

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

FRANCESCO ZACCANTI

## Osservazioni istologiche ed autoradiografiche su ovari di girini di *Rana esculenta* in iniziale inversione sessuale indotta con testosterone

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 56 (1974), n.4, p. 623–630.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1974\\_8\\_56\\_4\\_623\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_56_4_623_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/>



**Zoologia.** — *Osservazioni istologiche ed autoradiografiche su ovari di girini di Rana esculenta in iniziale inversione sessuale indotta con testosterone*<sup>(\*)</sup>. Nota di FRANCESCO ZACCANTI, presentata <sup>(\*\*)</sup> dal Socio P. PASQUINI.

SUMMARY. — An initial sex-reversal is studied in ovaries of *Rana esculenta* tadpoles treated with testosterone. The two actions of testosterone demonstrated by Vannini and Stagni (1967) are confirmed by histological and autoradiographic indications. The antiogenetic action of testosterone causes a decrease of RNA-synthesis in the nuclei of diplotenic oocytes. The masculinizing action of testosterone has its initial display on extragonadic cells of interrenal blastema, that increase their RNA-synthesis. These target cells of testosterone activity are the probable medulloblasts that migrate into the gonads and originate the masculinizing *medulla*. A causal correlation between antiogenetic and masculinizing actions of testosterone is not admitted.

La presente Nota va inquadrata in una serie di ricerche svolte presso l'Istituto di Zoologia della Università di Bologna, che ripropongono i problemi del differenziamento sessuale negli Anfibi con nuove impostazioni sperimentali. I risultati che qui vengono riferiti sono stati ottenuti mediante osservazioni istologiche ed autoradiografiche su ovari di girini di *Rana esculenta* nei quali è stata provocata l'inversione sessuale con testosterone; lo scopo è stato quello di ottenere informazioni sulle cellule bersaglio dell'ormone mascolinizante.

L'ipotesi che è stata seguita nell'impostazione della ricerca è quella secondo cui l'azione mascolinizante del testosterone si esprime con la formazione di nuovo tessuto midollare gonadico, capace di indurre le cellule germinali a differenziarsi in spermatogoni. Secondo Vannini (1942) la *medulla* neoformata durante le inversioni sessuali indotte, così come in quelle spontanee, sarebbe di origine extragonadica, provenendo dal blastema interrenale. L'origine della nuova *medulla* gonadica rimane comunque problematica, in quanto non è stato possibile fin qui metterla in evidenza sottoforma di nuove proliferazioni cellulari accompagnate da ondate mitotiche di cellule somatiche, né all'interno della gonade, né in regioni extragonadiche quali l'angolo celomico primario (Ranzoli, 1964) o il blastema interrenale. È inoltre interessante notare che le cellule che vengono a costituire la nuova *medulla* mascolinizante e che riempiono la cavità della gonade, presentano una spiccata basofilia risolvibile in seguito a trattamento con ribonucleasi bollita. Per questa ragione è sembrato opportuno uno studio sulla origine della nuova *medulla*

(\*) Indagini eseguite nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Bologna diretto dal prof. Enrico Vannini, con una sovvenzione del C.N.R.

(\*\*) Nella seduta del 20 aprile 1974.

gonadica indotta dal testosterone mediante l'identificazione autoradiografica delle cellule somatiche che in seguito al trattamento ormonale entrano in attiva sintesi di RNA.

#### MATERIALE E METODI

Sono stati raccolti durante l'estate 1970 nei dintorni di Bologna, girini di *Rana esculenta* di dimensioni ragguardevoli, che superavano anche gli 80 mm di lunghezza. Che tali esemplari fossero ibernanti appare dimostrato dal fatto che l'anno seguente (1971) sono state raccolte nelle stesse zone in cui l'anno precedente erano state rinvenute le forme giganti, ovature di *Rana esculenta*, dalle quali in laboratorio si sono sviluppati girini che hanno mantenuto l'abito larvale per tutto l'anno successivo e che hanno completata la metamorfosi soltanto al termine della seconda estate (1972), avendo intanto raggiunto dimensioni paragonabili a quelle degli animali ibernati raccolti in natura. Forme ibernanti di girini di *Rana esculenta* sono state descritte in più occasioni e da numerosi Autori (per esempio: Fosi, 1933; Angel, 1937; Facco, 1950).

Alla dissezione girini ibernanti riferibili allo stadio 44 delle tavole di sviluppo della *Rana esculenta* di Manelli e Margaritora (1961) presentavano gonadi il cui sesso era riconoscibile ad un esame *in toto*, essendo gli ovari più voluminosi ed estesi in senso longitudinale dei testicoli. All'esame istologico poi, gli ovari apparivano ricchi di ovociti diplotenici in secondo periodo di accrescimento ovocitario, mentre nei testicoli erano riconoscibili soltanto cellule germinali allo stadio di spermatogoni in moltiplicazione.

Un gruppo di girini allo stadio suddetto sono stati trattati con una soluzione oleosa di testosterone propionato iniettata per via intraperitoneale in ragione di 0.02 ml, pari a 100 µg di ormone per animale. Gli animali sono stati allevati fino a 20 giorni dall'inizio del trattamento, parallelamente ad altrettanti animali di controllo cui era stato somministrato olio solvente in identica quantità. Al termine dell'allevamento tutti gli animali avevano completato la metamorfosi.

I girini e in seguito le giovani rane sono stati uccisi al quinto, decimo, quindicesimo e ventesimo giorno di trattamento; 24 ore prima delle uccisioni agli animali veniva iniettata in sacca linfatica dorsale uridina triziata in soluzione fisiologica, nella quantità di 0,02 ml, pari a 20 µCi per animale. Gli animali venivano dissezionati e il complesso reni-gonadi veniva prelevato e fissato in liquido di Sanfelice; venivano approntati quindi preparati istologici ed autoradiografici con il metodo della emulsione liquida.

La somministrazione dell'ormone in soluzione oleosa è stata scelta tra le altre possibili allo scopo di ottenere, in dipendenza del lento assorbimento dell'olio solvente, il rallentamento degli effetti mascolinizanti del testosterone, in modo da rendere più facilmente osservabili le fasi iniziali del processo di inversione sessuale, in quanto prolungato nel tempo.

#### OSSERVAZIONI

Le osservazioni che vengono qui riportate riguardano soltanto gli esemplari di sesso femminile che sono risultati 43 su un totale di 80 individui trattati e di controllo.

L'esame dei preparati istologici non fornisce particolari indicazioni sulla risposta all'azione del testosterone negli ovari degli animali uccisi a 5, 10, 15 giorni dall'inizio del trattamento, che appaiono del tutto confrontabili con quelli degli animali di controllo. Infatti sia negli animali trattati che in quelli di controllo gli ovari si presentano nelle sezioni ricchi di ovociti diplotenici in secondo periodo di accrescimento ovocitario, accompagnati da pochi

e periferici ovogoni ed ovociti agli stadi sinaptici della profase meiotica in primo periodo di accrescimento ovocitario. La cavità ovarica è spesso resa virtuale dal grande spessore assunto dalla *cortex* e il tessuto midollare è ridotto ad un sottile rivestimento della tasca ovarica. Il meso della gonade appare costituito da due lamine somatopleuriche strettamente accollate l'una all'altra (Tav. I, foto 1).

Soltanto negli animali uccisi al ventesimo giorno di trattamento sono riconoscibili i segni di una incipiente inversione sessuale: cellule somatiche ad elevata basofilia occupano la cavità ovarica in modo più o meno massiccio, essendo localizzate in posizione midollare nello spazio compreso tra la spessa parete corticale. Il meso della gonade si presenta inspessito da cellule somatiche anch'esse fortemente basofile che, comprese tra le due lamine somatopleuriche ora nettamente scollate, sono in stretta continuità con quelle che si riscontrano nella gonade. D'altro canto le suddette cellule somatiche comprese nello spessore del meso della gonade sono anche in continuità con quelle cellule somatiche extragonadiche, che localizzate ai lati della vena cava, costituiscono il blastema interrenale (Tav. I, foto 2, 3, 4).

I quadri descritti vengono interpretati come momenti iniziali di una nuova proliferazione medullare capace di mascolinizzare la gonade. Negli ovari gli elementi germinali rimasti allo stadio di ovogoni cominciano ad essere inglobati nella *medulla* neoformata dove assumono il valore di spermatogoni. L'origine di tale nuova *medulla* sembra essere reperibile nel territorio extragonadico immediatamente contiguo alla radice dorsale del meso della gonade come sostenuto da Vannini.

Gli esami autoradiografici, che permettono le localizzazioni istologiche delle incorporazioni del materiale radioattivo somministrato e quindi delle sintesi di RNA avvenute nelle 24 ore che hanno preceduto l'uccisione dell'animale, permettono di distinguere due differenti effetti dell'azione ormonale, di cui uno non rilevabile al semplice esame istologico. Infatti l'effetto antiovogenetico del testosterone, descritto da Vannini e Stagni (1967), è in questo materiale rilevabile sottoforma di una significativa e rapida diminuzione delle marcature autoradiografiche nucleari degli ovociti diplotenici in secondo periodo di accrescimento ovocitario, che si riscontra già negli ovari degli animali uccisi dopo 5 giorni di trattamento con testosterone. Si è tentato di quantitativizzare le differenze correnti tra gli animali trattati e gli animali di controllo, a livello delle marcature autoradiografiche nucleari degli ovociti, assunte come indice delle neosintesi di RNA, mediante conteggi dei granuli di argento presenti nei nuclei di ovociti di dimensioni comprese in un ristretto intervallo. I risultati di tale indagine mostrano il rapido abbassamento della attività RNA sintetica negli ovociti degli animali trattati con testosterone già 5 giorni dopo l'inizio del trattamento. Tale ridotta attività si mantiene costante dopo 10 e 15 giorni di trattamento, e subisce un ulteriore decremento dopo 20 giorni, quando comincia a manifestarsi anche il secondo effetto del testosterone, quello mascolinizzante in quanto medullostimolatore (fig. 1; Tav. I,

foto 5, 6). Anche questo secondo effetto del testosterone presenta aspetti autoradiografici di notevole interesse: nello stadio di inversione sessuale estremamente iniziale riscontrato nella presente ricerca sono rilevabili notevoli marcature autoradiografiche a carico di cellule appartenenti al blastema interrenale e localizzate in vicinanza della radice dorsale del meso della gonade. Queste cellule che sembrano essere in stretta continuità con quelle che inspessiscono il meso della gonade incuneate tra le due lamine somatopleuriche, presentano marcature intense e ben delimitate e vengono considerate come possibili medulloblasti, cellule cioè che costituiscono il bersaglio del testo-

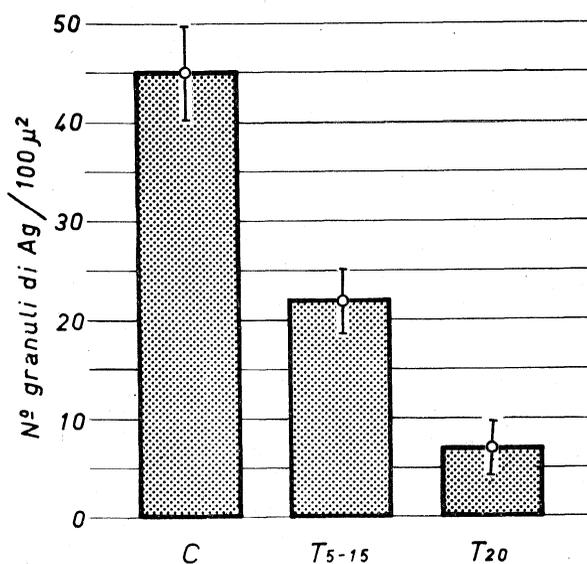


Fig. 1. - Rappresentazione quantitativa della incorporazione di uridina triziata nel nucleo di ovociti diplotenici di circa  $100.000 \mu^3$  di volume in girini di *Rana esculenta* alla fine della metamorfosi. L'incorporazione di uridina triziata risulta ridotta negli animali trattati con testosterone per 5, 10, 15 giorni (T 5-15), rispetto a quella degli animali di controllo (C). Negli animali trattati con testosterone per 20 giorni (T 20) si registra un ulteriore decremento della marcatura autoradiografica, in corrispondenza dell'effetto mascolinizante del testosterone. Le differenze esistenti tra le colonne sono statisticamente significative.

sterone e che dalla azione farmacologica dell'ormone sono attivate a rispondere migrando verso la gonade. Sui rapporti intercorrenti tra le suddette cellule extragonadiche, quelle comprese nel meso della gonade e quelle localizzate nella gonade stessa, può costituire una indicazione l'esistenza di un gradiente di marcatura autoradiografica che, essendo massimo per i così detti medulloblasti, decresce nelle cellule comprese nel meso della gonade e nelle cellule gonadiche che costituiscono la nuova *medulla*; questo fatto testimonierebbe una massima attività RNA-sintetica a carico dei medulloblasti al momento della loro attivazione. L'elevata basofilia dei medullociti sembra quindi dovuta a sintesi di RNA avvenute quando queste cellule sono state indotte a migrare verso la gonade a partire dalle loro sedi extragonadiche.

#### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati riferiti nella presente Nota vanno inquadrati in quella serie di nuove ricerche iniziate da Vannini e Stagni, che ripropongono i temi del differenziamento sessuale negli Anfibii Anuri e delle deviazioni del normale pro-

cesso indotte mediante ormoni sessuali dell'adulto. In precedenza lo stesso Vannini (1941, 1942, 1950), in contrapposizione ad altri Autori, aveva proposto un modello secondo il quale la mascolinizzazione delle gonadi, sia essa precoce a partire dalla condizione indifferenziata e bipotente, o tardiva a partire da stadi nei quali sia già iniziato il differenziamento in senso ovarico, prende l'avvio dalla formazione di nuovo tessuto midollare attivo che si origina in sedi extragonadiche e che penetra nella gonade attivando e quindi sessualizzando solo quelle tra le cellule germinali che sono rimaste allo stadio di ovogoni, o che comunque non sono ancora entrate nella profase meiotica oogenetica. E ciò in modo del tutto comparabile sia nelle mascolinizazioni spontanee, sia in quelle indotte sperimentalmente mediante trattamenti androgeni. La tesi opposta sosteneva invece che le mascolinizazioni tardive sono mediate dalla ricostruzione di una *medulla* attiva a partire dai residui ancora presenti nella gonade della prima ed unica proliferazione midollare (Witschi, 1929, 1939).

Anche l'effetto mascolinizzante del testosterone sulla gonade degli Anfibi Anuri in corso di differenziamento, messo in evidenza da numerosi Autori attorno al 1925-40, è stato oggetto di interpretazioni diverse, soprattutto per quanto riguarda il meccanismo di azione di questa e di altre sostanze steroidi a livello dei differenziatori primari del sesso (fattori genici di mascolinità e di femminilità) e secondari (induttori sessuali prodotti dai due territori della gonade: rispettivamente medullarina e corticina). In particolare secondo Witschi (1940, 1950) il testosterone, che non avrebbe alcun ruolo nel normale differenziamento delle gonadi, nelle somministrazioni sperimentali sarebbe capace di inibire l'attività del territorio somatico più esterno della gonade, cioè la *cortex*. Poiché a tale territorio sono attribuite potenzialità femmininizzanti mediate da una corticina positiva e potenzialità anti-medullariche dovute ad una corticina negativa, la mascolinizzazione delle gonadi provocata dal testosterone sarebbe l'effetto secondario della caduta delle due azioni della *cortex* gonadica. Secondo altri il testosterone potrebbe venire identificato con i differenziatori secondari del sesso maschile, e cioè con la sostanza prodotta dal territorio midollare, la medullarina capace di sessualizzare in senso maschile le cellule germinali e quindi la gonade. Secondo questa ipotesi al testosterone viene attribuita una azione medullarino-simile (Wolff, 1947; Padoa, 1950).

Recentemente e sulla base di tutta una serie di risultati sperimentali Vannini e Stagni (1967, 1972) hanno potuto mettere in evidenza due differenti azioni del testosterone sulle gonadi in corso di differenziamento in una razza sessualmente semidifferenziata di *Rana dalmatina*. Una di queste, l'azione antiogogenetica del testosterone, si manifesta sia impedendo l'entrata in meiosi degli ovociti in riposo, sia provocando la degenerazione degli ovociti in profase meiotica, sia infine rallentando i processi moltiplicativi degli ovogoni: questa azione antiogogenetica si manifesta anche in presenza di actinomicina D. La seconda azione del testosterone, mascolinizzante in quanto medullostimolatrice, risulta invece bloccabile con actinomicina D.

Il rapporto sussistente tra le due azioni del testosterone non è necessariamente di causalità, in quanto la seconda azione non sembra essere la conseguenza della prima. Infatti si ottiene mascolinizzazione indotta della gonade sia a partire da stadi di sviluppo in senso ovarico nei quali le cellule germinali non hanno ancora assunto il valore di ovociti, e allora non subiscono che parzialmente l'azione antiogogenetica del testosterone, sia a carico del solo tessuto somatico della gonade in animali privati sperimentalmente di cellule germinali (Padoa, 1964).

Se l'azione antiogogenetica del testosterone non sembra comparabile con l'azione mascolinizante per inibizione della *cortex* supposta da Witschi, così l'azione medullostimolatrice e quindi mascolinizante del testosterone non è identificabile con l'effetto medullarino-simile ammesso da Wolff. Infatti mentre la supposta medullarina dovrebbe agire direttamente sulle cellule germinali inducendole a comportarsi da spermatogoni in moltiplicazione, il testosterone sembra piuttosto agire su di un punto più a monte del processo, avendo come effetto la formazione della *medulla*; quindi anche nelle mascolinizazioni indotte con testosterone si può supporre come conseguenza la successiva sessualizzazione delle cellule germinali ad opera di medullarina prodotta dalla nuova *medulla*. Le ricerche operate mediante studio degli enzimi implicati nelle sintesi degli ormoni steroidi non mettono d'altronde in evidenza nelle gonadi degli Anfibi Anuri attività steroidosintetiche se non dopo il differenziamento sessuale, e ciò non va certamente a sostegno della tesi che vuole per la medullarina e quindi per i differenziatori secondari del sesso una natura steroide simile se non identica a quella degli ormoni dell'adulto (Chieffi e Botte, 1962).

L'effetto mascolinizante del testosterone è quindi dovuto ad una azione farmacologica, e non ad una azione fisiologica. Rimane aperto tuttavia il problema se l'azione farmacologica chiami o no in causa i meccanismi del normale differenziamento sessuale in senso maschile. L'ormone sembra agire a livello di derepressione genica, derepressione cioè di quei fattori genici di mascolinità che presenti nel genotipo non si sono ancora esplicitati o non si esplicherebbero altrimenti, essendo quantitativamente sovrachiati dai fattori del sesso opposto. Comunque il meccanismo fisiologico di azione del testosterone per la manifestazione ad esempio dei caratteri sessuali secondari deve discostarsi in una certa misura dal meccanismo farmacologico col quale l'ormone agisce quando interferisce con il normale differenziamento sessuale, provocando od anticipando la mascolinizzazione delle gonadi. In questo senso sono indicative le recenti osservazioni di Rastogi, Chieffi e Iela (1972) sul ciproterone, sostanza antagonista del testosterone per quanto concerne la manifestazione dei caratteri sessuali secondari nell'adulto, che produce invece effetti mascolinizanti testosterone-simili sulle gonadi larvali in corso di differenziamento di girini di *Rana*.

I risultati riferiti confermano le due azioni del testosterone, quella antiogogenetica e quella medullostimolatrice. Le cellule bersaglio del testosterone

o medulloblasti sembrano essere quelle, appartenenti al blastema interrenale, che negli animali trattati con testosterone mostrano elevata marcatura autoradiografica, indice di notevole attività RNA-sintetica. Queste cellule sono in stretta continuità con quelle che sono comprese nel meso della gonade, in cui alla netta basofilia non corrisponde una altrettanto rilevante marcatura autoradiografica. I medulloblasti attivati dalla azione ormonale sembrano rispondere con notevoli sintesi delle varie categorie di RNA, e quindi migrano verso la gonade attraversandone il meso. Qui, assumendo il valore di cellule midollari, esercitano forse mediante una sostanza, l'ipotetica medullarina, l'azione mascolinizzante che si traduce nella sessualizzazione in senso maschile delle cellule midollari e forse anche nella attiva distruzione della *cortex* gonadica.

L'azione antiovogenetica del testosterone è rilevabile sotto forma di una brusca flessione delle sintesi di RNA degli ovociti diplotenici negli ovari degli animali sottoposti a trattamento. Il fatto poi che l'attività RNA-sintetica così ridotta si mantenga costante per un periodo di tempo abbastanza lungo e che si abbassi ulteriormente soltanto in coincidenza con la manifestazione dell'effetto mascolinizzante del testosterone, può essere interpretato come se all'azione antiovogenetica dell'ormone si sommasse quella della supposta medullarina anticorticale, e ciò può essere preso ad ulteriore supporto della indipendenza tra azione mascolinizzante e azione antiovogenetica del testosterone.

#### BIBLIOGRAFIA

- ANGEL F. (1937) - *Sur deux têtards géants de Rana esculenta*, « Bul. Mus. Paris. », 54-55.
- CHIEFFI G. e BOTTE V. (1962) - *Osservazioni istochimiche sulla attività della steroide  $\beta$ -olo deidrogenasi nella interrenale e nelle gonadi di girini e adulti di Rana esculenta*, « Riv. Istoch. Nor. Pat. », 9, 172-173.
- FACCO E. (1950) - *Il differenziamento sessuale nella Rana esculenta di Padova*, « Atti Ist. Veneto Sc. Lett. Arti », 108, 79-94.
- FOSI V. (1933) - *Ricerche sui girini ibernanti di Rana esculenta dei dintorni di Siena*, « Arch. Zool. Ital. », 18, 287-329.
- MANELLI H. e MARGARITORA F. (1961) - *Tavole cronologiche dello sviluppo di Rana esculenta*, « Rend. Accad. Naz. dei XL », 12, 159-182.
- PADOA E. (1951) - *Grenouilles et stérols*, « Arch. Anat. Microsc. Morph. Exp. », 39, 314-336.
- PADOA E. (1964) - *Il differenziamento sessuale delle gonadi di Rana esculenta rese sterili dall'irradiamento con ultravioletto delle uova indivise*, « Bol. Zool. », 31, 811-825.
- RANZOLI F. (1964) - *Osservazioni sulla sede di origine dei blastemi genitale e interrenale negli embrioni di pollo*, « Atti Accad. Sc. Ist. Bologna », 252, 12, 69-75.
- RASTOGI R. K., CHIEFFI G. e IELA L. (1972) - *Effects of antiestrogen and antiandrogen in Amphibia*, « Gynec. Invest. », 2, 271-275.
- VANNINI E. (1941) - *Rapida azione mascolinizzante del testosterone sulle gonadi di girini di Rana agilis in metamorfosi*, « Rend. R. Accad. d'Italia », 2, 1-11.
- VANNINI E. (1942) - *Sull'origine interrenale dei cordoni della rete e dei corpi grassi durante lo sviluppo delle gonadi e sulla partecipazione della interrenale ai processi di intersessualità giovanile nella Rana agilis*, « Mem. R. Accad. d'Italia », 13, 731-787.
- VANNINI E. (1951) - *Organogenèse des gonades et déterminisme du sexe chez les Amphibiens et les Amniotes*, « Arch. Anat. Micr. Morph. Exp. », 39, 295-313.

- VANNINI E. e STAGNI A. (1967) - *Repression by actinomycin d of testosterone induced sex reversal in Rana dalmatina tadpoles*, « Exp. Cell Res. », 46, 460-643.
- VANNINI E. e STAGNI A. (1972) - *Inibizione con actinomicina d dei processi di inversione sessuale provocati dal testosterone sugli ovari dei girini di Rana dalmatina*, « Arch. Ital. Anat. Embriol. », 77, 25-67.
- WITSCHI E. (1929) - *Bestimmung und Vererbung des Geschlechts bei tierren*, « Handb. Vererb. », 2, 1-115.
- WITSCHI E. (1939) - *Effects of sex hormones on the gonads of frog larvae (Rana calamitans). Sex inversion in females; stability in males*, « Anat. Rec. », 75, 75-83.
- WITSCHI E. (1940) - *Hormones et différenciation sexuelle*, « Scientia », 34, 52-56.
- WITSCHI E. (1951) - *Génétique et physiologie de la différenciation du sexe*, « Arch. Anat. Microsc. Morph. Exper. », 39, 215-240.
- WOLFF E. (1947) - *Essai d'interprétation des résultats obtenus récemment chez les Vertébrés sur l'intersexualité hormonale*, « Experientia », 3, 272-276.

### SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Foto 1. - Particolare di una sezione trasversale a livello dell'ovario in una *Rana esculenta* appena metamorfosata (animale di controllo). Il meso della gonade (*m*) è costituito dalle sole lamine somatopleuriche accollate. (*i*): porzione ventrale del blastema interrenale. (*z*): tasca ovarica. (570×).
- Foto 2. - Particolare di una sezione trasversale a livello dell'ovario in una *Rana esculenta* appena metamorfosata dopo 20 giorni di trattamento con testosterone. L'iniziale inversione sessuale è rilevabile sottoforma di un inspessimento del meso della gonade (*m*) e del riempimento della tasca ovarica da parte di nuovo tessuto somatico le cui cellule presentano rapporti di continuità con quelle localizzate nella porzione ventrale del blastema interrenale (*i*) (effetto mascolinizzante del testosterone). (270×).
- Foto 3. - Come nella foto 2. Il meso della gonade (*m*) risulta inspessito da numerose cellule somatiche che costituiscono un ponte tra il blastema interrenale (*i*) e la nuova *medulla* gonadica in via di formazione. La zona riquadrata corrisponde alla foto 4. (260×).
- Foto 4. - La zona riquadrata nella foto 3 a maggiore ingrandimento. Le cellule somatiche che, in seguito a trattamento con testosterone, inspessiscono il meso della gonade e riempiono la cavità ovarica presentano evidenti marcature autoradiografiche dovute ad incorporazione di uridina triziata. (110×).
- Foto 5. - Ovocita diplotenico in un animale di controllo, che presenta elevata marcatura autoradiografica nucleare dovuta ad incorporazione di uridina triziata. (760×).
- Foto 6. - Ovocita diplotenico in un animale trattato con testosterone. La marcatura autoradiografica nucleare dovuta ad incorporazione di uridina triziata è nettamente inferiore a quella riscontrata negli animali di controllo (effetto antiovo-genetico del testosterone). (760×).

