framed area enlarged in figure b. (b) Cytoplasmic droplet detail; the droplet principal mass (→) occupies the central part of the connecting piece.* a) 1 100×; b) 4 400×.

FIG. 8 (a, b). Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal en fase terminal, moments abans d'iniciar el seu descens per la peça intermèdia. a) Aspecte general; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de la gota citoplasmàtica; la massa principal de la gota (→) es desplaça cap a la peça intermèdia. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmática proximal en fase terminal, momentos antes de iniciar su descenso per la pieza intermedia. a) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la gota citoplasmática; la masa principal de la gota (→) se desplaza hacia la pieza intermedia. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet in terminal phase, just before beginning its descent along the midpiece. (a) General view; framed area enlarged in figure b. (b) Cytoplasmic droplet detail; the droplet principal mass (→) moves down the midpiece.* a) 1 100×; b) 4 400×.



LÀMINA 10 / LÁMINA 10 / PLATE 10

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica distal.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmática distal.

Scanning electron microscopy. Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet.

FIG. 1. Aspecte general de dos espermatzoides immadurs, un amb gota citoplasmàtica proximal (GP) i l'altre amb gota citoplasmàtica distal (GD). Aspecto general de dos espermatzoides inmaduros, uno con gota citoplasmática proximal (GP) y el otro con gota citoplasmática distal (GD). *General view of two immature spermatozoa, one of them with proximal cytoplasmic droplet (GP) and the other with distal cytoplasmic droplet (GD).* 6000x.

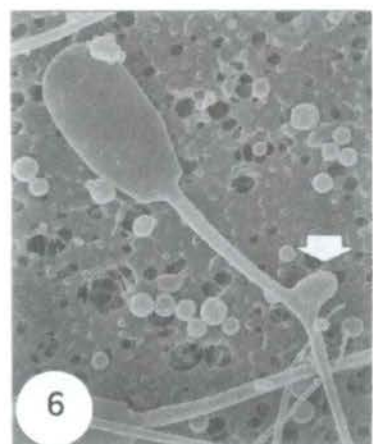
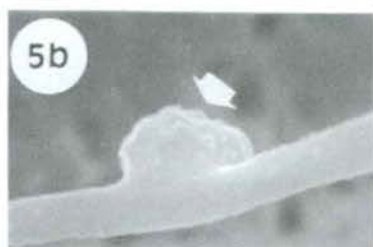
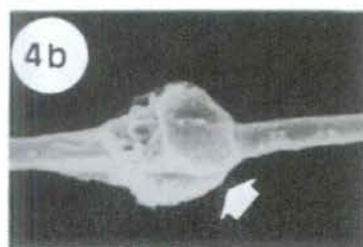
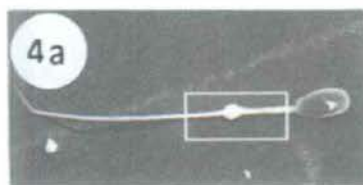
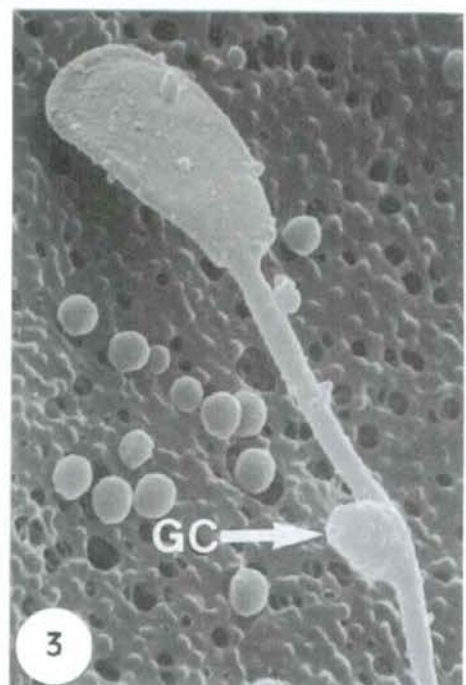
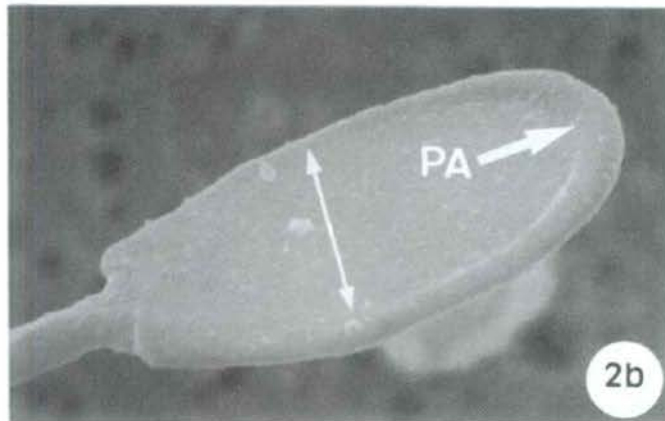
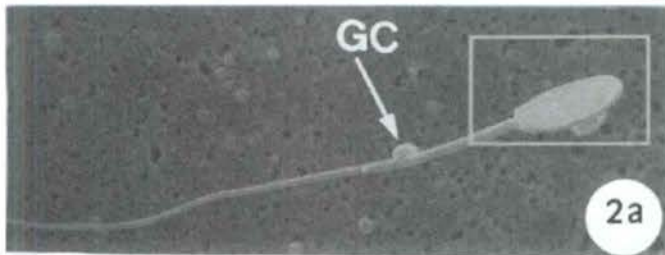
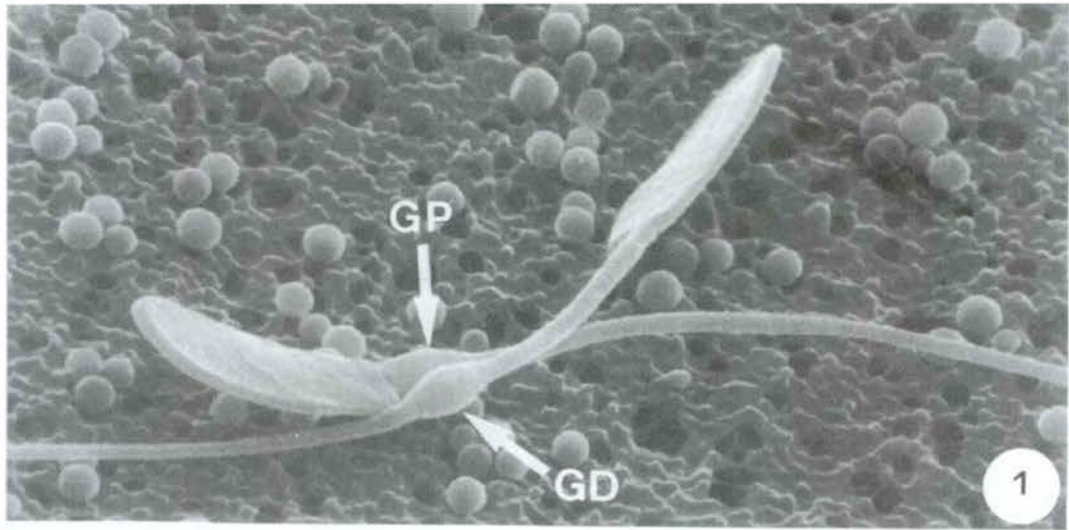
FIG. 2 (a, b). a) Aspecte general; requadre ampliat en la figura b. GC, gota citoplasmàtica. b) Regió cefàlica. Observi's el gran desenvolupament de la protuberància acrosòmica (PA) que s'estén fins als límits de la regió cefàlica acrosòmica (→). a) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura b. GC, gota citoplasmática. b) Región cefálica. Obsérvese el gran desarrollo de la protuberancia acrosómica (PA) que se extiende hasta los límites de la región cefálica acrosómica (→). (a) *General view; framed area enlarged in figure b. GC, cytoplasmic droplet. (b) Cephalic region. Note the great development of the acrosomal protuberance (PA) which extends down to the boundary of the acrosomal cephalic region (→).* a) 1800x; b) 9500x.

FIG. 3. Espermatzoide immadur amb la gota citoplasmàtica distal en posició excèntrica (GC) moments abans de ser expulsada. Espermatzoide inmaduro con la gota citoplasmática distal en posición excéntrica (GC) momentos antes de ser expulsada. *Immature spermatozoon with the distal cytoplasmic droplet in an eccentric position (GC) just before being released.* 5200x.

FIG. 4 (a, b). a) Aspecte general; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de la gota citoplasmàtica distal (→). a) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la gota citoplasmática distal (→). (a) *General view; framed area enlarged in figure b. (b) Distal cytoplasmic droplet detail (→).* a) 1000x; b) 6800x.

FIG. 5 (a, b). a) Aspecte general; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de la gota citoplasmàtica en posició excèntrica (→) moments abans de desprender's, entre les peces intermèdia i principal. a) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la gota citoplasmática en posición excéntrica (→) momentos antes de desprenderse, entre las piezas intermedia y principal. (a) *General view; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the cytoplasmic droplet in an eccentric position (→) just before being released, between the midpiece and the principal piece.* a) 1000x; b) 10000x.

FIG. 6. Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica distal excèntrica (→) moments abans de ser expulsada. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmática distal excéntrica (→) momentos antes de ser expulsada. *Immature spermatozoon with eccentric distal cytoplasmic droplet (→) just before being released.* 3000x.



LÀMINA 11 / LÁMINA 11 / PLATE 11

Microscòpia electrònica de rastreig. Malformacions característiques dels espermatozoides immadurs.

Microscopía electrónica de barrido. Malformaciones características de los espermatozoides inmaduros.

Scanning electron microscopy. Characteristic malformations of the immature spermatozoa.

FIG. 1 (a, b). a) Aspecte general; requadre ampliat en la figura b. b) Gran gota citoplasmàtica (→) situada al final de la peça principal. a) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura b. b) Gran gota citoplasmática (→) situada al final de la pieza principal. (a) General view; framed area enlarged in figure b. (b) Voluminous cytoplasmic droplet (→) settled at the ending of the principal piece. a) 1800×; b) 9000×.

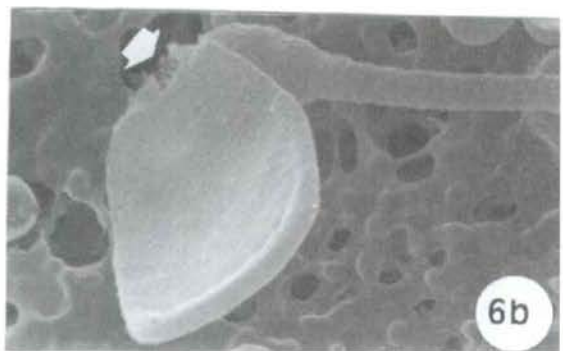
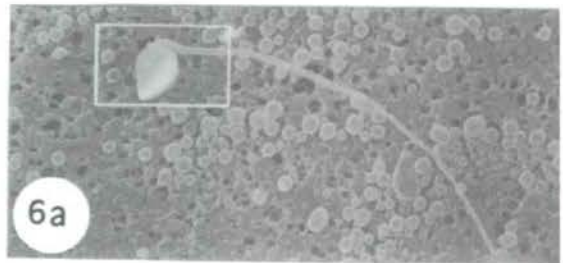
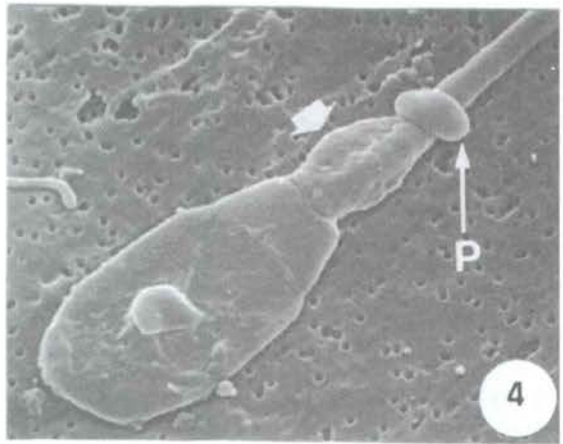
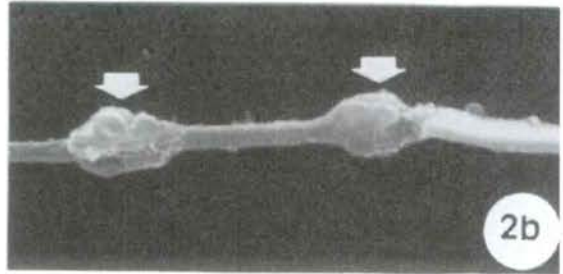
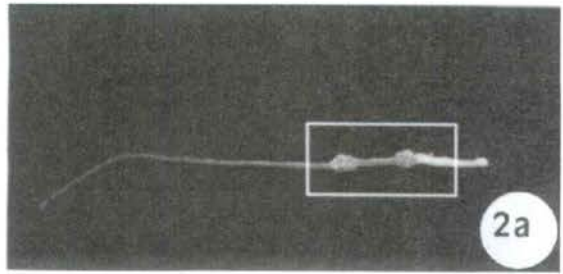
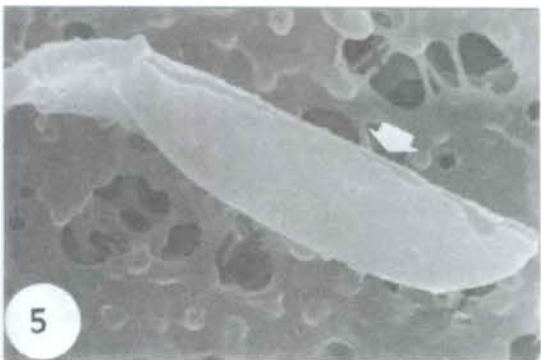
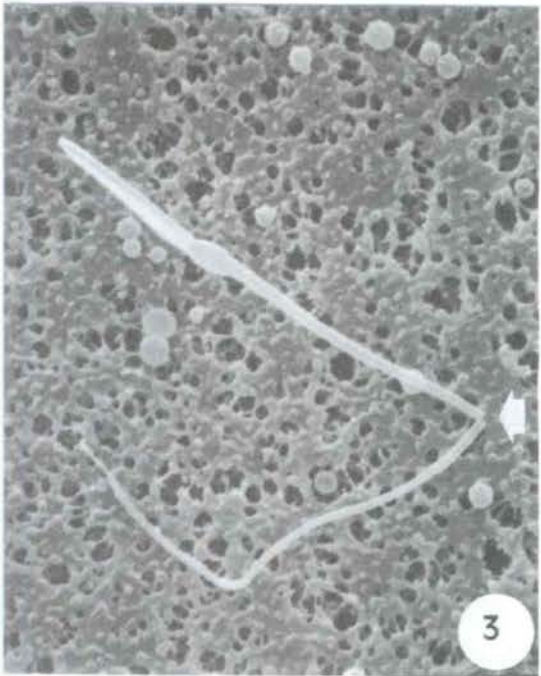
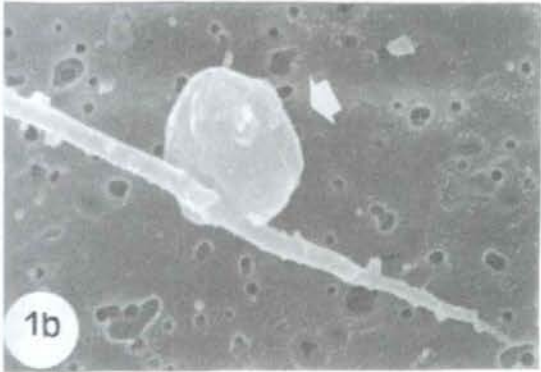
FIG. 2 (a, b). a) Aspecte general; requadre ampliat en la figura b. b) Dues gotes citoplasmàtiques (→), una en posició proximal i l'altra en posició distal. a) Aspecto general; recuadro ampliado en la figura b. b) Dos gotas citoplasmáticas (→), una en posición proximal y la otra en posición distal. (a) General view; framed area enlarged in figure b. (b) Two cytoplasmic droplets (→), one of them in proximal position and the other in distal position. a) 1200×; b) 6000×.

FIG. 3. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i la cua fracturada per la peça principal (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal y la cola fracturada por la pieza principal (→). *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet and the tail broken at the point of the principal piece (→)*. 3600×.

FIG. 4. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal anòmala (→). La gota citoplasmàtica presenta un gran desenvolupament i acaba en un botó prominent (P). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática anómala (→). La gota citoplasmática presenta un gran desarrollo y acaba en un botón prominente (P). *Immature spermatozoon with abnormal cytoplasmic droplet (→)*. The cytoplasmic droplet displays great development and finishes in a prominent button (P). 6300×.

FIG. 5. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i el cap fracturat longitudinalment (→). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y la cabeza fracturada longitudinalmente (→). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet and head broken lengthwise (→)*. 3000×.

FIG. 6 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal; requadre ampliat en la figura b. b) Cap fracturat transversalment (→) en el límit amb la gota citoplasmàtica. a) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza fracturada transversalmente (→) en el límite con la gota citoplasmática. (a) General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b. (b) Head transversely broken (→) at its boundary with the cytoplasmic droplet. a) 1800×; b) 9000.



LÀMINA 12 / LÁMINA 12 / PLATE 12

Microscòpia electrònica de rastreig. Doblegaments transversals del cap d'espermatozoides immadurs.
Microscopía electrónica de barrido. Doblamiento transversales de la cabeza de espermatozoides inmaduros.

Scanning electron microscopy. Transverse foldings of immature spermatozoa heads.

FIG. 1. Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica distal amb una lleugera torsió lateral de la regió cefàlica acrosòmica. Les sagetes indiquen el límit entre les regions cefàliques acrosòmica i postacrosòmica. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmàtica distal con una ligera torsión lateral de la región cefàlica acrosòmica. Las flechas indican el límite entre las regiones cefàlicas acrosòmica y postacrosòmica. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet displaying a laterally slight bending of the acrosomal cephalic region. Arrows indicate the boundary between the acrosomal and postacrosomal cephalic regions.* 4 500x.

FIG. 2. Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. El cap està doblegat transversalment en el límit entre les regions cefàliques acrosòmica i postacrosòmica. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmàtica proximal. La cabeza se halla doblada transversalmente en el límite entre las regiones cefàlicas acrosòmica y postacrosòmica. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet. The head is transversely folded at the boundary between the acrosomal and postacrosomal cephalic regions.* 5 400x.

FIG. 3. Espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i la cua doblegada. El cap es doblega transversalment en la regió cefàlica acrosòmica. Espermatzoide inmaduro con gota citoplasmàtica distal. La cabeza se dobla transversalmente en la regió cefàlica acrosòmica. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet. The head transversely folds at the acrosomal cephalic region.* 4 500x.

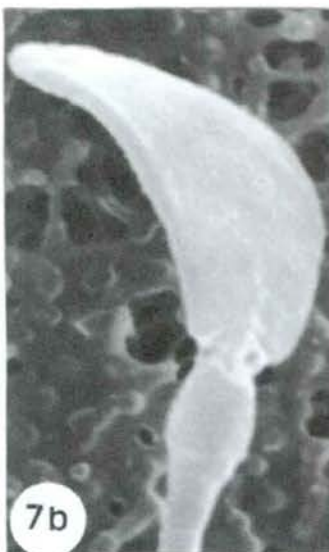
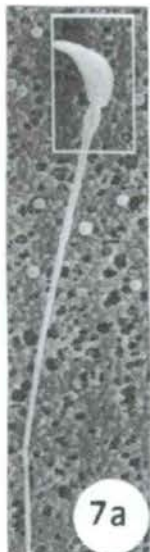
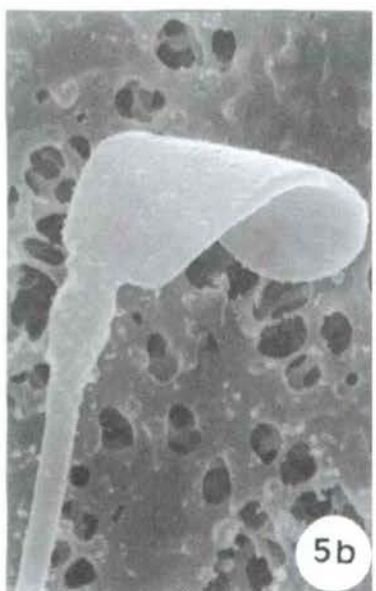
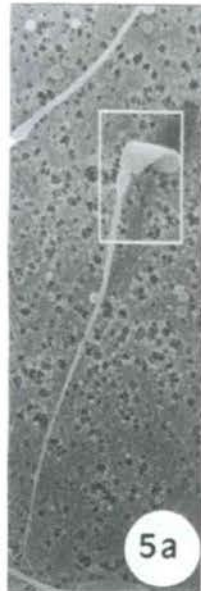
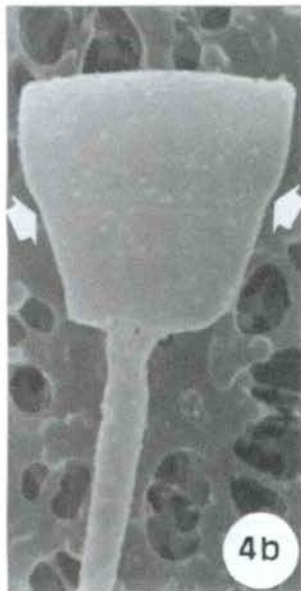
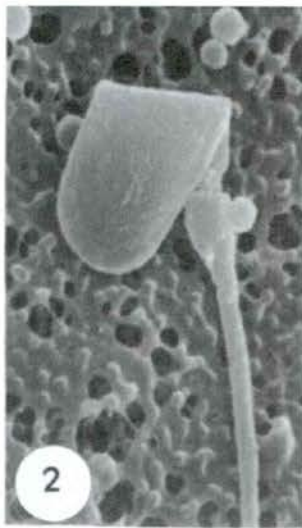
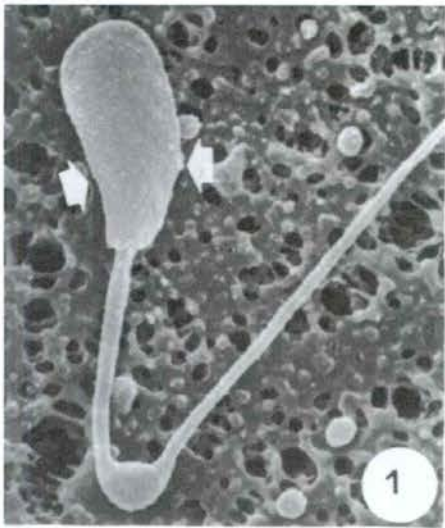
FIG. 4 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica distal; requadre ampliat en la figura b. b) Cap doblegat transversalment per la regió cefàlica acrosòmica. Les sagetes indiquen el límit entre les regions cefàliques acrosòmica i postacrosòmica. a) Aspecto general de un espermatzoide inmaduro con gota citoplasmàtica distal; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza doblada transversalmente por la región cefàlica acrosòmica. Las flechas indican el límite entre las regiones cefàlicas acrosòmica y postacrosòmica. *(a) General view of an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b. (b) Head transversely folded near the acrosomal cephalic region. Arrows point to the boundary between the acrosomal and postacrosomal cephalic regions.* a) 2 000x; b) 10 000x.

FIG. 5 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal; requadre ampliat en la figura b. b) Cap corbat transversalment en tota la seva extensió. a) Aspecto general de un espermatzoide inmaduro con gota citoplasmàtica proximal; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza curvada transversalmente en toda su extensión. *(a) General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b. (b) Head transversely bent along its complete width.* a) 1 500x; b) 7 500x.

FIG. 6 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal; requadre ampliat en la figura b. b) Cap lleugerament doblegat en el límit (→) entre les regions cefàliques acrosòmica i postacrosòmica. a) Aspecto general de un espermatzoide inmaduro con gota citoplasmàtica proximal; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza ligeramente doblada en el límit (→) entre las regiones cefàlicas acrosòmica y postacrosòmica. *(a) General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b. (b) Head with a slightly bending at the boundary (→) between the acrosomal and postacrosomal cephalic regions.* a) 1 200x; b) 6 000x.

FIG. 7 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatzoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal; requadre ampliat en la figura b. b) Cap lleugerament corbat en tota la seva extensió. a) Aspecto general de un espermatzoide inmaduro con gota citoplasmàtica proximal; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza ligeramente curvada en toda su extensión. *(a) General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b. (b) Head slightly bent along its complete width.* a) 1 800x; b) 9 000x.

FIG. 8. Aspecte més lateralitzat de l'espermatzoide de la figura 7 on s'observa de forma més manifesta la torsió general del cap. Aspecto más lateralizado del espermatzoide de la figura 7 en que se observa de forma más manifesta la curvatura general de la cabeza. *Another side view of the spermatozoon depicted in figure 7, showing more the general bending of the head more clearly.* 4 500x.



LÀMINA 13 / LÁMINA 13 / PLATE 13

Microscòpia electrònica de rastreig. Doblegaments longitudinals del cap d'espermatozoides madurs o immadurs amb gota distal.

Microscopía electrónica de barrido. Doblamiento longitudinal de la cabeza de espermatozoides maduros o inmaduros con gota distal.

Scanning electron microscopy. Lateral foldings of the head (or rolled heads) of mature and immature spermatozoa with distal droplet.

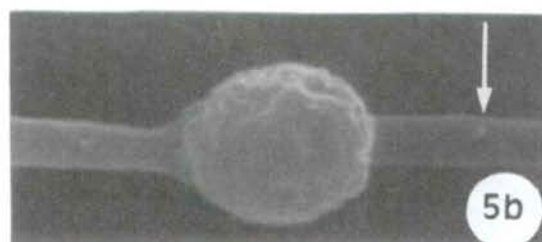
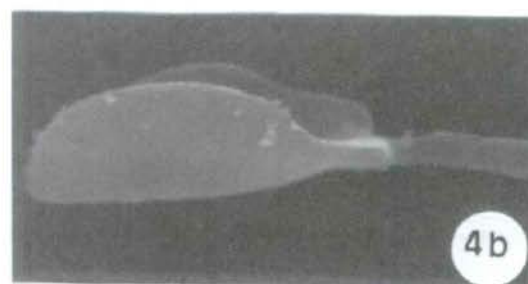
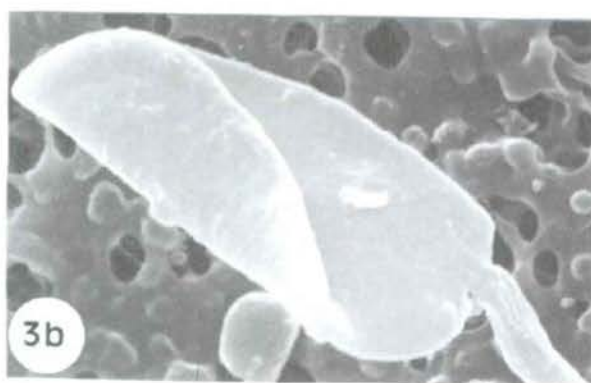
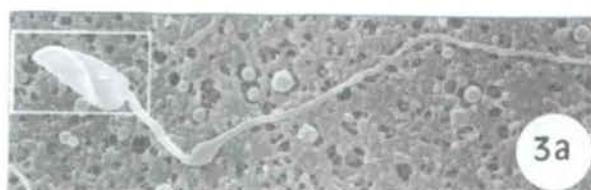
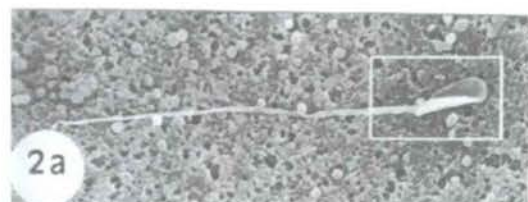
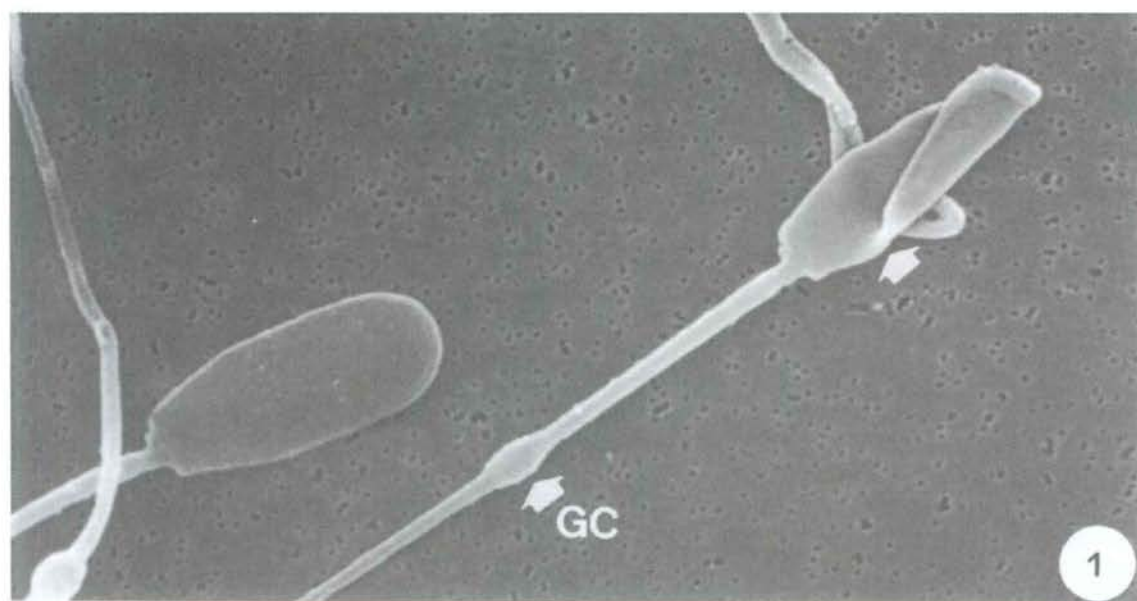
FIG. 1. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (GC) i el cap doblegat longitudinalment a partir de la regió cefàlica. La sageta indica el límit entre les regions cefàliques acrosòmica i postacrosòmica. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal (GC) y la cabeza doblada longitudinalmente a partir de la región cefálica acrosómica. La flecha indica el límite entre las regiones cefálicas acrosómica y postacrosómica. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (GC) and head folded laterally or rolled from the acrosomal cephalic region. The arrow points to the boundary between the acrosomal and postacrosomal cephalic regions.* 5 200x.

FIG. 2 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide madur; requadre ampliat en la figura b. b) Cap doblegat longitudinalment des de la seva base. a) Aspecto general de un espermatozoide maduro; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza doblada longitudinalmente desde su base. (a) *General view of a mature spermatozoon; framed area enlarged in figure b.* (b) *Head rolled from its base.* a) 1 300x; b) 6 500x.

FIG. 3 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal; requadre ampliat en la figura b. b) Cap doblegat longitudinalment des de la protuberància acrosòmica. a) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmàtica distal; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza doblada longitudinalmente desde la protuberancia acrosómica. (a) *General view of an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b.* (b) *Head rolled from the acrosomal protuberance.* a) 2 000x; b) 10 000x.

FIG. 4 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide immadur; requadre ampliat en la figura b. b) Cap completament doblegat per l'eix longitudinal. a) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza completamente doblada siguiendo el eje longitudinal. (a) *General view of an immature spermatozoon; framed area enlarged in figure b.* 1 800 (b) *Head completely rolled on its longitudinal axis.* a) 1 800x; b) 7 200x.

FIG. 5 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide immadur; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de la voluminosa gota citoplasmàtica en posició mediodistal; la gota s'observa molt rarament en aquesta posició. La sageta mostra el límit entre les peces intermèdia i principal. a) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la voluminosa gota citoplasmàtica en posición medio-distal; la gota se observa en raras ocasiones en esta posición. La flecha muestra el límite entre las piezas intermedia y principal. (a) *General view of an immature spermatozoon; framed area enlarged in figure b.* (b) *Detail of the large rounded cytoplasmic droplet in a partially migrated position on the midpiece; the droplet is very rarely found in this position. The arrow points to the junction of the midpiece and the principal piece.* a) 1 300x; b) 10 400x.



LÀMINA 14 / LÁMINA 14 / PLATE 14

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides sense cap o sense cua.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides sin cabeza o sin cola.

Scanning electron microscopy. Acephalic or tailless spermatozoa (or detached spermatozoa heads).

FIG. 1. Espermatozoides sense cua. La fractura de la cua s'ha produït en la base del cap i sol tenir un origen artefactual. Espermatozoides sin cola. La fractura de la cola se ha producido en la base de la cabeza y suele tener un origen artefactual. *Tailless spermatozoa. The tail-breaking came about at the base of the head and usually has an artifactual origin.* 2700x.

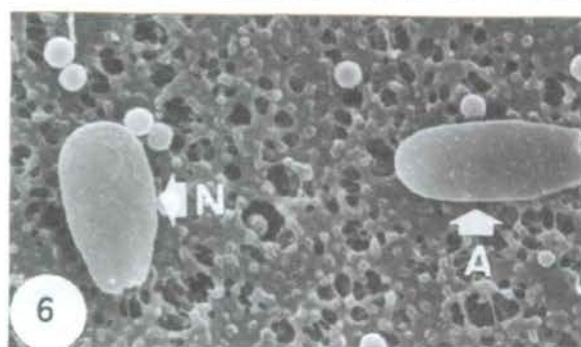
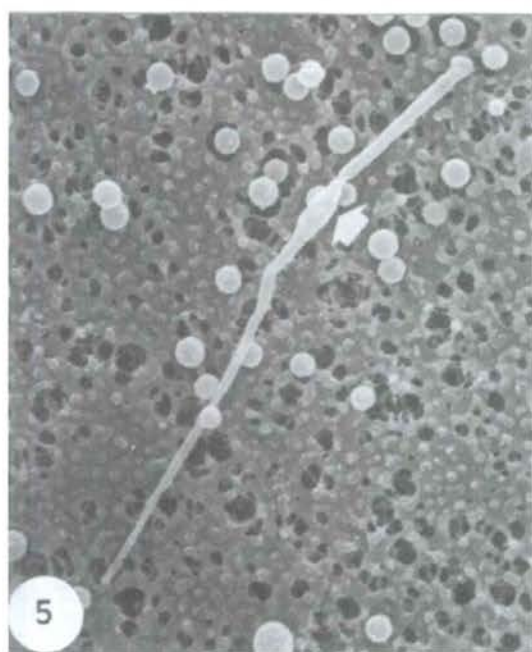
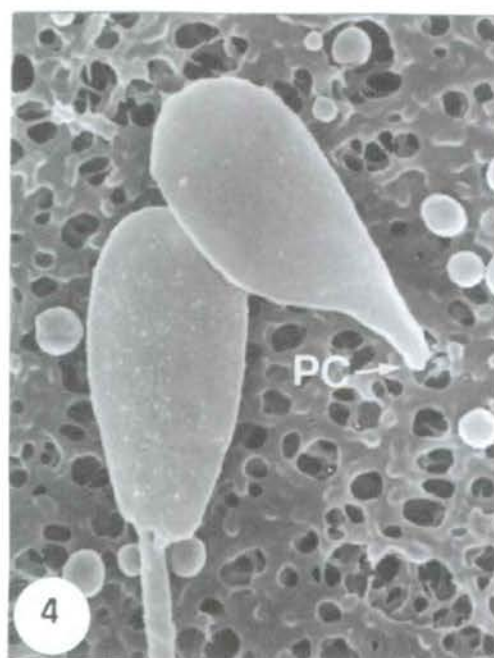
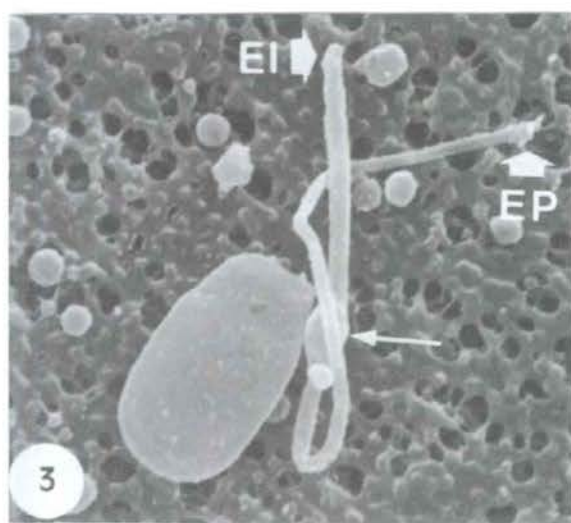
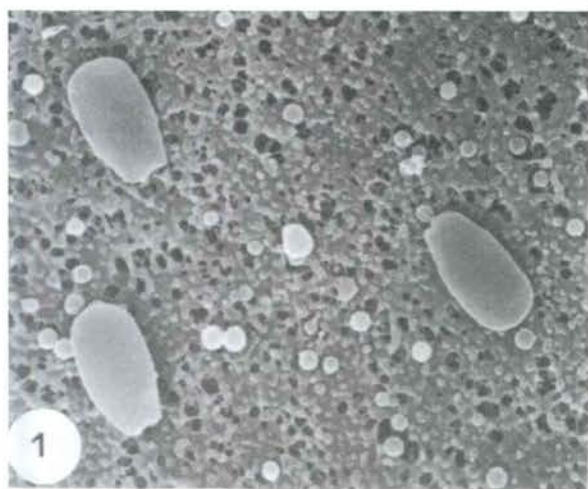
FIG. 2. Cua d'un espermatozoide madur. La fractura de la cua s'ha produït en la base del cap i sol tenir un origen artefactual. Cola de un espermatozoide maduro. La fractura de la cola se ha producido en la base de la cabeza y suele tener un origen artefactual. *Tail of a mature spermatozoon. The tail breaking came about the base of the head and habitually has an artifactual origin.* 2300x.

FIG. 3. Cap i cua separats d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). La peça principal de la cua s'ha fracturat i ha perdut la peça terminal. El, extrem proximal de la peça intermèdia; EP, extrem distal de la peça principal. Cabeza y cola separadas de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). La pieza principal de la cola se ha fracturado y ha perdido la pieza terminal. El, extremo proximal de la pieza intermedia; EP, extremo distal de la pieza principal. *Separated head and tail of an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (→). The principal piece of the tail has been broken and has lost the terminal piece. El, proximal end of the midpiece; EP, distal end of the principal piece.* 5400x.

FIG. 4. Espermatozoide amb la cua fracturada a l'inici de la peça intermèdia. El cap, severament piriforme, presenta la peça de connexió intacta (PC). Espermatozoide con la cola fracturada al inicio de la pieza intermedia. La cabeza, severamente piriforme, presenta la pieza de conexión intacta (PC). *Spermatozoon with the tail broken at the beginning of the midpiece. The severely pyriform head presents an intact connecting piece (PC).* 6300x.

FIG. 5. Cua d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). Cola de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). *Tail of an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (→).* 3600x.

FIG. 6. Cap normal sense cua (N) i cap allargat sense cua (A). Cabeza normal sin cola (N) y cabeza alargada sin cola (A). *Normal detached head (N) and elongated detached head (A).* 3600x.



LÀMINA 15 / LÁMINA 15 / PLATE 15

Microscòpia electrònica de rastreig. Anomalies cefàliques de forma.

Microscopía electrónica de barrido. Anomalías cefálicas de forma.

Scanning electron microscopy. Cephalic shape abnormalities.

FIG. 1 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal; requadre ampliat en la figura b. b) Cap cilíndric o bacil·lar amb implantació abaxial de la cua (→). a) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal; recuadro ampliado en la figura b. b) Cabeza cilíndrica o bacilar con implantación abaxial de la cola (→). a) General view of an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b. (b) Cylindrical or bacillary head with abaxial tail attachment (→). a) 2000x; b) 8000x.

FIG. 2. Espermatozoide amb la cua enrotllada, el cap en forma de flama llarga i la protuberància acrosòmica apical en forma de cràter (→). Espermatozoide con la cola enrollada, la cabeza en forma de llama larga y la protuberancia acrosòmica apical en forma de cràter (→). Coiled tail spermatozoon with a long flame-shaped head showing a craterlike appearance of the apical acrosomal protuberance (→). 5000x.

FIG. 3. Espermatozoide amb la cua enrotllada i el cap en forma de flama curta. Espermatozoide con la cola enrollada y la cabeza en forma de llama corta. Coil-tailed spermatozoon with a short flame-shaped head. 5400x.

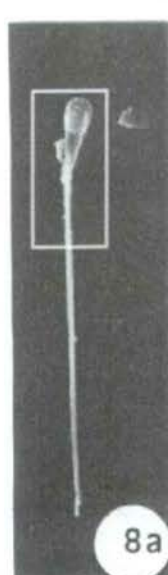
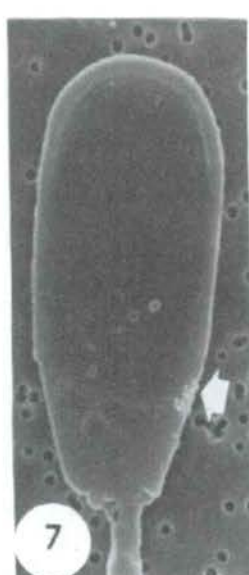
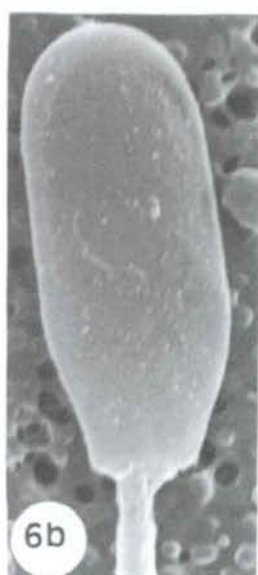
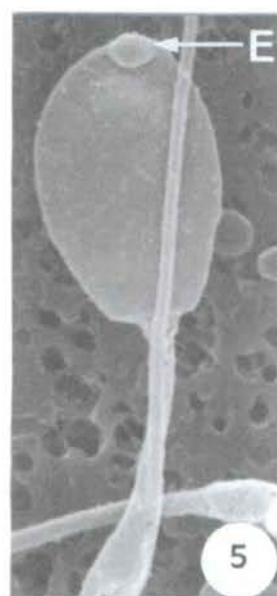
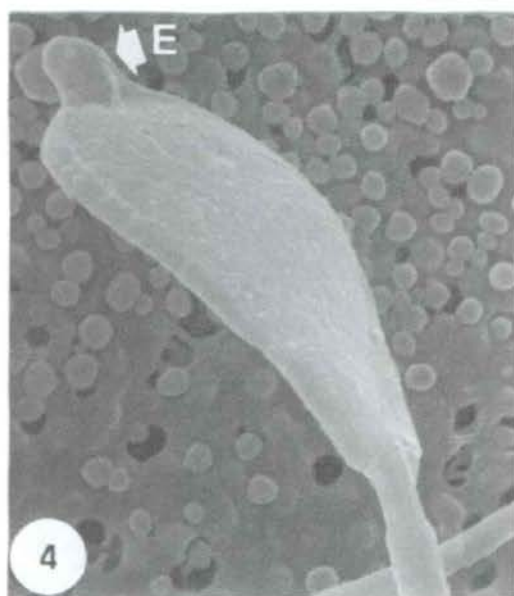
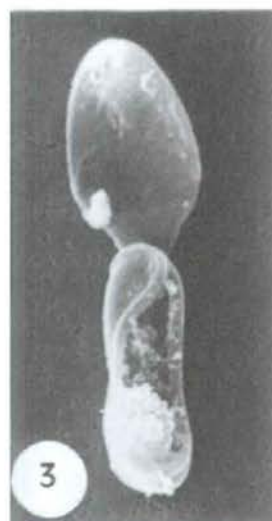
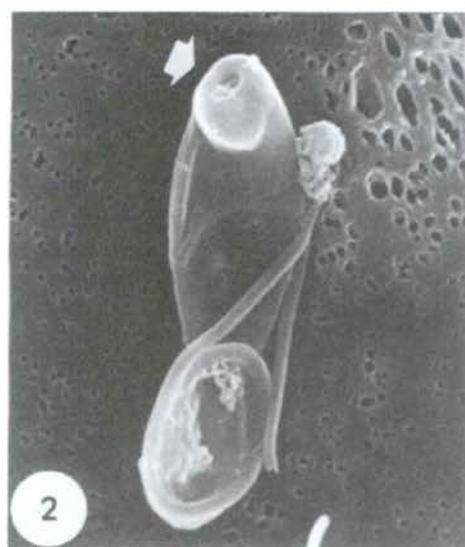
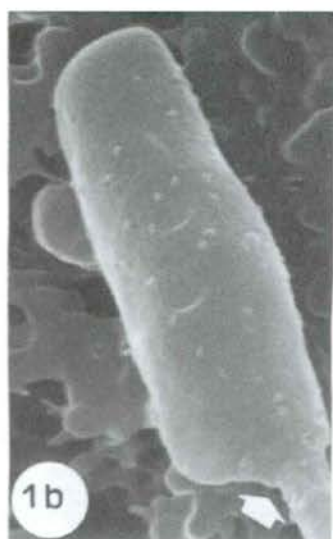
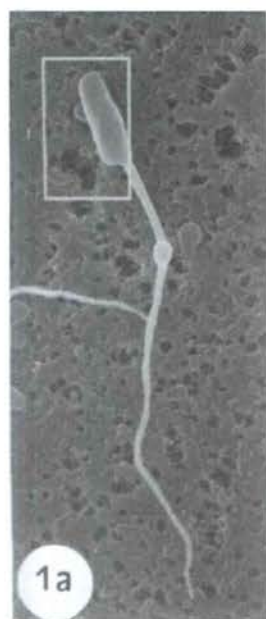
FIG. 4. Espermatozoide amb la protuberància acrosòmica apical caracteritzada per una excrescència (E) molt desenvolupada. Espermatozoide con la protuberancia acrosòmica apical caracterizada por una excrescencia (E) muy desarrollada. Spermatozoon with an apical acrosomal protuberance characterised by a well-developed knob (E) (knobbed acrosome defect). 10000x.

FIG. 5. Espermatozoide amb la cua doblegada i el cap oval, exempt de la protuberància acrosòmica a excepció d'una excrescència (E) apical d'escàs desenvolupament. Espermatozoide con la cola doblada y la cabeza oval, exenta de la protuberancia acrosòmica a excepció de una excrescencia (E) apical de escaso desarrollo. Folded-tail spermatozoon with oval head, free from acrosomal protuberance except for a scantily-developed apical knob (E) (knobbed acrosome defect). 4000x.

FIG. 6 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide madur; requadre ampliat en la figura b. b) Detall del cap estret i allargat. a) Aspecto general de un espermatozoide maduro; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la cabeza estrecha y alargada. (a) General view of a mature spermatozoon; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the narrower and longer profile of the head. a) 1500x; b) 6000x.

FIG. 7. Espermatozoide amb el cap estret i allargat. La sageta indica el límit entre les regions cefàliques acrosòmica i postacrosòmica. Espermatozoide con la cabeza estrecha y alargada. La flecha indica el límite entre las regiones cefálicas acrosòmica y postacrosòmica. Spermatozoon with narrow and elongated head. The arrow shows the boundary between the acrosomal and postacrosomal cephalic regions. 7100x.

FIG. 8 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide microcefàlic madur; requadre ampliat en la figura b. b) Detall del cap en forma de pera allargada. La sageta indica el límit entre el cap i la cua. a) Aspecto general de un espermatozoide microcefàlico maduro; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la cabeza en forma de pera alargada. La flecha indica el límite entre la cabeza y la cola. (a) General view of a microcephalic mature spermatozoon; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the elongated pear-shaped head. The arrow points to the head-tail junction. a) 1500x; b) 6000x.



LÀMINA 16 / LÁMINA 16 / PLATE 16

Microscòpia electrònica de rastreig. Anomalies cefàliques de mida.

Microscopía electrónica de barrido. Anomalías cefálicas de tamaño.

Scanning electron microscopy. Cephalic size abnormalities.

FIG. 1. Dos espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal, un amb el cap normal (N) i l'altre amb el cap gegant o macrocefàlic (M). Dos espermatozoides inmaduros con gota citoplasmática distal, uno con la cabeza normal (N) y el otro con la cabeza gigante o macrocefálica (M). *Two immature spermatozoa with distal cytoplasmic droplet, one of them with a normal head (N) and the other with a giant, or macrocephalic head (M).* 4500x.

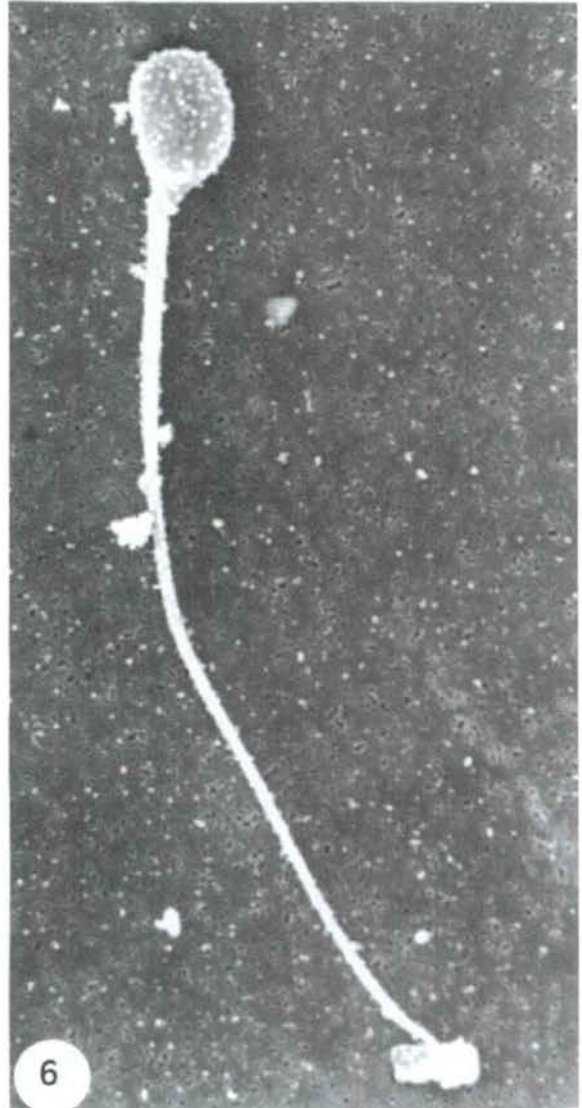
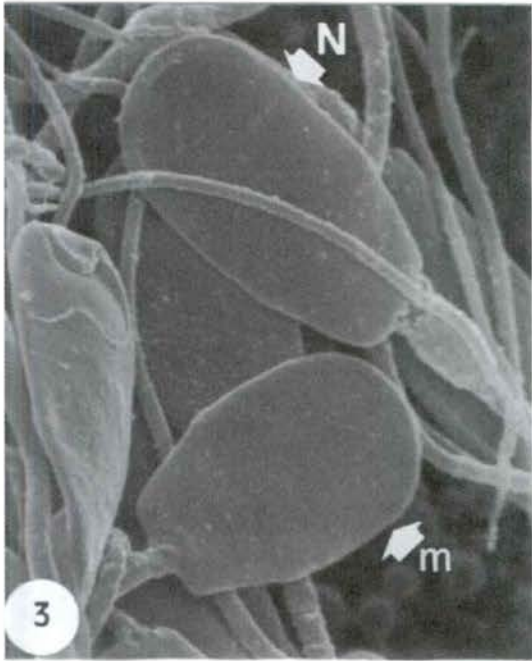
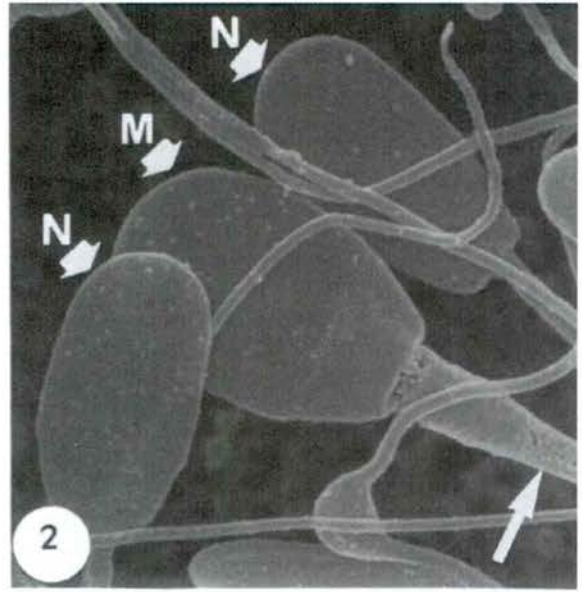
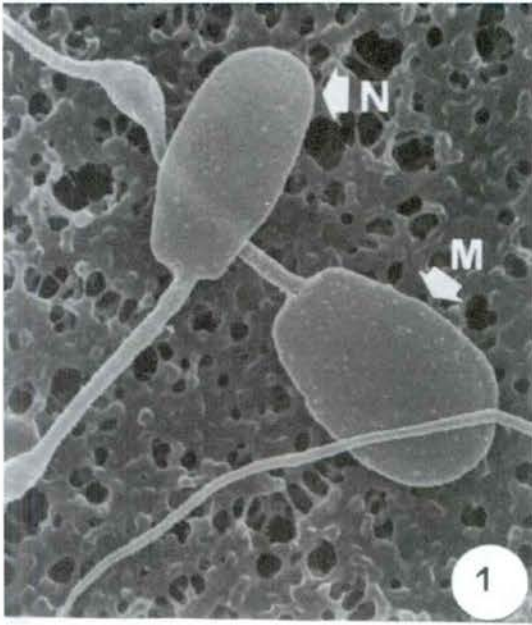
FIG. 2. Espermatozoide macrocefàlic (M) i amb dues cues fusionades (→). Compari's amb els espermatozoides de mida normal (N). Espermatozoide macrocefálico (M) y con dos colas fusionadas (→). Compárese con los espermatozoides de tamaño normal (N). *Macrocephalic spermatozoon (M) with two fused tails (→). Note the normal spermatozoa for size comparison.* 5400x.

FIG. 3. Espermatozoide microcefàlic o de cap petit (m). Compari's amb el cap de mida normal (N). Espermatozoide microcefálico o de cabeza pequeña (m). Compárese con la cabeza de tamaño normal (N). *Microcephalic spermatozoon, or one with an undersized head (m). Note the normal-sized head for comparison (N).* 7100x.

FIG. 4. Espermatozoide amb el cap molt petit i deforme, i amb implantació anormal de la cua (→) formant un angle recte amb la superfície plana del cap. Espermatozoide con la cabeza muy pequeña y deforme, y con implantación anormal de la cola (→) formando un ángulo recto con la superficie llana de la cabeza. *Spermatozoon with an undersized and abnormally shaped head, as well as with an abnormal tail attachment (→) giving rise to a right angle with the flat face of the head.* 7800x.

FIG. 5. Espermatozoide amb el cap petit i lleugerament arrodonit en la regió cefàlica acrosòmica. Espermatozoide con la cabeza pequeña y ligeramente redondeada en la región cefálica acrosómica. *Spermatozoon with an undersized head, slightly rounded at the acrosomal cephalic region.* 2500x.

FIG. 6. Espermatozoide amb el cap molt petit i completament arrodonit. Espermatozoide con la cabeza muy pequeña y completamente redondeada. *Spermatozoon with an undersized, completely rounded head.* 2700x.



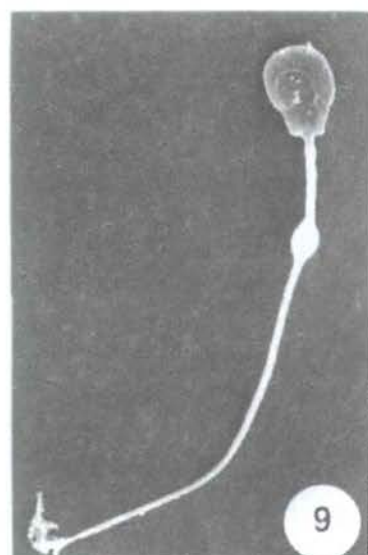
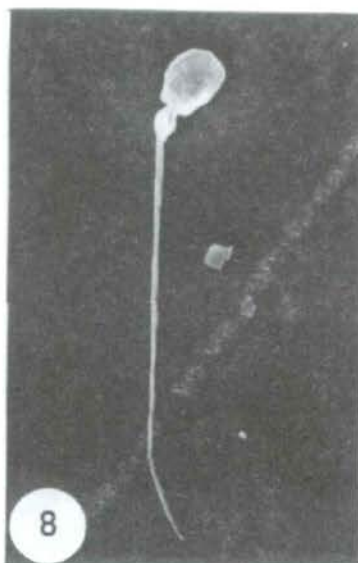
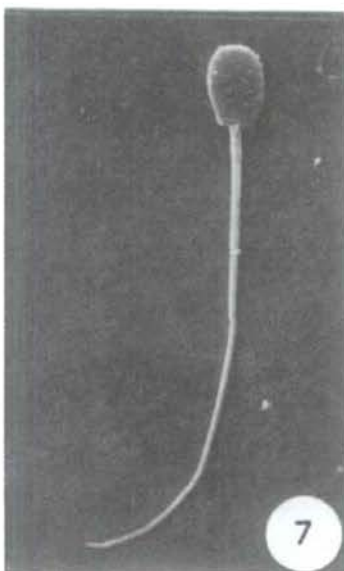
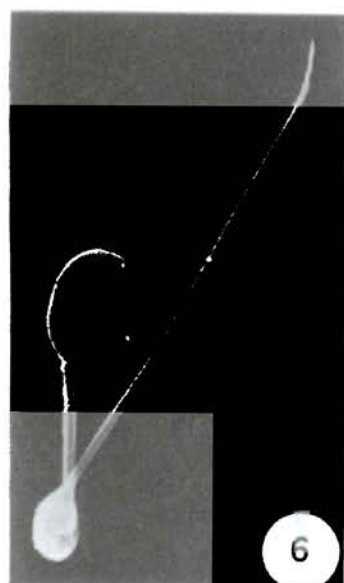
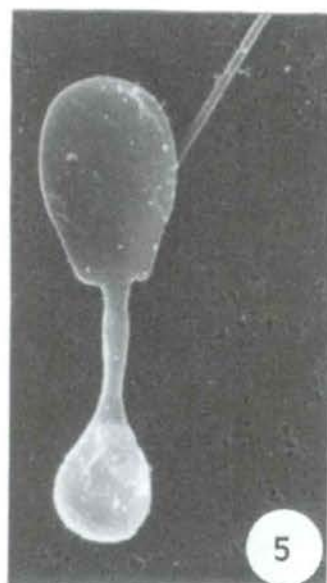
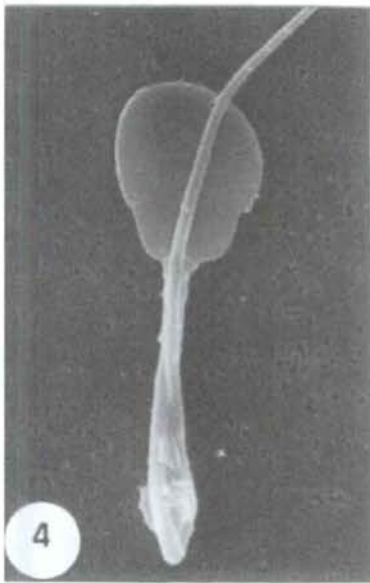
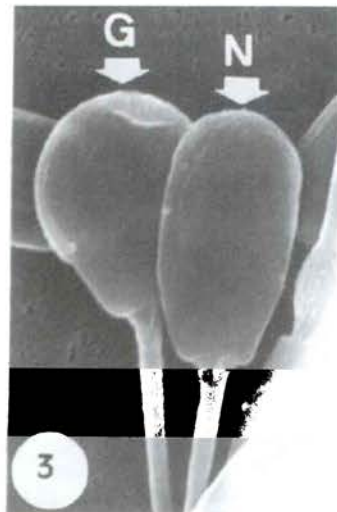
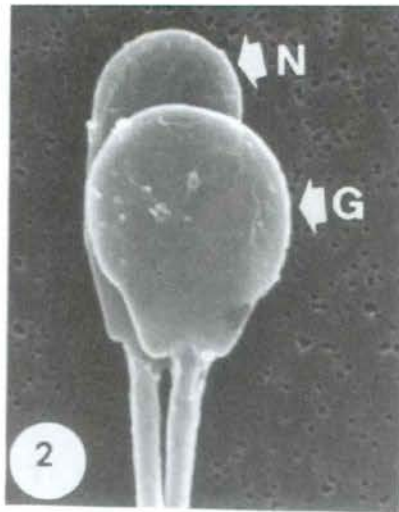
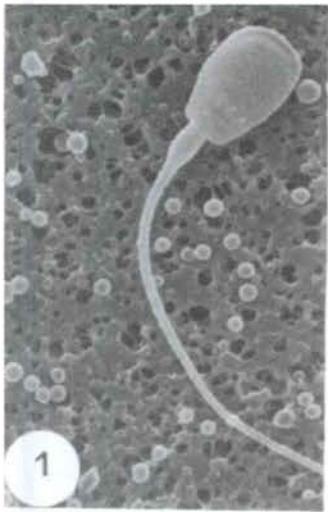
LÀMINA 17 / LÁMINA 17 / PLATE 17

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb diversos graus d'arrodoniment del cap.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con diversos grados de redondez de la cabeza.

Scanning electron microscopy. Spermatozoa with different degrees of rounded heads.

- FIG. 1. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i el cap lleugerament arrodonit en la regió acrosòmica. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal y la cabeza ligeramente redondeada en la región acrosómica. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet and slightly roundish head at the acrosomal region.* 2800x.
- FIG. 2, 3. Espermatozoides amb el cap normal (N) i espermatozoides amb el cap globular en la regió cefàlica acrosòmica (G). Espermatozoides con la cabeza normal (N) y espermatozoides con la cabeza globular en la región cefálica acrosómica (G). *Normal-headed spermatozoa (N), and spermatozoa with a globular head in the acrosomal cephalic region (G).* Figura 2, 5000x; figura 3, 4200x.
- FIG. 4. Espermatozoide amb la cua doblegada i amb el cap arrodonit en la regió cefàlica acrosòmica. Espermatozoide con la cola doblada y con la cabeza redondeada en la región cefálica acrosómica. *Folded tail spermatozoon with a roundish head in the acrosomal cephalic region.* 3500x.
- FIG. 5. Espermatozoide amb la cua doblegada i amb el cap lleugerament arrodonit en la regió cefàlica acrosòmica. Espermatozoide con la cola doblada y con la cabeza ligeramente redondeada en la región cefálica acrosómica. *Folded-tail spermatozoon with a slightly roundish head in the acrosomal cephalic region.* 4000x.
- FIG. 6. Espermatozoide amb la cua doblegada i amb el cap enterament arrodonit. Espermatozoide con la cola doblada y con la cabeza enteramente redondeada. *Folded-tail spermatozoon with entirely roundish head.* 2600x.
- FIG. 7. Espermatozoide madur amb el cap lleugerament arrodonit. Espermatozoide maduro con la cabeza ligeramente redondeada. *Mature spermatozoon with a slightly roundish head.* 1800x.
- FIG. 8. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i amb el cap lleugerament arrodonit. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal y con la cabeza ligeramente redondeada. *Immature spermatozoon with a proximal cytoplasmic droplet and with a slightly roundish head.* 1300x.
- FIG. 9. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i amb el cap arrodonit en la regió cefàlica acrosòmica. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y con la cabeza redondeada en la región cefálica acrosómica. *Immature spermatozoon with a distal cytoplasmic droplet and a roundish head in the acrosomal cephalic region.* 1800x.



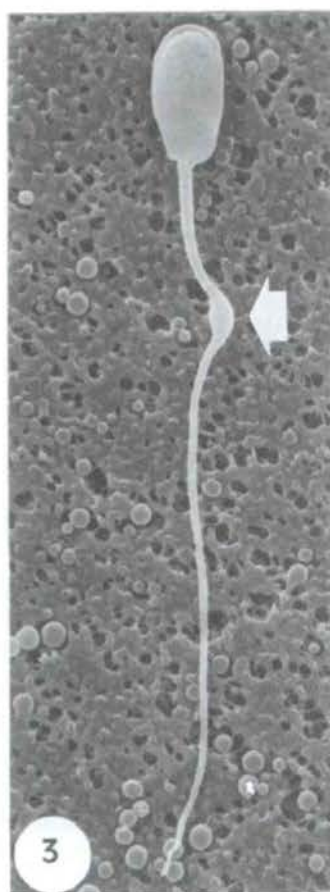
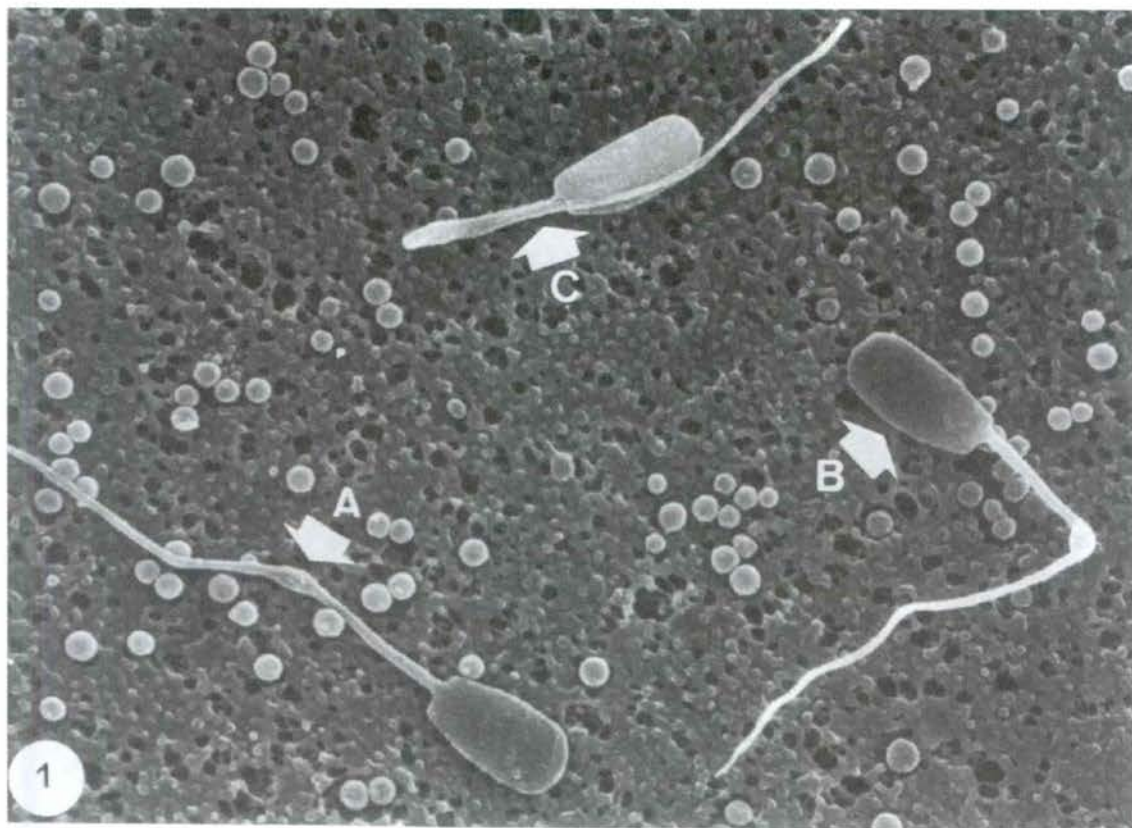
LÀMINA 18 / LÁMINA 18 / PLATE 18

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses fases del doblegament de la cua per l'anell de Jensen.
 Microscopía electrónica de barrido. Diversas fases del doblamiento de la cola por el anillo de Jensen.
Scanning electron microscopy. Different stages of tail-folding at the location of Jensen's ring.

FIG. 1. Principals fases del doblegament de la cua per l'anell de Jensen. A, espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal; B, espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i cua doblegada per l'anell de Jensen, amb un angle de 90° entre les peces intermèdia i principal; C, espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i cua totalment doblegada. Principales fases del doblamiento de la cola por el anillo de Jensen. A, espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal; B, espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y cola doblada per el anillo de Jensen, con un ángulo de 90° entre las piezas intermedia y principal. C, espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal y cola totalmente doblada. *Principal phases of tail-folding at the location of Jensen's ring. A, immature spermatozoon with a distal cytoplasmic droplet; B, immature spermatozoon with a distal cytoplasmic droplet and its tail folded at Jensen's ring, displaying a 90° angle between the midpiece and the principal piece; C, immature spermatozoon with a distal cytoplasmic droplet and a completely folded tail. 3000x.*

FIG. 2. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (→). La gota citoplasmàtica es desplaçarà al llarg de la peça intermèdia fins a situar-se en el límit entre les peces intermèdia i principal (vegeu figura 3). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal (→). La gota citoplasmática se desplazará a lo largo de la pieza intermedia hasta situarse en el límite entre las piezas intermedia y principal (véase figura 3). *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet (→). The cytoplasmic droplet will migrate along the midpiece as far as the junction of the midpiece and the principal piece (see figure 3). 2400x.*

FIG. 3. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). Observi's la lleugera curvatura de la cua just en la posició de la gota citoplasmàtica, en el límit entre les peces intermèdia i principal. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). Obsérvese la ligera curvatura de la cola justo en la posición de la gota citoplasmática, en el límite entre las piezas intermedia y principal. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (→). Note the slight bending of the tail just at the cytoplasmic droplet location, at the boundary between the midpiece and the principal piece. 2600x.*



LÀMINA 19 / LÁMINA 19 / PLATE 19

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses fases del doblegament de la cua per l'anell de Jensen.

Microscopía electrónica de barrido. Diversas fases del doblamiento de la cola por el anillo de Jensen.

Scanning electron microscopy. Different stages of tail-folding at the location of Jensen's ring.

FIG. 1. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). Observi's l'angle de 90° format entre la peça intermèdia i la resta de la cua. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). Obsérvese el ángulo de 90° formado entre la pieza intermedia y el resto de la cola. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (→). Note the 90° angle formed between the midpiece and the rest of the tail.* 2200×.

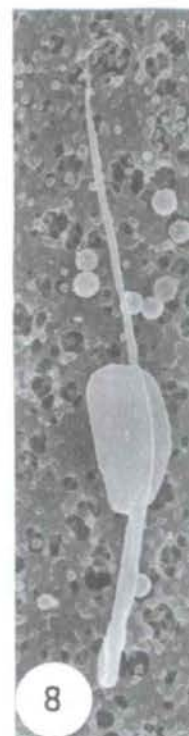
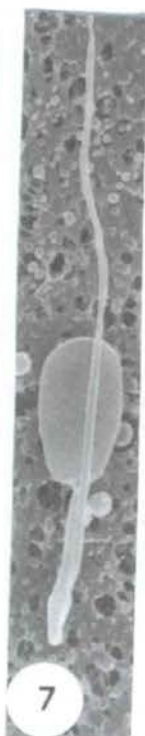
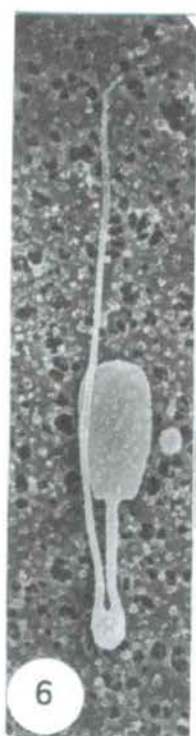
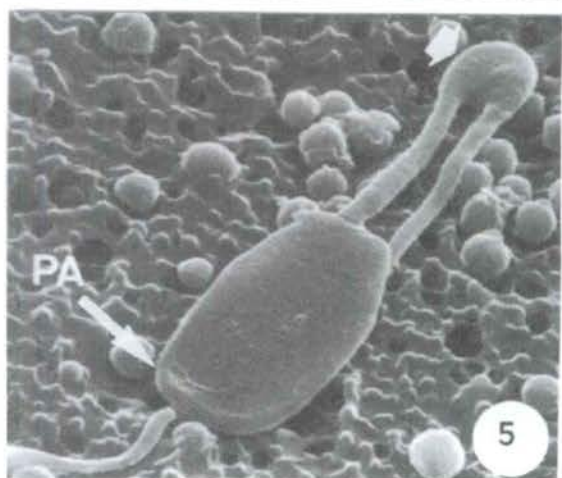
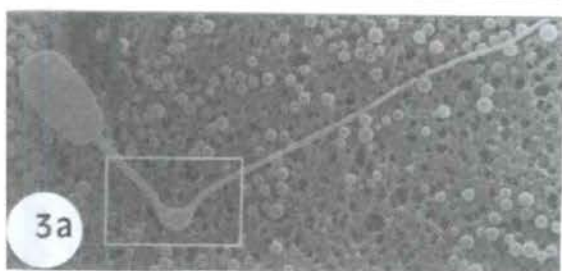
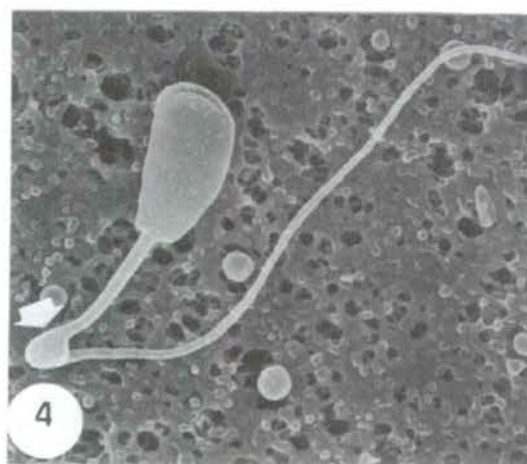
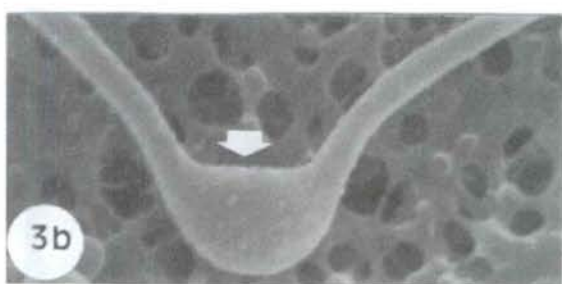
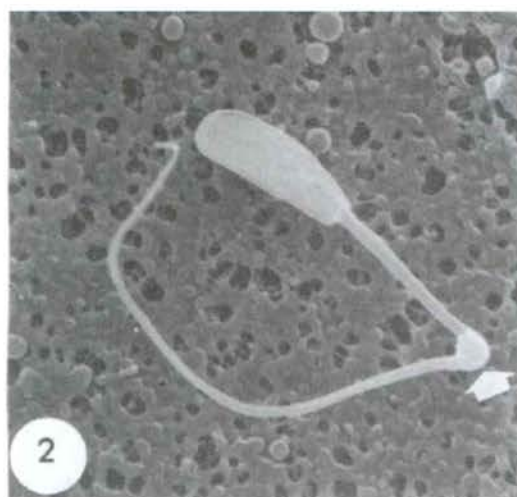
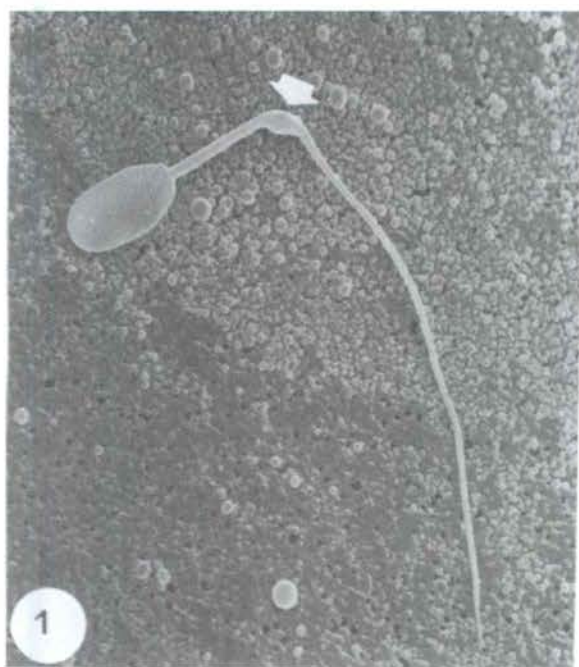
FIG. 2. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). Observi's el progressiu doblegament de la cua. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). Obsérvese el progresivo doblamiento de la cola. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (→). Note the progressive tail-folding.* 3500×.

FIG. 3 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de la gota citoplasmàtica (→) que cimenta el doblegament per l'anell de Jensen. a) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle de la gota citoplasmática (→) que cimienta el doblamiento por el anillo de Jensen. (a) *General view of an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b.* (b) *Detail of the cytoplasmic droplet (→) consolidating the folding at Jensen's ring.* a) 1900×; b) 7500×.

FIG. 4. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). Observi's l'angle de 45° format entre la peça intermèdia i la resta de la cua. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). Obsérvese el ángulo de 45° formado entre la pieza intermedia y el resto de la cola. *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (→). Note the 45° angle formed between the midpiece and the rest of the tail.* 3000×.

FIG. 5. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (→). Observi's l'angle de 0° format entre la peça intermèdia i la peça principal de la cua. Les dues peces en aquesta fase del doblegament no estan fusionades i la cua recorre la cara plana del cap i deixa al descobert la cara cefàlica que presenta la protuberància acrosòmica (PA). Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (→). Obsérvese el ángulo de 0° formado entre la pieza intermedia y la pieza principal de la cola. Las dos piezas en esta fase del doblamiento no están fusionadas y la cola recorre la cara llana de la cabeza y deja al descubierto la cara cefàlica que presenta la protuberancia acrosòmica (PA). *Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (→). Note the 0° angle formed between the midpiece and the principal piece of the tail. In this stage of tail-folding, these two pieces are not fused and the tail overruns the flat face of the head, leaving the cephalic face uncovered, presenting the acrosomal protuberance.* 5000×.

FIG. 6, 7, 8. Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal en diverses fases de la fusió de la peça principal amb la peça intermèdia i amb el cap. La peça principal, en una primera fase lateralitzada (figura 6, 2600×), es fusiona més tard amb la peça intermèdia i recorre el cap seguint l'eix sagital (figura 7, 2900×); finalment, la peça principal es fusiona amb el cap, per la superfície plana, i imprimeix en ell una lleugera curvatura (figura 8, 2900×). Espermatozoides inmaduros con gota citoplasmática distal en diverses fases de la fusió de la peça principal con la peça intermedia y con la cabeza. La pieza principal, en una primera fase lateralizada (figura 6, 2600×), se fusiona más tarde con la pieza intermedia y recorre la cabeza siguiendo el eje sagital (figura 7, 2900×); finalmente, la pieza principal se fusiona con la cabeza, por la superficie llana, e imprime en ella una ligera curvatura (figura 8, 2900×). *Immature spermatozoa with a distal cytoplasmic droplet showing the different stages of the fusion of the principal piece with the midpiece and with the head. The principal piece, at the side in an initial stage (figure 6, 2600×), fuses later with the midpiece and overruns the head along its sagittal axis (figure 7, 2900×); finally the principal piece fuses with the flat face of the head, imprinting a slight bending on it (figure 8, 2900×).*



LÀMINA 20 / LÁMINA 20 / PLATE 20

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen, amb fusió de les peces principal i intermèdia: diverses fases prèvies a la fusió de la peça principal amb la regió cefàlica.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con la cola doblada por el anillo de Jensen, con fusión de las piezas principal y intermedia: diversas fases previas a la fusión de la pieza principal con la región cefálica.

Scanning electron microscopy. Spermatozoa with tails folded at Jensen's ring, with principal-piece and midpiece fusion: different stages previous to the fusion of the principal piece with the cephalic region.

FIG. 1 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. El cap i la resta de la cua, no fusionada, mantenen un angle de 90°; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de la gota citoplasmàtica cimentant el doblament de la cua per l'anell de Jensen. La cua i el rest de la cola, no fusionada, mantenen un angle de 90°; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la gota citoplasmática cimentando el doblamiento de la cola por el anillo de Jensen. *(a)* General view of a spermatozoon with its tail folded at Jensen's ring. The head and the rest of the non-fused tail gives rise to a 90° angle; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the cytoplasmic droplet consolidating the tail-folding at Jensen's ring. *a)* 1100×; *b)* 8800×.

FIG. 2, 3. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. La resta de la cua (→) manté un angle de 45° respecte a la cara plana del cap. Espermatozoides con la cola doblada por el anillo de Jensen. El resto de la cola (→) mantiene un ángulo de 45° respecto a la cara llana de la cabeza. Spermatozoa with tail folded at Jensen's ring. The rest of the tail (→) gives rise to a 45° angle with the flat face of the head. Figura 2, 3500×; figura 3, 4000×.

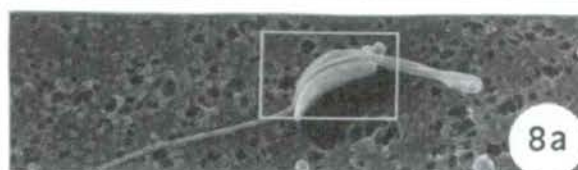
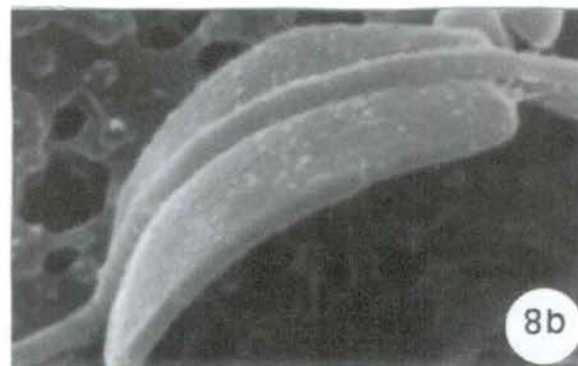
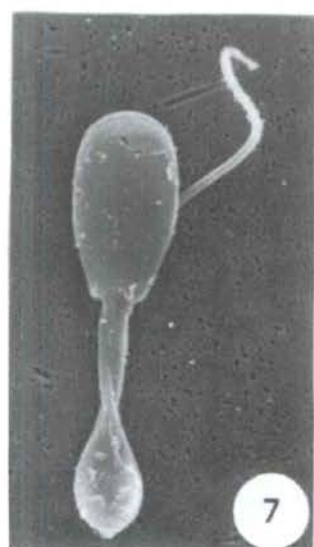
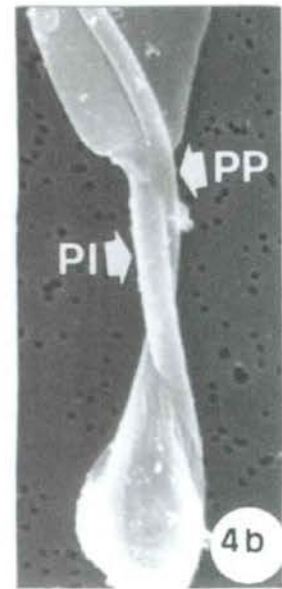
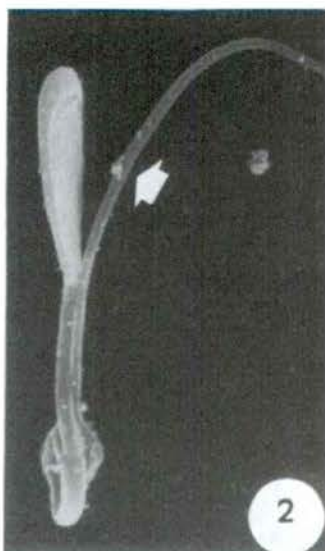
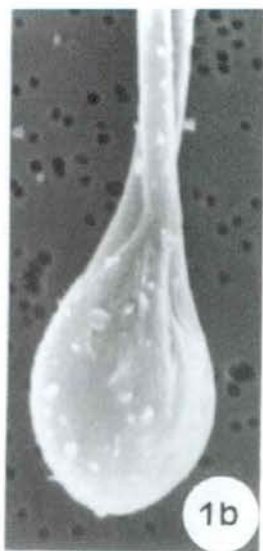
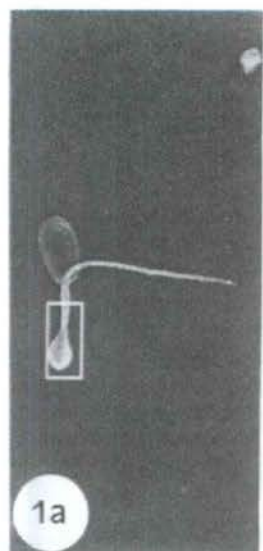
FIG. 4 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Observi's que la peça principal (PP) es fusiona amb la peça intermèdia (PI) i dóna una volta a l'entorn d'aquesta. *a*) Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Obsérvese que la pieza principal se fusiona con la pieza intermedia (PI) y da una vuelta alrededor de ella. *(a)* General view of a spermatozoon with its tail folded at Jensen's ring; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Note the principal piece (PP) fusing with the midpiece (PI), turning around it. *a)* 1600×; *b)* 6400×.

FIG. 5, 6. Aspecte general de dos espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. En la figura 5, la peça principal descriu un angle de 0° respecte a la cara plana del cap. En la figura 6, la peça principal descriu un angle de 90° respecte a la cara plana del cap i es disposa perpendicularment respecte d'aquesta. Aspecto general de dos espermatozoides con la cola doblada por el anillo de Jensen. En la figura 5, la pieza principal describe un ángulo de 0° respecto a la cara llana de la cabeza. En la figura 6, la pieza principal describe un ángulo de 90° respecto a la cara llana de la cabeza y se dispone perpendicularmente respecto a ella. General view of two spermatozoa with tails folded at Jensen's ring. In figure 5, the principal piece displays a 0° angle with the flat face of the head. In figure 6, the principal piece displays a 90° angle with the flat face of the head and is placed perpendicularly. Figura 5, 2200×; figura 6, 3500×.

FIG. 7. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Observi's que la peça principal manté un angle de 45° respecte a la regió cefàlica. Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen. Obsérvese como la pieza principal mantiene un ángulo de 45° respecto a la región cefálica. General view of a spermatozoon with its tail folded at Jensen's ring. Note how the principal piece gives rise to a 45° angle with the cephalic region. 3200×.

FIG. 8 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de la fusió de la peça principal per l'eix mediosagital del cap; observi's la curvatura cefàlica impresa en la fusió del cap i la cua. *a*) Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la fusión de la pieza principal por el eje medio-sagital de la cabeza; obsérvese la curvatura cefálica imprimida en la fusión de la cabeza y la cola. *(a)* General view of a spermatozoon with its tail folded at Jensen's ring; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the fusion of the principal piece along the midsagittal axis of the head; note the cephalic bending imprinted by the head and tail fusion. *a)* 2000×; *b)* 8000×.

FIG. 9. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. La peça principal ha de donar encara mitja volta a la peça intermèdia i disposar-se sobre el cap per la seva cara convexa (vegeu figures 7 i 8). Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen. La pieza principal debe dar aún media vuelta a la pieza intermedia y disponerse sobre la cabeza por su cara convexa (véanse figuras 7 y 8). General view of a spermatozoon with its tail folded at Jensen's ring. The principal piece has not yet turned around the midpiece in order to place itself over the convex face of the head (see figures 7 and 8). 3200×.



LÀMINA 21 / LÁMINA 21 / PLATE 21

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen, amb fusió de les peces principal i intermèdia: diverses fases prèvies a la fusió total de la peça principal amb la regió cefàlica. La peça principal dóna una volta completa a l'entorn de la peça intermèdia. En totes les figures d'aquesta làmina, la peça principal no es fusiona amb el cap més enllà de la regió postacrosòmica.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con la cola doblada por el anillo de Jensen, con fusión de las piezas principal y intermedia: diversas fases previas a la fusión total de la pieza principal con la región cefálica. La pieza principal da una vuelta completa entorno de la pieza intermedia. En todas las figuras de esta lámina, la pieza principal no se fusiona con la cabeza más allá de la región postacrosómica.

Scanning electron microscopy. Spermatozoa with tails folded at Jensen's ring, with principal-piece and midpiece fusion: different stages previous to the total fusion of the principal piece with the cephalic region. The principal piece turns completely around the midpiece. In all the figures of this plate, the principal piece does not fuse with the head beyond the postacrosomal region.

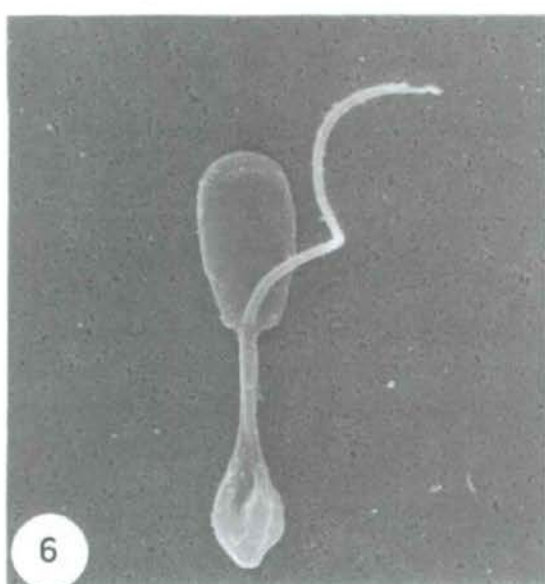
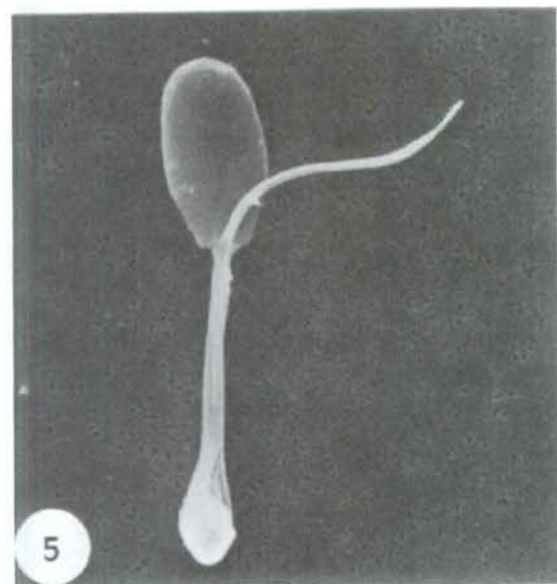
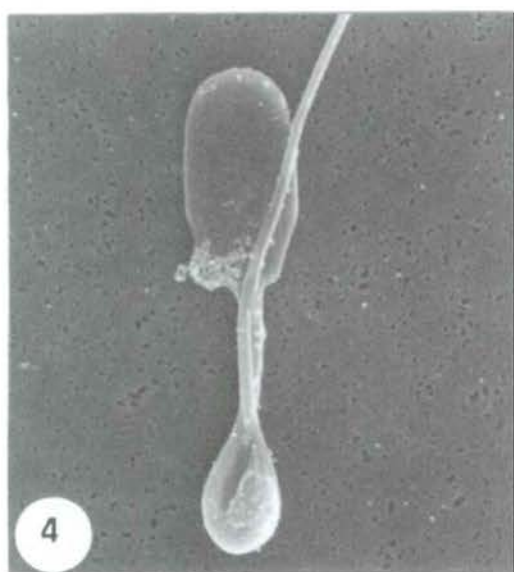
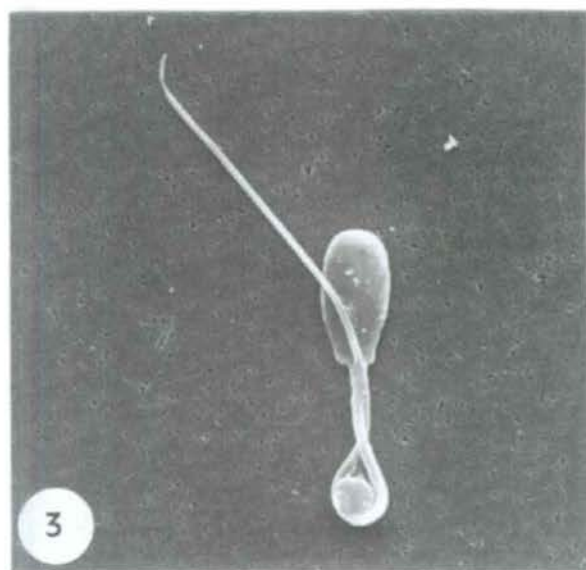
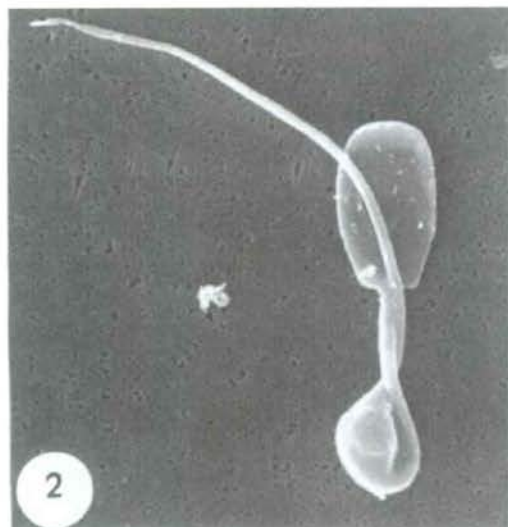
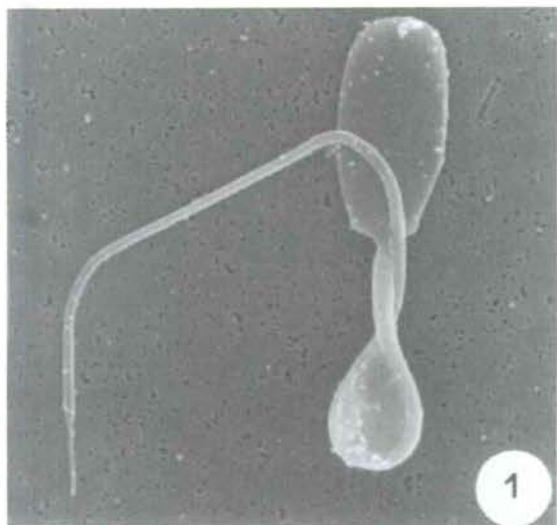
FIG. 1. La peça principal, dirigida cap a l'esquerra, manté un angle de 135° respecte a la superfície plana del cap. La pieza principal, dirigida hacia la izquierda, mantiene un ángulo de 135° respecto a la superficie llana de la cabeza. *The principal piece, turning to the left, gives rise to a 135° angle with the flat face of the head. 4400x.*

FIG. 2, 3. La peça principal, dirigida cap a l'esquerra, manté un angle de 45° respecte a la superfície plana del cap. La pieza principal, dirigida hacia la izquierda, mantiene un ángulo de 45° respecto a la superficie llana de la cabeza. *The principal piece, turning to the left, gives rise to a 45° angle with the flat face of the head. Figura 2, 3700x; figura 3, 2700x.*

FIG. 4. La peça principal, dirigida cap a la dreta, manté un angle de 45° respecte a la superfície plana del cap. La pieza principal, dirigida hacia la derecha, mantiene un ángulo de 45° respecto a la superficie llana de la cabeza. *The principal piece, turning to the right, gives rise to a 45° angle with the flat face of the head. 4400x.*

FIG. 5. La peça principal, dirigida cap a la dreta, manté un angle de 90° respecte a la superfície plana del cap. La pieza principal, dirigida hacia la derecha, mantiene un ángulo de 90° respecto a la superficie llana de la cabeza. *The principal piece, turning to the right, gives rise to a 90° angle with the flat face of the head. 4400x.*

FIG. 6. La peça principal, dirigida cap a la dreta, repren un angle de 45°. La pieza principal, dirigida hacia la derecha, retoma un ángulo de 45°. *The principal piece, turning to the right, goes back to a 45° angle. 3600x.*



LÀMINA 22 / LÁMINA 22 / PLATE 22

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatòzoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen, amb fusió de les peces principal i intermèdia: diverses fases prèvies a la fusió total de la peça principal amb la regió cefàlica. En les figures d'aquesta làmina, la peça principal es va fusionant progressivament amb tota l'extensió del cap.

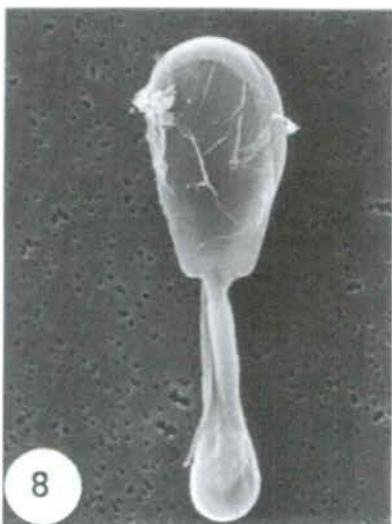
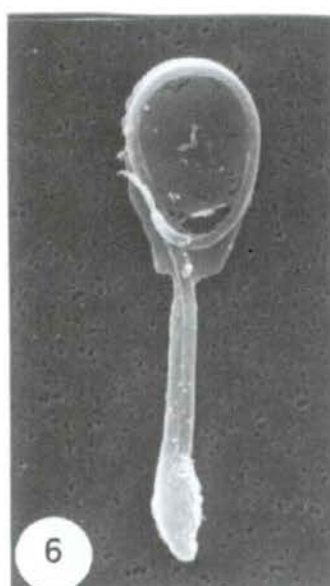
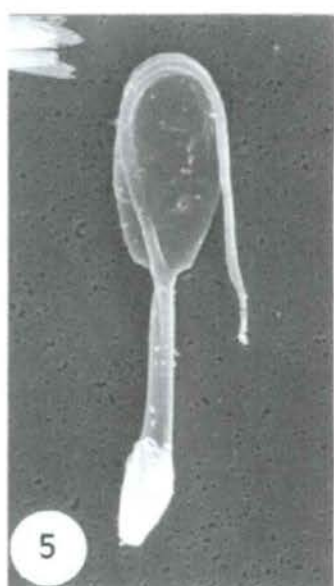
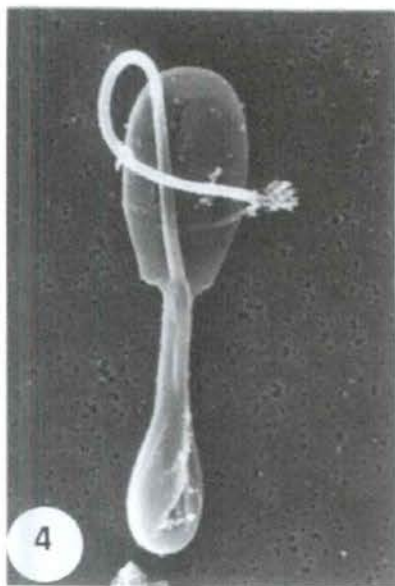
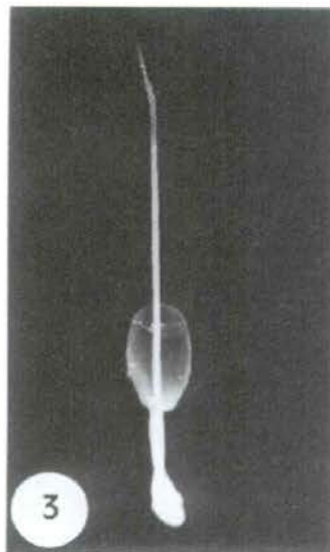
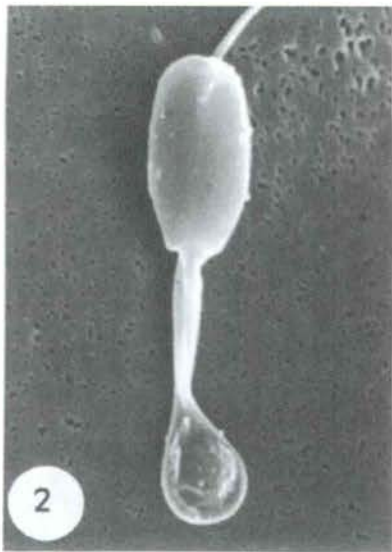
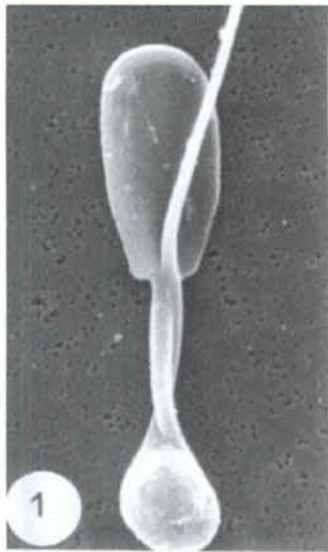
Microscopía electrónica de barrido. Espermatòzoides con la cola doblada por el anillo de Jensen, con fusión de las piezas principal y intermedia: diversas fases previas a la fusión total de la pieza principal con la región cefálica. En las figuras de esta lámina, la pieza principal se va fusionando progresivamente con toda la extensión de la cabeza.

Scanning electron microscopy. Spermatozoa with tails folded at Jensen's ring, with principal-piece and midpiece fusion: different stages previous to the total fusion of the principal piece with the cephalic region. In the figures on this plate, the principal piece progressively fuses with the entire extent of the head.

FIG. 1, 2. La peça principal, dirigida cap a la dreta, manté un angle de 45° respecte a la cara plana del cap i segueix una trajectòria rectilínia. La peça principal va avançant la seva fusió fins a la regió acrosòmica apical. La pieza principal, dirigida hacia la derecha, mantiene un ángulo de 45° respecto a la cara llana de la cabeza y sigue una trayectoria rectilínea. La pieza principal va avanzando su fusión hasta la región acrosómica apical. *The principal piece, turning to the right, gives rise to a 45° angle with the flat face of the head and follows a rectilinear trajectory. The principal piece continues with its fusion up to the apical acrosomal region. Figura 1, 4000x; figura 2, 2500x.*

FIG. 3. La peça principal manté un angle de 0° respecte a la cara plana del cap i estén la seva fusió fins a la regió acrosòmica apical. La pieza principal mantiene un ángulo de 0° respecto a la cara llana de la cabeza y extiende su fusión hasta la región acrosómica apical. *The principal piece gives rise to a 0° angle with the flat face of the head and its fusion extends up to the acrosome apical region. 2500x.*

FIG. 4-9. Diverses fases del doblegament de la cua a l'entorn del perímetre de la regió acrosòmica del cap. La cua es va doblegant donant voltes sobre si mateixa i es va fusionant amb la regió acrosòmica. Observi's que la cua no extén el seu doblegament i fusió amb la regió postacrosòmica del cap. Diversas fases del doblamiento de la cola entorno del perímetro de la regió acrosòmica de la cabeza. La cola se va doblando dando vueltas sobre ella misma y se va fusionando con la regió acrosòmica. Obsérvese que la cola no extiende su doblamiento y fusión con la regió postacrosòmica de la cabeza. *Different stages of tail-folding around the perimeter of the acrosomal region of the head. The tail folds by turning over itself and fusing with the acrosomal region. Note that the tail does not extend its folding and fusion with the postacrosomal region of the head. Figura 4, 4600x; figura 5, 4100x; figura 6, 4500x; figura 7, 4900x; figura 8, 5000x; figura 9, 5000x.*



LÀMINA 23 / LÁMINA 23 / PLATE 23

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb la cua doblegada a diversos nivells de la peça intermèdia.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con la cola doblada a diversos niveles de la pieza intermedia.

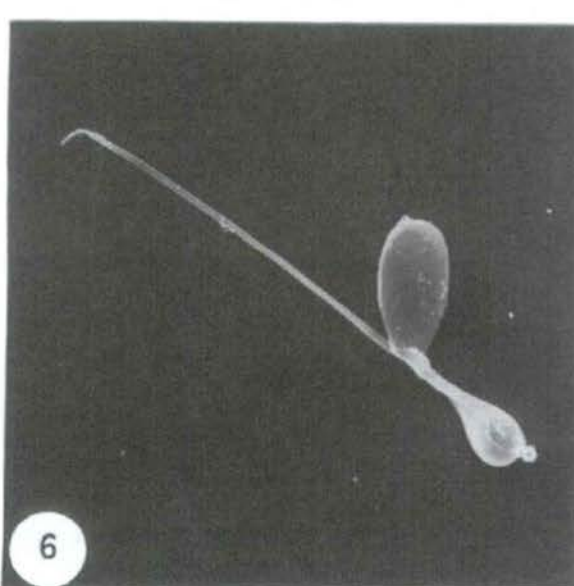
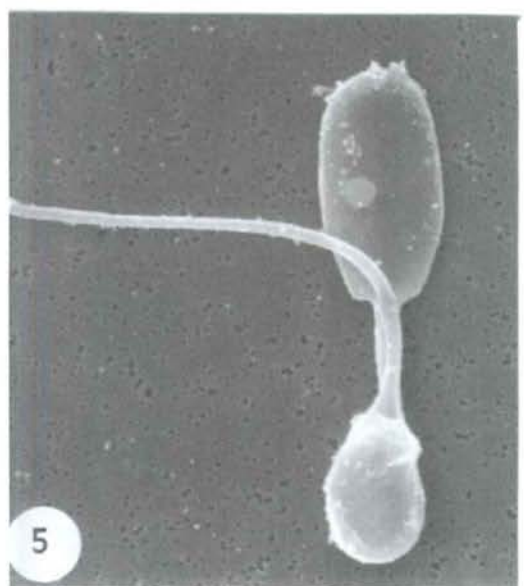
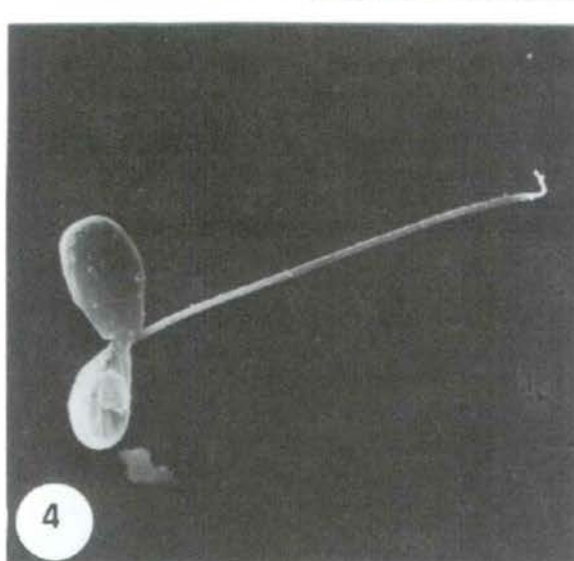
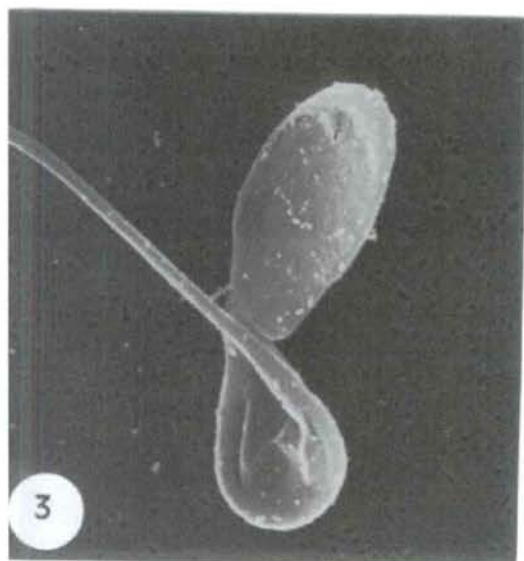
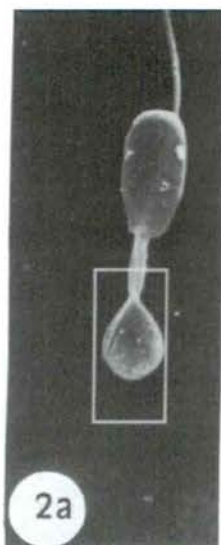
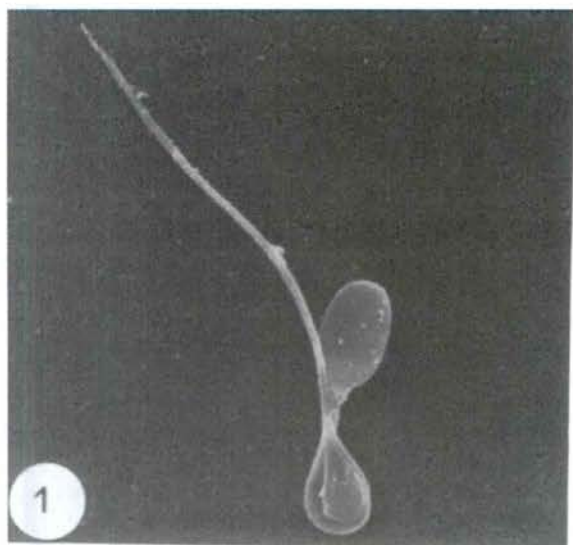
Scanning electron microscopy. Spermatozoa with tails folded at different midpiece locations.

FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per la peça intermèdia. Es reconeix que la cua està doblegada per la peça intermèdia perquè la zona afectada de la curvatura presenta un desenvolupament major que el que caracteritza el doblegament de la cua per l'anell de Jensen. Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por la pieza intermedia. Se reconoce que la cola está doblada por la pieza intermedia porque la zona afectada de la curvatura presenta un desarrollo mayor que el que caracteriza el doblamiento por el anillo de Jensen. *General view of a spermatozoon with its tail folded at the midpiece. One can see that the tail is folded at the midpiece location because the zone affected by the bending shows greater development than the kind which characterises tail-folding at Jensen's ring.* 3000x.

FIG. 2 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per la peça intermèdia; requadre ampliat en la figura b. b) Detall del doblegament de la cua; observi's el gran desenvolupament format per la gota citoplasmàtica i la peça intermèdia. a) Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por la pieza intermedia; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle del doblamiento de la cola; obsérvese el gran desarrollo formado por la gota citoplasmática y la pieza intermedia. (a) *General view of a spermatozoon with its tail folded at the midpiece; framed area enlarged in figure b.* (b) *Detail of the tail-folding; note the extreme development formed by the cytoplasmic droplet and the midpiece.* a) 2600x; b) 10400x.

FIG. 3, 4. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia. El doblegament afecta tota la peça intermèdia i la gota citoplasmàtica cementa el doblegament. Espermatozoides con la cola doblada por la pieza intermedia. El doblamiento afecta a toda la pieza intermedia y la gota citoplasmática cementa el doblamiento. *Spermatozoa with tail folded at the midpiece. The folding affects the entire midpiece and the cytoplasmic droplet consolidates the folding.* Figura 3, 5700x; figura 4, 3000x.

FIG. 5, 6. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia. El doblegament afecta el terç posterior de la peça intermèdia i la gota citoplasmàtica cementa el doblegament. Espermatozoides con la cola doblada por la pieza intermedia. El doblamiento afecta al tercio posterior de la pieza intermedia y la gota citoplasmática cementa el doblamiento. *Spermatozoa with tail folded at the midpiece. The folding affects the last third of the midpiece and the cytoplasmic droplet consolidates the folding.* Figura 5, 4700x; figura 6, 2800x.



LÀMINA 24 / LÁMINA 24 / PLATE 24

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb un cap i la cua totalment enrotllada.
 Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con una cabeza y la cola totalmente enrollada.
 Scanning electron microscopy. Spermatozoa with one head, and completely coiled tails.

FIG. 1. Espermatozoide amb un cap normal i la cua enrotllada però no fusionada. La cua dóna voltes circulars i concèntriques sobre si mateixa. Espermatozoide con una cabeza normal y la cola enrollada pero no fusionada. La cola da vueltas circulares y concéntricas sobre sí misma. Spermatozoon with one normal head, having a coiled tail, but not fused. The tail turns in circles concentrically around itself. 6800x.

FIG. 2. Espermatozoide amb un cap normal i la cua enrotllada i fusionada (la membrana plasmàtica recobreix l'enrotllament intern de la cua). L'enrotllament presenta una forma circular. Espermatozoide con una cabeza normal y la cola enrollada y fusionada (la membrana plasmática recubre el enrollamiento interno de la cola). El enrollamiento presenta una forma circular. Spermatozoon with one normal head, and a coiled and fused tail (the plasmalemma covers the internal coiling of the tail). The coiling displays a circular shape. 5000x.

FIG. 3. Espermatozoide amb un cap normal i la cua intensament enrotllada i fusionada. L'enrotllament presenta una forma el·líptica amb l'eix major alineat amb el pla mediosagital del cap. Espermatozoide con una cabeza normal y la cola intensamente enrollada y fusionada. El enrollamiento presenta una forma elíptica con el eje mayor alineado con el plano medio-sagital de la cabeza. Spermatozoon with one normal head, and an intensely coiled and fused tail. The coiling displays an elliptical shape with the major axis lined up with the midsagittal axis of the head. 4500x.

FIG. 4. Espermatozoide amb un cap normal i la cua enrotllada i parcialment fusionada. L'enrotllament presenta una forma el·líptica amb l'eix major disposat a 45° respecte del pla mediosagital del cap. Espermatozoide con una cabeza normal y la cola enrollada y parcialmente fusionada. El enrollamiento presenta una forma elíptica con el eje mayor dispuesto a 45° respecto del plano medio-sagital de la cabeza. Spermatozoon with one normal head, and a coiled and partially-fused tail. The coiling displays an elliptical shape with the major axis at 45° with regard to the midsagittal axis of the head. 6000x.

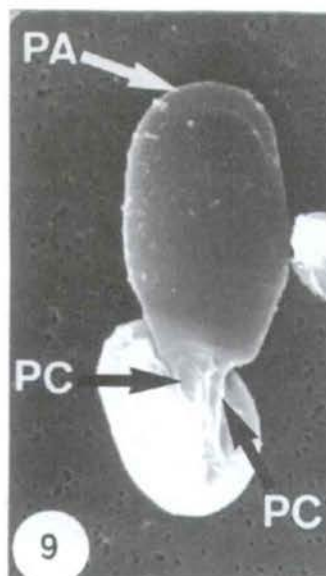
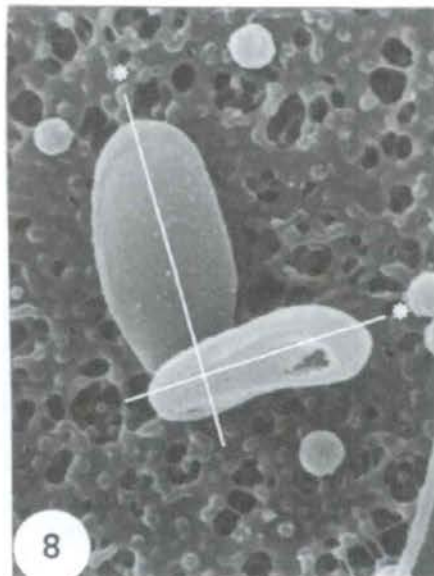
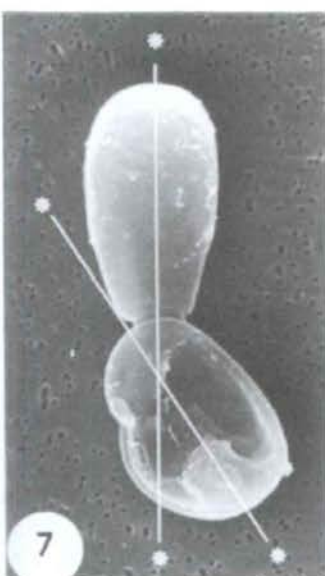
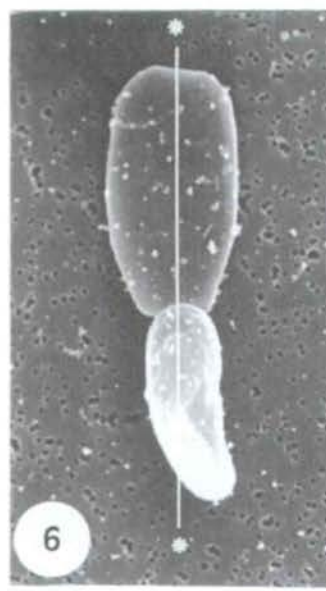
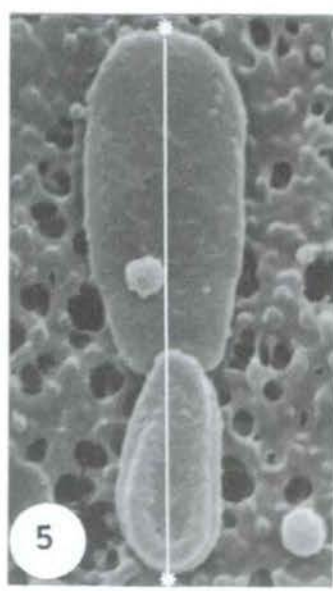
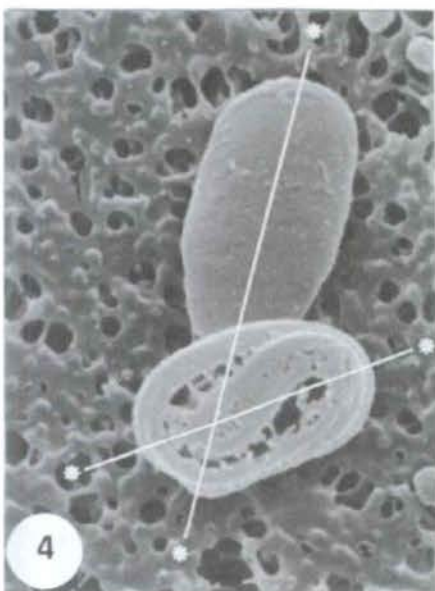
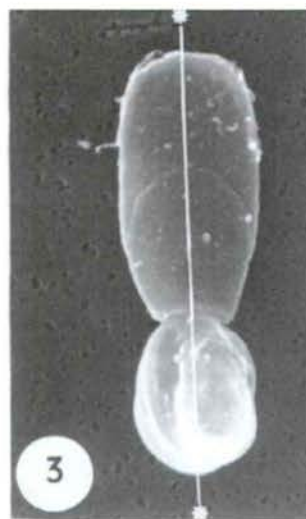
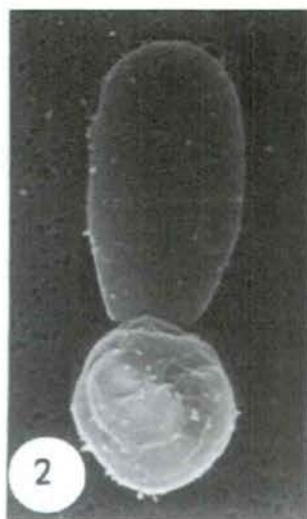
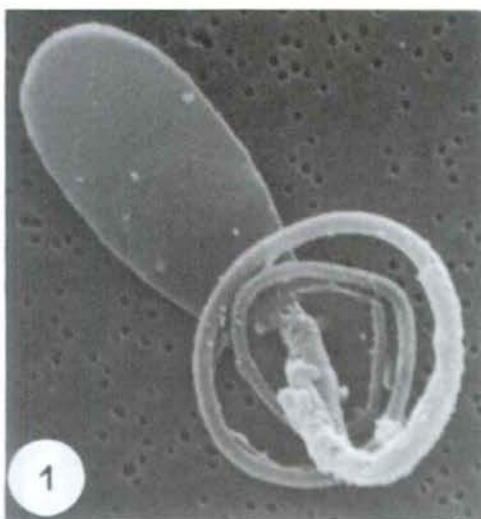
FIG. 5. Espermatozoide amb el cap lleugerament allargat i la cua intensament enrotllada i fusionada. L'enrotllament presenta una forma ovoïdal amb l'eix major alineat amb el pla mediosagital del cap. Espermatozoide con la cabeza ligeramente alargada y la cola intensamente enrollada y fusionada. El enrollamiento presenta una forma ovoïdal con el eje mayor alineado con el plano medio-sagital de la cabeza. Spermatozoon with a slightly elongated head, along with an intensely coiled and fused tail. The coiling displays an oval shape with the major axis lined up with the midsagittal axis of the head. 6000x.

FIG. 6. Espermatozoide amb el cap aplatat en la regió apical i la cua intensament enrotllada i fusionada. L'enrotllament presenta una forma ovoïdal amb l'eix major parcialment alineat amb el pla mediosagital del cap. Espermatozoide con la cabeza achatada en la región apical y la cola intensamente enrollada y fusionada. El enrollamiento presenta una forma ovoïdal con el eje mayor parcialmente alineado con el plano medio-sagital de la cabeza. Spermatozoon with its head flattened at the apical region, along with an intensely coiled and fused tail. The coiling displays an oval shape with the major axis partially lined up with the midsagittal axis of the head. 4000x.

FIG. 7. Espermatozoide amb el cap petit i la cua moderadament enrotllada i fusionada. L'enrotllament presenta una forma pseudocircular i es disposa a 45° respecte del pla mediosagital del cap. Espermatozoide con la cabeza pequeña y la cola moderadamente enrollada y fusionada. El enrollamiento presenta una forma pseudocircular y se dispone a 45° respecto del plano medio-sagital de la cabeza. Spermatozoon with a small head, along with a moderately coiled and fused tail. The coiling displays a pseudocircular shape and is at 45° in regard to the midsagittal axis of the head. 4000x.

FIG. 8. Espermatozoide amb el cap petit i el·líptic, i la cua intensament enrotllada i fusionada. L'enrotllament presenta una forma el·líptica i es disposa a 90° respecte del pla mediosagital del cap. Espermatozoide con la cabeza pequeña y elíptica, y la cola intensamente enrollada y fusionada. El enrollamiento presenta una forma elíptica y se dispone a 90° respecto del plano medio-sagital de la cabeza. Spermatozoon with a small elliptical head, along with an intensely coiled and fused tail. The coiling displays an elliptical shape and is at 90° in regard to the midsagittal axis of the head. 5200x.

FIG. 9. Espermatozoide amb el cap normal i la cua moderadament enrotllada i fusionada. Aspecte de l'espermatozoide per la cara del cap que mostra la protuberància acrosòmica (PA). Observi's que aquest espermatozoide presenta dues cues fusionades i enrotllades. PC, peça de connexió. Espermatozoide con la cabeza normal y la cola moderadamente enrollada y fusionada. Aspecto del espermatozoide por la cara de la cabeza que muestra la protuberancia acrosómica (PA). Obsérvese que este espermatozoide presenta dos colas fusionadas y enrolladas. PC, pieza de conexión. Spermatozoon with a normal head, along with a moderately coiled and fused tail. View of the spermatozoon face of the head, showing the acrosomal protuberance (PA). Note that this spermatozoon displays two fused and coiled tails. PC, connecting piece. 5000x.



LÀMINA 25 / LÁMINA 25 / PLATE 25

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb un cap anormal i la cua totalment enrotllada.
 Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con una cabeza anormal y la cola totalmente enrollada.
Scanning electron microscopy. Spermatozoa with abnormal heads and completely coiled tails.

FIG. 1. Espermatozoide amb el cap petit en forma de flama (Ca) i la cua, probablement curta, totalment enrotllada (Cu). Observi's l'escàs desenvolupament de la zona que afecta l'enrotllament de la cua. Espermatozoide con la cabeza pequeña en forma de llama (Ca) y la cola, probablemente corta, totalmente enrollada (Cu). Obsérvese el escaso desarrollo de la zona que afecta al enrollamiento de la cola. *Spermatozoon with a small flame-shaped head (Ca) and a completely coiled tail (Cu), probably short. Note the scant development of the zone affected by the tail-coiling.* 7200x.

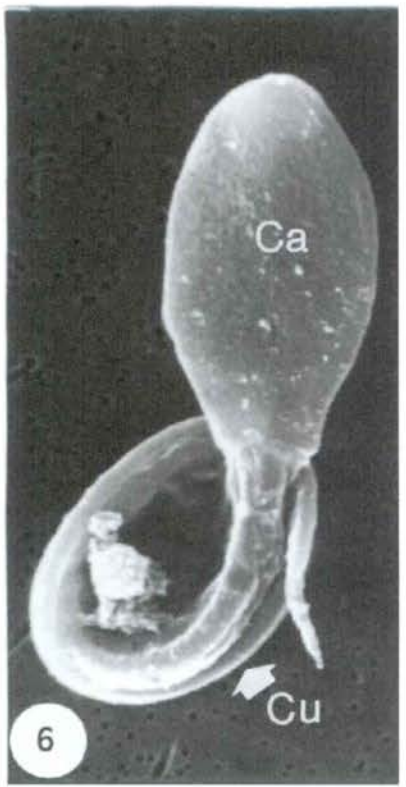
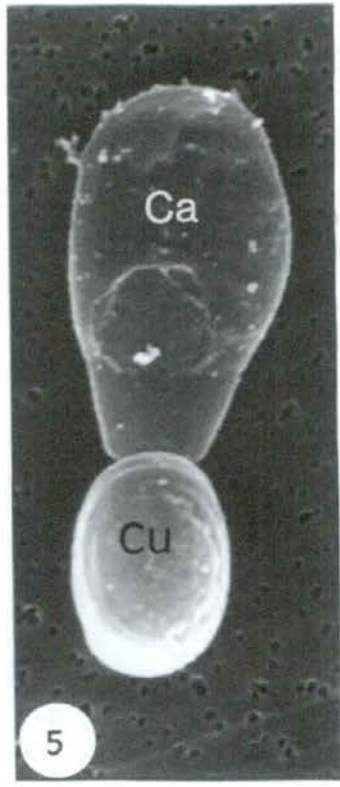
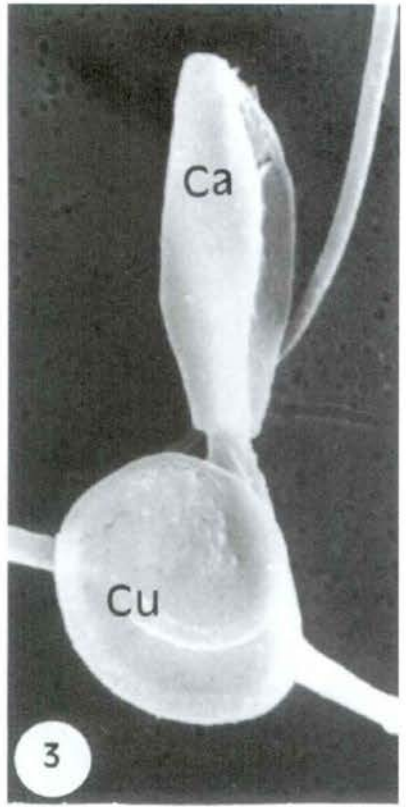
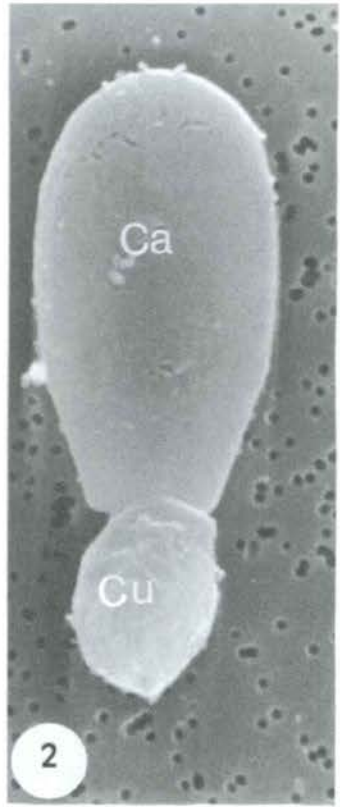
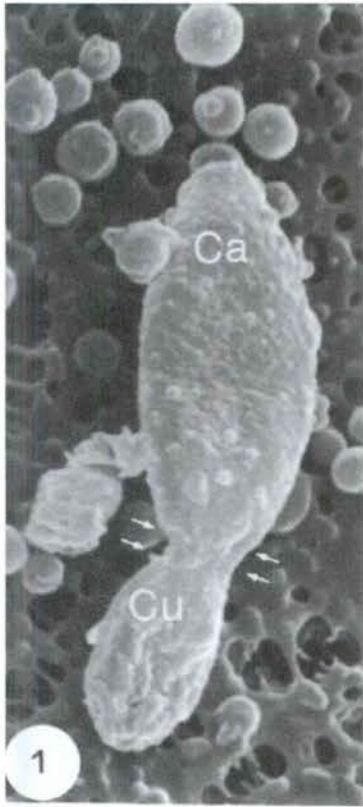
FIG. 2. Espermatozoide amb el cap lleugerament aplatat (Ca) i la cua, probablement curta, totalment enrotllada (Cu). Observi's la forma circular de l'enrotllament i l'escàs desenvolupament de la zona afectada per l'enrotllament de la cua. Espermatozoide con la cabeza ligeramente achatada (Ca) y la cola, probablemente corta, totalmente enrollada (Cu). Obsérvese la forma circular del enrollamiento y el escaso desarrollo de la zona afectada por el enrollamiento de la cola. *Spermatozoon a with slightly flattened head (Ca) and a completely coiled tail (Cu), probably short. Notice the circular-shaped coiling and the scant development of the zone affected by the tail-coiling.* 8000x.

FIG. 3. Espermatozoide amb el cap doblegat per l'eix mediosagital (Ca) i la cua moderadament enrotllada (Cu). Espermatozoide con la cabeza doblada por el eje medio-sagital (Ca) y la cola moderadamente enrollada (Cu). *Spermatozoon with its head folded along its midsagittal axis (Ca), along with a moderately coiled tail (Cu).* 6500x.

FIG. 4. Espermatozoide amb el cap petit i aplatat (Ca) i la cua intensament enrotllada (Cu). Espermatozoide con la cabeza pequeña y achatada (Ca) y la cola intensamente enrollada (Cu). *Spermatozoon with a small flattened head (Ca) and an intensely coiled tail (Cu).* 7200x.

FIG. 5. Espermatozoide amb el cap en forma de pera (Ca) i la cua intensament enrotllada (Cu). Espermatozoide con la cabeza en forma de pera (Ca) y la cola intensamente enrollada (Cu). *Spermatozoon with a pear-shaped head (Ca) and an intensely coiled tail (Cu).* 6500x.

FIG. 6. Espermatozoide amb el cap en forma de flama (Ca) i la cua enrotllada i parcialment fusionada (Cu). Espermatozoide con la cabeza en forma de llama (Ca) y la cola enrollada y parcialmente fusionada (Cu). *Spermatozoon with a flame-shaped head (Ca), along with a coiled and partially-fused tail (Cu).* 6500x.



LÀMINA 26 / LÁMINA 26 / PLATE 26

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses fases de l'enrotllament de la cua per la peça intermèdia fins a arribar a un enrotllament circular.

Microscopía electrónica de barrido. Diversas fases del enrollamiento de la cola por la pieza intermedia hasta llegar a un enrollamiento circular.

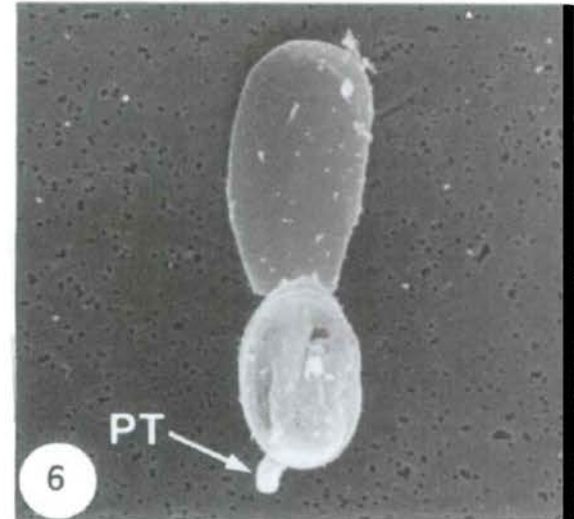
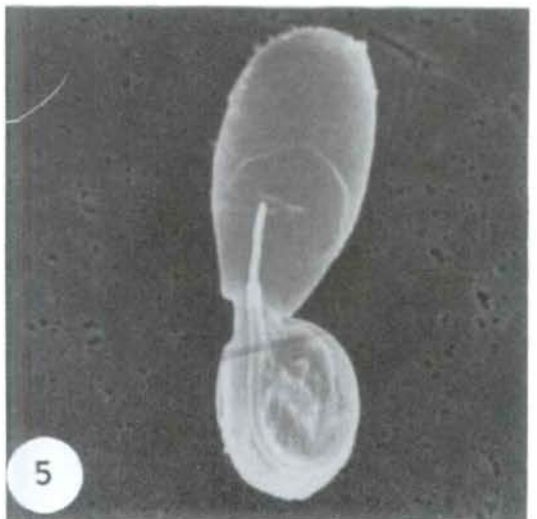
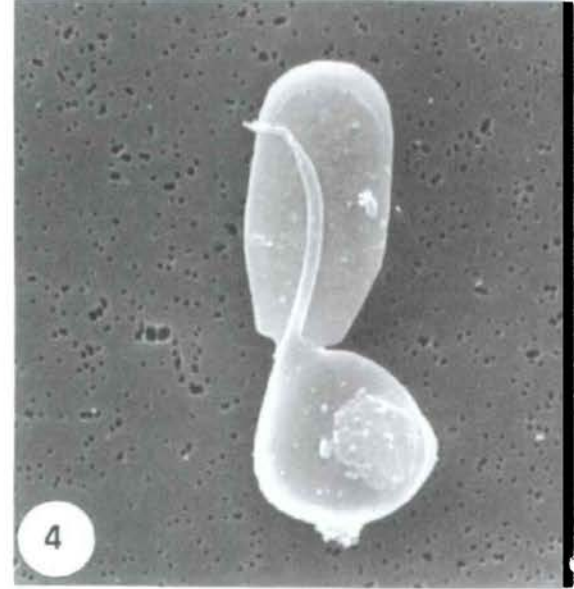
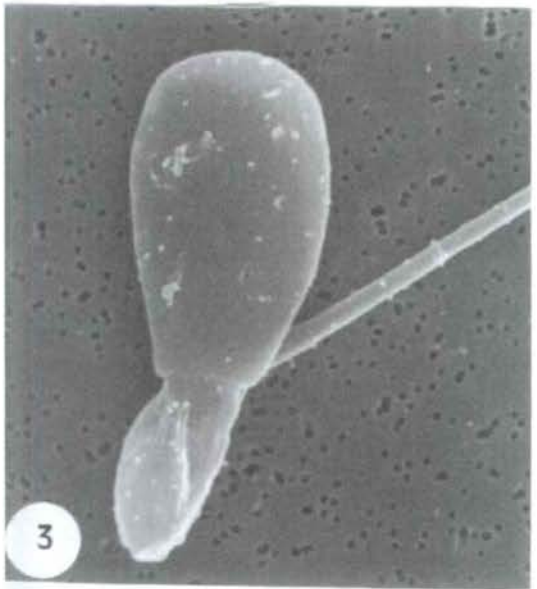
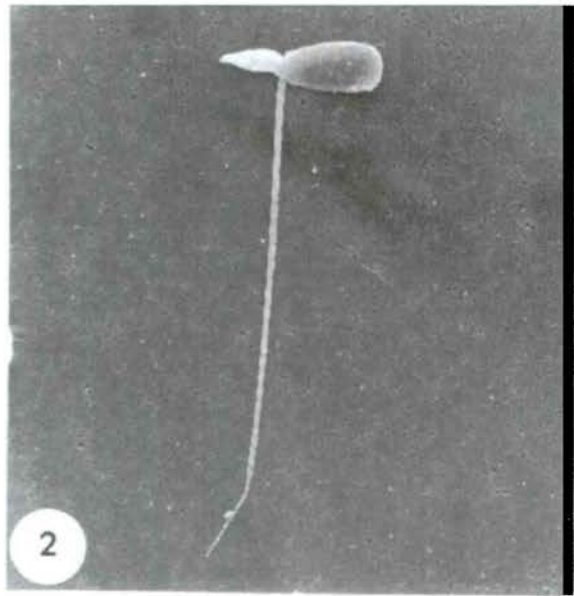
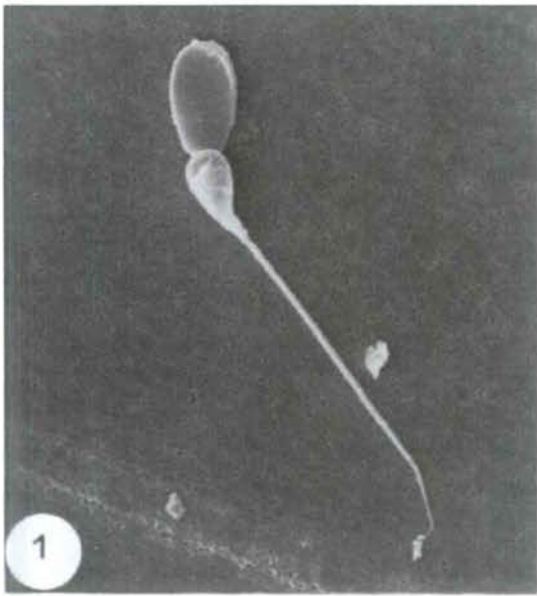
Scanning electron microscopy. Different stages of tail-coiling near the midpiece, giving rise to circular coiling.

FIG. 1, 2. Espermatozoides amb la cua parcialment enrotllada. L'enrotllament només afecta la peça intermèdia. Espermatozoides con la cola parcialmente enrollada. El enrollamiento sólo afecta a la pieza intermedia. *Spermatozoa with partially-coiled tails. The coiling only affects the midpiece. Figura 1, 2000x; figura 2, 1800x.*

FIG. 3. Espermatozoide amb la cua parcialment enrotllada. En aquesta fase, l'enrotllament de la cua afecta únicament la peça intermèdia. Observi's que la gota citoplasmàtica cimeta l'enrotllament progressiu de la cua. Espermatozoide con la cola parcialmente enrollada. En esta fase, el enrollamiento de la cola afecta únicamente a la pieza intermedia. Obsérvese como la gota citoplasmática cimienta el enrollamiento progresivo de la cola. *Spermatozoon with a partially coiled tail. In this stage, the tail-coiling only affects the midpiece. Note how the cytoplasmic droplet consolidates the progressive tail-coiling. 6000x.*

FIG. 4, 5. Espermatozoides amb la cua parcialment enrotllada. En aquestes fases, l'enrotllament de la cua afecta progressivament la peça principal. Observi's que, a mesura que l'enrotllament afecta més porció de la cua, aquest presenta major desenvolupament. Espermatozoides con la cola parcialmente enrollada. En estas fases, el enrollamiento de la cola afecta progresivamente a la pieza principal. Obsérvese que, a medida que el enrollamiento afecta a más porción de la cola, éste presenta mayor desarrollo. *Spermatozoa with partially coiled tails. In these stages, the tail-coiling progressively affects the principal piece. Note that as the coiling continues affecting a larger part of the tail, the coiling displays greater development. Figura 4, 4700x; figura 5, 4500x.*

FIG. 6. Espermatozoide amb la cua enrotllada. Observi's l'extrem de la peça terminal (PT) moments abans de fusionar-se completament amb la resta de l'enrotllament de la cua. Espermatozoide con la cola enrollada. Obsérvese el extremo de la pieza terminal (PT) momentos antes de fusionarse completamente con el resto del enrollamiento de la cola. *Spermatozoon with a coiled tail. Note the end of the terminal piece (PT) just before it completely fuses with the rest of the coiling tail. 4500x.*



LÀMINA 27 / LÁMINA 27 / PLATE 27

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses fases de l'enrotllament de la cua a l'entorn de la peça intermèdia fins a arribar a un enrotllament el·líptic.

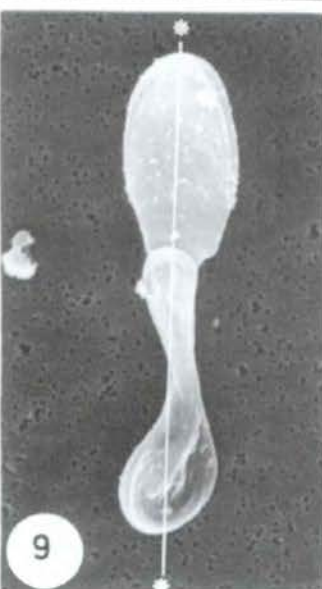
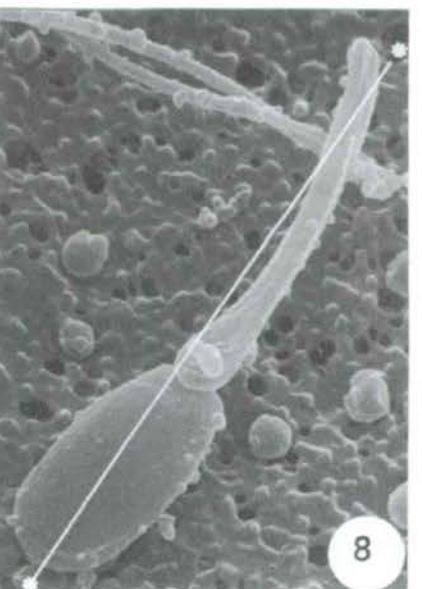
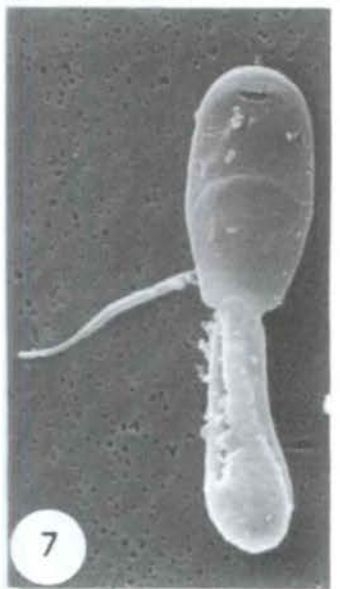
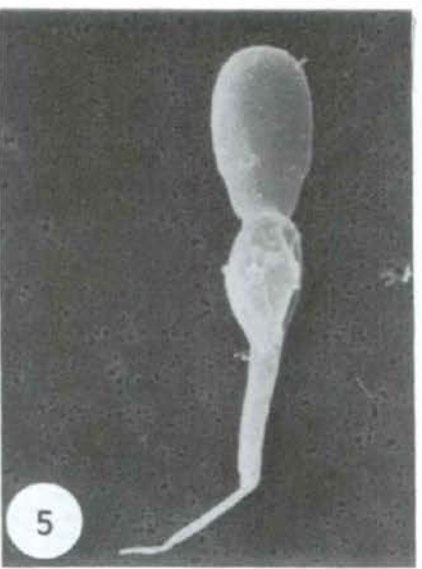
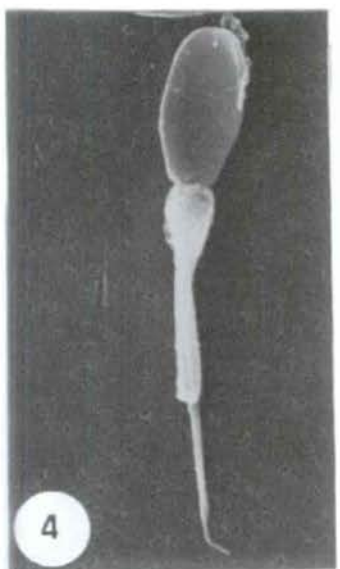
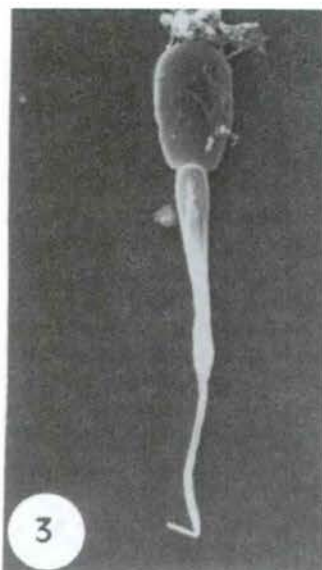
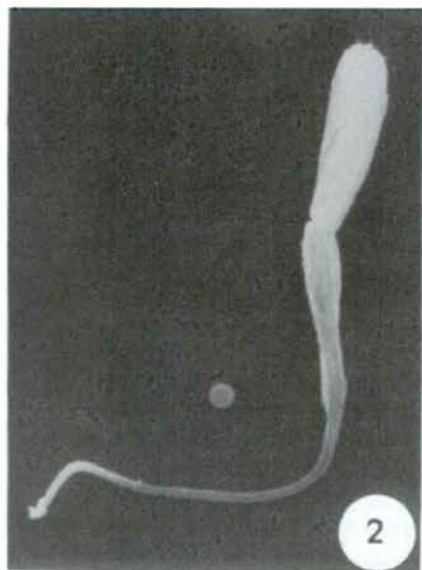
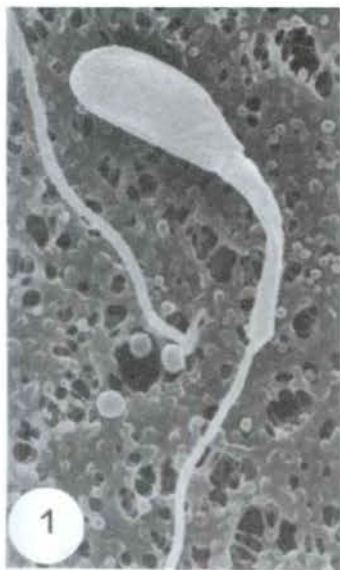
Microscopía electrónica de barrido. Diversas fases del enrollamiento de la cola en torno a la pieza intermedia hasta llegar a un enrollamiento elíptico.

Scanning electron microscopy. Different stages of tail-coiling around the midpiece, giving rise to an elliptical coiling.

FIG. 1-7. En aquest tipus d'enrotllament la cua es doblega per l'anell de Jensen o pel terç posterior de la peça intermèdia. La peça principal i la peça terminal de la cua van donant, progressivament, voltes a l'entorn de la peça intermèdia, fins que l'enrotllament pren una forma el·líptica i es disposa, generalment, alineat amb el pla mediosagital del cap. En este tipo de enrollamiento, la cola se dobla por el anillo de Jensen o por el tercio posterior de la pieza intermedia. La pieza principal y la pieza terminal de la cola van dando, progresivamente, vueltas alrededor de la pieza intermedia, hasta que el enrollamiento adopta una forma elíptica y se dispone, generalmente, alineado con el plano medio-sagital de la cabeza. *In this type of coiling, the tail folds at the Jensen's ring, or near the last third of the midpiece. The principal piece and the terminal piece of the tail progressively turn around the midpiece, until the coiling gives rise to an elliptical shape that is usually lined up with the midsagittal axis of the head. Figura 1, 3700x; figura 2, 3400x; figura 3, 2600x; figura 4, 2800x; figura 5, 3500x; figura 6, 3200x; figura 7, 4000x.*

FIG. 8. Espermatzoide amb la cua enrotllada al llarg de tota la peça intermèdia. L'enrotllament s'inicia pel doblegament de la cua a nivell de l'anell de Jensen. Espermatzoide con la cola enrollada a lo largo de toda la pieza intermedia. El enrollamiento se inicia por el doblamiento de la cola a nivel del anillo de Jensen. *Spermatozoon with its tail coiled along the entire midpiece. The coiling begins by the tail folding at the Jensen's ring. 3500x.*

FIG. 9. Espermatzoide amb la cua enrotllada al llarg dels dos primers terços de la peça intermèdia. L'enrotllament s'inicia pel doblegament de la cua a nivell del terç posterior de la peça intermèdia. Espermatzoide con la cola enrollada a lo largo de los dos primeros tercios de la pieza intermedia. El enrollamiento se inicia por el doblamiento de la cola a nivel del anillo de Jensen. *Spermatozoon with a tail coiled along the first two-thirds of the midpiece. The coiling begins by the tail folding at the last third of the midpiece. 4600x.*



LÀMINA 28 / LÁMINA 28 / PLATE 28

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb la cua totalment enrotllada a l'entorn de la peça intermèdia fins a arribar a un enrotllament el·líptic.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con la cola totalmente enrollada entorno a la pieza intermedia hasta llegar a un enrollamiento elíptico.

Scanning electron microscopy. Spermatozoa with the tail completely coiled around the midpiece, giving rise to an elliptical coiling.

FIG. 1. Espermatozoide amb la cua enrotllada i disposada formant un angle de 45° respecte al pla mediosagital del cap. Espermatozoide con la cola enrollada y dispuesta formando un ángulo de 45° respecto al plano medio-sagital de la cabeza. *Spermatozoon with a coiled tail, giving rise to 45° angle in regard to the midsagittal axis of the head.* 6300x.

FIG. 2, 3. Espermatozoides amb la cua enrotllada i alineada amb el pla mediosagital del cap. Espermatozoides con la cola enrollada y alineada con el plano medio-sagital de la cabeza. *Spermatozoa with a coiled tail lined up with the midsagittal axis of the head.* Figura 2, 4700x; figura 3, 3700x.

FIG. 4. Espermatozoide amb la cua enrotllada a l'entorn dels dos terços posteriors de la peça intermèdia. Observi's que el terç anterior de la peça intermèdia no queda afectat per l'enrotllament (→). Espermatozoide con la cola enrollada en torno a los dos tercios posteriores de la pieza intermedia. Obsérvese que el tercio anterior de la pieza intermedia no queda afectado por el enrollamiento (→). *Spermatozoon with a tail coiled around the posterior two-thirds of the midpiece. Note that the coiling does not affect the anterior third of the midpiece* (→). 4700x.

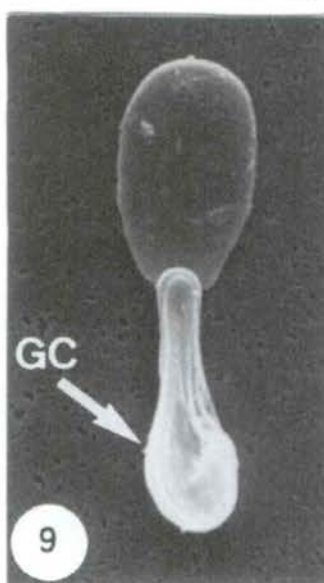
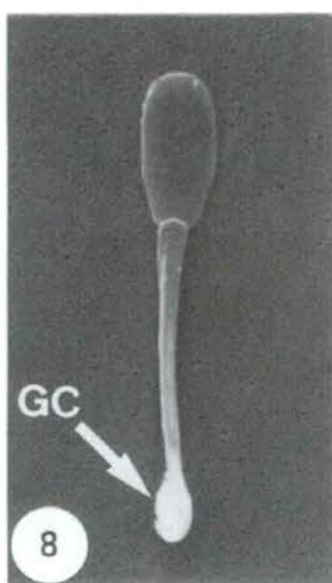
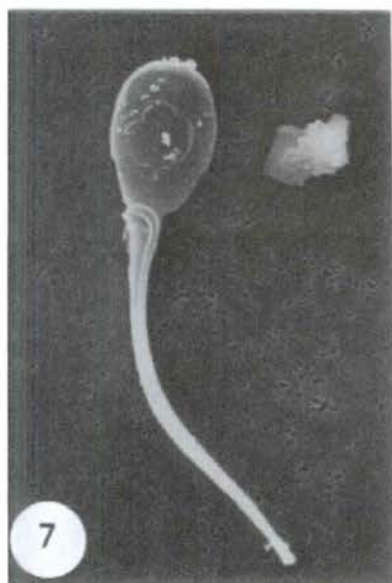
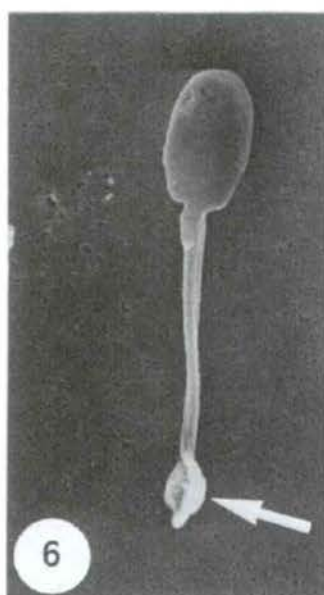
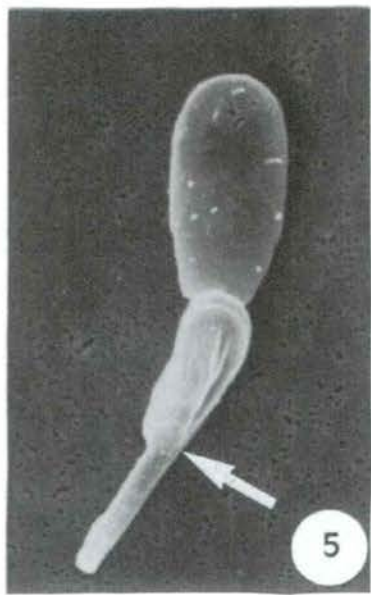
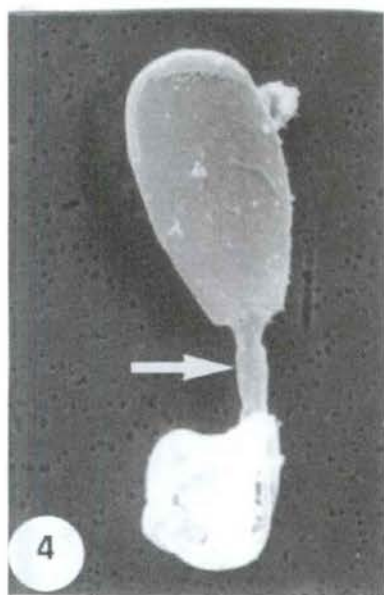
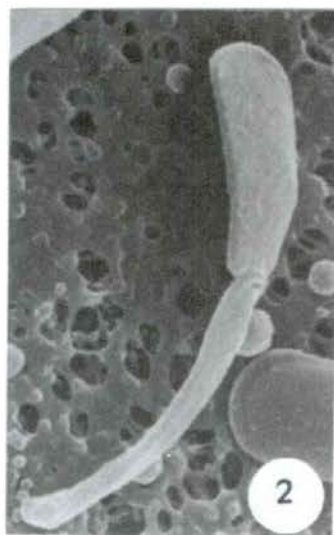
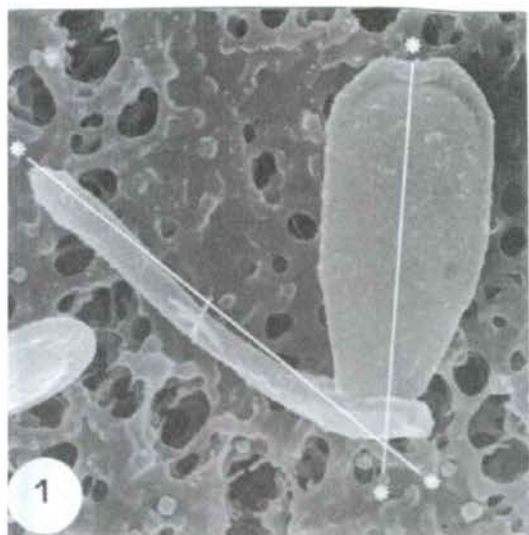
FIG. 5. Espermatozoide amb la cua enrotllada a l'entorn de la primera meitat de la peça intermèdia (→, límit entre les dues meitats de la peça intermèdia). Espermatozoide con la cola enrollada en torno a la primera mitad de la pieza intermedia (→, límite entre las dos mitades de la pieza intermedia). *Spermatozoon with tail coiled around the first half of the midpiece* (→, boundary between the two halves of the midpiece). 3700x.

FIG. 6. Espermatozoide amb la cua enrotllada a l'entorn de la peça intermèdia. El primer doblegament de la cua s'inicia més enllà de la posició que ocupa la gota citoplasmàtica (→), és a dir, a l'inici de la peça principal. Espermatozoide con la cola enrollada en torno a la pieza intermedia. El primer doblamiento de la cola se inicia más allá de la posición que ocupa la gota citoplasmática (→), es decir, al inicio de la pieza principal. *Spermatozoon with its tail coiled around the midpiece. The first folding of the tail begins beyond the cytoplasmic droplet position* (→), that is, at the beginning of the principal piece. 2600x.

FIG. 7. Espermatozoide amb el cap arrodonit i la cua enrotllada a l'entorn de la peça intermèdia. El primer doblegament de la cua es produeix a l'inici de la peça principal. Espermatozoide con la cabeza redondeada y la cola enrollada en torno a la pieza intermedia. El primer doblamiento de la cola se produce en el inicio de la pieza principal. *Spermatozoon with a roundish head and the tail coiled around the midpiece. The first folding of the tail occurs at the beginning of the principal piece.* 2900x.

FIG. 8. Espermatozoide amb el cap lleugerament allargat i la cua enrotllada a l'entorn de la peça intermèdia. El primer doblegament de la cua es produeix a l'inici de la peça principal, immediatament després de la gota citoplasmàtica (GC). Espermatozoide con la cabeza ligeramente alargada y la cola enrollada en torno a la pieza intermedia. El primer doblamiento de la cola se produce en el inicio de la pieza principal, inmediatamente después de la gota citoplasmática (GC). *Spermatozoon with a slightly elongated head, with the tail coiled around the midpiece. The first folding of the tail occurs at the beginning of the principal piece, just next to the cytoplasmic droplet (GC).* 2600x.

FIG. 9. Espermatozoide amb el cap lleugerament oval i la cua enrotllada a l'entorn dels dos primers terços de la peça intermèdia. La gota citoplasmàtica (GC), situada en la part posterior de l'enrotllament, cimenta les circumvolucions de la cua. Espermatozoide con la cabeza ligeramente oval y la cola enrollada en torno a los dos primeros tercios de la pieza intermedia. La gota citoplasmática (GC), situada en la parte posterior del enrollamiento, cimienta las circumvoluciones de la cola. *Spermatozoon with a slightly oval head, and the tail coiled around the first two-thirds of the midpiece. The cytoplasmic droplet (GC), placed in the posterior region of the coiling, consolidates the tail loops.* 4200x.



LÀMINA 29 / LÁMINA 29 / PLATE 29

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb la cua enrotllada a l'entorn de la peça principal i espermatozoides amb altres tipus d'enrotllament o de doblegament de la cua.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con la cola enrollada entorno a la pieza principal y espermatozoides con otros tipos de enrollamiento o de doblamiento de la cola.

Scanning electron microscopy. Spermatozoa with tails coiled around the principal pieces, and spermatozoa with other types of tail-coiling or folding.

FIG. 1. Espermatozoide immadur amb la gota citoplasmàtica disposada en el primer segment de la peça principal. Observi's que la peça principal dóna una volta completa a l'entorn de la gota citoplasmàtica (GC). Espermatozoide immaduro con la gota citoplasmàtica dispuesta en el primer segmento de la pieza principal. Obsérvese como la pieza principal da una vuelta completa en torno de la gota citoplasmàtica (GC). *Immature spermatozoon with its cytoplasmic droplet placed on the first segment of the principal piece. Note that the principal piece displays a complete loop around the cytoplasmic droplet (GC).* 2800x.

FIG. 2, 3. Espermatozoides immadurs amb la gota citoplasmàtica disposada en el primer segment de la peça principal. Observi's que, en la figura 2, la peça principal s'enrotlla completament a l'entorn de la gota citoplasmàtica (PT, peça terminal), i, en la figura 3, les peces principal i terminal s'enrotllen completament a l'entorn de la gota citoplasmàtica. Espermatozoides immaduros con la gota citoplasmàtica dispuesta en el primer segmento de la pieza principal. Obsérvese como, en la figura 2, la pieza principal se enrolla completamente en torno de la gota citoplasmàtica (PT, pieza terminal), y, en la figura 3, las piezas principal y terminal se enrollan completamente en torno de la gota citoplasmàtica. *Immature spermatozoa with the cytoplasmic droplets placed in the first segment of the principal piece. Note, in figure 2, that the principal piece turns completely around the cytoplasmic droplet (PT, terminal piece) and, in figure 3, the principal and terminal pieces turn completely around the cytoplasmic droplet.* Figura 2, 3400x; figura 3, 3000x.

FIG. 4 (a, b). a) Espermatozoide immadur amb la gota citoplasmàtica disposada en el segment terminal de la peça principal; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de l'enrotllament del segment distal de la peça principal i de la peça terminal a l'entorn de la gota citoplasmàtica (GC) a) Espermatozoide immaduro con la gota citoplasmàtica dispuesta en el segmento terminal de la pieza principal; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle del enrollamiento del segmento distal de la pieza principal y de la pieza terminal en torno de la gota citoplasmàtica (GC). *(a) Immature spermatozoon with a cytoplasmic droplet placed in the terminal segment of the principal piece; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the coiling of the distal segment of the principal piece and the terminal piece around the cytoplasmic droplet (GC).* a) 1200x; b) 4800x.

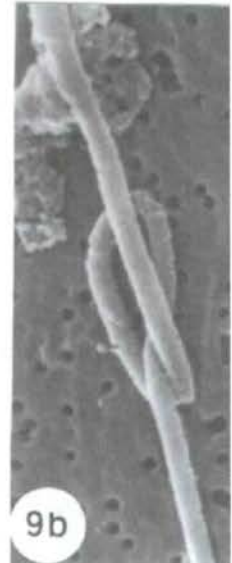
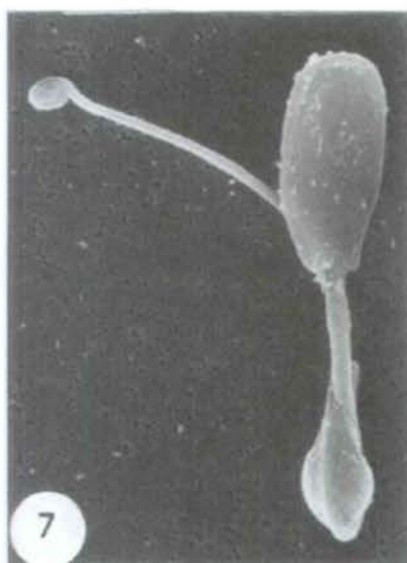
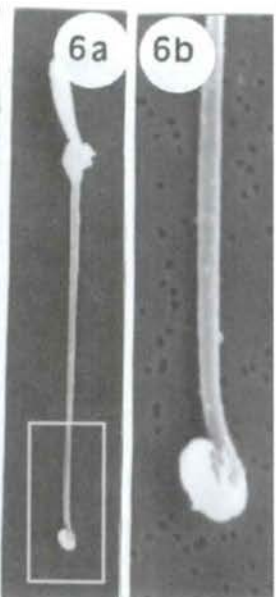
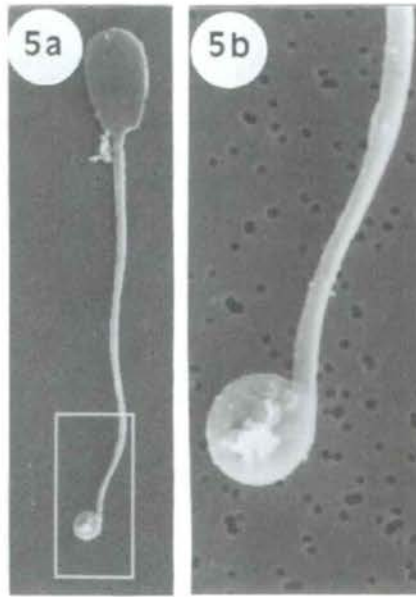
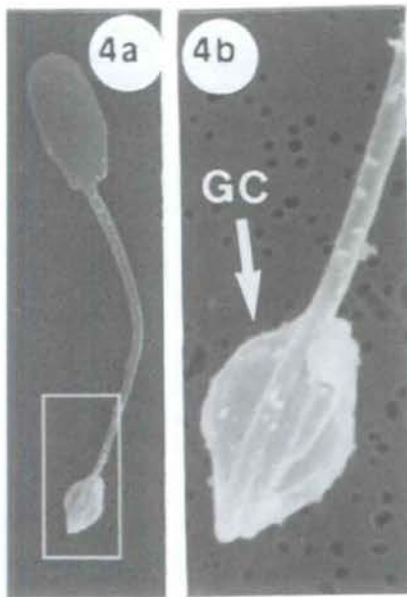
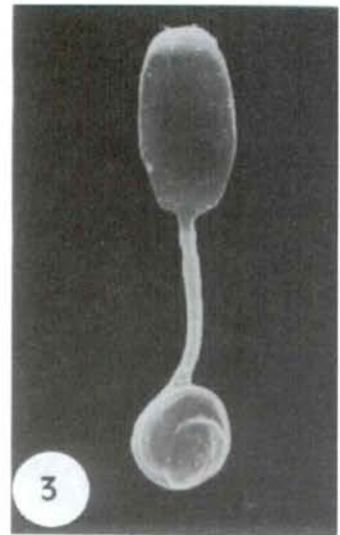
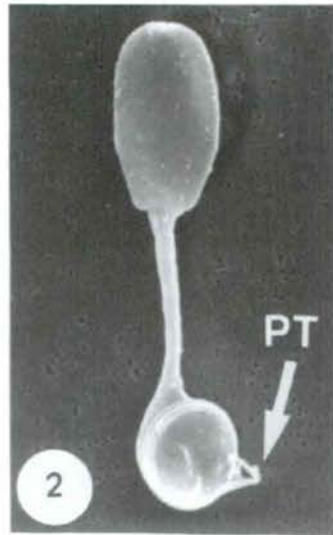
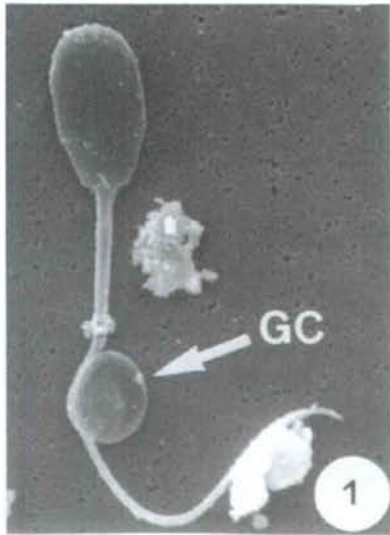
FIG. 5 (a, b). a) Espermatozoide madur amb la cua enrotllada a l'extrem distal; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de l'enrotllament de la cua que únicament afecta la peça terminal i el segment distal de la peça principal. a) Espermatozoide maduro con la cola enrollada en el extremo distal; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle del enrollamiento de la cola que únicament afecta a la peça terminal y al segmento distal de la pieza principal. *(a) Mature spermatozoon with its tail coiled at the distal end; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the tail-coiling which only affects the terminal piece and the distal segment of the principal piece.* a) 1800x; b) 7200x.

FIG. 6 (a, b). a) Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i la cua enrotllada a l'extrem terminal; requadre ampliat en la figura b. b) Detall de l'enrotllament de la cua que sols afecta la peça terminal. a) Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica proximal y la cola enrollada en el extremo terminal; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle del enrollamiento de la cola que sólo afecta a la peça terminal. *(a) Immature spermatozoon with a proximal cytoplasmic droplet and its tail coiled at the distal end; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the tail-coiling which only affects the terminal piece.* a) 1700x; b) 6800x.

FIG. 7. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal, la cua doblegada per l'anell de Jensen i enrotllada a l'extrem distal. Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal, la cola doblada por el anillo de Jensen y enrollada en el extremo distal. *Immature spermatozoon with a distal cytoplasmic droplet, having its tail folded at the Jensen's ring, and coiled at the distal end.* 3500x.

FIG. 8. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal, amb el cap en forma triangular i amb la cua doblegada pel terç posterior de la peça intermèdia i enrotllada a l'entorn del cap, per sota de la protuberància acrosòmica (PA). Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica distal, con la cabeza en forma triangular y con la cola doblada por el tercio posterior de la peça intermedia y enrollada alrededor de la cabeza, por debajo de la protuberància acrosòmica (PA). *Immature spermatozoon with a distal cytoplasmic droplet, a triangular-shaped head, its tail folded at the posterior third of the midpiece and coiled around the head, just below the acrosomal protuberance (PA).* 4500x.

FIG. 9 (a, b). a) Aspecte general d'un espermatozoide amb un fals nus en la peça principal; requadre ampliat en la figura b. b) Detall del fals nus de la peça principal. a) Aspecto general de un espermatozoide con un falso nudo en la peça principal; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle del falso nudo de la pieza principal. *(a) General view of a spermatozoon with a false knot in the principal piece; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the false knot of the principal piece.* a) 1800x; b) 7200x.



LÀMINA 30 / LÁMINA 30 / PLATE 30

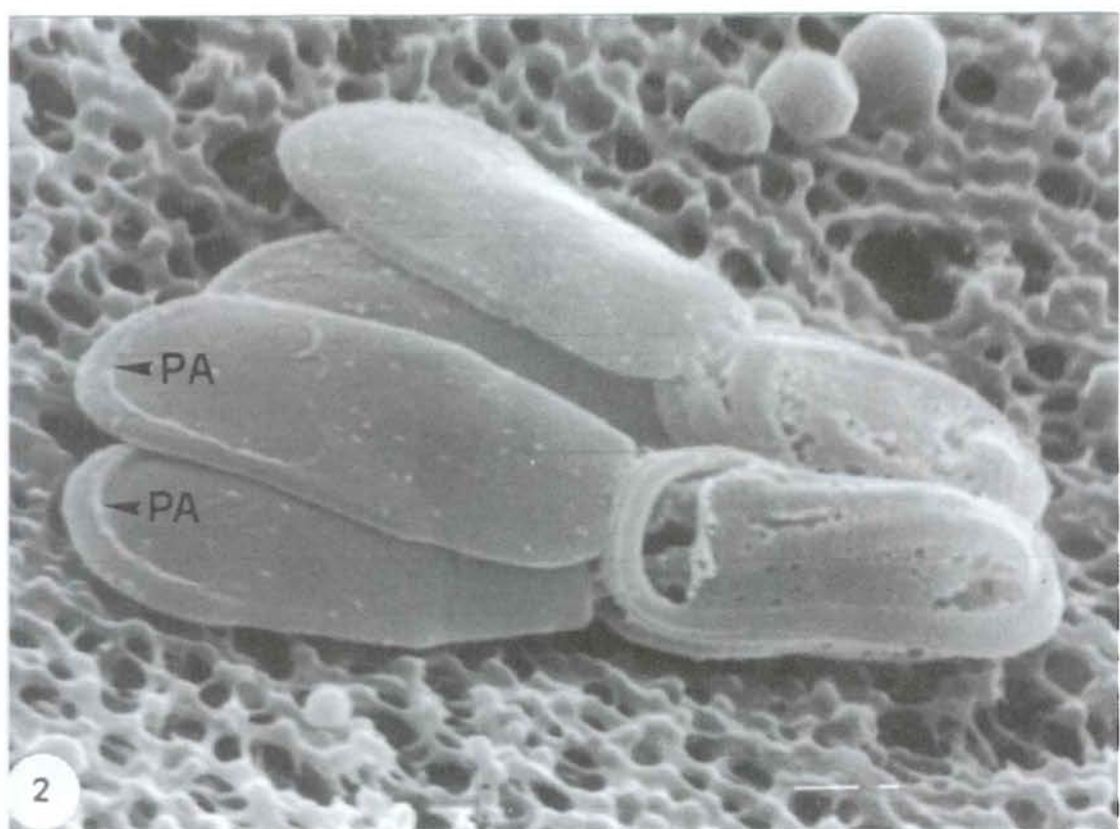
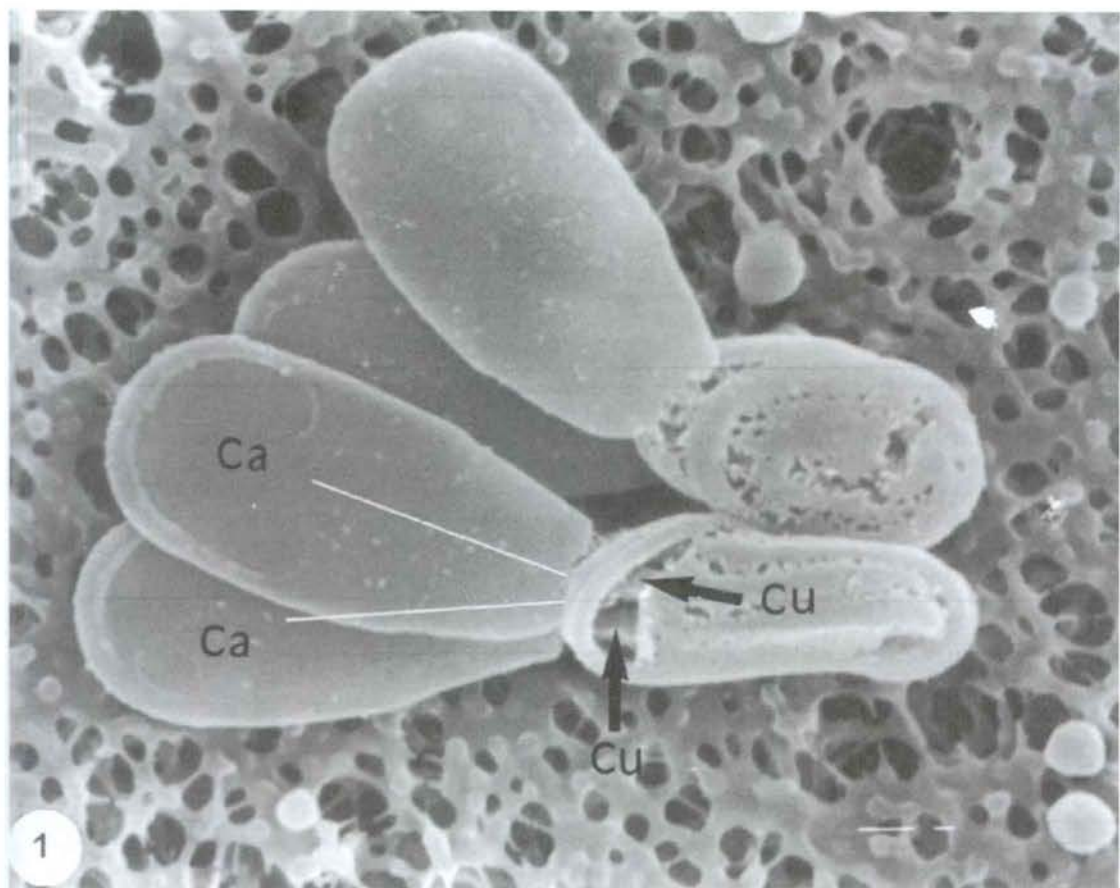
Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb dos caps i la cua totalment enrotllada.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con dos cabezas y la cola totalmente enrollada.

Scanning electron microscopy. Bicephalic spermatozoa with completely coiled tails.

FIG. 1. Aspecte general de dos espermatozoides cadascun dels quals presenta dos caps i dues cues totalment enrotllades. Els dos caps (Ca) se sobreposen i formen un angle d'uns 30° i les dues cues (Cu) no es fusionen, almenys per la peça de connexió, si bé, seguint una trajectòria paral·lela, s'enrotllen totalment sobre si mateixes. Aspecto general de dos espermatozoides cada uno de los cuales presenta dos cabezas y dos colas totalmente enrolladas. Las dos cabezas (Ca) se sobreponen y forman un ángulo de unos 30° y las dos colas (Cu) no se fusionan, al menos por la pieza de conexión, si bien, siguiendo una trayectoria paralela, se enrollan totalmente sobre sí mismas. *General view of two spermatozoa, each one of them showing two heads and two completely coiled tails. The two heads (Ca) are superimposed, giving rise to about a 30° angle. The two tails (Cu) do not fuse, at least at the connecting piece, although they follow a parallel trajectory and coil completely over themselves.* 8600x.

FIG. 2. Aspecte lateralitzat dels dos espermatozoides de la figura anterior. Observi's la forma plana dels caps, així com el desenvolupament de la protuberància acrosòmica (PA). Aspecto lateralizado de los espermatozoides de la figura anterior. Obsérvese la forma llana de las cabezas, así como el desarrollo de la protuberancia acrosómica (PA). *Another side view of the spermatozoa depicted in the previous figure. Note the flat-shaped heads, as well as the acrosomal protuberance development (PA).* 9800x.



LÀMINA 31 / LÁMINA 31 / PLATE 31

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses tipologies d'espermatozoides amb dos caps i la cua totalment enrotllada.
 Microscòpia electrònica de barrido. Diversas tipologías de espermatozoides con dos cabezas y la cola totalmente enrollada.
Scanning electron microscopy. Different typologies of bicephalic spermatozoa with completely coiled tails.

FIG. 1. Espermatozoide amb dos caps disposats en un mateix pla i orientats formant un angle d'uns 90° entre ells. La cua, totalment enrotllada, forma una estructura aplanada que es disposa en el mateix pla que els caps. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas en un mismo plano y orientadas formando un ángulo de unos 90° entre ellas. La cola, totalmente enrollada, forma una estructura aplanada que se dispone en el mismo plano que las cabezas. *Spermatozoon with two heads located on the same plane, giving rise to about a 90° angle between them. The completely coiled tail gives rise to a flattened structure which is on the same plane of the heads. 5400x.*

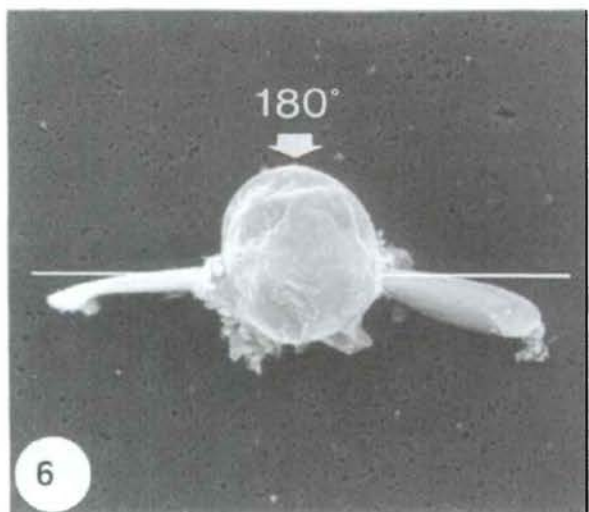
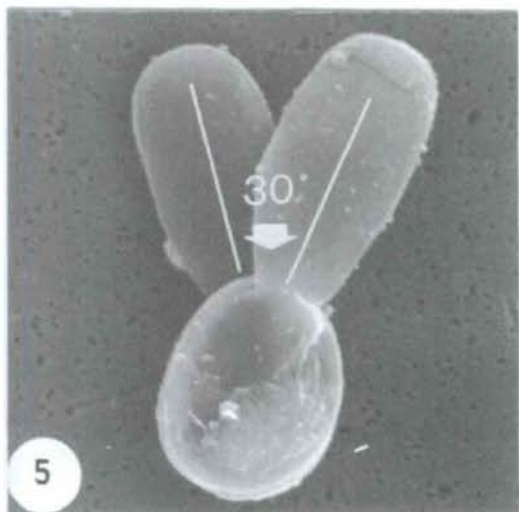
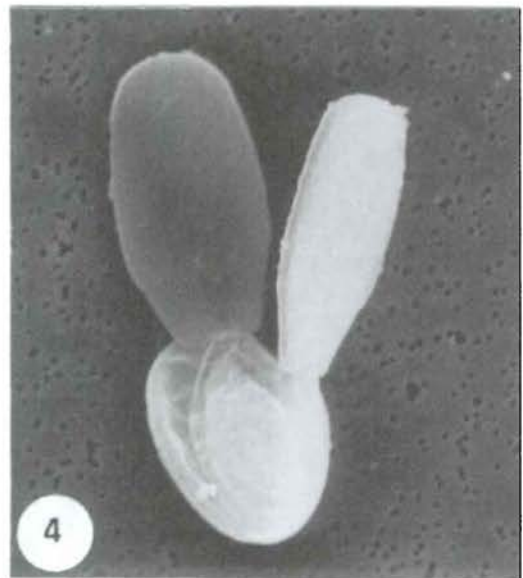
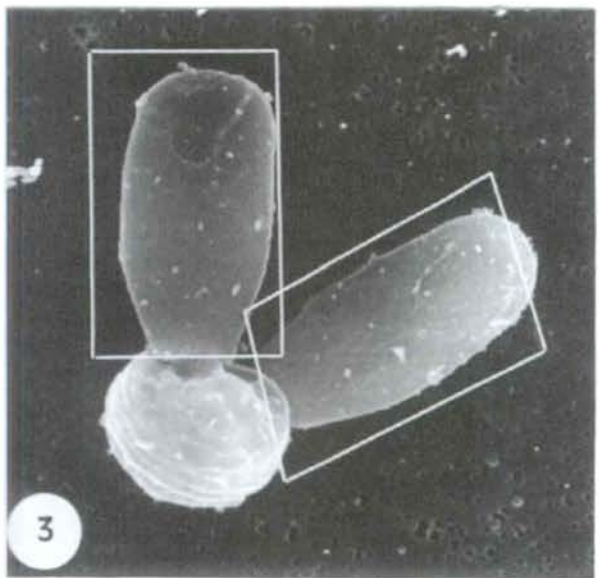
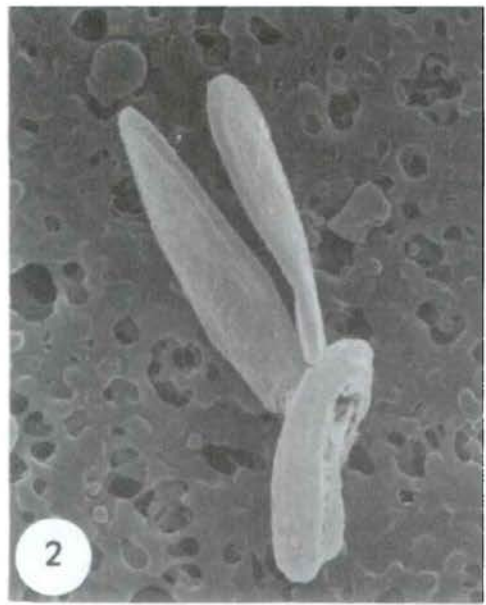
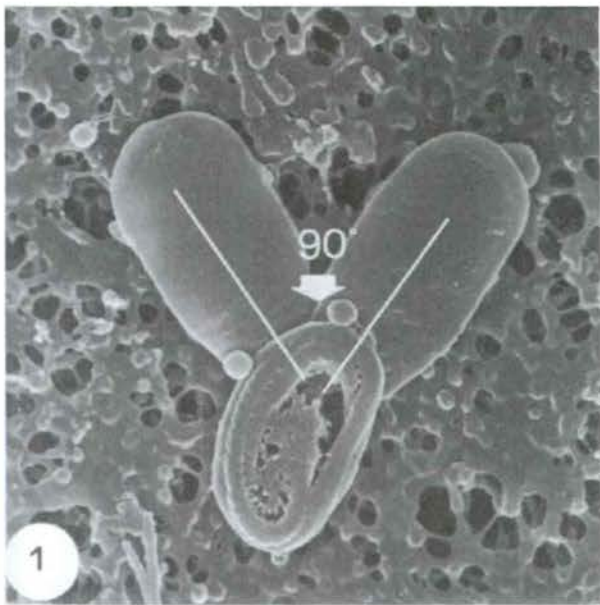
FIG. 2. Aspecte lateral d'un espermatozoide bicefàlic i amb la cua totalment enrotllada. Els dos caps estan situats l'un damunt de l'altre, en plans paral·lels. Aspecto lateral de un espermatozoide bicefàlico y con la cola totalmente enrollada. Las dos cabezas están situadas una sobre la otra, en planos paralelos. *Side view of a bicephalic spermatozoon with a completely coiled tail. The two heads are overlapped, on parallel planes. 5600x.*

FIG. 3. Espermatozoide amb dos caps disposats en plans ortogonals. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas en planos ortogonales. *Spermatozoon with two heads disposed in orthogonal planes. 5000x.*

FIG. 4. Aspecte lateral d'un espermatozoide bicefàlic amb dos caps disposats en plans ortogonals. Aspecto lateral de un espermatozoide bicefàlico con dos cabezas dispuestas en planos ortogonales. *Side view of a bicephalic spermatozoon with its two heads placed on orthogonal planes. 5000x.*

FIG. 5. Espermatozoide amb dos caps disposats en un mateix pla i orientats formant un angle d'uns 30° entre ells. La cua, totalment enrotllada, forma una estructura aplanada que es disposa en el mateix pla que els caps. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas en un mismo plano y orientadas formando un ángulo de unos 30° entre ellas. La cola, totalmente enrollada, forma una estructura aplanada que se dispone en el mismo plano que las cabezas. *Spermatozoon with two heads on the same plane, giving rise to about an 30° angle between them. The completely coiled tail gives rise to a flattened structure which is on the same plane as the heads. 5000x.*

FIG. 6. Espermatozoide amb dos caps disposats en un mateix pla, però orientats en sentit contrari formant un angle de 180° entre ells. La cua enrotllada destaca com una massa globular que es disposa entre els dos caps. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas en un mismo plano, pero orientadas en sentido contrario formando un ángulo de 180° entre ellas. La cola enrollada destaca como una masa globular que se dispone entre las dos cabezas. *Spermatozoon with two heads on the same plane, but located in opposite directions, giving rise to a 180° angle between them. The coiled tail appears as a globular mass placed between the two heads. 3000x.*



LÀMINA 32 / LÁMINA 32 / PLATE 32

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses tipologies d'espermatozoides amb dos caps i la cua enrotllada.
Microscopía electrónica de barrido. Diversas tipologías de espermatozoides con dos cabezas y la cola enrollada.

Scanning electron microscopy. Different typologies of bicephalic spermatozoa with coiled tail.

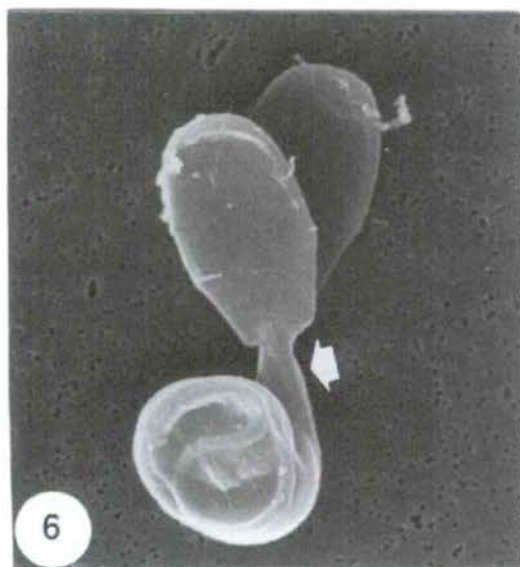
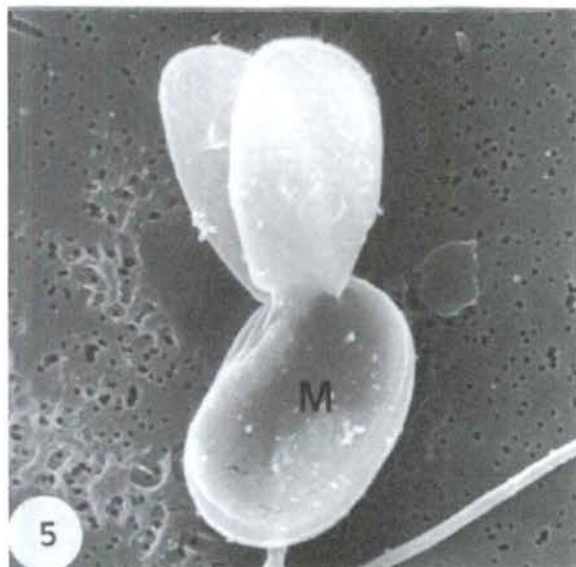
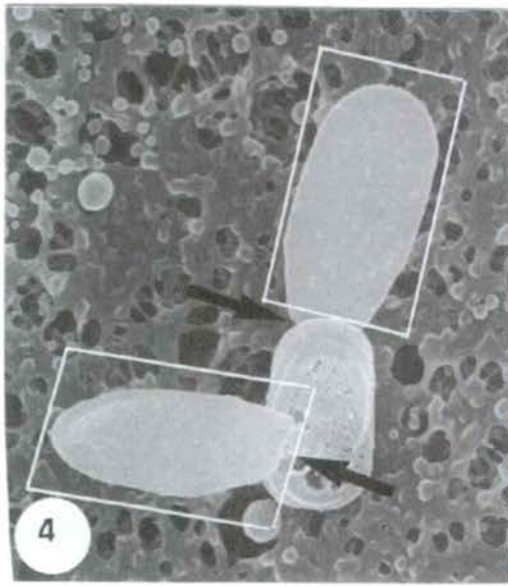
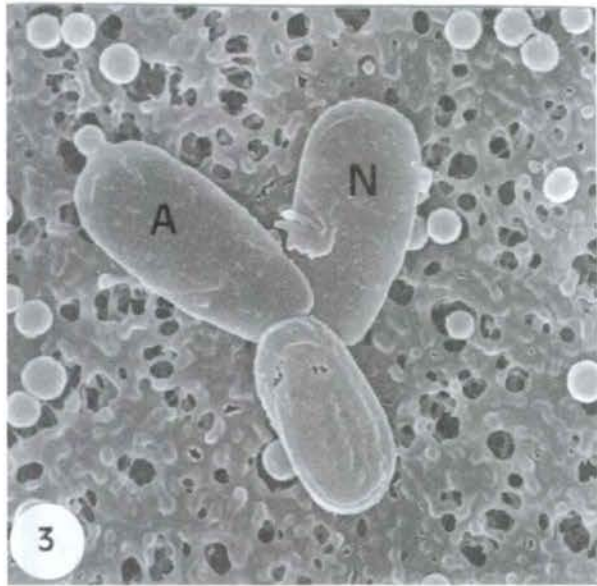
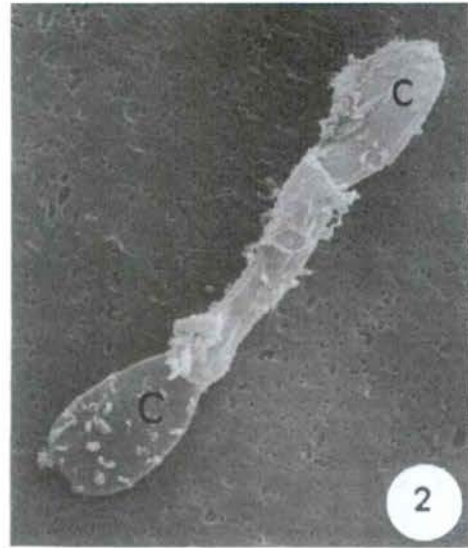
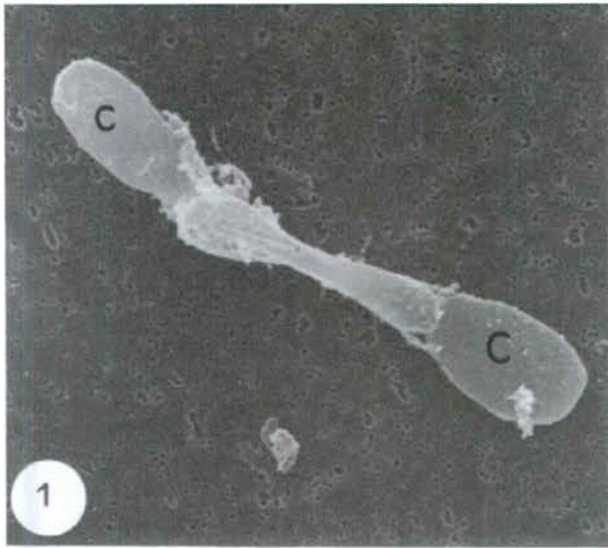
FIG. 1, 2. Espermatozoides amb les dues peces intermèdies no enrotllades i antiparal·leles, i les peces principal i terminal enrotllades sobre les peces intermèdies. Observi's en ambdues figures que un dels dos caps és més voluminós que l'altre (C, cap més gran; c, cap més petit). Espermatozoides con las dos piezas intermedias no enrolladas y antiparalelas, y las piezas principal y terminal enrolladas sobre las piezas intermedias. Obsérvese en ambas figuras que una de las dos cabezas es más voluminosa que la otra (C, cabeza más grande; c, cabeza más pequeña). *Spermatozoa with two uncoiled and antiparallel midpieces, and the principal and terminal pieces coiled over the midpieces. Notice in both figures that one of the two heads is more voluminous than the other one (C, bigger head; c, smaller head). Figura 1, 3200x; figura 2, 3600x.*

FIG. 3. Espermatozoide amb dos caps, un dels quals és lleugerament allargat (A) i l'altre presenta un aspecte normal (N). Espermatozoide con dos cabezas, una de las cuales es ligeramente alargada (A) y la otra presenta un aspecto normal (N). *Spermatozoon with two heads, one of them is slightly elongated (A) and the other shows a normal view. 4500x.*

FIG. 4. Espermatozoide amb dos caps i la cua enrotllada amb una estructura cilíndrica. A cada base d'aquesta massa cilíndrica (→) es disposa un dels dos caps que s'orienten entre si en plans ortogonals. Espermatozoide con dos cabezas y la cola enrollada con una estructura cilíndrica. En cada base de esta masa cilíndrica (→) se dispone una de las dos cabezas que se orientan entre sí en planos ortogonales. *Spermatozoon with two heads and tail coiled giving rise to a cylindrical structure. At each base of this cylindrical mass (→) disposes each one of the two heads which are positioned between them in orthogonal planes. 4500x.*

FIG. 5. Espermatozoide amb dos caps i la cua totalment enrotllada que forma una massa molt voluminosa (M). Observi's que, a diferència de les altres tipologies descrites, el volum ocupat per la cua sobrepasa notablement el volum de qualsevol dels dos caps. Espermatozoide con dos cabezas y la cola totalmente enrollada que forma una masa muy voluminosa (M). Obsérvese como, a diferencia de las otras tipologías descritas, el volumen ocupado por la cola sobrepasa notablemente el volumen de cualquiera de las dos cabezas. *Spermatozoon with two heads and tail completely coiled giving rise to a really voluminous mass (M). Notice that, in contrast to the previous described typologies, the volume occupied by the tail notably exceeds the volume of any of the two heads. 5000x.*

FIG. 6. Espermatozoide amb dos caps i la cua enrotllada. L'enrotllament de la cua no afecta les dues peces de connexió, així com tampoc l'extrem anterior de les peces intermèdies (→). Espermatozoide con dos cabezas y la cola enrollada. El enrollamiento de la cola no afecta a las piezas de conexión, así como tampoco al extremo anterior de las piezas intermedias (→). *Spermatozoon with two heads and coiled tail. The tail coiling does not affect the two connecting pieces, neither the anterior part of the midpieces (→). 4000x.*



LÀMINA 33 / LÁMINA 33 / PLATE 33

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses tipologies d'espermatozoides amb dos caps i la cua parcialment enrotllada.
 Microscopía electrónica de barrido. Diversas tipologías de espermatozoides con dos cabezas y la cola parcialmente enrollada.
Scanning electron microscopy. Different typologies of bicephalic spermatozoa with partially coiled tail.

FIG. 1 (a, b). *a* Aspecte general d'un espermatozoide amb dos caps i la cua parcialment enrotllada; requadre ampliat en la figura *b*. *b* Detall de l'enrotllament; observi's la presència de dues cues fusionades que s'enrotllen a nivell de la peça intermèdia (PI) i donen una volta completa. *a*) Aspecto general de un espermatozoide con dos cabezas y la cola parcialmente enrollada; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle del enrollamiento; obsérvese la presencia de dos colas fusionadas que se enrollan a nivel de la pieza intermedia (PI) i dan una vuelta completa. *(a)* General view of a bicephalic spermatozoon with partially coiled tail; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the coiling; note the presence of two fused tails which coil at the midpiece level (PI) giving rise to a complete loop. *a*) 1700x; *b*) 7000x.

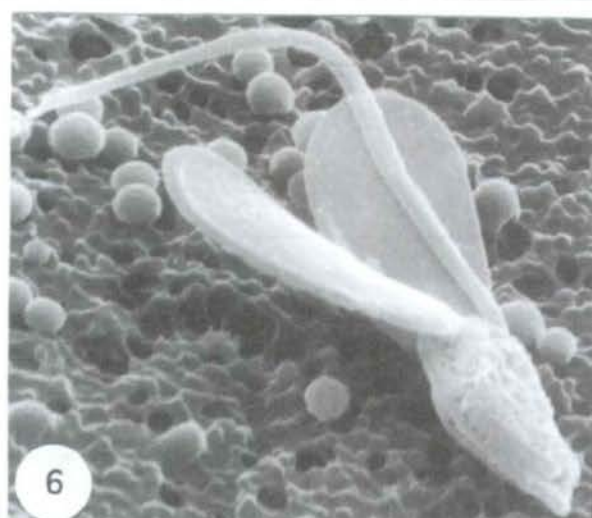
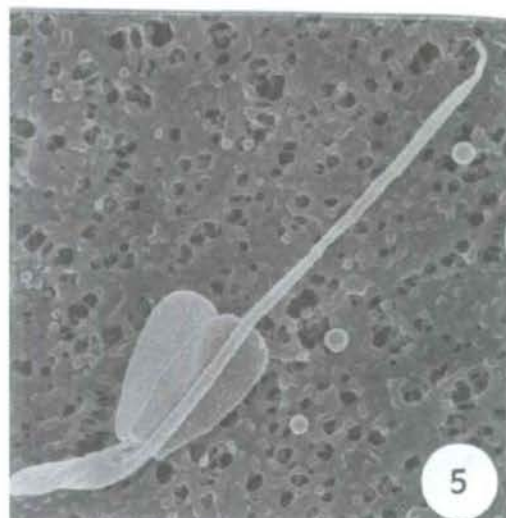
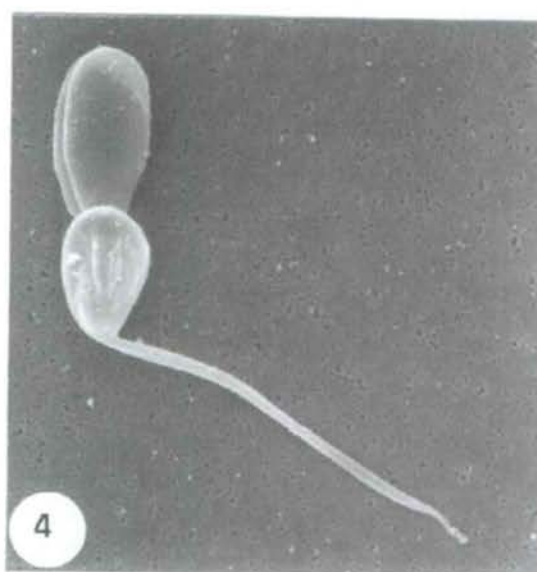
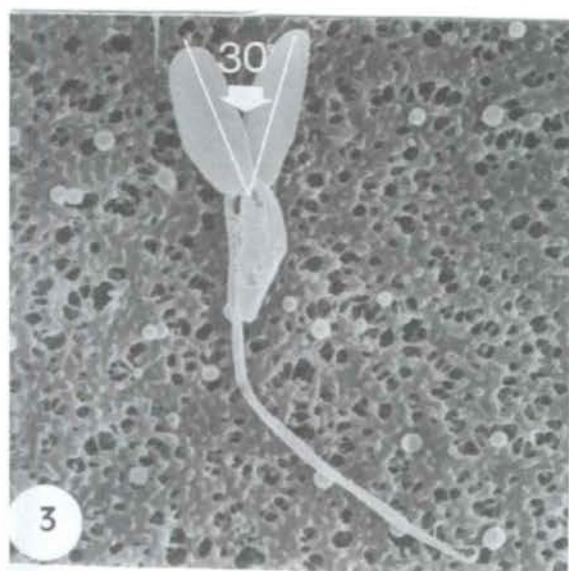
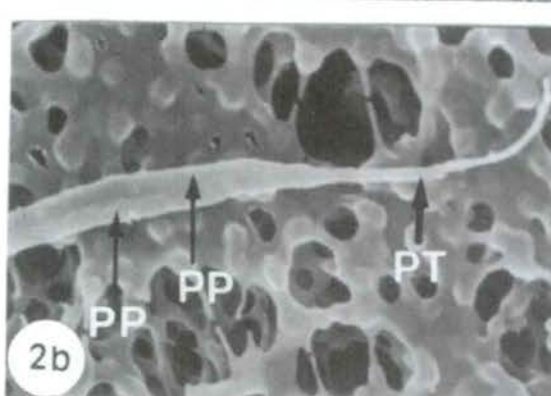
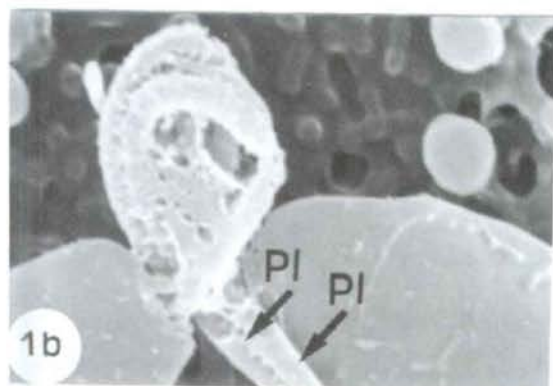
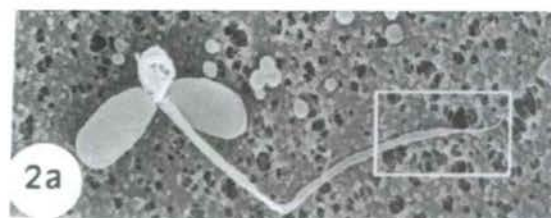
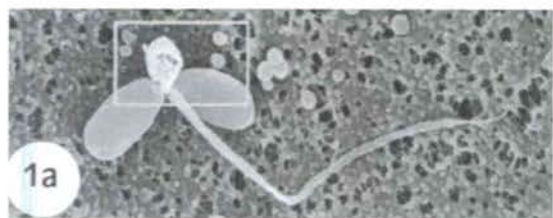
FIG. 2 (a, b). *a* Aspecte general d'un espermatozoide amb dos caps i la cua parcialment enrotllada; requadre ampliat en la figura *b*. *b* Detall de la part posterior de la cua; observi's la presència de dues cues fusionades (PP, peça principal) i la major longitud de la peça terminal (PT). *a*) Aspecto general de un espermatozoide con dos cabezas y la cola parcialmente enrollada; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la parte posterior de la cola; obsérvese la presencia de dos colas fusionadas (PP, pieza principal) y la mayor longitud de la pieza terminal (PT). *(a)* General view of a bicephalic spermatozoon with partially coiled tail; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the tail posterior part; note the presence of two fused tails (PP, principal piece) and the longer terminal piece (PT). *a*) 1700x; *b*) 7000x.

FIG. 3. Espermatozoide amb dos caps disposats formant un angle d'uns 30° i la cua enrotllada únicament en la regió de la peça intermèdia. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas formando un ángulo de unos 30° y la cola enrollada únicamente en la región de la pieza intermedia. Spermatozoon with two heads disposed giving rise to an about 30° angle and tail solely coiled at the midpiece region. 3000x.

FIG. 4. Espermatozoide amb dos caps sobreposats i la cua enrotllada únicament en la regió de la peça intermèdia. El major gruix de la cua ve donat per la presència de dues cues completes fusionades. Espermatozoide con dos cabezas superpuestas y la cola enrollada únicamente en la región de la pieza intermedia. El mayor grosor de la cola se debe a la presencia de dos colas completas fusionadas. Spermatozoon with two superposed heads and tail solely coiled at the midpiece region. The tail thickness is due to the presence of two complete fused pieces. 2800x.

FIG. 5. Espermatozoide amb dos caps disposats en el mateix pla formant un angle de 30° i la cua enrotllada en la regió de la peça intermèdia i en la part anterior de la peça principal. Observi's que, en aquest cas, la cua es disposa per sobre dels caps. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas en el mismo plano formando un ángulo de 30° y la cola enrollada en la región de la pieza intermedia y en la parte anterior de la pieza principal. Obsérvese como, en este caso, la cola se dispone por encima de las cabezas. Spermatozoon with two heads disposed in the same plane giving rise to a 30° angle and tail coiled at the midpiece region and the anterior part of the principal piece. Note that, in this case, the tail disposes over the heads. 3000x.

FIG. 6. Espermatozoide amb dos caps disposats en plans ortogonals i la cua enrotllada en la regió de la peça intermèdia i en la primera meitat de la peça principal. Observi's que, en aquest cas, la cua es disposa per sobre d'un dels caps. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas en planos ortogonales y la cola enrollada en la región de la pieza intermedia y en la primera mitad de la pieza principal. Obsérvese como, en este caso, la cola se dispone por encima de una de las cabezas. Spermatozoon with two heads disposed in orthogonal planes and tail coiled at the midpiece region and the first half of the principal piece. Note that, in this case, the tail disposes over one of the heads. 6400x.



LÀMINA 34 / LÁMINA 34 / PLATE 34

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses tipologies d'espermatozoides amb dos caps i la cua parcialment enrotllada.
 Microscopía electrónica de barrido. Diversas tipologías de espermatozoides con dos cabezas y la cola parcialmente enrollada.
Scanning electron microscopy. Different typologies of bicephalic spermatozoa with partially coiled tail.

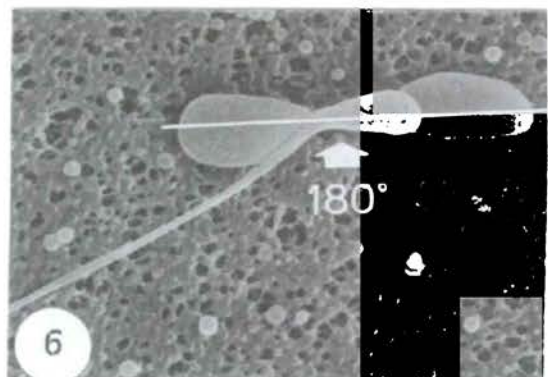
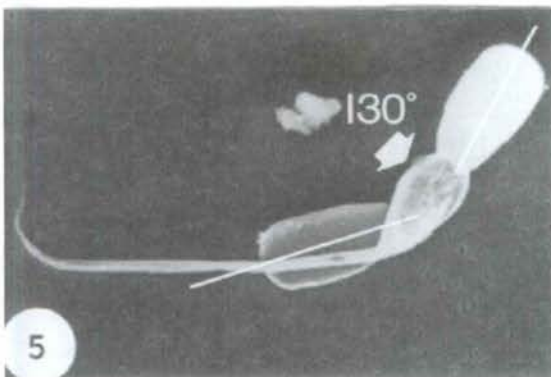
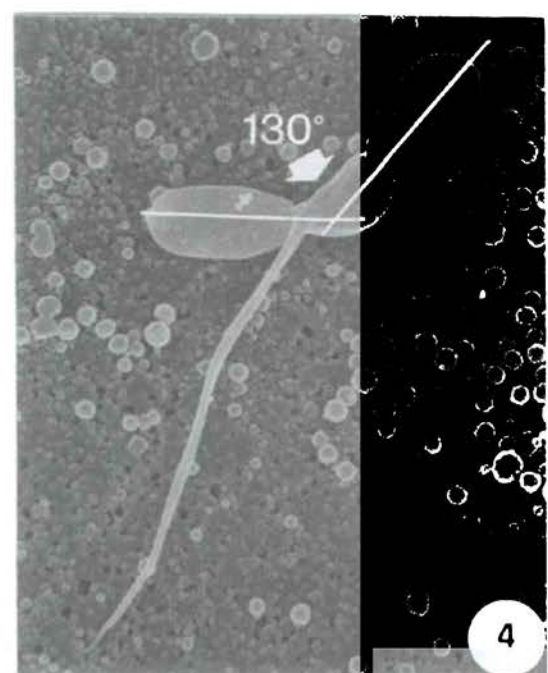
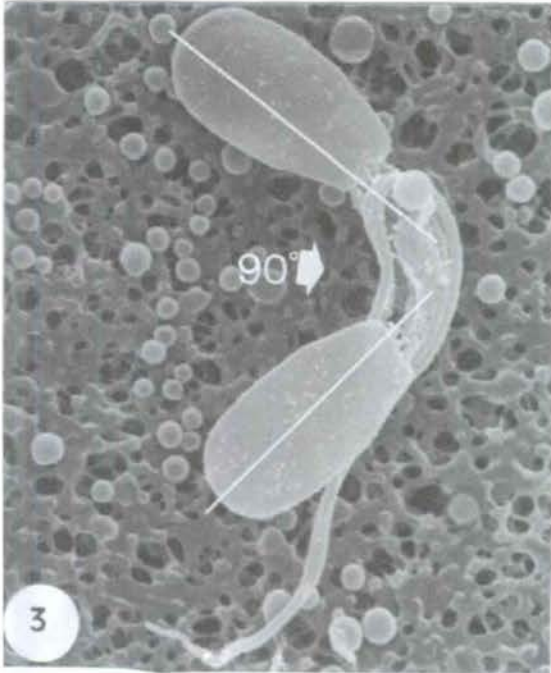
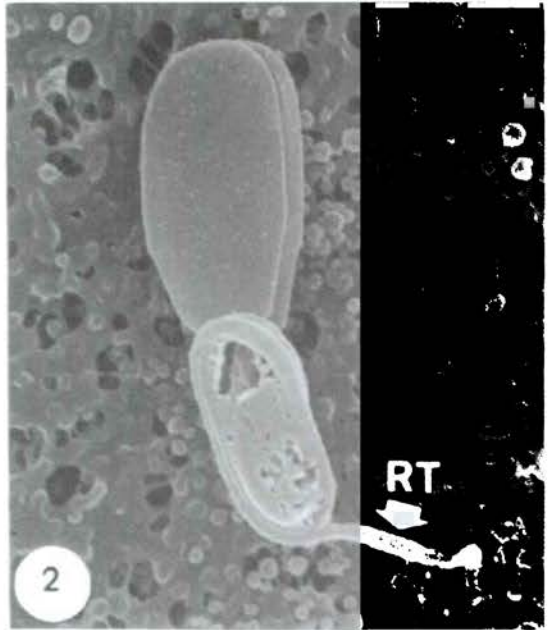
FIG. 1. Espermatozoide amb dos caps sobreposats i la cua enrotllada en la regió de la peça intermèdia i els dos primers terços de la peça principal. Observi's que, en aquest cas, la cua no es disposa per damunt dels caps. Espermatozoide con dos cabezas sobrepuestas y la cola enrollada en la región de la pieza intermedia y los dos primeros tercios de la pieza principal. Obsérvese como, en este caso, la cola no se dispone por encima de las cabezas. *Spermatozoon with two superposed heads and tail coiled at the midpiece region and the first two thirds of the principal piece. Note that, in this case, the tail does not dispose over the heads.* 4500x.

FIG. 2. Espermatozoide amb dos caps sobreposats i la cua enrotllada en les regions de la peces intermèdia i principal. Observi's la regió terminal (RT) de la cua no afectada per l'enrotllament. Espermatozoide con dos cabezas sobrepuestas y la cola enrollada en las regiones de las piezas intermedia y principal. Obsérvese la región terminal (RT) de la cola no afectada por el enrollamiento. *Spermatozoon with two superposed heads and tail coiled at the midpiece and principal piece regions. Note the terminal region (RT) of the tail is not affected by the coiling.* 5400x.

FIG. 3. Espermatozoide amb dos caps disposats en el mateix pla formant un angle d'uns 90°, i separats per l'enrotllament de la cua que afecta la regió de la peça intermèdia i la primera meitat de la peça principal. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas en el mismo plano formando un ángulo de unos 90°, y separadas por el enrollamiento de la cola que afecta a la región de la pieza intermedia y a la primera mitad de la pieza principal. *Spermatozoon with two heads disposed in the same plane giving rise to an about 90° angle and, separated by the tail coiling which affects the midpiece region and the first half of the principal piece.* 4500x.

FIG. 4, 5. Espermatozoides amb dos caps disposats en el mateix pla formant un angle d'uns 130°, i separats per l'enrotllament de la cua que afecta únicament la regió de la peça intermèdia. Espermatozoides con dos cabezas dispuestas en el mismo plano formando un ángulo de unos 130°, y separadas por el enrollamiento de la cola que afecta únicamente a la región de la pieza intermedia. *Spermatozoa with two heads disposed in the same plane giving rise to an about 130° angle and, separated by the tail coiling which affects solely the midpiece region. Figura 4, 2600x; figura 5, 2500x.*

FIG. 6. Espermatozoide amb dos caps disposats en el mateix pla formant un angle d'uns 180°, i separats per l'enrotllament de la cua que afecta únicament la regió de la peça intermèdia. Espermatozoide con dos cabezas dispuestas en el mismo plano formando un ángulo de unos 180°, y separadas por el enrollamiento de la cola que afecta únicamente a la región de la pieza intermedia. *Spermatozoon with two heads disposed in the same plane giving rise to an about 180° angle and, separated by the tail coiling which affects solely the midpiece region.* 2600x



LÀMINA 35 / LÁMINA 35 / PLATE 35

Microscòpia electrònica de rastreig. Espermatozoides amb dos caps i dues cues no enrotllades.

Microscopía electrónica de barrido. Espermatozoides con dos cabezas y dos colas no enrolladas.

Scanning electron microscopy. Bicephalic spermatozoa with two uncoiled tails.

FIG. 1 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal, amb dos caps i dues cues no enrotllades i fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de la gota citoplasmàtica; observin-se les dues cues (C) fusionades. *a*) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal, con dos cabezas y dos colas no enrolladas y fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la gota citoplasmática; obsérvense las dos colas (C) fusionadas. *(a)* General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet, with two heads and two uncoiled and fused tails; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the cytoplasmic droplet; notice the two fused tails (C). *a*) 1500×; *b*) 6000×.

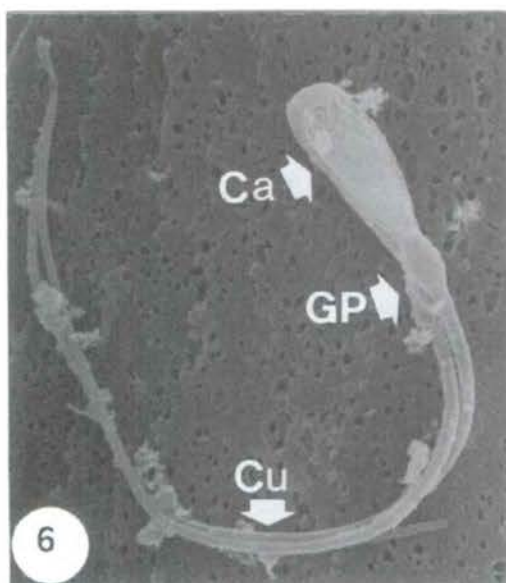
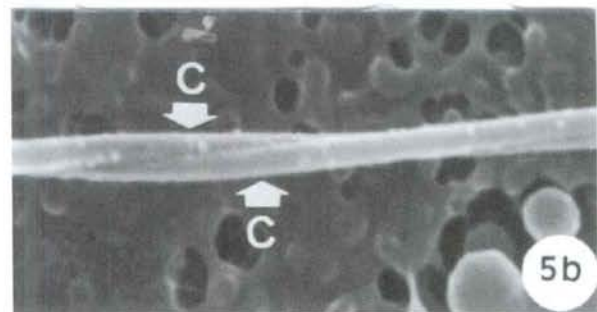
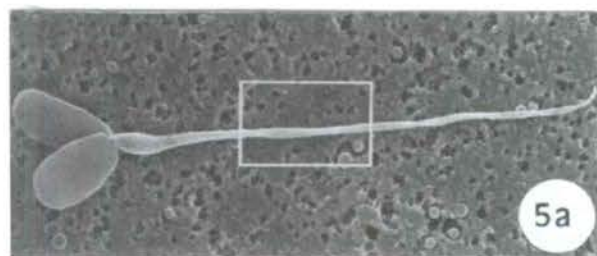
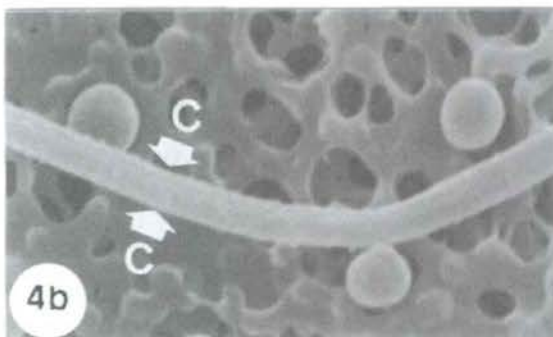
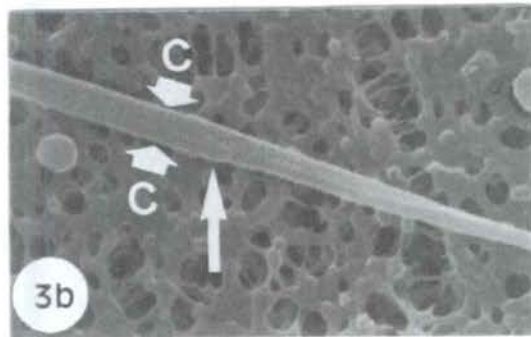
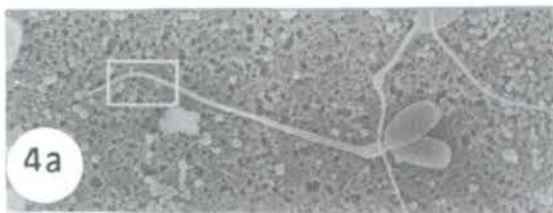
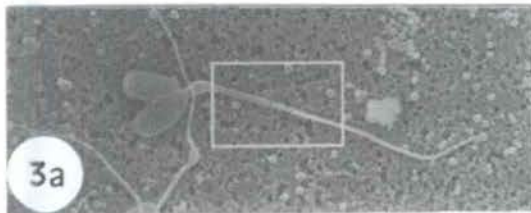
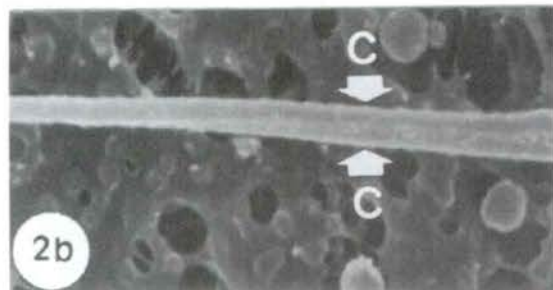
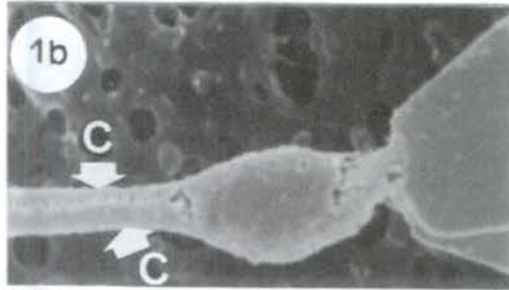
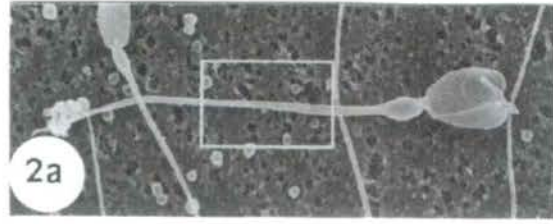
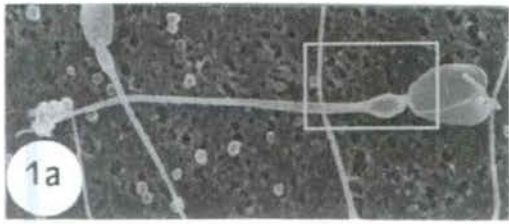
FIG. 2 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal, amb dos caps i dues cues no enrotllades i fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de la regió de la peça principal; observin-se les dues cues (C) fusionades. *a*) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal, con dos cabezas y dos colas no enrolladas y fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la región de la pieza principal; obsérvense las dos colas (C) fusionadas. *(a)* General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet, with two heads and two uncoiled and fused tails; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the principal piece region; notice the two fused tails (C). *a*) 1500×; *b*) 6000×.

FIG. 3 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal, amb dos caps i dues cues no enrotllades i fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de les regions de les peces intermèdia i principal; observi's el límit entre ambdues regions (→) i les dues cues (C) fusionades. *a*) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal, con dos cabezas y dos colas no enrolladas y fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de las regiones de las piezas intermedia y principal; obsérvese el límite entre ambas regiones (→) y las dos colas (C) fusionadas. *(a)* General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet, with two heads and two uncoiled and fused tails; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the midpiece and principal piece regions; notice the limit between both regions (→) and the two fused tails (C). *a*) 1200×; *b*) 4800×.

FIG. 4 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal, amb dos caps i dues cues no enrotllades i fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de la regió distal de la peça principal; observin-se les dues cues (C) fusionades. *a*) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal, con dos cabezas y dos colas no enrolladas y fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la región distal de la pieza principal; obsérvense las dos colas (C) fusionadas. *(a)* General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet, with two heads and two uncoiled and fused tails; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the distal region of the principal piece; notice the two fused tails (C). *a*) 1200×; *b*) 9600×.

FIG. 5 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal, amb dos caps i dues cues no enrotllades i fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de l'helicoidalització de les dues cues (C). *a*) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal, con dos cabezas y dos colas no enrolladas y fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la helicoidalización de las dos colas (C). *(a)* General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet, with two heads and two uncoiled and fused tails; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the helix path of the two tails (C). *a*) 1700×; *b*) 6900×.

FIG. 6. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (GP), dos caps (Ca) i dues cues (Cu) no enrotllades ni fusionades. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal (GP), dos cabezas (Ca) y dos colas (Cu) no enrolladas ni fusionadas. *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet (GP), two heads (Ca) and two uncoiled and unfused tails (Cu).* 3500×.



LÀMINA 36 / LÁMINA 36 / PLATE 36

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses tipologies d'espermatozoides amb dos caps i la cua no enrotllada i d'espermatozoides amb tres caps i la cua enrotllada.

Microscopía electrónica de barrido. Diversas tipologías de espermatozoides con dos cabezas y la cola no enrollada y de espermatozoides con tres cabezas y la cola enrollada.

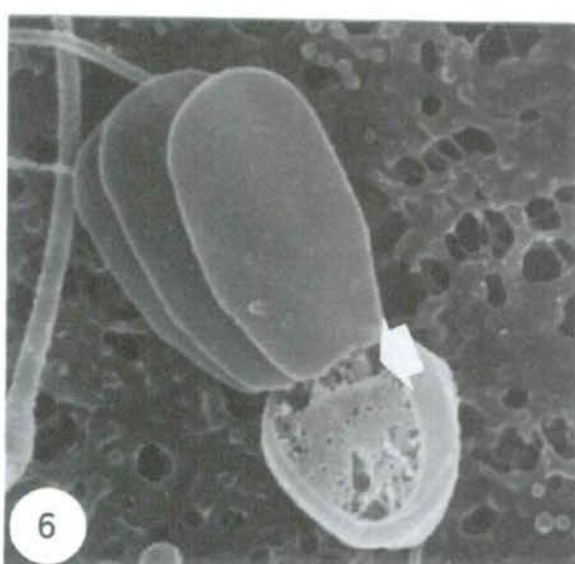
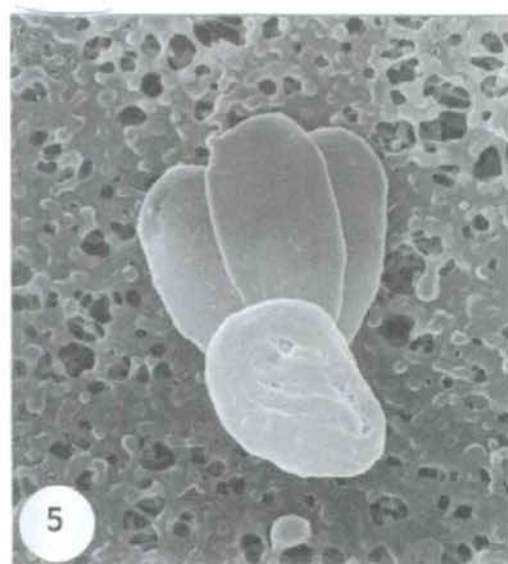
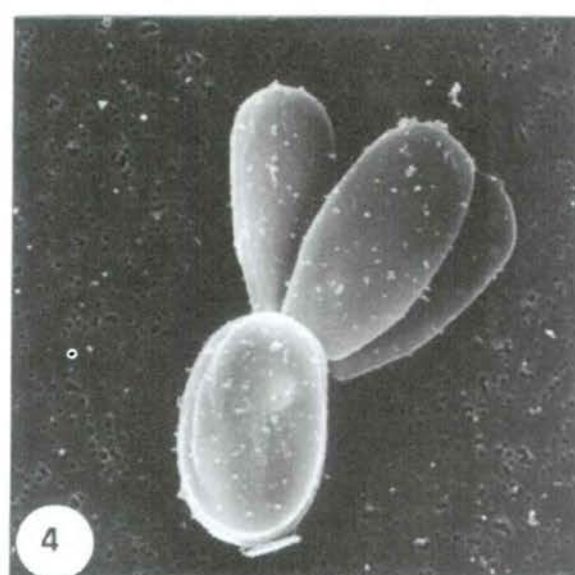
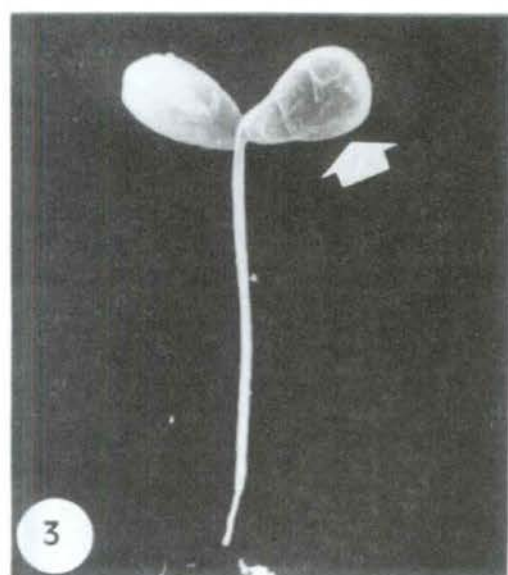
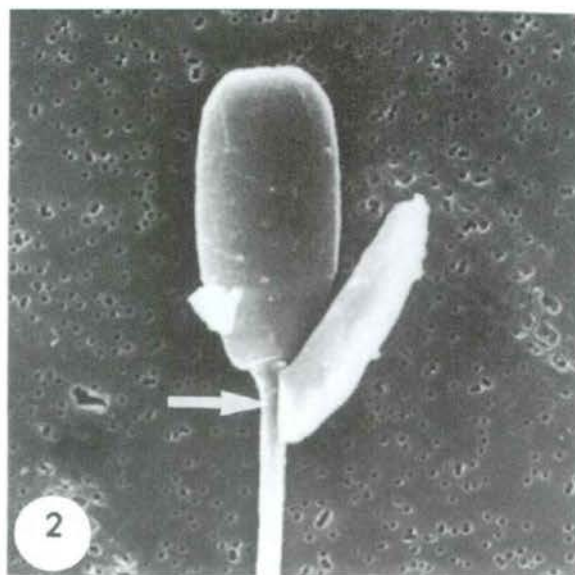
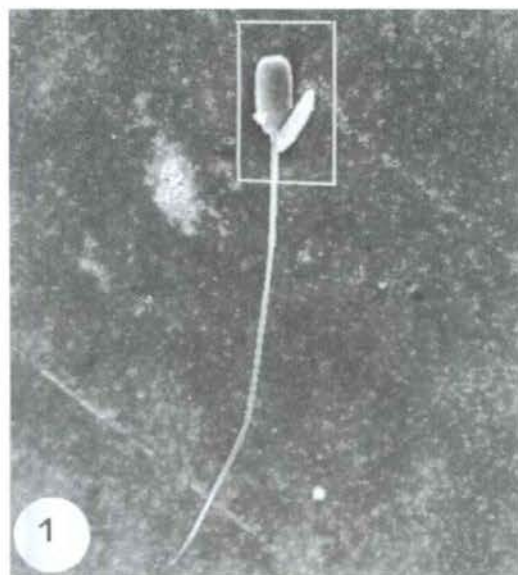
Scanning electron microscopy. Different typologies of bicephalic spermatozoa with uncoiled tail and tricephalic spermatozoa with coiled tail.

FIG. 1. Espermatozoide amb dos caps i dues cues no enrotllades i fusionades; requadre ampliat en la figura 2. Espermatozoide con dos cabezas y dos colas no enrolladas y fusionadas; recuadro ampliado en la figura 2. *Bicephalic spermatozoon with two uncoiled and fused tails; framed area enlarged in figure 2.* 1200x.

FIG. 2. Detall d'un espermatozoide amb dos caps. Observi's que un dels dos caps es disposa sobre la peça de connexió de forma que la base del cap s'orienta sobre l'eix longitudinal de la cua (→). Detalle de un espermatozoide con dos cabezas. Obsérvese como una de las dos cabezas se dispone sobre la pieza de conexión de forma que la base de la cabeza se orienta sobre el eje longitudinal de la cola (→). *Detail of a bicephalic spermatozoon. Notice that one of the two heads disposes over the connecting piece, thus the base of the head is positioned on the longitudinal axis of the tail (→).* 5000x.

FIG. 3. Espermatozoide amb dos caps i dues cues no enrotllades i fusionades. Observi's la cua curta i la forma piriforme d'un dels dos caps (→). Espermatozoide con dos cabezas y dos colas no enrolladas y fusionadas. Obsérvese la cola corta y la forma piriforme de una de las dos cabezas (→). *Bicephalic spermatozoon with two uncoiled and fused tails. Notice the short tail and the pyriform shape of one of the two heads (→).* 2500x.

FIG. 4, 5, 6. Espermatozoides amb tres caps i la cua totalment enrotllada. En la figura 6 es posa de manifest la presència de tres cues (→). Espermatozoides con tres cabezas y la cola totalmente enrollada. En la figura 6 se pone de manifiesto la presencia de tres colas (→). *Tricephalic spermatozoa with completely coiled tail. The presence of three tails is showed in figure 6 (→).* Figura 4, 4000x; figura 5, 4400x; figura 6, 6300x.



LÀMINA 37 / LÁMINA 37 / PLATE 37

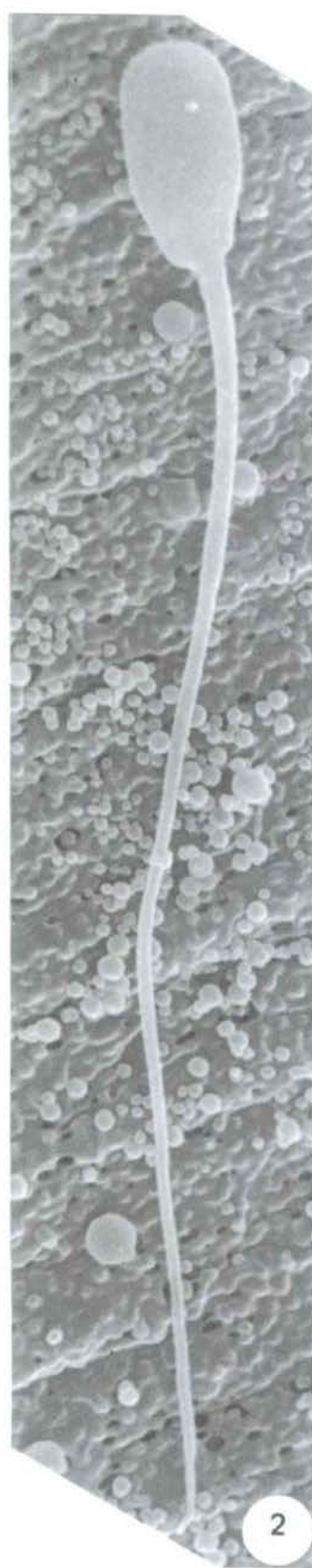
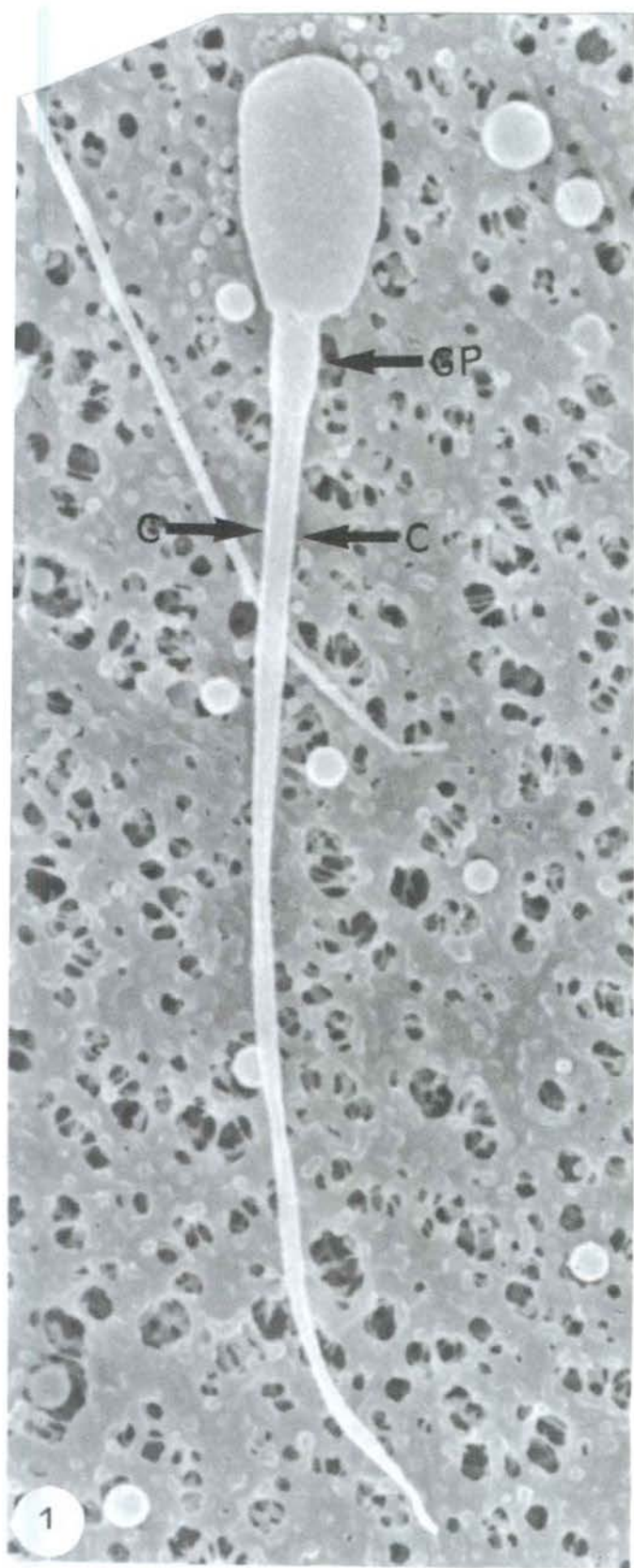
Microscòpia electrònica de rastreig. Comparació entre un espermatozoide amb un cap i dues cues i un espermatozoide amb un cap i una cua.

Microscopía electrónica de barrido. Comparación entre un espermatozoide con una cabeza y dos colas y un espermatozoide con una cabeza y una cola.

Scanning electron microscopy. Comparison between a spermatozoon with one head and two tails and a spermatozoon with one head and one tail.

FIG. 1. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (GP) i dues cues (C) no enrotllades i fusionades. Observi's que el cap d'aquest espermatozoide és més gran que el cap d'un espermatozoide normal madur (figura 2). Espermatozoide immaduro con gota citoplasmàtica proximal (GP) y dos colas (C) no enrolladas y fusionadas. Obsérvese que la cabeza de este espermatozoide es mayor que la cabeza de un espermatozoide normal maduro (figura 2) *Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet (GP) and two uncoiled and fused tails. Note this spermatozoon's head is bigger than the one of a normal mature spermatozoon (figure 2).* 4500x.

FIG. 2. Espermatozoide madur normal. Espermatozoide maduro normal. *Normal mature spermatozoon.* 4500x.



LÀMINA 38 / LÁMINA 38 / PLATE 38

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses tipologies d'espermatozoides amb un cap i dues cues.
 Microscopía electrónica de barrido. Diversas tipologías de espermatozoides con una cabeza y dos colas.
Scanning electron microscopy. Different typologies of spermatozoa with one head and two tails.

FIG. 1 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (GC) i dues cues fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall del cap i de la regió inicial de la peça intermèdia de la cua. *a*) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal (GC) y dos colas fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la cabeza y de la región inicial de la pieza intermedia de la cola. *(a) General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet (GC) and two fused tails; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the head and the initial region of the tail midpiece. a) 1500x; b) 6100x.*

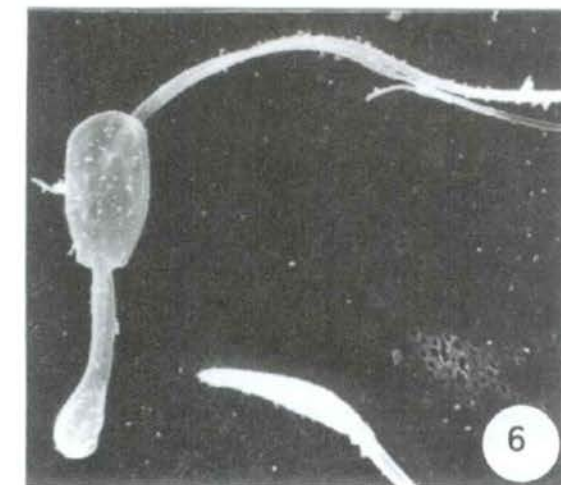
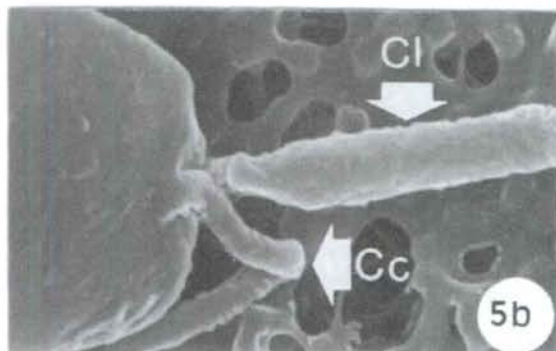
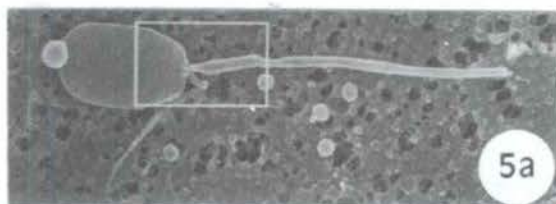
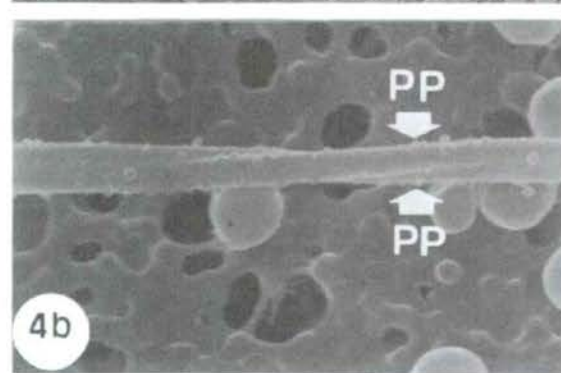
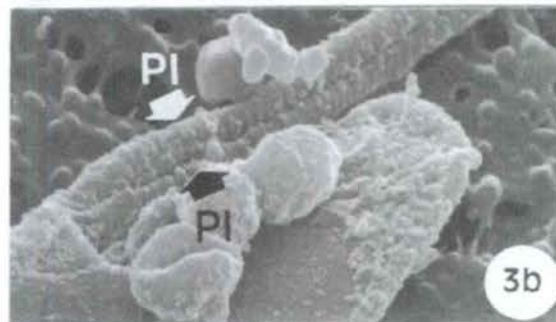
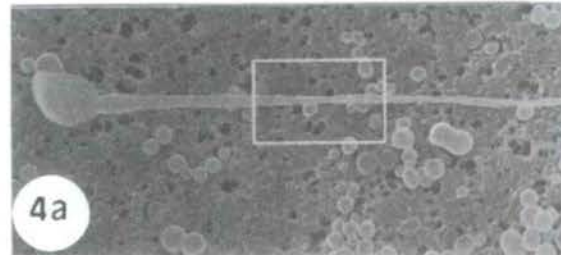
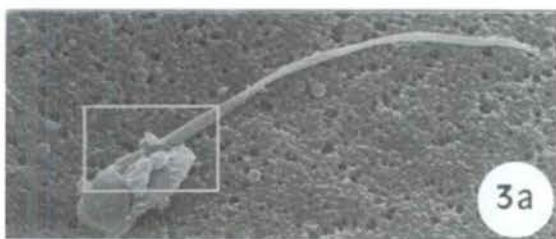
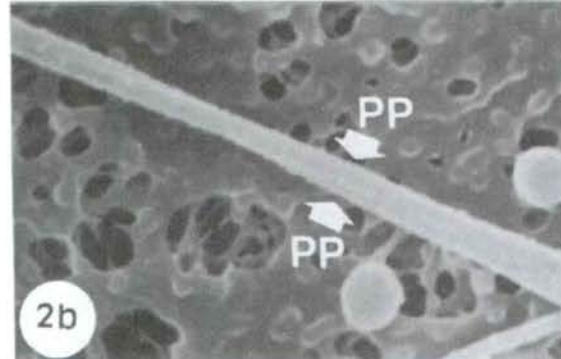
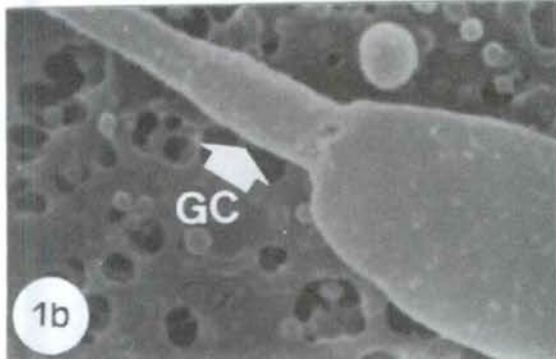
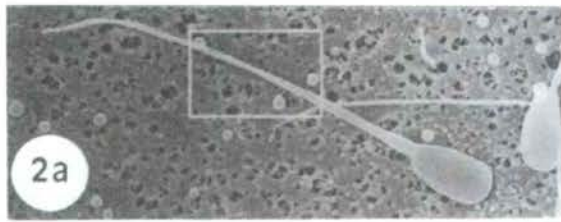
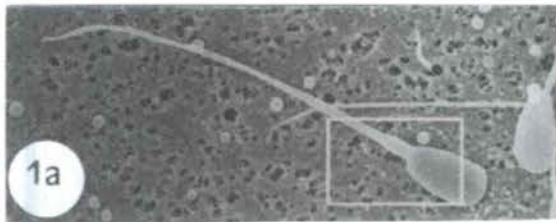
FIG. 2 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i dues cues fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de la regió de la peça principal de la cua; observi's l'helicoïdaltització de les dues peces principals (PP). *a*) Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal y dos colas fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la región de la pieza principal de la cola; obsérvese la helicoidalización de las dos piezas principales (PP). *(a) General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet and two fused tails; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the tail principal piece; notice the helix path of the two principal pieces (PP). a) 1500x; b) 6100x.*

FIG. 3 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide microcefàlic amb dues cues fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall del cap i de la regió inicial de la peça intermèdia de la cua; observi's la presència de dues peces intermèdies (PI). *a*) Aspecto general de un espermatozoide microcefálico con dos colas fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la cabeza y de la región inicial de la pieza intermedia de la cola; obsérvese la presencia de dos piezas intermedias (PI). *(a) General view of a microcephalic spermatozoon with two fused tails; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the head and the initial region of the tail midpiece; notice the presence of two midpieces (PI). a) 1500x; b) 6100x.*

FIG. 4 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide amb el cap lleugerament doblegat i amb dues cues fusionades; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de la regió de la peça principal de la cua; observi's l'helicoïdaltització de les dues peces principals (PP). *a*) Aspecto general de un espermatozoide con la cabeza ligeramente doblada y con dos colas fusionadas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la región de la pieza principal de la cola; obsérvese la helicoidalización de las dos piezas principales (PP). *(a) General view of a spermatozoon with slightly bent head and two fused tails; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the tail principal piece; notice the helix path of the two principal pieces (PP). a) 1800x; b) 7200x.*

FIG. 5 (a, b). *a*) Aspecte general d'un espermatozoide macrocefàlic amb dues cues no fusionades de diferent longitud i gruix; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de la regió cefàlica on s'ancoren les dues cues, una d'elles curta i prima (Cc) i l'altra llarga i gruixuda (Cl). *a*) Aspecto general de un espermatozoide macrocefálico con dos colas no fusionadas de diferente longitud y grosor; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la región cefálica donde se implantan las dos colas, una de ellas corta y delgada (Cc) y la otra larga y gruesa (Cl). *(a) General view of a macrocephalic spermatozoon with two unfused tails of different length and thickness; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the cephalic region showing the attachment of the two tails, one of them short and thin (Cc) and the other long and thick (Cl). a) 1500x; b) 6000x.*

FIG. 6. Espermatozoide amb dues cues fusionades i doblegades per l'anell de Jensen. Espermatozoide con dos colas fusionadas y dobladas por el anillo de Jensen. *Spermatozoon with two fused tails folded at the Jensen's ring. 2600x.*



LÀMINA 39 / LÁMINA 39 / PLATE 39

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses tipologies d'espermatozoides amb la cua curta o llarga.

Microscopía electrónica de barrido. Diversas tipologías de espermatozoides con la cola corta o larga.

Scanning electron microscopy. Different typologies of spermatozoa with short or long tail.

FIG. 1. Espermatozoide madur amb la cua llarga (43 μm). Espermatozoide maduro con la cola larga (43 μm). *Mature spermatozoon with long tail (43 μm). 1500 \times .*

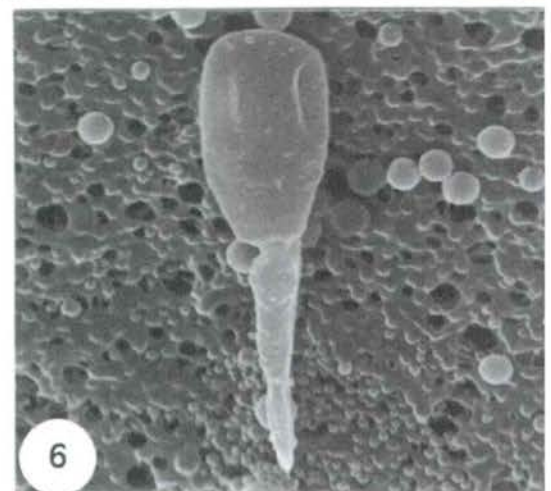
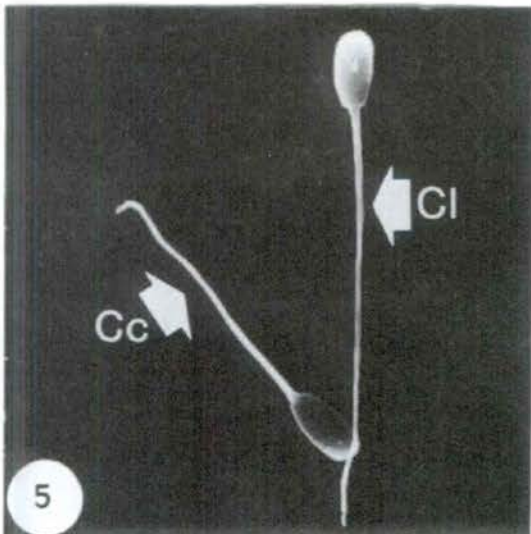
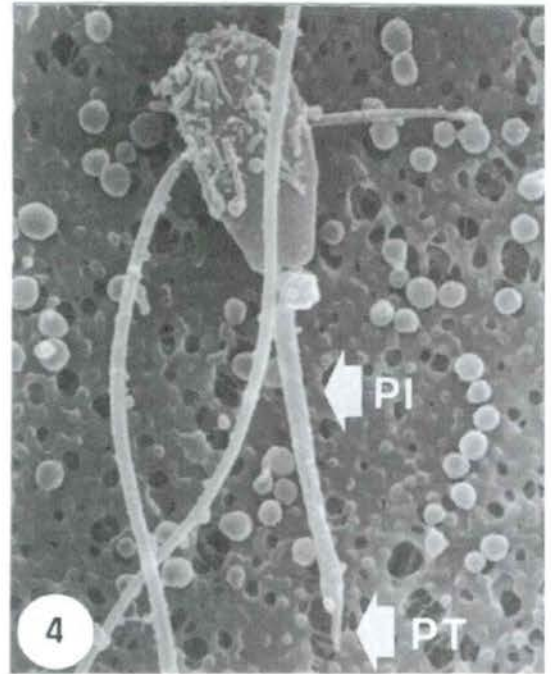
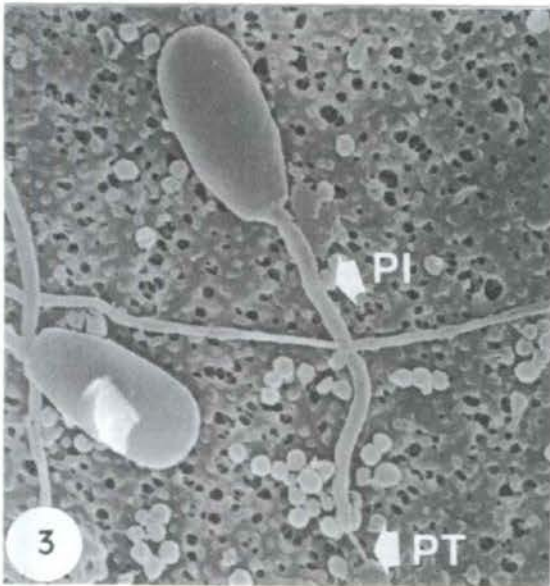
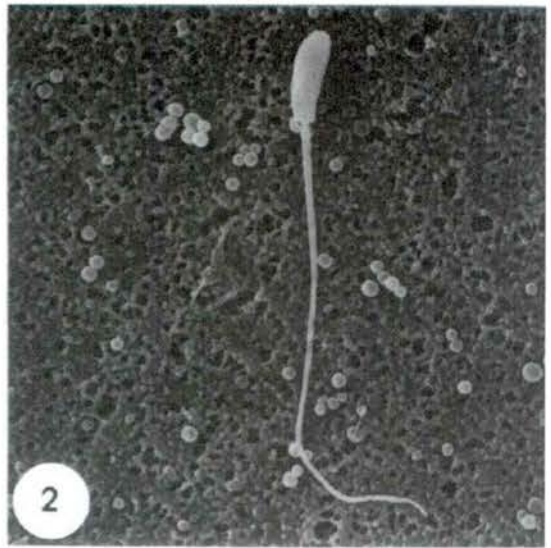
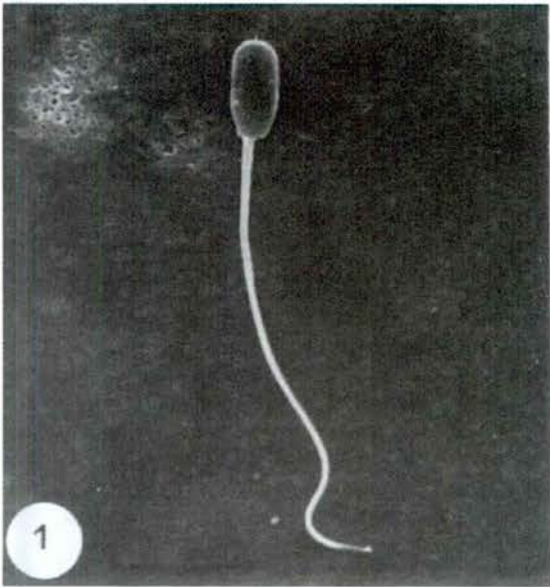
FIG. 2. Espermatozoide madur amb la cua llarga (43 μm). Espermatozoide maduro con la cola larga (43 μm). *Mature spermatozoon with long tail (43 μm). 1400 \times .*

FIG. 3. Espermatozoide madur amb la cua curta (14 μm). Observi's que la cua presenta les peces intermèdia (PI) i terminal (PT), però no la peça principal. La peça intermèdia és més llarga del normal. Espermatozoide maduro con la cola corta (14 μm). Obsérvese que la cola presenta las piezas intermedia (PI) y terminal (PT), pero no la pieza principal. La pieza intermedia es más larga de lo normal. *Mature spermatozoon with short tail (14 μm). Note the tail presents the midpiece (PI) and the terminal piece (PT), but not the principal piece. The midpiece is longer than normal. 3600 \times .*

FIG. 4. Espermatozoide madur amb la cua curta (11 μm). Observi's que la cua presenta les peces intermèdia (PI) i terminal (PT), però no la peça principal. La peça intermèdia té una longitud normal (9 μm) i la peça terminal és més curta del normal. Espermatozoide maduro con la cola corta (11 μm). Obsérvese que la cola presenta las piezas intermedia (PI) y terminal (PT), pero no la pieza principal. La pieza intermedia tiene una longitud normal (9 μm) y la pieza terminal es más corta de lo normal. *Mature spermatozoon with short tail (11 μm). Notice the tail presents the midpiece (PI) and the terminal piece (PT), but not the principal piece. The midpiece has a normal length (9 μm) and the terminal piece is shorter than normal. 4500 \times .*

FIG. 5. Espermatozoide madur amb la cua llarga (42 μm) (Cl) i espermatozoide madur amb la cua curta (30 μm) (Cc). Espermatozoide maduro con la cola larga (42 μm) (Cl) y espermatozoide maduro con la cola corta (30 μm) (Cc). *Mature spermatozoon with long tail (42 μm) (Cl) and mature spermatozoon with short tail (30 μm) (Cc). 1300 \times .*

FIG. 6. Espermatozoide amb la cua molt curta (7 μm). La cua és més gruixuda del normal i sembla estar constituïda únicament per una peça intermèdia curta i gruixuda. Espermatozoide con la cola muy corta (7 μm). La cola es más gruesa de lo normal y parece estar constituída únicamente por una pieza intermedia corta y gruesa. *Spermatozoon with very short tail (7 μm). The tail is thicker than normal and appears to be only formed by a short and thick midpiece. 4500 \times .*



LÀMINA 40 / LÁMINA 40 / PLATE 40

Microscòpia electrònica de rastreig. Diverses tipologies d'espermatozoides aglutinats.

Microscopía electrónica de barrido. Diversas tipologías de espermatozoides aglutinados.

Scanning electron microscopy. Different typologies of agglutinated spermatozoa.

FIG. 1 (a, b). *a*) Aspecte general de dos espermatozoides madurs aglutinats pels caps; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de l'aglutinació cap-cap (Ca); observi's el sentit antiparal·lel dels dos espermatozoides. *a*) Aspecto general de dos espermatozoides maduros aglutinados por las cabezas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la aglutinación cabeza-cabeza (Ca); obsérvese el sentido antiparalelo de los dos espermatozoides. *(a)* General view of two mature spermatozoa showing head to head agglutination; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the head-head agglutination (Ca); notice the antiparallel direction of the two spermatozoa. *a*) 1400×; *b*) 7000×.

FIG. 2. Grup d'espermatozoides aglutinats per les cues. Observi's l'helicoidalització de les cues (Cu). Grupo de espermatozoides aglutinados por las colas. Obsérvese la helicoidalización de las colas (Cu). Group of tail to tail agglutinated spermatozoa. Note the helix path of the tails (Cu). 3000×.

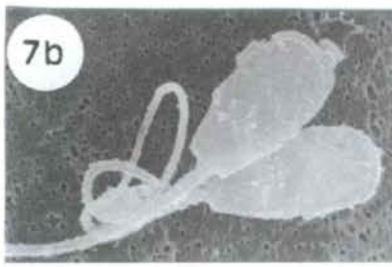
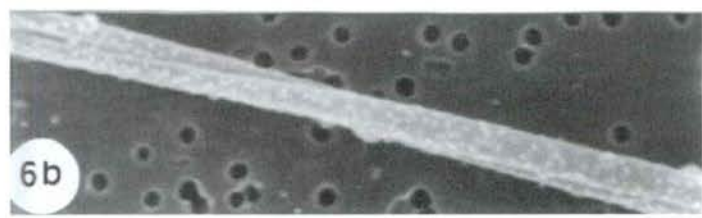
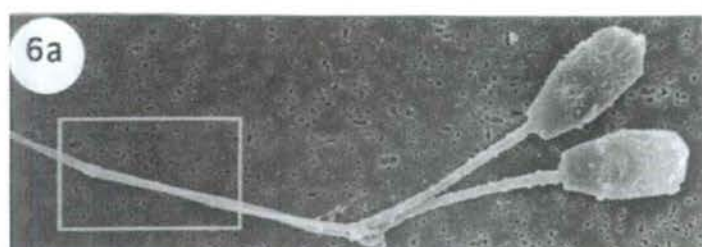
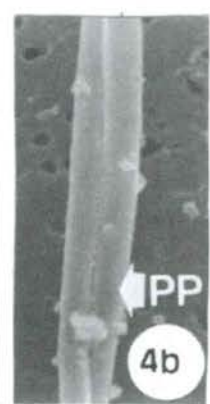
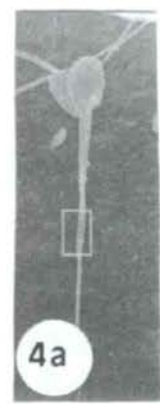
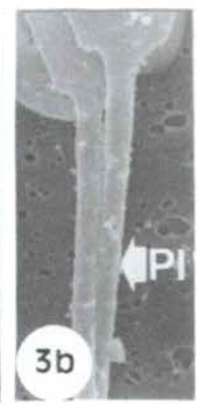
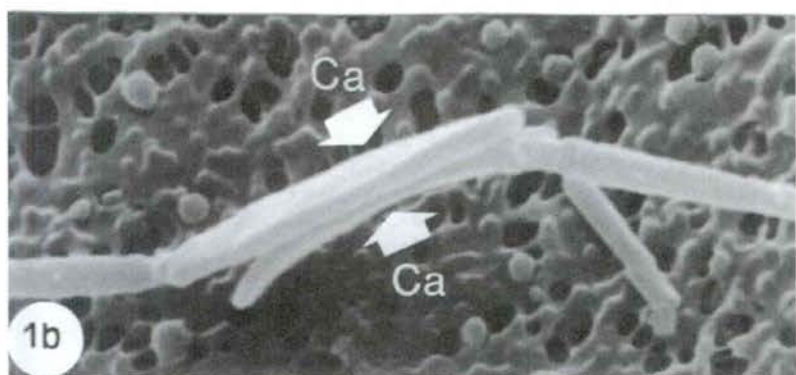
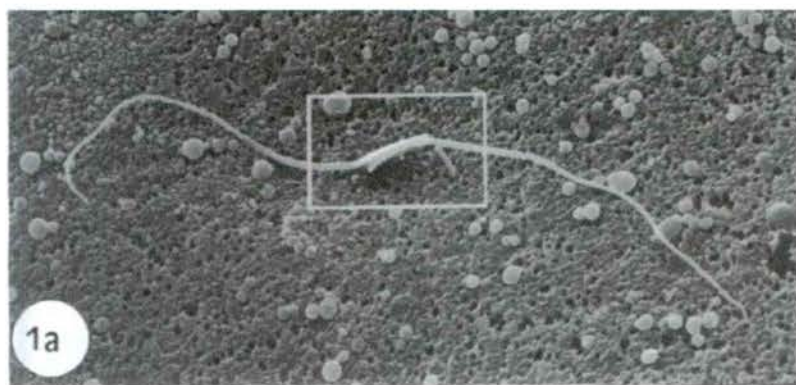
FIG. 3 (a, b). *a*) Aspecte general de dos espermatozoides madurs aglutinats per les cues; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de l'aglutinació cua-cua; observi's que l'aglutinació s'inicia en les peces intermèdies (PI). *a*) Aspecto general de dos espermatozoides maduros aglutinados por las cabezas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la aglutinación cola-cola; obsérvese que la aglutinación se inicia en las piezas intermedias (PI). *(a)* General view of two mature spermatozoa showing tail to tail agglutination; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the tail-tail agglutination; notice the agglutination begins at the midpiece level (PI). *a*) 1000×; *b*) 4000×.

FIG. 4 (a, b). *a*) Aspecte general de dos espermatozoides madurs aglutinats per les cues; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de l'aglutinació cua-cua; observi's la lleugera helicoidalització de les peces principals (PP). *a*) Aspecto general de dos espermatozoides maduros aglutinados por las cabezas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la aglutinación cola-cola; obsérvese la ligera helicoidalización de las piezas principales (PP). *(a)* General view of two mature spermatozoa showing tail to tail agglutination; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the tail-tail agglutination; notice the slightly helix path of the principal pieces (PP). *a*) 1000×; *b*) 8000×.

FIG. 5 (a, b). *a*) Aspecte general de dos espermatozoides madurs amb aglutinació cap-cua; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de l'aglutinació on s'observa la disposició antiparal·lela dels dos espermatozoides i la forma en què la cua de cadascun d'ells es doblega sobre el cap de l'altre. *a*) Aspecto general de dos espermatozoides maduros con aglutinación cabeza-cola; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la aglutinación en que se aprecia la disposición antiparalela de los dos espermatozoides y la forma en que la cola de cada uno de ellos se dobla por encima de la cabeza del otro. *(a)* General view of two mature spermatozoa showing head to tail agglutination; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the agglutination where it is noticed the antiparallel disposition of the two spermatozoa and the way like the tail of each one of them folds over the head of the other. *a*) 2400×; *b*) 4800×.

FIG. 6 (a, b). *a*) Aspecte general de dos espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal aglutinats per les peces principals; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de l'aglutinació de les peces principals; observi's l'helicoidalització de les dues cues. *a*) Aspecto general de dos espermatozoides inmaduros con gota citoplasmática distal aglutinados por las piezas principales; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la aglutinación de las piezas principales; obsérvese la helicoidalización de las dos colas. *(a)* General view of two immature spermatozoa with distal cytoplasmic droplet agglutinated by the principal pieces; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the agglutination by the principal pieces; notice the helix path of the two tails. *a*) 2400×; *b*) 7000×.

FIG. 7 (a, b). *a*) Aspecte general de dos espermatozoides madurs aglutinats per les cues; requadre ampliat en la figura *b*. *b*) Detall de l'aglutinació on s'observa la cua d'un dels dos espermatozoides enrotllada a l'entorn de la peça intermèdia de la cua de l'altre espermatozoide. *a*) Aspecto general de dos espermatozoides maduros aglutinados por las colas; recuadro ampliado en la figura *b*. *b*) Detalle de la aglutinación en que se aprecia la cola de uno de los dos espermatozoides enrollada alrededor de la pieza intermedia de la cola del otro espermatozoide. *(a)* General view of two mature spermatozoa showing tail to tail agglutination; framed area enlarged in figure *b*. *(b)* Detail of the agglutination where it is noticed the tail coiling of one of the two spermatozoa around the midpiece of the other spermatozoon's tail. *a*) 1500×; *b*) 3000×.



LÀMINA 41 / LÁMINA 41 / PLATE 41

Microscòpia electrònica de rastreig. Cèl·lules somàtiques presents en l'ejaculat.

Microscopía electrónica de barrido. Células somáticas presentes en el eyaculado.

Scanning electron microscopy. Somatic cells present in the ejaculate.

FIG. 1. Aspecte general d'un macròfag inactiu (MI). Aspecto general de un macrófago inactivo (MI). *General view of an inactive macrophage (MI)*. 4200x.

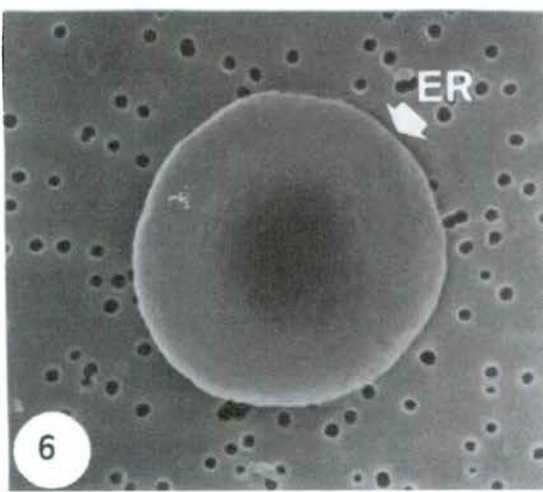
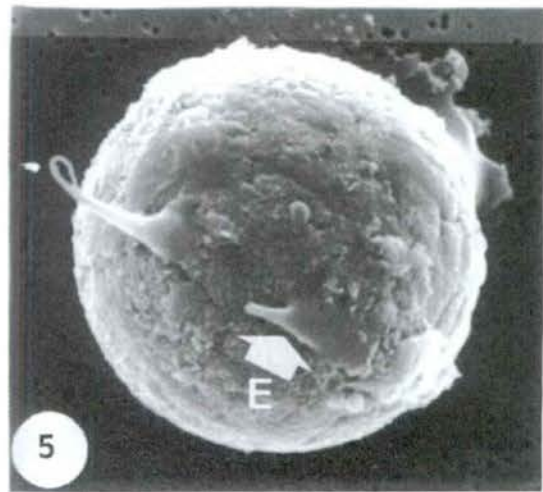
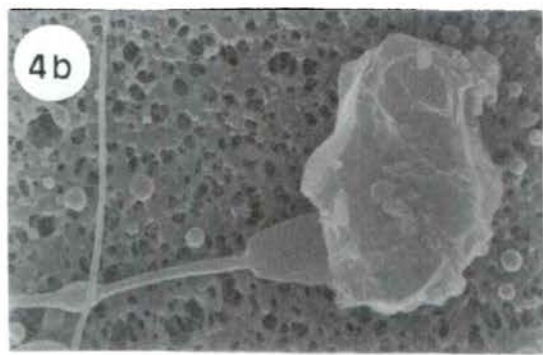
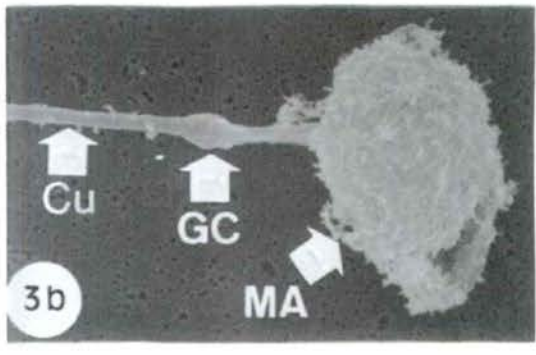
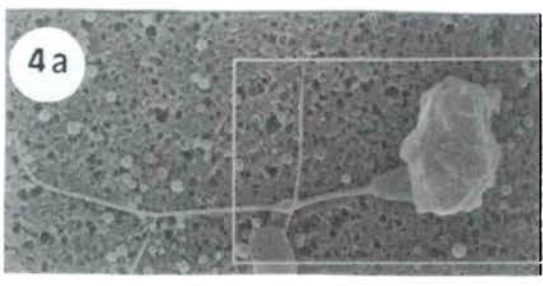
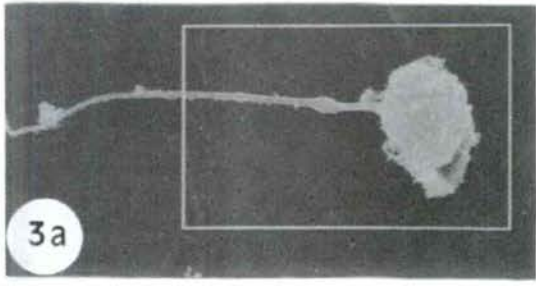
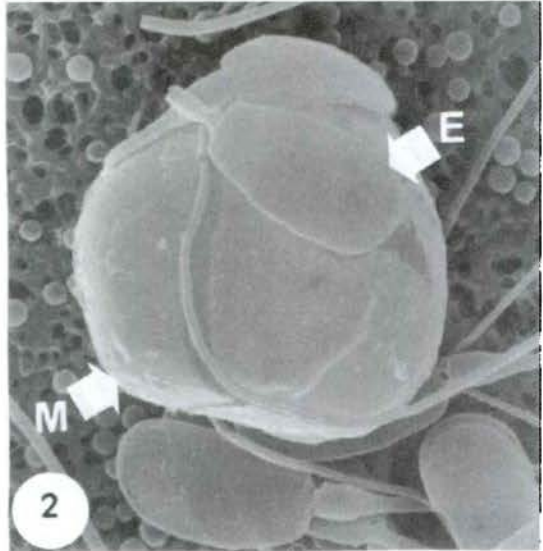
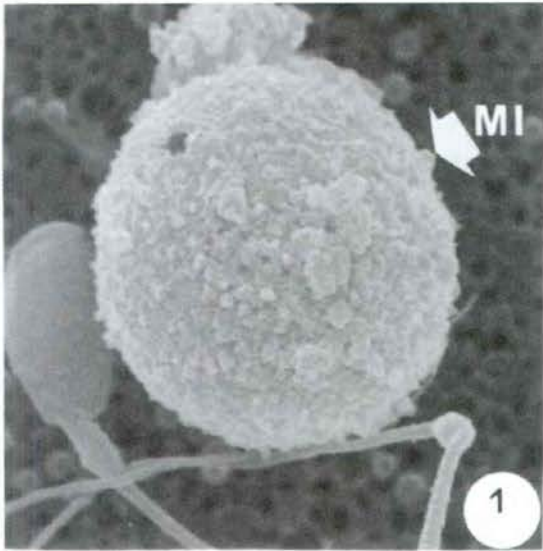
FIG. 2. Macròfag (M) amb dos espermatozoides (E) adherits a la superfície cel·lular. Macrófago (M) con dos espermatozoides (E) adheridos a la superficie celular. *Macrophage (M) with two spermatozoa (E) adhered to the cell surface*. 4300x.

FIG. 3 (a, b). a) Aspecte general d'un macròfag actiu fagocitant un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal; requadre ampliat en la figura b. b) Detall del macròfag actiu (MA) englobant el cap de l'espermatozoide. Cu, cua; GC, gota citoplasmàtica. a) Aspecto general de un macrófago activo fagocitando un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle del macrófago activo (MA) englobando la cabeza del espermatozoide. Cu, cola; GC, gota citoplasmática. *(a) General view of an active macrophage phagocytosing an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the active macrophage (MA) engulfing the spermatozoon's head. Cu, tail; GC, cytoplasmic droplet. a) 1500x; b) 3000x.*

FIG. 4 (a, b). a) Aspecte general d'un macròfag actiu fagocitant un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal; requadre ampliat en la figura b. b) Detall del macròfag actiu iniciant l'englobament del cap de l'espermatozoide. a) Aspecto general de un macrófago activo fagocitando un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal; recuadro ampliado en la figura b. b) Detalle del macrófago activo iniciando el englobamiento de la cabeza del espermatozoide. *(a) General view of an active macrophage phagocytosing an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet; framed area enlarged in figure b. (b) Detail of the active macrophage beginning to engulf the spermatozoon's head. a) 1500; b) 3000x.*

FIG. 5. Macròfag actiu fagocitant dos espermatozoides. Observi's que la fagocitosis s'inicia englobant en primer lloc els caps dels espermatozoides i que un dels espermatozoides fagocitats no té cua (E). Macrófago activo fagocitando dos espermatozoides. Obsérvese que la fagocitosis se inicia englobando en primer lugar las cabezas de los espermatozoides y que uno de los espermatozoides fagocitados no tiene cola (E). *Active macrophage phagocytosing two spermatozoa. Notice that phagocytosis begins engulfing at first the spermatozoa's heads; and, that one of the phagocytosed spermatozoa has not tail (E)*. 6500x.

FIG. 6. Aspecte general d'un eritròcit (ER). Aspecto general de un eritrocito (ER). *General view of an erythrocyte (ER)*. 9500x.



LÀMINA 42 / LÁMINA 42 / PLATE 42

Microscòpia electrònica de transmissió. Espermatozoide madur.

Microscopía electrónica de transmisión. Espermatozoide maduro.

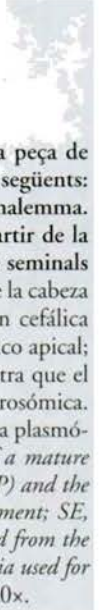
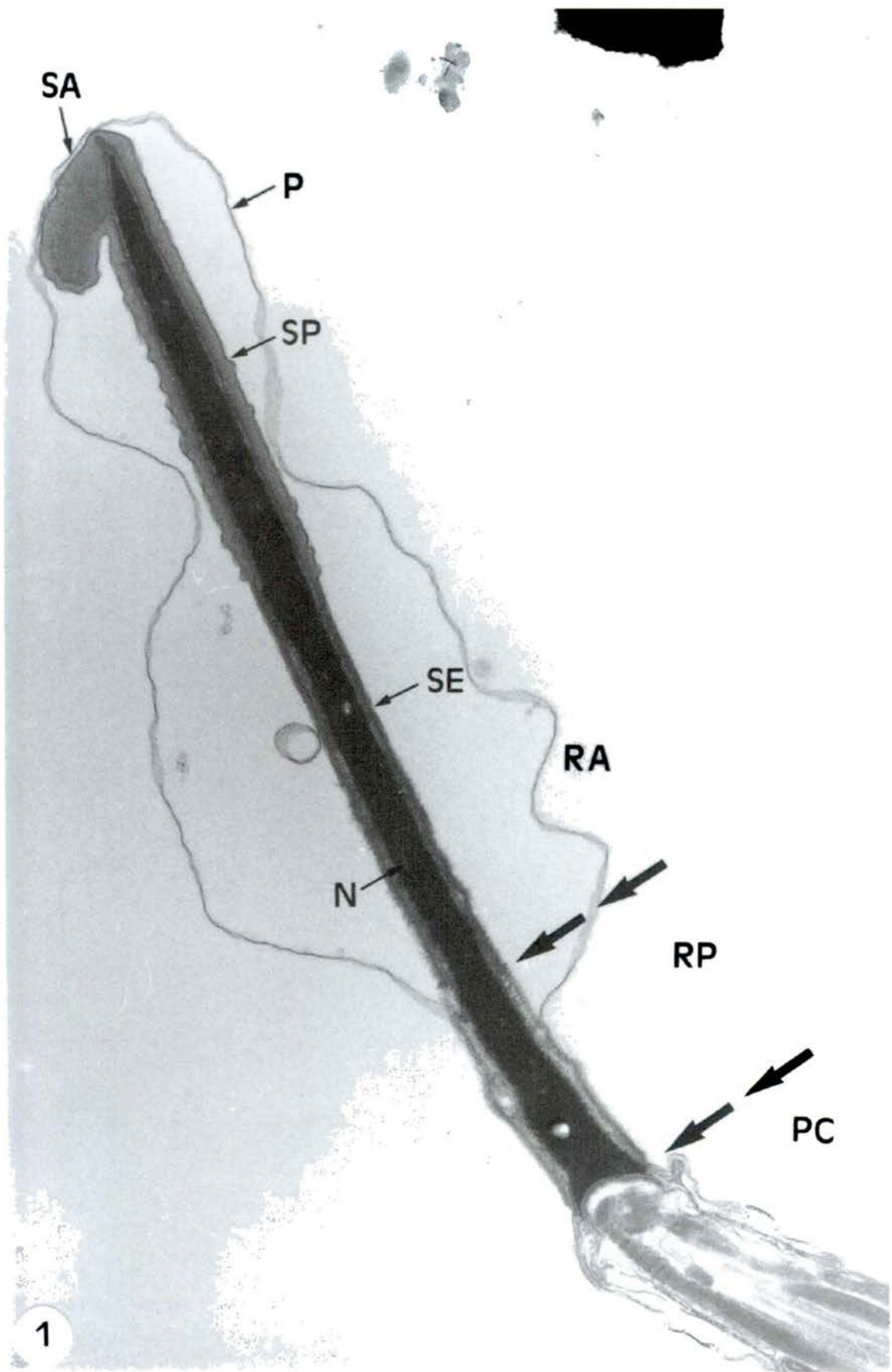
Transmission electron microscopy. Mature spermatozoon.

FIG. 1. Secció mediosagital del cap d'un espermatozoide madur. Les sagetes més grans indiquen el límit entre la peça de connexió (PC), la regió cefàlica postacrosòmica (RP) i la regió cefàlica acrosòmica (RA). Observin-se les estructures següents: SA, segment acrosòmic apical; SP, segment acrosòmic principal; SE, segment acrosòmic equatorial; N, nucli; P, plasmalemma. Aquesta imatge mostra que el plasmalemma es desprèn de la regió cefàlica acrosòmica i s'adhereix estretament a partir de la regió cefàlica postacrosòmica. Petites variacions en l'osmolaritat dels medis utilitzats en el tractament de les mostres seminals provoquen aquesta plasmòlisi que, quan és lleu, afecta únicament la regió cefàlica acrosòmica. Sección medio-sagital de la cabeza de un espermatozoide maduro. Las flechas más grandes indican el límite entre la pieza de conexión (PC), la región cefálica postacrosómica (RP) y la región cefálica acrosómica (RA). Obsérvense las siguientes estructuras: SA, segmento acrosómico apical; SP, segmento acrosómico principal; SE, segmento acrosómico ecuatorial; N, núcleo; P, plasmalema. Esta imagen muestra que el plasmalema se desprende de la región cefálica acrosómica y se adhiere estrechamente a partir de la región cefálica postacrosómica. Pequeñas variaciones en la osmolaridad de los medios utilizados en el tratamiento de las muestras seminales provocan esta plasmólisis que, cuando es leve, afecta únicamente a la región cefálica acrosómica. *Midsagittal section through the head of a mature spermatozoon. The thicker arrows point to the limit between the connecting piece (PC), the postacrosomal cephalic region (RP) and the acrosomal cephalic region (RA). Notice the following structures: SA, acrosome apical segment; SP, acrosome principal segment; SE, acrosome equatorial segment; N, nucleus; P, plasmalemma. This electron micrograph shows that the plasmalemma is detached from the acrosomal cephalic region and firmly adhered to the cephalic postacrosomal region. Small changes in the osmolarity of the media used for the process of the seminal samples provokes this plasmolysis that, when slight, only affects the acrosomal cephalic region. 30000x.*



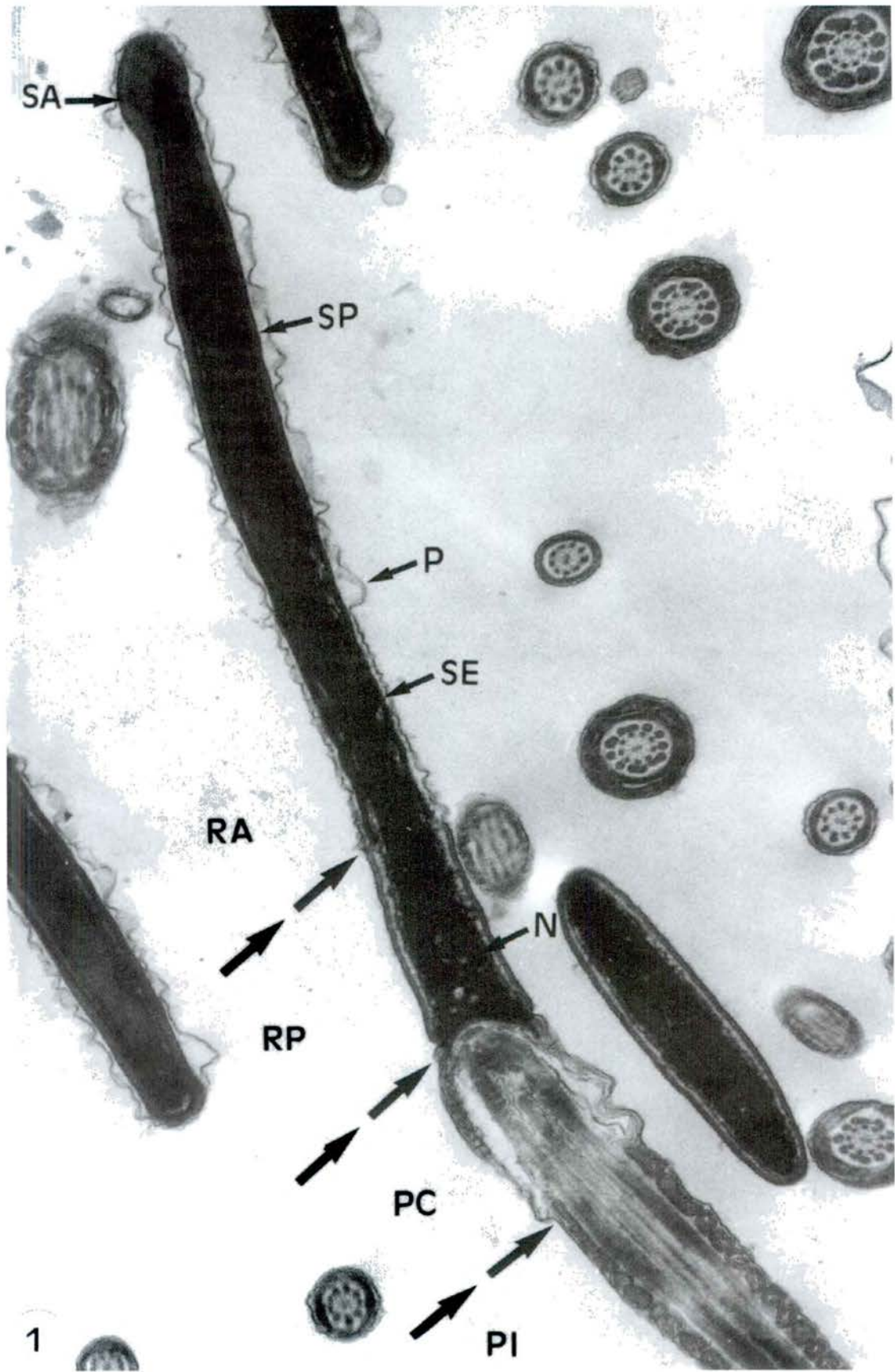
LÀMINA 43 / LÁMINA 43 / PLATE 43

Microscòpia electrònica de transmissió. Espermatozoide madur.

Microscopía electrónica de transmisión. Espermatozoide maduro.

Transmission electron microscopy. Mature spermatozoon.

FIG. 1. Secció sagital del cap d'un espermatozoide madur. Les sagetes més grans indiquen el límit entre la peça intermèdia (PI), la peça de connexió (PC), la regió cefàlica postacrosòmica (RP) i la regió cefàlica acrosòmica (RA). Observin-se les estructures següents: SA, segment acrosòmic apical; SP, segment acrosòmic principal; SE, segment acrosòmic equatorial; N, nucli; P, plasmalemma. Aquesta imatge mostra que el plasmalemma es desprèn molt lleugerament de la regió cefàlica acrosòmica; en aquesta ocasió, la isotonia dels mitjans utilitzats en el tractament de les mostres seminals ha permès una major integritat del plasmalemma. Sección sagital de la cabeza de un espermatozoide maduro. Las flechas más grandes indican el límite entre la pieza principal (PI), la pieza de conexión (PC), la región cefálica postacrosómica (RP) y la región cefálica acrosómica (RA). Obsérvense las siguientes estructuras: SA, segmento acrosómico apical; SP, segmento acrosómico principal; SE, segmento acrosómico ecuatorial; N, núcleo; P, plasmalema. Esta imagen muestra que el plasmalema se desprende muy ligeramente de la región cefálica acrosómica; en esta ocasión, la isotonía de los medios utilizados en el tratamiento de las muestras seminales ha permitido una mayor integridad del plasmalema. *Sagittal section through the head of a mature spermatozoon. The thicker arrows point to the limit between the midpiece (PI), the connecting piece (PC), the postacrosomal cephalic region (RP) and the acrosomal cephalic region (RA). Notice the following structures: SA, acrosome apical segment; SP, acrosome principal segment; SE, acrosome equatorial segment; N, nucleus; P, plasmalemma. This electron micrograph shows that the plasmalemma is very slightly detached from the acrosomal cephalic region; in this occasion, the isotony of the media used for the process of the seminal samples has allowed a better plasmalemma integrity. 28000x.*



LÀMINA 44 / LÁMINA 44 / PLATE 44

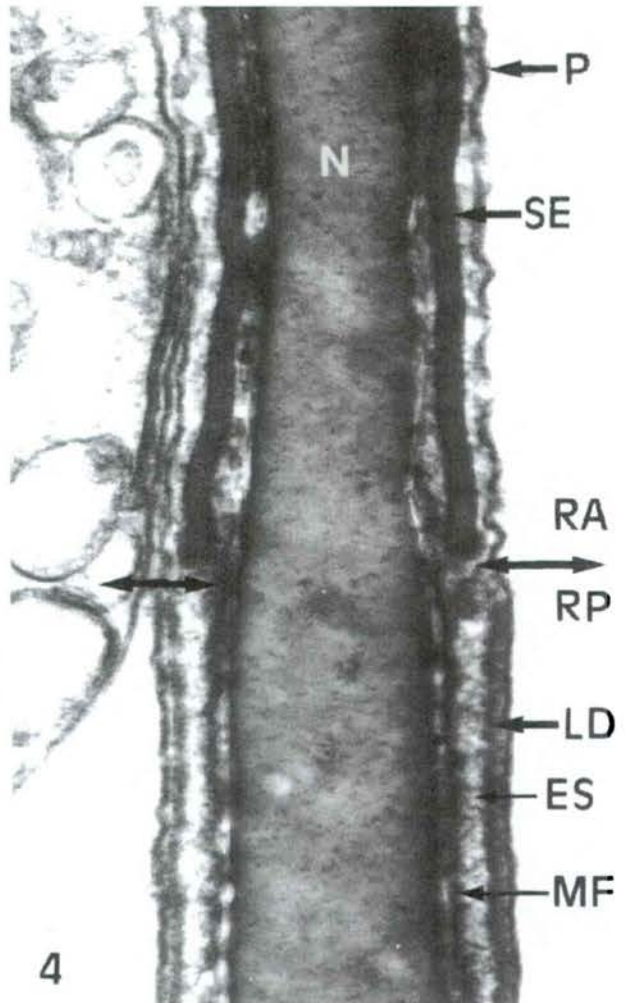
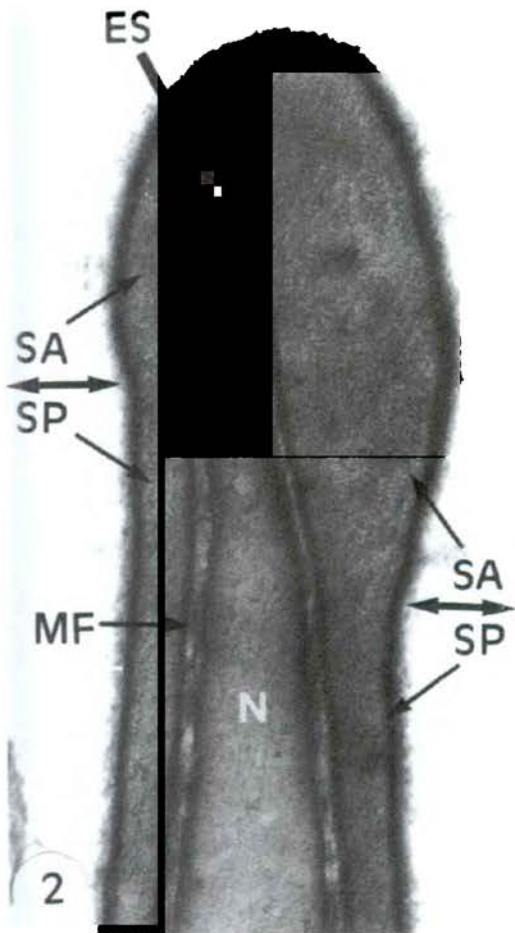
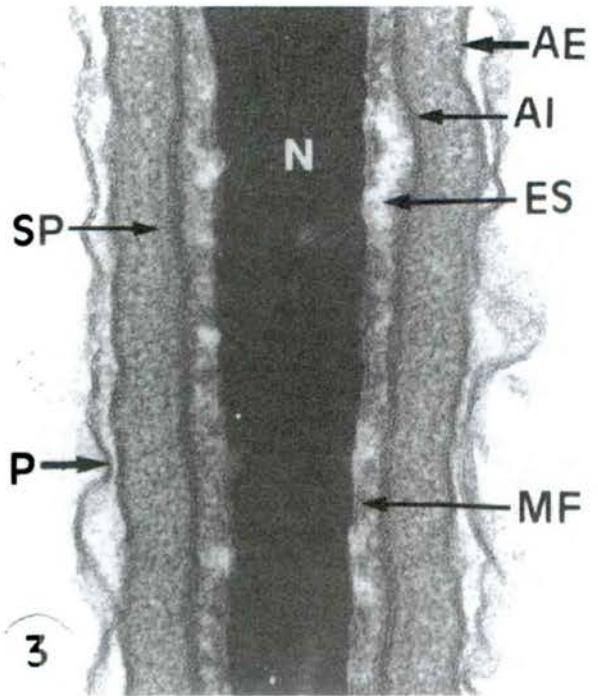
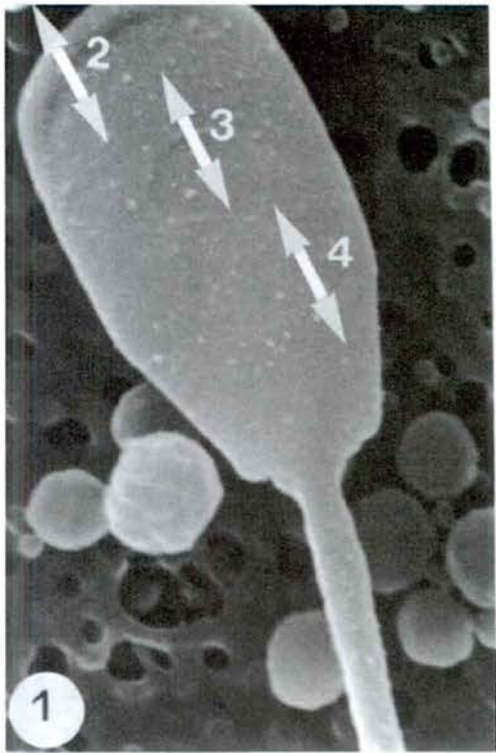
Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide madur: el cap.
 Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide maduro: la cabeza.
Scanning and transmission electron microscopy. Mature spermatozoon: the head.

FIG. 1. Aspecte general del cap d'un espermatozoide madur. Les sagetes indiquen l'orientació i el nivell de les seccions representades en les figures 2, 3 i 4. Aspecto general de la cabeza de un espermatozoide maduro. Las flechas indican la orientación y el nivel de las secciones representadas en las figuras 2, 3 y 4. *General view of a mature spermatozoon's head. The arrows indicate the orientation and the level of the sections depicted in figures 2, 3 and 4. 100000x.*

FIG. 2. Secció sagital dels segments apical i principal de l'acrosoma. Les sagetes dobles indiquen el límit entre ambdós segments. SA, segment acrosòmic apical; SP, segment acrosòmic principal; ES, espai subacrosòmic; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli. Sección sagital de los segmentos apical y principal del acrosoma. Las flechas dobles indican el límite entre ambos segmentos. SA, segmento acrosómico apical; SP, segmento acrosómico principal; ES, espacio subacrosómico; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo. *Sagittal section through the apical and principal segments of the acrosome. The double arrows indicate the limit between both segments. SA, acrosome apical segment; SP, acrosome principal segment; ES, subacrosomal space; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus. 100000x.*

FIG. 3. Secció sagital del segment principal de l'acrosoma. La membrana acrosòmica interna (AI) presenta un gruix superior al de la membrana acrosòmica externa (AE). SP, segment acrosòmic principal; P, plasmalemma; MF, material fibrós perinuclear; ES, espai subacrosòmic; N, nucli. Sección sagital del segmento principal del acrosoma. La membrana acrosòmica interna (AI) presenta un grosor superior al de la membrana acrosòmica externa (AE). SP, segmento acrosómico principal; P, plasmalema; MF, material fibroso perinuclear; ES, espacio subacrosómico; N, núcleo. *Sagittal section of the acrosome principal segment. Notice the inner acrosomal membrane (AI) is thicker than the outer acrosomal membrane (AE). SP, acrosome principal segment; P, plasmalemma; MF, perinuclear fibrous material; ES, subacrosomal space; N, nucleus. 100000x.*

FIG. 4. Secció sagital de les regions acrosòmica i postacrosòmica. Les sagetes dobles indiquen el límit entre ambdues regions. P, plasmalemma; SE, segment acrosòmic equatorial; LD, làmina densa postacrosòmica; ES, espai subacrosòmic; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli. Sección sagital de las regiones acrosómica y postacrosómica. Las flechas dobles indican el límite entre ambas regiones. P, plasmalema; SE, segmento acrosómico ecuatorial; LD, lámina densa postacrosómica; ES, espacio subacrosómico; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo. *Sagittal section of the acrosomal and postacrosomal regions. The double arrows indicate the limit between both regions. P, plasmalemma; SE, acrosome equatorial segment; LD, postacrosomal dense lamina; ES, subacrosomal space; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus. 100000x.*



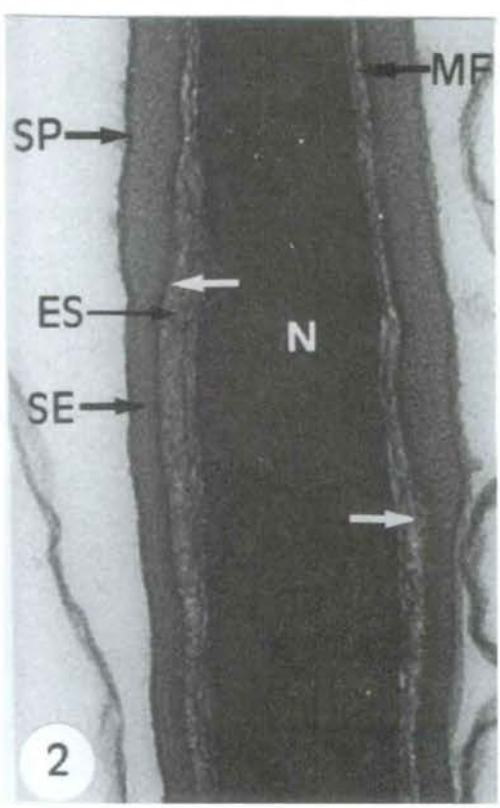
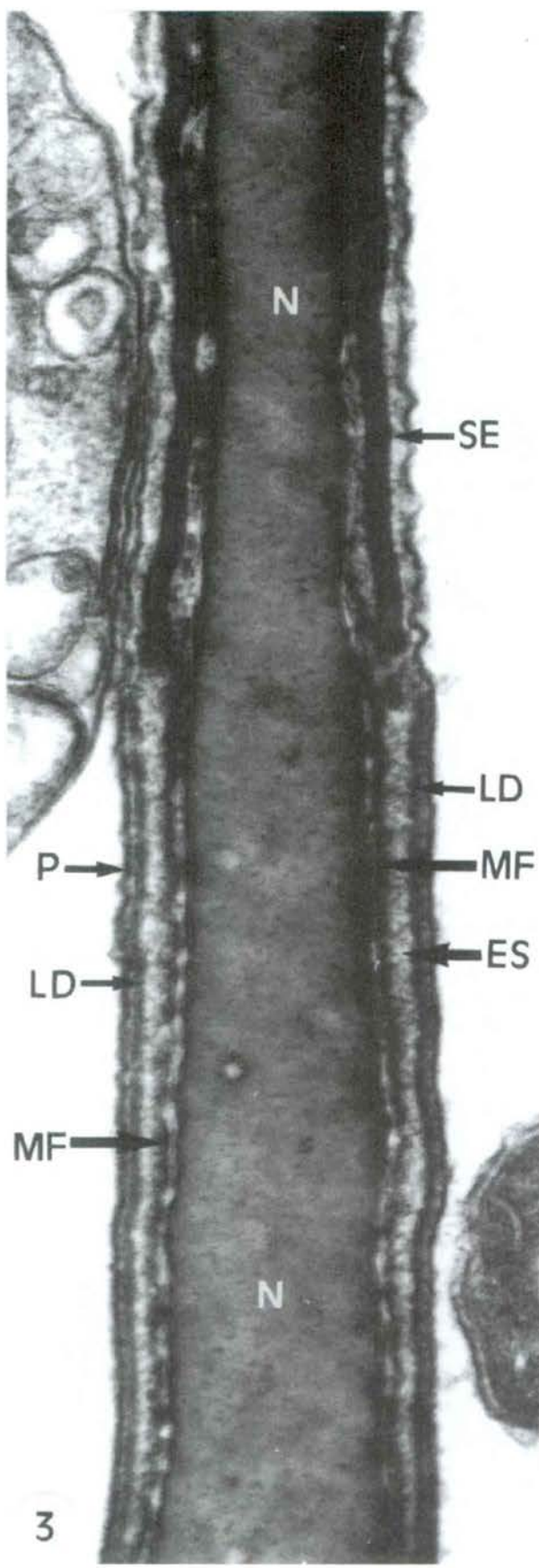
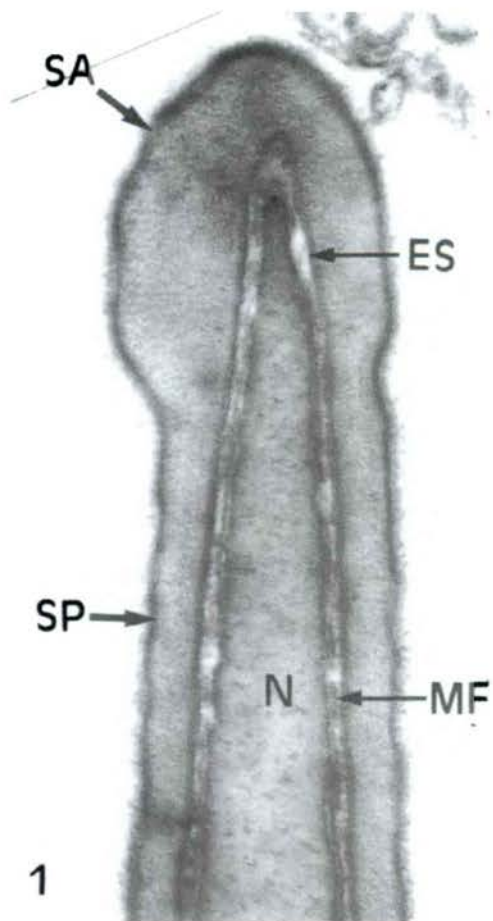
LÀMINA 45 / LÁMINA 45 / PLATE 45

Microscòpia electrònica de transmissió. Espermatozoide madur: el cap.
 Microscopía electrónica de transmisión. Espermatozoide maduro: la cabeza.
Transmission electron microscopy. Mature spermatozoon: the head.

FIG. 1. Secció sagital dels segments apical i principal de l'acrosoma. SA, segment apical; SP, segment principal; ES, espai subacrosòmic; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli. Sección sagital de los segmentos apical y principal del acrosoma. SA, segmento apical; SP, segmento principal; ES, espacio subacrosómico; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo. *Sagittal section through the apical and principal segments of the acrosome. SA, apical segment; SP, principal segment; ES, subacrosomal space; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus. 80000x.*

FIG. 2. Secció sagital dels segments principal i equatorial de l'acrosoma. Les sagetes blanques indiquen el límit entre els segments acrosòmics principal i equatorial. Observi's que el segment principal presenta un gruix superior al del segment equatorial. SP, segment principal; SE, segment equatorial; MF, material fibrós perinuclear; ES, espai subacrosòmic; N, nucli. Sección sagital de los segmentos principal y ecuatorial del acrosoma. Las flechas blancas indican el límite entre los segmentos acrosómicos principal y ecuatorial. Obsérvese que el segmento principal presenta un grosor superior al del segmento ecuatorial. SP, segmento principal; SE, segmento ecuatorial; MF, material fibroso perinuclear; ES, espacio subacrosómico; N, núcleo. *Sagittal section of the acrosome principal and equatorial segments. The white arrows point to the limit between the principal and equatorial segments. Notice the principal segment is thicker than the equatorial segment. SP, principal segment; SE, equatorial segment; MF, perinuclear fibrous material; ES, subacrosomal space; N, nucleus. 80000x.*

FIG. 3. Secció sagital del segment equatorial de l'acrosoma i de la regió cefàlica postacrosòmica. P, plasmalemma; SE, segment equatorial; ES, espai subacrosòmic; MF, material fibrós perinuclear; LD, làmina densa postacrosòmica; N, nucli. Sección sagital del segmento ecuatorial del acrosoma y de la región cefálica postacrosómica. P, plasmalema; SE, segmento ecuatorial; ES, espacio subacrosómico; MF, material fibroso perinuclear; LD, lámina densa postacrosómica; N, núcleo. *Sagittal longitudinal section through the acrosome equatorial segment and the postacrosomal cephalic region. P, plasmalemma; SE, equatorial segment; ES, subacrosomal space; MF, perinuclear fibrous material; LD, postacrosomal dense lamina; N, nucleus. 80000x.*



LÀMINA 46 / LÁMINA 46 / PLATE 46

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide madur: el cap.
 Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide maduro: la cabeza.
Scanning and transmission electron microscopy. Mature spermatozoon: the head.

FIG. 1. Aspecte general del cap d'un espermatozoide madur. Les sagetes indiquen l'orientació i el nivell de les seccions representades en les figures 2-8. RA, regió acrosòmica; RP, regió postacrosòmica. Aspecto general de la cabeza de un espermatozoide maduro. Las flechas indican la orientación y el nivel de las secciones representadas en las figuras 2-8. RA, región acrosómica; RP, región postacrosómica. *General view of a mature spermatozoon's head. The arrows indicate the orientation and the level of the sections depicted in figures 2-8. RA, acrosomal region; RP, postacrosomal region.* 10 000x.

FIG. 2. Secció transversal del segment acrosòmic apical a nivell de la protuberància acrosòmica. SA, segment apical; PA, protuberància acrosòmica; N, nucli. Sección transversal del segmento acrosómico apical a nivel de la protuberancia acrosómica. SA, segmento apical; PA, protuberancia acrosómica; N, núcleo. *Cross section through the acrosome apical segment at the level of the acrosomal protuberance. SA, apical segment; PA, acrosomal protuberance; N, nucleus.* 31 500x.

FIG. 3. Secció transversal del segment acrosòmic apical. La protuberància acrosòmica es disposa als dos marges laterals del cap. SA, segment apical; PA, protuberància acrosòmica; P, plasmalemma; N, nucli. Sección transversal del segmento acrosómico apical. La protuberancia acrosómica se dispone en los dos márgenes laterales de la cabeza. SA, segmento apical; PA, protuberancia acrosómica; P, plasmalemma; N, núcleo. *Cross section through the acrosome apical segment. The acrosomal protuberance disposes at the two sides of the head. SA, apical segment; PA, acrosomal protuberance; P, plasmalemma; N, nucleus.* 30 000x.

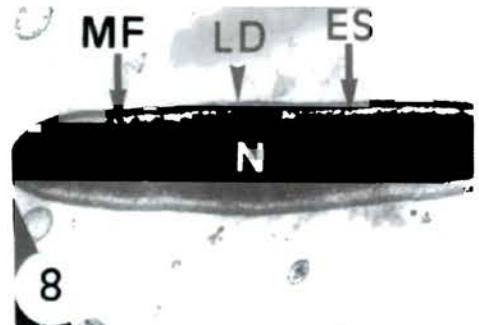
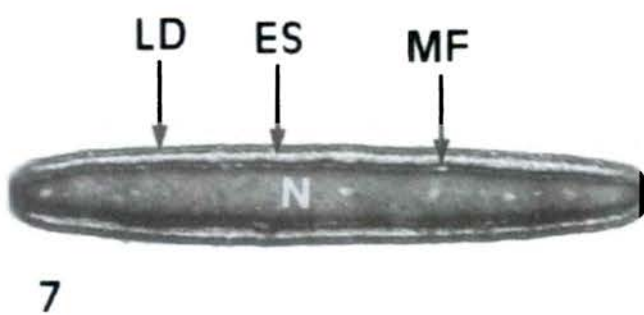
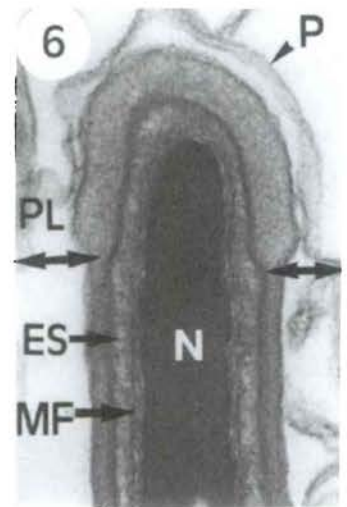
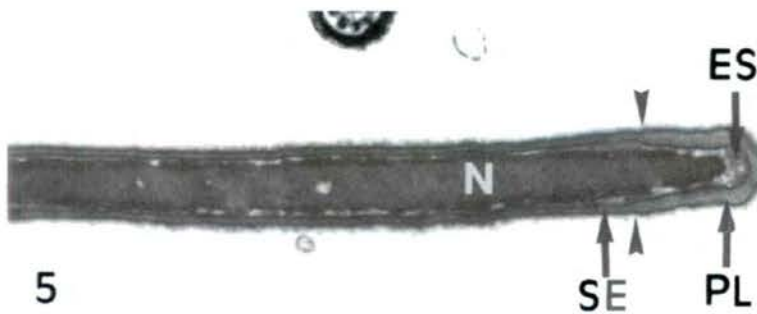
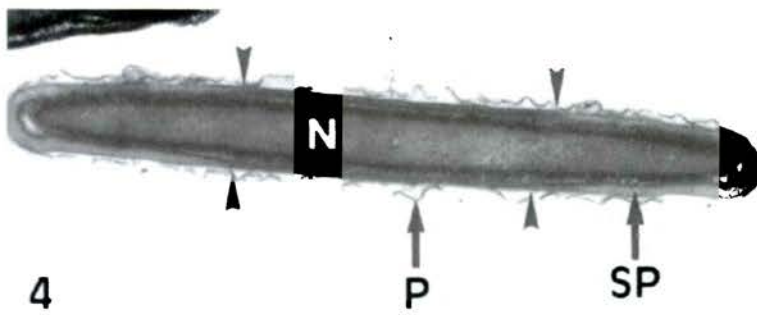
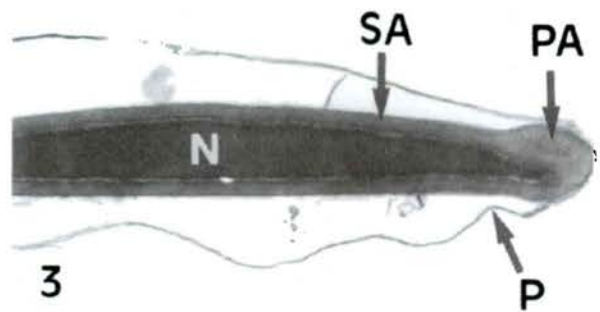
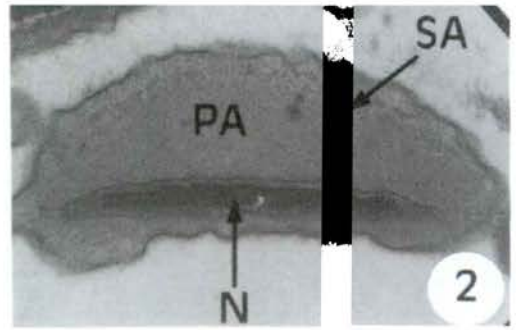
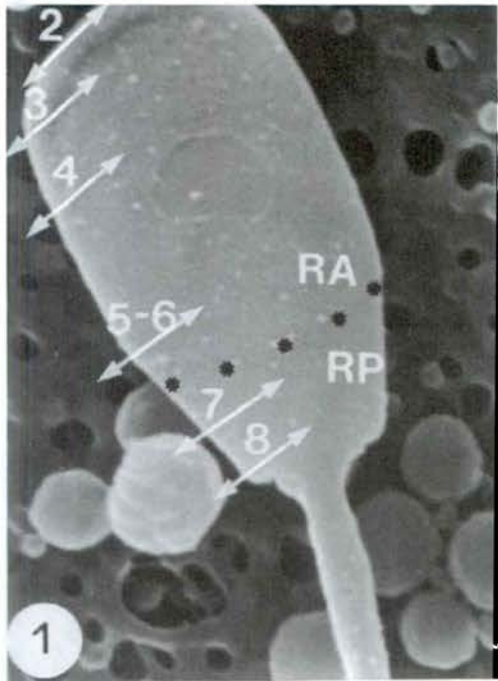
FIG. 4. Secció transversal del segment acrosòmic principal. L'acrosoma presenta un gruix lleugerament inferior en les zones centrals de les dues cares del cap; les sagetes indiquen el límit d'aquestes diferències en el gruix de l'acrosoma. SP, segment principal; P, plasmalemma; N, nucli. Sección transversal del segmento acrosómico principal. El acrosoma presenta un grosor ligeramente inferior en las zonas centrales de las dos caras de la cabeza; las puntas de flecha indican el límite de estas diferencias en la espesura del acrosoma. SP, segmento principal; P, plasmalemma; N, núcleo. *Cross section of the acrosome principal segment. The acrosome is slightly thinner in the central zones of the two faces of the head; the arrowheads indicate the limit of these differences in thickness of the acrosome. SP, principal segment; P, plasmalemma; N, nucleus.* 30 000x.

FIG. 5. Secció transversal del segment acrosòmic equatorial. L'acrosoma presenta un gruix superior en les zones laterals del cap (protuberància lateral, PL); les sagetes indiquen l'inici de la protuberància lateral. L'espai subacrosòmic (ES) subjacent a la protuberància lateral es troba més desenvolupat. SE, segment equatorial; N, nucli. Sección transversal del segmento acrosómico ecuatorial. El acrosoma presenta un grosor superior en las zonas laterales de la cabeza (protuberancia lateral, PL); las puntas de flecha indican el inicio de la protuberancia lateral. El espacio subacrosómico (ES) subyacente a la protuberancia lateral se encuentra más desarrollado. SE, segmento ecuatorial; N, núcleo. *Cross section of the acrosome equatorial segment. The acrosome is thicker in the lateral zones of the head (lateral protuberance, PL); the arrowheads indicate the beginning of the lateral protuberance. The subacrosomal space (ES) underlying the lateral protuberance is very developed. SE, equatorial segment; N, nucleus.* 30 000x.

FIG. 6. Detall d'una secció transversal a nivell de la protuberància lateral (PL) del segment acrosòmic equatorial. Les dobles sagetes indiquen el límit de la protuberància lateral. P, plasmalemma; ES, espai subacrosòmic; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli. Detalle de una sección transversal a nivel de la protuberancia lateral (PL) del segmento acrosómico ecuatorial. Las flechas dobles indican el límite de la protuberancia lateral. P, plasmalemma; ES, espacio subacrosómico; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo. *Detail of a cross section at the lateral protuberance level (PL) of the acrosome equatorial segment. The double arrows indicate the limit of the lateral protuberance. P, plasmalemma; ES, subacrosomal space; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus.* 90 000x.

FIG. 7. Secció transversal de la regió postacrosòmica més propera a la regió acrosòmica. LD, làmina densa postacrosòmica; ES, espai subacrosòmic; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli. Sección transversal de la región postacrosómica más próxima a la región acrosómica. LD, lámina densa postacrosómica; ES, espacio subacrosómico; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo. *Cross section of the postacrosomal region closer to the acrosomal region. LD, postacrosomal dense lamina; ES, subacrosomal space; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus.* 30 000x.

FIG. 8. Secció transversal de la regió postacrosòmica més propera a la peça de connexió. LD, làmina densa postacrosòmica; ES, espai subacrosòmic; MF, material fibrós perinuclear; N, nucli. Sección transversal de la región postacrosómica más próxima a la pieza de conexión. LD, lámina densa postacrosómica; ES, espacio subacrosómico; MF, material fibroso perinuclear; N, núcleo. *Cross section of the postacrosomal region closer to the connecting piece. LD, postacrosomal dense lamina; ES, subacrosomal space; MF, perinuclear fibrous material; N, nucleus.* 30 000x.



LÀMINA 47 / LÁMINA 47 / PLATE 47

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide madur: la peça de connexió o coll.
 Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide maduro: la pieza de conexión o cuello.
Scanning and transmission electron microscopy. Mature spermatozoon: the connecting piece or neck.

FIG. 1. Aspecte general de la peça de connexió d'un espermatozoide madur. AP, anell postcefàlic; PC, peça de connexió; PI, peça intermèdia. Aspecto general de la pieza conexión de un espermatozoide maduro. AP, anillo postcefálico; PC, pieza de conexión; PI, pieza intermedia. *General view of the connecting piece of a mature spermatozoon. AP, postcephalic ring; PC, connecting piece; PI, midpiece.* 10000x.

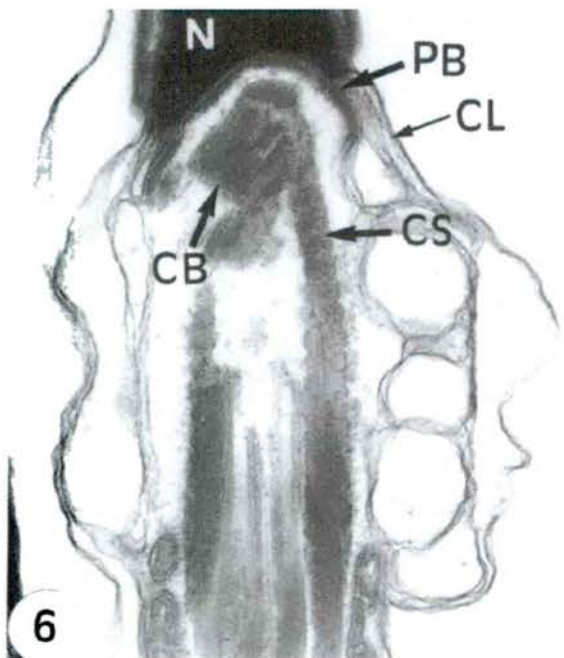
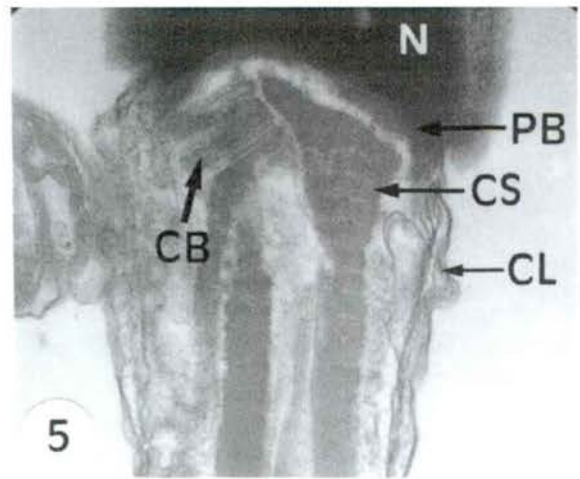
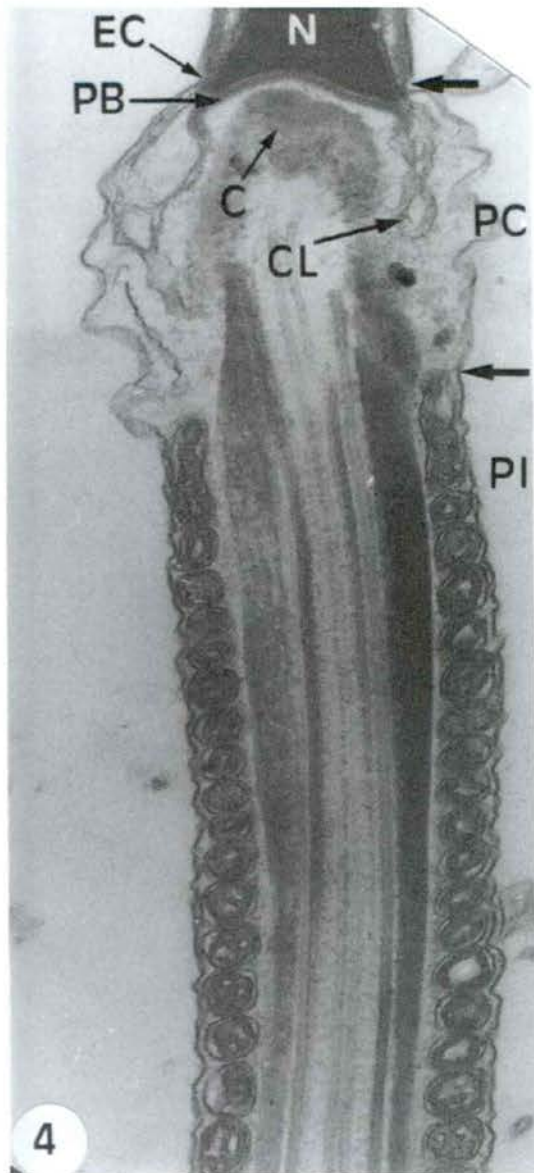
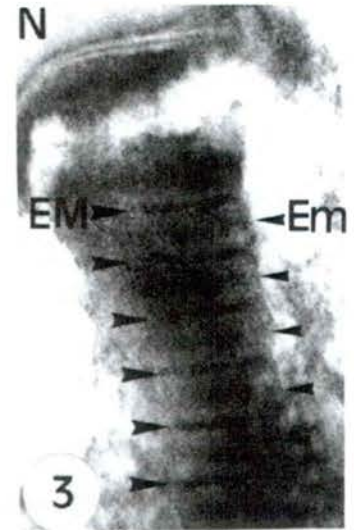
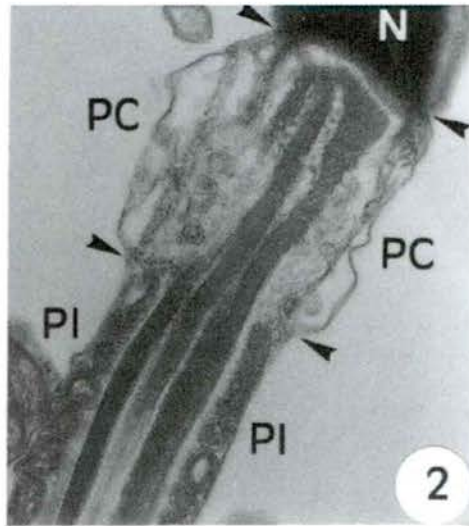
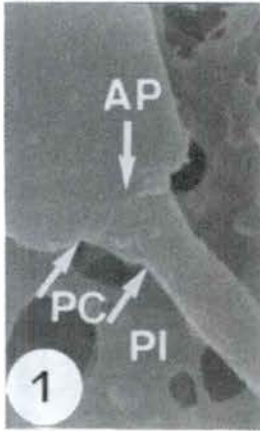
FIG. 2. Secció longitudinal de la peça de connexió. Les sagetes indiquen els límits de la peça de connexió. PC, peça de connexió; PI, peça intermèdia; N, nucli. Sección longitudinal de la pieza de conexión. Las puntas de flecha indican los límites de la pieza de conexión. PC, pieza de conexión; PI, pieza intermedia; N, núcleo. *Longitudinal section of the connecting piece. The arrowheads point to the limits of the connecting piece. PC, connecting piece; PI, midpiece; N, nucleus.* 40000x.

FIG. 3. Secció longitudinal de les columnes segmentades. Les sagetes mostren la periodicitat de l'estriació major i menor. EM, estries majors; Em, estries menors; N, nucli. Sección longitudinal de las columnas segmentadas. Las puntas de flecha muestran la periodicidad de la estriación mayor y menor. EM, estrias mayores, Em, estrias menores; N, núcleo. *Longitudinal section through the segmented columns. The arrowheads show the periodicity of the major and minor striation. EM, major striae; Em, minor striae; N, nucleus.* 110000x.

FIG. 4. Secció longitudinal de la peça de connexió. Les sagetes indiquen els límits de la peça de connexió. PC, peça de connexió; PI, peça intermèdia; EC, escotadura circular; PB, placa basal; CL, cossos laminars; C, capítulum; N, nucli. Sección longitudinal de la pieza de conexión. Las flechas indican los límites de la pieza de conexión. PC, pieza de conexión; PI, pieza intermedia; EC, escotadura circular; PB, placa basal; CL, cuerpos laminares; C, capítulum; N, núcleo. *Longitudinal section of the connecting piece. The arrows point to the limits of the connecting piece. PC, connecting piece; PI, midpiece; EC, circular neckline; PB, basal plate; CL, laminar bodies; C, capitulum; N, nucleus.* 70000x.

FIG. 5. Secció longitudinal de la peça de connexió. PB, placa basal; CB, cos basal; CS, columnes segmentades; CL, cossos laminars; N, nucli. Sección longitudinal de la pieza de conexión. PB, placa basal; CB, cuerpo basal; CS, columnas segmentadas; CL, cuerpos laminares; N, núcleo. *Longitudinal section of the connecting piece. PB, basal plate; CB, basal body; CS, segmented columns; CL, laminar bodies; N, nucleus.* 65000x.

FIG. 6. Secció longitudinal de la peça de connexió. PB, placa basal; CB, cos basal; CS, columnes segmentades; CL, cossos laminars; N, nucli. Sección longitudinal de la pieza de conexión. PB, placa basal; CB, cuerpo basal; CS, columnas segmentadas; CL, cuerpos laminares; N, núcleo. *Longitudinal section of the connecting piece. PB, basal plate; CB, basal body; CS, segmented columns; CL, laminar bodies; N, nucleus.* 55000x.



LÀMINA 48 / LÁMINA 48 / PLATE 48

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide madur: la peça de connexió o coll.
 Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide maduro: la pieza de conexión o cuello.
Scanning and transmission electron microscopy. Mature spermatozoon: the connecting piece or neck.

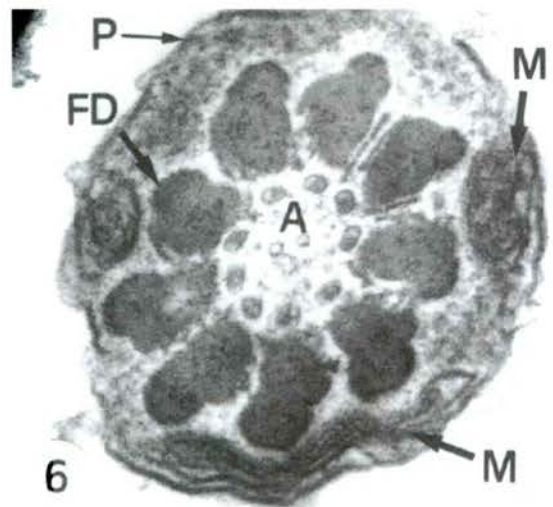
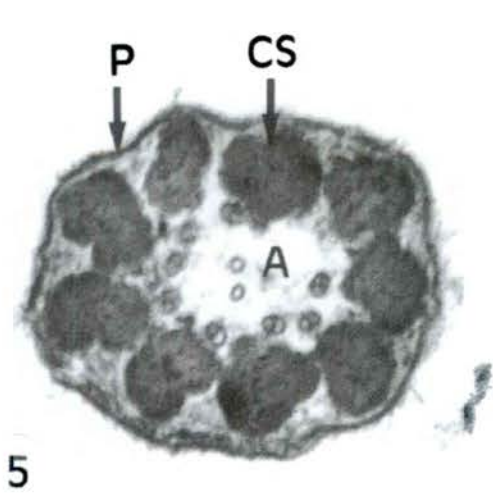
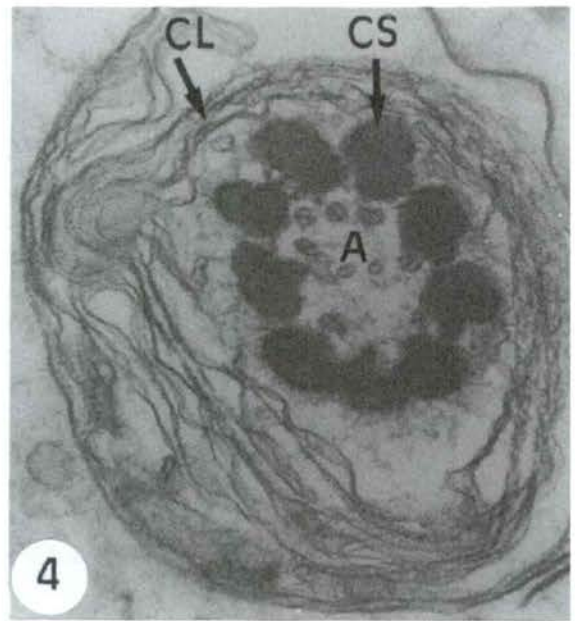
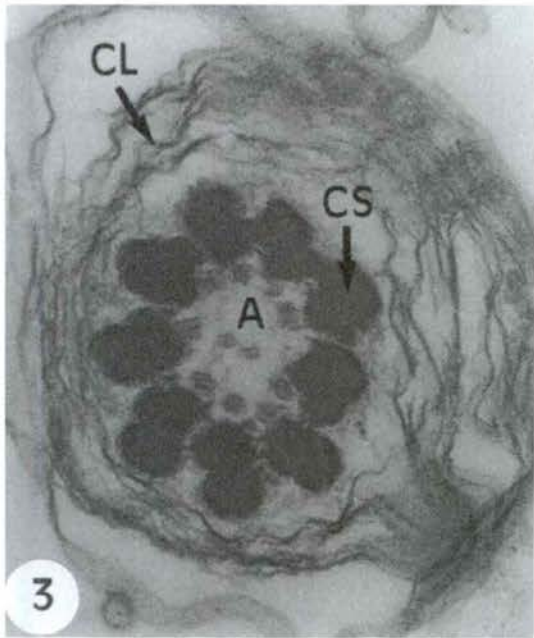
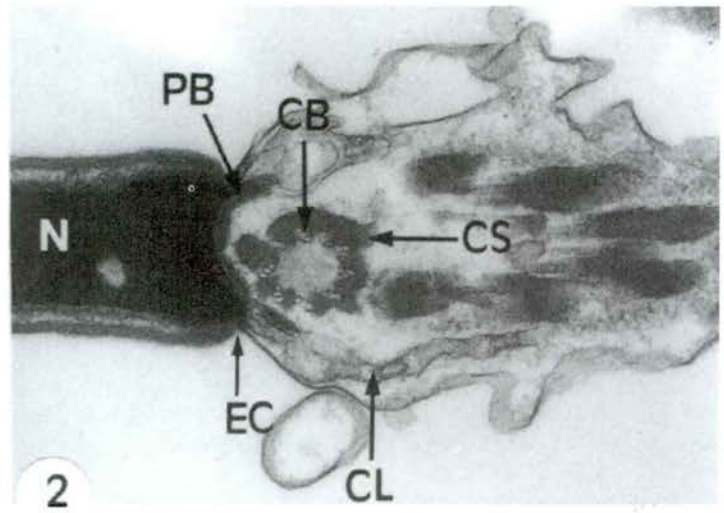
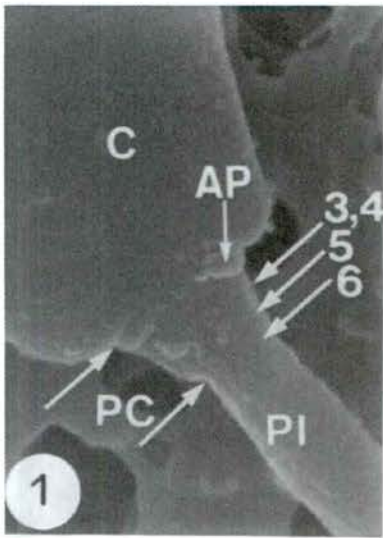
FIG. 1. Aspecte general de la peça de connexió d'un espermatozoide madur. Les sagetes indiquen els límits de la peça de connexió (PC). Les sagetes numerades indiquen els diversos nivells de les seccions transversals representades en les figures 3, 4, 5 i 6. C, cap; PI, peça intermèdia; AP, anell postcefàlic. Aspecto general de la pieza conexión de un espermatozoide maduro. Las flechas indican los límites de la pieza de conexión (PC). Las flechas numeradas indican los diversos niveles de las secciones transversales representadas en las figuras 3, 4, 5 y 6. C, cabeza; PI, pieza intermedia; AP, anillo postcefálico. *General view of the connecting piece of a mature spermatozoon. The arrows point to the limits of the connecting piece (PC). The numbered arrows indicate the different levels of the cross sections depicted in figures 3, 4, 5 and 6. C, head; PI, midpiece; AP, postcephalic ring. 18000x.*

FIG. 2. Secció longitudinal de la peça de connexió. PB, placa basal; CB, cos basal (observin-se els triplets de microtúbuls); CS, columnes segmentades; CL, cossos laminars; EC, escotadura circular; N, nucli. Sección longitudinal de la pieza de conexión. PB, placa basal; CB, cuerpo basal (obsérvense los tripletes de microtubulos); CS, columnas segmentadas; CL, cuerpos laminares; EC, escotadura circular; N, núcleo. *Longitudinal section of the connecting piece. PB, basal plate; CB, basal body (notice the microtubule triplets); CS, segmented columns; CL, laminar bodies; EC, circular neckline; N, nucleus. 60000x.*

FIG. 3, 4. Seccions transversals de la peça de connexió a nivell de la zona medioanterior. CL, cossos laminars; CS, columnes segmentades; A, axonema (9 doblets perifèrics i una parella de microtúbuls centrals). Secciones transversales de la pieza de conexión a nivel de la zona medio-anterior. CL, cuerpos laminares; CS, columnas segmentadas; A, axonema (9 dobletes periféricos y una pareja de microtubulos centrales). *Cross sections through the connecting piece at the mid-anterior region level. CL, laminar bodies; CS, segmented columns; A, axoneme (9 peripheral doublets and a central microtubule pair). 85000x.*

FIG. 5. Secció transversal de la peça de connexió a nivell de la zona medioposterior. Observi's l'absència de cossos laminars. CS, columnes segmentades; A, axonema; P, plasmalemma. Sección transversal de la pieza de conexión a nivel de la zona medio-posterior. Obsérvense la ausencia de cuerpos laminares. CS, columnas segmentadas; A, axonema; P, plasmalema. *Cross section through the connecting piece at the mid-posterior region level. Note the laminar bodies are missing. CS, segmented columns; A, axoneme; P, plasmalemma. 100000x.*

FIG. 6. Secció transversal de la peça de connexió a nivell de la zona posterior, al límit amb la peça intermèdia. FD, fibres denses; A, axonema; M, primers mitocondris de la beina mitocondrial; P, plasmalemma. Sección transversal de la pieza de conexión a nivel de la zona posterior, en el límite con la pieza intermedia. FD, fibras densas; A, axonema; M, primeras mitocondrias de la vaina mitocondrial; P, plasmalema. *Cross section through the connecting piece at the posterior region level, just at the limit with the midpiece. FD, dense fibres; A, axoneme; M, first mitochondria of the mitochondrial sheath; P, plasmalemma. 100000x.*



LÀMINA 49 / LÁMINA 49 / PLATE 49

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide madur: peces intermèdia o mitocondrial, principal i terminal.
 Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide maduro: piezas intermedia o mitocondrial, principal y terminal.
Scanning and transmission electron microscopy. Mature spermatozoon: midpiece or mitochondrial piece, principal piece and terminal piece.

FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide madur. Les sagetes indiquen el límit entre les peces intermèdia (PI), principal (PP) i terminal (PT) de la cua. Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 2-10. Aspecto general de un espermatozoide maduro. Las flechas indican el límite entre las piezas intermedia (PI), principal (PP) y terminal (PT) de la cola. Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 2-10. General view of a mature spermatozoon. The arrows point to the limit between the midpiece (PI), the principal piece (PP) and the terminal piece (PT) of the spermatozoon's tail. The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 2-10. 4700x.

FIG. 2. Secció longitudinal de la peça intermèdia. P, plasmalemma; BM, beina mitocondrial; FD, fibres denses; DP, doblet de microtúbuls perifèrics; MC, parella de microtúbuls centrals. Sección longitudinal de la pieza intermedia. P, plasmalema; BM, vaina mitocondrial; FD, fibras densas; DP, doblete de microtúbulos periféricos; MC, pareja de microtúbulos centrales. Longitudinal section of the midpiece. P, plasmalemma; BM, mitochondrial sheath; FD, dense fibres; DP, peripheral microtubule doublet; MC, central microtubule pair. 80 000x.

FIG. 3. Secció longitudinal de les peces principal (PP) i terminal (PT). Les sagetes indiquen el límit entre ambdues peces. Sección longitudinal de las piezas principal (PP) y terminal (PT). Las flechas indican el límite entre ambas piezas. Longitudinal section of the principal (PP) and terminal (PT) pieces. The arrows indicate the limit between both pieces. 20 000x.

FIG. 4. Secció transversal de la regió medioanterior de la peça intermèdia. P, plasmalemma; BM, beina mitocondrial; FD, fibres denses; GP, grànuls perifèrics; A, axonema. Sección transversal de la región medio-anterior de la pieza intermedia. P, plasmalema; BM, vaina mitocondrial; FD, fibras densas; GP, gránulos periféricos; A, axonema. Cross section through the mid-anterior region of the midpiece. P, plasmalemma; BM, mitochondrial sheath; FD, dense fibres; GP, peripheral granules; A, axoneme. 80 000x.

FIG. 5. Secció transversal de la regió medioposterior de la peça intermèdia. P, plasmalemma; BM, beina mitocondrial; FD, fibres denses (observi's el major desenvolupament de les fibres 1, 5 i 6); A, axonema. Sección transversal de la región medio-posterior de la pieza intermedia. P, plasmalema; BM, vaina mitocondrial; FD, fibras densas (obsérvese el mayor desarrollo de las fibras 1, 5 y 6); A, axonema. Cross section through the mid-posterior region of the midpiece. P, plasmalemma; BM, mitochondrial sheath; FD, dense fibres (note the greater development of the fibres 1, 5 and 6); A, axoneme. 80 000x.

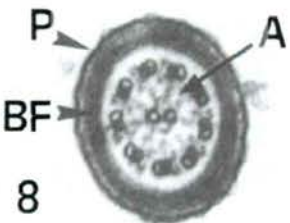
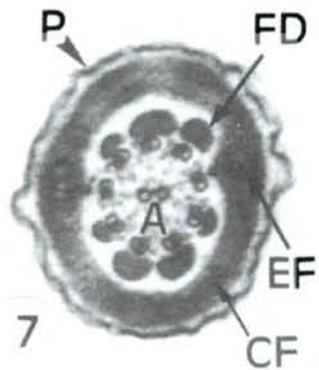
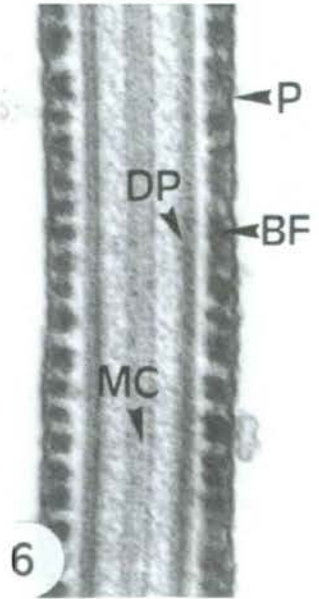
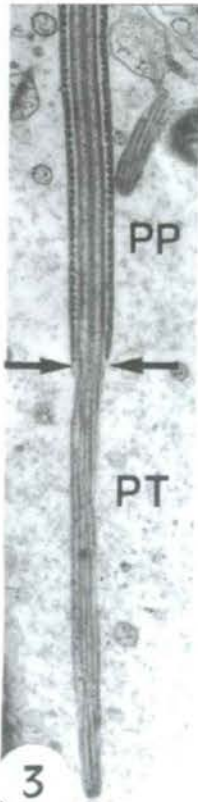
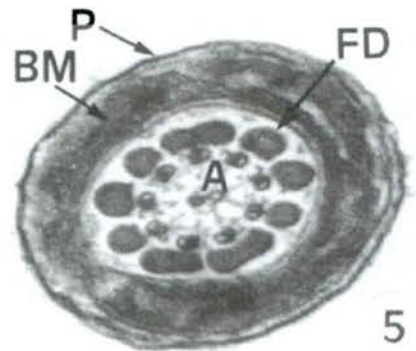
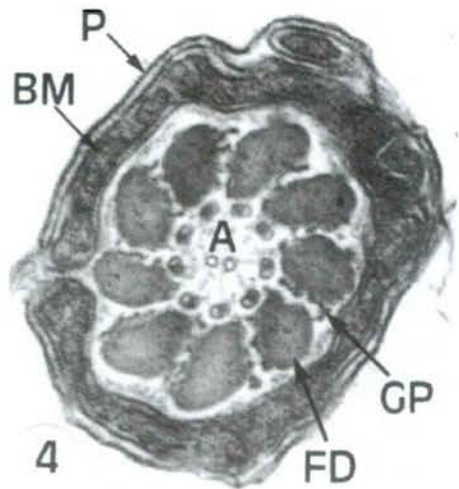
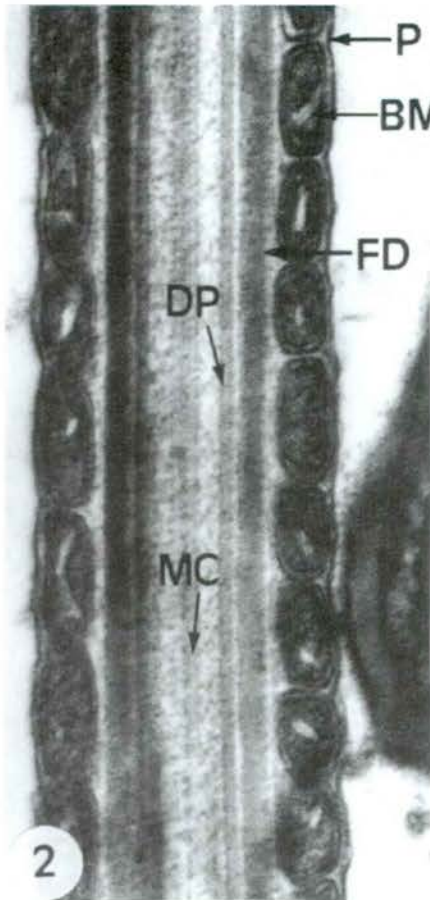
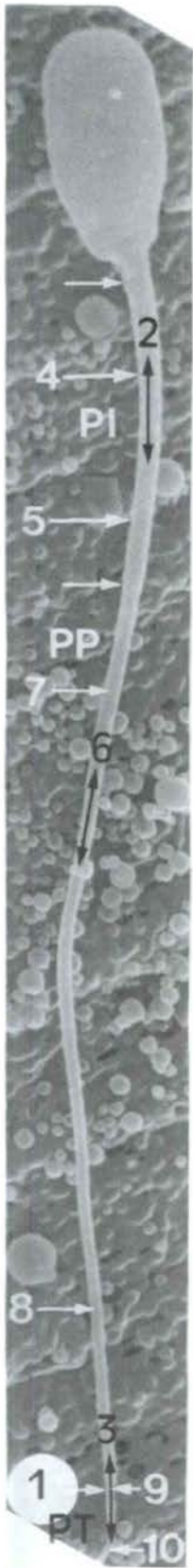
FIG. 6. Secció longitudinal de la peça principal. P, plasmalemma; BF, beina fibrosa; DP, doblet de microtúbuls perifèrics; MC, parella de microtúbuls centrals. Sección longitudinal de la pieza principal. P, plasmalema; BF, vaina fibrosa; DP, doblete de microtúbulos periféricos; MC, pareja de microtúbulos centrales. Longitudinal section of the principal piece. P, plasmalemma; BF, fibrous sheath; DP, peripheral microtubule doublet; MC, central microtubule pair. 80 000x.

FIG. 7. Secció transversal de la regió medioanterior de la peça principal. P, plasmalemma; EF, eixos de la beina fibrosa; CF, costelles de la beina fibrosa; FD, fibres denses (observi's l'absència de les fibres 3 i 8); A, axonema. Sección transversal de la región medio-anterior de la pieza principal. P, plasmalema; EF, ejes de la vaina fibrosa; CF, costillas de la vaina fibrosa; FD, fibras densas (obsérvese la ausencia de las fibras 3 y 8); A, axonema. Cross section through the mid-anterior region of the principal piece. P, plasmalemma; EF, fibrous sheath axes; CF, fibrous sheath ribs; FD, dense fibres (note that fibres 3 and 8 are missing); A, axoneme. 80 000x.

FIG. 8. Secció transversal de la regió medioposterior de la peça principal. P, plasmalemma; BF, beina fibrosa; A, axonema. Sección transversal de la región medio-posterior de la pieza principal. P, plasmalema; BF, vaina fibrosa; A, axonema. Cross section through the mid-posterior region of the principal piece. P, plasmalemma; BF, fibrous sheath; A, axoneme. 80 000x.

FIG. 9. Secció transversal de la regió medioanterior de la peça terminal. P, plasmalemma; AD, axonema desorganitzat. Sección transversal de la región medio-anterior de la pieza terminal. P, plasmalema; AD, axonema desorganizado. Cross section through the mid-anterior region of the terminal piece. P, plasmalemma; AD, disorganized axoneme. 80 000x.

FIG. 10. Secció transversal de la regió medioposterior de la peça terminal. P, plasmalemma; AD, axonema desorganitzat. Sección transversal de la región medio-posterior de la pieza terminal. P, plasmalema; AD, axonema desorganizado. Cross section through the mid-posterior region of the terminal piece. P, plasmalemma; AD, disorganized axoneme. 93 000x.



LÀMINA 50 / LÁMINA 50 / PLATE 50

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal.

Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal.

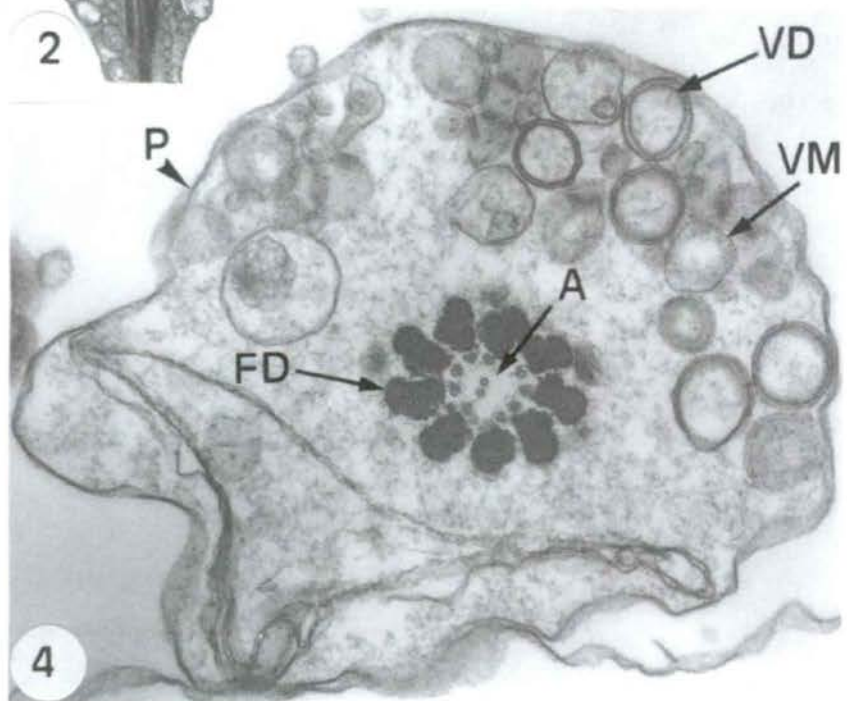
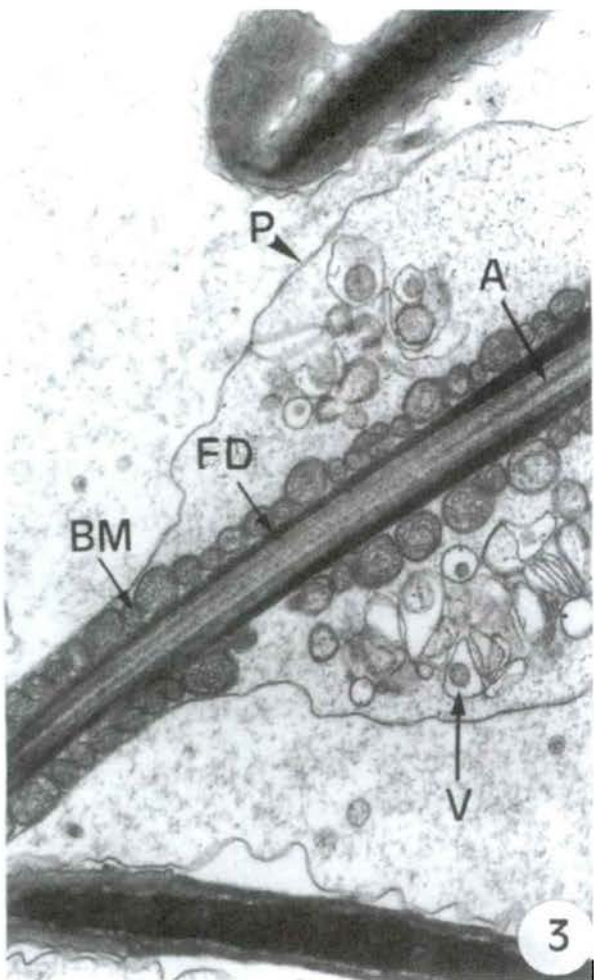
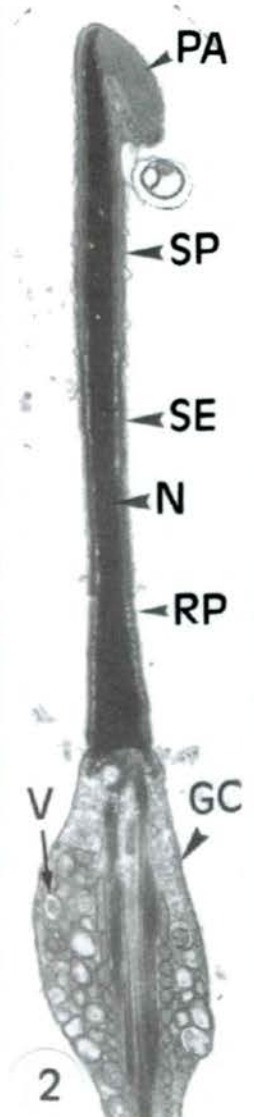
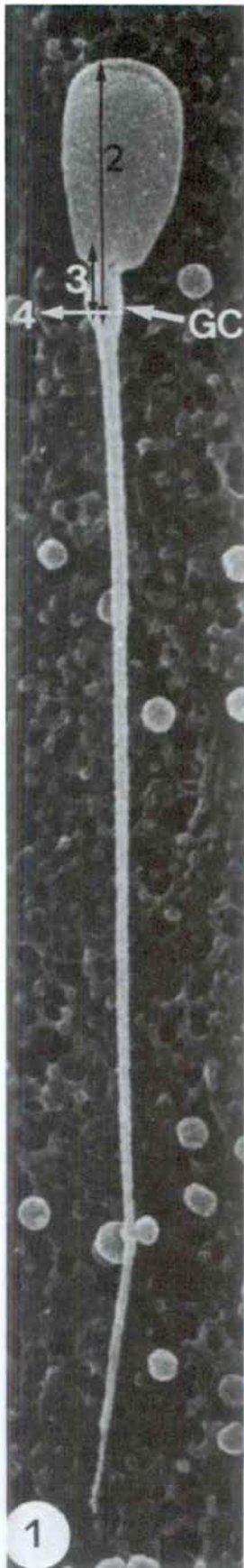
Scanning and transmission electron microscopy. Immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet.

FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (GC). Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 2, 3 i 4. Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal (GC). Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 2, 3 y 4. *General view of an immature spermatozoon with proximal cytoplasmic droplet (GC). The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 2, 3 and 4. 4300x.*

FIG. 2. Secció longitudinal del cap i de la peça de connexió. PA, protuberància acrosòmica; SP, segment acrosòmic principal; SE, segment acrosòmic equatorial; N, nucli; RP, regió cefàlica postacrosòmica; GC, gota citoplasmàtica; V, vesícules. Sección longitudinal de la cabeza y de la pieza de conexión. PA, protuberancia acrosómica; SP, segmento acrosómico principal; SE, segmento acrosómico ecuatorial; N, núcleo; RP, región cefálica postacrosómica; GC, gota citoplasmática; V, vesículas. *Longitudinal section of the head and the connecting piece. PA, acrosomal protuberance; SP, acrosome principal segment; SE, acrosome equatorial segment; N, nucleus; RP, postacrosomal cephalic region; GC, cytoplasmic droplet; V, vesicles. 13000x.*

FIG. 3. Secció longitudinal de la gota citoplasmàtica. P, plasmalemma; BM, beina mitocondrial; FD, fibres denses; A, axonema; V, vesícules. Sección longitudinal de la gota citoplasmática. P, plasmalema; BM, vaina mitocondrial; FD, fibras densas; A, axonema; V, vesículas. *Longitudinal section of the cytoplasmic droplet. P, plasmalemma; BM, mitochondrial sheath; FD, dense fibres; A, axoneme; V, vesicles. 24000x.*

FIG. 4. Secció transversal de la peça de connexió. P, plasmalemma; FD, fibres denses; A, axonema; VM, vesícules limitades per una única membrana; VD, vesícules limitades per una doble membrana. Sección transversal de la pieza de conexión. P, plasmalema; FD, fibras densas; A, axonema; VM, vesículas limitadas por una única membrana; VD, vesículas limitadas por una doble membrana. *Cross section through the connecting piece. P, plasmalemma; FD, dense fibres; A, axoneme; VM, simple membrane vesicles; VD, double membrane vesicles. 53000x.*



LÀMINA 51 / LÁMINA 51 / PLATE 51

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal.

Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal.

Scanning and transmission electron microscopy. Immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet.

FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (GC). Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 2-6. Aspecto general de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (GC). Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 2-6. General view of an immature spermatozoon with distal cytoplasmic droplet (GC). The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 2-6. 4300x.

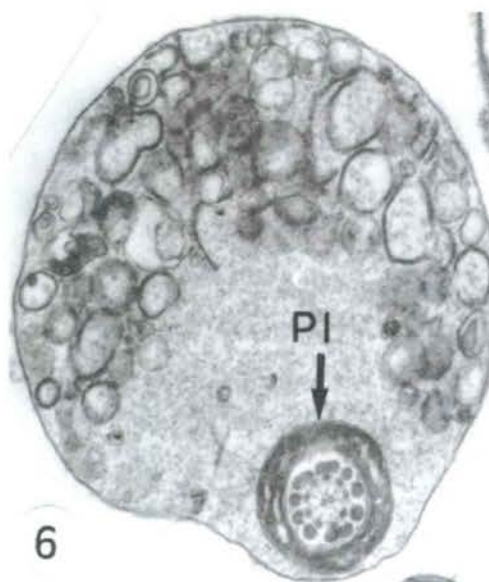
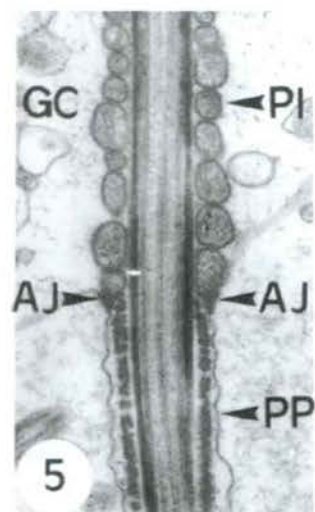
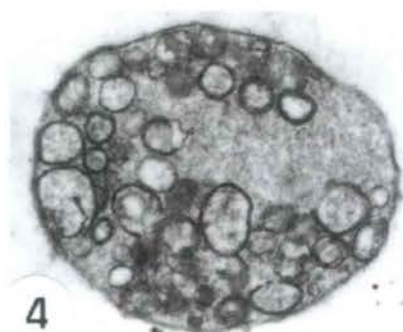
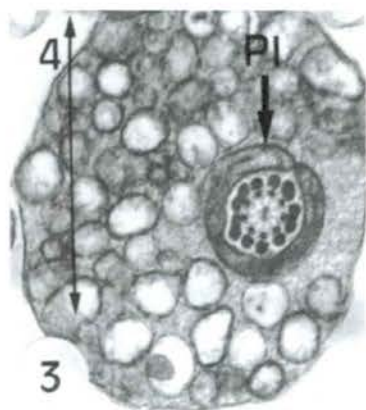
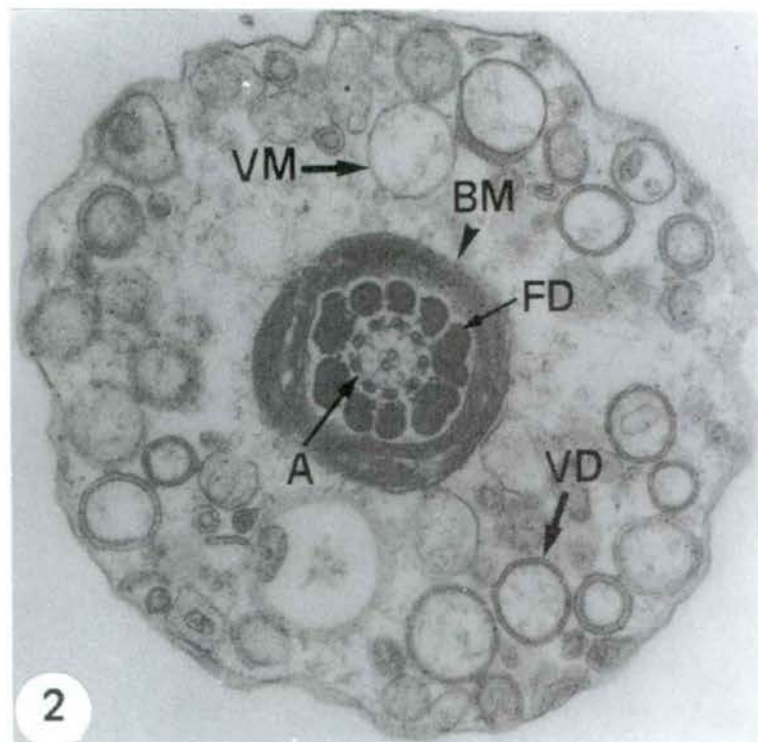
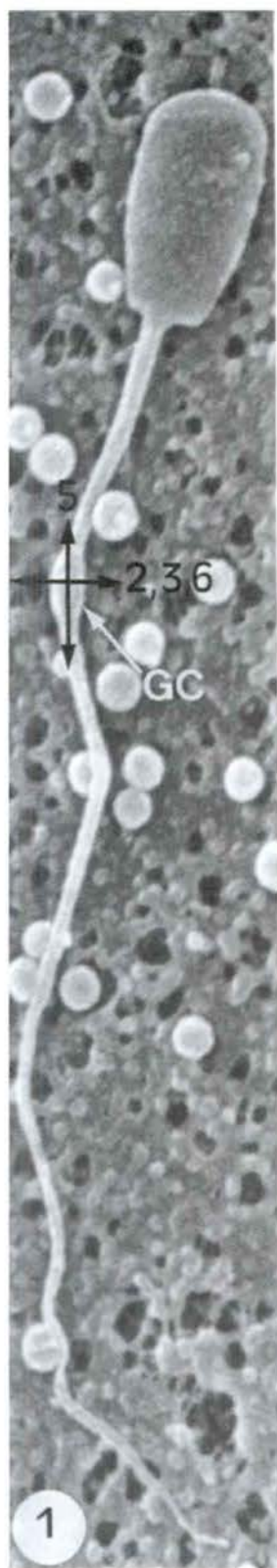
FIG. 2. Secció transversal de la gota citoplasmàtica. La peça intermèdia ocupa el centre geomètric de la gota. BM, beina mitocondrial; FD, fibres denses; A, axonema; VM, vesícules limitades per una única membrana; VD, vesícules limitades per una doble membrana. Sección transversal de la gota citoplasmática. La pieza intermedia ocupa el centro geométrico de la gota. BM, vaina mitocondrial; FD, fibras densas; A, axonema; VM, vesículas limitadas por una única membrana; VD, vesículas limitadas por una doble membrana. Cross section of the cytoplasmic droplet. The midpiece occupies the droplet geometrical centre. BM, mitochondrial sheath; FD, dense fibres; A, axoneme; VM, simple membrane vesicles; VD, double membrane vesicles. 60000x.

FIG. 3. Secció transversal de la gota citoplasmàtica. La peça intermèdia (PI) ocupa una posició excèntrica dins la gota. La sageta numerada (4) indica l'orientació de la secció representada en la figura 4. Sección transversal de la gota citoplasmática. La pieza intermedia (PI) ocupa una posición excéntrica dentro de la gota. La flecha numerada (4) indica la orientación de la sección representada en la figura 4. Cross section of the cytoplasmic droplet. The midpiece (PI) occupies an eccentric position within the droplet. The numbered arrow (4) indicates the direction of the section depicted in figure 4. 30000x.

FIG. 4. Secció longitudinal de la gota citoplasmàtica. Sección longitudinal de la gota citoplasmática. Longitudinal section of the cytoplasmic droplet. 30000x.

FIG. 5. Secció longitudinal del límit entre la peça intermèdia (PI) i la peça principal (PP). L'anell de Jensen (AJ) impedeix el pas dels mitocondris cap a la peça principal. GC, gota citoplasmàtica. Sección longitudinal del límite entre la pieza intermedia (PI) y la pieza principal (PP). El anillo de Jensen (AJ) impide el paso de las mitocondrias hacia la pieza principal. GC, gota citoplasmática. Longitudinal section through the limit between the midpiece (PI) and the principal piece (PP). The Jensen's ring (AJ) prevents the mitochondria from migrating downward the principal piece. GC, cytoplasmic droplet. 30000x.

FIG. 6. Secció transversal de la gota citoplasmàtica. La peça intermèdia (PI) ocupa una posició perifèrica dins la gota. Sección transversal de la gota citoplasmática. La pieza intermedia (PI) ocupa una posición periférica dentro de la gota. Cross section of the cytoplasmic droplet. The midpiece (PI) occupies a peripheral position within the droplet. 30000x.



LÀMINA 52 / LÁMINA 52 / PLATE 52

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen.

Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen.

Scanning and transmission electron microscopy. Spermatozoon with tail folded at the Jensen's ring.

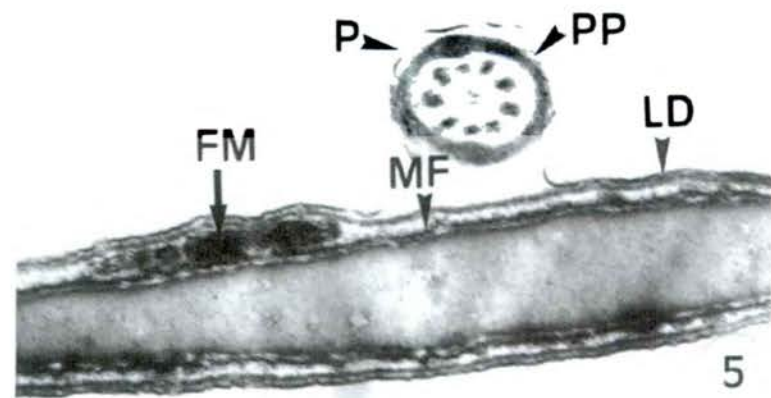
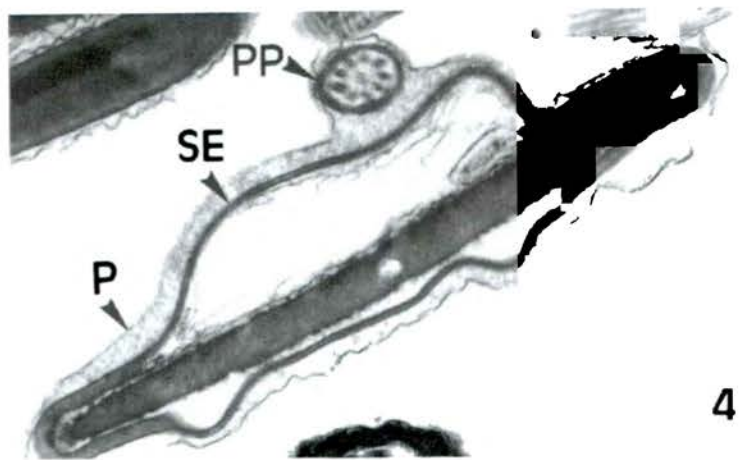
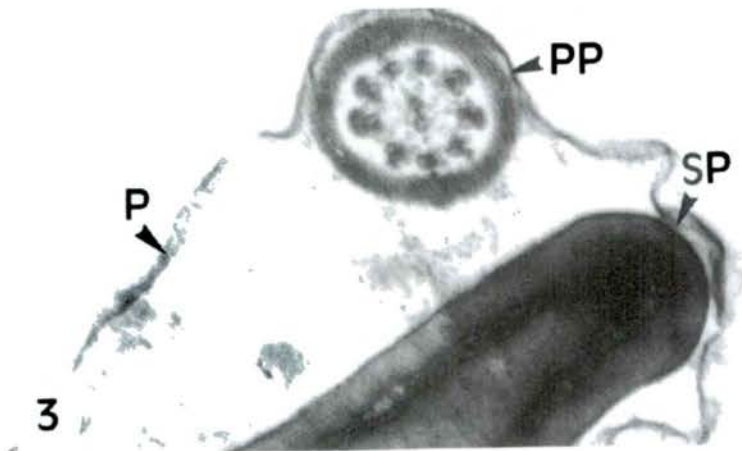
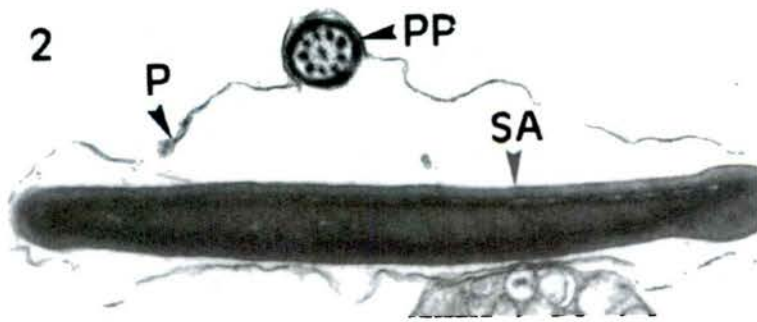
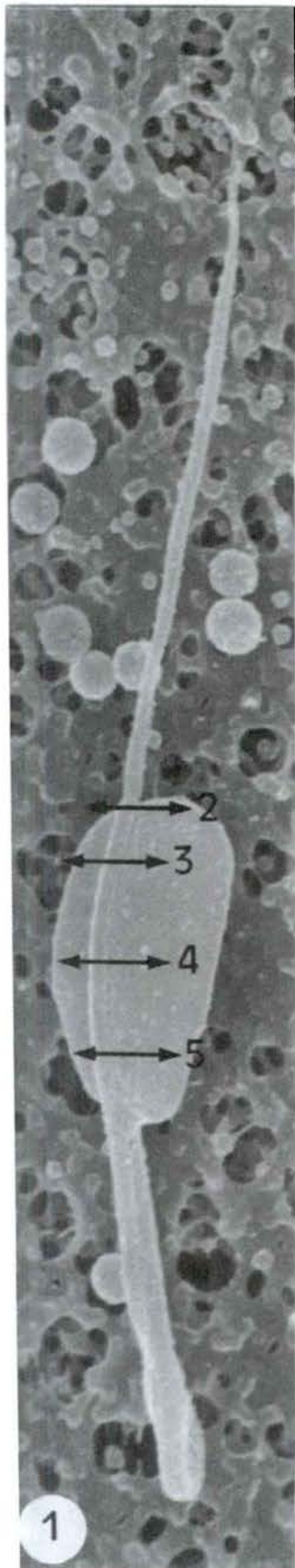
FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 2-5. Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen. Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 2-5. *General view of a spermatozoon with tail folded at the Jensen's ring. The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 2-5. 6400x.*

FIG. 2. Secció transversal del segment acrosòmic apical (SA). P, plasmalemma; PP, peça principal. Sección transversal del segmento acrosómico apical (SA). P, plasmalema; PP, pieza principal. *Cross section through the acrosome apical segment (SA). P, plasmalemma; PP, principal piece. 25000x.*

FIG. 3. Secció transversal del segment acrosòmic principal (SP). P, plasmalemma; PP, peça principal. Sección transversal del segmento acrosómico principal (SP). P, plasmalema; PP, pieza principal. *Cross section through the acrosome principal segment (SP). P, plasmalemma; PP, principal piece. 75000x.*

FIG. 4. Secció transversal del segment acrosòmic equatorial (SE). P, plasmalemma; PP, peça principal. Sección transversal del segmento acrosómico ecuatorial (SE). P, plasmalema; PP, pieza principal. *Cross section through the acrosome equatorial segment (SE). P, plasmalemma; PP, principal piece. 25000x.*

FIG. 5. Secció transversal de la regió cefàlica postacrosòmica. Observin-se les figures de mielina (FM) disposades entre la làmina densa postacrosòmica (LD) i el material fibrós perinuclear (MF). P, plasmalemma; PP, peça principal. Sección transversal de la región cefálica postacrosómica. Obsérvense las figuras de mielina (FM) dispuestas entre la lámina densa postacrosómica (LD) y el material fibroso perinuclear (MF). P, plasmalema; PP, pieza principal. *Cross section through the postacrosomal cephalic region. Notice the myelin figures (FM) disposed between the postacrosomal dense lamina (LD) and the perinuclear fibrous material (MF). P, plasmalemma; PP, principal piece. 45000x.*



LÀMINA 53 / LÁMINA 53 / PLATE 53

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen.

Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen.

Scanning and transmission electron microscopy. Spermatozoon with tail folded at the Jensen's ring.

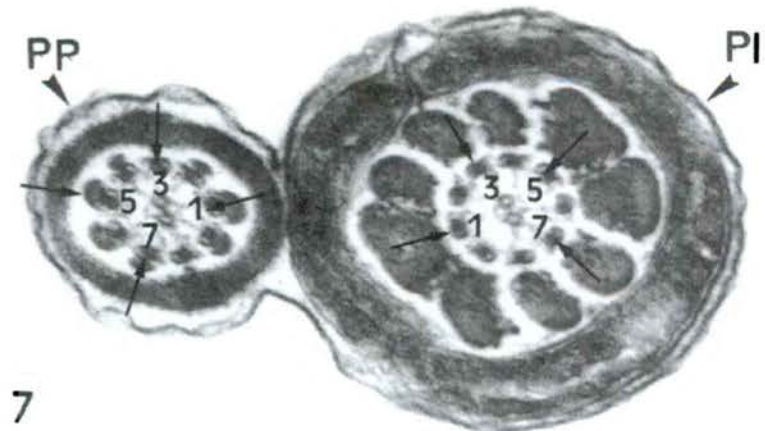
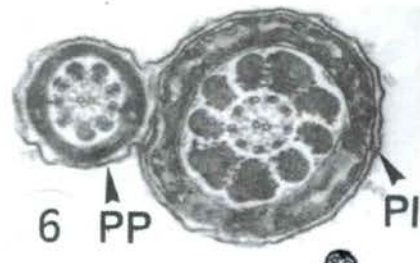
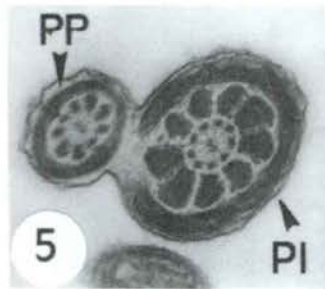
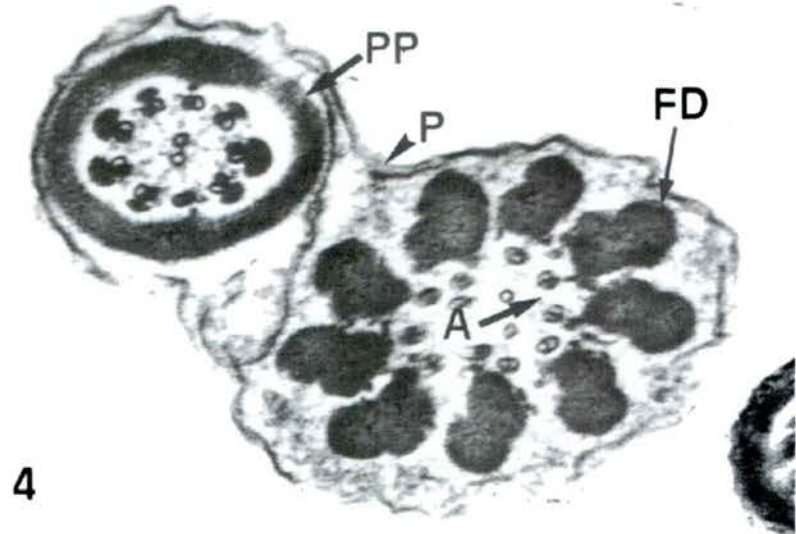
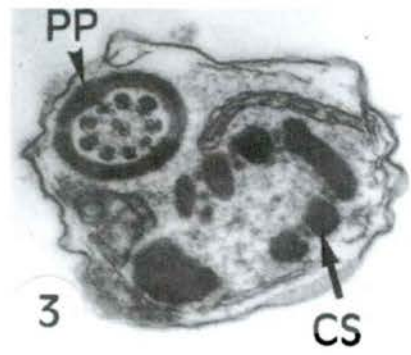
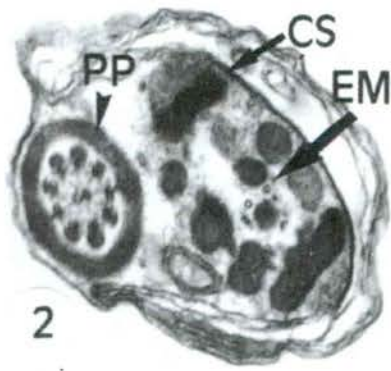
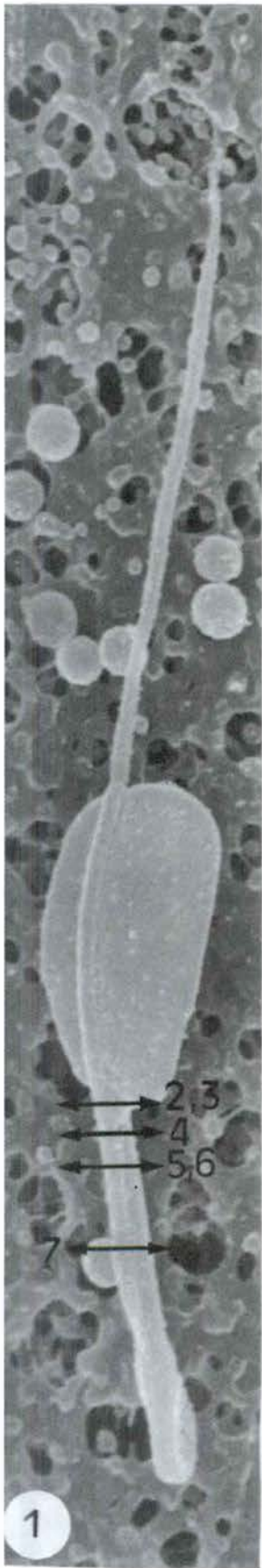
FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 2-7. Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen. Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 2-7. *General view of a spermatozoon with tail folded at the Jensen's ring. The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 2-7. 6400x.*

FIG. 2, 3. Seccions transversals de la porció anterior de la peça de connexió. Observi's la desorganització de les columnes segmentades (CS) i de l'estructura microtubular (EM). PP, peça principal. Secciones transversales de la porción anterior de la pieza de conexión. Obsérvese la desorganización de las columnas segmentadas (CS) y de la estructura microtubular (EM). PP, pieza principal. *Cross sections through the anterior part of the connecting piece. Note the disorganization of the segmented columns (CS) and the microtubule structure (EM). PP, principal piece. 45000x.*

FIG. 4. Secció transversal de la porció posterior de la peça de connexió. Observi's la correcta organització de les fibres denses (FD) i de l'axonema (A). P, plasmalemma; PP, peça principal. Sección transversal de la porción posterior de la pieza de conexión. Obsérvese la correcta organización de las fibras densas (FD) y del axonema (A). P, plasmalemma; PP, pieza principal. *Cross section through the posterior part of the connecting piece. Note the proper organization of dense fibres (FD) and axoneme (A). P, plasmalemma; PP, principal piece. 85000x.*

FIG. 5, 6. Seccions transversals de la porció anterior de la peça intermèdia (PI). PP, peça principal. Secciones transversales de la porción anterior de la pieza intermedia (PI). PP, pieza principal. *Cross sections through the anterior part of the midpiece (PI). PP, principal piece. Figura 5, 30000x; figura 6, 40000x.*

FIG. 7. Secció transversal de la porció medioanterior de la peça intermèdia (PI). Observi's la disposició antiparal·lela de la peça principal (PP) a partir de la numeració dels doblets de microtúbuls de l'axonema. Sección transversal de la porción medioanterior de la pieza intermedia (PI). Obsérvese la disposición antiparalela de la pieza principal (PP) a partir de la numeración de los dobletes de microtubulos del axonema. *Cross section through the mid-anterior part of the midpiece (PI). Notice the antiparallel disposition of the principal piece (PP) from the numbering of the axoneme microtubule doublets. 75000x.*



LÀMINA 54 / LÁMINA 54 / PLATE 54

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen.

Microscopia electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen.

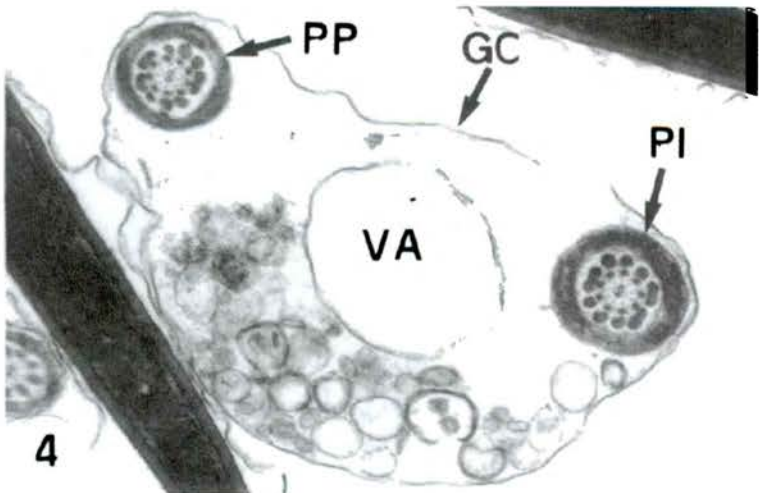
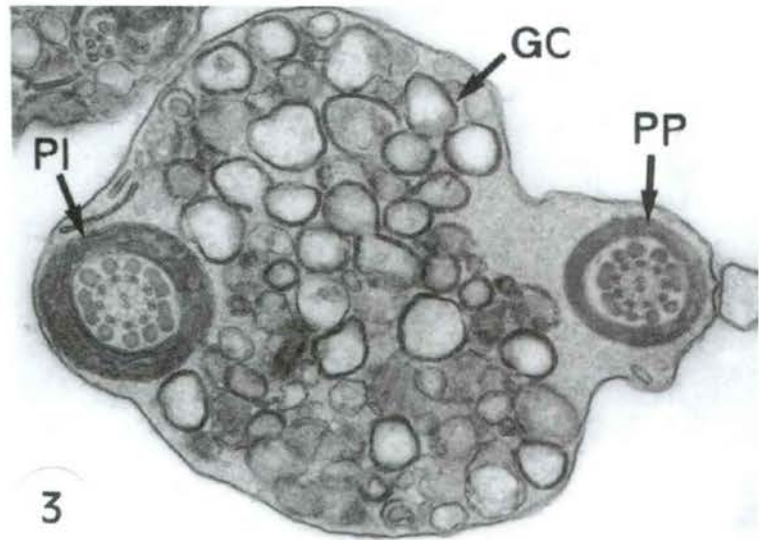
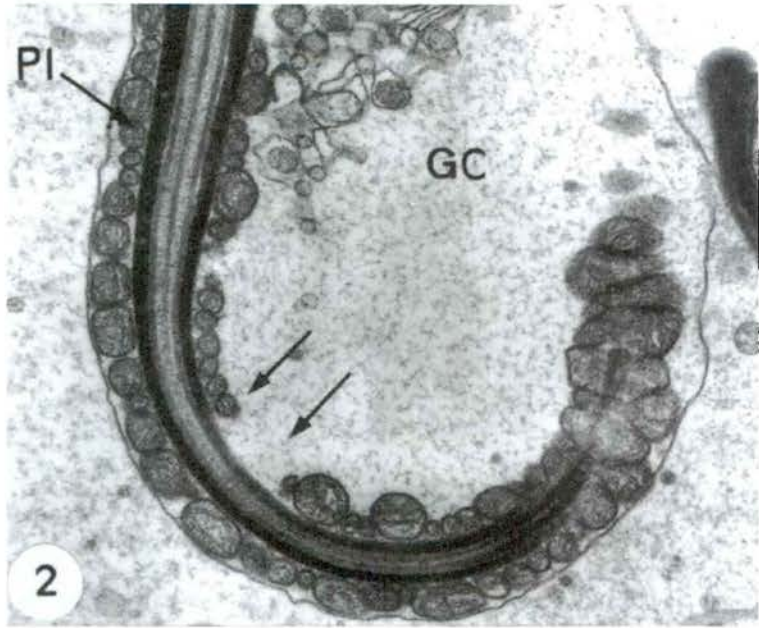
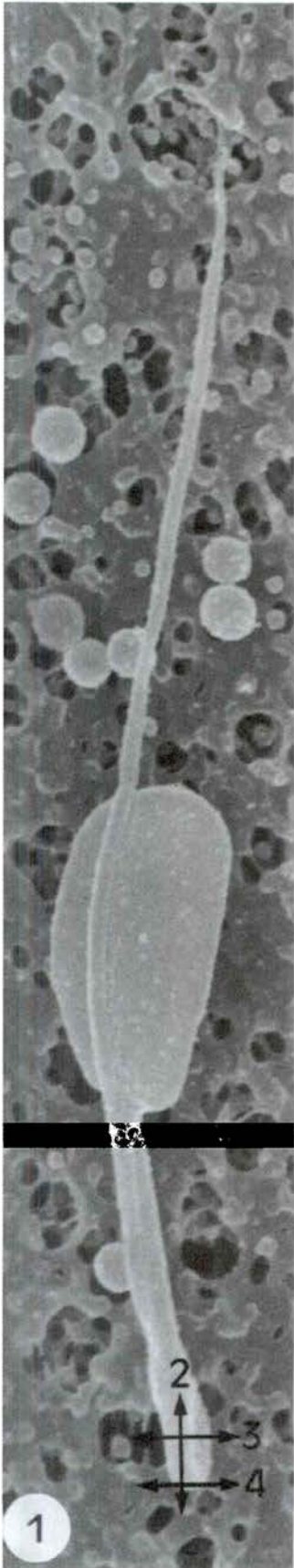
Scanning and transmission electron microscopy. Spermatozoon with tail folded at the Jensen's ring.

FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 2, 3 i 4. Aspecto general de un espermatozoide con la cola doblada por el anillo de Jensen. Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 2, 3 y 4. *General view of a spermatozoon with tail folded at the Jensen's ring. The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 2, 3 and 4. 6400x.*

FIG. 2. Secció longitudinal de la regió de la peça intermèdia (PI) on es produeix el doblegament de la cua. Observi's la desorganització de la beina mitocondrial en aquesta zona (→). GC, gota citoplasmàtica. Sección longitudinal de la región de la pieza intermedia (PI) donde se produce el doblamiento de la cola. Obsérvese la desorganización de las vainas mitocondrial en esta zona (→). GC, gota citoplasmática. *Longitudinal section through the midpiece region where the tail folding occurs. Note the disorganization of the mitochondrial sheath in this region. GC, cytoplasmic droplet. 30000x.*

FIG. 3. Secció transversal de la gota citoplasmàtica distal (GC). PP, peça principal; PI, peça intermèdia. Sección transversal de la gota citoplasmática distal (GC). PP, pieza principal; PI, pieza intermedia. *Cross section through the distal cytoplasmic droplet (GC). PP, principal piece; PI, midpiece. 30000x.*

FIG. 4. Secció transversal de la gota citoplasmàtica distal (GC). Observi's l'elevada vacuolització (VA) de la gota citoplasmàtica. PP, peça principal; PI, peça intermèdia. Sección transversal de la gota citoplasmática distal (GC). Obsérvese la elevada vacuolización (VA) de la gota citoplasmática. PP, pieza principal; PI, pieza intermedia. *Cross section through the distal cytoplasmic droplet (GC). Notice the high vacuolation (VA) of the cytoplasmic droplet. PP, principal piece; PI, midpiece. 25000x.*



LÀMINA 55 / LÁMINA 55 / PLATE 55

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoide amb la cua totalment enrotllada.
 Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoide con la cola completamente enrollada.
Scanning and transmission electron microscopy. Spermatozoon with completely coiled tail.

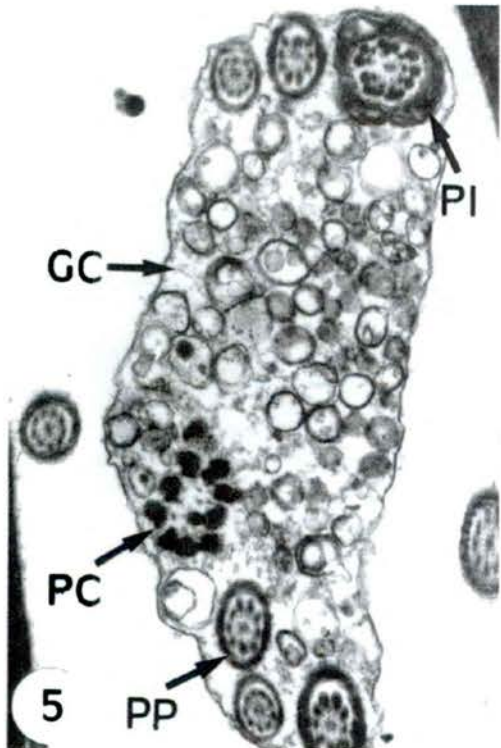
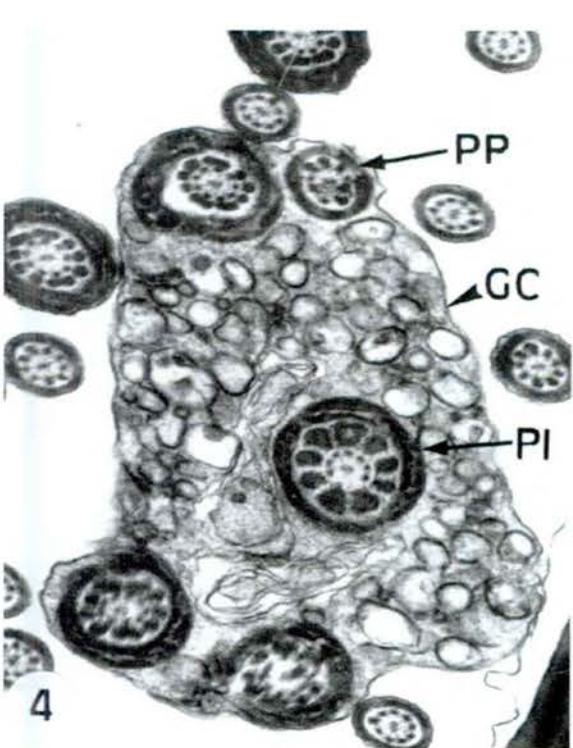
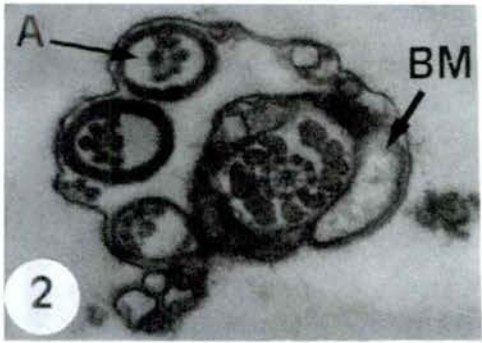
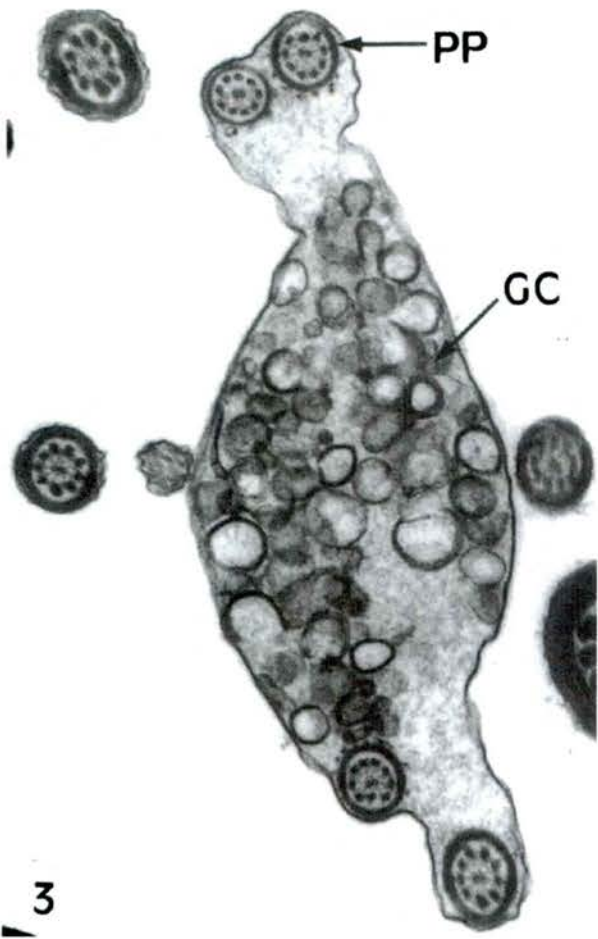
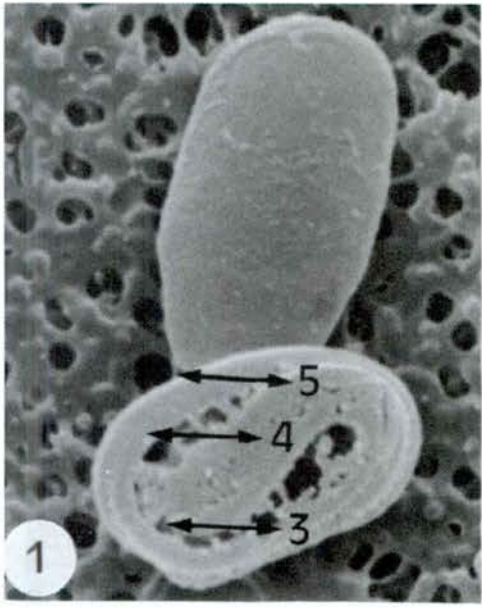
FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua enrotllada. Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 3, 4 i 5. Aspecto general de un espermatozoide con la cola enrollada. Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 3, 4 y 5. *General view of a spermatozoon with coiled tail. The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 3, 4 and 5.* 8100x.

FIG. 2. Secció de la cua enrotllada d'un espermatozoide. L'elevada desorganització i tumefacció de la beina mitocondrial (BM) i la manca de la meitat de l'estructura axonemàtica (A) de la peça principal indiquen el gran deteriorament d'aquesta cèl·lula, morta hores abans de la seva fixació. Sección de la cola enrollada de un espermatozoide. La elevada desorganización y tumefacción de la vaina mitocondrial (BM) y la ausencia de la mitad de la estructura axonemática (A) de la pieza principal indican el gran deterioro de esta célula, muerta horas antes de su fijación. *Section of a spermatozoon's coiled tail. The high disorganization and swelling of the mitochondrial sheath (BM) and the absence of the half axonemal structure (A) of the principal piece indicate the great impairment of this cell, dead some hours before its fixation.* 35000x.

FIG. 3. Secció de la cua enrotllada d'un espermatozoide. La peça principal (PP) apareix en quatre seccions cimentades per la gota citoplasmàtica (GC). Sección de la cola enrollada de un espermatozoide. La pieza principal (PP) aparece en cuatro secciones cimentadas por la gota citoplasmática (GC). *Section of a spermatozoon's coiled tail. The principal piece (PP) appears in four sections consolidated by the cytoplasmic droplet (GC).* 24000x.

FIG. 4. Secció de la cua enrotllada d'un espermatozoide. La peça intermèdia (PI) apareix en quatre seccions i la peça principal (PP) en una única secció. GC, gota citoplasmàtica. Sección de la cola enrollada de un espermatozoide. La pieza intermedia (PI) aparece en cuatro secciones y la pieza principal (PP) en una única sección. GC, gota citoplasmática. *Section of a spermatozoon's coiled tail. The midpiece (PI) appears in four sections and the principal piece (PP) in a single section. GC, cytoplasmic droplet.* 25000x.

FIG. 5. Secció de la cua enrotllada d'un espermatozoide a nivell de la peça de connexió (PC). GC, gota citoplasmàtica; PP, peça principal; PI, peça intermèdia. Sección de la cola enrollada de un espermatozoide a nivel de la pieza de conexión (PC). GC, gota citoplasmática; PP, pieza principal; PI, pieza intermedia. *Section of a spermatozoon's coiled tail at the connecting piece (PC) level. GC, cytoplasmic droplet; PP, principal piece; PI, midpiece.* 22000x.



LÀMINA 56 / LÁMINA 56 / PLATE 56

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoides amb un o dos caps i dues cues fusionades.
 Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoides con una o dos cabezas y dos colas fusionadas.
Scanning and transmission electron microscopy. Spermatozoa with one or two heads and two fused tails.

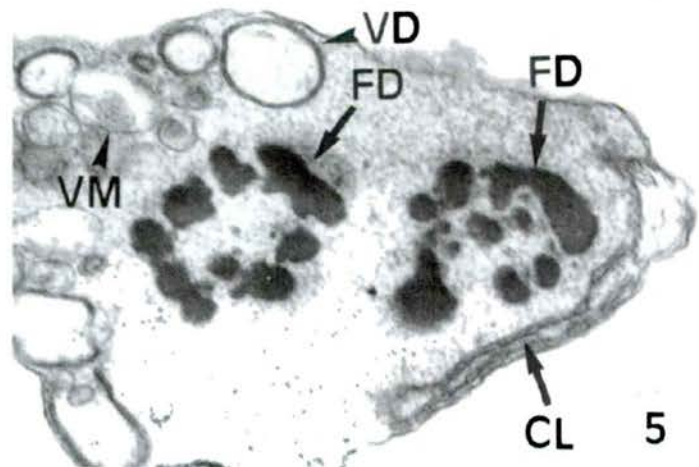
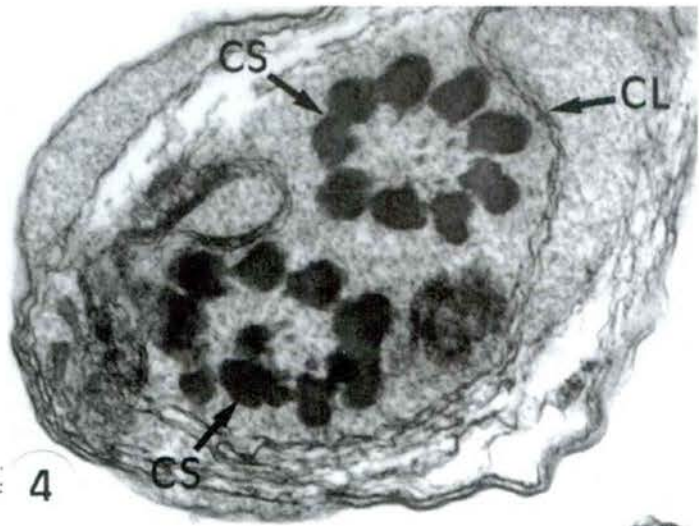
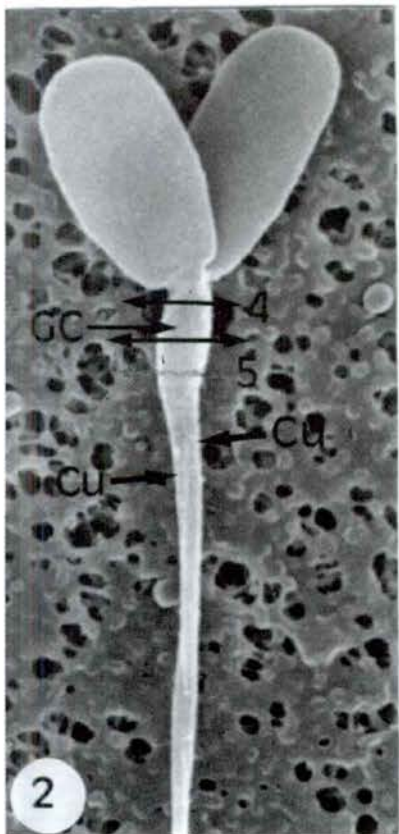
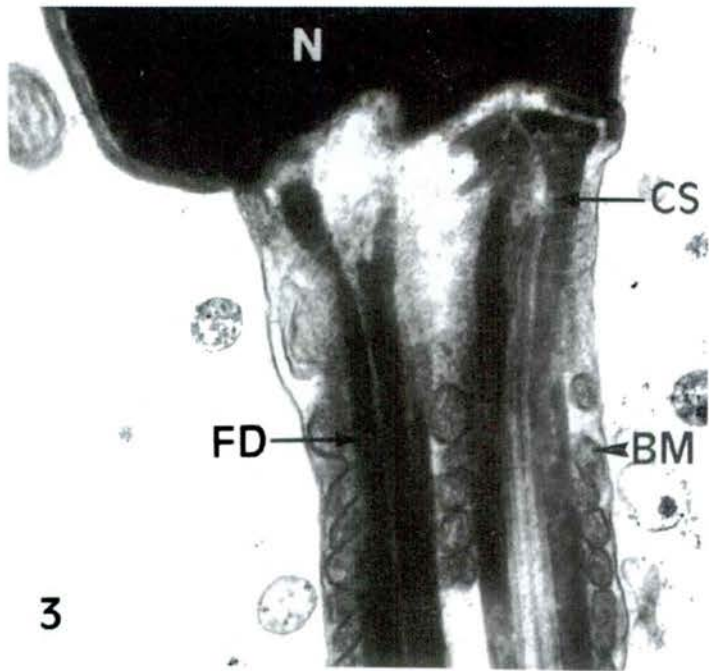
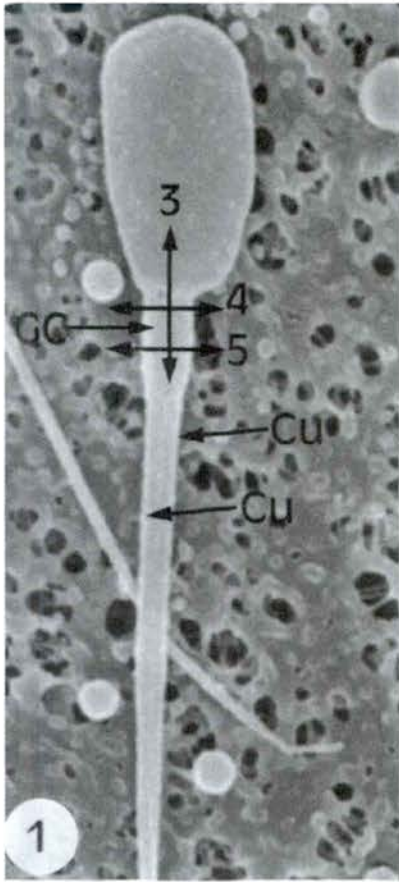
FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide amb un cap i dues cues fusionades (Cu). Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 3, 4 i 5. GC, gota citoplasmàtica. Aspecto general de un espermatozoide con una cabeza y dos colas fusionadas (Cu). Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 3, 4 y 5. GC, gota citoplasmática. *General view of a spermatozoon with one head and two fused tails (Cu). The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 3, 4 and 5. GC, cytoplasmic droplet. 5200x.*

FIG. 2. Aspecte general d'un espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades (Cu). Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 4 i 5. GC, gota citoplasmàtica. Aspecto general de un espermatozoide con dos cabezas y dos colas fusionadas (Cu). Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 4 y 5. GC, gota citoplasmática. *General view of a spermatozoon with two heads and two fused tails (Cu). The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 4 and 5. GC, cytoplasmic droplet. 5200x.*

FIG. 3. Secció longitudinal frontal d'un espermatozoide amb un cap i dues cues fusionades. N, nucli; CS, columnes segmentades; BM, beina mitocondrial; FD, fibres denses. Sección longitudinal frontal de un espermatozoide con una cabeza y dos colas fusionadas. N, núcleo; CS, columnas segmentadas; BM, vaina mitocondrial; FD, fibras densas. *Frontal longitudinal section of a spermatozoon with one head and two fused tails. N, nucleus; CS, segmented columns; BM, mitochondrial sheath; FD, dense fibres. 33000x.*

FIG. 4. Secció transversal de la porció anterior de la peça de connexió d'un espermatozoide amb dues cues. CL, cossos laminars; CS, columnes segmentades. Sección transversal de la porción anterior de la pieza de conexión de un espermatozoide con dos colas. CL, cuerpos laminares; CS, columnas segmentadas. *Cross section through the anterior part of the connecting piece of a spermatozoon with two tails. CL, laminar bodies; CS, segmented columns. 45000x.*

FIG. 5. Secció transversal de la porció posterior de la peça de connexió d'un espermatozoide amb dues cues. CL, cossos laminars; VM, vesícules limitades per una única membrana; VD, vesícules limitades per una doble membrana; FD, fibres denses. Sección transversal de la porción posterior de la pieza de conexión de un espermatozoide con dos colas. CL, cuerpos laminares; VM, vesículas limitadas por una única membrana; VD, vesículas limitadas por una doble membrana; FD, fibras densas. *Cross section through the posterior part of the connecting piece of a spermatozoon with two tails. CL, laminar bodies; VM, simple membrane vesicles; VD, double membrane vesicles; FD, dense fibres. 45000x.*



LÀMINA 57 / LÁMINA 57 / PLATE 57

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoides amb un o dos caps i dues cues fusionades.

Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoides con una o dos cabezas y dos colas fusionadas.

Scanning and transmission electron microscopy. Spermatozoa with one or two heads and two fused tails.

FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide amb un cap i dues cues fusionades (Cu). Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 3-6. Aspecto general de un espermatozoide con una cabeza y dos colas fusionadas (Cu). Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 3-6. *General view of a spermatozoon with one head and two fused tails (Cu). The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 3-6.* 5200x.

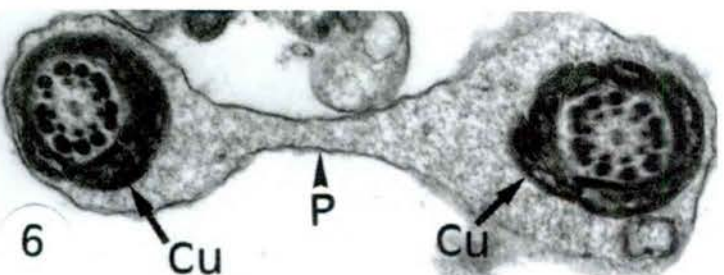
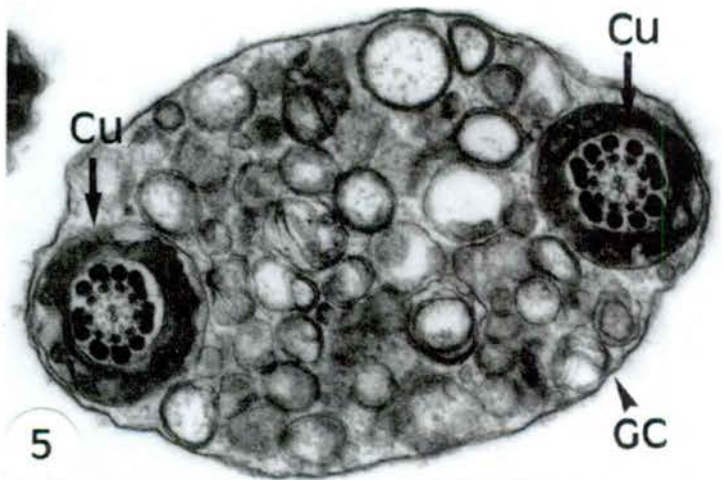
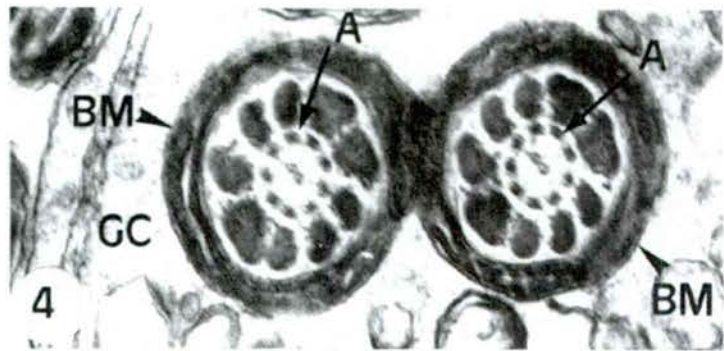
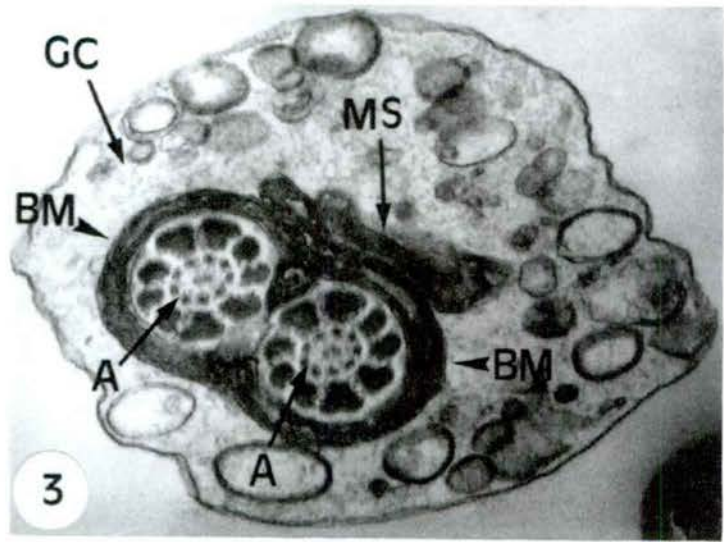
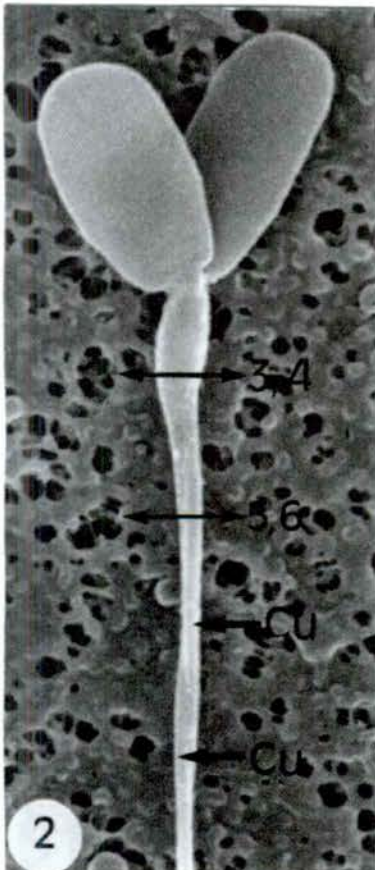
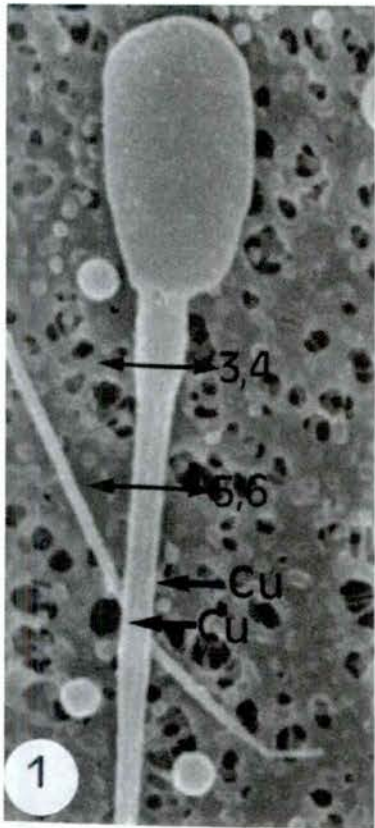
FIG. 2. Aspecte general d'un espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades (Cu). Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 3-6. Aspecto general de un espermatozoide con dos cabezas y dos colas fusionadas (Cu). Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 3-6. *General view of a spermatozoon with two heads and two fused tails (Cu). The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 3-6.* 5200x.

FIG. 3. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia d'un espermatozoide amb dues cues. GC, gota citoplasmàtica; BM, beines mitocondrials fusionades; MS, mitocondris supernumeraris; A, axonema. Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia de un espermatozoide con dos colas. GC, gota citoplasmática; BM, vainas mitocondriales fusionadas; MS, mitocondrias supernumerarias; A, axonema. *Cross section through the anterior region of the midpiece of a spermatozoon with two tails. GC, cytoplasmic droplet; BM, fused mitochondrial sheaths; MS, additional mitochondria; A, axoneme.* 42000x.

FIG. 4. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia d'un espermatozoide amb dues cues. GC, gota citoplasmàtica; BM, beines mitocondrials en contacte; A, axonema. Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia de un espermatozoide con dos colas. GC, gota citoplasmática; BM, vainas mitocondriales en contacto; A, axonema. *Cross section through the anterior region of the midpiece of a spermatozoon with two tails. GC, cytoplasmic droplet; BM, mitochondrial sheaths coming in contact; A, axoneme.* 45000x.

FIG. 5. Secció transversal de la regió medioanterior de la peça intermèdia d'un espermatozoide amb dues cues (Cu). GC, gota citoplasmàtica. Sección transversal de la región medio-anterior de la pieza intermedia de un espermatozoide con dos colas (Cu). GC, gota citoplasmática. *Cross section through the mid-anterior region of the midpiece of a spermatozoon with two tails (Cu). GC, cytoplasmic droplet.* 36000x.

FIG. 6. Secció transversal de la regió medioanterior de la peça intermèdia d'un espermatozoide amb dues cues (Cu). P, plasmalemma. Sección transversal de la región medio-anterior de la pieza intermedia de un espermatozoide con dos colas (Cu). P, plasmalemma. *Cross section through the mid-anterior region of the midpiece of a spermatozoon with two tails (Cu). P, plasmalemma.* 36000x.



LÀMINA 58 / LÁMINA 58 / PLATE 58

Microscòpia electrònica de rastreig i de transmissió. Espermatozoides amb un o dos caps i dues cues fusionades.

Microscopía electrónica de barrido y de transmisión. Espermatozoides con una o dos cabezas y dos colas fusionadas.

Scanning and transmission electron microscopy. Spermatozoa with one or two heads and two fused tails.

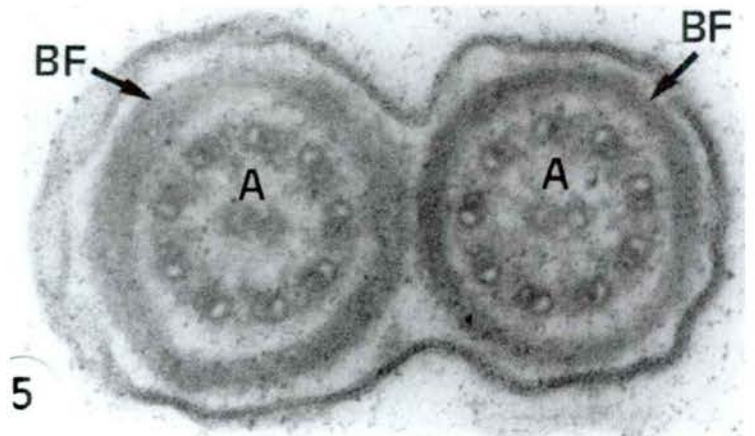
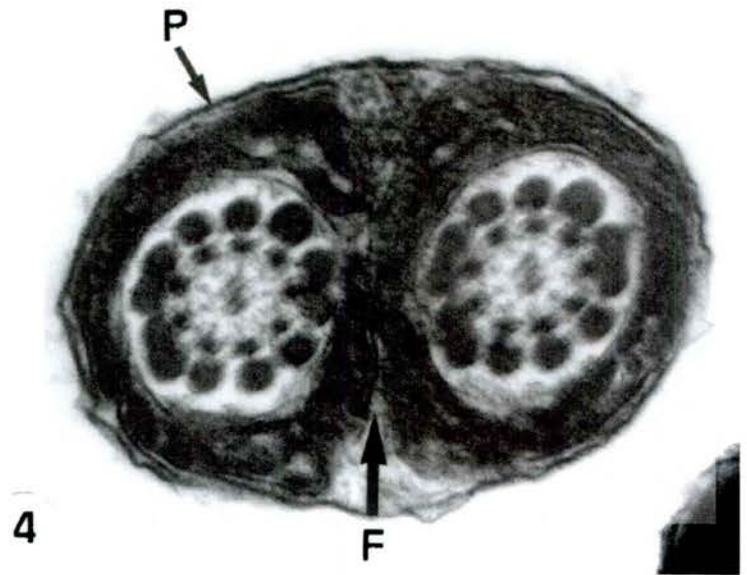
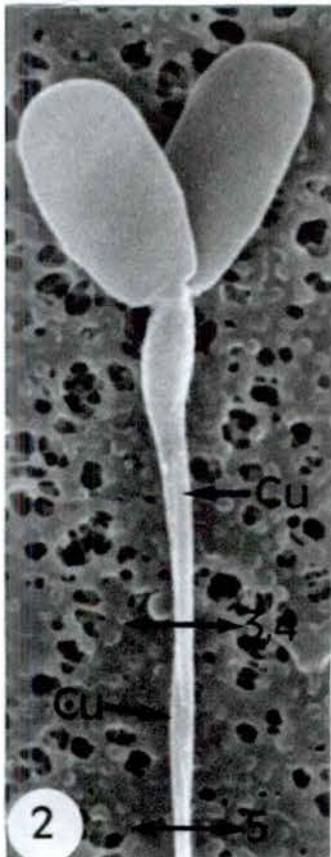
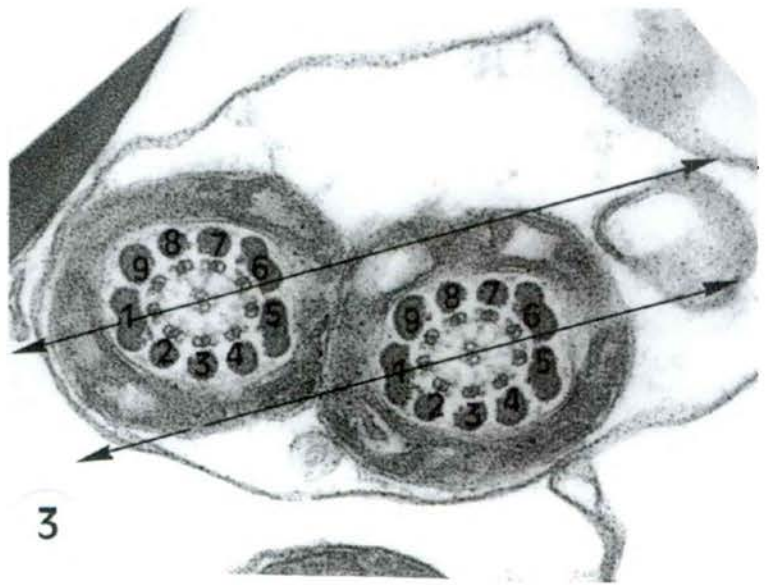
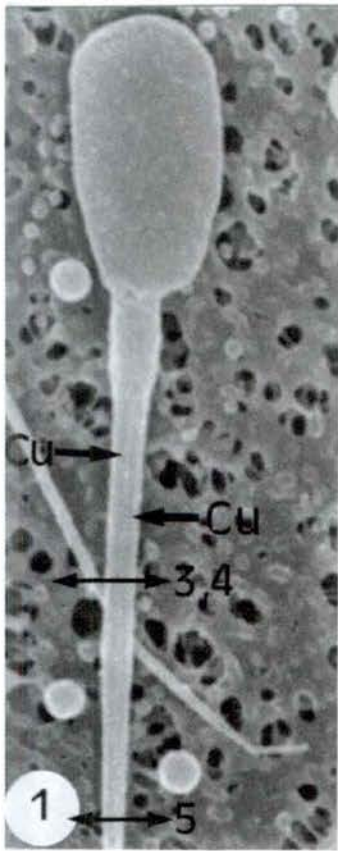
FIG. 1. Aspecte general d'un espermatozoide amb un cap i dues cues fusionades (Cu). Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 3, 4 i 5. Aspecto general de un espermatozoide con una cabeza y dos colas fusionadas (Cu). Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 3, 4 y 5. *General view of a spermatozoon with one head and two fused tails (Cu). The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 3, 4 and 5. 5200x.*

FIG. 2. Aspecte general d'un espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades (Cu). Les sagetes numerades indiquen el sentit i el nivell de les seccions representades en les figures 3, 4 i 5. Aspecto general de un espermatozoide con dos cabezas y dos colas fusionadas (Cu). Las flechas numeradas indican el sentido y el nivel de las secciones representadas en las figuras 3, 4 y 5. *General view of a spermatozoon with two heads and two fused tails (Cu). The numbered arrows indicate the direction and the level of the sections depicted in figures 3, 4 and 5. 5200x.*

FIG. 3. Secció transversal de la regió medioposterior de la peça intermèdia d'un espermatozoide amb dues cues. Observi's el paral·lelisme dels dos axonemes a partir de la numeració dels doblets de microtúbuls perifèrics. Sección transversal de la región medio-posterior de la pieza intermedia de un espermatozoide con dos colas. Obsérvese el paralelismo de los dos axonemas a partir de la numeración de los doblets de microtúbulos periféricos. *Cross section through the mid-posterior region of the midpiece of a spermatozoon with two tails. Notice the parallelism of the two axonemes from the numbering of the peripheral microtubule doublets. 64000x.*

FIG. 4. Secció transversal de la regió medioposterior de la peça intermèdia d'un espermatozoide amb dues cues. Observi's la fusió (F) de les dues beines mitocondrials. P, plasmalemma. Sección transversal de la región medio-posterior de la pieza intermedia de un espermatozoide con dos colas. Obsérvese la fusión (F) de las dos vainas mitocondriales. P, plasmalemma. *Cross section through the mid-posterior region of the midpiece of a spermatozoon with two tails. Note the fusion (F) of the two mitochondrial sheaths. P, plasmalemma. 72000x.*

FIG. 5. Secció transversal de la peça principal d'un espermatozoide amb dues cues. BF, beina fibrosa; A, axonema. Sección transversal de la pieza principal de un espermatozoide con dos colas. BF, vaina fibrosa; A, axonema. *Cross section through the principal piece of a spermatozoon with two tails. BF, fibrous sheath; A, axoneme. 136000x.*



LÀMINA 59 / LÁMINA 59 / PLATE 59

Microscòpia electrònica de transmissió. Malformacions del segment apical de l'acrosoma.

Microscopía electrónica de transmisión. Malformaciones del segmento apical del acrosoma.

Transmission electron microscopy. Acrosome apical segment malformations.

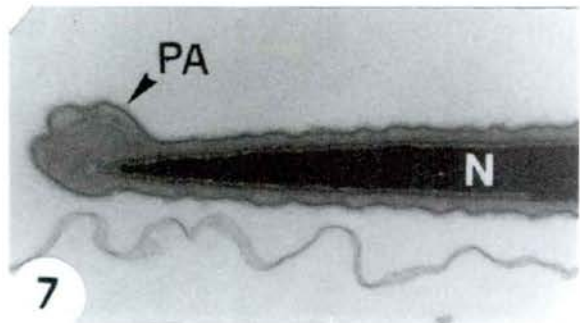
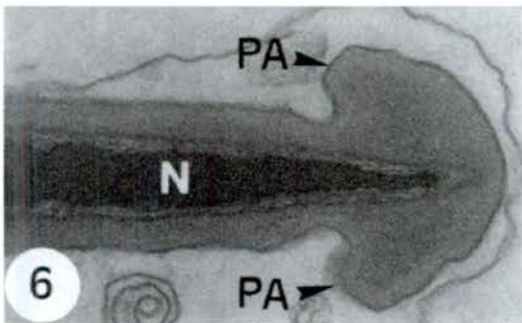
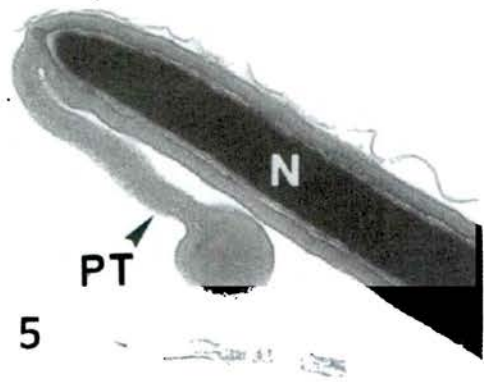
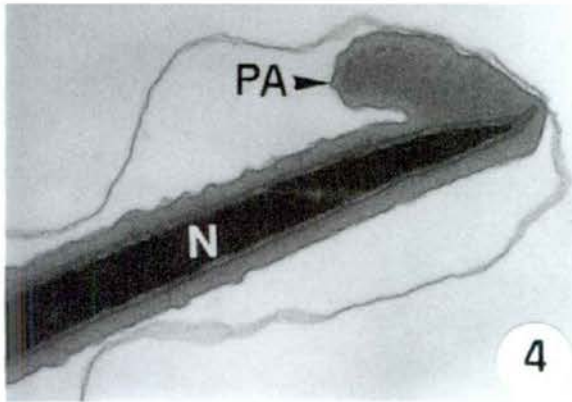
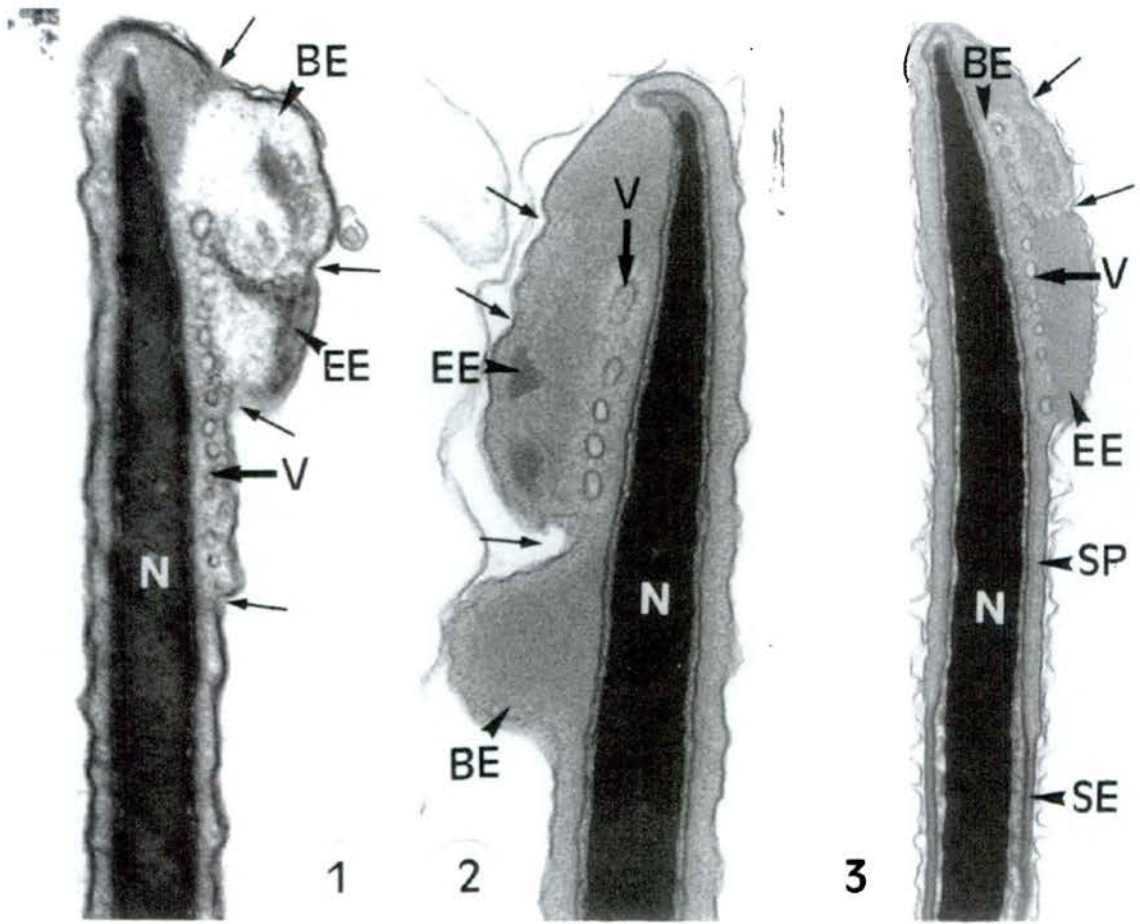
FIG. 1, 2, 3. Seccions longitudinals del segment apical de l'acrosoma. Observi's el perímetre fistonejat de la protuberància acrosòmica (→), l'elevada vesiculització (V) interna i l'aspecte heterogeni de la matriu amb zones molt electrodenses (EE) i zones poc electrodenses (BE). SP, segment principal de l'acrosoma; SE, segment equatorial de l'acrosoma; N, nucli. Secciones longitudinales del segmento apical del acrosoma. Obsérvese el perímetro festoneado de la protuberancia acrosòmica (→), la elevada vesiculizació (V) interna y el aspecto heterogéneo de la matriz con zonas muy electrodensas (EE) y zonas poco electrodensas (BE). SP, segmento acrosómico principal; SE, segmento acrosómico ecuatorial; N, núcleo. *Longitudinal sections of the acrosome apical segment. Note the festooned perimeter of the acrosomal protuberance (→), the high inner vesiculation (V) and the matrix heterogeneity with highly electron dense zones (EE) and non-electron dense zones (BE). SP, acrosome principal segment; SE, acrosome equatorial segment; N, nucleus. Figura 1, 3, 40 000x; figura 2, 50 000x.*

FIG. 4. Secció longitudinal del segment apical de l'acrosoma. Observi's l'escàs desenvolupament de la protuberància acrosòmica (PA). N, nucli. Sección longitudinal del segmento apical del acrosoma. Obsérvese el escaso desarrollo de la protuberancia acrosòmica (PA). N, núcleo. *Longitudinal section of the acrosome apical segment. Notice the scarce development of the acrosomal protuberance (PA). N, nucleus. 31 500x.*

FIG. 5. Secció longitudinal del segment apical de l'acrosoma. Observi's la forma de palet de tambor de la protuberància acrosòmica (PT). N, nucli. Sección longitudinal del segmento apical del acrosoma. Obsérvese la forma de palillo de tambor de la protuberancia acrosòmica (PT). N, núcleo. *Longitudinal section of the acrosome apical segment. Notice the drumstick-shape of the acrosomal protuberance (PT). N, nucleus. 40 000x.*

FIG. 6. Secció longitudinal del segment apical de l'acrosoma. Observi's la distribució simètrica de la protuberància acrosòmica (PA) a cada costat del cap. N, nucli. Sección longitudinal del segmento apical del acrosoma. Obsérvese la distribució simètrica de la protuberancia acrosòmica (PA) a los dos lados de la cabeza. N, núcleo. *Longitudinal section of the acrosome apical segment. Notice the symmetrical distribution of the acrosomal protuberance (PA) at both sides of the head. N, nucleus. 63 000x.*

FIG. 7. Secció longitudinal del segment apical de l'acrosoma. Observi's l'escàs desenvolupament de la protuberància acrosòmica (PA) que es disposa, en forma de gota, en l'àpex cefàlic. N, nucli. Sección longitudinal del segmento apical del acrosoma. Obsérvese el escaso desarrollo de la protuberancia acrosòmica (PA) que se dispone, en forma de gota, en el ápice cefàlico. N, núcleo. *Longitudinal section of the acrosome apical segment. Notice the scarce development of the drop-shaped acrosomal protuberance (PA) which disposes in the cephalic apex. N, nucleus. 25 000x.*



LÀMINA 60 / LÁMINA 60 / PLATE 60

Microscòpia electrònica de transmissió. Malformacions dels segments principal i equatorial de l'acrosoma.
 Microscopía electrónica de transmisión. Malformaciones de los segmentos principal y ecuatorial del acrosoma.
Transmission electron microscopy. Malformations of the acrosome principal and equatorial segments.

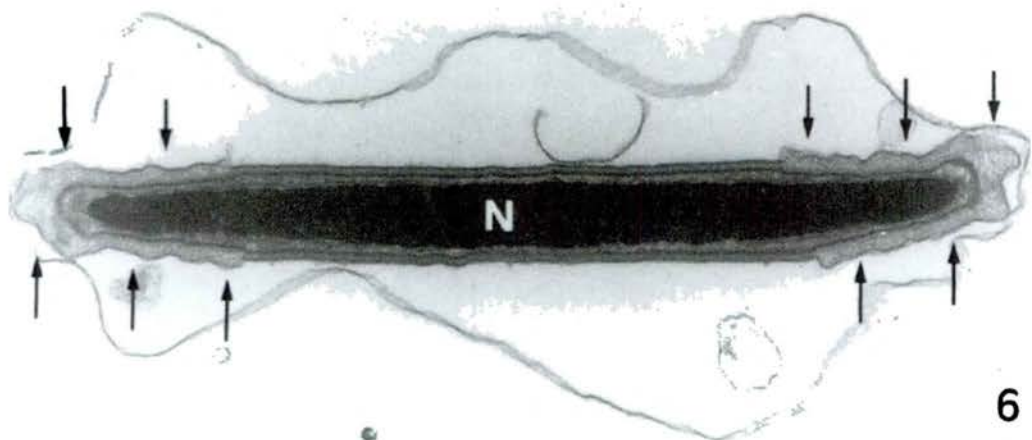
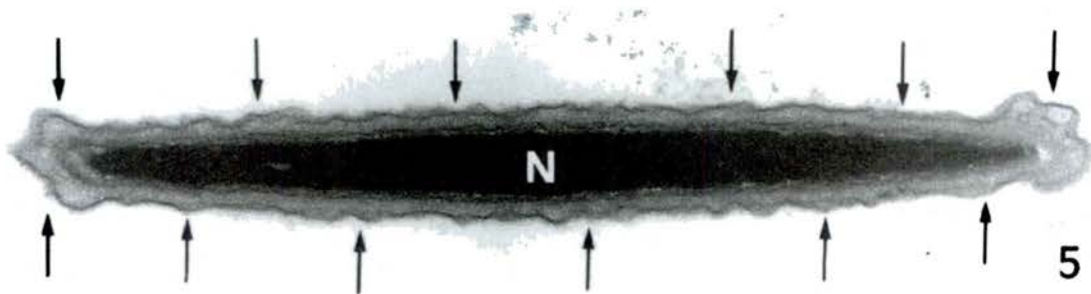
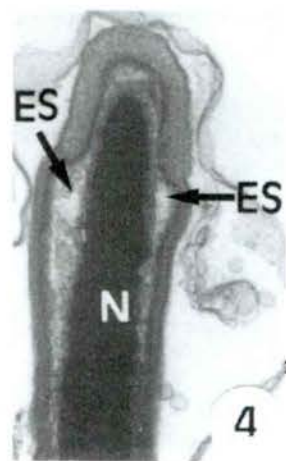
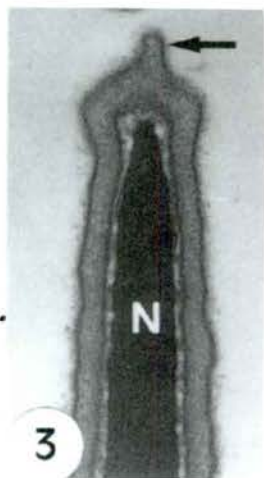
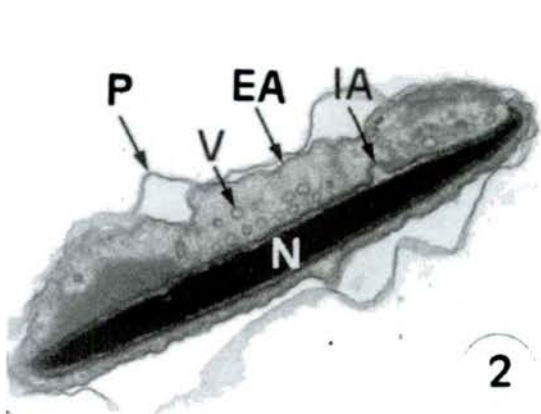
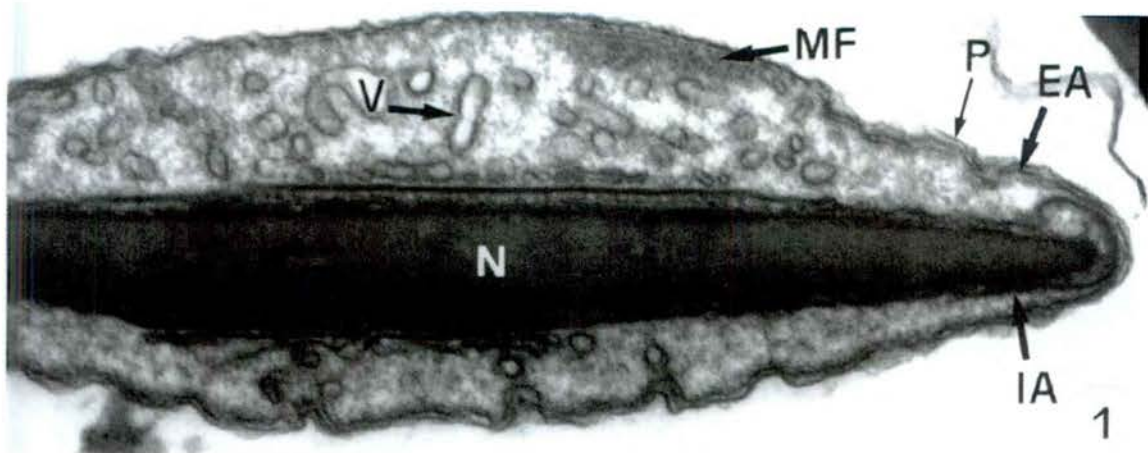
FIG. 1, 2. Seccions transversals del segment principal de l'acrosoma. Observi's l'elevada dilatació de la vesícula acrosòmica i l'escassa electrodensitat de la matriu. En la matriu acrosòmica abunden les vesícules (V) i les masses de material fibrós electrodenso (MF). EA, membrana acrosòmica externa; IA, membrana acrosòmica interna; P, plasmalemma; N, nucli. Secciones transversales del segmento principal del acrosoma. Obsérvese la elevada dilatación de la vesícula acrosòmica y la escasa electrodensidad de la matriz. En la matriz acrosòmica abundan las vesículas (V) y las masas de material fibroso electrodenso (MF). EA, membrana acrosòmica externa; IA, membrana acrosòmica interna; P, plasmalemma; N, núcleo. *Cross sections of the acrosome principal segment. Notice the highly expanded acrosomal vesicle and the low matrix electron density. The acrosomal matrix is rich in vesicles (V) and electron dense fibrous material structures (MF). EA, outer acrosomal membrane; IA, inner acrosomal membrane; P, plasmalemma; N, nucleus. Figura 1, 45 000x; figura 2, 20 000x.*

FIG. 3. Secció transversal del segment principal de l'acrosoma. Observi's la dilatació digitiforme a l'extrem lateral del cap (→). N, nucli. Sección transversal del segmento principal del acrosoma. Obsérvese la dilatación digitiforme en el extremo lateral de la cabeza (→). N, núcleo. *Cross section of the acrosome principal segment. Notice the digitiform expansion at the end side of the head (→). N, nucleus. 30 000x.*

FIG. 4. Secció transversal del segment equatorial de l'acrosoma. Observi's l'elevat desenvolupament de l'espai subacrosòmic (ES). N, nucli. Sección transversal del segmento ecuatorial del acrosoma. Obsérvese el elevado desarrollo del espacio subacrosòmic (ES). N, núcleo. *Cross section of the acrosome equatorial segment. Note the high development of the subacrosomal space (ES). N, nucleus. 30 000x.*

FIG. 5. Secció transversal del segment principal de l'acrosoma. Observi's la superfície fistonejada de la vesícula acrosòmica (→). N, nucli. Sección transversal del segmento principal del acrosoma. Obsérvese la superficie festoneada de la vesícula acrosòmica (→). N, núcleo. *Cross section of the acrosome principal segment. Note the festooned surface of the acrosomal vesicle (→). N, nucleus. 25 000x.*

FIG. 6. Secció transversal del segment equatorial de l'acrosoma. Observi's la superfície fistonejada de la vesícula acrosòmica en els extrems laterals del cap (→). N, nucli. Sección transversal del segmento ecuatorial del acrosoma. Obsérvese la superficie festoneada de la vesícula acrosòmica en los extremos laterales de la cabeza (→). N, núcleo. *Cross section of the acrosome equatorial segment. Notice the festooned surface of the acrosomal vesicle at the end sides of the head (→). N, nucleus. 25 000x.*



LÀMINA 61 / LÁMINA 61 / PLATE 61

Microscòpia electrònica de transmissió. Figures de mielina a la regió cefàlica postacrosòmica.

Microscopía electrónica de transmisión. Figuras de mielina en la región cefálica postacrosómica.

Transmission electron microscopy. Myelin figures within the postacrosomal cephalic region.

FIG. 1. Secció transversal de la regió cefàlica postacrosòmica. Observi's l'escàs desenvolupament d'algunes figures de mielina (FM) disposades a la zona medial d'una de les cares del cap. Sección transversal de la región cefálica postacrosómica. Obsérvese el escaso desarrollo de algunas figuras de mielina (FM) dispuestas en la zona medial de una de las caras de la cabeza. *Cross section through the postacrosomal cephalic region. Notice the scarce development of several myelin figures (FM) disposed in the mid-region of one of the head's faces.* 30 000x.

FIG. 2. Secció transversal de la regió cefàlica postacrosòmica. Observi's la presència d'algunes figures de mielina (FM) disposades a la zona marginal d'una de les cares del cap. La superfície del cap descriu un relleu protuberant sobre la zona ocupada per les figures de mielina (→); requadre ampliat en la figura 9. Sección transversal de la región cefálica postacrosómica. Obsérvese la presencia de algunas figuras de mielina (FM) dispuestas en la zona marginal de una de las caras de la cabeza. La superficie de la cabeza describe un relieve protuberante sobre la zona ocupada por las figuras de mielina (→); recuadro ampliado en la figura 9. *Cross section through the postacrosomal cephalic region. Notice the presence of several myelin figures (FM) disposed in the marginal region of one of the head's faces. The head surface shows a protuberant contour over the region occupied by the myelin figures (→); framed area enlarged in figure 9.* 45 000x.

FIG. 3. Secció transversal de la regió cefàlica postacrosòmica. Observi's la disposició a cada costat del cap de les figures de mielina (FM), en l'espai citoplasmàtic situat entre la làmina densa postacrosòmica (LD) i el material fibrós perinuclear (MF). N, nucli. Sección transversal de la región cefálica postacrosómica. Obsérvese la disposición a cada lado de la cabeza de las figuras de mielina (FM), en el espacio citoplasmático situado entre la lámina densa postacrosómica (LD) y el material fibroso perinuclear (MF). N, núcleo. *Cross section through the postacrosomal cephalic region. Notice the disposition of the myelin figures (FM) at both sides of the head, in the cytoplasmic space placed between the postacrosomal dense lamina (LD) and the perinuclear fibrous material (MF). N, nucleus.* 60 000x.

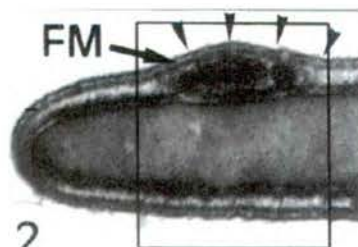
FIG. 4. Secció transversal de la regió cefàlica postacrosòmica. Observi's la presència de figures de mielina (FM) disposades a la zona medial d'una de les cares del cap. La superfície del cap descriu un relleu protuberant sobre la zona ocupada per les figures de mielina (→). Sección transversal de la región cefálica postacrosómica. Obsérvese la presencia de figuras de mielina (FM) dispuestas en la zona medial de una de las caras de la cabeza. La superficie de la cabeza describe un relieve protuberante sobre la zona ocupada por las figuras de mielina (→). *Cross section through the postacrosomal cephalic region. Notice the presence of myelin figures (FM) disposed in the mid-region of one of the head's faces. The head surface shows a protuberant contour over the region occupied by the myelin figures (→).* 47 000x.

FIG. 5, 6, 7. Seccions longitudinals de la regió postacrosòmica anterior (RP). Observi's que les figures de mielina (FM) es disposen únicament a la zona de la regió postacrosòmica més propera a la regió acrosòmica (RA). Secciones longitudinales de la región postacrosómica anterior (RP). Obsérvese que las figuras de mielina (FM) se disponen únicamente en la zona de la región postacrosómica más próxima a la región acrosómica (RA). *Longitudinal sections through the anterior postacrosomal region (RP). Notice that the myelin figures (FM) only dispose in the zone of the postacrosomal region closer to the acrosomal region (RA).* Figura 5, 7, 46 000x; figura 6, 70 000x.

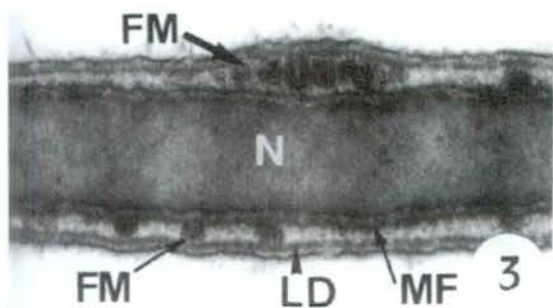
FIG. 8, 9. Seccions transversals de la regió postacrosòmica on es poden apreciar dos models de disposició de les figures de mielina (FM). En la figura 8, la disposició és lineal i no provoca un gran relleu extern; en la figura 9, la disposició és més densa i provoca un notable relleu extern (→). Secciones transversales de la región postacrosómica en que pueden apreciarse dos modelos de disposición de las figuras de mielina (FM). En la figura 8, la disposición es lineal y no provoca un gran relieve externo; en la figura 9, la disposición es más densa y provoca un notable relieve externo (→). *Cross sections through the postacrosomal region where two types of the myelin figures (FM) disposition can be seen (→). Figure 8 shows a linear disposition which does not provoke a protuberant contour; figure 9 shows a more dense disposition which provokes a remarkable protuberant contour.* 80 000x.



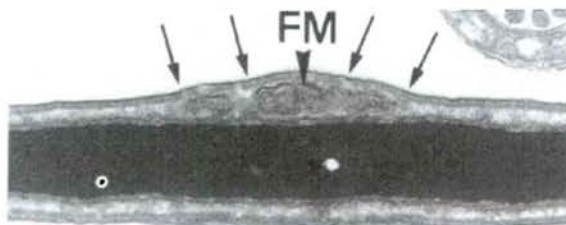
1



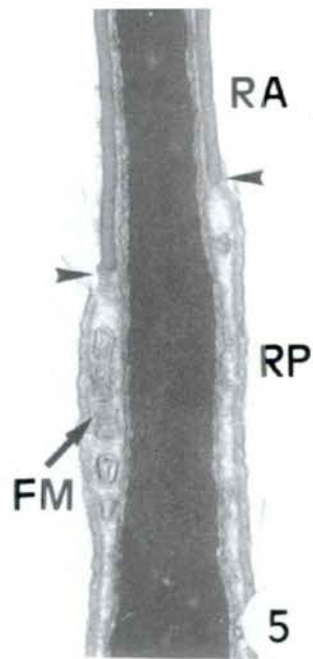
2



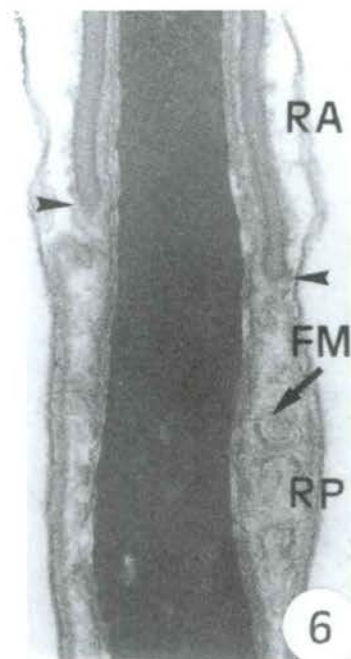
3



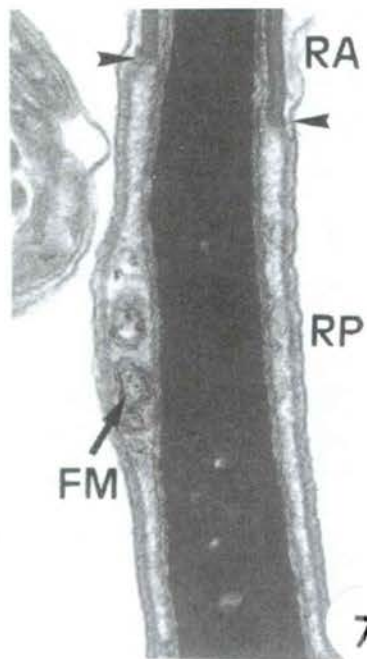
4



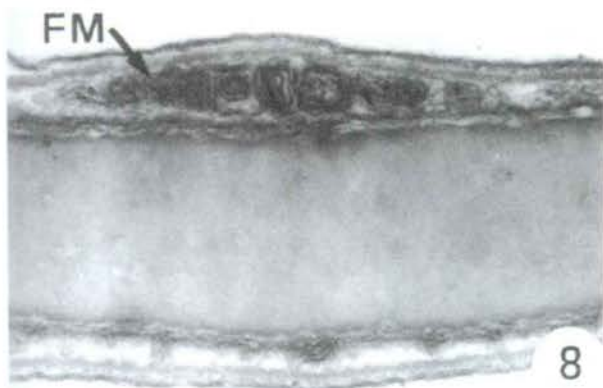
5



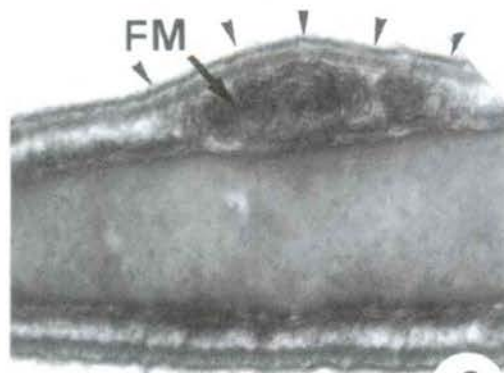
6



7



8



9

LÀMINA 62 / LÁMINA 62 / PLATE 62

Microscòpia electrònica de transmissió. Malformacions nuclears.

Microscopía electrónica de transmisión. Malformaciones nucleares.

Transmission electron microscopy. Nuclear malformations.

FIG. 1. Secció longitudinal del cap d'un espermatozoide on s'observa la invaginació de l'embolcall nuclear formant un fals vacúol nuclear (I). Observi's que aquesta invaginació té lloc a la zona anterior de la regió postacrosòmica. Sección longitudinal de la cabeza de un espermatozoide donde se observa la invaginación de la membrana nuclear formando una falsa vacuola nuclear (I). Obsérvese que esta invaginación tiene lugar en la zona anterior de la región postacrosómica. *Longitudinal section of a spermatozoon's head showing a membrane-bound nuclear invagination, giving rise to a false nuclear vacuole (I) (or nuclear pouche). Note that this invagination is found in the anterior portion of the postacrosomal region.* 32000x.

FIG. 2. Secció longitudinal del cap d'un espermatozoide on s'observa un fals vacúol nuclear. Observi's el replegament de l'embolcall nuclear dins la invaginació (I). RP, regió postacrosòmica; RA, regió acrosòmica; N, nucli. Sección longitudinal de la cabeza de un espermatozoide donde se observa una falsa vacuola nuclear. Obsérvese el replegamiento de la membrana nuclear dentro de la invaginación (I). RP, región postacrosómica; RA, región acrosómica; N, núcleo. *Longitudinal section of a spermatozoon's head showing a false nuclear vacuole. Note the refolding of the nuclear envelope within the invagination (I).* RP, postacrosomal region; RA, acrosomal region; N, nucleus. 37000x.

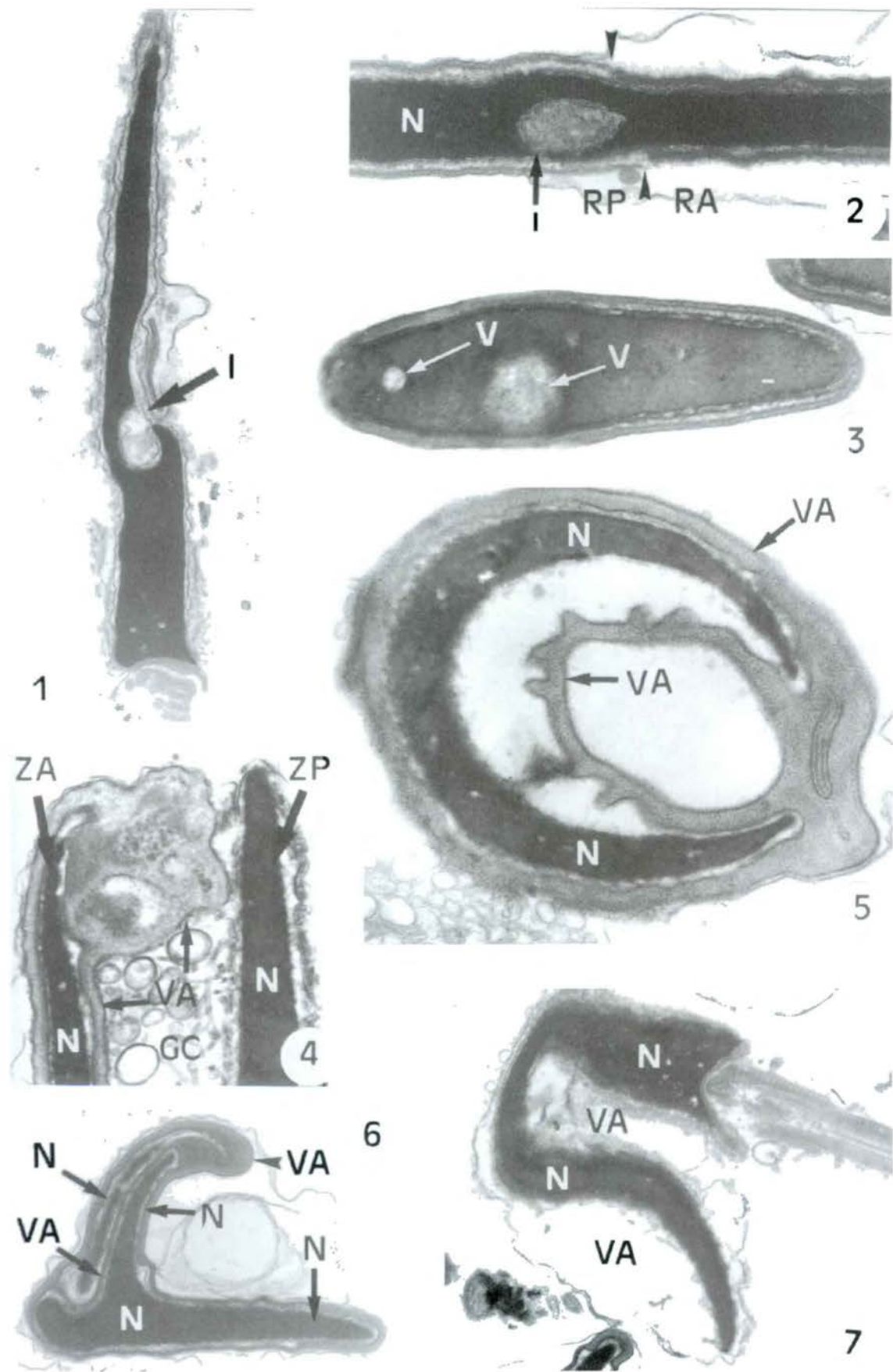
FIG. 3. Secció transversal de la regió postacrosòmica basal. Observi's l'aspecte dels veritables vacúols nuclears (V) no delimitats per membrana, que són zones del nucli poc electrodenses a causa de la poca compactació de la cromatina. Sección transversal de la región postacrosómica basal. Obsérvese el aspecto de las verdaderas vacuolas nucleares (V) no delimitadas por membrana, que son zonas del núcleo poco electrodensas debido a la poca compactación de la cromatina. *Cross-section of the basal postacrosomal region. Note the appearance of real non-membrane-bound nuclear vacuoles (V), thus being nuclear zones with low electron density due to the loosely compacted chromatin.* 45000x.

FIG. 4. Secció longitudinal del cap d'un espermatozoide amb el nucli doblegat (N). ZA, zona anterior del nucli coberta per una vesícula acrosòmica anormal (VA); ZP, zona posterior del nucli no coberta per la vesícula acrosòmica; GC, gota citoplasmàtica que aglutina el doblegament del nucli. Sección longitudinal de la cabeza de un espermatozoide con el núcleo doblado (N). ZA, zona anterior del núcleo cubierta por una vesícula acrosómica anormal (VA); ZP, zona posterior del núcleo no cubierta por la vesícula acrosómica; GC, gota citoplasmática que aglutina el doblamiento del núcleo. *Longitudinal section of a spermatozoon's head showing a folded nucleus (N). ZA, nucleus anterior zone covered by an abnormal acrosomal vesicle (VA); ZP, nucleus posterior zone without an acrosomal vesicle; GC, cytoplasmic droplet agglutinating the nucleus folding.* 25000x.

FIG. 5. Secció transversal del cap d'un espermatozoide amb doblegament circular del nucli (N). Observi's l'aspecte i la distribució de la vesícula acrosòmica (VA). Sección transversal de la cabeza de un espermatozoide con doblamiento circular del núcleo (N). Obsérvese el aspecto y la distribución de la vesícula acrosómica (VA). *Cross-section of a spermatozoon's rolled head. Note the curvature of the nucleus (N) and the appearance and placement of the acrosomal vesicle (VA).* 45000x.

FIG. 6. Secció transversal del cap d'un espermatozoide amb el nucli (N) en forma de V. Observi's l'aspecte i la distribució de la vesícula acrosòmica (VA). Sección transversal de la cabeza de un espermatozoide con el núcleo (N) en forma de V. Obsérvese el aspecto y la distribución de la vesícula acrosómica (VA). *Cross-section of a spermatozoon with V-shaped nucleus (N) (or crested nucleus). Note the appearance and placement of the acrosomal vesicle (VA).* 20000x.

FIG. 7. Secció longitudinal del cap d'un espermatozoide amb el nucli doblegat (N). Observi's l'aspecte deteriorat de la vesícula acrosòmica (VA). Sección longitudinal de la cabeza de un espermatozoide con el núcleo doblado (N). Obsérvese el aspecto deteriorado de la vesícula acrosómica (VA). *Longitudinal section of a spermatozoon with folded nucleus (N). Note the impaired appearance of the acrosomal vesicle (VA).* 24000x.



LÀMINA 63 / LÁMINA 63 / PLATE 63

Microscòpia electrònica de transmissió. Malformacions de la cua.

Microscopía electrónica de transmisión. Malformaciones de la cola.

Transmission electron microscopy. Tail malformations.

FIG. 1. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia. Observi's l'elevat desenvolupament del citoplasma perifèric (PC) disposat entre el plasmalemma (P) i la beina mitocondrial (BM). Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia. Obsérvese el elevado desarrollo del citoplasma periférico (PC) dispuesto entre el plasmalema (P) y la vaina mitocondrial (BM). *Cross-section of the anterior region of the midpiece. Note the highly developed peripheral cytoplasm (PC), located between the plasmalemma (P) and the mitochondrial sheath (BM).* 45 000x.

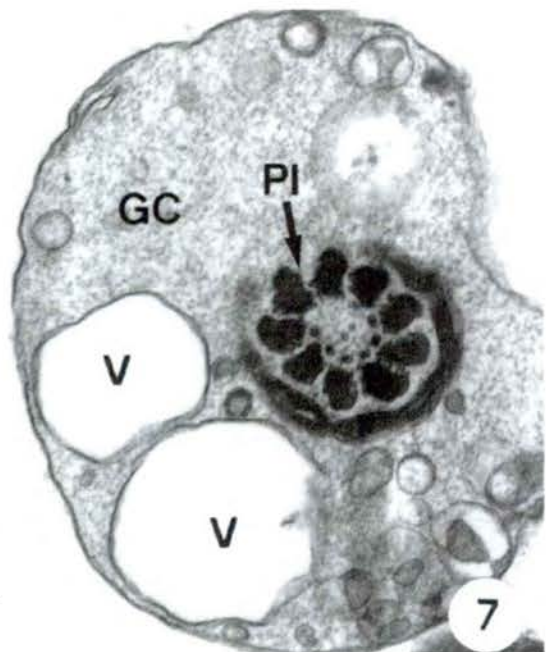
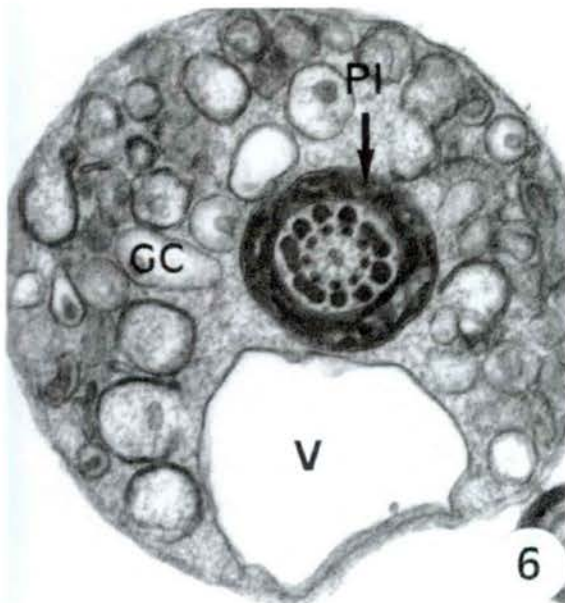
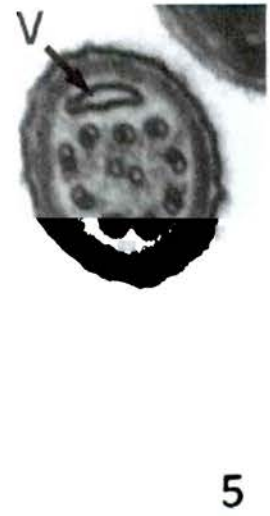
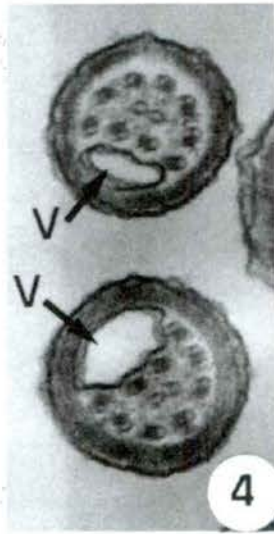
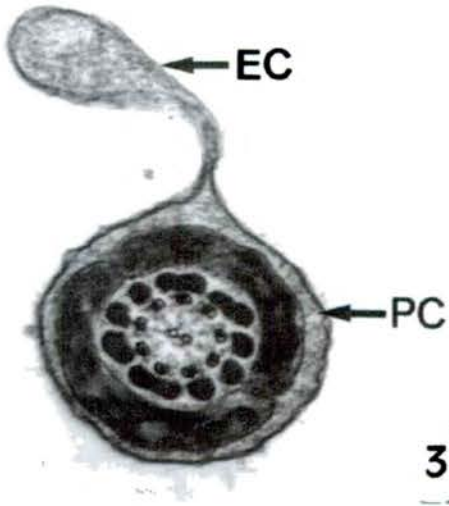
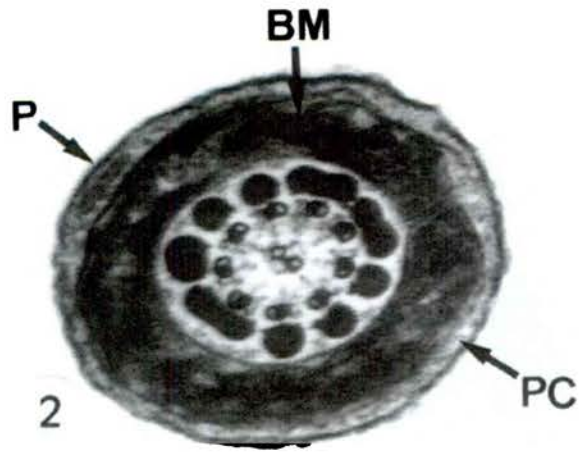
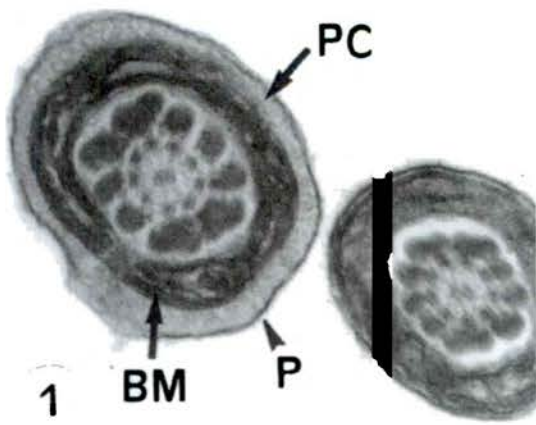
FIG. 2. Secció transversal de la regió posterior de la peça intermèdia. Observi's l'elevat desenvolupament del citoplasma perifèric (PC) disposat entre el plasmalemma (P) i la beina mitocondrial (BM). Sección transversal de la región posterior de la pieza intermedia. Obsérvese el elevado desarrollo del citoplasma periférico (PC) dispuesto entre el plasmalema (P) y la vaina mitocondrial (BM). *Cross-section of the posterior region of the midpiece. Note the highly developed peripheral cytoplasm (PC), located between the plasmalemma (P) and the mitochondrial sheath (BM).* 80 000x.

FIG. 3. Secció transversal de la regió posterior de la peça intermèdia. Observi's l'elevat desenvolupament del citoplasma perifèric (PC) i la formació d'una gran evaginació citoplasmàtica digitiforme (EC). Sección transversal de la región posterior de la pieza intermedia. Obsérvese el elevado desarrollo del citoplasma periférico (PC) y la formación de una gran evaginación citoplasmática digitiforme (EC). *Cross-section of the posterior region of the midpiece. Note the highly developed peripheral cytoplasm (PC) and the formation of a great digitiform cytoplasmic evagination (EC).* 45 000x.

FIG. 4, 5. Seccions transversals de la porció medioposterior de la peça principal. Observi's la presència de vacúols citoplasmàtics (V) que provoquen una deformació axonemàtica que afecta els doblets de microtúbuls perifèrics 4, 5 o 6. Secciones transversales de la porción medio-posterior de la pieza principal. Obsérvese la presencia de vacuolas citoplasmáticas (V) que provocan una deformación axonemática que afecta a los dobletes de microtubulos periféricos 4, 5 ó 6. *Cross-sections of the mid-posterior part of the principal piece. Note the presence of cytoplasmic vacuoles (V) which provoke an axonemal deformation affecting the peripheral microtubule doublets 4, 5 or 6. Figura 4, 61000x; figura 5, 70000x.*

FIG. 6. Secció transversal de la regió distal de la peça intermèdia (PI) d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (GC). Observi's la presència d'un gran vacúol (V) dins la gota citoplasmàtica. Sección transversal de la región distal de la pieza intermedia (PI) de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática distal (GC). Obsérvese la presencia de una gran vacuola (V) dentro de la gota citoplasmática. *Cross-section of the distal region of the midpiece (PI) of an immature spermatozoon with a distal cytoplasmic droplet (GC). Note the presence of a voluminous vacuole (V) within the cytoplasmic droplet.* 30 000x.

FIG. 7. Secció transversal de la regió inicial de la peça intermèdia (PI) d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (GC). Observi's la presència de grans vacúols (V) dins la gota citoplasmàtica. Sección transversal de la región inicial de la pieza intermedia (PI) de un espermatozoide inmaduro con gota citoplasmática proximal (GC). Obsérvese la presencia de grandes vacuolas (V) dentro de la gota citoplasmática. *Cross-section of the top region of the midpiece (PI) of an immature spermatozoon with a proximal cytoplasmic droplet (GC). Note the presence of voluminous vacuoles (V) within the cytoplasmic droplet.* 30 000x.



LÀMINA 64 / LÁMINA 64 / PLATE 64

Microscòpia electrònica de transmissió. Malformacions de la cua.

Microscopía electrónica de transmisión. Malformaciones de la cola.

Transmission electron microscopy. Tail malformations.

FIG. 1. Secció transversal de la peça de connexió on s'observa la presència d'un gran vacúol (V) disposat per sota del plasmalemma (P). Sección transversal de la pieza de conexión donde se observa la presencia de una gran vacuola (V) dispuesta bajo el plasmalemma (P). *Cross-section of the connecting piece showing the presence of a voluminous vacuole (V) located below the plasmalemma (P).* 60000x.

FIG. 2. Secció transversal de la regió medial de la peça intermèdia. Observi's la presència d'un gran vacúol (V) disposat enfront del doblet de microtúbuls perifèrics número 7 i que provoca una notable deformació de la beina mitocondrial (BM). Sección transversal de la región medial de la pieza intermedia. Obsérvese la presencia de una gran vacuola (V) dispuesta en frente del doblete de microtúbulos periféricos número 7 y que provoca una notable deformación de la vaina mitocondrial (BM). *Cross-section of the mid-region of the midpiece. Note the presence of a voluminous vacuole (V) located in front of the peripheral microtubule doublet number 7, which provokes a noticeable deformation on the mitochondrial sheath (BM).* 75000x.

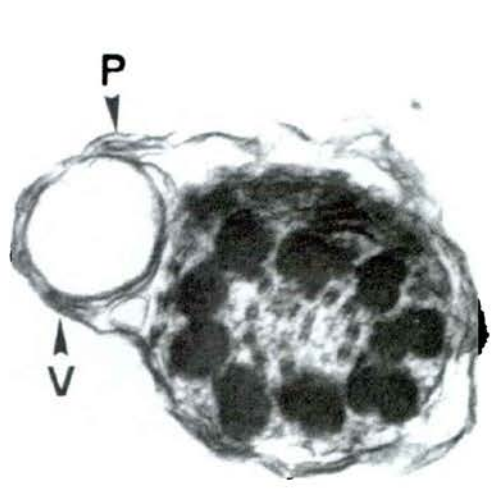
FIG. 3. Secció transversal de la regió anterior de la peça principal. Observi's la presència d'un gran vacúol (V). La beina fibrosa (BF) provoca una lleugera deformació del perímetre circular del vacúol. Sección transversal de la región anterior de la pieza principal. Obsérvese la presencia de una gran vacuola (V). La vaina fibrosa (BF) provoca una ligera deformación del perímetro circular de la vacuola. *Cross-section of the anterior region of the principal piece. Note the presence of a voluminous vacuole (V). The fibrous sheath (BF) provokes a slight deformation of the circular perimeter of the vacuole.* 90000x.

FIG. 4. Secció transversal de la regió anterior de la peça principal. Observi's el procés d'expulsió del vacúol (V) que únicament manté el contacte amb la peça principal mitjançant un delicat pont citoplasmàtic (PC). Sección transversal de la región anterior de la pieza principal. Obsérvese el proceso de expulsión de la vacuola (V) que únicamente mantiene contacto con la pieza principal por medio de un delicado puente citoplasmático (PC). *Cross-section of the anterior region of the principal piece. Note the process of the shedding of the vacuole (V), which only maintains contact with the principal piece by a slender thread of cytoplasm (PC).* 47000x.

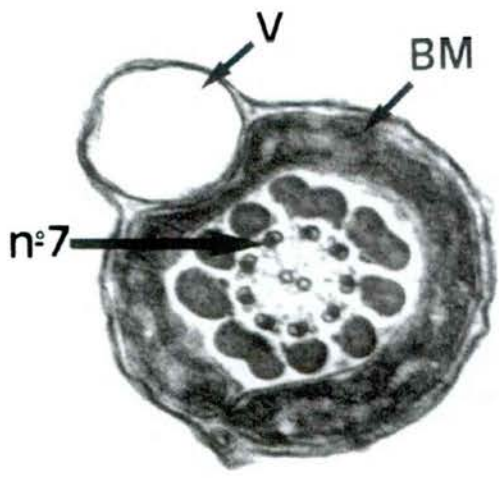
FIG. 5. Secció transversal de la regió anterior de la peça principal. Observi's la pèrdua de contacte entre el vacúol (V) i la peça principal (PP). Sección transversal de la región anterior de la pieza principal. Obsérvese la pérdida de contacto entre la vacuola (V) y la pieza principal (PP). *Cross-section of the anterior region of the principal piece. Note the loss of contact between the vacuole (V) and the principal piece (PP).* 75000x.

FIG. 6. Secció longitudinal de la peça de connexió. Observi's la formació d'un vacúol a partir del doblegament d'una evaginació citoplasmàtica digitiforme sobre si mateixa (EC). Aquesta evaginació citoplasmàtica es produeix en la zona límit entre el cap i la peça de connexió. Sección longitudinal de la pieza de conexión. Obsérvese la formación de una vacuola a partir del doblamiento de una evaginación citoplasmática digitiforme sobre si misma (EC). Esta evaginación citoplasmática se produce en la zona límite entre la cabeza y la pieza de conexión. *Longitudinal section of the connecting piece. Note the formation of a vacuole caused by the folding of a digitiform cytoplasmic evagination over itself (EC). This cytoplasmic evagination is found in the region of the boundary between the head and the connecting piece.* 45000x.

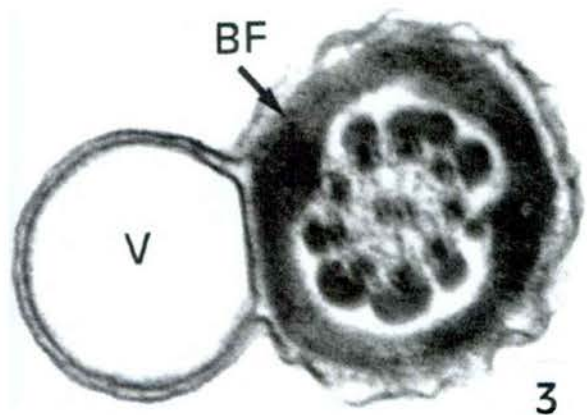
FIG. 7. Secció longitudinal de la zona límit entre el cap i la peça de connexió. Observi's la presència d'una evaginació citoplasmàtica digitiforme molt desenvolupada (EC). Sección longitudinal de la zona límite entre la cabeza y la pieza de conexión. Obsérvese la presencia de una evaginación citoplasmática digitiforme muy desarrollada (EC). *Longitudinal section in the region of the boundary between the head and the connecting piece. Note the presence of a highly developed digitiform cytoplasmic evagination (EC).* 60000x.



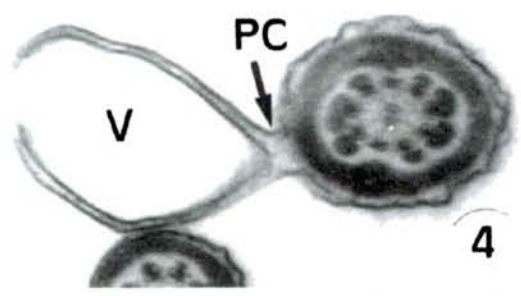
1



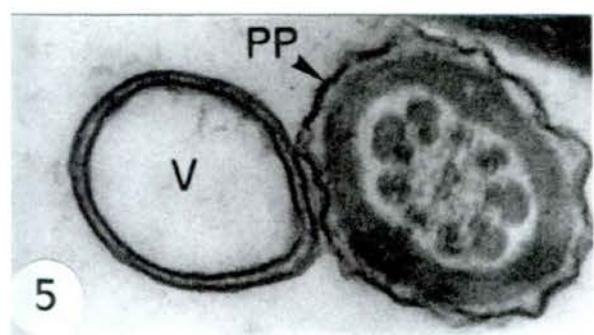
2



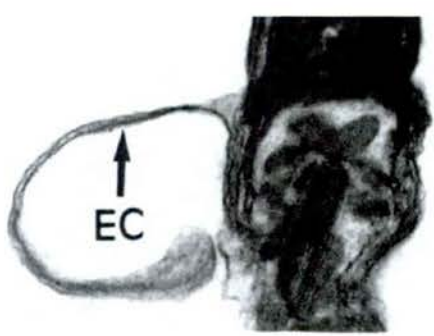
3



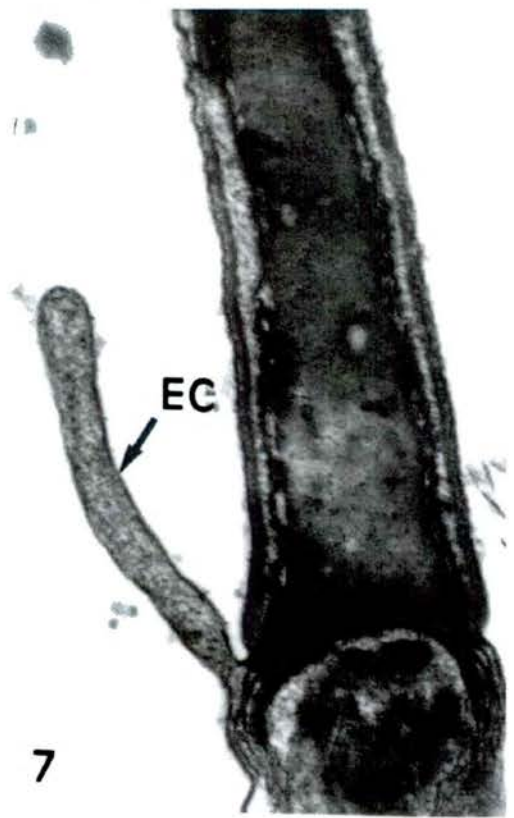
4



5



6



7

LÀMINA 65 / LÁMINA 65 / PLATE 65

Microscòpia electrònica de transmissió. Malformacions de la cua.
 Microscopía electrónica de transmisión. Malformaciones de la cola.
Transmission electron microscopy. Tail malformations.

FIG. 1. Seccions transversals de la regió medioposterior de la peça de principal on s'observa l'absència de la parella de microtúbuls centrals en una de les seccions (→). Secciones transversales de la región medio-posterior de la pieza principal donde se observa la ausencia de la pareja de microtúbulos centrales en una de las secciones (→). *Cross sections through the mid-posterior region of the principal piece showing the absence of the central microtubule pair in one of the sections (→).* 140 000x.

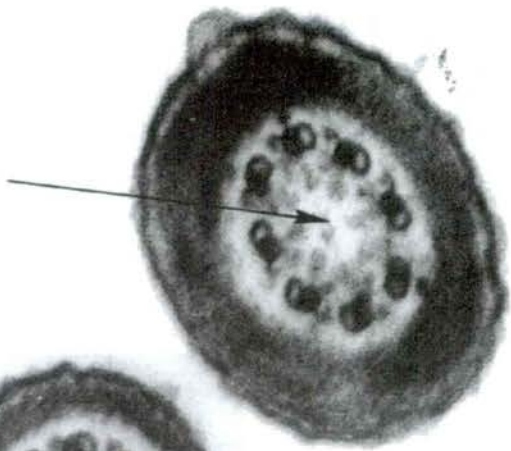
FIG. 2. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia on s'observa l'absència del doblet de microtúbuls perifèrics número 9 (→). Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia donde se observa la ausencia del doblete de microtúbulos periféricos número 9 (→). *Cross-section of the anterior region of the midpiece showing the absence of the peripheral microtubule doublet number 9 (→).* 100 000x.

FIG. 3. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia on s'observa l'absència del doblet de microtúbuls perifèrics número 6 (→). Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia donde se observa la ausencia del doblete de microtúbulos periféricos número 6 (→). *Cross-section of the anterior region of the midpiece showing the absence of the peripheral microtubule doublet number 6 (→).* 100 000x.

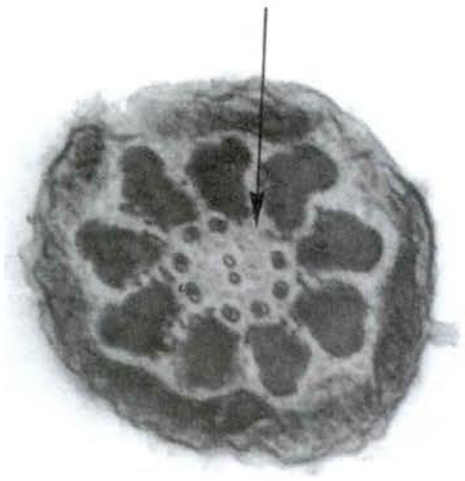
FIG. 4. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia on s'observa l'absència del doblet de microtúbuls perifèrics número 8 (→). Observi's també l'elevada tumefacció de la beina mitocondrial i que la membrana mitocondrial interna (IM) no presenta cap tipus de replegament i es disposa paral·lela a la membrana mitocondrial externa (EM). Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia donde se observa la ausencia del doblete de microtúbulos periféricos número 8 (→). Obsérvese también la elevada tumefacción de la vaina mitocondrial y que la membrana mitocondrial interna (IM) no presenta ningún tipo de repliegue y se dispone paralela a la membrana mitocondrial externa (EM). *Cross-section of the anterior region of the midpiece showing the absence of the peripheral microtubule doublet number 8 (→). Also note the extreme swelling of the mitochondrial sheath, and that the inner mitochondrial membrane (IM) has no type of folding, and is parallel to the outer mitochondrial membrane (EM).* 80 000x.

FIG. 5. Secció transversal de les peces intermèdia (PI) i principal (PP) d'un espermatozoide amb la cua doblegada. Observi's l'absència dels doblets de microtúbuls perifèrics números 5 i 6 (→) en la secció de la peça intermèdia i, l'absència d'estructura axonemàtica en la secció de la peça principal. Sección transversal de las piezas intermedia (PI) y principal (PP) de un espermatozoide con la cola doblada. Obsérvese la ausencia de los dobletes de microtúbulos periféricos números 5 y 6 (→) en la sección de la pieza intermedia y, la ausencia de estructura axonemática en la sección de la pieza principal. *Cross-section of the midpiece (PI) and principal piece (PP) of a spermatozoon with a folded tail. Note the absence of the peripheral microtubule doublets numbers 5 and 6 (→) in the midpiece section and the absence of axonemal structure in the principal piece section.* 50 000x.

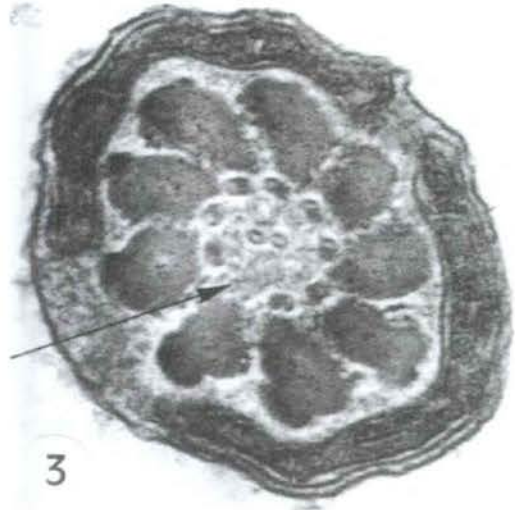
FIG. 6. Secció transversal de la cua d'un espermatozoide amb la cua enrotllada. Observi's la desorganització de l'estructura axonemàtica (DA) de les diverses seccions de la peça principal. Sección transversal de la cola de un espermatozoide con la cola enrollada. Obsérvese la desorganización de la estructura axonemática (DA) de las diversas secciones de la pieza principal. *Cross-section of the tail of a spermatozoon with a coiled tail. Note the disorganisation of the axonemal structure (DA) of the different sections of the principal piece.* 20 000x.



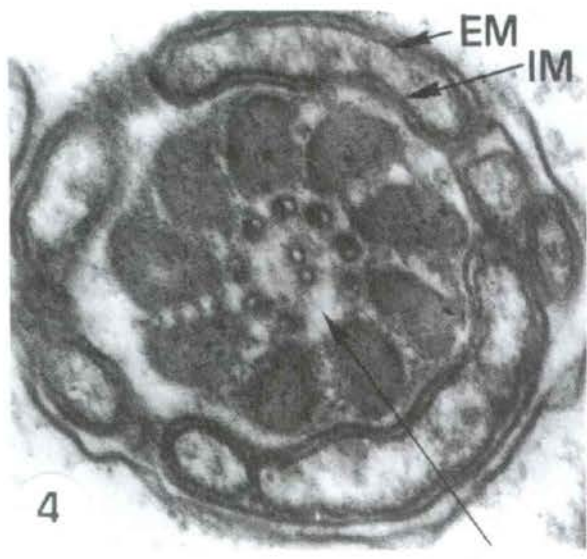
1



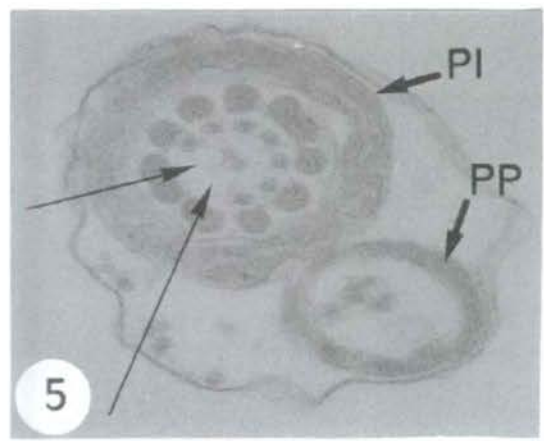
2



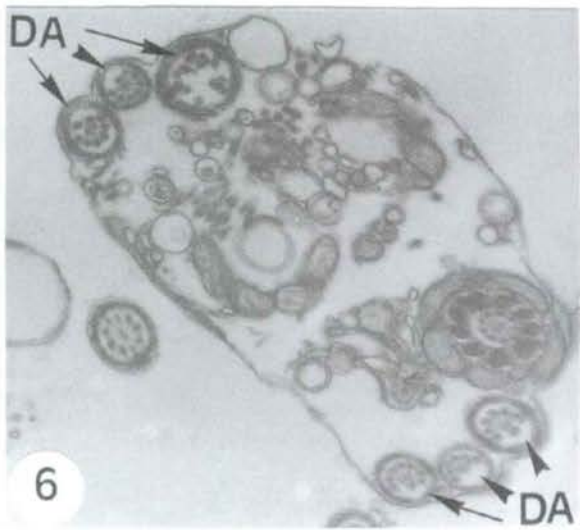
3



4



5



6

LÀMINA 66 / LÁMINA 66 / PLATE 66

Microscòpia electrònica de transmissió. Malformacions de la cua.

Microscopía electrónica de transmisión. Malformaciones de la cola.

Transmission electron microscopy. Tail malformations.

FIG. 1. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia. Observi's la presència d'un petit mitocondri (M) situat entre el plasmalemma (P) i la beina mitocondrial (BM). Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia. Obsérvese la presencia de una pequeña mitocondria (M) situada entre el plasmalema (P) y la vaina mitocondrial (BM). *Cross-section of the anterior region of the midpiece. Note the presence of a small mitochondrion (M) located between the plasmalemma (P) and the mitochondrial sheath (BM).* 75 000x.

FIG. 2. Secció transversal de la regió medial de la peça intermèdia. Observi's la presència d'alguns mitocondris supernumeraris (M) situats entre el plasmalemma (P) i la beina mitocondrial (BM). Sección transversal de la región medial de la pieza intermedia. Obsérvese la presencia de algunas mitocondrias supernumerarias (M) situadas entre el plasmalema (P) y la vaina mitocondrial (BM). *Cross-section of the mid-region of the midpiece. Note the presence of some additional mitochondria (M) located between the plasmalemma (P) and the mitochondrial sheath (BM).* 60 000x.

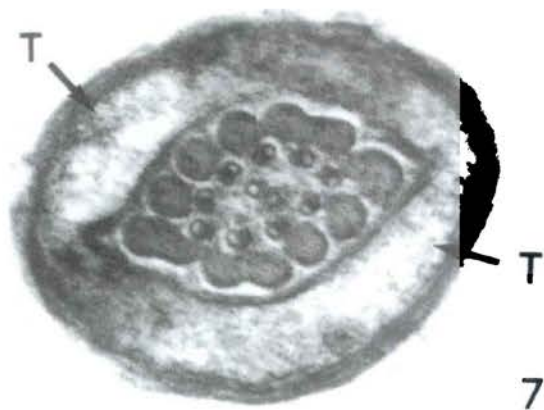
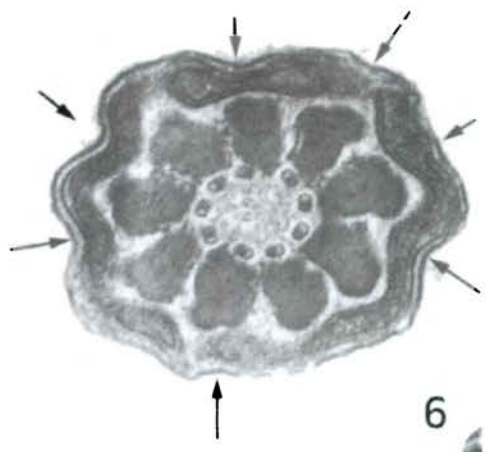
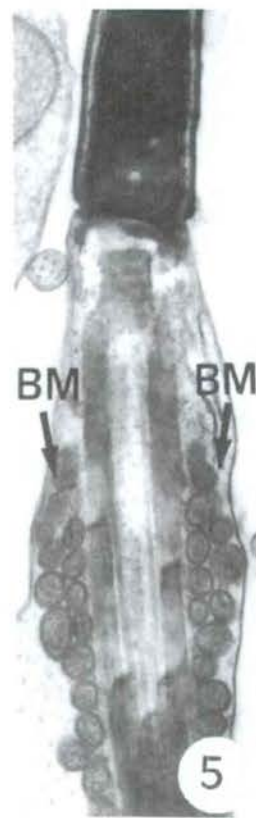
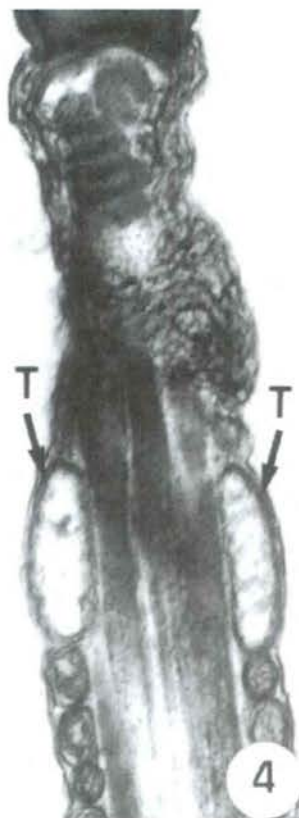
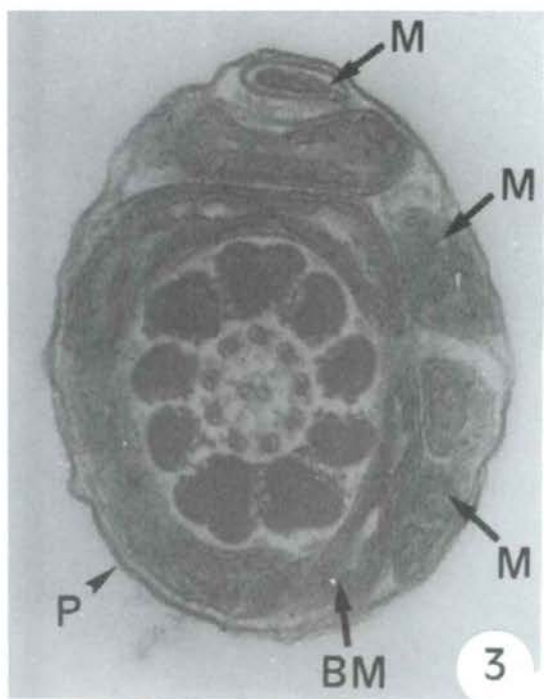
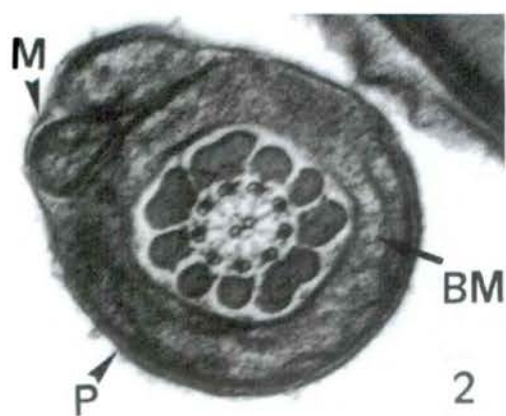
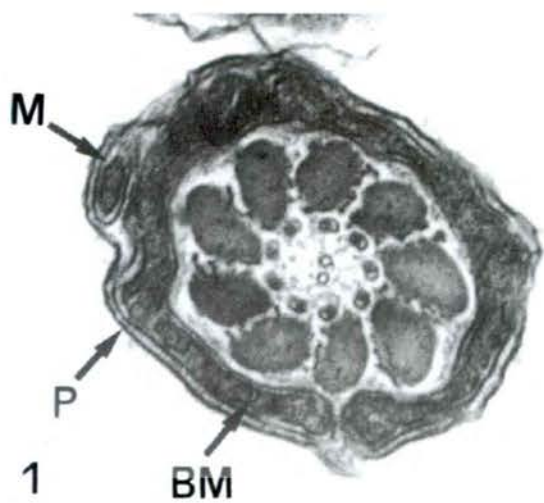
FIG. 3. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia. Observi's la presència de nombrosos mitocondris supernumeraris (M) situats entre el plasmalemma (P) i la beina mitocondrial (BM). Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia. Obsérvese la presencia de numerosas mitocondrias supernumerarias (M) situadas entre el plasmalema (P) y la vaina mitocondrial (BM). *Cross-section of the anterior region of the midpiece. Note the presence of abundant additional mitochondria (M) located between the plasmalemma (P) and the mitochondrial sheath (BM).* 75 000x.

FIG. 4. Secció longitudinal de la peça de connexió i de la regió anterior de la peça intermèdia. Observi's l'elevada tumefacció (T) dels primers mitocondris de la beina mitocondrial. Sección longitudinal de la pieza de conexión y de la región anterior de la pieza intermedia. Obsérvese la elevada tumefacción (T) de las primeras mitocondrias de la vaina mitocondrial. *Longitudinal section of the connecting piece and the anterior region of the midpiece. Note the extreme swelling (T) of the first mitochondria of the mitochondrial sheath.* 45 000x.

FIG. 5. Secció longitudinal de la peça de connexió i de la regió anterior de la peça intermèdia. Observi's la distribució en dues capes de mitocondris que formen la beina mitocondrial (BM). Sección longitudinal de la pieza de conexión y de la región anterior de la pieza intermedia. Obsérvese la distribución en dos capas de mitocondrias que forman la vaina mitocondrial (BM). *Longitudinal section of the connecting piece and the anterior region of the midpiece. Note the arrangement of the double layer of mitochondria forming the mitochondrial sheath (BM).* 40 000x.

FIG. 6. Secció transversal de la regió anterior de la peça intermèdia. Observi's el contorn fistonejat (→) atribuïble al menor gruix i a la major fragilitat dels mitocondris que conformen la beina mitocondrial. Sección transversal de la región anterior de la pieza intermedia. Obsérvese el contorno festoneado (→) atribuible al menor grosor y a la mayor fragilidad de las mitocondrias que forman la vaina mitocondrial. *Cross-section of the anterior region of the midpiece. Note the festooned contour (→) attributable to the lesser thickness and greater fragility of the mitochondria which form the mitochondrial sheath.* 70 000x.

FIG. 7. Secció transversal de la regió posterior de la peça intermèdia. Observi's l'elevada tumefacció (T) de la beina mitocondrial. Sección transversal de la región posterior de la pieza intermedia. Obsérvese la elevada tumefacción (T) de la vaina mitocondrial. *Cross-section of the posterior region of the midpiece. Note the extreme swelling (T) of the mitochondrial sheath.* 90 000x.



LÀMINA 67 / LÁMINA 67 / PLATE 67

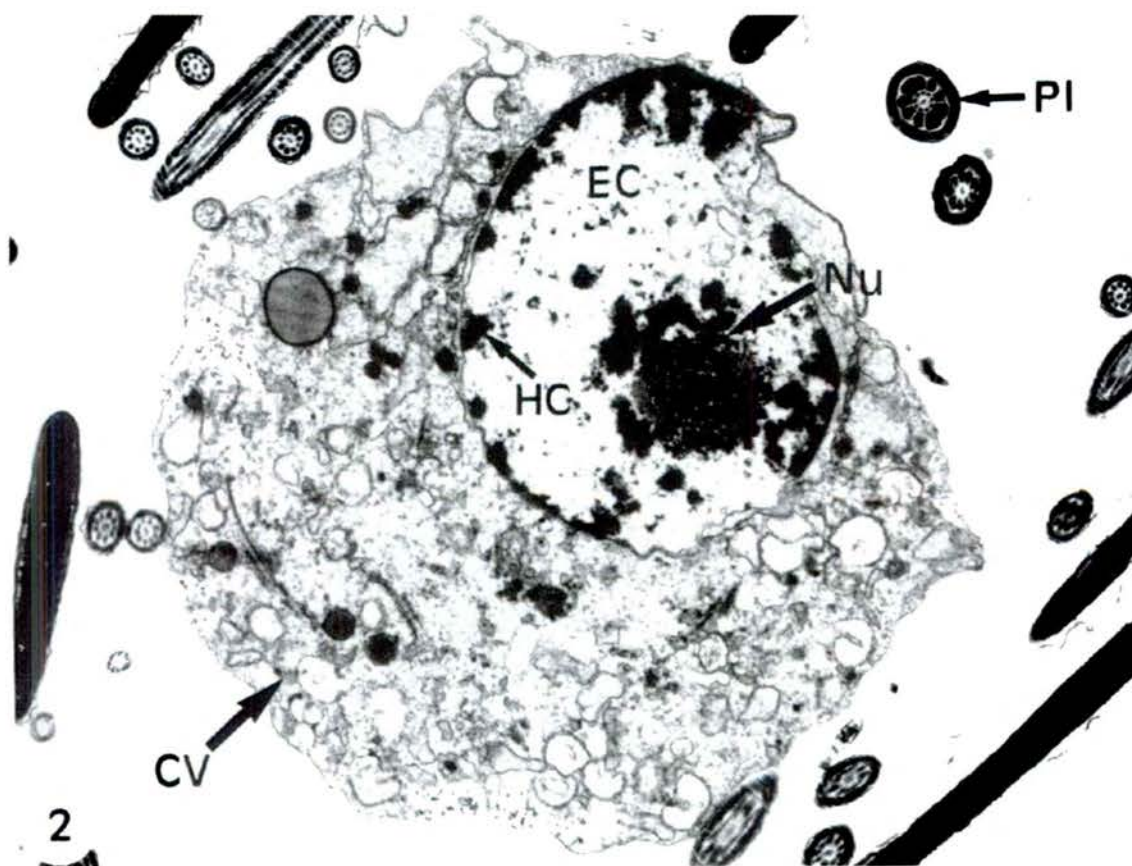
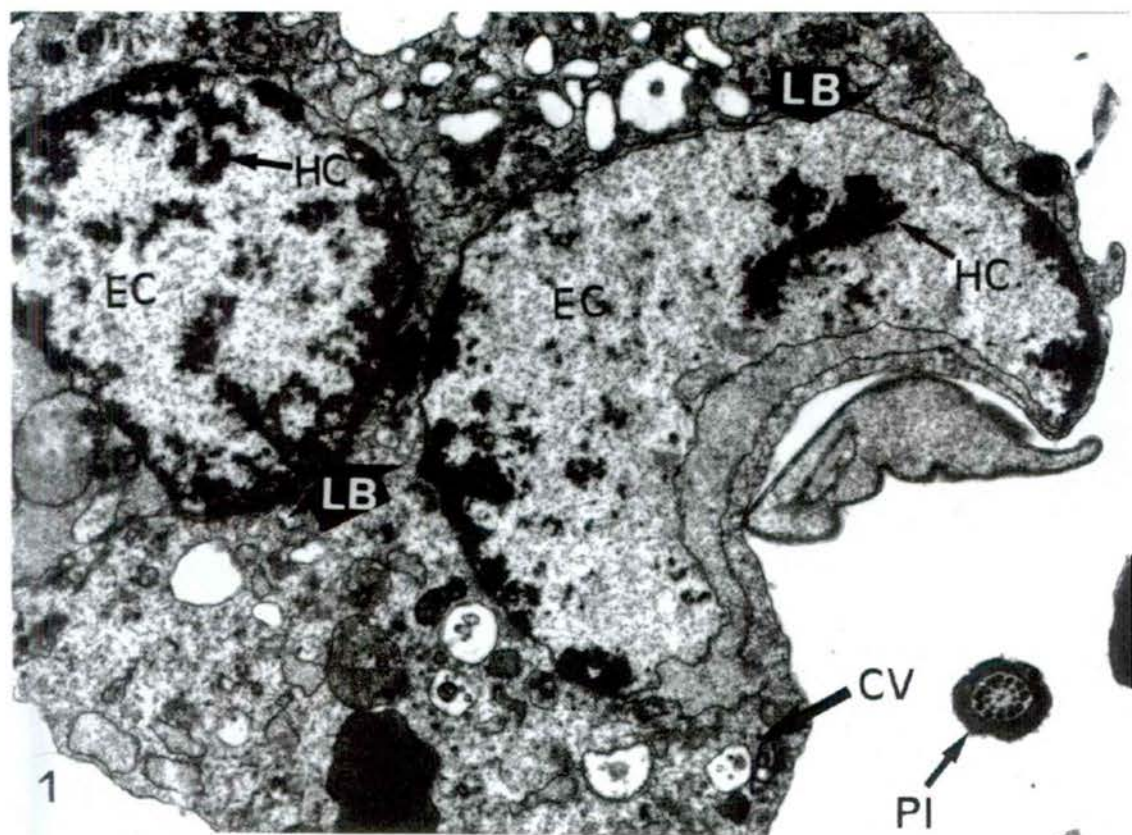
Microscòpia electrònica de transmissió. Cèl·lules somàtiques presents en l'ejaculat.

Microscopía electrónica de transmisión. Células somáticas presentes en el ejaculado.

Transmission electron microscopy. Somatic cells present in the ejaculate.

FIG. 1. Aspecte general d'una cèl·lula somàtica fagocítica. LB, lòbul nuclear; EC, eucromatina; HC, heterocromatina; CV, citoplasma altament vesiculat; PI, secció transversal de la peça intermèdia d'un espermatozoide. Aspecto general de una célula somática fagocítica. LB, lóbulo nuclear; EC, eucromatina; HC, heterocromatina; CV, citoplasma altamente vesiculado; PI, sección transversal de la pieza intermedia de un espermatozoide. *General view of a phagocytic somatic cell. LB, nuclear lobule; EC, euchromatin; HC, heterochromatin; CV, highly vesiculated cytoplasm; PI, cross-section of a spermatozoon's midpiece. 19000x.*

FIG. 2. Aspecte general d'una cèl·lula somàtica fagocítica amb una elevada activitat nuclear. Nu, nuclèol; EC, eucromatina; HC, heterocromatina; CV, citoplasma altament vesiculat; PI, secció transversal de la peça intermèdia d'un espermatozoide. Aspecto general de una célula somática fagocítica con una elevada actividad nuclear. Nu, nucléolo; EC, eucromatina; HC, heterocromatina; CV, citoplasma altamente vesiculado; PI, sección transversal de la pieza intermedia de un espermatozoide. *General view of a phagocytic somatic cell with high nuclear activity. Nu, nucleolus; EC, euchromatin; HC, heterochromatin; CV, highly vesiculated cytoplasm; PI, cross-section of a spermatozoon's midpiece. 12500x.*



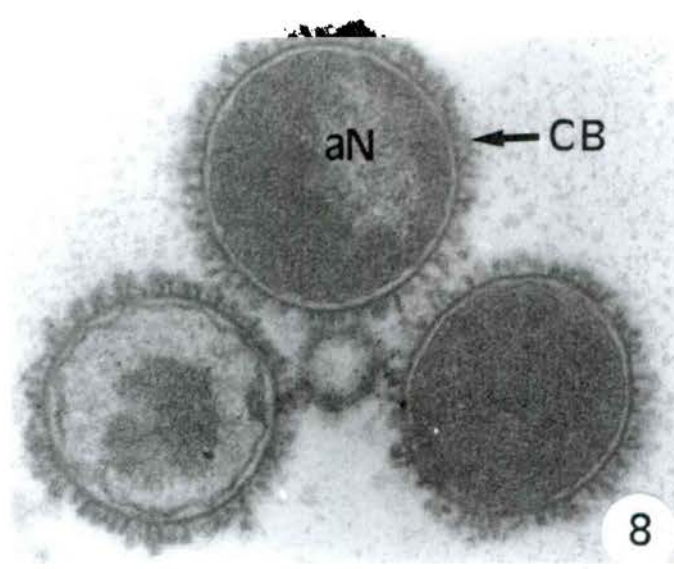
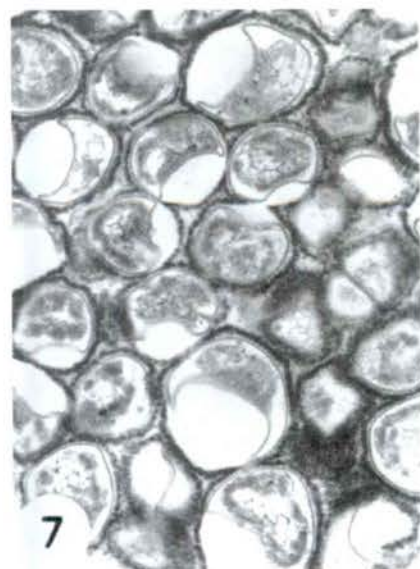
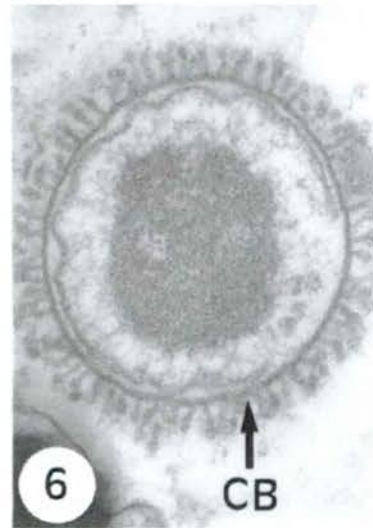
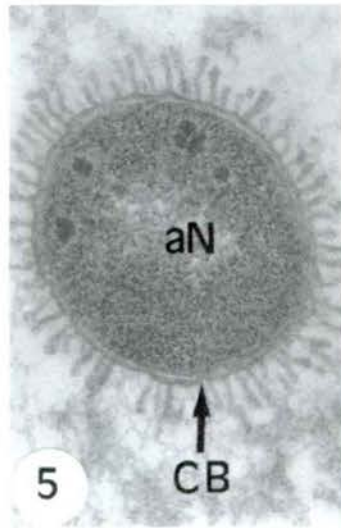
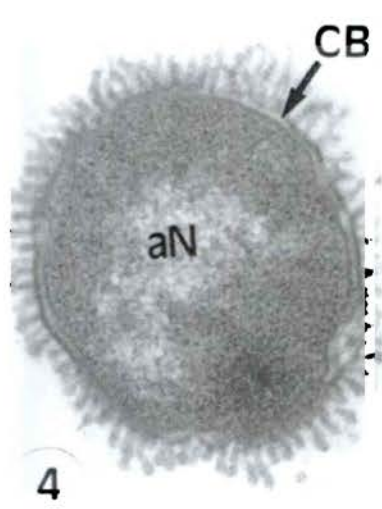
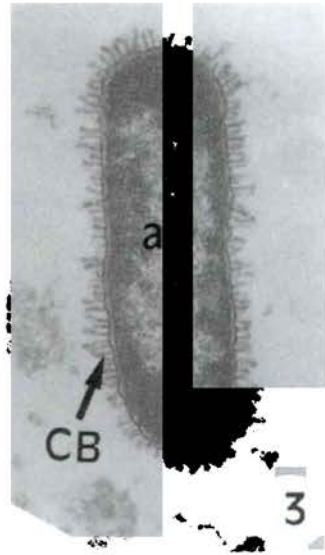
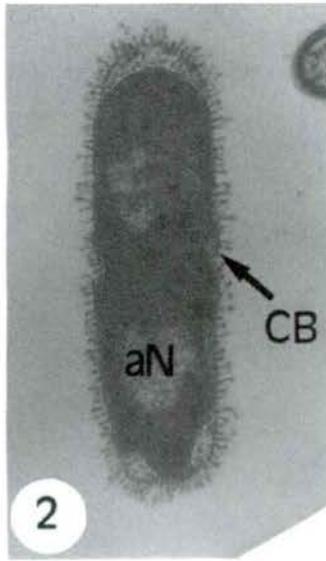
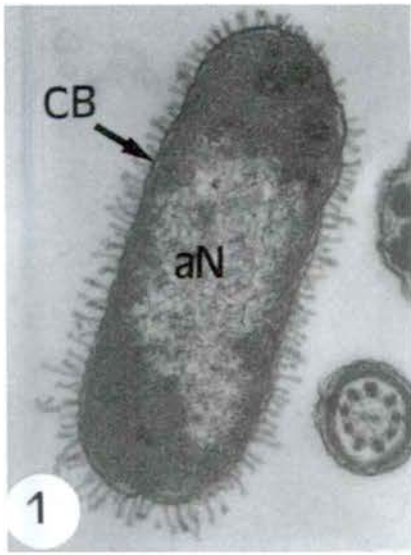
LÀMINA 68 / LÁMINA 68 / PLATE 68

Microscòpia electrònica de transmissió. Bacteris Gram-negatius presents en l'ejaculat.
 Microscopía electrónica de transmisión. Bacterias Gram-negativas presentes en el ejaculado.
Transmission electron microscopy. Gram-negative bacteria present in the ejaculate.

FIG. 1, 2, 3. Seccions longitudinals de bacteris bacil·lars Gram negatius. CB, coberta; aN, àrea nuclear. Secciones longitudinales de bacterias bacilares Gram-negativas. CB, cubierta; aN, área nuclear. *Longitudinal sections of Gram-negative bacillar bacteria. CB, cell envelope; aN, nuclear area. Figura 1, 40 000x; figura 2, 25 000x; figura 3, 31 500x.*

FIG. 4, 5, 6. Seccions transversals de bacteris bacil·lars Gram negatius. CB, coberta; aN, àrea nuclear. Secciones transversales de bacterias bacilares Gram-negativas. CB, cubierta; aN, área nuclear. *Cross-sections of Gram-negative bacillar bacteria. CB, cell envelope; aN, nuclear area. 63 000x.*

FIG. 7, 8. Seccions de colònies de bacteris més (figura 7) o menys (figura 8) desenvolupades. Observi's l'ordenada disposició dels bacteris apilats sobre l'eix longitudinal de la cèl·lula. CB, coberta; aN, àrea nuclear. Secciones de colonias de bacterias más (figura 7) o menos (figura 8) desarrolladas. Obsérvese la ordenada disposición de las bacterias apiladas sobre el eje longitudinal de la célula. CB, cubierta; aN, área nuclear. *Sections of more (figure 7), or less-developed (figure 8), bacterial colonies. Note the methodical arrangement of the bacteria piled over the longitudinal axis of the cell. CB, cell envelope; aN, nuclear area. Figura 7, 20 000x; figura 8, 31 500x.*



**8. BIBLIOGRAFIA
BIBLIOGRAFÍA
BIBLIOGRAPHY**

BIBLIOGRAFIA. BIBLIOGRAFÍA. BIBLIOGRAPHY

La bibliografia que a continuació es detalla reuneix aquelles referències bibliogràfiques més directament relacionades amb la morfologia espermàtica en porcí i les seves tècniques d'estudi.

La bibliografia que a continuación se detalla reúne aquellas referencias bibliográficas más directamente relacionadas con la morfología espermática en porcino y sus técnicas de estudio.

The following bibliography includes all the bibliographic references most directly related to boar sperm morphology and their techniques of study.

- ÁLVAREZ, E. (1989). *Andrología. Teoría y Práctica*. Madrid: Díaz de Santos.
- ANDOLZ, P.; BIELSA, M. A. (1995). *Semen Humano: Manual y Atlas*. Madrid: Garsi.
- BACETTI, B.; AFZELIUS, B. A. (1976). *The Biology of the Sperm Cell*. Basel: Karger.
- BANE, A.; NICANDER, L. (1965). «Pouch formations by invaginations of the nuclear envelope of bovine and porcine sperm as a sign of disturbed spermiogenesis». *Nord. Vet. Med.*, núm. 17, p. 628-632.
- (1966). «Electron and light microscopical studies on spermateliosis in a boar with acrosome abnormalities». *J. Reprod. Fertil.*, núm. 11, p. 133-138.
- BARTH, A. D.; OKO, R. J. (1989). *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa: Iowa State University Press.
- BARTKE, A. [Editor] (1994). *Function of Somatic Cells in the Testis. A: Sero Symposium, USA*. Nova York: Springer-Verlag.
- BLOM, E.; BIRCH-ANDERSEN, A. (1975). «The ultrastructure of a characteristic spermhead-defect in the boar: The SME-Defect». *Andrologia*, núm. 7 (3), p. 199-209.
- BONADONNA, T. (1989). *Reproducción Animal e Inseminación Artificial*. Vol. 1, II. Buenos Aires: Hemisferio Sur.
- BONET, S. (1987). «Estudio del eyaculado de un verraco estresado por la frecuencia de recogidas en inseminación artificial». *Scientia gerundensis*, núm. 13, p. 35-40.
- (1987). «Estudio del eyaculado de un verraco Landrace alemán al microscopio electrónico de barrido». *Rev. de la Asoc. Nac. de Porcinocult. Cient. (ANAPORC)*, núm. 63, p. 20-25.
- (1988). «Contribución al conocimiento microscópico de la calidad espermática de *Sus domesticus*: metodología aplicada». *Rev. de la Asoc. Nac. de Porcinocult. Cient. (ANAPORC)*, núm. 74, p. 64-65.
- (1990). «Immature and aberrant spermatozoa in the ejaculate of *Sus domesticus*». *Anim. Reprod. Sci.*, núm. 22, p. 67-80.
- (1996). «Espermatozoides: diversidad morfológica». *Investigación y Ciencia*, núm. 234, p. 30-31.
- BONET, S.; BRIZ, M. (1991). «Comparison between the conventional method and the simple dessication method used in processing porcine sperm for scanning electron microscopy». *J. Micr.*, núm. 162, p. 291-294.
- (1991). «New data on aberrant spermatozoa in the ejaculate of *Sus domesticus*». *Theriogenology*, núm. 35 (4), p. 725-730.
- BONET, S.; BRIZ, M.; CAMPS, R. M.; PINART, E.; FRADERA, A. (1996). *Biología de la Reproducción i del Desenvolupament: Guió de Pràctiques*. Girona: Servei de Publicacions de la Universitat de Girona.

- BONET, S.; BRIZ, M.; FRADERA, A. (1991). «The sperm quality and fertility of boars after two different ejaculation frequencies». *Scientia gerundensis*, núm. 17, p. 77-84.
- (1993). «Estudio comparativo entre la morfología espermática del eyaculado de verracos sometidos a extracciones de semen cada dos días y la morfología del esperma procedente de las tres regiones epididimarias». *Rev. de la Asoc. Nac. Porcinocult. Cient.* (ANAPORC), núm. 124, p. 30-38.
- (1993). «Ultrastructural abnormalities of boar spermatozoa». *Theriogenology*, núm. 40 (2), p. 383-396.
- (1994). «Contrastación del esperma de porcino al microscopio electrónico de barrido. Monografía n.º 21. Técnicas de contrastación seminal». A: *ibidem. Tratado de Ganado Porcino*. Madrid: Luzán 5, p. 21-28.
- (1994). «Contrastación del esperma de porcino al microscopio electrónico de transmisión. Monografía n.º 21. Técnicas de contrastación seminal». A: *ibidem. Tratado de Ganado Porcino*. Madrid: Luzán 5, p. 31-44.
- BONET, S.; BRIZ, M.; FRADERA, A.; EGOZCUE, J. (1992). «Origin, development and ultrastructure of boar spermatozoa with folded tails and with two tails». *Hum. Reprod.*, núm. 7, p. 523-528.
- BONET, S.; BRIZ, M.; PINART, E.; CAMPS, R.; FRADERA, A. (1995). «Caracterización de las células somáticas presentes en el esperma eyaculado del verraco». *Rev. de la Asoc. Nac. Porcinocult. Cient.* (ANAPORC), núm. 148, p. 122-130.
- (1995). «Determinación de la motilidad, la concentración y la morfología del esperma eyaculado de un verraco estéril». *Scientia gerundensis*, núm. 20, p. 29-37.
- BONET, S.; BRIZ, M.; PINART, E.; CAMPS, R.; FRADERA, A.; CASADEVALL, M. (1995). «Light microscopy of sperm morphology». *Microscopy and Analysis*, núm. 9, p. 29-31.
- BONET, S.; CASTELLANOS, M. (1989). «Estudi de la qualitat espermàtica de *Sus domesticus* i la seva repercussió en les explotacions porcínes». *Biologia de la Reproducció*, núm. 1, p. 204-210.
- (1989). «Estudio ultraestructural del espermatozoide maduro de *Sus domesticus*». *Rev. de la Asoc. Nac. Porcinocult. Cient.* (ANAPORC), núm. 87, p. 63-70.
- BONET, S.; PINART, E.; BRIZ, M.; SANCHO, S.; ESCUDER, M. (1998). «Aportación al conocimiento de la criptorquidia espontánea abdominal y unilateral en porcino: análisis microscópico del eyaculado». *Rev. de la Asoc. Nac. Porcinocult. Cient.* (ANAPORC), núm. 178, p. 91-112.
- BRIZ, M.; BONET, S.; FRADERA, A. (1991). «Qualitat microscòpica dels espermatozoides a les regions cefàlica, corporal i caudal de l'epidídim de *Sus domesticus*». *Treballs de la Societat Catalana de Biologia*, núm. 42, p. 19-34.
- BRIZ, M.; BONET, S.; PINART, E.; EGOZCUE, J.; CAMPS, R. (1995). «Comparative study of boar sperm coming from the caput, corpus and cauda regions of the epididymis». *J. Androl.*, núm. 16, p. 175-188.
- BRIZ, M.; FRADERA, A.; BONET, S. (1993). «Analysis of the seminal characteristics of boar with impaired fertility». *Scientia gerundensis*, núm. 19, p. 61-68.
- BRIZ, M.; BONET, S.; PINART, E.; CAMPS, R. (1996). «Sperm malformations through the boar epididymal duct». *Anim. Reprod. Sci.*, núm. 43, p. 221-239.
- BUTTLE, H. R. L.; HANCOCK, J. L. (1965). «Sterile boars with knobbed acrosomes». *J. Agric. Sci.*, núm. 65, p. 255.
- BUXADÉ, C. (1984). *Ganado Porcino: Sistemas de Explotación y Técnicas de Producción*. Madrid: Mundi-Prensa.
- CAMERON, R. D. A. (1985). «Factors influencing semen characteristics in boars». *Aust. Vet. J.*, núm. 62, p. 293-297.
- COLEBRANDER, B.; KEMP, B. (1990). «Factors influencing semen quality in pigs». *J. Reprod. Steril.*, núm. 40, p. 105-115.
- COOPER, T. G. (1986). *The Epididymis, Sperm Maturation and Fertilization*. Berlín: Springer-Verlag.
- COUROT, M. (1984). *The Male in Farm Animal Reproduction*. Boston: Martins Nijhoff Publishers.
- CUPPS, P. T. (1991). *Reproduction in Domestic Animals*. San Diego: Academic Press.
- CZYBA, J. C.; MANTELLA, A. (1993). *Biologie de la Reproduction Humaine*. Montpellier: Sauramps Médical.
- DACHEUX, J. L.; PAQUIGNON, M.; COMBARNOUS, Y. (1983). «Head to head agglutination of ram and boar epididymal spermatozoa and evidence for an epididymal antigglutinin». *J. Reprod. Fertil.*, núm. 67, p. 181-189.
- DAZA, A. (1992). *Manejo de la Reproducción en el Ganado Porcino*. Barcelona: Aedos: Mundi Prensa.
- DUCKETT, J.; RACEY, P. A. (1975). *The Biology of the Male Gamete*. Londres: Academic Press.
- DUJIN VAN, C. (1960). «Mesuration of the heads of boar spermatozoa». *Mikroskopie*, núm. 15, p. 142-156.
- DYKSTRA, M. J. (1992). *Biological Electron Microscopy*. Nova York: Plenum Press; Madrid: Luzán 5.
- EDWARDS, R. G.; BRODY, S. A. (1995). *Principles and Practice of Assisted Human Reproduction*. Fidadèlfa: Sanders Company.
- ESPONDA, P. (1985). *Spermiogenesis and Spermatozoa in Mammals*. Bilbao: Universidad del País Vasco.
- FAWCETT, D. W.; PHILLIPS, D. M. (1969). «The fine structure and development of the neck region of the mammalian spermatozoa». *Anat. Rec.*, núm. 165, p. 153-184.

- FLORKE-GERLOFF, S.; KRNAS, W.; TOPFER-PETERSEN, E.; TSCHESCHE, H.; MULLER-ESTERL, W.; ENGEL, W. (1985). «On the teratogenesis of round-headed spermatozoa: investigation with antibodies against acrosin, an intraacrosomally located acrosin-inhibitor, and the outer acrosomal membrane». *Andrologia*, núm. 17 (2), p. 126-138.
- GARCÍA-ARTIGA, C.; FONTANILLAS, J. C.; PÉREZ, J.; GARCÍA-CUENCA, I.; MARTÍN-RILLO, S.; PÉREZ GARCÍA, T. (1994). «Técnicas de tinción espermática. Monografía n.º 21. Técnicas de contrastación seminal». *Tratado de Ganado Porcino*. Madrid: Luzán 5, p. 11-18.
- GOLDSTEIN, J. I.; NEWBURY, D. E.; ECHLIN, P.; JOY, D. C.; ROMIG, A. D.; LYMAN, C. E.; FIORI, C.; LIFSHIN, E. (1992). *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Nova York: Plenum.
- GONZÁLEZ-CHABARRI, E.; MARTÍN-RILLO, S. (1994). «Técnicas de fluorescencia para la valoración espermática. Monografía n. 21. Técnicas de contrastación seminal». *Tratado de Ganado Porcino*. Madrid: Luzán 5, p. 45-54.
- GRUDZINSKAS, J. G.; YOVICH, J. L. (1995). *Gametes: The Spermatozoon*. Cambridge: Cambridge University Press.
- GURAYA, S. S. (1987). *Biology of Spermatogenesis and Spermatozoa in Mammals*. Berlín: Springer-Verlag.
- HAFEZ, E. S. E. (1996). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. México: McGraw-Hill Interamericana.
- HANCOCK, J. L. (1956). «The morphology of boar spermatozoa». *J. R. Microsc. Soc.*, núm. 76, p. 84-97.
- HAYAT, M. A. (1989). *Principles and Techniques of Electron Microscopy*. Hong-Kong: McMillan Press.
- HOLT, W. V. (1982). «Epididymal origin of a coiled-tail sperm defect in a boar». *J. Reprod. Fertil.*, núm. 64 (2), p. 485-489.
- HUGHES, P. E.; VARLEY, M. A. (1984). *Reproducción del Cerdo*. Saragossa: Acribia.
- JOHNSON, M. H.; EVERITT, B. (1995). *Essential Reproduction*. Oxford: Blackwell Science.
- JONES, R. C. (1971). «Studies of the structure of the head of boar spermatozoa from the epididymis». *J. Reprod. Fertil.* [Supl.], núm. 13, p. 51-64.
- (1971). «Ultrastructure of mammalian spermatozoa: the effects of buffer concentration in fixatives for boar spermatozoa». *Micron*, núm. 2, p. 350-362.
- (1973). «Changes occurring in the head of boar spermatozoa: vesiculation or vacuolization of the acrosome». *J. Reprod. Fertil.*, núm. 33, p. 113-118.
- (1973). «The plasma membrane of ram, boar and bull spermatozoa». *J. Reprod. Fertil.*, núm. 33, p. 179-183.
- JONES, R. E. (1997). *Human Reproductive Biology*. San Diego: Academic Press.
- KAPLAN, M.; RUSSELL, L. D.; PETERSON, R. N.; MARTAN, J. (1984). «Boar sperm cytoplasmic droplets: their ultrastructure, their numbers in the epididymis and at ejaculation and their removal during isolation of sperm plasma membranes». *Tissue and Cell*, núm. 16 (3), p. 455-468.
- KEEL, B. A.; WEBSTER, B. W. (1990). *Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. Boca Ratón (Florida): CRC Press.
- KNOBIL, E.; NEILL, D. J. (1994). *The Physiology of Reproduction*. Vol. I, II. Nova York: Raven Press.
- KOJIMA, Y. (1981). «Intracellular vacuoles or vesicles and invagination on boar spermatozoa». *Jap. J. Vet. Sci.*, núm. 43, p. 37-41.
- (1990). «Ultrastructure of boar testis: spindle shape body of spermatid». *Jap. J. Vet. Sci.*, núm. 52, p. 1057-1062.
- KOJIMA, Y.; KINOSHITA, Y. (1974). «Multiple headed spermatozoa in the boar testes». *Nippon Juigaku Zasshi*, núm. 36 (5), p. 364-374.
- (1975). «Fine structure of the multiple sperm syncytium in the boar testes». *Jap. J. Vet. Sci.*, núm. 37, p. 555-568.
- KOVÁCS, A.; FOOTE, R. H. (1992). «Viability and acrosome staining of bull, boar and rabbit spermatozoa». *Biotech. Histochem.*, núm. 67 (3), p. 119-124.
- KOZUMPLIK, J. (1987). «Migration of protoplasmic droplets and phagocytosis of damaged sperm during passage through the efferent ducts in boars and bulls». *Vet. Med.*, núm. 32 (6), p. 343-354.
- LUDWIG, G.; FRICK, J. (1990). *Spermatology: Atlas and Manual*. Berlín: Springer-Verlag.
- MARTIN, S. (1982). *Reproducción e Inseminación Artificial Porcina*. Barcelona: Aedos.
- MASTROIANI, L.; COUTIFARIS, C. (Editors, 1990). Reproductive physiology, volume 1. *The Figo Manual of Human Reproduction*. Nova York: The Parthenon Publishing Group.
- MCDONALD, L. E. (1991). *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. México: McGraw-Hill Interamericana.
- McKENZIE, F. F.; MILLER, J. C.; BAUGUEN, I. C. (1938). «The reproductive organs and semen of the boar». *Res. Bull. Missouri Agr. Exp. Sta.*, núm. 279, p. 122.
- MORRE, D. J.; CLEGG, E. D.; LUNSTRA, D. D.; MOLLENHAVER, H. H. (1974). «An electron-dense stain for isolated fragments of plasma and acrosome membranes from porcine sperm». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, núm. 145, p. 1-6.

- MULLER, E.; BRANDL, G. (1975). «Motility and morphology of boar spermatozoa». *DTW Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, núm. 82 (4), p. 153-155.
- NALBANDOV, A. V. (1969). *Fisiología de la Reproducción*. Saragossa: Acribia.
- NICANDER, L.; BANE, A. (1962). «Fine structure of boar spermatozoa». *Z. Zellforsch. Mikrosk. J. Anat.*, núm. 57, p. 390-405.
- (1966). «Fine structure of the sperm head in some mammals, with particular reference to the acrosome and the subacrosomal substance». *Z. Zellforsch. Mikrosk. J. Anat.*, vol. 72, p. 496-515.
- NIESCHLAG, E.; HABENICH, U. F. (Editors, 1992). *Spermatogenesis-Fertilization-Contraception. Molecular, Cellular and Endocrine Events in Male Reproduction* (Shering Foundation Workshop, 4). Berlín: Springer-Verlag.
- OJEDA, J. S. (1997). *Métodos de Microscopía Electrónica de Barrido en Biología*. Santander: Universidad de Cantabria.
- OMS. (1989). *Manual de Laboratorio para el Examen del Semen Humano y de la Interacción entre el Semen y el Moco Cervical*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- PHILLIPS, D. M. (1977). «Mitochondrial disposition in mammalian spermatozoa». *J. Ultrastruct. Res.*, núm. 58, p. 144-154.
- (1977). «Surface of the equatorial segment of the mammalian acrosome». *Biol. Reprod.*, núm. 16, p. 128-137.
- PINART, E.; CAMPS, R.; BRIZ, M.; BONET, S.; EGOZCUE, J. (1998). «Unilateral spontaneous abdominal cryptorchidism: structural and ultrastructural study of sperm morphology». *Anim. Reprod. Sci.*, núm. 49, p. 247-268.
- PINART, E.; CAMPS, R.; FRADERA, A.; BRIZ, M.; BONET, S. (1995). «Estudi comparatiu de la qualitat espermàtica i del nombre de cèl·lules germinals entre mascles porcíns sans i criptorquídics». *Biologia de la Reproducció*, núm. 4, p. 59-62.
- PINART, E.; SANCHO, S.; BRIZ, M.; BONET, S.; GARCÍA, N. (1999). «Characterization of the sperm quality of postpuberal boars with spontaneous unilateral abdominal cryptorchidism on the right side». *Anim. Reprod. Sci.*, núm. 55, p. 269-278.
- POMEROL, J. M.; ARRONDO, J. A. (1994). *Práctica Andrológica*. Barcelona: Masson-Salvat.
- REMOHI, J.; SIMÓN, C.; PELLICER, A.; BONILLA-MUSOLES, F. (1996). *Reproducción Humana*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- RIGAU, T.; CAIZA DE LA CUEVA, F. I.; BONET, S.; BRIZ, M. (1995). «Resistance to hyperosmotic stress of boar spermatozoa: putative role for ionic pumps». *Assisted Reproductive Technology/Andrology*, núm. 8, p. 101-122.
- SCHILLING, E.; VENGUST, M. (1987). «Frequency of semen collection in boars and quality of ejaculates as evaluated by the osmotic Resistance of Acrosomal Membranes». *Anim. Reprod. Sci.*, núm. 12, p. 283-290.
- THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M. C.; HUNTER, R. H. F. (1993). *Reproduction in Mammals and Man*. París: Ellipses.
- TIENHOVEN VAN, A. (1983). *Reproductive Physiology of Vertebrates*. Nova York: Cornell University Press.
- TOYAMA, Y.; ITOH, Y. (1996). «Ultrastructural features and pathogenesis of decapitated spermatozoa in a boar». *Andrologia*, núm. 28 (2), p. 109-115.
- (1993). «Ultrastructural features and pathogenesis of knobbed spermatozoa in a boar». *Am. J. Vet. Res.*, núm. 54 (5), p. 743-749.
- TRUITT-GIBERT, A. J.; JOHNSON, L. A. (1980). «The crater defect in boar spermatozoa: a correlative study with transmission electron microscopy, scanning electron microscopy and light microscopy». *Gamete Res.*, núm. 3, p. 259-266.
- TSO, W. W.; LEE, W. M. (1980). «Seminal plasma and progressive motility of boar spermatozoa». *Int. J. Androl.*, núm. 3 (3), p. 243-250.
- VALENCIA, J. (1986). *Fisiología de la Reproducción Porcina*. Mèxic: Trillas.
- VÁZQUEZ, J. M.; MARTÍNEZ, E.; ROCA, J.; COY, P.; RUIZ, S. (1992). «Use of triple stain technique for simultaneous assesment of vitality and acrosomal status in boar spermatozoa». *Theriogenology*, núm. 38, p. 843-852.
- WHITTEMORE, C. T. (1980). *Producción del Cerdo*. Barcelona: Aedos (Biblioteca Agrícola Aedos).
- (1987). *Elements of Pig Science*. Hong-Kong: longman scientific & technical (Longman handbook in agriculture).
- WILEY, J. & SONS [Editors] (1994). «Germline development». *Ciba Foundation Symposium*, núm. 182. Chichester, Inglaterra.
- WISEMAN, J.; VARLEY, M. A.; CHADWICK, J. P. (1998). *Progress in Pig Science*. Nottingham: Nottingham University Press.
- ZAMBONI, L.; STEFANINI, M. (1971). «The fine structure of the neck of mammalian spermatozoa». *Anat. Rec.*, núm. 169, p. 155-172.



