
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

FRANCESCO ZACCANTI, FOSCARINA DI GRANDE

**Effetti del testosterone sulle gonadi e sugli organi di
Bidder in esemplari postmetamorfici di Bufo bufo**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 46 (1969), n.1, p. 106–110.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1969_8_46_1_106_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Biologia. — *Effetti del testosterone sulle gonadi e sugli organi di Bidder in esemplari postmetamorfici di Bufo bufo*^(*). Nota di FRANCESCO ZACCANTI e FOSCARINA DI GRANDE, presentata^(**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — The authors have begun a study on the effect of testosterone upon gonads and Bidder organs of *Bufo bufo* postmetamorphic young toads, during the period in which even normally gonadic sex differentiation takes place. The hormone seems to have caused an alteration of sex ratio toward male sex. Masculinising effect upon the gonad, and Bidder-organ inhibition, appeared more evident in those animals which have had a longer hormone treatment.

L'apparato genitale degli Anfibi Anuri si è dimostrato suscettibile di modificare il tipo del proprio differenziamento in seguito alla somministrazione di ormoni steroidi. Soprattutto in girini di *Rana* sono state ottenute inversioni sessuali in senso maschile ed in senso femminile, da parte di numerosi Autori: Witschi e Crown (1937) su *Rana pipiens*; Gallien (1938, 1941) su *Rana temporaria*; Vannini (1941, 1950) su *Rana dalmatina*; Padoa (1942) su *Rana esculenta*; ecc. (Vedere Collenot, 1965)⁽¹⁾.

L'estensione di tali esperimenti ad animali del genere *Bufo* non ha fornito risultati altrettanto soddisfacenti. Padoa (1937), Padoa e Picchi (1946), Gallien (1947, 1950), Lugli (1955, 1956), Romani (1956, 1957), Takahashi

(*) Indagini eseguite nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Bologna, diretto dal Prof. Enrico Vannini, con una sovvenzione del C.N.R. (Gruppo di ricerca sulla determinazione e il differenziamento del sesso).

(**) Nella seduta dell'11 gennaio 1969.

(1) E. WITSCHI e E. N. CROWN, *Hormones and sex determination in Fishes and Frogs*, «Anat. Rec.», 70, 121-122. (1937).

L. GALLIEN, *Action des hormones sexuelles dans la différenciation du sexe chez Rana temporaria*, «Bull. Biol. France et Belgique», 72, 269-296 (1938).

L. GALLIEN, *Recherches expérimentales sur l'action amphisexuelle de l'hormone femelle (oestradiol) dans la différenciation du sexe chez Rana temporaria*, «Bull. Biol. France et Belgique», 75, 369-397 (1941).

E. VANNINI, *Rapida azione masculinizzante del testosterone sulle gonadi di girini di Rana agilis in metamorfosi*, «Rend. R. Accad. Ital.», ser. 7, 2, 666-676 (1941).

E. VANNINI, *Azioni del desossicorticosterone sullo sviluppo delle gonadi in girini di Rana dalmatina*, «Arch. Zool. Ital.», 35, 1-66 (1950).

E. PADOA, *Il differenziamento del sesso invertito mediante la somministrazione di ormoni sessuali e corticosurrenali. Ricerche con diidrofollicolina, progesterone e acetato di desossicorticosterone in Rana esculenta*, «Pubbl. Staz. Zool. Napoli», 19, 185-223. (1942).

A. COLLENOT, *Recherches comparatives sur l'inversion sexuelle par les hormones stéroïdes chez les Amphibiens*, «Mem. Soc. Zool. France», 33, 1-141 (1965).

(1956), Asayama (1959) ⁽²⁾, con somministrazione degli ormoni nell'acqua degli allevamenti o con iniezioni intraperitoneali, e comunque con trattamenti che terminavano all'epoca della metamorfosi, non hanno ottenuto modificazioni della natura ovarica degli organi di Bidder, ma solo una riduzione quantitativa del loro volume e, per quanto riguarda la gonade propriamente detta, effetti inibitori sullo sviluppo e soltanto parziali inversioni.

Chang (1955) ⁽³⁾ prolungando i trattamenti con estradiolo e testosterone su girini di *Bufo americanus* la cui metamorfosi era stata impedita previa asportazione della tiroide, ottenne riduzione volumetrica degli organi di Bidder e femminilizzazione della gonade con dosi minime di estradiolo. Non si era manifestata invece l'azione mascolinizzante del testosterone e l'effetto paradossale delle dosi più elevate di estradiolo.

Nel presente lavoro preliminare abbiamo cercato di protrarre un trattamento ormonale con testosterone su girini di *Bufo bufo* per un periodo successivo alla metamorfosi in modo che l'azione dell'ormone si esplicasse anche in corrispondenza dell'epoca del differenziamento sessuale. Infatti questi animali, mentre sono caratterizzati dal precoce differenziamento dei tratti cefalici delle creste genitali che divengono organi di Bidder, cioè ovari abortivi presenti in ambedue i sessi, hanno invece un differenziamento della gonade assai tardivo che si completa nel primo mese di vita postmetamorfica. Invece nel genere *Rana* e in tutti gli altri Anfibi Anuri finora studiati il differenziamento sessuale si verifica in stadi più precoci, precedenti la metamorfosi.

(2) E. PADOA, *Le gonadi di girini di Rospo (Bufo vulgaris) trattati con ormone follicolare*, « Boll. Soc. Ital. Biol. Sp. », 12, 656-657 (1937).

E. PADOA e L. PICCHI, *Nuove osservazioni sullo sviluppo dell'organo di Bidder nei rospi normali e in quelli trattati con ormone follicolare*, « Mon. Zool. Ital. », 55, 57-69 (1946).

L. GALLIEN, *Différenciation du corps de Bidder, chez Bufo vulgaris, à la suite d'un traitement hormonal masculinissant (propionate de testostérone)*, « C. R. Acad. Sc. », 224, 1240-1242 (1947).

L. GALLIEN, *Les hormones sexuelles dans la différenciation du sexe chez les Amphibiens*, « Arch. Anat. Micr. Morph. Exp. », 39, 337-360. (1950).

L. LUGLI, *Azioni sperimentali del progesterone sullo sviluppo delle gonadi e degli organi di Bidder in girini di Bufo bufo*, « Mon. Zool. Ital. », 63, 316-330 (1955).

L. LUGLI, *Ulteriori osservazioni sugli effetti del progesterone sullo sviluppo degli abbozzi genitali in Bufo bufo*, « Boll. Zool. », 25, 9-14 (1958).

M. L. ROMANI, *Azioni dell'estradiolo e del testosterone sulle gonadi e gli organi di Bidder in girini di Bufo bufo*, « Boll. Zool. », 23, 535-542 (1956).

M. L. ROMANI, *Effetti del benzoato di estradiolo e del testosterone sull'apparato genitale in girini di Bufo bufo*, « Riv. Biol. », 49, 113-140 (1957).

H. TAKAHASHI, *The effects of some sex hormones on the development of Bidder's organ in Bufo vulgaris formosus Boulenger*, « J. Fac. Sc. Hokkaido Univ. », ser. 14, 297-308 (1956).

S. ASAYAMA, *Effect of estrone on the process of sexual differentiation of gonads and Bidder's organ in Bufo vulgaris formosus*, « J. Inst. Polytech. Osaka City Univ. », ser. D, 10, 129-140 (1959).

(3) C.Y. CHANG, *Hormonal influences on sex differentiation in the toad, Bufo americanus*, « Anat. Rec. », 123, 467-486 (1955).

* * *

30 girini di *Bufo bufo* allo stadio IV₁₃ delle tavole di sviluppo normale di Cambar e Gipouloux (1956) (4), sono stati iniettati con 0,02 ml di una soluzione oleosa di testosterone al 2,5 %, dose corrispondente a 0,5 mg di testosterone per animale. Girini allo stesso stadio di sviluppo venivano contemporaneamente iniettati con uguale quantità di olio solvente e costituivano il gruppo di controllo. Le iniezioni sono state eseguite mediante una micro-siringa nella cavità celomatica del girino.

Allo scopo di indagare i momenti successivi dell'azione ormonale, abbiamo fissato gli animali trattati e di controllo a 10, 20, 30, 40 giorni dalla metamorfosi ottenendo in tal modo 18 animali di controllo e 21 animali ormonizzati.

Degli animali di controllo, ai quali la somministrazione dell'olio solvente non ha causato particolari modificazioni dello sviluppo dell'apparato genitale, 8 sono risultati di sesso femminile e 10 di sesso maschile. Negli esemplari di ambedue i sessi gli organi di Bidder (Tav. I, fig. 1) erano ricchi di grossi ovociti della prima ondata ovogenetica, di ovociti più piccoli con quadri sinaptici della seconda ondata ovogenetica, e subivano, pur con notevole variabilità individuale, un progressivo aumento di volume in funzione dell'età degli animali. Nelle femmine le gonadi (Tav. I, figg. 2, 3) mostravano, già negli animali più giovani fissati 10 giorni dopo la metamorfosi, ovogoni e nidi di ovociti in I periodo di accrescimento (stadi sinaptici da leptotene a pachitene) localizzati nel territorio corticale, mentre la scarsa *medulla* presentava inizi di cavitazione. Negli esemplari di sesso maschile le gonadi (Tav. I, figg. 4, 5) presentavano una *medulla* abbondantemente colonizzata da gonociti (spermatogoni), mentre la zona corticale era ridotta ad un semplice rivestimento periferico, quasi costantemente privo di elementi germinali.

Dei 21 animali trattati con testosterone, 5 al momento della fissazione non presentavano residui della soluzione oleosa: di questi 3 sono risultati di sesso femminile, 2 di sesso maschile. Si suppone che la soluzione oleosa di testosterone sia stata perduta durante l'allevamento e l'azione dell'ormone sia stata parziale.

Dei 16 animali rimanenti, che mostravano evidenti residui della soluzione oleosa sotto forma di lacune ventro-laterali nella cavità celomatica, 3 sono risultati femmine, 4 avevano aspetto intersessuato di tipo maschile, 2 presentavano aspetto maschile con residui di colonizzazione corticale da parte di ovogoni, e 6 erano decisamente maschi (Tabella I); un individuo di 40 giorni di età mostrava gonadi semisterili di aspetto peculiare, tale da non permettere il riconoscimento del sesso, perciò non è stato preso in considerazione.

(4) R. CAMBAR e J. D. GIPOULOUX, *Table chronologique du développement embryonnaire et larvaire du Crapaud commun*, *Bufo bufo*, « Bull. Biol. France et Belgique », 90, 198-217 (1956).

TABELLA I.

	♀	♀ ♂	♀ ♂	♂
<i>Controlli</i>	8	-	-	10
<i>Ormonizzati</i>	3	4	2	6

Gli organi di Bidder (Tav. I, fig. 6) erano caratterizzati da una notevole riduzione volumetrica, già apprezzabile negli esemplari vissuti 10 giorni dopo la metamorfosi e più marcata negli animali vissuti 30, 40 giorni. Gli ovociti bidderiani in II periodo di accrescimento erano meno numerosi e più piccoli che nei controlli; anche gli ovociti in stadi sinaptici della seconda ondata ovogenetica bidderiana erano meno abbondanti che negli animali di controllo.

I 3 esemplari di sesso femminile presentavano gonadi (Tav. I, fig. 7) con ovogoni localizzati in territorio corticale e scarsissimi nidi di ovociti in stadi sinaptici. I 4 individui intersessuati avevano gonadi (Tav. I, fig. 8) non molto sviluppate, con scarsa *medulla* e mancanti completamente di ovociti in stadi sinaptici. Nei 2 esemplari di aspetto quasi maschile le gonadi (Tav. I, fig. 9), accanto a una maggioranza di spermatozoni localizzati nella *medulla*, presentavano alcuni ovogoni in posizione corticale. Le gonadi dei 6 esemplari di sesso maschile (Tav. I, fig. 10) erano simili per aspetto a quelle dei maschi di controllo, con *medulla* ricca di gonociti (spermatozoni) e *cortex* priva di elementi germinali, ridotta ad un rivestimento periferico dell'organo genitale.

* * *

In questo lavoro preliminare ci siamo dunque proposti di prolungare un trattamento ormonale con testosterone su girini di *Bufo bufo* oltre la metamorfosi, in modo da studiare l'azione dell'ormone durante il periodo in cui anche naturalmente si completa il differenziamento sessuale delle gonadi.

Pur nella scarsità dei dati preliminari, il testosterone sembra avere provocato un'alterazione del rapporto sessi, spostandolo in senso maschile: accanto a un piccolo numero di vere femmine, abbiamo riscontrato animali in condizione intersessuata di tipo quasi maschile, animali di aspetto maschile che conservano però alcuni quadri gonadici di tipo femminile e infine un certo numero di maschi.

L'azione sugli organi di Bidder è stata abbastanza costante, manifestandosi con la riduzione numerica degli ovociti bidderiani e con la conseguente diminuzione volumetrica degli organi stessi.

L'effetto mascolinizzante sulla gonade e inibitore sull'organo di Bidder è apparso più evidente in quegli animali che hanno subito il trattamento più a lungo nel tempo.

Da questi dati sembra risultare che anche nel genere *Bufo* le gonadi sono suscettibili di inversione sessuale ad opera degli ormoni sessuali dell'adulto, ma che il periodo di reattività all'azione dell'ormone è più tardivo che negli altri Anfibi Anuri, per esempio in *Rana*, coincidendo con quella fase della vita postmetamorfica durante la quale, anche in condizioni normali di sviluppo, in questi animali si verifica il differenziamento sessuale.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

A sinistra esemplari di controllo (480 ×).

- Fig. 1. - Sezione trasversale dell'organo di Bidder di un esemplare ucciso 10 giorni dopo la metamorfosi.
- Figg. 2-3. - Sezioni trasversali della gonade di un esemplare di sesso femminile ucciso 20 giorni dopo la metamorfosi.
- Figg. 4-5. - Sezioni trasversali delle gonadi di esemplari di sesso maschile uccisi rispettivamente 10 e 30 giorni dopo la metamorfosi.

A destra esemplari trattati con testosterone (480 ×).

- Fig. 6. - Sezione trasversale dell'organo di Bidder di un esemplare ucciso 40 giorni dopo la metamorfosi.
- Fig. 7. - Sezione trasversale della gonade di un esemplare di sesso femminile ucciso 20 giorni dopo la metamorfosi.
- Fig. 8. - Sezione trasversale della gonade di un esemplare intersessuato ucciso 10 giorni dopo la metamorfosi.
- Fig. 9. - Sezione trasversale della gonade di aspetto quasi maschile di un esemplare ucciso 10 giorni dopo la metamorfosi.
- Fig. 10. - Sezione trasversale della gonade di un esemplare di sesso maschile ucciso 40 giorni dopo la metamorfosi.

