

Biologia dello Sviluppo e Filogenesi Animale

Docente: Palma Simoniello

Centro Direzionale Isola C 4° piano

palma.simoniello@uniparthenope.it

La gametogenesi si realizza nelle gonadi, organi che oltre alla produzione di cellule specializzate sono impegnate nella produzione e nel rilascio di ormoni, gli ormoni sessuali responsabili dello sviluppo dei caratteri sessuali secondari e del regolare andamento della gametogenesi.

Fasi della gametogenesi:

1. Fase proliferativa: gli spermatogoni o ovogoni si dividono per mitosi (nei mammiferi, **nel maschio perdura per tutto il ciclo vitale**, nella femmina è limitata al periodo embrionale

2. Fase meiotica: il corredo cromosomico si modifica , diventa aploide e subisce rimaneggiamenti che producono variabilità genica . **Nel maschio la meiosi comincia alla pubertà**. Nella linea femminile inizia durante la vita embrionale e subisce due arresti durante il ciclo vitale: primo arresto prima della nascita, sblocco alla pubertà sotto lo stimolo delle gonadotropine Secondo blocco stadio di metafase II . Il secondo blocco sarà rimosso solo al momento della fecondazione

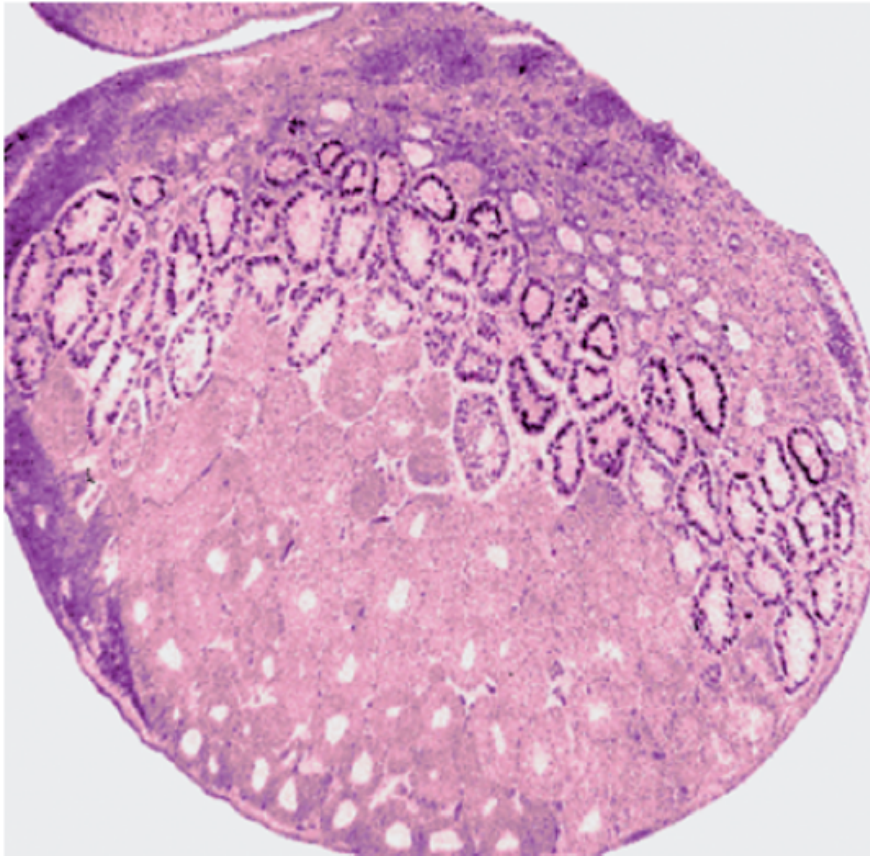
3. Fase differenziativa caratterizzata da cambiamenti a livello citoplasmatico e nucleare.

Spermioistogenesi :

- ✓ Organizzazione della gonade maschile : il testicolo
- ✓ Stadi della spermioistogenesi
- ✓ Controllo della spermatogenesi
- ✓ Struttura e morfologia dello spermatozoo
- ✓ Fattori che provocano danni al processo della spermatogenesi
- ✓ Capacitazione dello spermatozoo

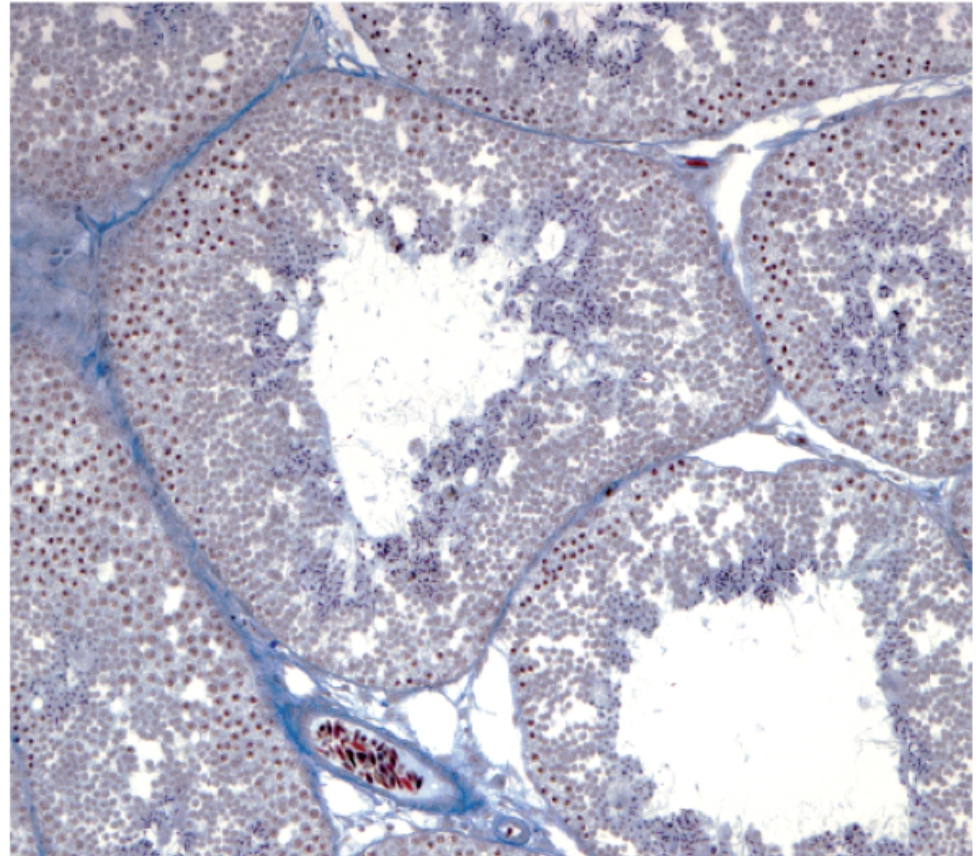
Organizzazione dei testicoli

Ampollare o Cistico



(a)

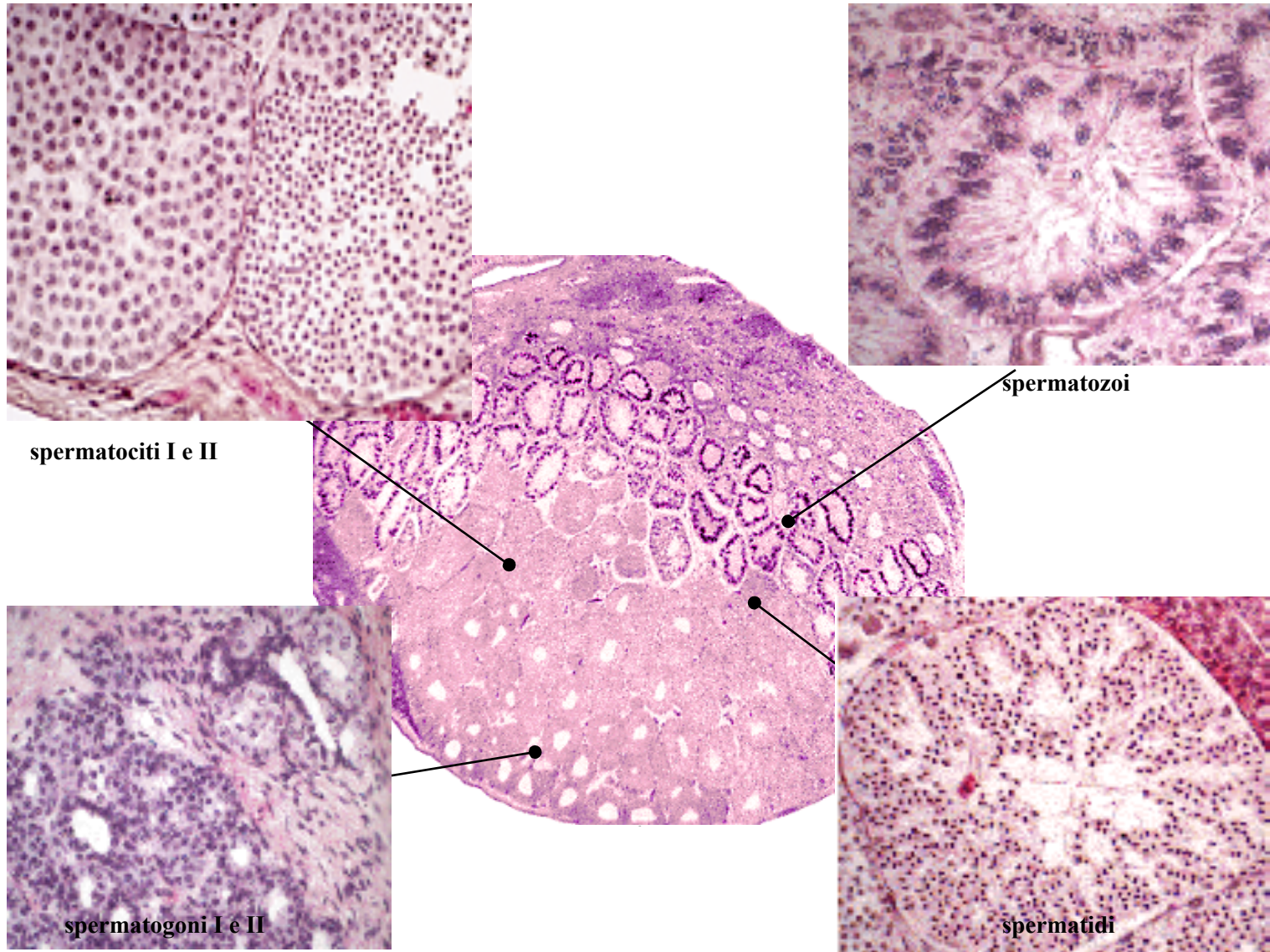
Tubulare



(b)

Figura 3.9 (a) Testicolo di tipo cistico del pesce cartilagineo *Torpedo marmorata*. Notare come le cellule germinali presenti all'interno di ogni ciste si trovino tutte allo stesso momento del loro differenziamento. (b) Testicolo di tipo tubulare di rettile in fase riproduttiva. In ogni tubulo, tagliato trasversalmente, sono evidenziabili i differenti stadi di differenziamento delle cellule germinali, da spermatogone a spermatozoo.

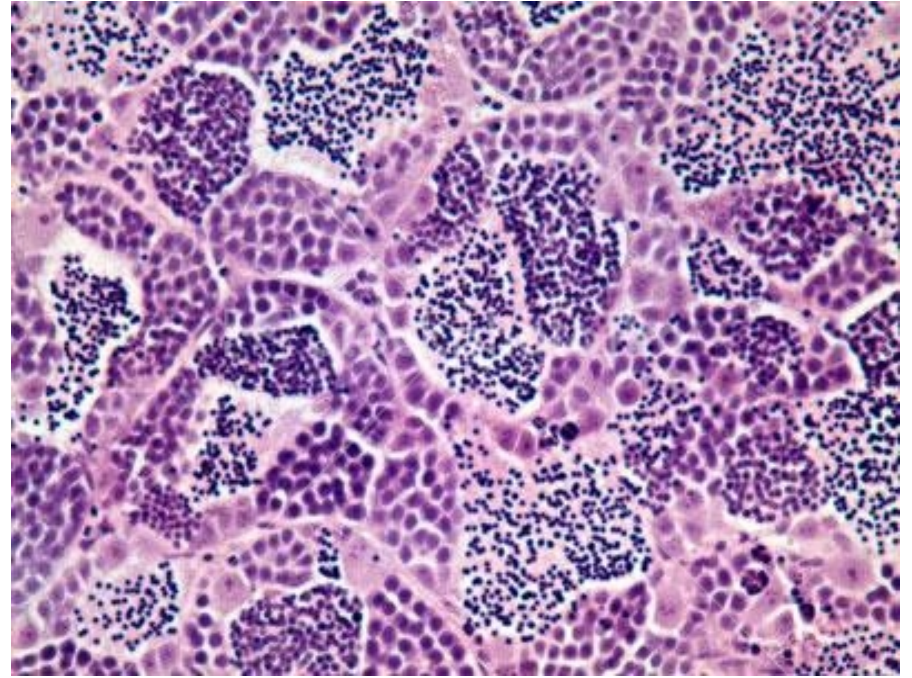
Organizzazione del testicolo cistico



Organizzazione dei testicoli

V. Reproduction in Amphibians

437

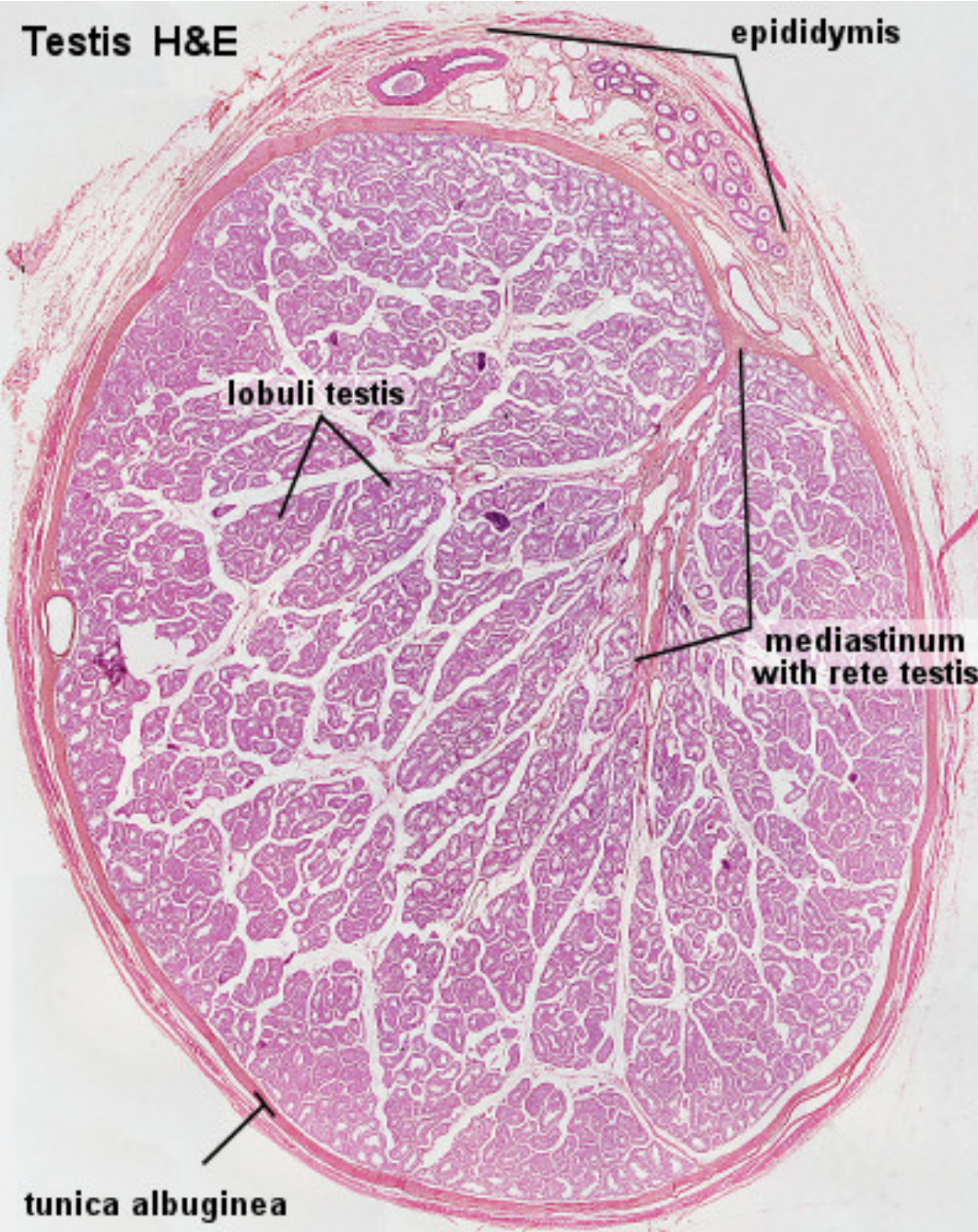


Nel testicolo cistico o ampollare (anfibi urodeli e molti pesci) ogni cisti è formata da cellule di sostegno (Sertoli) e da cellule germinali tutte allo stesso stadio differenziativo.

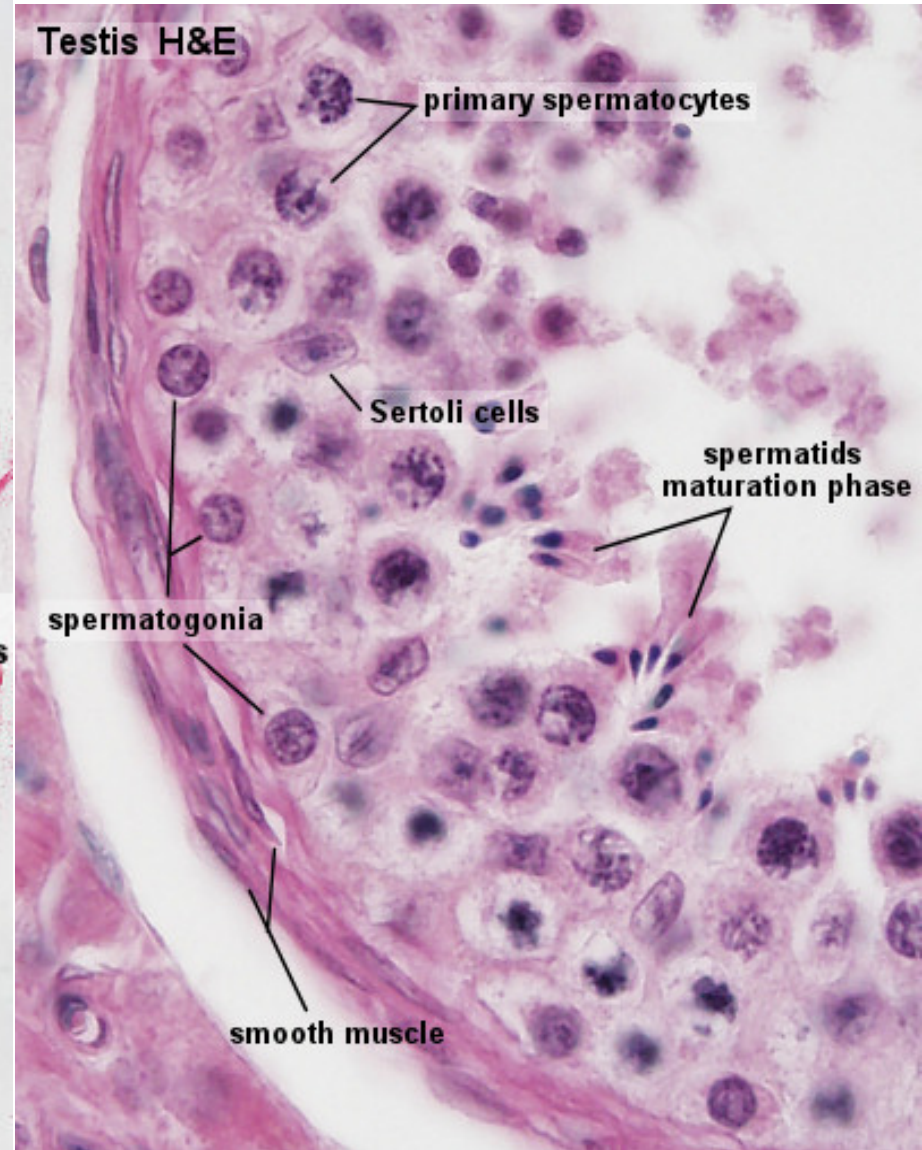
Nei tubuli seminiferi (mammiferi, uccelli, rettili e anfibi anuri) le cellule germinali maturano e si differenziano dal compartimento basale verso il lume. In molti vertebrati la produzione di androgeni è deputata alle cellule di Sertoli.

Organizzazione dei testicoli tubulari

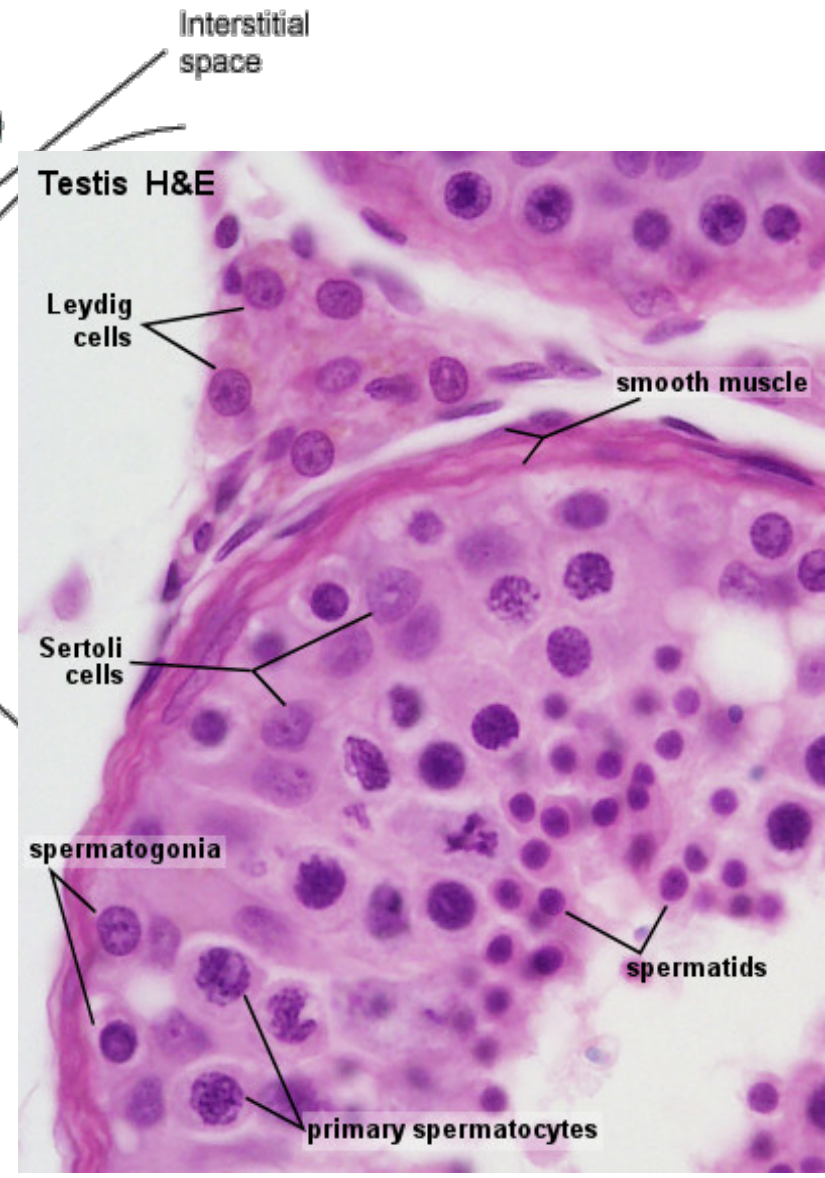
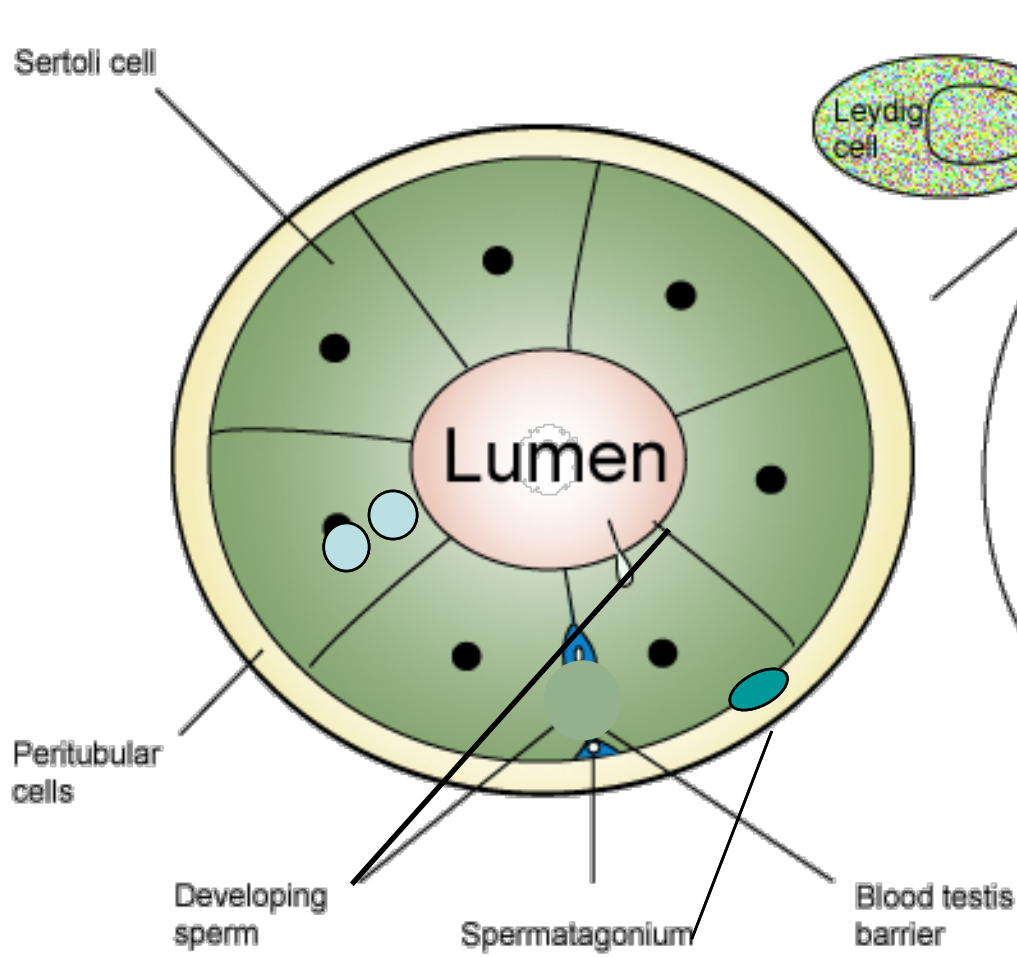
Testis H&E



Testis H&E



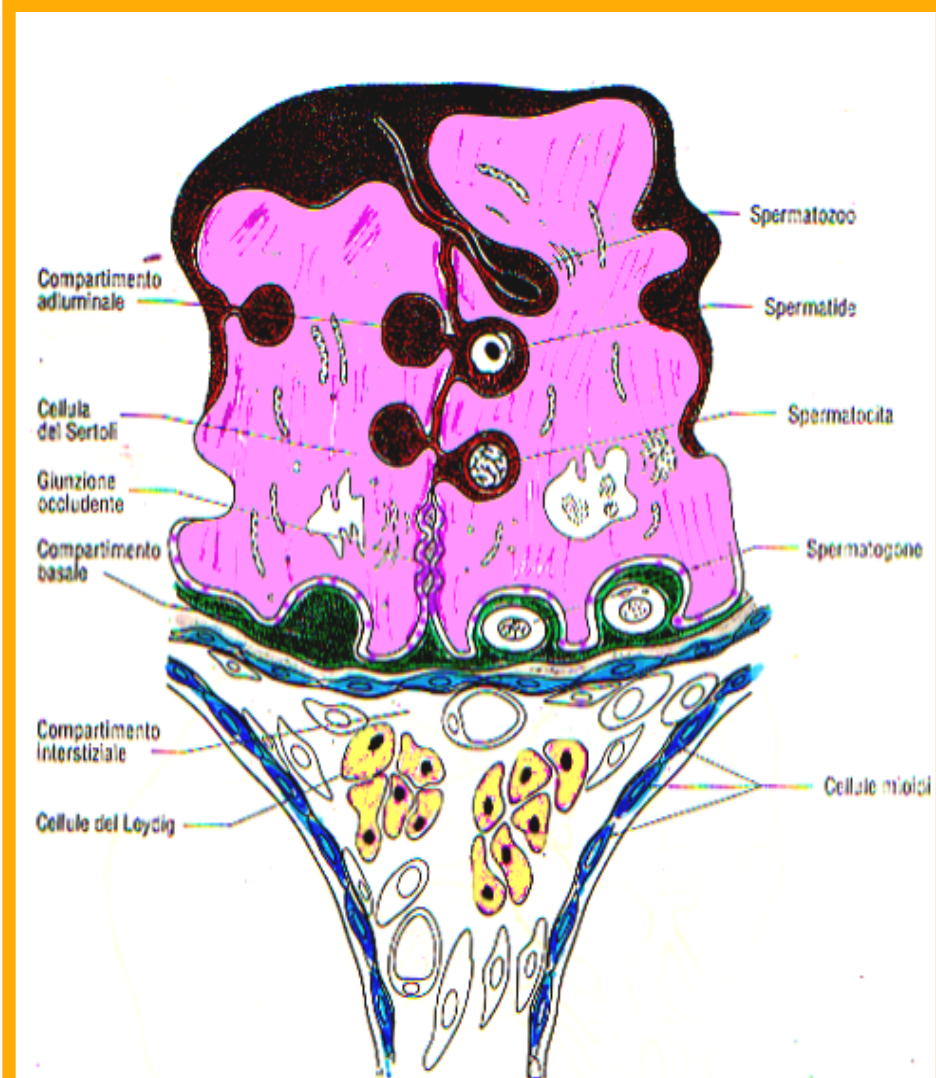
Le cellule del testicolo



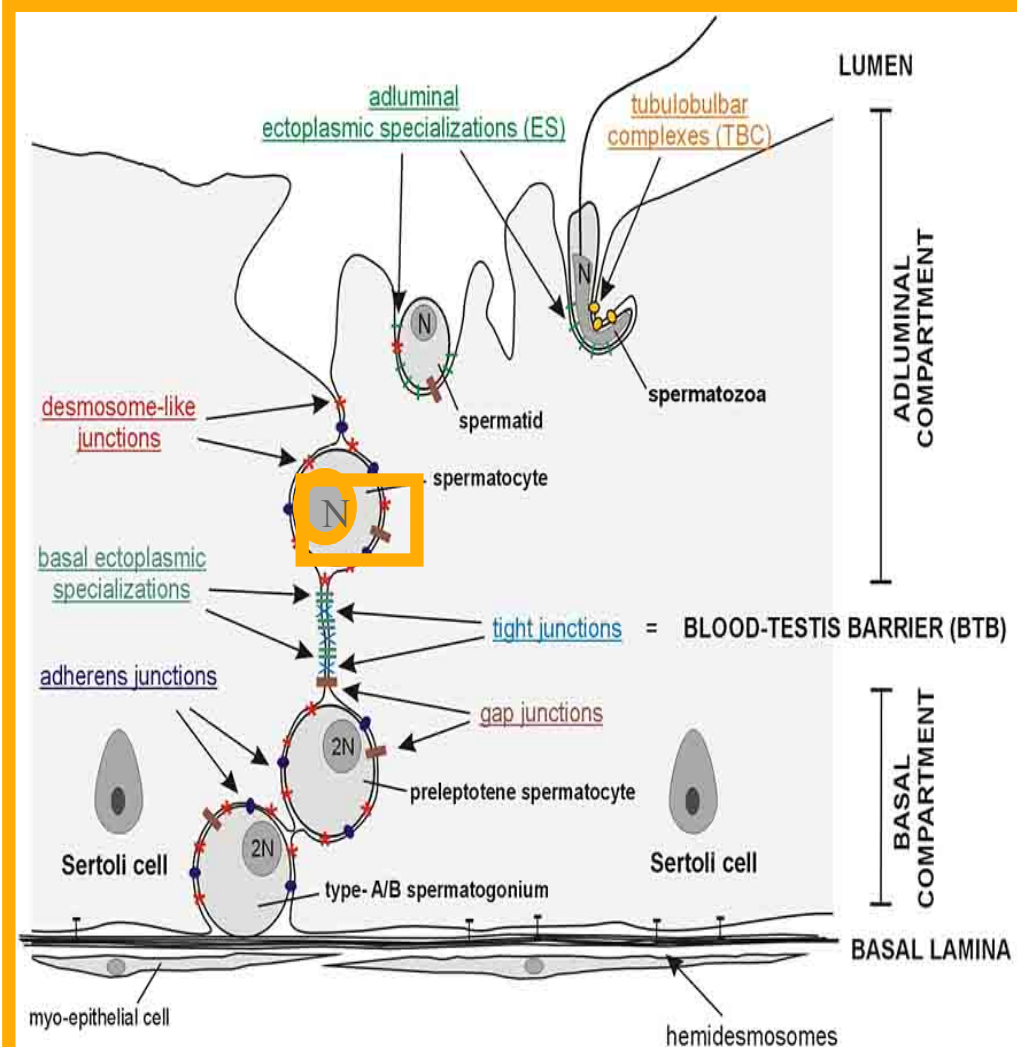
Funzioni delle cellule del Sertoli

- Forniscono sostegno e protezione alle cellule germinali
- Formano il compartimento basale ed adluminale
- Formano la barriera emato-testicolare
- Producono fluido testicolare
- Fagocitano i corpi residui
- Producono il fattore anti-dotto di Muller
- Producono ABP (proteine che legano gli androgeni)
 - “ fattori di crescita che agiscono sulle cellule germinali
 - “ l’attivina e l’inibina

Giunzioni Cellule del Sertoli



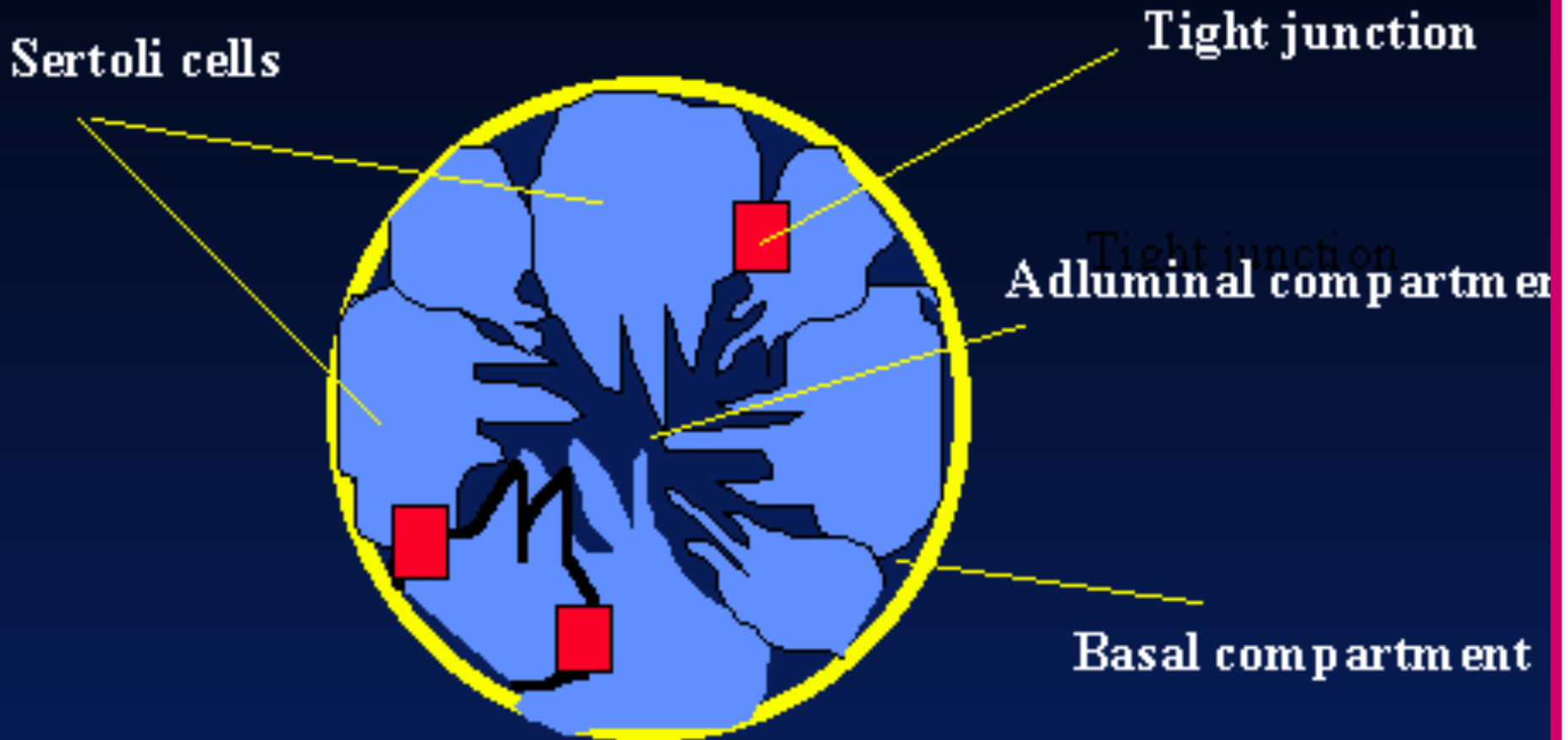
Sezione schematica di alcuni tubuli seminiferi. I tre compartimenti del testicolo (basale, adluminale e interstiziale) sono separati dalla barriera emato-testicolare e dalla parete del tubulo.



- I = adluminal ES: $\alpha 6 \beta 1$ integrin complex + NAP-complex (+ cadherin/catenin-complex?)
- II = basal ES: cadherin/catenin complex + NAP-complex (+ $\alpha 6 \beta 1$ integrin complex?)
- = adherens junctions: cadherin/catenin complex (+ NAP-complex?)
- = tubulobulbar complexes (TBC)
- * = desmosome-like junctions
- ⊗ = tight junction
- = gap junction

Barriera emato-testicolare

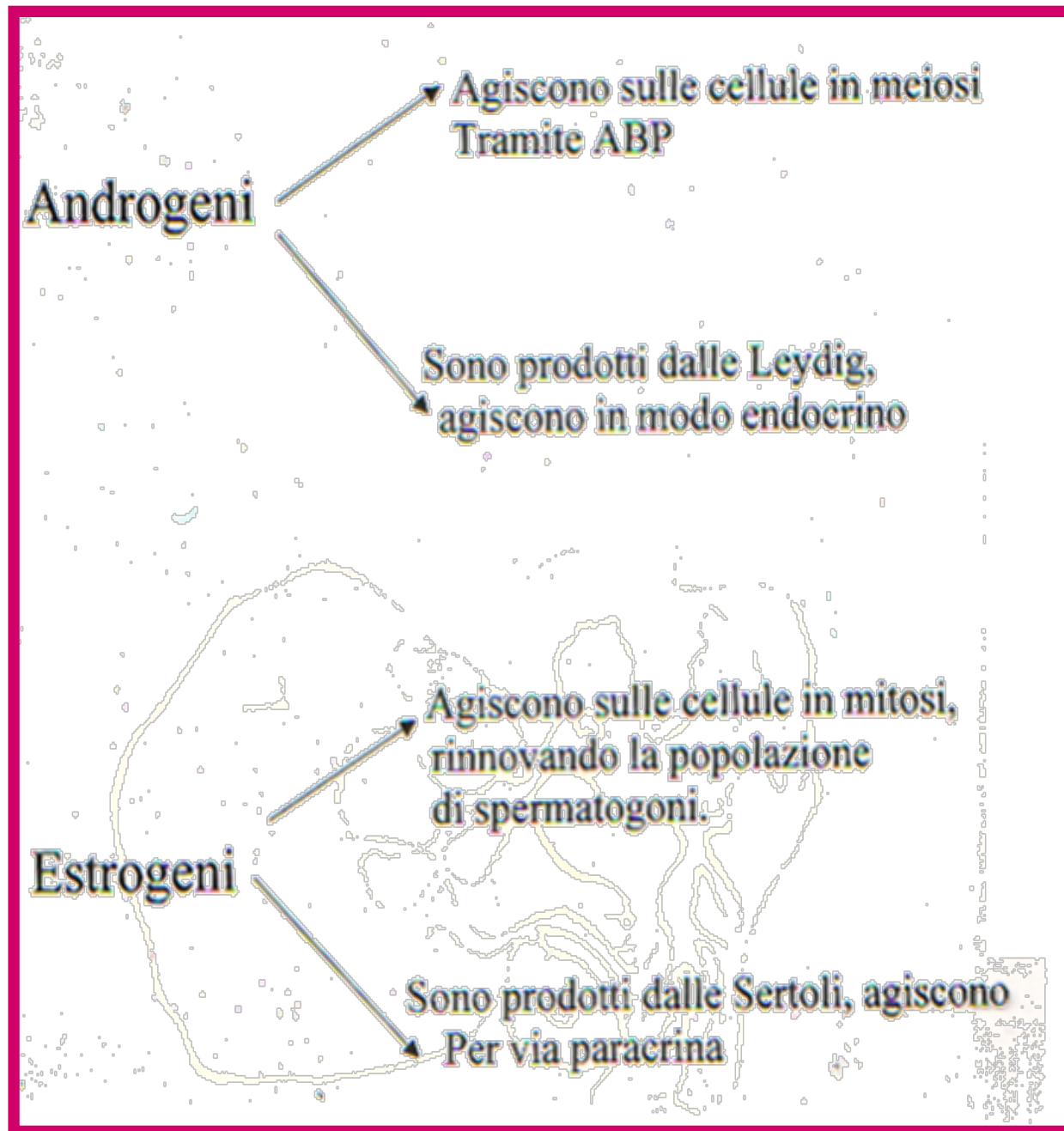
Blood-testis barrier



Funzioni delle cellule di Leydig

- Formano il compartimento interstiziale
- Sintetizzano ormoni sessuali maschili di natura steroidea (testosterone, estradiolo) sotto l'azione dell'LH
- Le cellule del Leydig mediante il testosterone agiscono:
 - * sulle cellule germinali attraverso le Sertoli
 - * sulle cellule del Sertoli mediante l'azione di mediatori locali come l'ABP (*androgen-binding protein*)
 - * sugli organi stimolando alla pubertà l'espressione dei caratteri sessuali secondari (pelosità, massa muscolare, ossa)
 - * su ipotalamo ed ipofisi con una regolazione di tipo feedback regolando la produzione di GnRH, LH, FSH

Regolazione ormonale spermatogenesi



Controllo della spermatogenesi

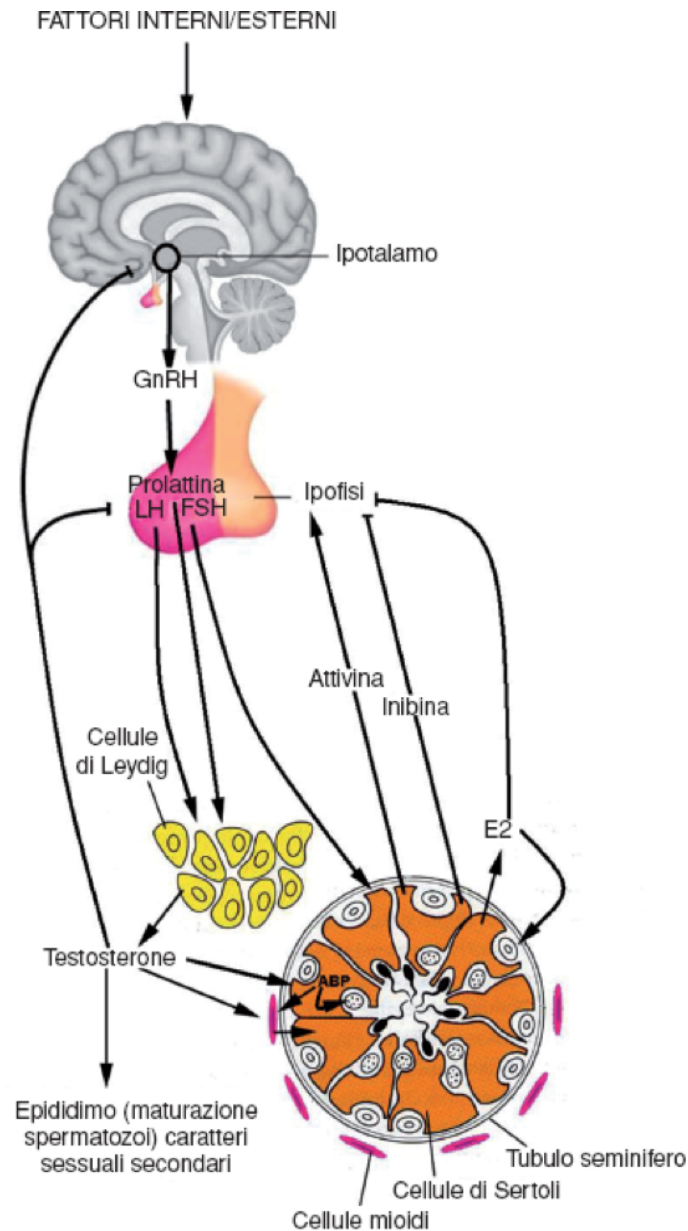


Figura 3.18 Schema riassuntivo del possibile meccanismo di regolazione della spermatogenesi nei mammiferi.

La spermatogenesi è regolata dalle **gonadotropine** e da **fattori testicolari ad azione paracrina**

FSH inizia la spermatogenesi: stimola proliferazione spermatogoni e formazione spermatociti I
-nelle cellule di Sertoli: produzione ABP (Androgen Binding Protein); mitosi; secrezione di steroidogenesis stimulating protein che aumenta la steroidogenesi

LH stimola steroidogenesi (produzione testosterone) in cellule di Leydig.

Testosterone stimola la meiosi in spermatociti I e regola la spermioistogenesi.

Controllo della spermatogenesi

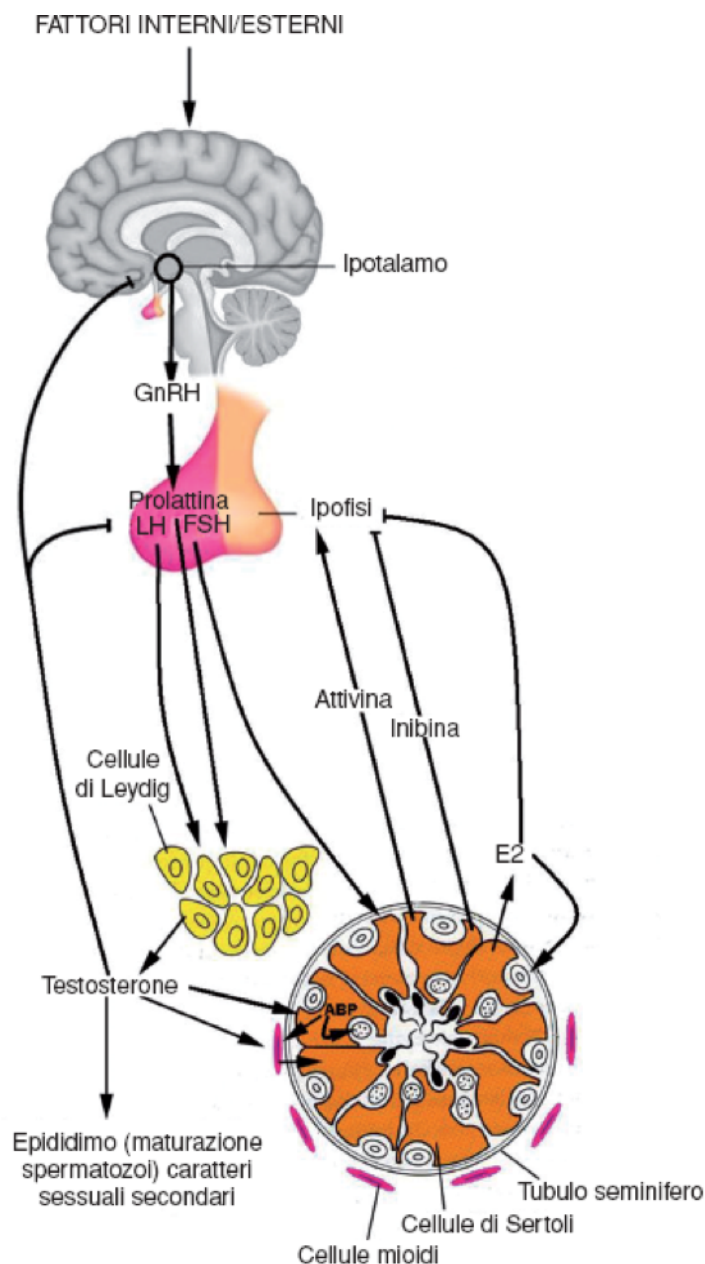


Figura 3.18 Schema riassuntivo del possibile meccanismo di regolazione della spermatogenesi nei mammiferi.

Nelle cellule di Sertoli il testosterone viene aromatizzato ad **estradiolo (E2)** (FSH stimola produzione aromatasi).

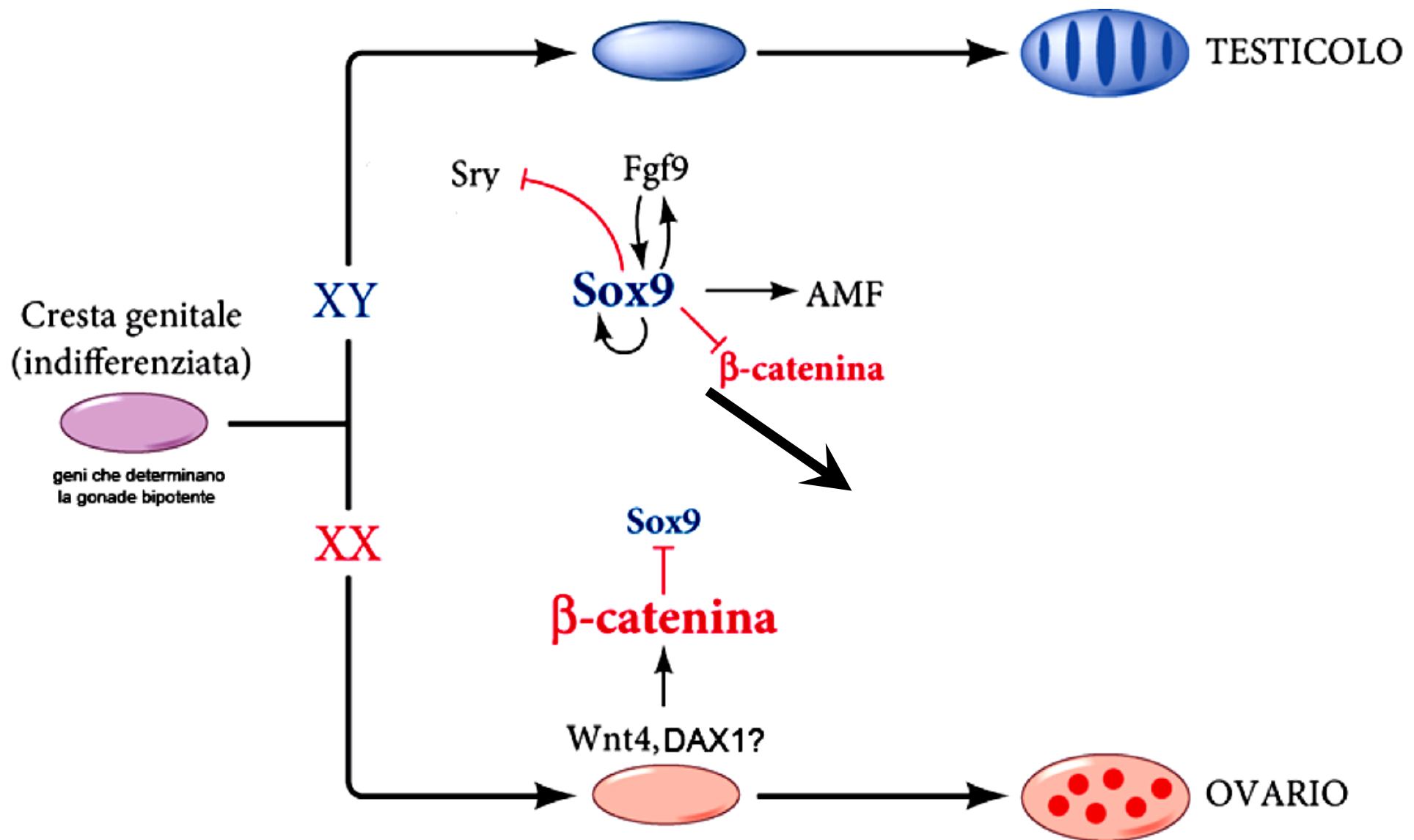
E2 regola la sintesi di androgeni e la risposta alle gonadotropine:

Feedback negativo su ipofisi

FSH stimola nelle Sertoli produzione di:

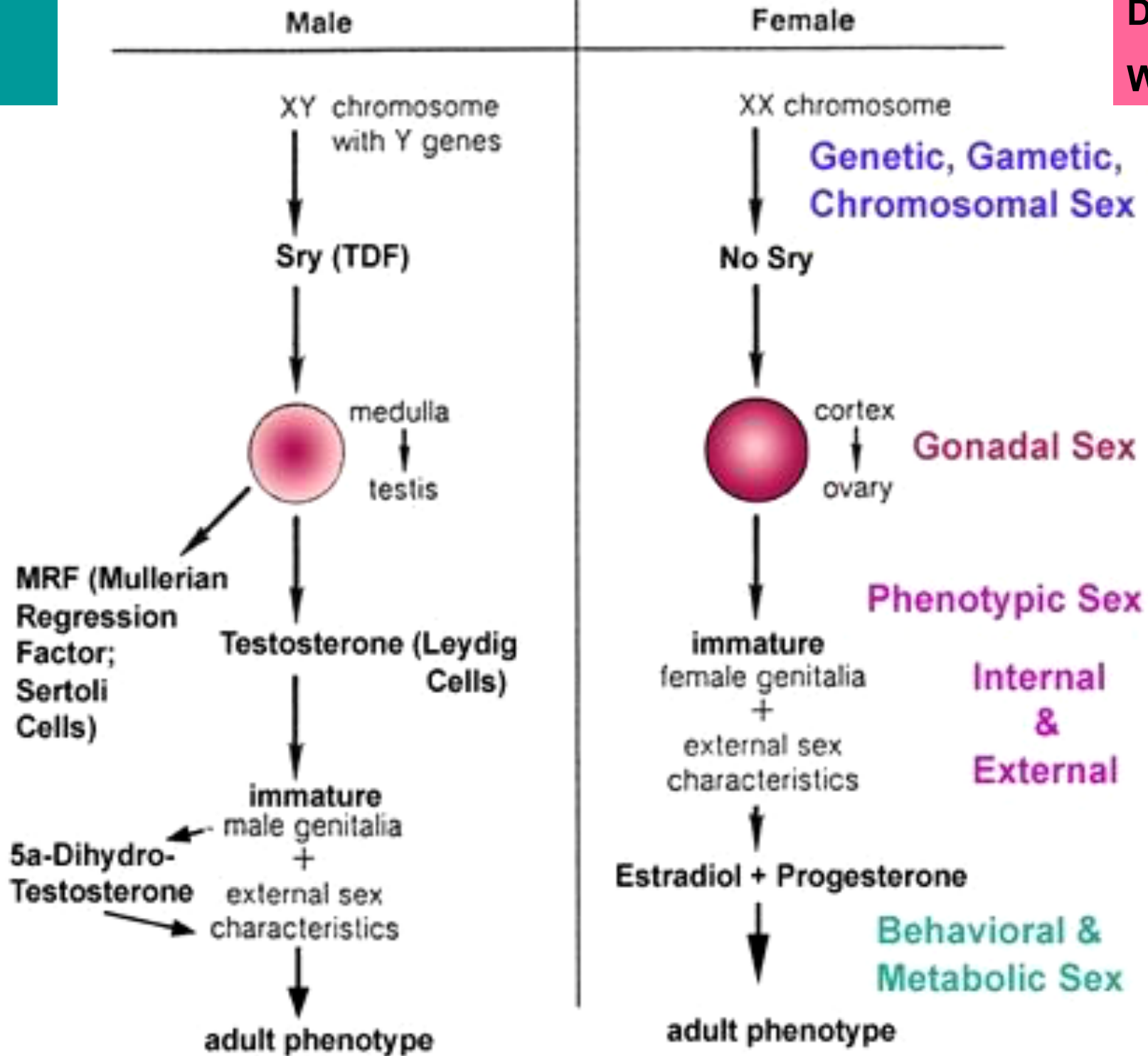
- **Inibina** che selettivamente blocca il rilascio di FSH: *feedback negativo*;
- **Attivina** che mostra una potente attività di rilascio di FSH sull'ipofisi (dimostrato sperimentalmente): *feedback positivo*.

Sox9, gene autosomico è essenziale per la determinazione del sesso maschile. E' presente in tutti i vertebrati. Nei mammiferi è attivato da Sry. Nella specie umana individui XX con una copia di Sox9 in più si sviluppano come maschi

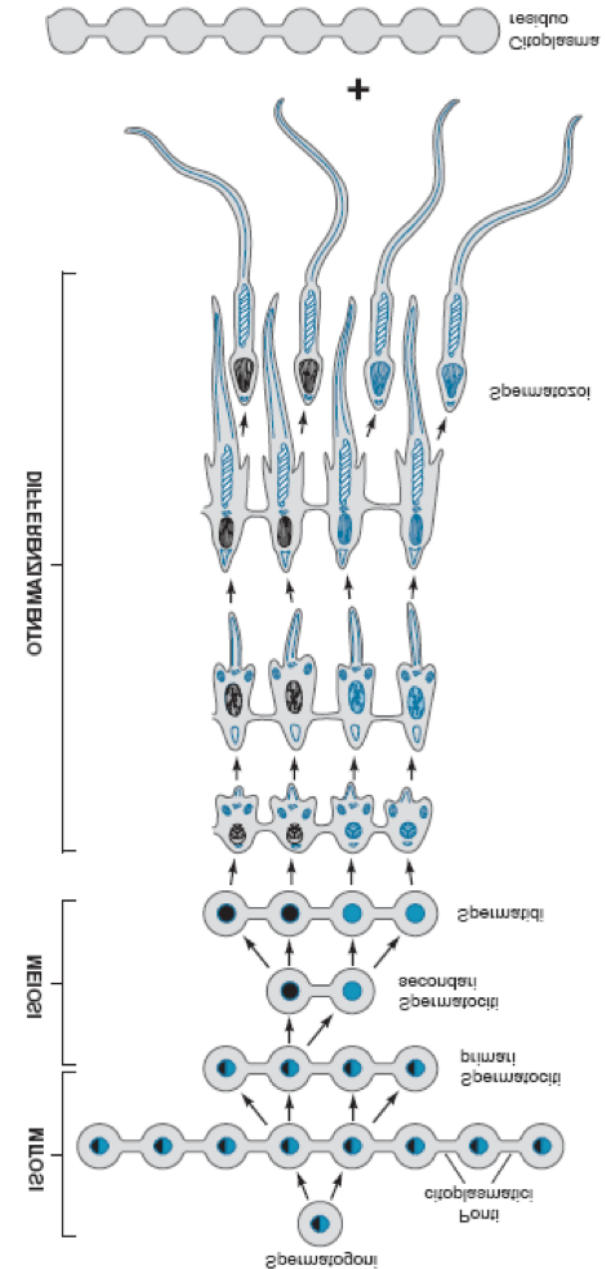
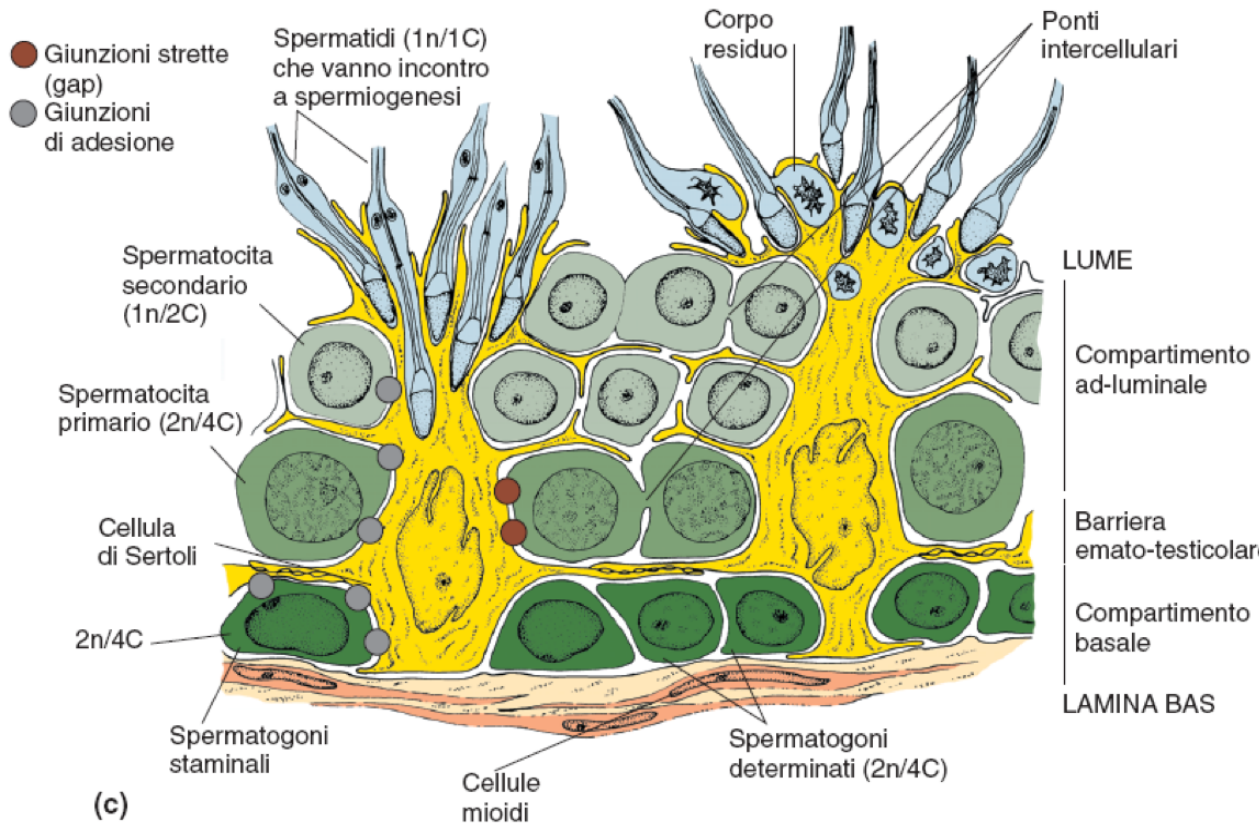


SRY
SOX9

DAX1
WNT4



Spermatogenesi



Spermioistogenesi

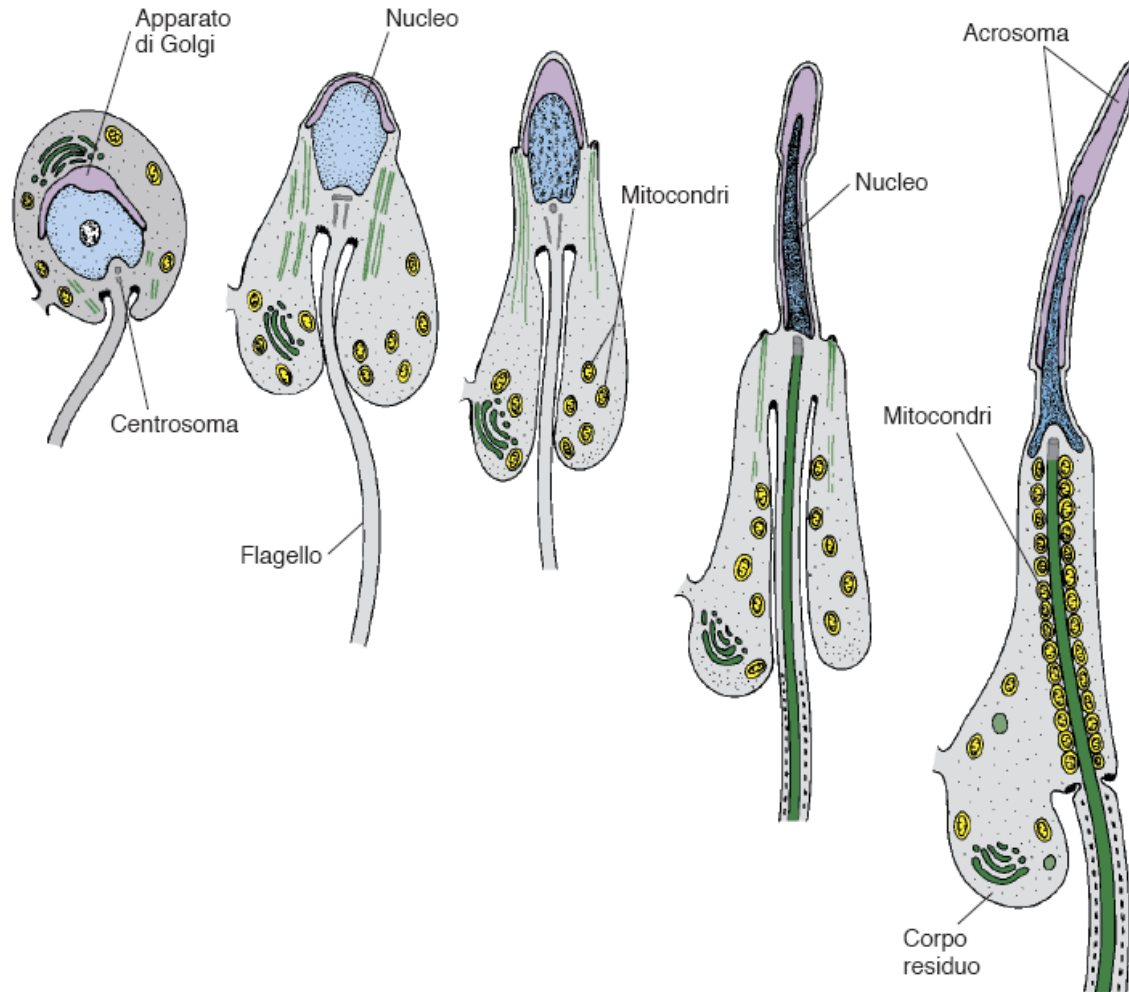
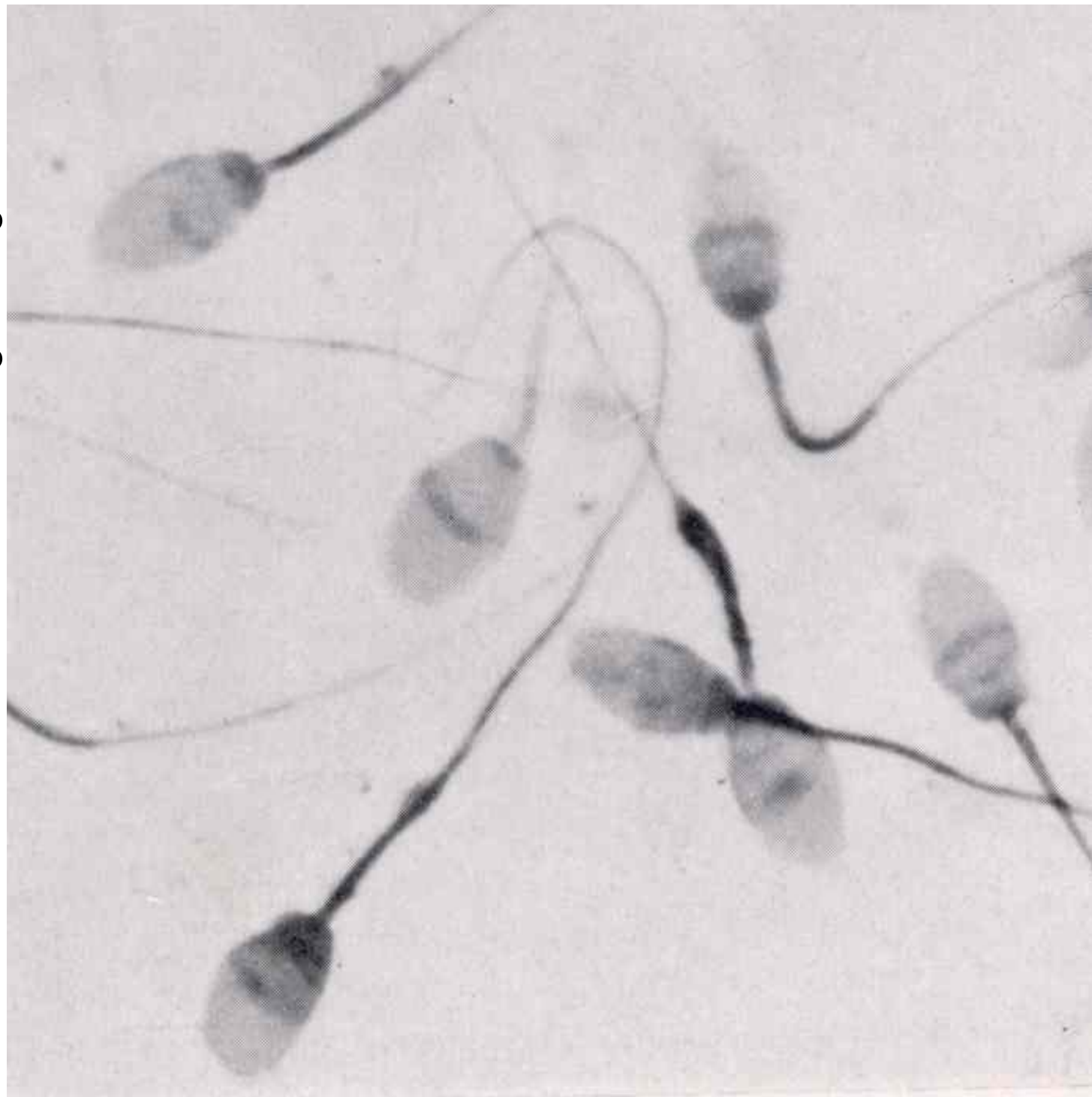


Figura 3.13 Rappresentazione schematica di stadi successivi della spermioistogenesi nel porcellino d'India secondo quanto è osservabile al microscopio elettronico a trasmissione. Tra i cambiamenti più significativi si possono ricordare: la formazione dell'acrosoma, che si dispone sul nucleo a mo' di cappuccio; il nucleo che da rotondeggiante ed eucromatico diventa eterocromatico e allungato per azione della manchette, la formazione dell'assonema attorno al quale, nella regione più prossimale, si dispongono i mitocondri. Con il procedere del differenziamento la cellula, prima rotondeggiante, diventa progressivamente polarizzata e allungata, con il citoplasma che viene concentrato nella regione posteriore.

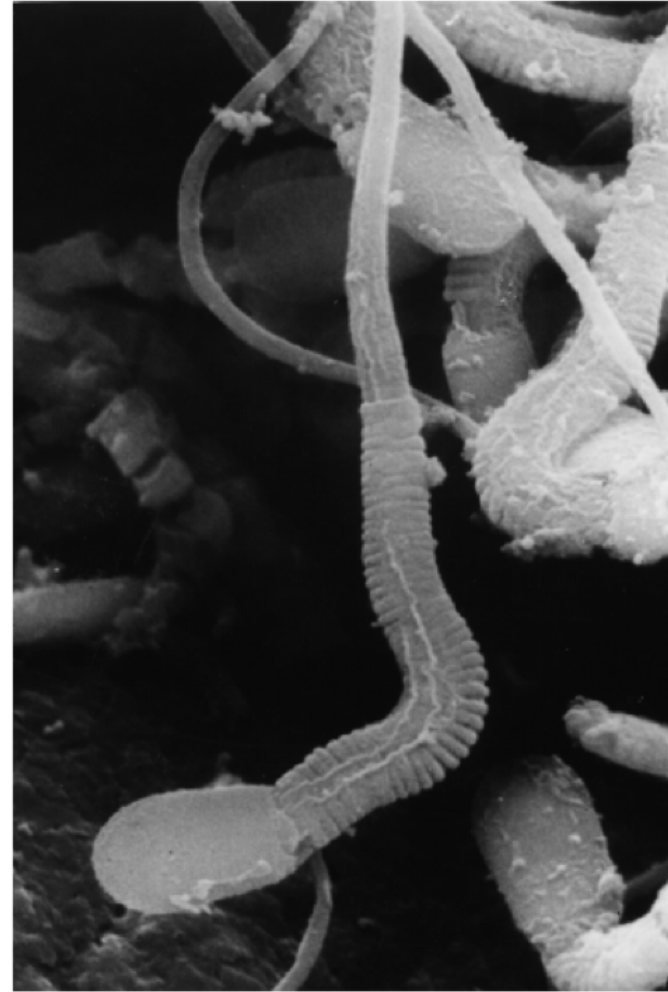
Spermatozoi

Gli spermatozoi liberati dal testicolo non hanno ancora la capacità di fecondare. Quando attraversano l'epididimo acquistano la capacità di muoversi e subiscono la maturazione. Una volta nelle vie genitali femminili subiscono la capacitazione e possono fecondare l'uovo.





(a)



(b)

Figura 3.14 Immagini di spermatozoo flagellato al microscopio ottico (a) e al microscopio elettronico a scansione (b). Sono riconoscibili la testa, il collo e la coda, nella quale sono riconoscibili il segmento intermedio e il segmento principale.



b

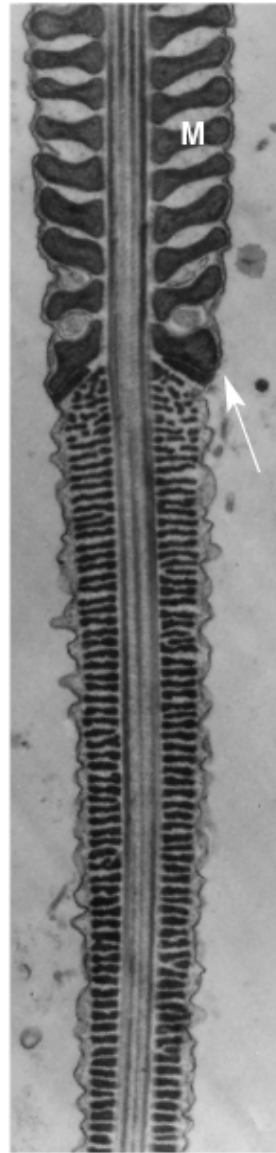
Figura 3.15 Sezioni trasversali di differenti regioni di uno spermatozoo di mammifero (*Pipistrellus*) al microscopio elettronico a trasmissione. **(a)** Regione anteriore della testa rivestita da acrosoma; **(b)** regione posteriore a livello del collo priva di acrosoma; **(c)** segmento intermedio con, dal centro verso la periferia, assonema, fibre dense, mitocondri, membrana plasmatica; **(d)** segmento principale; **(e)** segmento principale con la guaina fibrosa; **(e)** segmento principale nel tratto finale; **(f)** il segmento finale. Notare la presenza del solo assonema.



(a)



(b)



(c)

Figura 3.16 Sezioni sagittali e frontali dello stesso spermatozoo di Figura 3.15. **(a)** sezione sagittale a livello della testa, del collo e della parte iniziale del segmento intermedio; **(b)** sezione frontale della Figura 3.15 a; notare la regione del collo dove sono evidenti il materiale segmentato ed elementi dell'involucro nucleare (freccia). **(c)** sezione sagittale a livello della parte terminale del segmento intermedio e inizio del segmento principale; notare, oltre alla presenza dell'assonema posto centralmente, la presenza dei mitocondri (M), dell'annulus (freccia), che segna il passaggio dal segmento intermedio a quello principale, e infine l'organizzazione metamERICA della guaina fibrosa posta tra la membrana plasmatica esterna e l'assonema centrale.

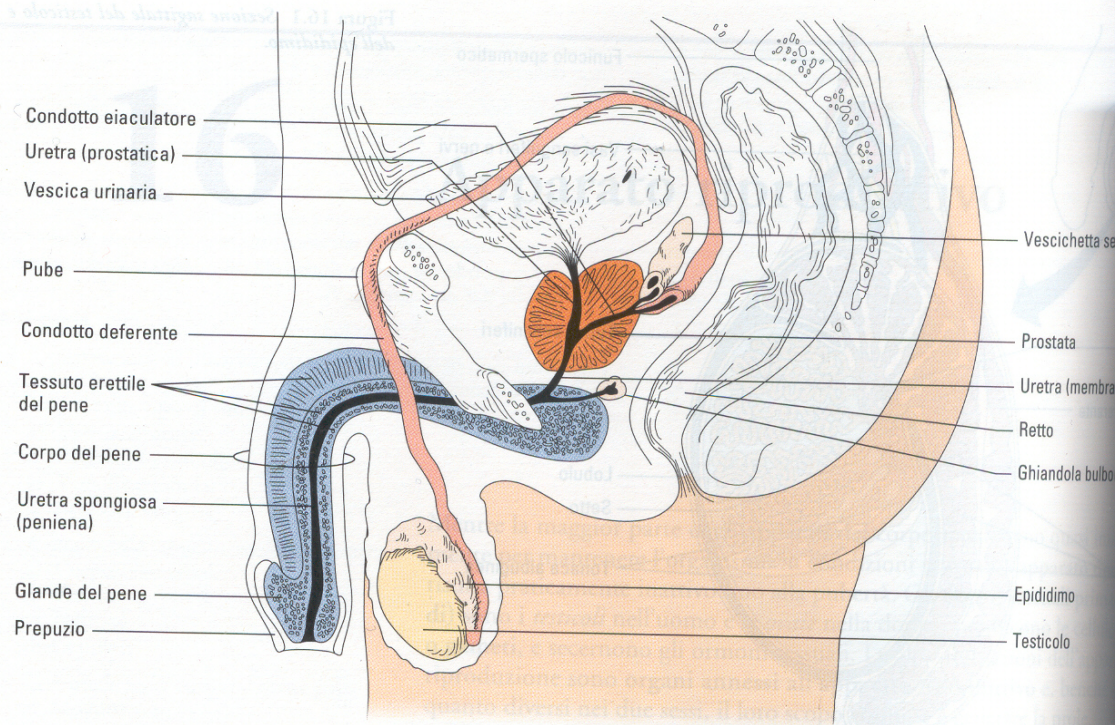


Figura 16.2. Apparato riproduttivo maschile.

Il ruolo del maschio nella riproduzione è di produrre spermatozoi, e di immetterli nelle vie genitali femminili.

Organizzazione del testicolo nei mammiferi:

Tunica albuginea che forma i setti verso l'interno e forma i lobuli in cui sono localizzati i tubuli

850 Capitolo 26

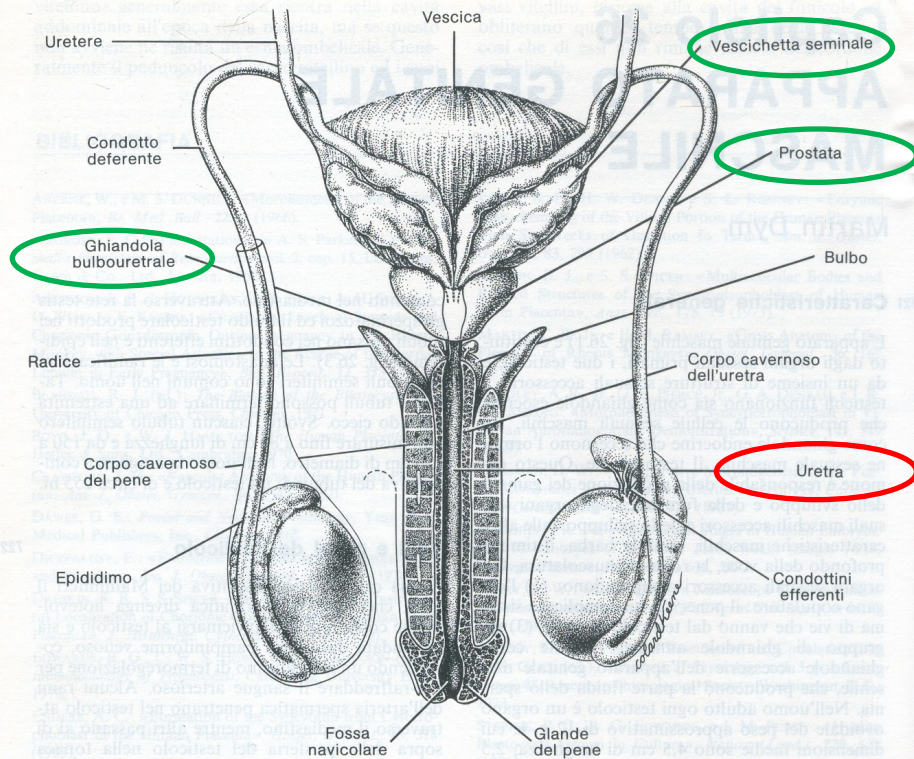


Figura 26.1. Apparato genitale maschile, visto dalla faccia posteriore.

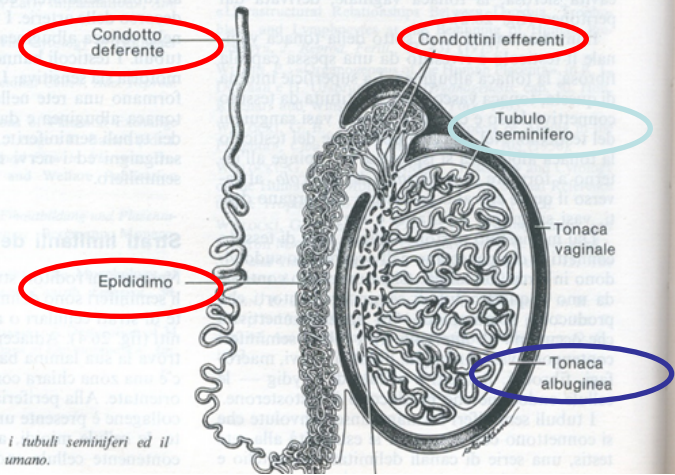
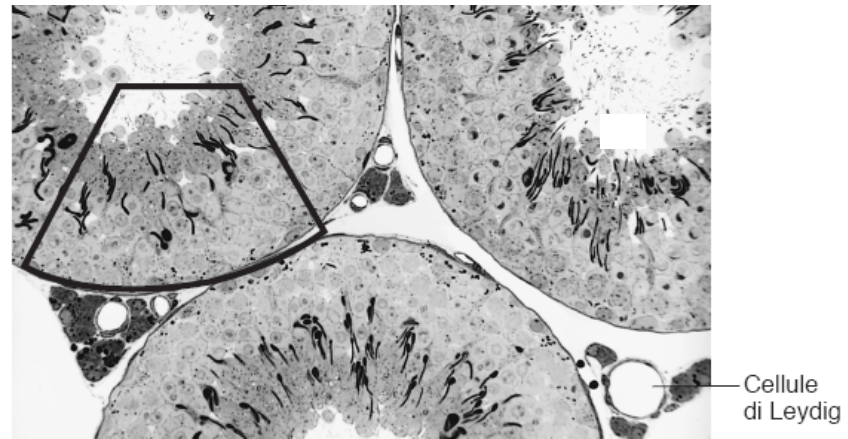
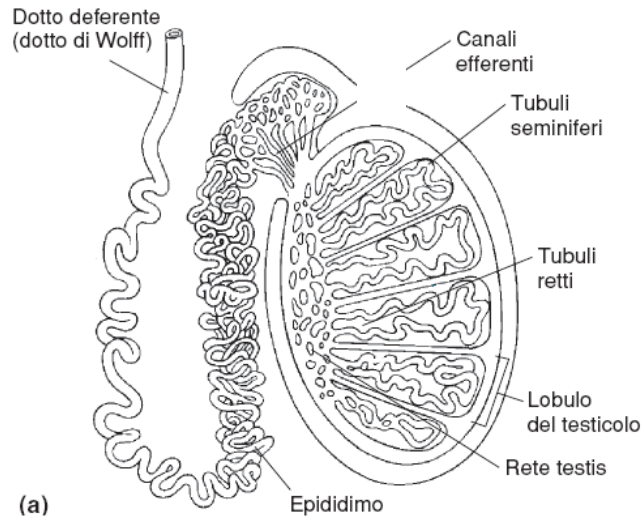


Figura 26.2. Schema che illustra i tubuli seminiferi ed il sistema di vie efferenti del testicolo umano.

Rete testis

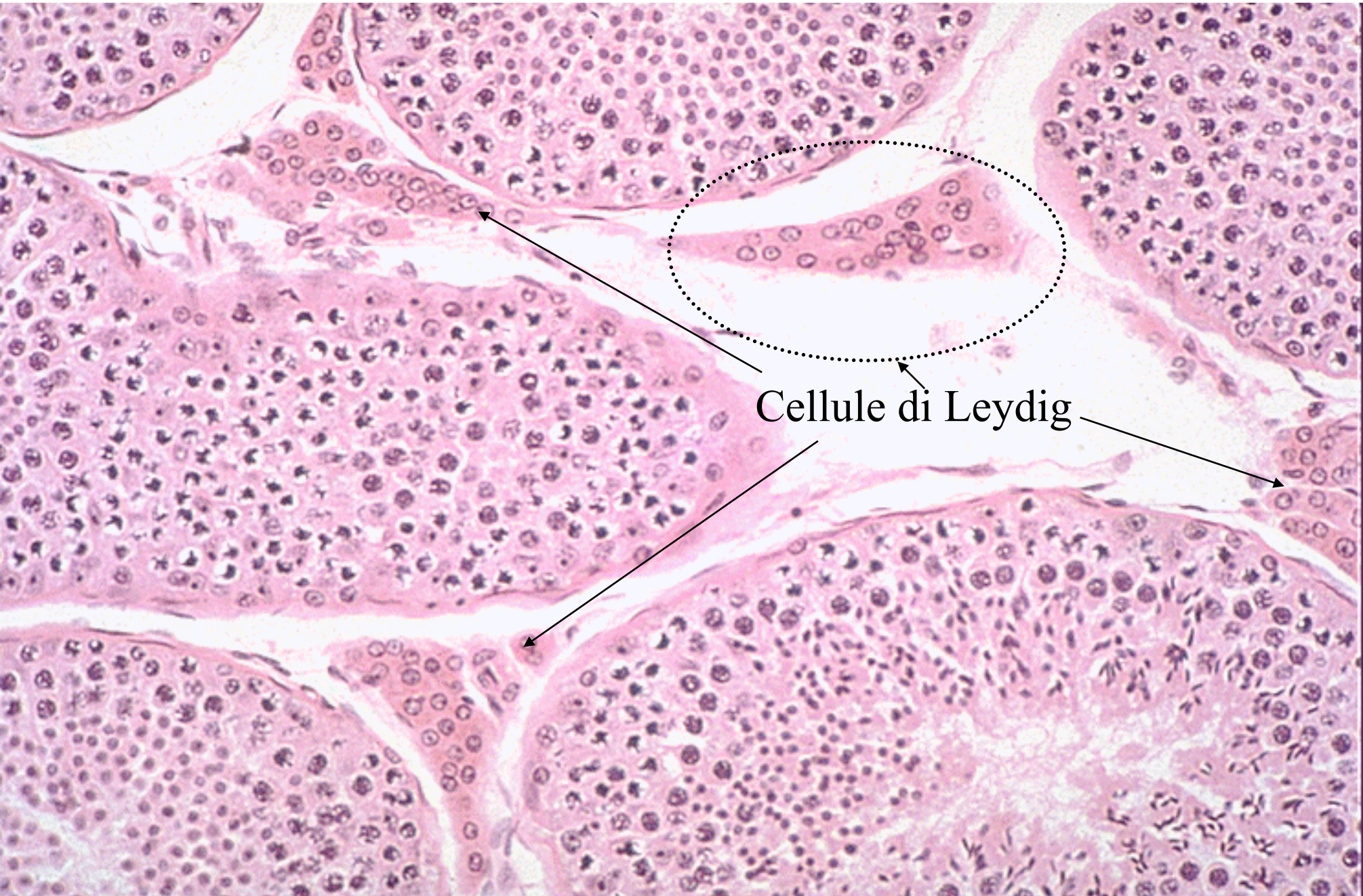
Le estremità dei tubuli convergono verso l'ilo da cui prendono origine **le vie genitali maschili** dalla rete testis all' uretra.

Lungo la vie genitali sono attive le **ghiandole** che sono responsabili della secrezione del liquido spermatico che con gli spermatozoi costituisce lo sperma.

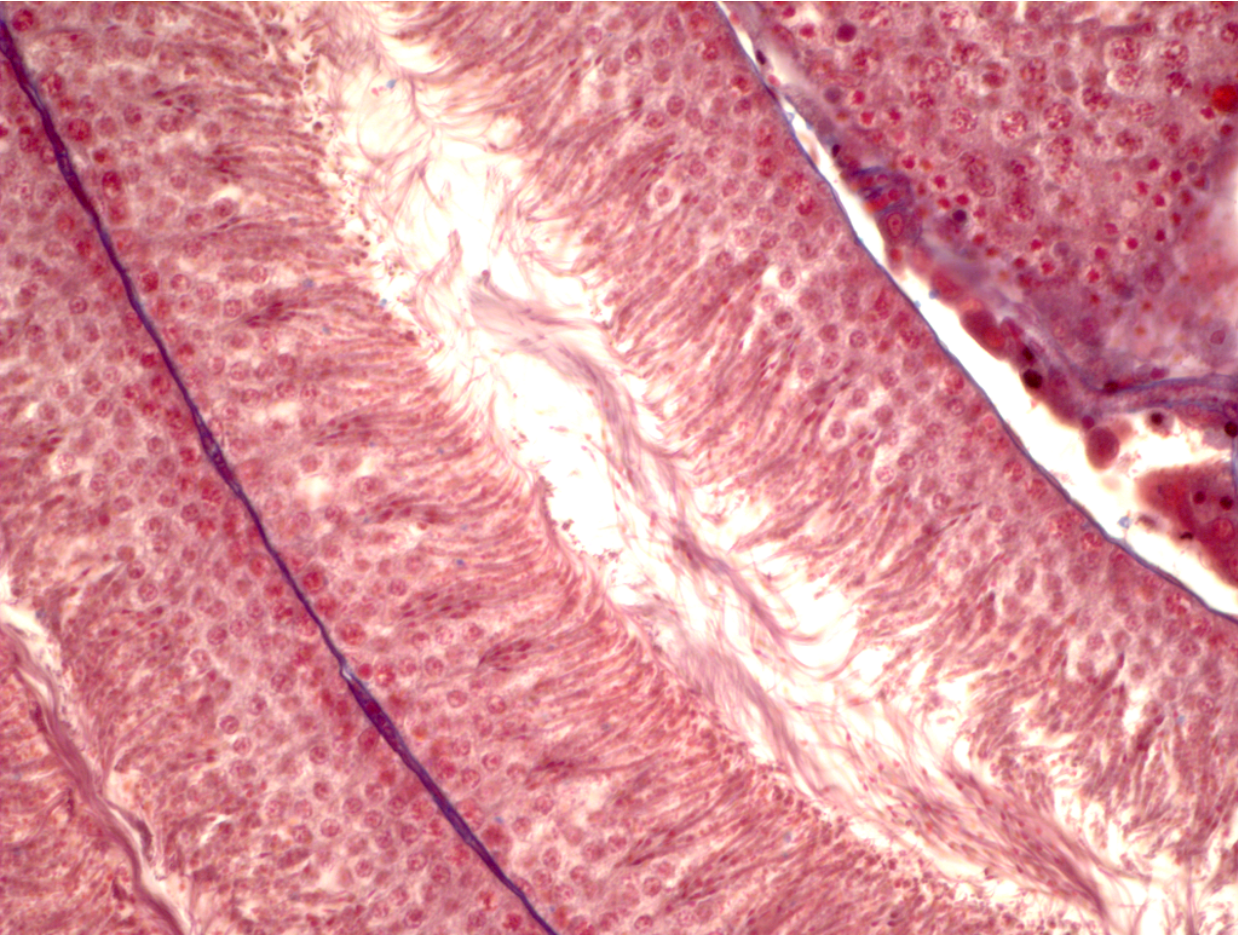


(b) **Figura 3.10** Tubuli seminiferi nel testicolo di mammiferi. (a)

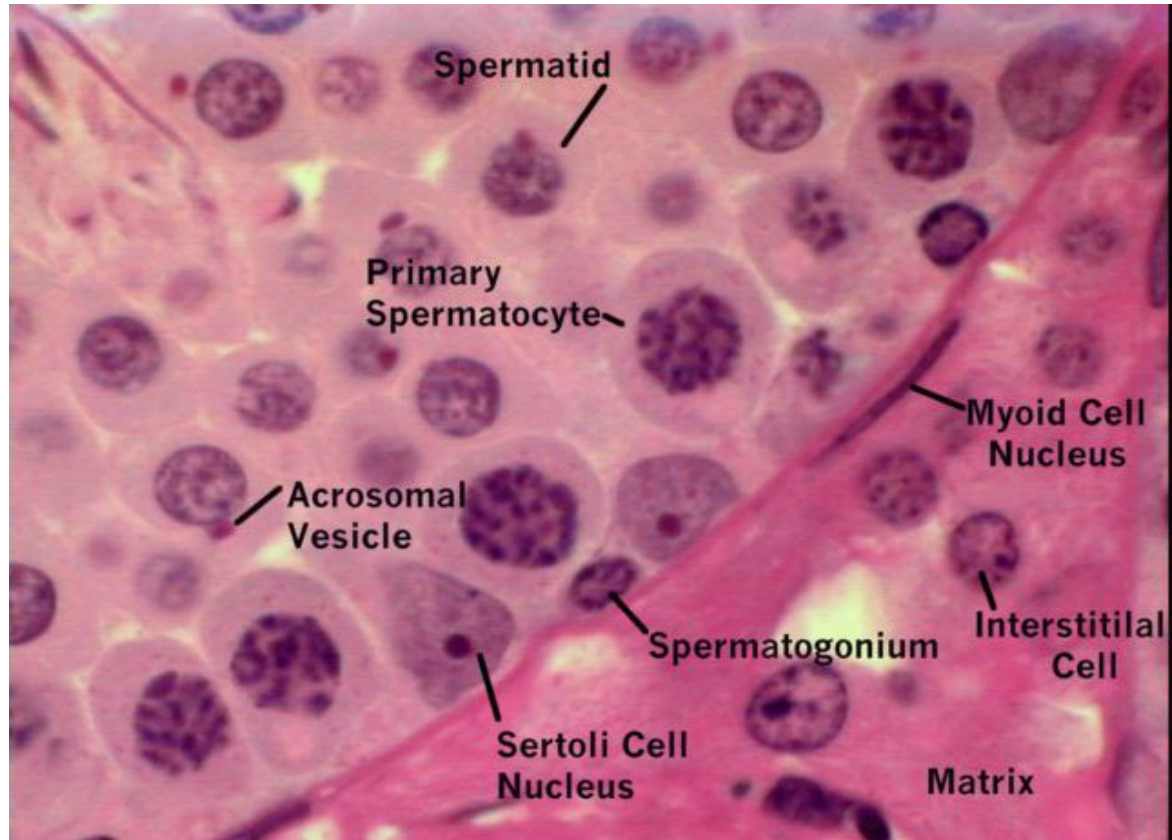
Funzioni delle cellule di Leydig



Sezione sagittale di un tubulo seminifero



Sezione di un tubulo seminifero in cui sono riconoscibili differenti tipi di cellule



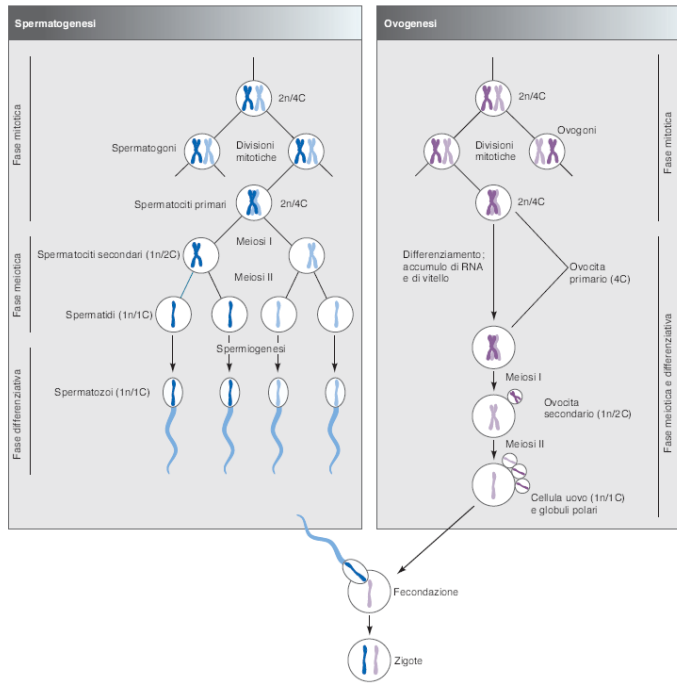


Figura 3.6 Confronto fra spermatogenesi e ovogenesi.

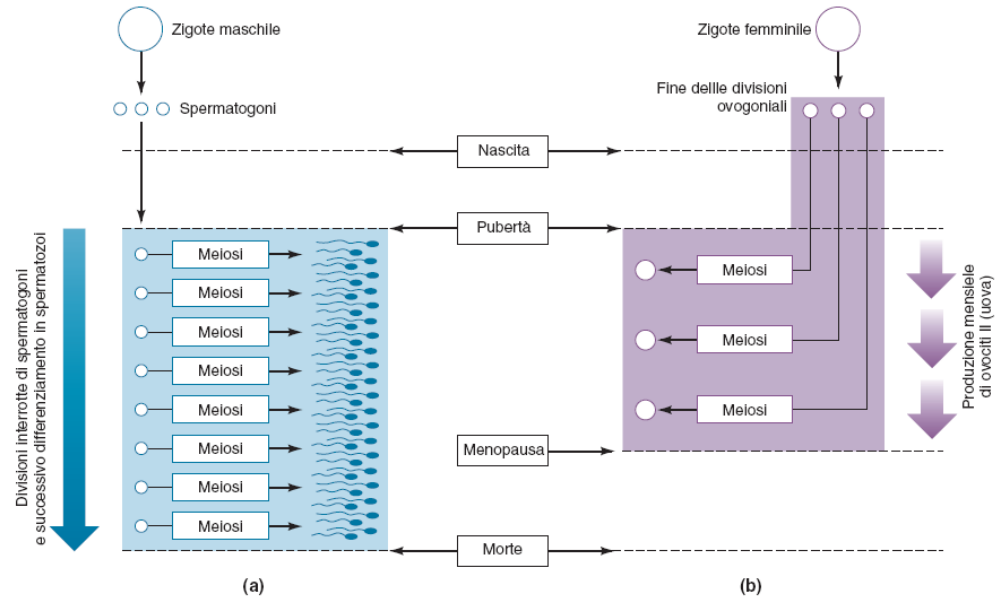


Figura 3.8 Andamento della gametogenesi maschile (a) e femminile (b) nella specie umana. (a) Nell'uomo la spermatogenesi, prima della pubertà, è limitata all'attività mitotica degli spermatozoi. Con la pubertà gli spermatozoi, oltre a dividersi mitoticamente, iniziano a dividersi per meiosi e a differenziarsi in spermatozoi, un processo che è continuo fino alla morte dell'individuo. (b) Nella donna, la meiosi inizia già durante la fase embrionale e termina con la menopausa. Nel periodo di fertilità della donna (pubertà - menopausa) gli ovociti raggiungono il differenziazione finale, periodicamente, uno ogni 28 giorni.

Presentano eterocromatina
 Ritmo di divisione più lento rispetto agli spermatogoni danno origine a due cellule completamente separate
spermatogoni staminali

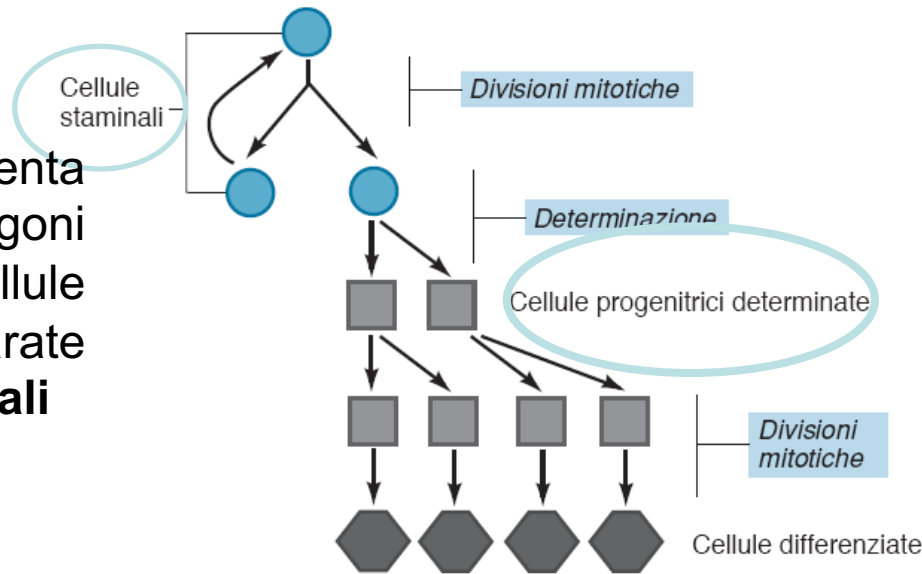
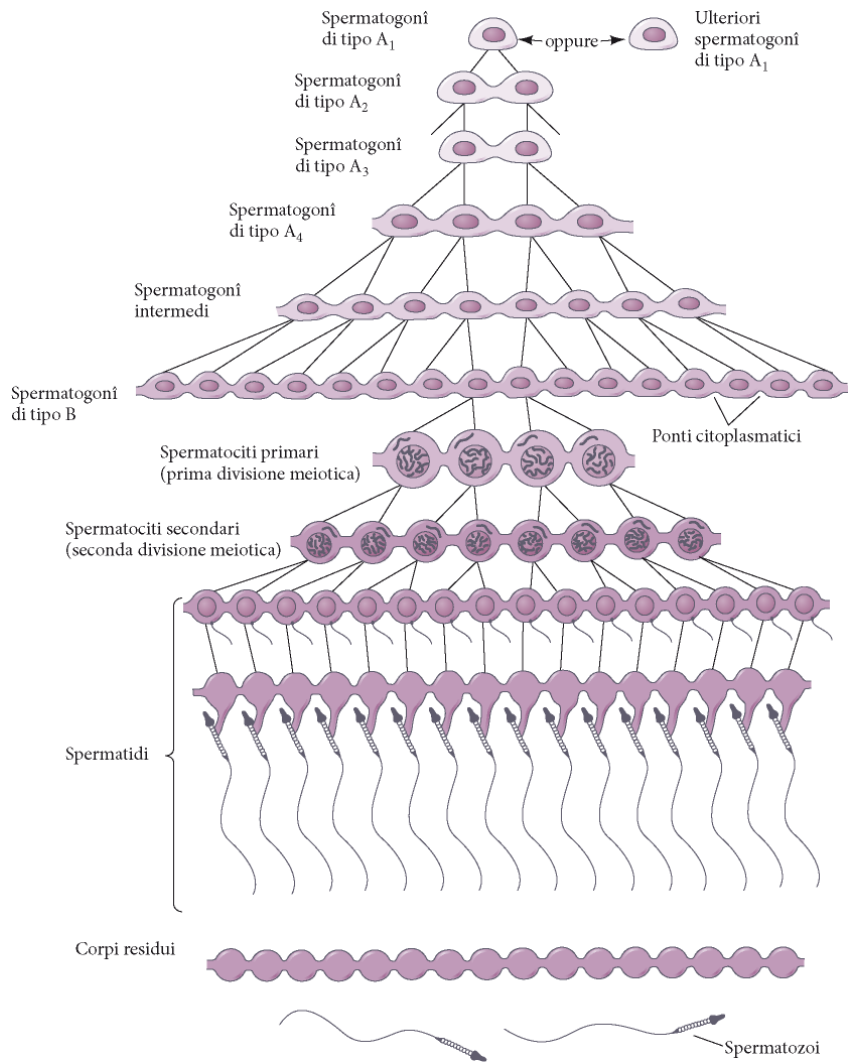


Figura 3.11 Segregazione di linee cellulari a partire dalle cellule staminali. Le staminali sono cellule in grado di dividersi numerose volte, anche nella fase adulta. Una volta divise, le cellule possono mantenere il carattere di cellule staminali e continuare a dividersi mitoticamente oppure possono iniziare a indirizzarsi verso una o più linee cellulari (*cellule determinate*), dopo una serie di divisioni mitotiche. Lo stesso avviene durante la spermatogenesi, in cui sono riconoscibili spermatogoni staminali, spermatogoni determinati e cellule differenziate (spermatociti-spermatozoi).

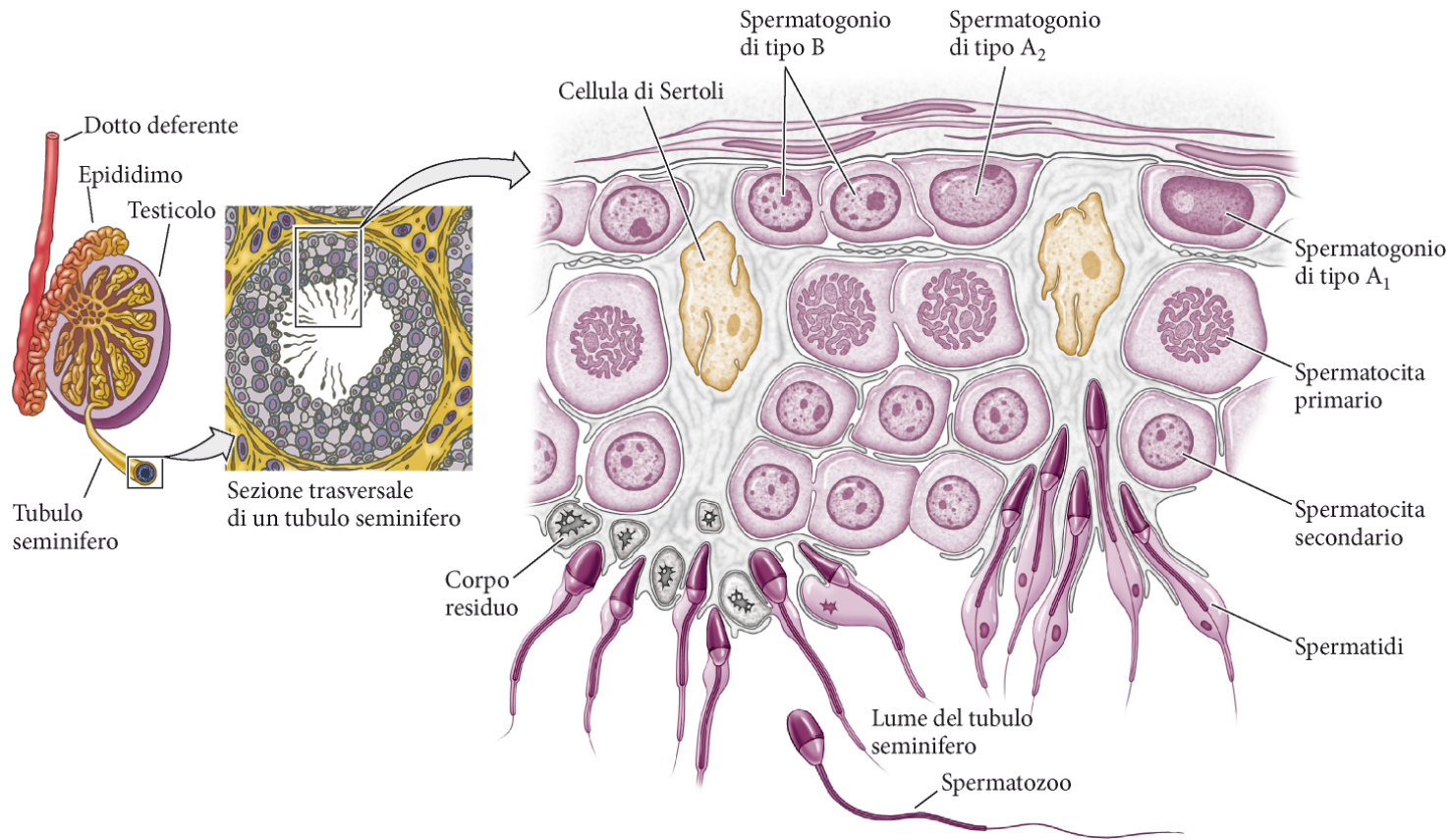
Spermatogoni determinanti: destinati a differenziarsi in spermatozoi. Nucleo eucromatico, si dividono più rapidamente e restano collegati da un ponte citoplasmatico.



Scott F. Gilbert, Biologia Dello Sviluppo, 4/E, Zanichelli editore

Figura 3.6 Confronto fra spermatogenesi e ovogenesi.

Organizzazione del tubulo seminifero. Epitelio pluristratificato; cellule germinali e cellule del Sertoli



Scott F. Gilbert, Biologia Dello Sviluppo, 4/E, Zanichelli editore

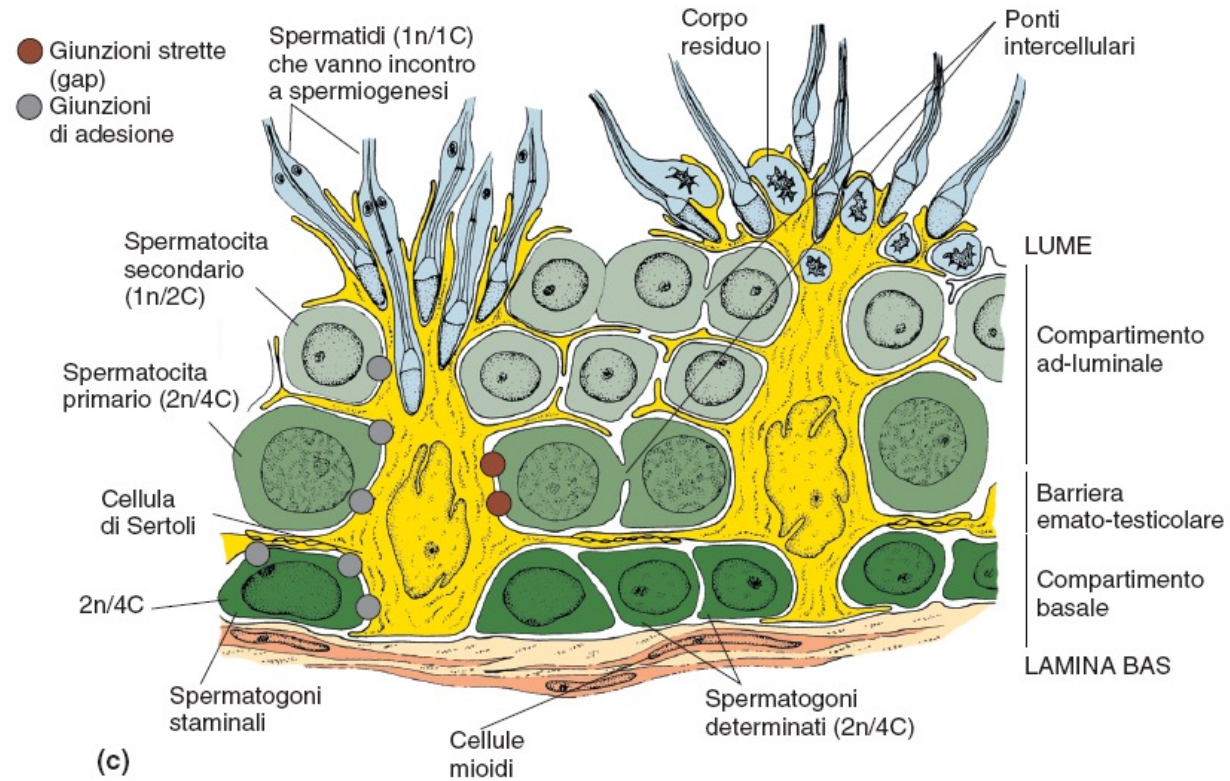
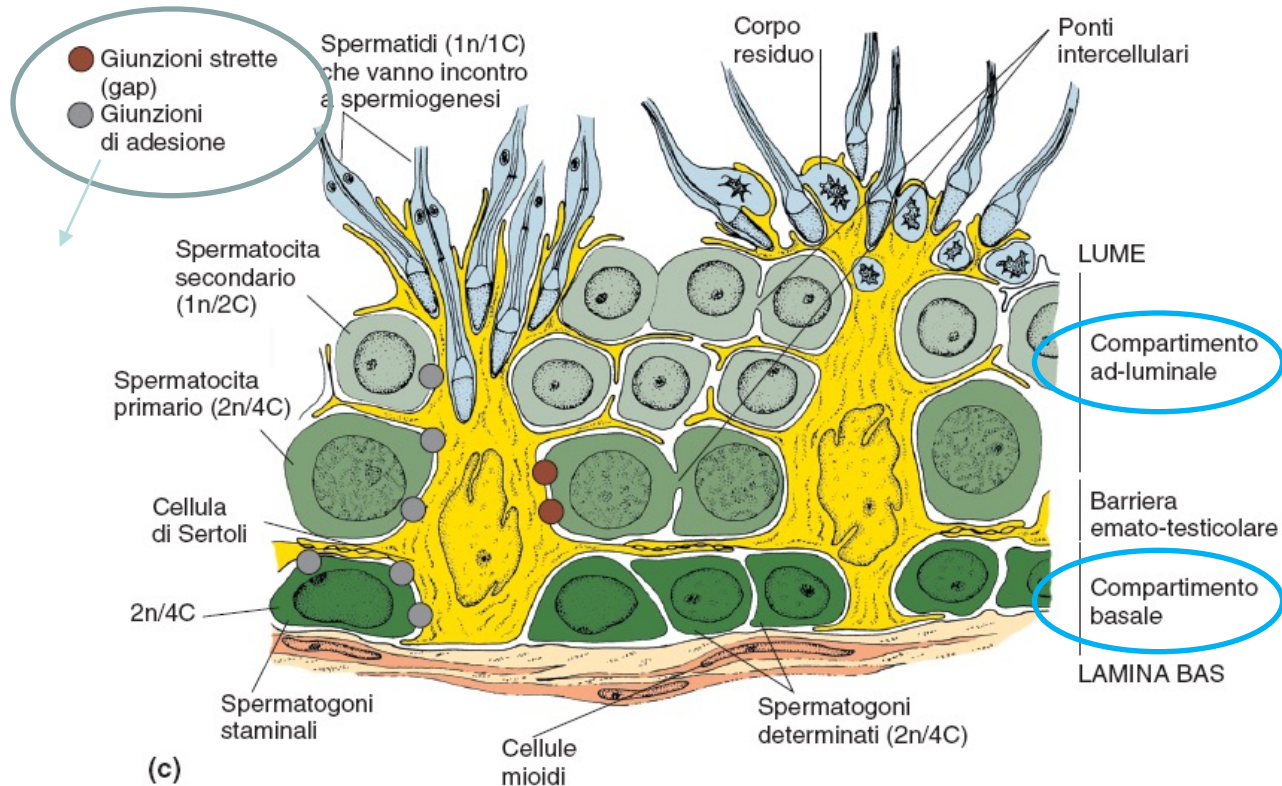


Figura 3.10 Tubuli seminiferi nel testicolo di mammiferi.

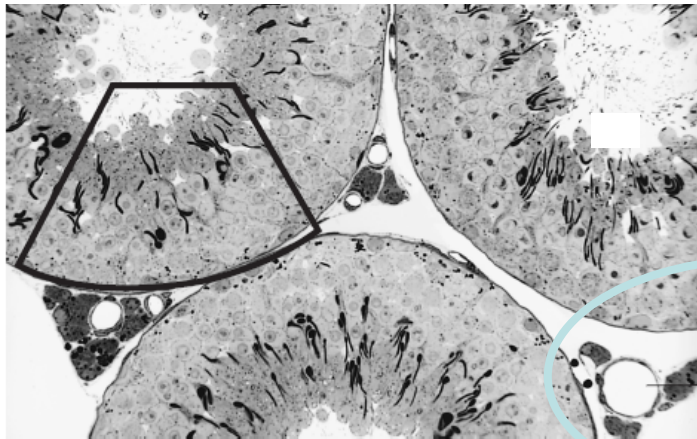
Barriera Emato-testicolare

Oltre a garantire un'adesione meccanica tra le cellule sono coinvolte nella progressione e nel rilascio delle cellule germinali



Si instaura al momento della pubertà
Importante per il corretto andamento della spermatogenesi
Impedisce al sistema immunitario di attaccare le cellule nel compartimento ad luminale.

Un cattivo funzionamento delle giunzioni potrebbe alterare il rilascio degli spermatozoi e quindi la fertilità.

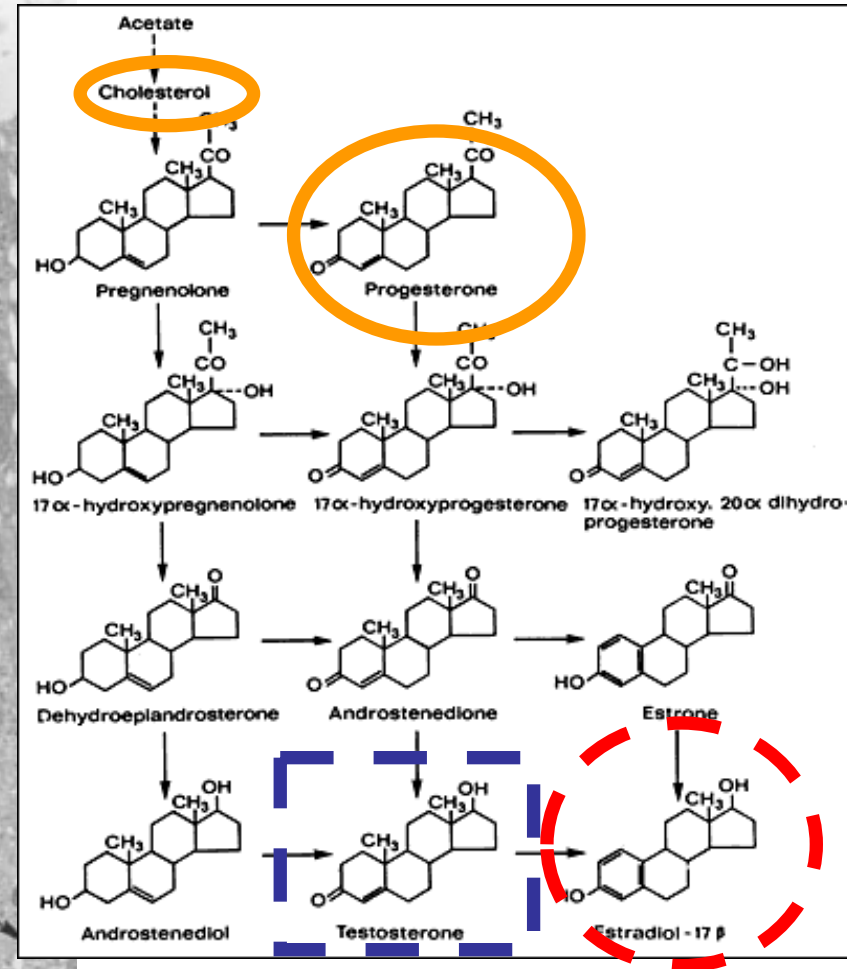
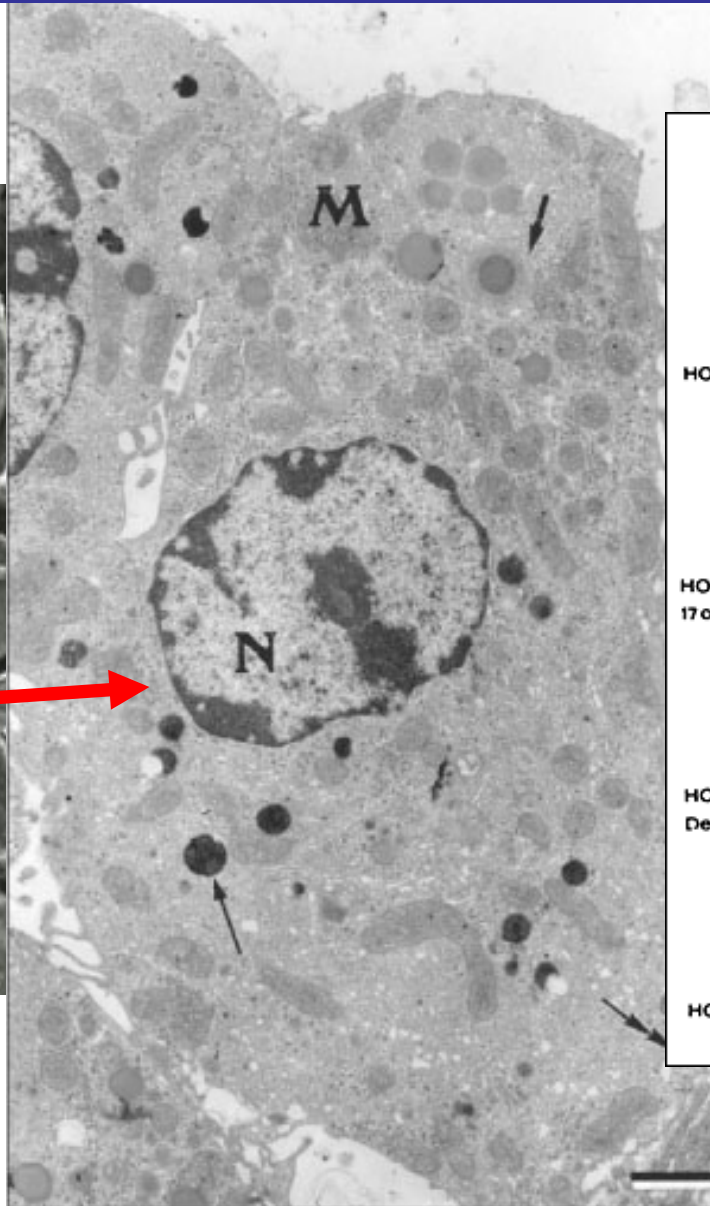
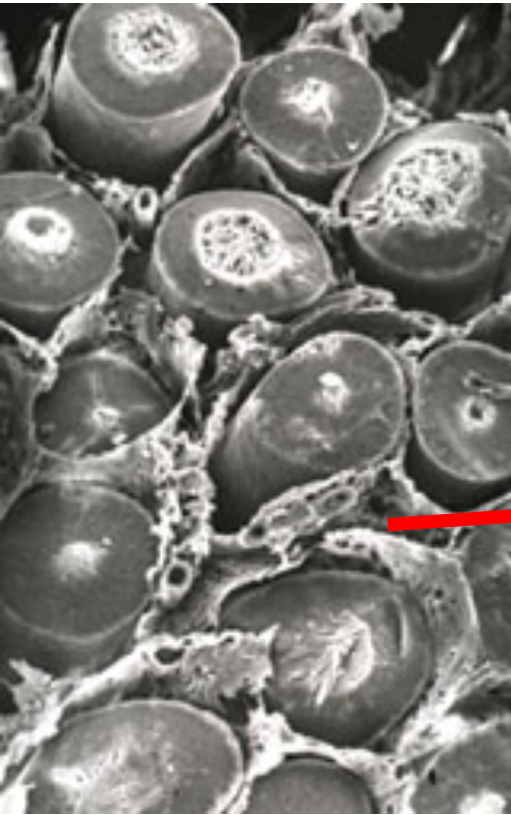


Cellule
di Leydig

Sintesi degli ormoni steroidei

(b) **Figura 3.10** Tubuli seminiferi nel testicolo di mammiferi. (a)

Cellule di Leydig



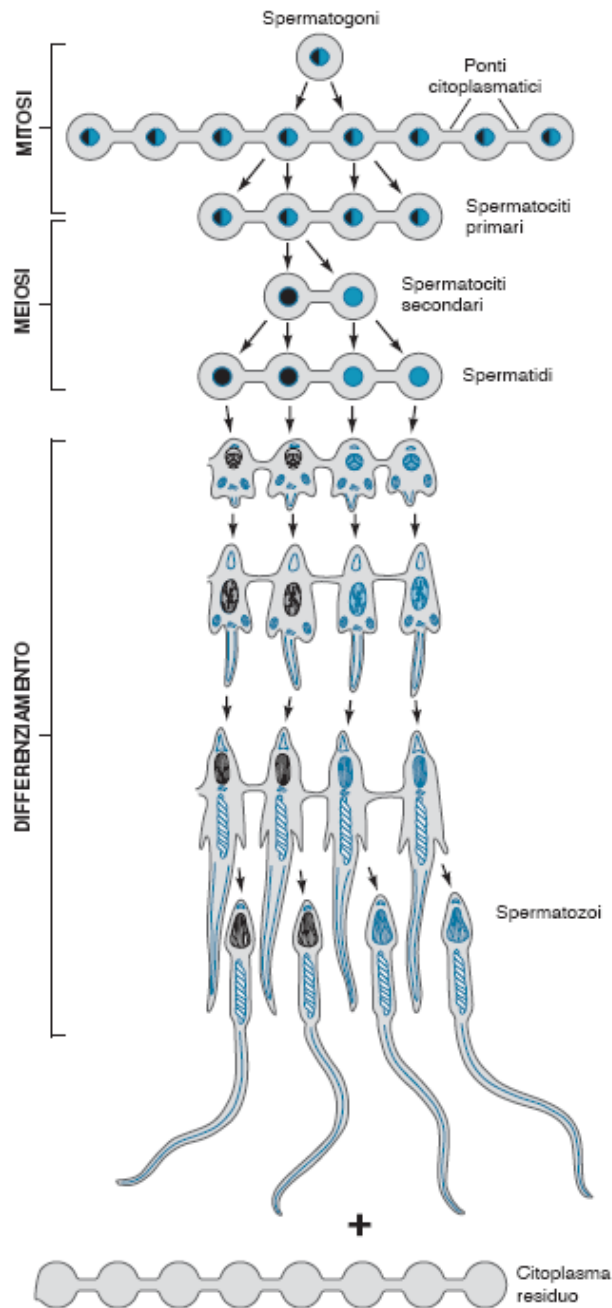
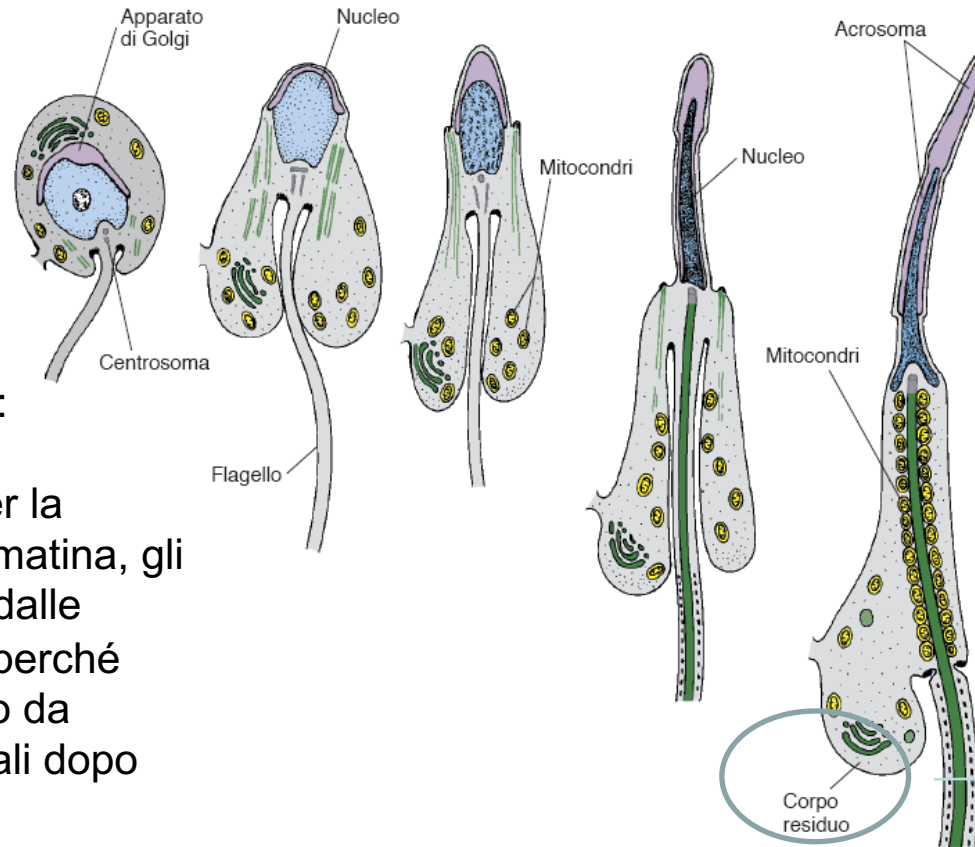


Figura 3.12 Spermatogenesi nei mammiferi. Gli spermatogoni, ormai determinati, subiscono una serie di divisioni mitotiche durante le quali rimangono collegati da ponti intercellulari. Dopo l'ultima divisione mitotica gli spermatogoni si trasformano in spermatociti I. Gli spermatociti I si dividono (prima divisione meiotica) e danno origine agli spermatociti II e questi (seconda divisione meiotica) agli spermatidi. Gli spermatidi inizieranno poi la fase di differenziamento (*spermiogenesi*) per cui si trasformeranno in sperm. Notare come l'intera spermatogenesi sia caratterizzata dalla presenza di ponti intercellulari, che vengono persi solo alla fine di essa, quando gli spermatozoi vengono rilasciati nel lume del tubulo e il citoplasma residuo viene fagocitato dalle cellule di Sertoli. I nuclei sono colorati in blu e rosso per indicare la presenza del cromosoma Y e X.

Cambiamenti del citoplasma: acrosoma



Coda o flagello: parte centrale
 assonema Organizzazione 9+ 2
 , nove coppie di microtubuli
 periferici +2 centrali

Fagocitato
 dalle cellule
 del Sertoli

Cambiamenti nel nucleo:
 Forma idrodinamica e
 eterocromatizzazione per la
 compattazione della cromatina, gli
 istoni vengono sostituiti dalle
 protammine importante perché
 protegge lo spermatozoo da
 eventuali danni ambientali dopo
 l'eiaculazione

Figura 3.13 Rappresentazione schematica di stadi successivi della spermiogenesi nel porcellino d'India secondo quanto è osservabile al microscopio elettronico a trasmissione. Tra i cambiamenti più significativi si possono ricordare: la formazione dell'acrosoma, che si dispone sul nucleo a mo' di cappuccio; il nucleo che da rotondeggiante ed eucromatico diventa eterocromatico e allungato per azione della manchette, la formazione dell'assonema attorno al quale, nella regione più prossimale, si dispongono i mitocondri. Con il procedere del differenziamento la cellula, prima rotondeggiante, diventa progressivamente polarizzata e allungata, con il citoplasma che viene concentrato nella regione posteriore.

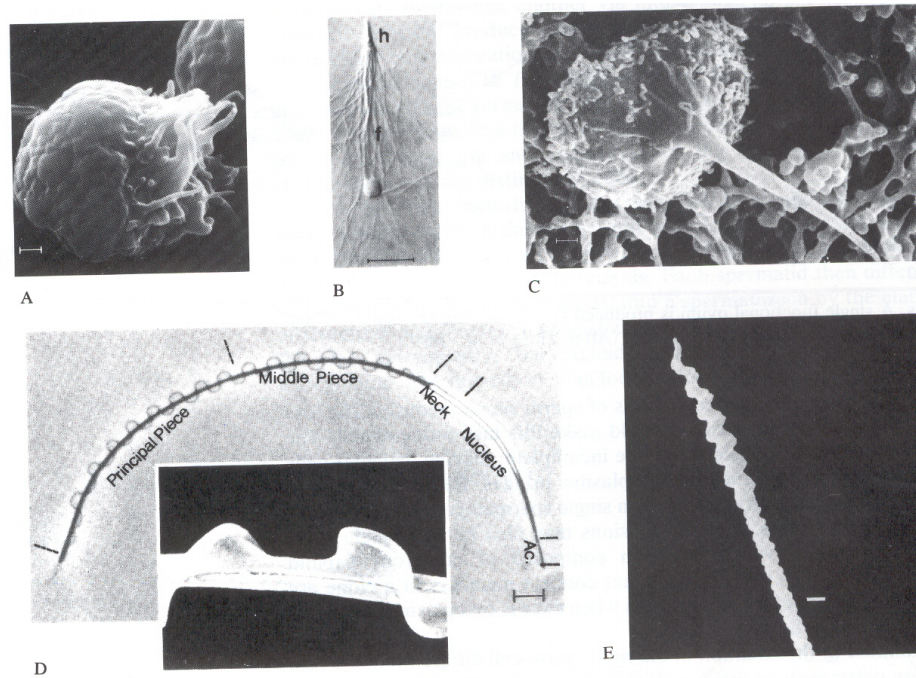
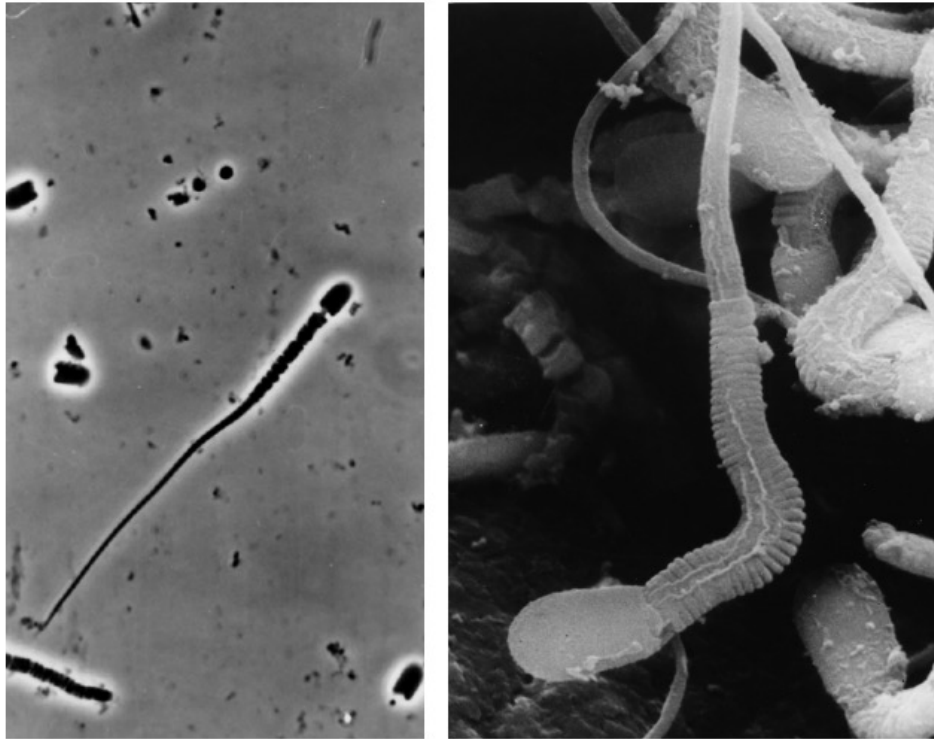


Figure 2.3

Forms of some unusual animal spermatozoa. A, Scanning electron micrograph of the amoeboid sperm of the round worm, *Ascaris*. Scale bar equals 1.0 μm . B, The multiflagellate sperm of the termite, *Mastotermes*, as seen with Nomarski optics. h: head; f: flagella. Scale bar equals 25 μm . C, Scanning electron micrograph of the tack-shaped sperm of the prawn, *Palaemonetes*. The cup-shaped basal region contains the nucleus. Scale bar equals 1.0 μm . D, Phase contrast micrograph of the sperm tail of the urodele amphibian, *Pleurodeles*. The sperm tail consists of a long axial fiber and a thin undulating membrane. Scale bar equals 10 μm . The inset shows details of the tail by scanning electron microscopy. E, Scanning electron micrograph of the head and midpiece of the sperm of the terrestrial snail, *Anguispira alternata*. Scale bar equals 1 μm . (A, From Abbas and Cain, 1979. B, From B. Baccetti and R. Dallai, 1978. Reprinted from *The Journal of Cell Biology*, 1978, 76: 569–576 by copyright permission of the Rockefeller University Press. C, From Koehler, 1979. D, From Picheral, 1979. E, Courtesy of J. W. Atkinson.)



(a)

(b)

Figura 3.14 Immagini di spermatozoo flagellato al microscopio ottico (a) e al microscopio elettronico a scansione (b). Sono riconoscibili la testa, il collo e la coda, nella quale sono riconoscibili il segmento intermedio e il segmento principale.

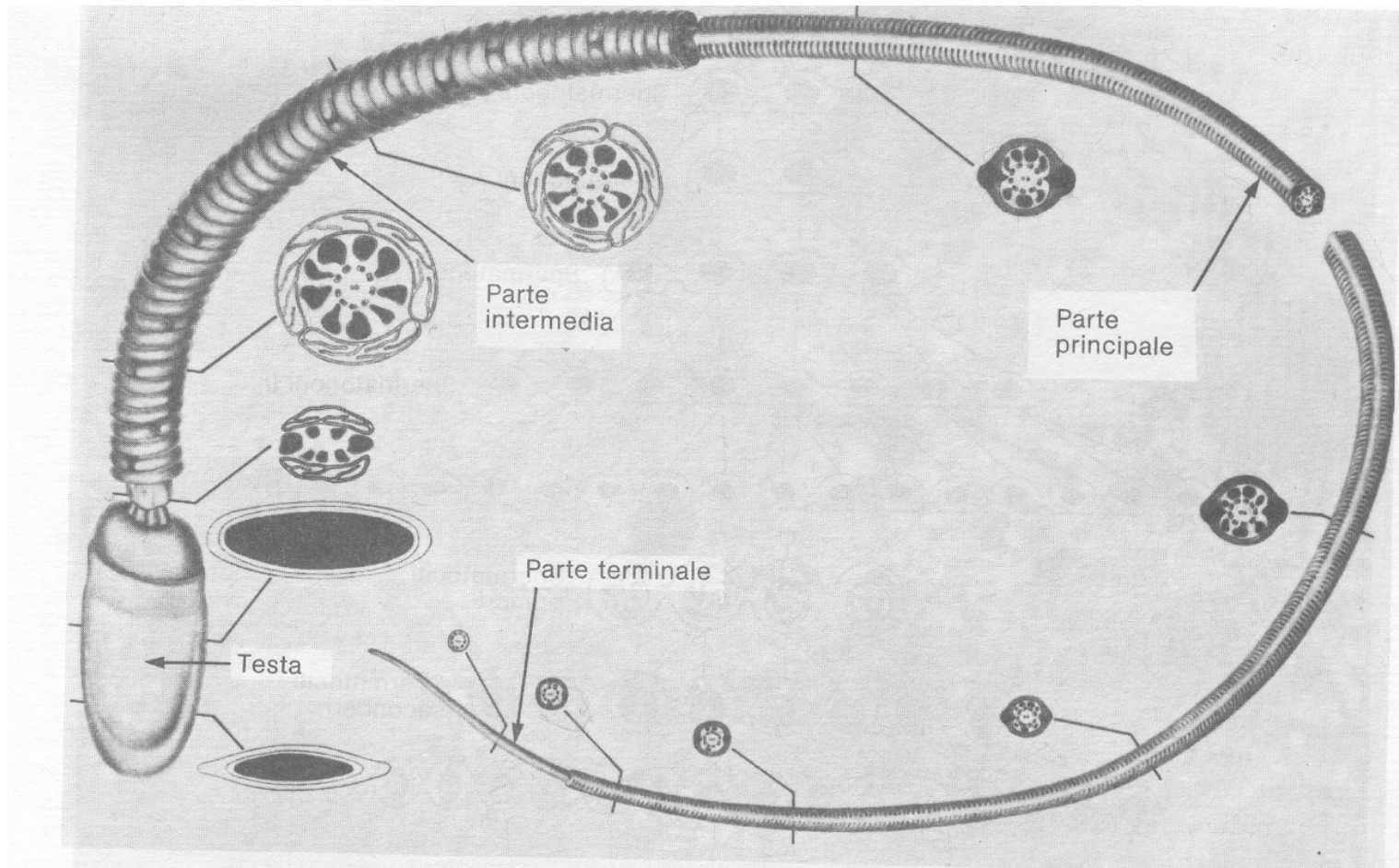


Figura 26.19. *Rappresentazione schematica dello spermatozoo dei mammiferi quale appare al microscopio elettronico, che mostra anche sezioni trasversali effettuate a diversi livelli della*

*lunghezza. [Lievemente modificata da W. Bloom e D. W. Fawcett, *A Textbook of Histology*, 10^a ed.]*



b

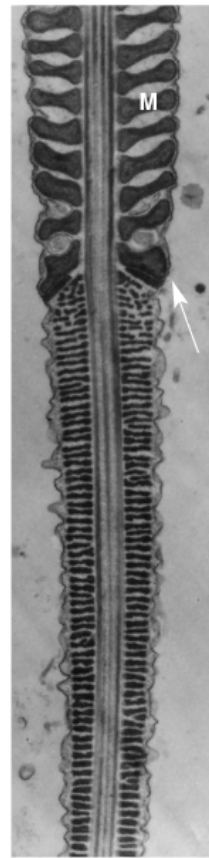
Figura 3.15 Sezioni trasversali di differenti regioni di uno spermatozoo di mammifero (*Pipistrellus*) al microscopio elettronico a trasmissione. **(a)** Regione anteriore della testa rivestita da acrosoma; **(b)** regione posteriore a livello del collo priva di acrosoma; **(c)** segmento intermedio con, dal centro verso la periferia, assonema, fibre dense, mitocondri, membrana plasmatica; **(d)** segmento principale; **(e)** segmento principale con la guaina fibrosa; **(e)** segmento principale nel tratto finale; **(f)** il segmento finale. Notare la presenza del solo assonema.



(a)



(b)



(c)

Figura 3.16 Sezioni sagittali e frontali dello stesso spermatozoo di Figura 3.15. **(a)** sezione sagittale a livello della testa, del collo e della parte iniziale del segmento intermedio; **(b)** sezione frontale della Figura 3.15 a; notare la regione del collo dove sono evidenti il materiale segmentato ed elementi dell'involucro nucleare (freccia). **(c)** sezione sagittale a livello della parte terminale del segmento intermedio e inizio del segmento principale; notare, oltre alla presenza dell'assonema posto centralmente, la presenza dei mitocondri (M), dell'annulus (freccia), che segna il passaggio dal segmento intermedio a quello principale, e infine l'organizzazione metamERICA della guaina fibrosa posta tra la membrana plasmatica esterna e l'assonema centrale.

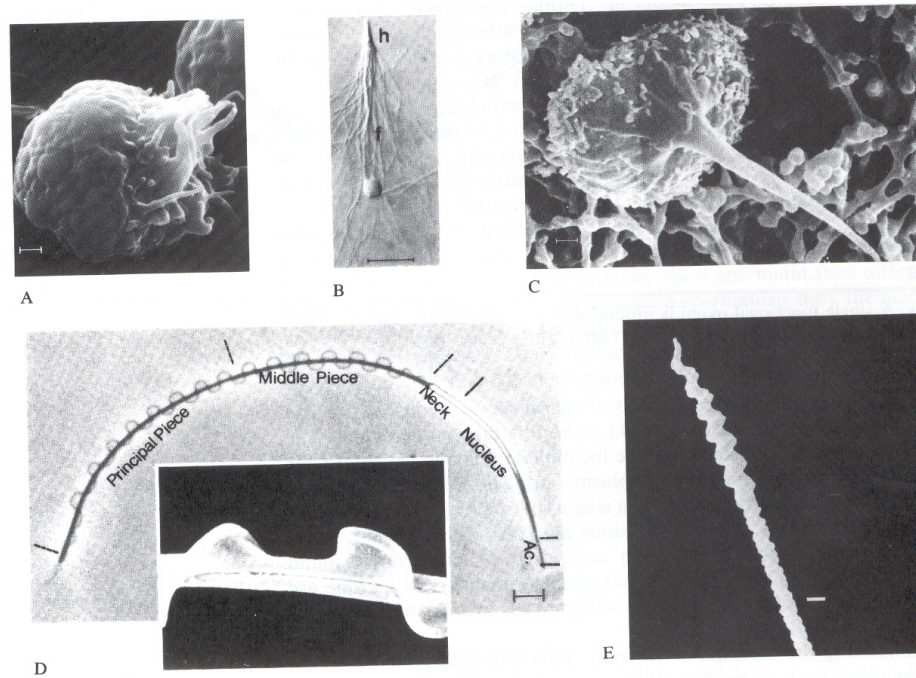
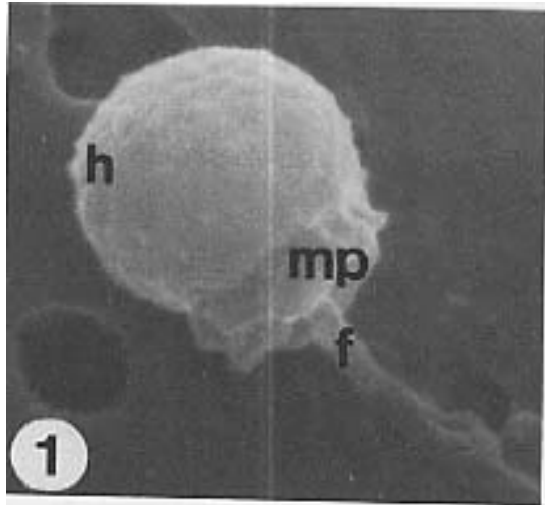
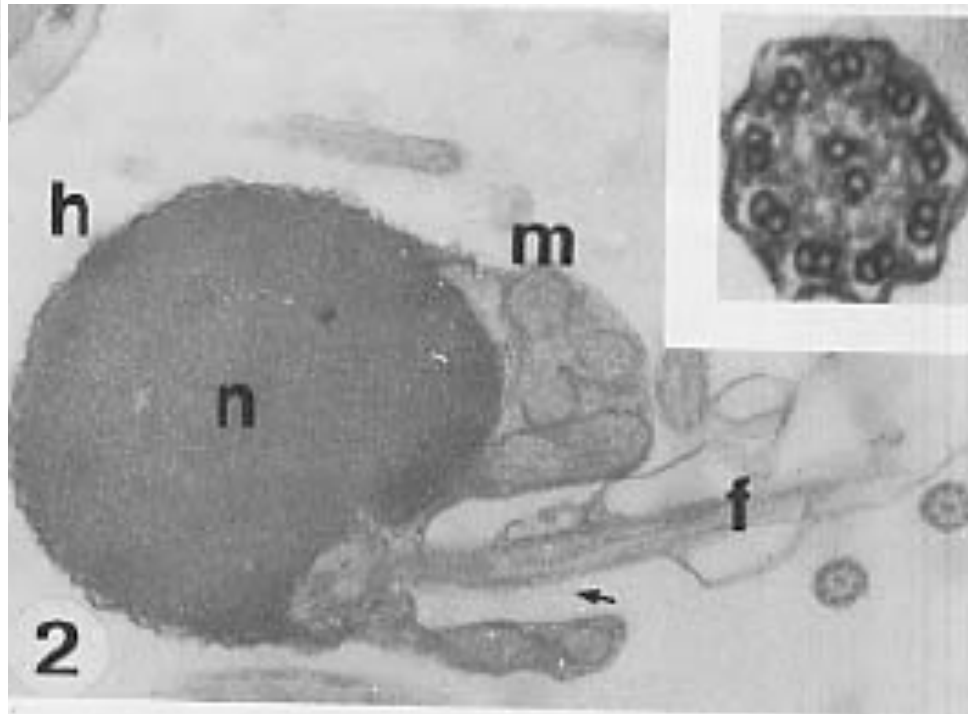


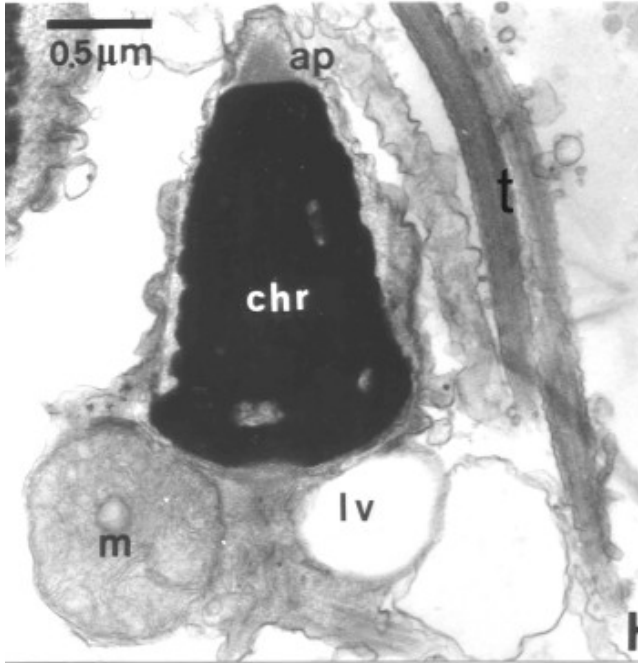
Figure 2.3

Forms of some unusual animal spermatozoa. A, Scanning electron micrograph of the amoeboid sperm of the round worm, *Ascaris*. Scale bar equals 1.0 μm . B, The multiflagellate sperm of the termite, *Mastotermes*, as seen with Nomarski optics. h: head; f: flagella. Scale bar equals 25 μm . C, Scanning electron micrograph of the tack-shaped sperm of the prawn, *Palaemonetes*. The cup-shaped basal region contains the nucleus. Scale bar equals 1.0 μm . D, Phase contrast micrograph of the sperm tail of the urodele amphibian, *Pleurodeles*. The sperm tail consists of a long axial fiber and a thin undulating membrane. Scale bar equals 10 μm . The inset shows details of the tail by scanning electron microscopy. E, Scanning electron micrograph of the head and midpiece of the sperm of the terrestrial snail, *Anguispira alternata*. Scale bar equals 1 μm . (A, From Abbas and Cain, 1979. B, From B. Baccetti and R. Dallai, 1978. Reprinted from *The Journal of Cell Biology*, 1978, 76: 569–576 by copyright permission of the Rockefeller University Press. C, From Koehler, 1979. D, From Picheral, 1979. E, Courtesy of J. W. Atkinson.)



Osteitti: spermatozoi al SEM e al TEM





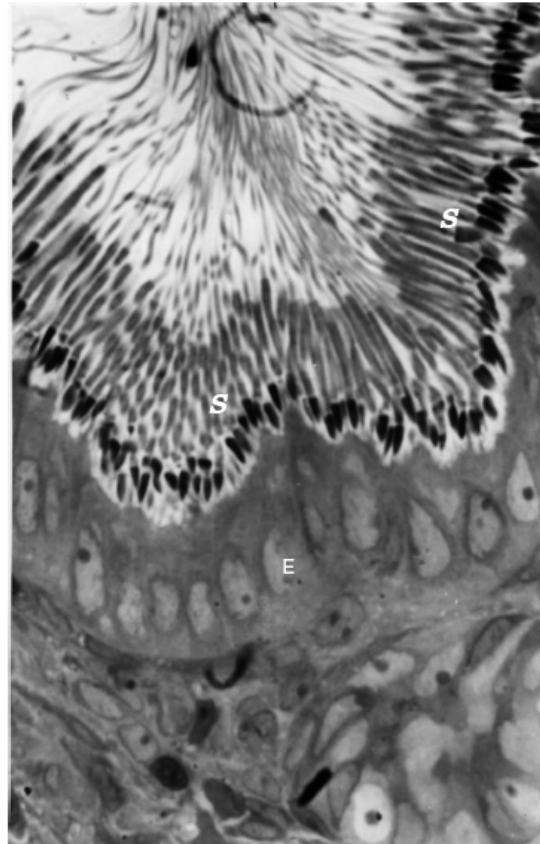
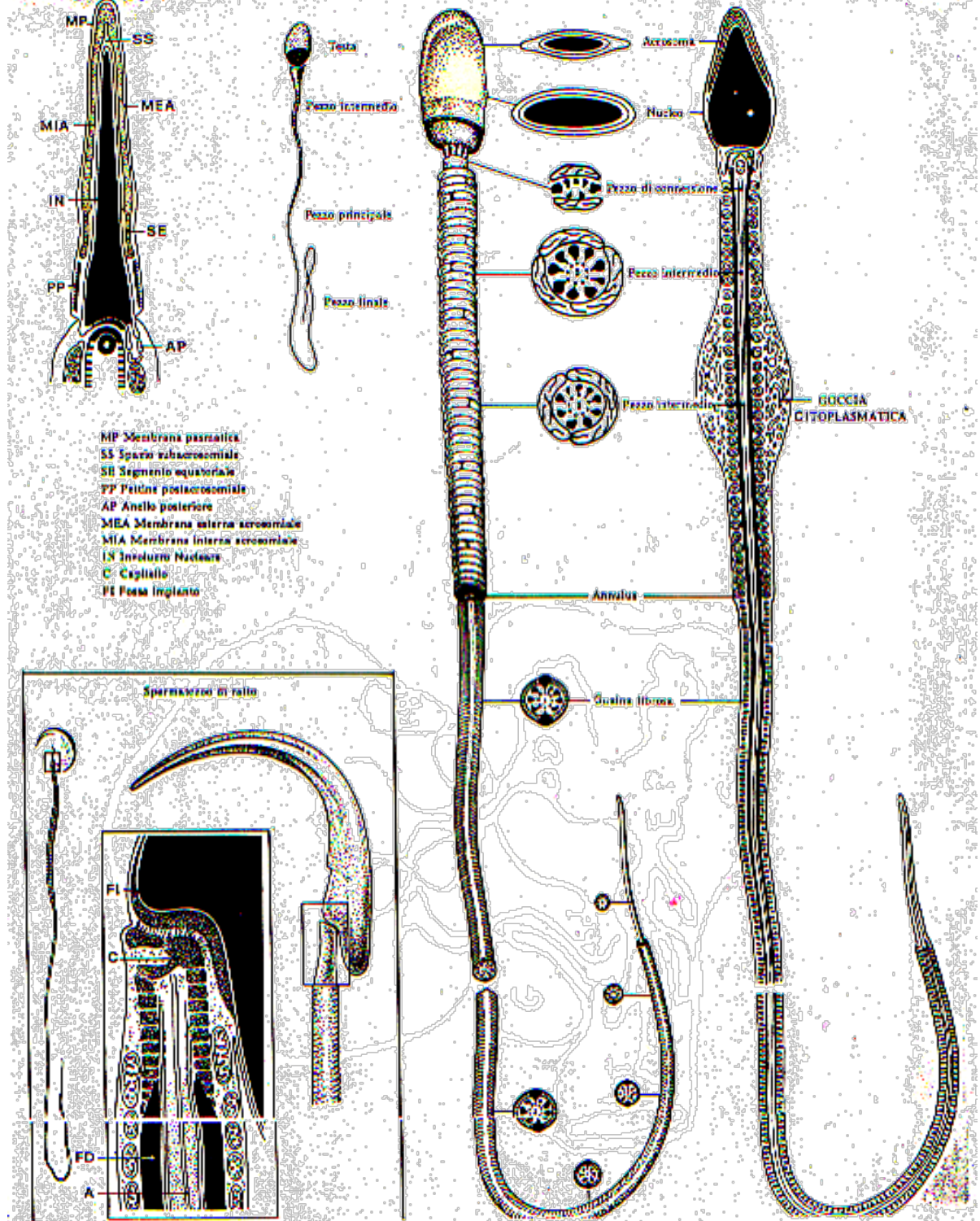
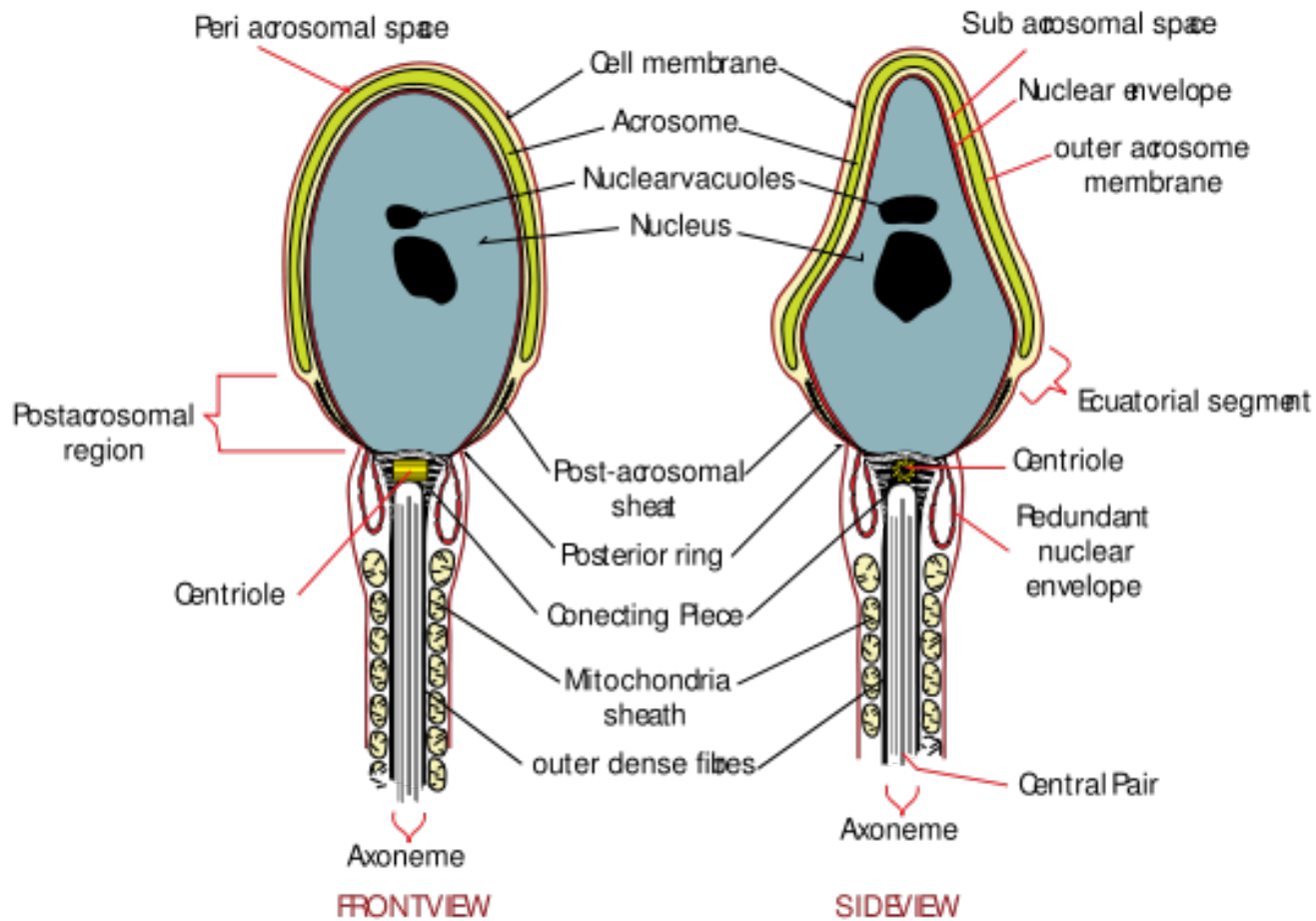
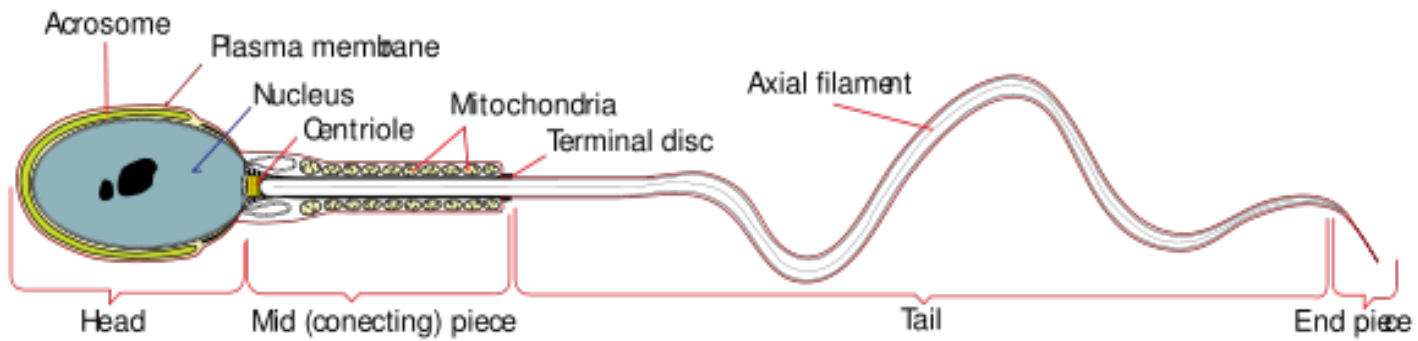


Figura 3.17 Spermatozoi all'interno dell'utero di *Pipistrellus* al microscopio ottico. Gli spermatozoi sono ancorati mediante la loro testa alla superficie delle cellule epiteliali dell'endometrio (E).

Schema della struttura dello spermatozoo



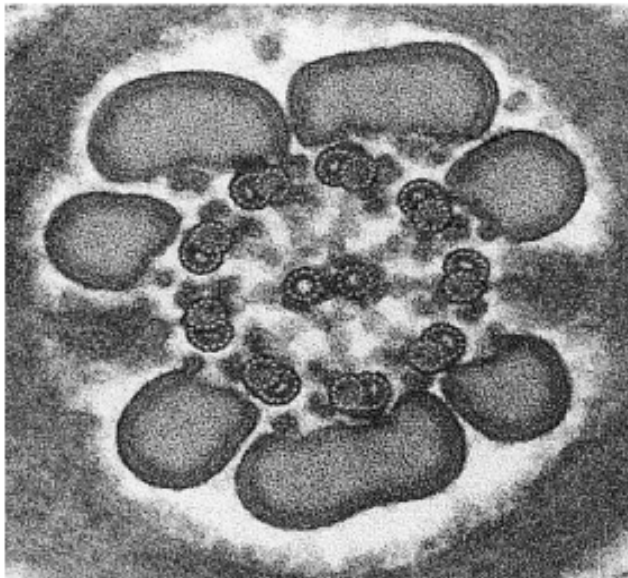


L'apparato di movimento dello spermatozoo

(A) Spermatozoo



SEZIONE TRASVERSALE DELLA CODA DELLO SPERMATOOZOO



(B)

Membrane plasmatica

ASSONEMA

Raggio

Testa del raggio

Nexina

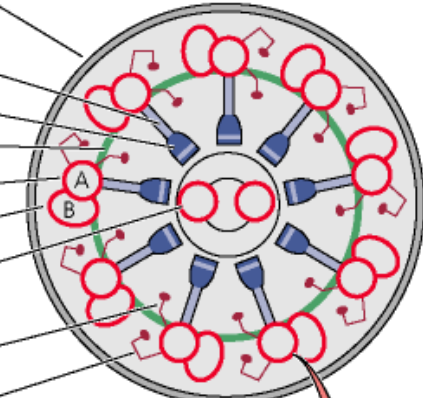
Subfibra A

Subfibra B

Microtubulo centrale singolo

Braccio di dineina interno

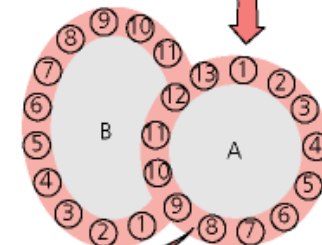
Braccio di dineina esterno



COPPIA DI MICROTUBULI

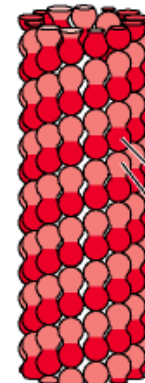
(C)

MICROTUBULO «A»

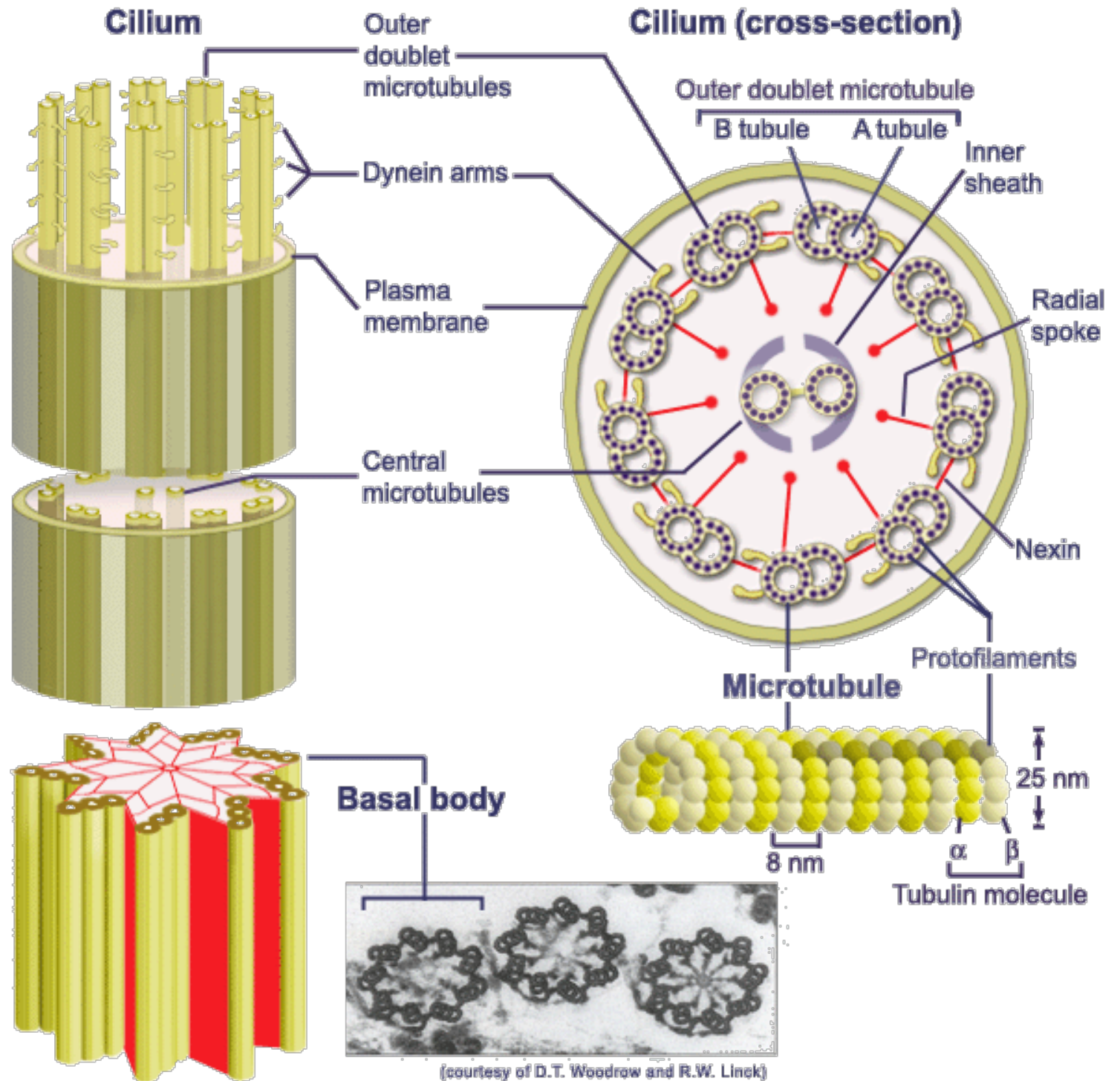


Monomero di tubulina α

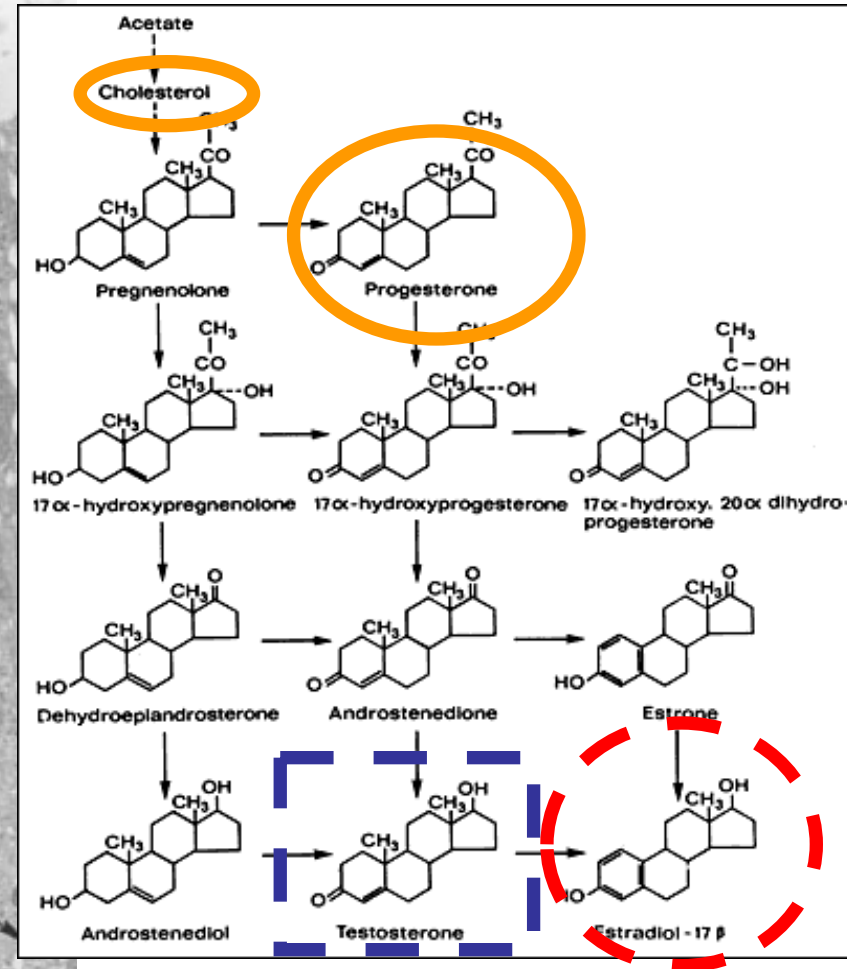
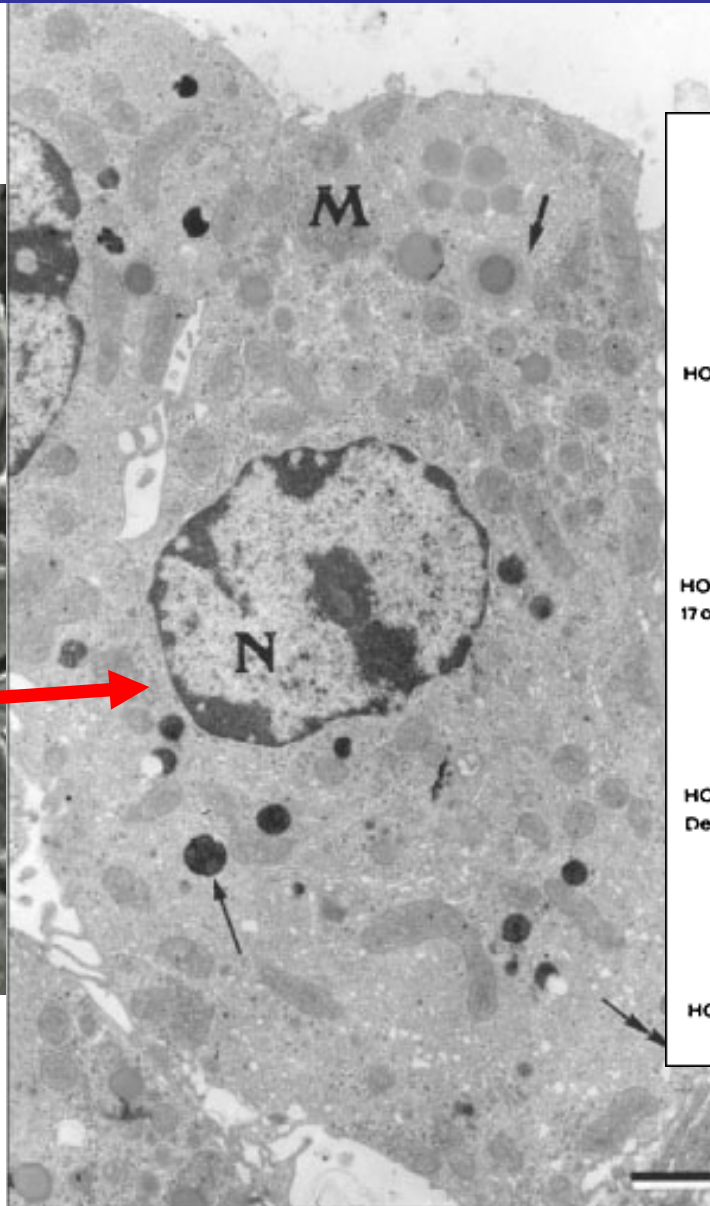
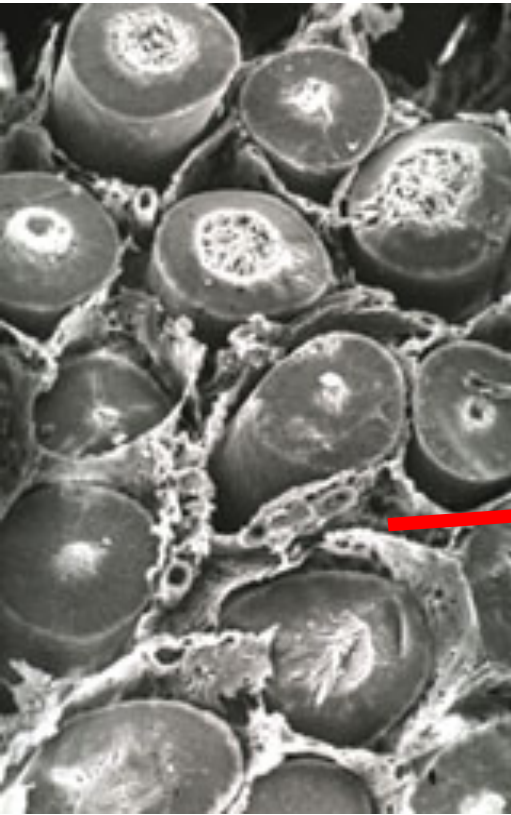
Monomero di tubulina β



assonema



Cellule di Leydig



Controllo della spermatogenesi

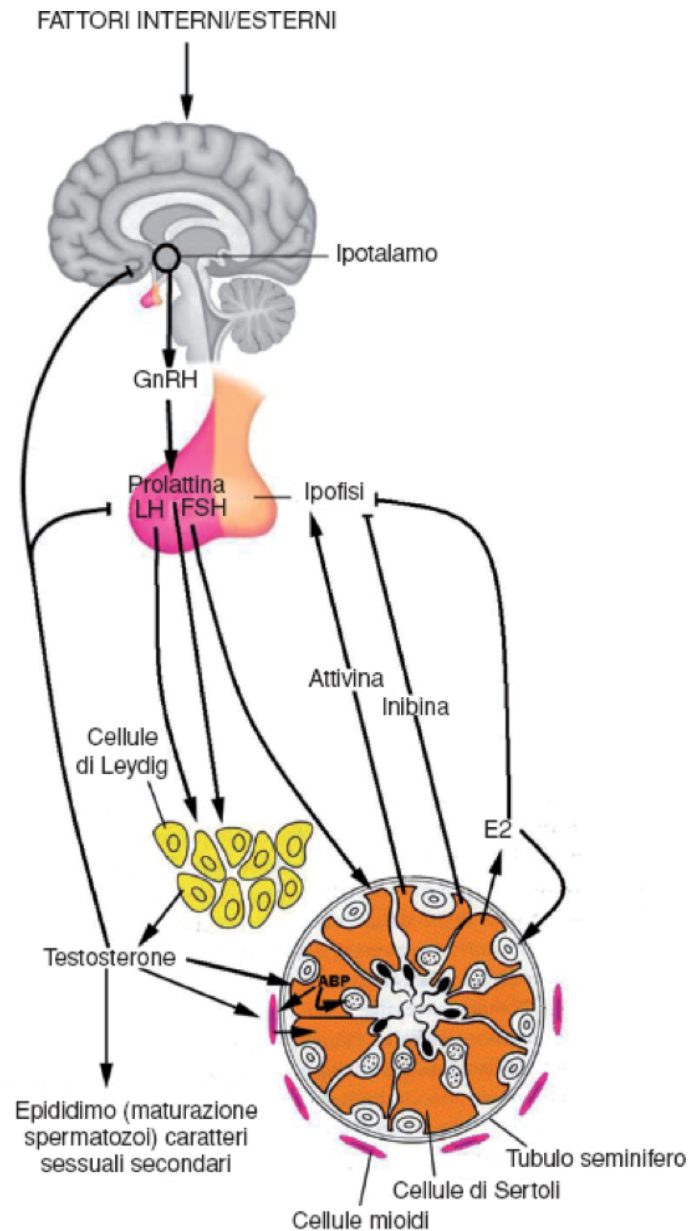


Figura 3.18 Schema riassuntivo del possibile meccanismo di regolazione della spermatogenesi nei mammiferi.

La spermatogenesi è regolata dalle **gonadotropine** e da **fattori testicolari ad azione paracrina**

FSH inizia la spermatogenesi: stimola proliferazione spermatogoni e formazione spermatociti I
-nelle cellule di Sertoli: produzione ABP (Androgen Binding Protein); mitosi; secrezione di steroidogenesis stimulating protein che aumenta la steroidogenesi

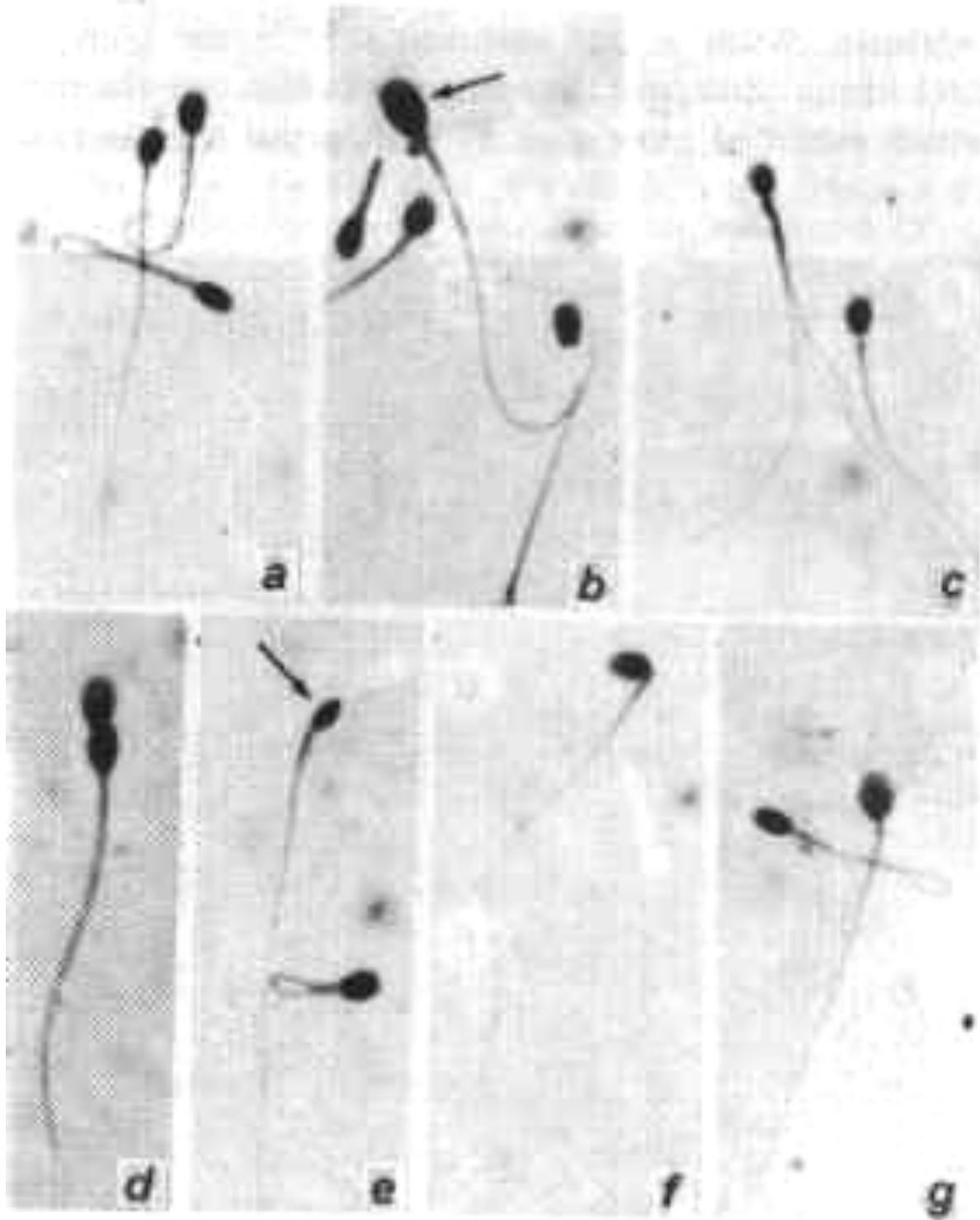
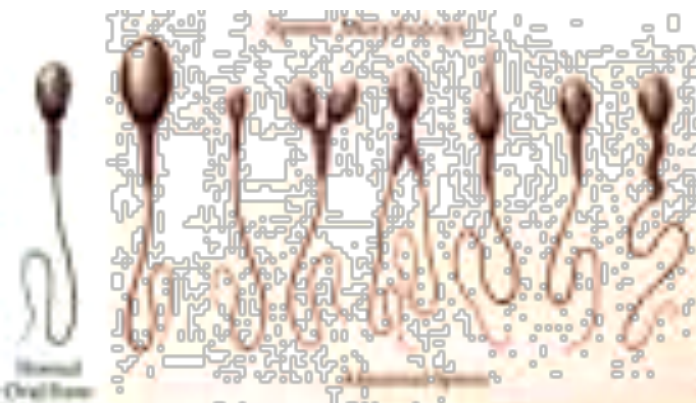
LH stimola steroidogenesi (produzione testosterone) in cellule di Leydig.

Testosterone stimola la meiosi in spermatociti I e regola la spermioistogenesi.

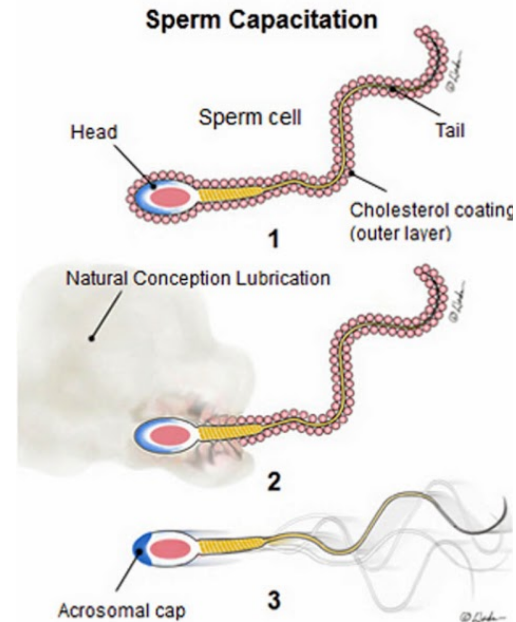
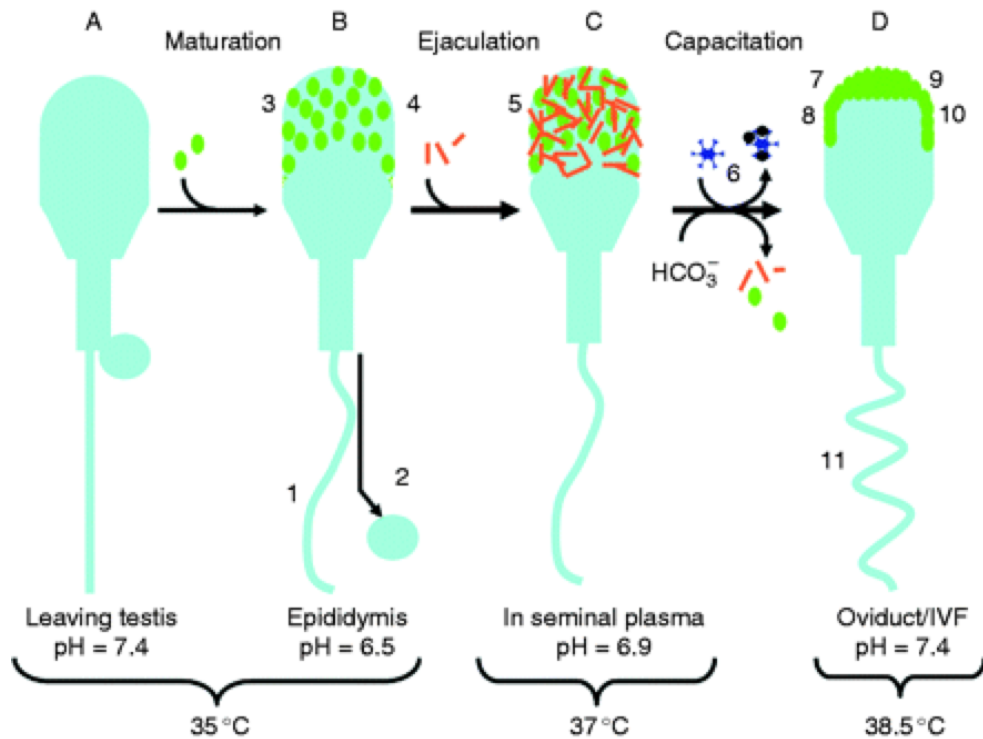
Cosa danneggia la spermatogenesi?

- ❖ La temperatura elevata (criptorchismo nell'uomo)
- ❖ L'avitaminosi, soprattutto carenza di vit. A ed E
- ❖ Le radiazioni ionizzanti. Piccole dosi provocano un arresto momentaneo della produzione di spermatozoi. Dosi elevate rendono sterili il soggetto
- ❖ Le radiazioni elettromagnetiche emesse dai tubi catodici.
- ❖ I pesticidi

Spermatozoi difettosi



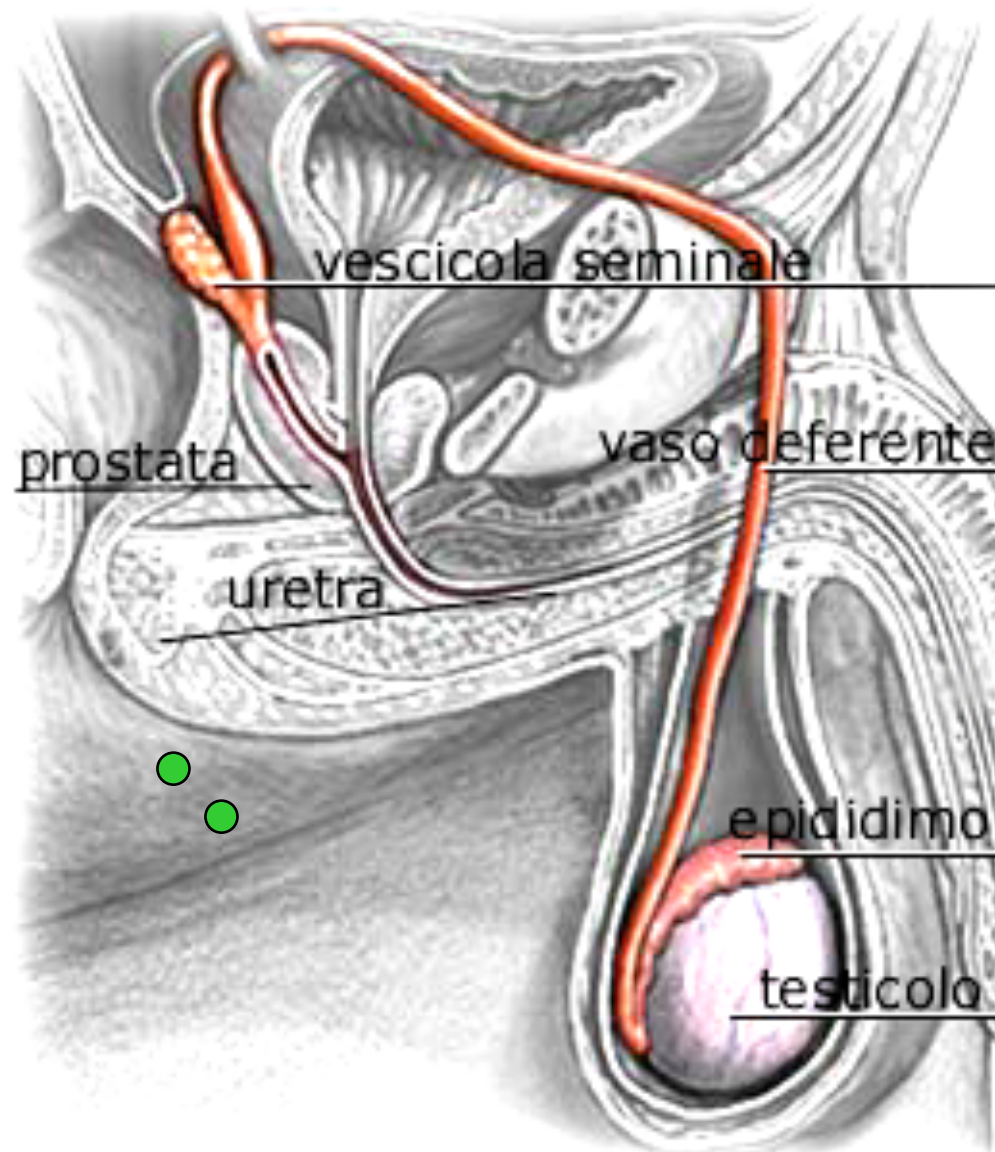
Capacitazione nei mammiferi



I cambiamenti che si verificano durante la capacitazione riguardano:

- l'organizzazione della superficie di membrana: le molecole di colesterolo vengono allontanate quindi le membrane sono più fluide, viene facilitata la reazione acrosomiale; le proteine presenti sulla superficie cellulare degli spermatozoi vengono allontanate, quindi si determina lo smascheramento di proteine che potranno interagire con la cellula uovo.
- il movimento: il cambiamento delle molecole di superficie determina un cambiamento della permeabilità degli ioni calcio, una maggiore concentrazione degli ioni calcio all'interno determina un aumento della motilità degli spermatozoi.

Nell'uomo, a 37°C, gli spermatozoi si muovono a 30-50µm/sec



Durata della spermatogenesi

Uomo 64gg

Ratto 48-53gg

Topo 34,5

Coniglio 43

Pecora 40

Uomo fase di quiescenza 16gg

mitosi 16

meiosi 24

Spermioistogenesi 24

- **200-400 milioni di spermatozoi in 2-4ml**
- **Se la concentrazione degli spermi è inferiore a 20 milioni/ml in genere l'individuo è sterile**