

VARIACIONES ESTRUCTURALES DE LA GONADA Y APARICION DE LOS CARACTERES SEXUALES
 SECUNDARIOS HETEROESPECIFICOS EN *PLATYPOECILUS MACULATUS*
 POR ACCION DE TESTOSTERONA

Por: J. Builes(1) y A. Pisanó(2)

RESUMEN

El tratamiento con metil-testosterona en los alevinos machos recién nacidos de P. maculatus, induce en los primeros días de vida la transformación de la aleta anal en gonopodio y la transformación de la aleta caudal en una estructura en forma de espada. Estos mismos fenómenos se obtienen en forma casi normal en las hembras tratadas con la misma dosis. Se notó que la hormona actuaba sobre la gonada acelerando la espermatogénesis e inhibiendo la ovogénesis. Por otra parte, en los ejemplares adultos tratados con metil-testosterona, se produjo en la aleta caudal la formación de una estructura en forma de espada, en hembras y machos. En estos últimos, el gonopodio no sufrió modificación, pero se aceleró la espermatogénesis; en cambio, en las hembras la aleta anal se transformó en gonopodio casi normal y se inhibió la ovogénesis.

INTRODUCCION

Las investigaciones que estudian los efectos de la testosterona sobre la gonada de poecílidos, son escasas y poco se sabe de la influencia que esta hormona ejerce sobre los caracteres sexuales secundarios de estos teleosteos vivíparos.

Lo más conocido es que el suministro intraperitoneal de propionato de testosterona (0,03 mg.) en *Lebistes reticulatus* por un período que variaba de una semana a cuatro meses, inhibe la ovogénesis, reduce el crecimiento somático e induce el desarrollo de algunos caracteres sexuales masculinos (Eversolet, 1939). Por otra parte, Grobstein (1942), al inyectar por vía intraperitoneal propionato de testosterona (2-25 mg/C.C.) en hembras adultas de *Platypoecilus maculatus* con aleta anal intacta o seccionada, hasta la aparición de la respuesta (con intervalos de 3-7-9 etc. días), obtiene la formación de un gonopodio que no llega a ser

normal. También la etinilttestosterona, suministrada cada cuatro días en concentraciones de 1 grama/litro a hembras y machos recién nacidos de *Lebistes reticulatus*, provoca transformaciones en la aleta anal, pero sólo después de un período de 50 días de tratamiento. En la hembra adulta con la misma concentración después de la aparición de la respuesta, la cantidad de hormona se duplica y se presenta formación de ciertas áreas II y III (Hopper, 1949).

Puesto que el problema se presenta de interés, especialmente considerando la relación que parece existir entre la testosterona y la diferenciación de la aleta anal en el gonopodio, quisimos realizar una serie de observaciones tratando alevinos y adultos de ambos sexos de *Platypoecilus maculatus* con metil-testosterona. Los resultados conseguidos, si bien plantean nuevos interrogantes, han aportado

(1) Profesor, Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

(2) Miembro de la Carrera de Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (Buenos Aires).

datos que consideramos de interés especialmente en lo que se refiere a la acción que ha tenido la hormona, no solo sobre la aleta anal sino especialmente sobre la caudal.

Con el objeto de obtener una mejor interpretación de los resultados, hemos examinado macro y microscópicamente la gonada de varios ejemplares de distintas edades tratados con la hormona.

Los resultados más notables se resumirán antes de pasar a esquematizar las variaciones que han sido determinadas en las aletas con el tratamiento hormonal.

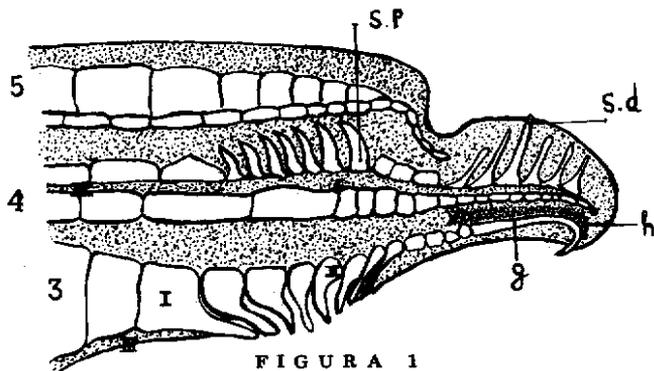


FIGURA 1

Gonopodio normal de *Platypoecilus maculatus*. Lo conforman los radios 3, 4 y 5. En el radio 3 las áreas están indicadas por I, II y III; el gancho y la hoja por g y h respectivamente. En el radio 4, bifurcado, las sierras distales y proximales se representan por sd y sp respectivamente.

MATERIALES Y METODOS.

Se trataron con metil-testosterona un total de 100 alevinos y 100 ejemplares adultos de *Platypoecilus maculatus*. Se mantuvieron en acuarios de diez litros, a una temperatura de 26-28°C, siendo alimentados con comida seca (Rosa wil) y viva (*Tubifex*, *Artemia salina*).

Los alevinos se dividieron por edades en tres grupos, al comenzar el tratamiento con la hormona: 1) alevinos recién nacidos; 2) a los 20 días y 3) a los 30 días de edad respectivamente. Cada grupo tenía su control respectivo. La dosis diaria de metil-testosterona (Testoviron perlingual Shering: 25 mg. metil-testosterona; excipiente: lactosa, goma arábiga, estearato de magnesio, c.s.p. 0,120g) fue de 100 gamas/litro por día tanto para los adultos de ambos sexos como para los alevinos, durante 60 y 21 días respectivamente. La solución se preparaba disolviendo un comprimido de Testoviron (que contiene 25 mg. de metil-testosterona), en 25 ml. de agua. De esta solución madre se agregaba al acuario la cantidad necesaria para obtener la dosis de hormona previamente establecida.

Los ejemplares se cambiaban de acuario todos los días antes del suministro de metil-testosterona y se tuvo cuidado de no usar, especialmente para los controles, material que hubiese tocado los acuarios en donde se realizaba el tratamiento.

Diariamente se anotaban las oscilaciones de temperatura y se efectuaban algunas observaciones sobre los diversos ejemplares. En cambio cada 7 días se realizaban estudios más detenidos de las características externas, anestesiando los ejemplares con hidrato de cloral al 10/o.

Para el análisis macroscópico e *in situ* de las gonadas, luego de haber desmedulado el animal y haberle fijado en el fondo de una cubeta de parafina llena de agua, se efectuaba un corte ventral desde el ano hasta la raíz de los opérculos, poniendo al descubierto las glándulas genitales. Realizado el examen, se inundaba la cavidad peritoneal con fijador de Stieve o de Bouin (de tres a seis horas). Una vez fijadas, las gonadas eran extirpadas, lavadas, deshidratadas, incluidas en parafina y cortadas en serie de 7 u de espesor. Luego se coloreó con hematoxilina de Ehrlich y eosina o rojo congo; en ciertas ocasiones se usó la mezcla tricrómica de Mallory.

Con el objeto de reconocer algunas estructuras internas, desde un punto de vista macroscópico, se realizaron también al estereoscopio y a bajo aumento, microdisecciones del testículo u ovario, utilizando agujas de vidrio y pinzas de relojero de puntas muy delgadas (tipo espiral). En estos casos se usaron como colorantes el carmín borácico y el azul de metileno.

RESULTADOS

A. Alevinos tratados con metil-testosterona

1. Alevinos recién nacidos.

a) Después de siete días de tratamiento.

Gonada: Se encuentran dos testículos, al igual que en los controles, pero de mayor volumen. Mediante análisis histológico se reconocen, dispuestas sin orientación, células germinales aisladas y a veces reunidas en pequeños grupos. Se encuentran también nidos espermatogoniales en las regiones más periféricas. Los conductos espermáticos, bien diferenciados con respecto a los controles, ensanchan considerablemente su lumen en el que aparece una secreción fuertemente eosinófila (Fig.2).

La gonada femenina, también par en este estadio, se distingue de los testículos por presentarse a luz incidente, más opaca que estos,

por poseer una menor longitud y un mayor volumen especialmente si se compara con los ejemplares normales. Histológicamente, en su interior, se encuentran ovogonios rodeados por células foliculares y un escaso número de ovocitos de diferentes diámetros. Los de diámetro menor son traslúcidos; en cambio, los de diámetro mayor, totalmente blanquecinos.

Aletas: En esta etapa del desarrollo larval se observa la aleta anal en fase de crecimiento con su *radio* 3, alargándose y dividido en ocho segmentos. En los extremos distales los *radios* 4 y 5 muestran una bifurcación.

b) Después de 14 días de tratamiento:

Gonada: Se encuentran dos testículos incrementados considerablemente de volumen, pero en menor grado de longitud. Histológicamente, ya diferentes de los controles, se visualizan en las regiones más periféricas nidos de espermatoцитos y hasta espermátidas. El diámetro de los conductos espermáticos es mayor y aumenta considerablemente la secreción en el lumen (Fig.3).

Los ovarios han llegado a fusionarse, observándose un solo órgano y dejando ver en su interior sólo ovocitos en vitelogénesis.

Aletas: Se evidencia en la aleta anal el *radio* 3 alargado y dividido en 18 segmentos, en tanto que comienza a diferenciarse el área I, las espinas distales y en su extremo distal una hoja y un "gancho". El *radio* 4 con una división de 22 segmentos, presenta diferenciadas las sierras distales y proximales, localizadas en la rama posterior. El *radio* 5, bifurcado, presenta 22 segmentos. Simultáneamente acontece una considerable regresión de los demás *radios*: 1,2,6,7,8,9,10.

Las deformaciones de la columna vertebral se acentúan, en tanto que las aletas dorsal, pectorales, ventrales y caudal muestran evidentes anomalías (Fig.4).

c) Después de 21 días de tratamiento:

Gonada: Los testículos continúan aumentando en volumen y longitud, lo que los hace muy contiguos, sin que se fusionen. Histológicamente, en el interior del testículo, se pueden observar nidos de diferentes tamaños, localizándose los de menor diámetro, en las regiones más periféricas, en tanto

que, los de mayor diámetro se ubican en las regiones más cercanas a los conductos espermáticos. En contacto con estos últimos se encuentran nidos que contienen espermatozoides. (Fig. 5).

El ovario observado por transparencia y a gran aumento, deja ver en su interior un número muy reducido de ovocitos, con respecto a los días anteriores, pero de mayor volumen. El corte histológico lo confirma.

Aletas: La aleta anal se ha transformado en un gonopodio con sus áreas bien diferenciadas, siendo el de los ejemplares machos de características muy parecidas al normal. Las deformaciones ya mencionadas en las otras aletas, continúan acentuándose y es de notar que las ventrales se entrecruzan engrosando considerablemente sus raíces (Fig.6).

2. Alevinos de 20 y 30 días de edad.

Todas las observaciones anotadas para los alevinos recién nacidos y tratados enseguida con metil-testosterona, se comprobaron en alevinos, a quienes se les suministró por 21 días la misma dosis hormonal, a partir de los 20 y 30 días de edad.

Es de notar, que las deformaciones de las aletas pectorales, dorsal y ventrales y las de la columna vertebral, ya señaladas en los grupos anteriores, son también en este caso muy evidentes y aparecen con las mismas modalidades. No obstante, las modificaciones más llamativas de la aleta caudal se presentan en ambos sexos: sus *radios* 6, 7 y 8 se alargan hasta esbozar la formación de un corto apéndice encorvado y no encontrado en los grupos anteriores (Fig.7).

B. Adultos tratados con metil-testosterona. (Fig. 8 y 9).

a) Después de 7 días de tratamiento.

Gonada: Los testículos observados a bajo aumento no parecen presentar diferencias macroscópicas, con respecto a los normales.

El ovario, en cambio, resulta menos voluminoso encontrándose en su interior pocos ovocitos en crecimiento inicial y en vitelogénesis. Además, pueden presentarse hematomas diversos que se siguen observando durante todo el tratamiento.

Aletas: Entre los ejemplares de ambos sexos, la aleta anal presenta algunas modificaciones sólo en las hembras; su *radio* 3 empieza a diferenciar, por engrosamiento el área I, presentando además una división de seis segmentos y signos de alargamiento. Los *radios*

4 y 5 bifurcados en sus extremos distales y divididos en 6-9 segmentos, adquieren una longitud mayor que la del *radio* 3.

b) Después de 14 días de tratamiento.

Gonada: Observados al estereoscopio (6x), los testículos muestran, en relación con los normales, un aumento de volumen. Pueden, además, encontrarse en su interior zonas hemorrágicas. La distribución de los nidos sigue siendo igual a la del macho adulto normal. Es decir, los nidos se encuentran en el interior de estructuras tubulares que se disponen radialmente y se contactan con las ramas de los conductos espermáticos. Estos, en todos los ejemplares tratados, se hallan siempre repletos de espermátóforas. El ovario sigue su disminución volumétrica y el número de ovocitos observados en su interior es menor (Fig. 10).

Aletas: En cuanto a la morfología de la estructura externa, el gonopodio de los machos no revela modificaciones.

Distinto, en cambio, es el cuadro ofrecido por la aleta anal de las hembras. Subsiste la fase de diferenciación con las modificaciones del *radio* 3 y el esbozo en "gancho"; pero ya se notan los esbozos de las sierras proximales en el *radio* 4. Este y el 5 tienen una longitud menor a la del 3. Por otra parte, el conjunto de los *radios* 6, 7 y 8 ha comenzado a sufrir una regresión. Se hace evidente un aumento de la irrigación sanguínea en el área formada por los *radios* 3, 4 y 5.

En este período de tratamiento surge un hecho nuevo en ambos sexos: la aleta caudal sufre cambios a nivel de los *radios* 6, 7 y 8, los que no solo aumentan de longitud, sino que esbozan el apéndice encorvado en forma de espada de modo más evidente que en los alevinos tratados, a partir de los 20 y 30 días de edad (Fig. 11).

c) Después de 21 días de tratamiento:

Gonada: La observación, al estereoscopio, de los testículos, permite establecer que éstos en el lapso entre los 14 y 21 días de tratamiento, no han sufrido modificaciones mayores a las descritas.

Los ovarios, en cambio, han continuado disminuyendo de volumen y en su interior se observan escasos ovocitos en su etapa inicial y muy raramente en vitelogenénesis.

Aletas: Después de tres semanas de tratamiento, el gonopodio de los ejemplares machos no parece haber-

se modificado. En la aleta caudal la estructura descrita como un apéndice encorvado y que se forma a costa de los *radios* 6, 7 y 8, sufre un crecimiento cada vez mayor. Además, se hacen presentes otras modificaciones a nivel de las aletas ventrales y dorsal, consistente en un alargamiento de sus *radios*.

En las hembras, las modificaciones que sufren las aletas son mayores. La anal se encuentra en la fase final de diferenciación, mostrando el *radio* 3 con su área I bien diferenciada y en su extremo distal la formación en "gancho" y encima de éste un ensanchamiento epidérmico, la hoja. El *radio* 4 posee las sierras proximales más desarrolladas y han comenzado a aparecer las distales. En el *radio* 5 no se alcanzan a observar más cambios estructurales. El conjunto de los *radios* 6, 7 y 8 continúa su proceso de regresión. En la aleta caudal, con todas las modificaciones del caso ya señaladas, se afirma el corto apéndice que sobresale de los *radios* 6, 7 y 8 deformados. (Fig. 12).

d) Después de 27 días de tratamiento:

Gonada: El testículo no ofrece características dignas de mención. En lo que se refiere al ovario, solo puede señalarse su volumen todavía más reducido con respecto al grupo anterior y escasísimos ovocitos en su interior.

Aletas: El gonopodio, en los machos, no muestra signos de alteración. En las hembras, la aleta anal ha completado sus modificaciones. En efecto, el *radio* 3 presenta además del área I, las espinas proximales más pronunciadas y el "gancho" en su extremo distal. Además, en el *radio* 4 se presentan las sierras proximales y distales más diferenciadas.

El apéndice, que representa una prolongación de los *radios* inferiores de la aleta caudal y que en los adultos se observó a partir de los 14 días de tratamiento, se presenta más alargado en ambos sexos después de 27 días de tratamiento y con una leve curvatura que hace orientar su extremo hacia la región dorsal. (Fig. 13).

El tratamiento ha provocado además un alargamiento de los *radios* de las aletas pectorales, ventrales y dorsal en las que, en sus extremos más distales, se localizan estructuras digitiformes de longitud variable.

e) Después de 60 días de tratamiento:

Gonada: No se observa ninguna variación macro o microscópica en los testículos.

En cuanto al ovario, el proceso de disminución de volumen se hace más manifiesto.

Aletas: Son válidas para ambos sexos, las descripciones anteriores encontrándose en las hembras tratadas por casi dos meses, una mayor diferenciación de las estructuras de la aleta anal transformada en gonopodio, que no obstante, no logra adquirir un aspecto perfectamente normal (Fig.14).

CONCLUSION Y DISCUSION

Las observaciones que hemos realizado en alevinos de diferentes edades y en adultos de *Platygoecilus maculatus* tratados con metil-testosterona, ponen de manifiesto una doble acción de esta hormona. Una primera la más conocida, sobre la gonada y una segunda directa o indirecta sobre las aletas.

En efecto, en los alevinos la maduración del testículo resulta notablemente acelerada especialmente si se considera que en condiciones normales, los procesos espermatogénicos en esta especie, aparecen entre los sesenta y setenta días de vida (Builes y Pisanó, 1970). Distinto es en cambio, el cuadro presentado por el ovario que se inhibe en mayor o menor grado, mostrando a lo sumo ovocitos jóvenes o en regresión.

En los machos adultos, la acción de la hormona utilizada mantiene los testículos en estado de intensa actividad, en tanto que en las hembras adultas, reduce considerablemente el volumen del ovario y en consecuencia su fecundidad.

Cabe señalar que durante el curso de los ensayos no se notaron fenómenos típicos de inversión sexual. Esta observación estaría en desacuerdo con lo señalado por Grobstein (1942), quien en la misma especie por nosotros estudiada logra invertir hembras en machos pero con propionato de testosterona. Concuerdan en cambio nuestros resultados con los descritos por Regnier (1937, 1938 y 1939); quien en *Xiphophorus helleri* obtiene diferenciación testicular en los machos genéticos (normales de una "raza diferenciada") mientras que, en *Lebistes reticulatus* determina la degeneración de los ovarios; en ambos casos usó propionato de testosterona. Según Witschi y Crown (1937) por otra parte, el propionato de testosterona en hembras adultas de *Xiphophorus helleri*, provocaría sólo una extensa y rápida reabsorción de los ovocitos, sin que a raíz de este proceso se verifique la inversión del ovario en testículo.

Pueden interpretarse estos resultados diferentes, como consecuencia de ser distintas especies, o problemas de dosis que repercuten en los sistemas enzimáticos responsables de la biosíntesis de testosterona. Poco sabemos de la naturaleza de las hormonas sexuales en los vertebrados inferiores y especialmente de los andrógenos (Chieffi, 1965). Además, a nuestro criterio, *Xiphophorus*, *Lebistes* y *Platygoecilus* representan un material poco estable, con un determinismo sexual insuficiente como para permitir que se logren conclu-

siones definitivas al respecto. Lo que puede decirse con suficiente seguridad es que, en nuestros ensayos, la metil-testosterona con la dosis y por el tiempo de suministro, ha ejercido una notable acción sobre la gonada, especialmente larval, sin que se aprecien efectos paradójicos en feminización o aquellas alteraciones del blastema mesonéfrico a veces descritos en otros vertebrados inferiores, luego de tratamiento con testosterona (Puckett, 1939; 1940; Burns, 1939; Foote y Witschi, 1940; Mintz, 1947; Padoa, 1949).

Según hemos señalado en la descripción de los resultados, la acción de la metil-testosterona en *Platygoecilus maculatus*, no se limita a la gonada, sino que determina también una alteración notable de las aletas y en forma especial de la anal y la caudal. La primera, que en los machos genéticos o invertidos da origen al gonopodio, se diferencia en los alevinos de ambos sexos, 20 días después de haber comenzado el tratamiento, es decir, con bastante anticipación respecto a lo que ocurre en el macho normal. Las hembras adultas tratadas, terminan mostrando un gonopodio que, en el ámbito de ciertos niveles hormonales suministrados, también comienza a aparecer después de 20 días de tratamiento.

Es interesante anotar que, en un acuario ocasionalmente contaminado por la inmersión de una red previamente sumergida en aguas que contenían la hormona se tuvieron aproximadamente tres semanas después las típicas manifestaciones morfológicas provocadas por la metil-testosterona.

El conjunto de estas observaciones deja suponer que el proceso, si bien puede ser provocado por escasas cantidades de hormona, sólo se visualiza después de cierto tiempo. Entrarían en juego durante este lapso los complejos mecanismos que se desarrollan entre inductor y los sitios afectados.

Recordemos que tanto los alevinos como los adultos genéticamente hembras no logran una verdadera inversión, a pesar de la formación del gonopodio que, como se sabe, es un carácter sexual secundario masculino.

Parecería ser que el propionato (Grobstein, 1942), la etinil (Hopper, 1949) o la metil-testosterona, tanto en *Lebistes* como en *Platygoecilus* pueden inducir la formación de un gonopodio, modificando la aleta anal de las hembras de estas especies. Según nuestras observaciones, una vez logrado el desarrollo de un gonopodio más o menos normal, la transformación es irreversible y en cada caso acompañada por un conjunto de alteraciones que afectan también otras aletas. En efecto, en función del tiempo de tratamiento, los radios se alargan y se deforman, observándose a menudo estructuras epitelioides en forma de delgados apéndices de longitud variable. Prolongando el tratamiento, no sólo en los alevinos, sino también en los adultos, la columna vertebral sufre desviaciones más o menos acentuadas, que con

frecuencia se convierten en anomalías de las vértebras.

No hay datos de que las formaciones accesorias de las aletas y las deformaciones del esqueleto hayan sido señaladas en otros poecilidos tratados con testosterona y menos todavía la modificación que sufren los radios 6, 7 y 8 de la aleta caudal para dar origen a un esbozo semejante al que se forma en el macho *Xiphophorus helleri* durante el desarrollo de la "espada" que adorna su aleta caudal.

Cabe destacar una vez más, que ni en los machos genéticos ni en los invertidos de *Platypoecilus maculatus* que ocasionalmente hemos obtenido en nuestras peceras, la cola muestra indicios de esta formación atípica. Es interesante el hecho de que en las hembras genéticas tratadas, aparezca la "espada" después que se determina el gonopodio, pero antes de que se inhiba totalmente el ovario. Aún, en estos casos, su formación es irreversible y la suspensión del tratamiento hormonal no determina la regresión de una "espada" más o menos pronunciada.

En otras especies de poecilidos, por lo menos en base a lo que sabemos, la testosterona no parece provocar este carácter eusexual. Sin embargo, nuestros ensayos dejan suponer que en *Platypoecilus maculatus* debe existir un sitio receptor particularmente sensible; lo que permite sustentar la hipótesis de que en la especie en estudio, el nivel de producción de andrógenos sería inferior al de *Xiphophorus helleri* cuyo macho normal, u obtenido por inversión, posee

como carácter sexual secundario una notable prolongación, la "espada", en su aleta caudal. Este problema que todavía tenemos en estudio, plantea, entre otras cosas un interrogante de carácter sistemático, aunque por el momento parece corroborar el punto de vista de Rosen y Bailey (1960) quienes clasifican el género *Platypoecilus* en el género *Xiphophorus*.

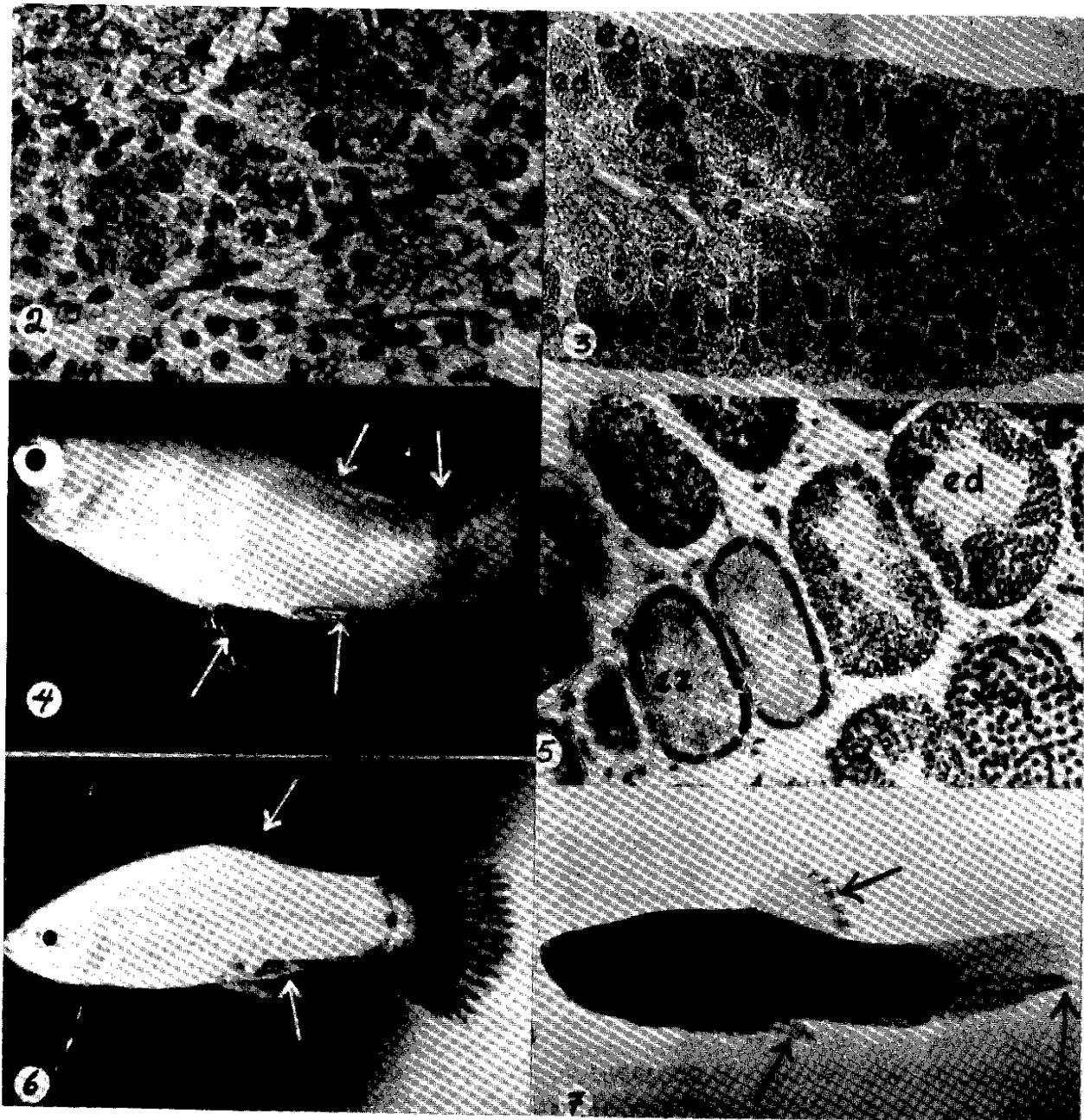
AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se inició en 1970 cuando el autor principal era becario del Curso Latinoamericano de Biología de la Reproducción en Buenos Aires, Argentina y se terminó en el Departamento de Biología de la Universidad de Antioquia. Se utilizó para este trabajo un subsidio de la OMS, la Fundación Ford y parcialmente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina. Para finalizar el trabajo se empleó material y equipo del Departamento de Biología de la Universidad de Antioquia.

Se agradece la hospitalidad brindada por el doctor E. De Robertis, Director del Instituto de Anatomía General y Embriología de la Universidad de Buenos Aires, Argentina.

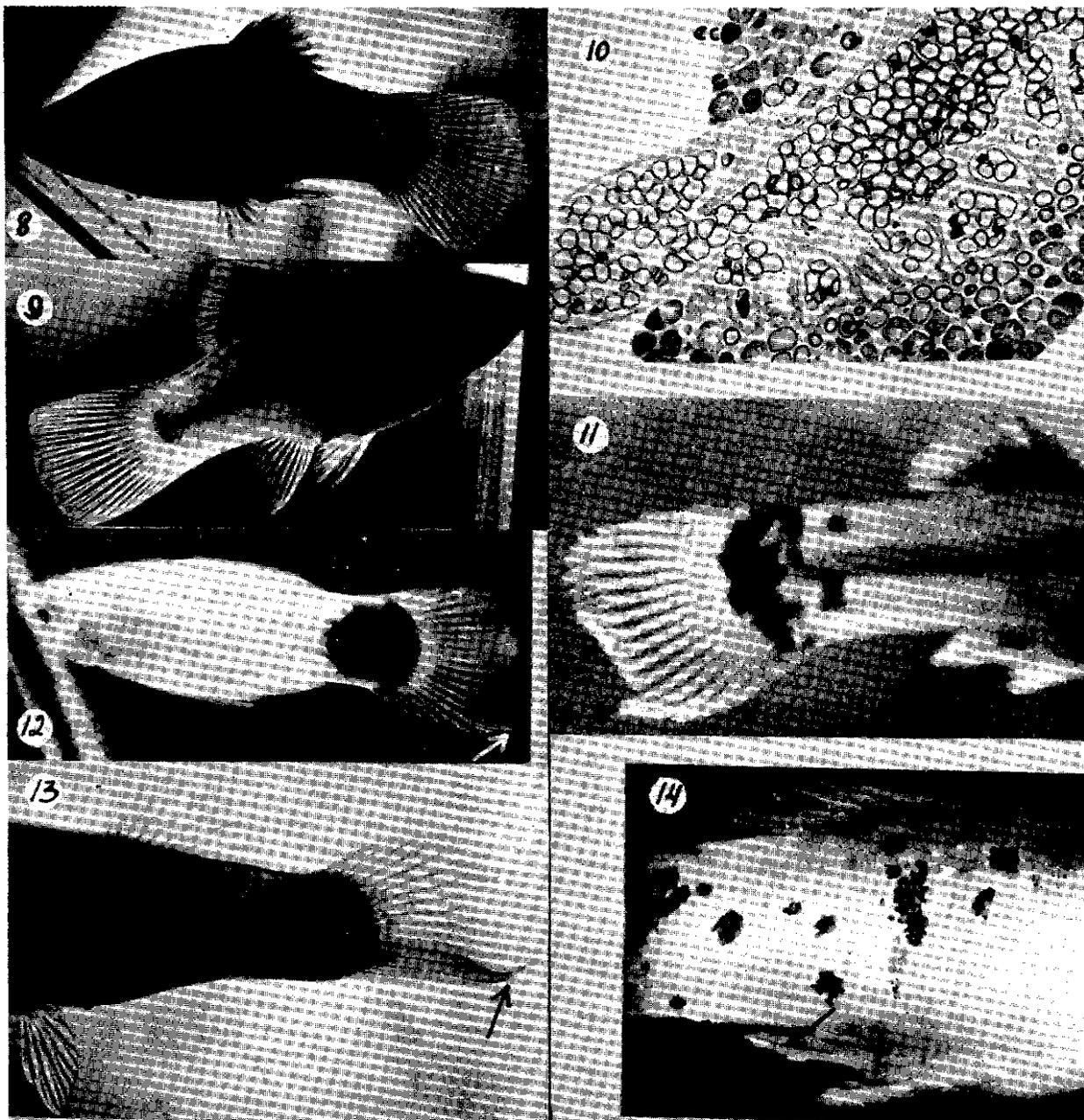
BIBLIOGRAFIA CITADA

- Builes y Pisanó. 1970. En imprenta.
 Burns, R. K. *Anat. Tec.* 73(1):73-92, 1939.
 Eversolet, Wilburn J. *Endocrinology.* 25:328, 1939.
 Foote, C. L. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 43(3):519-523, 1940.
 Grobstein, Clifford. *Jour. Exp. Zool.* 89:305, 1942.
 Hopper, Artur F. *Jour. Exp. Zool.* III: 393, 1949.
 Loeb, Led, V. Suntzeff and E. L. Burns. *Amer. Jour. Cancer.* 34(3):413-427, 1938.
 Mintz, Band. E. W. *Anat. Tec.* 96(4):30-31, 1946.
 Padoa, E. *Manit. Zool. Ital.* 48:195, 1938.
 Puckett, W. O. *Jour. Exp. Zool.* 84(1):39-49, 1940.
 Regnier, M. T. *Bull Biol.* 72:385-493, 1938.
 Rosen and Bailey. *Bulletin American Museum of Natural History.* 126:1, 1960.
 Stanley, H. Chieffi, G. and Botte V. *Ziet. Zell.* 65:350-362, 1965.
 Witschi, E. and Crown. E. W. *Anat. Tec.* 70 (Suppl.):121, 1937.



LAMINA I

- Figura 2 : *P. maculatus*: 10 días de tratamiento (X 600), testículo mostrando células germinales aisladas, grupos y nidos espermatozonales (g.n).
- Figura 3 : *P. maculatus*: 16 días de tratamiento (X 94.5), testículo mostrando conductos espermáticos ensanchados (c.e), nidos de espermatozonias (eg), espermatozonos (ec) y espermátidas (ed).
- Figura 4 : *P. maculatus*: 18 días de tratamiento, alevinos con gonopodio casi normal, aletas dorsal y ventrales deformadas; malformación de la columna vertebral. (Las flechas indican las estructuras).
- Figura 5 : *P. maculatus*: 27 días de tratamiento (X 240), testículo mostrando nidos de espermatozonos (ec), espermátidas (ed) y espermatozonos (ez).
- Figura 6 : *P. maculatus*: 27 días de tratamiento, macho con gonopodio mostrando las áreas bien definidas: aleta dorsal con estructuras digitiformes; aletas ventrales deformadas, alargadas y entrecruzándose. (Las flechas indican las estructuras).
- Figura 7 : *P. maculatus*: 20 días de tratamiento, alevino de 30 días de edad, con gonopodio casi normal; aleta dorsal con estructuras digitiformes; aletas caudal con sus radios 6, 7 y 8 alargándose para esbozar la "espada". (Las flechas indican las estructuras).



L A M I N A II

Figuras 8 y 9: *P. maculatus*: macho y hembra normales.

Figura 10: *P. maculatus*: testículo de macho adulto tratado, mostrando los conductos espermáticos, repletos de espermátóforas (ep).

Figura 11: *P. maculatus*: hembra adulta 15 días de tratamiento, mostrando la aleta anal con los radios 3, 4 y 5 alargados; aleta caudal con los radios 6, 7 y 8 esbozando la "espada". (Las flechas indican las estructuras).

Figura 12: *P. maculatus*: hembra adulta 25 días de tratamiento, con aleta caudal mostrando los radios 6, 7 y 8 más alargados que en la Fig. 11. (la flecha indica la estructura).

Figura 13: *P. maculatus*: macho adulto 30 días de tratamiento, con aleta caudal mostrando los radios 6, 7 y 8 encorvándose dorsalmente. (La flecha indica la estructura).

Figura 14: *P. maculatus*: hembra con gonopodio no perfectamente normal. (La flecha indica esta estructura).