

FERTILIDAD DEL TORO: UNA OPINIÓN SOBRE SU ESTADO ACTUAL Y PERSPECTIVAS

Richard G. Saacke*. 2003. Taurus, Bs. As., 5(19):18-28.

*Virginia Polytechnic Institute and State University Blacksburg, VA.

Conferencia dictada en las 18ª Conferencias Técnicas sobre Inseminación Artificial y Reproducción de la NAAB,

Milwaukee, Wisconsin, EE.UU. 29 y 30 de septiembre de 2000.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Inseminación Artificial](#)

INTRODUCCIÓN

Nuestra capacidad para evaluar con precisión la fertilidad de un macho, así como nuestra influencia sobre esa fertilidad a través de la manipulación y criopreservación del semen, requiere de una mayor comprensión de los factores seminales y ambientales involucrados. Hasta el día de hoy varios estudios han demostrado que distintas pruebas in vitro están correlacionadas con la fertilidad; sin embargo, estas pruebas han sido deficientes en predecir la fertilidad a campo cuando fueron aplicadas en diferentes poblaciones de toros dadores de semen. Esto no significa que el semen o los toros no puedan ser criteriosamente descartados utilizando nuestro conocimiento y las pruebas de laboratorio, solamente quiere decir que no podemos predecir el resultado en porcentaje de preñez en una determinada inseminación o con un toro en particular.

Frecuentemente se dice que si uno no puede predecir matemáticamente el resultado de un evento a partir de parámetros considerados de importancia, la naturaleza del evento o todos los parámetros involucrados no están debidamente comprendidos. Esto se ha hecho más evidente con los recientes esfuerzos por desarrollar modelos matemáticos para explicar las tasas de concepción.

Por lo tanto, para lograr progreso en la eficiencia reproductiva utilizando inseminación artificial (IA) debemos continuar buscando la total comprensión de los factores que impactan en la tasa de preñez. En esta presentación me gustaría referirme a lo que pienso acerca de nuestro estado actual de conocimiento sobre los factores relativos al macho/semen que impactan sobre la tasa de preñez, así como a su interacción con diferentes estrategias reproductivas. A partir de esta discusión, deberíamos ser capaces de sugerir las áreas en las que se debería poner especial énfasis para lograr mayores progresos, tanto en la predicción como en la optimización de los factores relacionados con el macho que influyen en las tasas de preñez.

CARACTERÍSTICAS SEMINALES COMPENSABLES Y NO COMPENSABLES

A partir de numerosas investigaciones resulta claro que deficiencias en la calidad seminal de un determinado macho pueden resultar en fallas reproductivas debido a:

- 1) un insuficiente número de espermatozoides que atraviesan el tracto femenino accediendo al ovocito en el punto de iniciación de la fertilización (fallas en la fertilización) o
- 2) incompetencia del espermatozoide fecundante para llevar a cabo la fertilización y el desarrollo embrionario una vez iniciada la misma (mortalidad embrionaria temprana).

En la IA, las deficiencias seminales que llevan a fallas en la fertilización han sido definidas como compensables cuando son eliminadas o marcadamente reducidas al incrementar el número de espermatozoides en la dosis inseminante. Mientras que las deficiencias son no compensables cuando los espermatozoides son capaces de recorrer el tracto femenino, llegar al sitio de fertilización, pero son incompetentes para llevar a cabo la misma y/o sostener el desarrollo embrionario. Las pérdidas de preñez por deficiencias no compensables deberían ser consideradas intrínsecas al toro y deberían ser únicamente minimizadas por el descarte del macho o del semen. Los espermatozoides con deficiencias no compensables pueden acceder al ovocito a cualquier dosis de acuerdo a su proporción en la composición del semen. A partir de datos procedentes de inseminaciones en rodeos comerciales, sabemos que los toros pueden tener diferentes combinaciones de deficiencias seminales compensables y no compensables (Figura 1). Por lo tanto, toda evaluación de semen diseñada para predecir tasas de preñez debe considerar ambas posibilidades en el mismo macho.

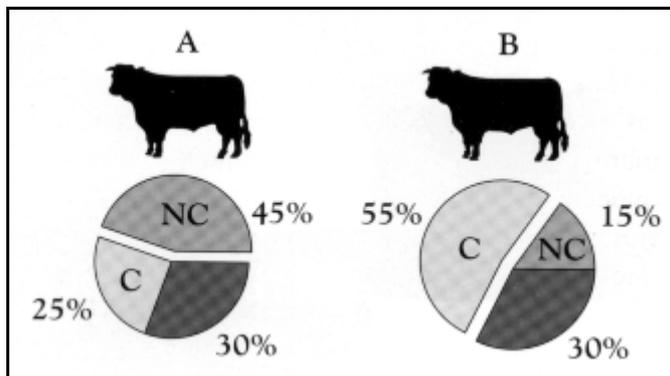


Figura 1. En la evaluación seminal debemos considerar los defectos compensables y no compensables y su posible combinación. En este escenario, un macho como el A podría ser identificado y eliminado como dador de semen porque una alta proporción de sus deficiencias son no compensables y por lo tanto no pueden ser evitadas incrementando la dosis inseminante. Contrariamente, el toro B requiere una dosis inseminante superior para lograr tasas de preñez comparables a las de sus compañeros porque tiene mínimas deficiencias no compensables.

CARACTERÍSTICAS COMPENSABLES

El conocimiento para medir adecuadamente todas las características compensables por medio de pruebas de laboratorio es incompleto. Basados en nuestro conocimiento actual sobre el transporte espermático en la hembra, solamente una pequeña población de espermatozoides (miles) luego de la inseminación puede alcanzar el reservorio oviductal. Una subpoblación aún menor (aproximadamente 1-30, mediana de 3 espermatozoides/ovocito en bovinos) participa o compite por la fertilización del ovocito en la unión ampolla-istmo del oviducto (Figura 2).

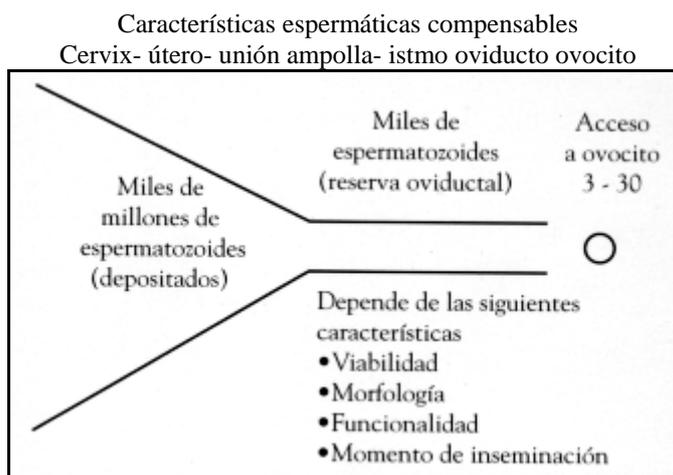


Figura 2. De los millones de espermatozoides inseminados en una vaca, sólo unos pocos colonizan la parte inferior del oviducto, uniéndose a su pared (miles). De esta población, un número menor es el que adquiere la capacidad de fertilizar (espermatozoides accesorios). Debemos comprender la cantidad y características de esta población para progresar en la predicción de la fertilidad de una muestra de semen.

Para poder fertilizar, un espermatozoide debe estar vivo, ser móvil y tener una morfología razonablemente normal. Por lo tanto, estas son características importantes que conforman el componente compensable de la calidad seminal. Sin embargo, también sabemos que miles de espermatozoides potencialmente fertilizantes, entre 4 y 12 hs luego de la inseminación, colonizan la parte más baja del oviducto y se unen al epitelio. Aquí los espermatozoides pueden: 1) completar el proceso de capacitación, un proceso que permite su participación en la fertilización, 2) llevar a cabo la hiperactivación en su patrón de motilidad, liberándose desde el epitelio, 3) reconocer y unirse a la superficie del ovocito, 4) iniciar la reacción acrosómica necesaria para la digestión enzimática y penetración de la zona pelúcida, 5) unirse con la membrana celular del ovocito y entrar al mismo tiempo que el ovocito es activado, 6) bloquear la polispermia, evitando la fertilización por parte de un segundo espermatozoide. Basados en este conocimiento, advertimos que para evaluar una dosis de semen deben ser incorporadas más pruebas a las clásicas de viabilidad y morfología, que abarquen aspectos funcionales de la fertilidad potencial de los espermatozoides.

Los requerimientos funcionales deberían incluir cuantificar el número y la duración de espermatozoides almacenados en el reservorio oviductal y/o el número de espermatozoides en una dosis inseminante que es competente en los puntos 1 a 6 descriptos más arriba.

Evidentemente, se necesita mayor investigación básica para identificar y calificar esta pequeña subpoblación de espermatozoides en una dosis inseminante. Una mejor comprensión de las características compensables brindaría una base más fuerte para aplicar adecuadas tasas de dilución al semen de toros dadores.

CARACTERÍSTICAS NO COMPENSABLES

De manera similar, no tenemos un conocimiento total de los componentes no compensables del semen. Se piensa que fallas en el ADN espermático pueden causar deficiencias en la fertilización del ovocito o en el progreso del embrión, llevando a pérdidas en la preñez. Este no es un concepto nuevo, pero ha ganado considerable interés en los últimos años. Aunque no sabemos cómo es exactamente un espermatozoides no compensable, se ha documentado su presencia en muestras de semen. Básicamente, a medida que aumentan los espermatozoides morfológicamente anormales (principalmente con anomalías de cabeza), los componentes no compensables también parecen aumentar. Las investigaciones actuales prometen describir mejor los componentes no compensables a partir de dos áreas principales: 1) evaluación del ADN espermático y 2) mediciones más precisas de la morfología de la cabeza. Los trabajos que revelan menor estabilidad del ADN y defectos en el ADN de espermatozoides procedentes de machos con menor fertilidad son prometedores en cuanto a permitir reconocer clínicamente esta incompetencia (espermatozoides no compensables). Muchos de estos trabajos se han basado en la citometría de flujo y necesitan ser integrados a los sistemas actuales de evaluación morfológica de las mismas células. Un trabajo reciente de Parrish y Ostemeyer mostró que pueden ser utilizados sistemas más objetivos para describir desviaciones, desde sutiles a mayores, en la morfología de la cabeza espermática. Estas pruebas, junto con el análisis de ADN, podrían aumentar el nivel de sensibilidad en la cuantificación de los componentes no compensables del semen. Una forma de medir los componentes no compensables del semen que no puede aplicarse en condiciones de campo, es la evolución de la FIV y el cultivo in vitro de embriones. Utilizando estas técnicas, la aceptación futura de un macho dador depende de la capacidad del semen de mantener el desarrollo embrionario desde una fertilización in vitro hasta el cultivo de blastocisto.

CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS

La interacción del macho con la dosis inseminante y su impacto sobre la tasa de preñez ha sido revisada. La naturaleza de esta interacción fue recientemente comprendida. Nadir y col. demostraron, usando la técnica de eyaculados fraccionados y 4 toros, que cuando se aumenta la dosis inseminante, la accesibilidad de los espermatozoides al ovocito también aumenta, mejorando el número de espermatozoides accesorios en ovocitos/embriones colectados 6 días luego de la inseminación. Sin embargo, hubo una marcada variación entre machos en el número de espermatozoides que llegan al ovocito a altas y bajas dosis (Tabla 1).

Tabla 1. Interacción de la dosis inseminante y toro con el número de espermatozoides accesorios por embrión/ovocito.

100 x 10 ⁶ espermatozoides/ dosis			
Toro	n	Mediana	Promedio±DS
•A	13	45	49±40
B	24	10	18±22
C	6	32	52±56
D	7	6	24±32
Total		27	37±38
20 x 10 ⁶ espermatozoides/ dosis			
Toro	n	Mediana	Promedio±DS
•A	12	34	57±84
B	13	3	11±25
C	10	2	26±70
D	13	0	4±8
Total		3	29±62

Claramente, el macho A mantuvo una alta accesibilidad espermática al ovocito (alto número de espermatozoides accesorios) independientemente de la dosis. Mientras que los machos B, C y D fueron adversamente afectados cuando se utilizaron dosis inseminantes menores. Esto fue interpretado como que el macho A tiene un mínimo de anomalías compensables y podría ser usado efectivamente con muy bajas dosis sin provocar pérdidas en la fertilidad. Contrariamente, los machos B, C y D representarían un riesgo mayor si

fueran utilizados con dosis menores debido a deficiencias compensables de semen. Experimentos realizados en Holanda confirmaron estas diferencias entre machos bajo condiciones de campo cuando se compararon a muy bajas dosis. La importancia del experimento de Nadir y col. con eyaculados fraccionados es que la mayor cantidad de espermatozoides accesorios logrados con mayores dosis inseminantes resultó en un incremento en la tasa de fertilización y de la calidad embrionaria (Figura 3).

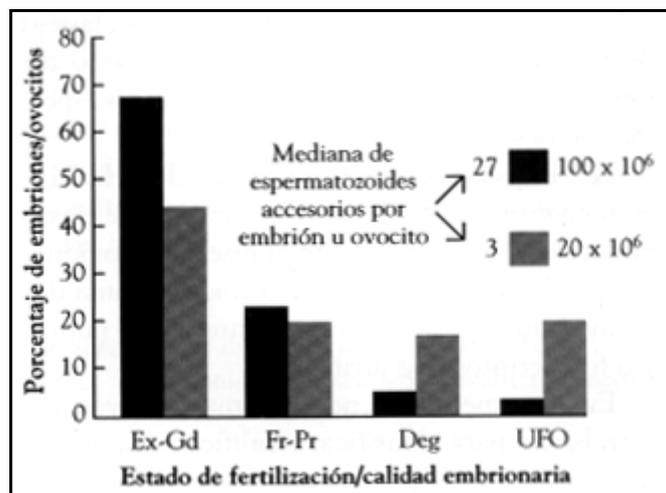


Figura 3. Efecto de la inseminación con altas (100×10^6 espermatozoides) y bajas (20×10^6 espermatozoides) dosis inseminantes sobre la fertilización y calidad embrionaria. La diferencia en embriones viables (clasificados como excelentes, buenos, regulares y pobres), degenerados e infertilizados debido a la baja dosis fue significativa ($p < 0,05$) $n=38$ para dosis alta y baja.

Las mayores tasas de fertilización fueron acompañadas por una menor cantidad de ovocitos sin espermatozoides accesorios. Esto indicaría que los defectos compensables fueron contrarrestados con altas dosis. El incremento simultáneo en la calidad embrionaria asociado con el aumento de la dosis y espermatozoides accesorios fue sorprendente (Figura 3).

Fue interpretado como un indicio que la zona pelúcida de los ovocitos puede ser una efectiva barrera de selección de espermatozoides competentes. El mayor número de espermatozoides accesorios por embrión indicaría mayor competencia entre espermatozoides con fertilidad potencial, favoreciendo la selección y fertilización por parte de los espermatozoides más competentes. Sobre esta base, al incrementar la dosis se compensaría algunos de los componentes no compensables. Otra forma de ver, es que las bajas dosis inseminantes en un macho determinado con defectos no compensables (favoreciendo la menor competencia espermática) podrían aumentar el impacto sobre la tasa de preñez de las deficiencias seminales.

Se piensa que ese es el caso de las hembras superovuladas en las que el acceso espermático al ovocito es impedido (menos espermatozoides por ovocito) y la permisividad del huevo a la penetración espermática parece ser mayor que en una hembra de ovulación única. Generalmente se cree que para un macho determinado, las vacas superovuladas tienen una mayor proporción de ovocitos infertilizados y menor calidad embrionaria que las esperadas en una hembra de ovulación única inseminada con el mismo macho.

Hawk y col. demostraron que la accesibilidad espermática al ovocito (espermatozoides accesorios) y la tasa de fertilización fue en gran medida debido a las altas dosis inseminantes utilizadas en las vacas superovuladas.

El mínimo número de espermatozoides que compiten (espermatozoides accesorios) necesario para maximizar la calidad embrionaria en una vaca de ovulación única ($n=800$) ha sido entre 10 y 20 espermatozoides por embrión. Una cantidad mayor de espermatozoides accesorios no tiene efecto. Basado en más de 1.000 inseminaciones, la mediana del número de espermatozoides por ovocito/embrión es 3,0 y la mediana del número por embrión es 5,4. Por lo tanto, las investigaciones que lograron mejorar la accesibilidad de los espermatozoides al ovocito (más de 10-20 espermatozoides accesorios por ovocito) resultaron en claros incrementos en las tasas de preñez debido a una mayor tasa de fertilización y una mayor calidad embrionaria.

En forma más reciente se describió una interacción potencial entre las características seminales y el momento de la inseminación (relativo a la ovulación). Este concepto ha surgido a partir de estudios que han utilizado detectores electrónicos de celo (Heat Watch) en los cuales se puede determinar con precisión el inicio del estro (primera pasividad a la monta), que está altamente correlacionado con el momento de la ovulación. La ovulación se produce a las $27,5 \text{ hs} \pm 5,4 \text{ hs}$ luego de la primera aceptación a la monta. Brevemente, las inseminaciones tempranas (aproximadamente 26 hs antes de la ovulación) resultaron en menor accesibilidad de espermatozoides al ovocito (basado en menos espermatozoides accesorios) con una menor tasa de fertilización. Sin embargo, la calidad embrionaria a partir de las inseminaciones tempranas fue mayor. Contrariamente, las inseminaciones

tardías dentro de las tres horas de la ovulación resultaron en mayor accesibilidad de los espermatozoides al ovocito y concomitantemente mayor tasa de fertilización. Sin embargo, la calidad embrionaria fue inferior.

La preñez óptima se lograría inseminando en el punto medio (12 hs posteriores a la primera aceptación a la monta). Mientras que se ha demostrado que esta práctica permite lograr las mejores tasas de preñez por IA en condiciones de campo, lamentablemente es una solución de compromiso entre la falla en la fertilización (inseminación temprana) y la falla embrionaria (inseminación tardía) (Figura 4).

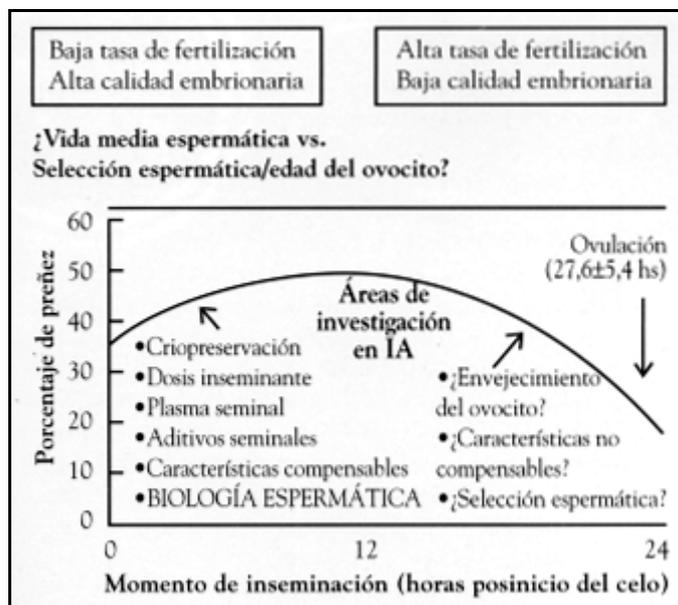


Figura 4. Basado en la detección radiotelemétrica de celo (Heatwatch), la figura muestra la tasa de preñez esperada en inseminaciones realizadas al inicio del celo, a las 12 hs y a las 24 hs posteriores con ovulaciones que ocurrieron a las 27,6±5,4 hs pos inicio de celo. Las inseminaciones tempranas se caracterizaron por lograr un bajo número de espermatozoides accesorios y baja tasa de fertilización, pero alta calidad embrionaria. Las inseminaciones tardías llevaron a un elevado número de espermatozoides accesorios y altas tasas de fertilización, pero baja calidad embrionaria. Sobre esta base, las tasas de preñez óptimas son logradas inseminando a las 12 hs posteriores al inicio del celo, resultante de una situación intermedia entre fallas en la fertilización y fallas en la calidad embrionaria. Se sugiere que la atención en la investigación futura sea especialmente puesta en las áreas indicadas en la figura.

La razón de una baja fertilización en la inseminación temprana es indudablemente la vida funcional del espermatozoide en el tracto femenino. La baja calidad embrionaria asociada con inseminaciones tardías, cercanas a la ovulación, sería por envejecimiento del ovocito esperando el espermatozoide o insuficiente tiempo para la selección espermática (defectos no compensables) en el tracto reproductivo.

Si estas son razones válidas para justificar la curva de la Figura 4, debemos considerar la posibilidad que machos con diferentes niveles de defectos compensables y no compensables en su semen puedan diferir en el momento óptimo de inseminación para lograr las máximas tasas de preñez.

Esto también indicaría que nuestra mayor opción de mejorar la fertilidad del macho a través de la investigación sobre preservación de semen sería mejor probada inseminando temprano con respecto al celo, cuando la vida espermática es crítica para la tasa de fertilización. Contrariamente, si los defectos seminales son no compensables, podrían ser mejor observados inseminando tarde, momento en que la selección espermática es mínima (resumido en Figura 4).

Indudablemente, el macho y la estrategia reproductiva (momento de inseminación) deben ser considerados en forma conjunta si realmente pretendemos predecir la fertilidad. Por lo tanto, la ecuación de predicción de fertilidad está haciéndose más complicada.

Nuestra esperanza inicial de encontrar una prueba de laboratorio o dos que pudieran predecir la fertilidad en IA es demasiado simplista. Al presente, deberíamos considerar avances en la fórmula:

$$\text{Fertilidad} = \text{macho (deficiencias compensables + deficiencias no compensables) + espermatozoides por dosis + momento de ovulación.}$$

Las investigaciones futuras sobre la manipulación hormonal de la hembra para el momento de ovulación e inseminación deberían también ser consideradas como una posible interacción con las características seminales, y por eso, incorporadas en la ecuación de predicción.

Finalmente, frecuentemente calculamos la fertilidad en base a la preñez que realmente logramos cada vez que inseminamos un animal. Si hemos aprendido algo en todos estos años, es que las limitaciones para obtener una

preñez pueden ser debidas a fallas en la fertilización o por incapacidad para mantener el ovocito fertilizado o el desarrollo embrionario. Por lo tanto, medir la preñez como único indicador en la evaluación del macho o como control de una nueva estrategia reproductiva, continuará llevándonos por mal camino para conocer la causa del éxito o fracaso. Saber qué ha ocurrido realmente con el semen que hemos depositado en la IA nos daría una mejor opinión sobre la calidad seminal y su impacto sobre la preñez potencial. La recuperación de ovocitos/embriones de 6 días de edad en forma no quirúrgica ha servido como un "biomonitor" para determinar el número de espermatozoides que compiten por la fertilización (espermatozoides accesorios) y el estado de fertilización/calidad embrionaria (Figura 5). Aunque es un trabajo adicional, estos ovocitos/embriones son realmente biomonitores que nos permiten diferenciar las fallas en la fertilización de las fallas embrionarias. Debido a que ambas se originan en problemas diferentes, deberían ser cuantificadas y analizadas en forma separada.

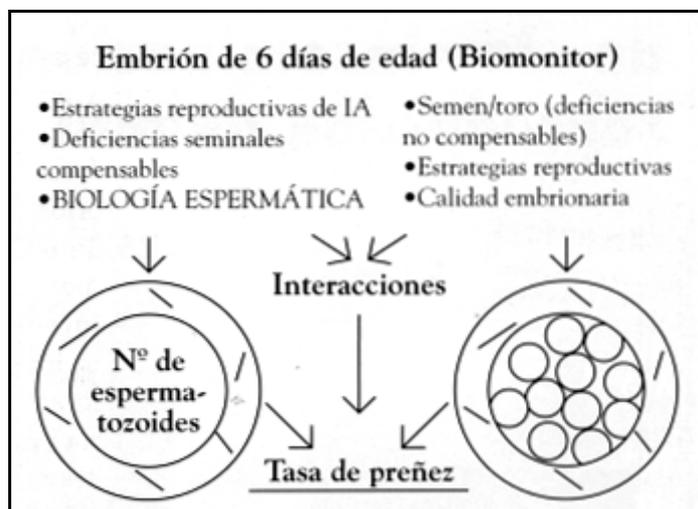


Figura 5. Los embriones de 6 días de edad representan un "biomonitor" para la evaluación de semen y estrategias reproductivas, midiendo la accesibilidad espermática al ovocito, la fertilización y la calidad embrionaria.

¿EL FUTURO?

Quiero finalizar esta presentación comentando que las perspectivas de mejorar la fertilidad del macho en el futuro son excelentes. Las mismas dependen de una mayor comprensión de los factores que afectan las tasas de preñez a la IA y de nuestra capacidad para predecir la misma. Los métodos sofisticados para evaluar la función espermática así como la integridad de su ADN mejorarán nuestra comprensión sobre las características compensables y no compensables del semen. Seguramente, esta comprensión llevará a una mejor evaluación de los métodos de criopreservación y manipulación seminal, tales como seleccionar células por sexo o por alta performance reproductiva.

Será muy importante medir cuidadosamente los avances y considerar el área en la que se producen, por ejemplo, en la fertilización o en el desarrollo embrionario. Finalmente, la evaluación del macho o de la inseminación debe considerar la dosis y el momento respecto al tiempo de ovulación así como el uso de cualquier preparación hormonal de la hembra para controlar la ovulación.

AGRADECIMIENTOS

A la asistencia financiera de Select Sires Inc. y la NAAB durante años. A Judy Bame, mi técnica de laboratorio y colega en los últimos 25 años. A todos los estudiantes graduados que han estado en el laboratorio, especialmente a Mel Dejarnette, Sher Nadir y Joe Dalton.

BIBLIOGRAFÍA

1. Amann, R.P 1989. Can the fertility potential of seminal sample be predicted accurately. *J. Andrology* 10:9-98.
2. Amann, R.P, R.H. Hammerstedt. 1993. In vitro insemination of semen quality: an opinion. *J. Andrology* 14:397-406.
3. Dalton, J.S. Nadir, J.H. Bame, M. Noftinger, R.L. Nebel, R.G. Saacke. 1998. Effect of artificial insemination time and natural service on accessory sperm number, fertilization status and embryo quality in cattle. *J. Anim. Sci.*, 76: 239, (Suppl. 1).
4. Den Daas, J.H.G., G. Dejong, L. Lansbergen, A.M. Van Wagtendonk-De Leewu. 1998. The relationship between the number of spermatozoa inseminated and the reproductive efficiency of individual bulls. *J. Dairy Sci.*, 81:1714-1723.
5. Dransfield, M.G.B., R.L. Nebel, R.E. Pearson, L.D. Warnick. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.*, 70:1874-1882.
6. Evenson, D.P, Z. Darznikiewicz, M.R. Melamed. 1980. Relation of mammalian sperm chromatin heterogeneity of fertility. *Science* 240:1131-1134.

7. Fearon, J.M., PT., Wegener. 2000. Relationship between fertility in cattle and the number of inseminated spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 119: 293-308.
8. Garner, D.L. 1997. Ancillary tests of bull semen quality. *Veterinary Clinics of North America - Food animal Practice* 13 (2): 313-319.
9. Gleedhill, B.L. 1970. Enigma of spermatozoal DNA and male infertility: a review. *Am. J. Vet. Res.* 31:539-549.
10. Graham, J.K. 1994. In vitro assays of bull fertility. *Proc. 15th Tech. Conf. Artif. Insem. and Reprod. NAAB, Columbia, MO.* pp 74-81.
11. Hawk, H.W, H.H. Conley, R.J. Wall, R.O. Whitaker. 1988. Fertilization rates in superovulating cows after deposition of semen on the infundibulum, near the uterotubal junction or after insemination with high numbers of sperm. *Theriogenology* 29: 1131-1136.
12. Hawk, H.W 1987. Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. *J. Dairy Sci.*, 70:1487-1503.
13. Hunter, R.H.E, I. Wilmut. 1984. Sperm transport in the cow: periovulatory redistribution of viable cells within the oviduct. *Reprod. Nutr. Develop.* 24:597-603.
14. Larsson, B., K. Larsson. 1986. Sperm localization in the oviducts of artificially inseminated dairy cattle. *Acta. Vet. Scand.* 27:303-312.
15. Lefebvre, R., M.C. Lo, S.S. Suarez. 1997. Bovine binding to oviductal epithelium involves fucose recognition. *Biol. Reprod.* 56:1198-1204.
16. Nadir, S., R.G. Saacke, J. Bame, J. Mullins, S. Degelos. 1993. Effect of freezing semen and dosage of sperm on number of accessory sperm, fertility and embryo quality in artificially inseminated cattle. *J. Anim. Sci.* 71:199-204.
17. Overstreet, J.W, W Cooper, D.E Katz. 1978. Sperm transport in the reproductive tract of the female rabbit. 11. The sustained phase of transport. *Biol. Reprod.* 19:115-132.
18. Parrish, J.J., G.C. Ostermeier. 1998. Fourier harmonic analysis of sperm morphology. *Proc. 17th Tech. Conf. Artif. Insem. and Reprod. NAAB, Columbia MO.* pp. 25-31.
19. Revah, I., B.M. Gadella, E.M. Flesch, B. Colenbrander, S.S. Suarez. 2000. Physiological state of bull sperm affects fucose and mannose-binding properties. *Biol. Reprod.* 62:1010-1015.
20. Saacke, R.G. 1998. AI Fertility: Are we getting the job done? *Proc. 17th Tech. Conf. Artif. Insem. and Reprod. NAAB, Columbia, MO.* pp 6-13.
21. Saacke, R.G., J.C. Dalton, S. Nadir, R.L. Nebel and J.H. Bame. 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Anim. Reprod. Sci.*, 60-61: 663-677.
22. Saacke, R.G., J.M. Dejarnette, J. Bame, D.S. Karabinus, S.S. Whitman. 1998. Can spermatozoa with abnormal heads gain access to the ovum in artificially inseminated super- and single-ovulating cattle? *Theriogenology* 50: 117-128.
23. Saacke, R.G., S. Nadir, J. Dalton, J. Bame, J.M. DeJarnette, S. Degelos and R.L. Nebel. 1994. Accessory sperm evaluation and bull fertility: an update. *Proc. 15th Tech. Conf. Artif. Insem. and Reprod. NAAB, Columbia, MO.* Pp 57-67.
24. Saacke, R.G., S. Nadir, R.L. Nebel. 1994. Relationship of semen quality to sperm transport, fertilization, and embryo quality in ruminants. *Theriogenology* 41:45-50.
25. Sakkas, D., G. Manicardi, P.G. Bianchi, D. Bizzaro and U. Bianchi. 1995. Relationship between the presence of endogenous nicks and sperm chromatin packaging in maturing and fertilizing mouse spermatozoa. *Biol. Reprod.* 52:1140-1155.
26. Sakkas, D., E Urner, P.G. Bianchi, D. Bizzaro, I. Wagner, N. Jaquenoud, G. Manicardi, A. Campana. 1996. Sperm Chromatin anomalies can influence decondensation after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reprod.* 11: 837-843.
27. Suarez, S.S., X. Dai. 1992. Hyperactivation enhances mouse sperm capacity for penetrating viscoelastic media. *Biol. Reprod.* 46:686-691.
28. Topfer-Petersen, E., A.M. Petrounkina, M. EkhlasiHundrieser. 2000. Oocyte-sperm interactions. *Anim. Reprod. Sci.*, 0-61:653-652.
29. Walker, W.L., R.L.Nebel, M.L. McGilliard. 1996. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 79:1555-1561.
30. Wilmut I., R.H.E Hunter. 1984. Sperm transport into the oviducts of heifers mated early in estrus. *Reprod. Nutr. Develop.* 24:461-465.

Volver a: [Inseminación Artificial](#)