

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO

HEREDIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



“Descripción histológica de testículos de Paiche *Arapaima gigas* (Cuvier, 1829) procedentes de cultivo de 6, 12 y 18 meses de edad.”

**Tesis para optar el Título Profesional de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Gema Abigail Morales Gómez
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

LIMA, PERU

2023

Gema Morales Gómez | Tesis pregrado

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO
HEREDIA
 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



“Descripción histológica de testículos de Paiche *Arapaima gigas* (Cuvier, 1829) procedentes de cultivo de 6, 12 y 18 meses de edad.”

Tesis para optar el Título Profesional de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Gema Abigail Morales Gómez
 Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Resumen de coincidencias ✕

12 %

Se están viendo fuentes en inglés (Beta)

[Ver fuentes estándar](#)

Coincidencias

1	dspace.stir.ac.uk Fuente de Internet	3 %	>
2	Mohamed A. Sheha, Sa... Publicación	1 %	>
3	V. C. Veloso-Júnior. "Re... Publicación	1 %	>
4	hal.science Fuente de Internet	1 %	>
5	journals.e-palli.com Fuente de Internet	1 %	>
6	revistas.iiap.gob.pe Fuente de Internet	1 %	>

*A mi familia, especialmente a mi madre, por apoyarme durante todo el transcurso de la
carrera.*

AGRADECIMIENTO

A mi asesora, la Dra. Cielo Llerena, por su guía y consejos durante el desarrollo de la tesis. Así como también a la Universidad Peruana Cayetano Heredia y demás profesionales que contribuyeron y permitieron concluir de forma oportuna este trabajo. De igual forma, a mi familia y amigos por su soporte y motivación constante durante este proceso.

TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT	1
RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIAL Y MÉTODOS	7
RESULTADOS.....	9
ESTROMA.....	9
PARÉNQUIMA	12
6 MESES	12
12 MESES	13
18 MESES	14
CONTEO DE TUBULOS SEMINIFEROS:	17
REGISTRO BIOMÉTRICO:.....	19
LONGITUD DE GÓNADAS:.....	19
ANCHO DE GÓNADAS:.....	20
DISCUSIÓN.....	21
CONCLUSIONES.....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	26
ANEXO	31

ABSTRACT

The histological description of testes of paiche, *Arapaima gigas* of 6, 12, and 18 months old was done, being a total of 13, 15, and 16 samples respectively. The histological slides, stained with H&E (Hematoxylin-Eosin), were analysed using an optical microscope with a built-in camera. The histological analysis performed consisted of direct observation of the parenchyma and stroma region of the samples. To do this, the histological sections were photographed with the objective lenses of lower (4X, 10X) and higher magnification (40X 100X). Likewise, the seminiferous tubules were counted using the pictures captured with lower magnification, which allowed have a general view of the complete samples. The histological findings of this study correspond to sexually immature specimens, especially in the 6-month-old samples where immature germ cells could be identified and there was no presence of defined seminiferous tubules. The formation of seminiferous tubules was identified from 12-month-old specimens, where 2/15 samples had seminiferous tubules with a lumen and 9/16 18-month-old samples had those histological structures. Apart from that, only one of the 12-month samples and seven of the 18-month samples have sperm.

Keywords: Paiche, histological description, testes.

RESUMEN

Se realizó la descripción histológica de testículos de paiche, *Arapaima gigas* de 6, 12 y 18 meses, siendo un total de 13, 15 y 16 muestras respectivamente. Las láminas histológicas, las cuales se encontraban teñidas con tinción H&E (Hematoxilina- Eosina) fueron analizadas vía microscopio óptico con cámara incorporada. El análisis histológico realizado consistió en la observación directa de la región del parénquima y estroma de las muestras, para ello se fotografiaron las secciones histológicas con los lentes objetivo de menor (4X, 10X) y mayor aumento (40X 100 X). Asimismo, se realizó el conteo de los túbulos seminíferos con luz a partir de las fotografías de menor aumento las cuales permitieron visualizar las muestras en su totalidad. La formación de túbulos seminíferos se identificó a partir de individuos de 12 meses, encontrándose túbulos seminíferos con luz en 2/15 muestras de 12 meses de edad y 9/16 muestras de 18 meses de edad. Una de las muestras de 12 meses y siete muestras de 18 meses presentaron espermatozoides. De acuerdo a los hallazgos histológicos encontrados, se concluye que las edades en estudio corresponden a ejemplares sexualmente inmaduros, sobre todo las muestras de 6 meses de edad en donde se pudo identificar células germinales inmaduras y no hubo presencia de túbulos seminíferos definidos.

Palabras clave: Paiche, descripción histológica, testículos.

INTRODUCCIÓN

El paiche, *Arapaima gigas* (Cuvier 1829), es uno de los peces de agua dulce más grande que habita en la cuenca hidrográfica del Amazonas (Ferreira & Guedes, 2017). Posee alta tasa de crecimiento, puede alcanzar hasta 3 metros de longitud y pesar 200 kg (Núñez *et al.*, 2011; Ferreira & Guedes, 2017).

Esta especie ha demostrado tener un gran potencial para la piscicultura debido a su rusticidad, fácil adaptación a las condiciones de cultivo, buen desempeño zootécnico en ambientes controlados, además de tener alto valor en el mercado debido al rendimiento cárnico de casi 57% que posee (Alván-Aguilar *et al.*, 2016). Además, se puede obtener productos derivados tales como escamas y cuero los cuales, al igual que la carne, tienen un gran valor (Alván-Aguilar *et al.*, 2016). Por otra parte, los alevines y juveniles suelen ser usados como peces ornamentales (Alcantara-Bocanegra, 1990). Tales usos han generado la sobreexplotación de esta especie, reduciendo su población silvestre (Campos, 2001). Por tal motivo, la Convención Internacional para el Tráfico de Especies (CITES) la ha considerado en el Apéndice II de las especies en peligro de extinción (CITES, 2017). Esta situación sumada a los altos valores del mercado ha impulsado los esfuerzos de cultivo del paiche (Carreiro *et al.*, 2011).

En la acuicultura, los intentos de controlar la reproducción del *A. gigas* se han visto obstaculizados por varias limitantes tales como el dimorfismo sexual tardío, la carencia de información sobre su biología reproductiva o manejo de los reproductores y otros aspectos sobre las condiciones zootécnicas adecuadas, etc. (Torati, 2017; Rojas., 2005). Todas estas limitantes restringen el suministro regular de semillas o impiden obtener una producción estable (Torati, 2017). Esta situación se ve reflejada en las estadísticas de Loreto y Ucayali correspondientes al levante total de semillas, las cuales presentan una tendencia fluctuante e inestable en el periodo 2010-2016. La producción media anual registrada durante ese periodo fue de solo 117 821 alevines, la mayoría

de ellos fueron comercializados en el mercado ornamental internacional (Alván-Aguilar *et al.*, 2016; Torati, 2017). Es por ello que la identificación de las etapas de desarrollo gonadal en cada uno de los reproductores es una herramienta clave utilizada en acuicultura para identificar la condición reproductiva de los peces (Torati, 2017).

Por lo general, la reproducción en cautiverio ocurre en grandes estanques de tierra donde los reproductores se agrupan al comienzo de la temporada de lluvias (Carreiro *et al.*, 2011). En ambientes controlados la madurez sexual se da entre el tercer y cuarto año (Tello, 2012) mientras que ambientes naturales se da a los 5 años de edad, cuando las hembras miden 145-154 cm y los machos 115-124 cm, iniciando el comportamiento de cortejo. Es ahí donde se muestran pequeñas diferencias morfológicas basadas en la coloración de especímenes (Imbiriba, 2001; Tello, 2012). Sin embargo, no podemos emplear esta característica para diferenciar los sexos ya que no es fiable, la coloración puede variar de acuerdo al color o turbidez del agua, ocasionando resultados erróneos o interpretaciones subjetivas (Chu-Koo *et al.*, 2009; Alván-Aguilar, 2010; Carreiro *et al.*, 2011).

En el paiche, solo la gónada izquierda es funcional (Coca *et al.*, 2012). Internamente, se distingue el testículo izquierdo en los machos y el ovario izquierdo en las hembras, el derecho se encuentra atrofiado en ambos casos (Coca *et al.*, 2012). Durante la época reproductiva, el testículo es alargado y casi cilíndrico, se encuentra adherido fuertemente al peritoneo mediante un ligamento. La parte media es más ancha y gruesa, la parte cefálica es más angosta y termina en una punta redondeada, mientras que la parte caudal es más gruesa (Franco-Rojas & Peláez, 2007).

En el examen microscópico de peces teleósteos, es posible diferenciar dos regiones bien definidas en los testículos, la región intersticial y la región germinal, estas se encuentran separadas por una membrana basal; por lo tanto, las células de una región o compartimento no se entremezclan con las células del otro (Mañanós *et al.*, 2008; Schulz *et al.*, 2010, Mlaco *et al.*, 2014). La región intersticial está compuesta por células de Leydig y tejido conectivo, este último contiene

fibroblastos, macrófagos, linfocitos, fibras de colágeno, vasos sanguíneos y fibras nerviosas (Uribe *et al.*, 2014). Por otra parte, la región germinal se encuentra formada por dos tipos de células: células germinales y células epiteliales somáticas, siendo estas últimas las células de Sertoli (Uribe *et al.*, 2014). Las cuatro categorías de células germinales que se pueden encontrar en los túbulos seminíferos son la espermatogonia, espermatocitos, espermátidas y espermatozoides (Uribe *et al.*, 2014; Chakrabarti & Banerjee, 2015). Las células germinales se vuelven muy activas en la fase de maduración, es por ello que cuando la luz de los túbulos seminíferos se llena de espermatozoides es indicativo que el proceso de espermatogénesis ha alcanzado su máximo nivel (Krol *et al.*, 2006; Chakrabarti & Banerjee, 2015).

En el estudio realizado por Lopez *et al.* (2013) se estableció una clasificación histológica en base a las características de los túbulos seminíferos, y las células presentes en el epitelio germinal del *Arapaima gigas*, dicha clasificación está compuesta por 4 fases: Fase I o inmaduro presenta túbulos seminíferos de diámetro pequeño, bordes gruesos y están formados por epitelio germinal que contiene espermatogonias y células indiferenciadas dispuestas en capas; la fase II o en desarrollo presenta un mayor número de túbulos seminíferos y son más grandes que la fase anterior, y en algunos casos las células de la espermatogénesis están presentes dentro del epitelio germinal grueso. Por otra parte, la fase III o madura se caracteriza por tener túbulos seminíferos desarrollados y de gran diámetro, con epitelio germinal delgado, y células de espermatogénesis dentro de la luz tubular. Finalmente, la fase IV o en reposo, presenta una reducción notable de túbulos seminíferos, algunos de ellos tienen células espermatogénicas y no se diferencian por su luz.

Los espermatozoides de los teleósteos, a diferencia de los mamíferos, carecen de acrosoma y la fertilización se da a través del micrópilo en la superficie de la ova, el diámetro del micrópilo coincide con el ancho del espermatozoide (Mañanós *et al.*, 2008; Torati, 2017). En el caso del *A. gigas*, esta medida corresponde a la cabeza de los espermatozoides la cual tiene un diámetro

promedio de 2 μm (Godinho *et al.*, 2005). La espermiación implica la liberación de espermatozoides maduros de los lóbulos a la luz testicular, esto ocurre después de la degeneración de las células de Sertoli (Schulz *et al.*, 2005; Torati, 2017). En la luz testicular inicia el proceso de maduración el cual les permite fertilizar los huevos ya que adquieren motilidad (Mañanós *et al.*, 2008; Schulz *et al.*, 2010; Torati, 2017).

En los machos, la espermatogénesis se inicia con la liberación hipofisiaria de FSH o LH, que estimula a las células de Leydig a sintetizar 11-ketotestosterona (11-KT), considerada como el principal regulador de esteroides sexuales de la espermatogénesis (Shulz & Nóbrega, 2011; Torati, 2017). Al finalizar la espermatogénesis, la liberación hipofisiaria de gonadotropinas promueve un cambio en la esteroidogénesis gonadal estimulando la producción de esteroides que inducen la maduración (MIS), estos regulan la espermiación, lo cual resulta en un aumento del volumen del líquido seminal y la capacidad motora de los espermatozoides (Mañanós *et al.*, 2008; Torati, 2017).

Si bien existen investigaciones sobre el *A. gigas*, estas son escasas. Por tal motivo, es sumamente importante continuar contribuyendo con información que permita optimizar la reproducción en cautiverio del paiche, con la finalidad de lograr crías que puedan ser empleadas para producción e incluso servir para la repoblación en su hábitat natural, y de esa forma disminuir la presión de pesca sobre la especie (Rojas, 2005). El presente estudio tuvo como objetivo la descripción histológica de testículos de paiche de 6, 12 y 18 meses de edad procedentes de cultivo, la cual se realizó a través de la evaluación microscópica del estroma y parénquima testicular, así como también de las características de los túbulos seminíferos presentes en las muestras.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Lugar de Estudio:

Se trabajó con muestras procesadas de testículo de Paiche obtenidas en el centro de cultivo Amazon Harvest, ubicado en el departamento de Loreto, distrito San Juan Bautista, ciudad de Maynas, Perú. En el marco del proyecto CONVENIO N° 057-FINCYT-FIDECOM-PIPEI-2014: “Generación de una técnica no invasiva para el sexaje de paiche que permite la oferta de animales sexados a partir del año y medio de edad a los productores del distrito de San Juan Bautista en la provincia de Maynas, región Loreto”, realizado en el año 2014. Dichas muestras se procesaron en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

2. Tipo de Estudio:

Estudio descriptivo.

3. Población Objetivo y tamaño de muestra:

Se analizaron microscópicamente un total de 44 muestras de testículos de Paiche (*Arapaima gigas*) procedentes de cultivo, aparentemente sanos de 6, 12 y 18 meses de edad. De las cuales, el número de muestras por grupo etario fue de 13, 15 y 16 respectivamente.

4. Criterios de inclusión y exclusión:

Se seleccionaron muestras de testículo de paiches machos procedentes del cultivo (Piscigranjas de Amazon Harvest), de 6, 12 y 18 meses de edad.

Se descartaron las muestras en mal estado o defectuosas durante el procesamiento histológico.

5. Procesamiento de muestras o datos:

Se realizó la lectura de láminas histológicas utilizando un microscopio óptico marca Leica® con cámara integrada y software LAS EZ® versión 3.4.0. Para la descripción histológica del estroma y parénquima se utilizó lentes objetivos de bajo aumento (4X y 10X). Por otra parte, para el conteo de túbulos seminíferos se hizo uso del lente objetivo de gran aumento (40X) y el de 100X (inmersión). Cada muestra fue evaluada en su totalidad utilizando los diversos aumentos mencionados.

Se guardó registro fotográfico de todas las láminas histológicas analizadas. El número de túbulos seminíferos de cada muestra se registró en una hoja de cálculo Excel. Con los datos obtenidos, se halló el número promedio de túbulos seminíferos en individuos de 12 y 18 meses de edad.

6. Plan de análisis de datos:

Los datos obtenidos, correspondientes al número de túbulos seminíferos en los individuos de 12 y 18 meses de edad, fueron analizados empleando estadística descriptiva y se obtuvo el promedio de túbulos seminíferos.

7. Consideraciones éticas:

Se presentó el proyecto para la aprobación del comité de ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El presente estudio no hizo uso de ejemplares vivos, se analizaron muestras de testículo previamente recolectadas y procesadas histológicamente (banco de muestras).

RESULTADOS

La descripción histológica comprende el estroma y parénquima del testículo. Además, se usó el registro biométrico de las gónadas en donde se detalla la longitud y ancho en centímetros. En base a ello, se obtuvieron los siguientes resultados:

ESTROMA

Se observó la túnica albugínea gruesa, la cual está formada por tejido conectivo denso irregular con fibras colágenas dispuestas de forma paralela y vasos sanguíneos de diferentes calibres (Figura 1).

En el grupo de ejemplares de 6 meses, el estroma se encuentra en mayor proporción que el parénquima en comparación con las muestras de 18 meses donde el estroma se encuentra presente en menor proporción (Figura 2a, Figura 2c).

El estroma localizado entre los túbulos seminíferos disminuye a medida que las divisiones de las células germinales van conformando el parénquima. Se pudo apreciar elementos del tejido conectivo como fibroblastos, fibras de colágeno, células mioideas y vasos sanguíneos (Figura 4).

Asimismo, se observó la presencia del conducto deferente en todas las muestras, el cual posee una lámina propia rodeada por una pared gruesa de tejido muscular dispuesta en capas circulares y una capa de músculo liso en la parte externa. Además de las capas musculares, se pudo apreciar una capa adventicia fibroelástica. Manteniendo dicha estructura en los 3 grupos etarios evaluados (Figura 3).

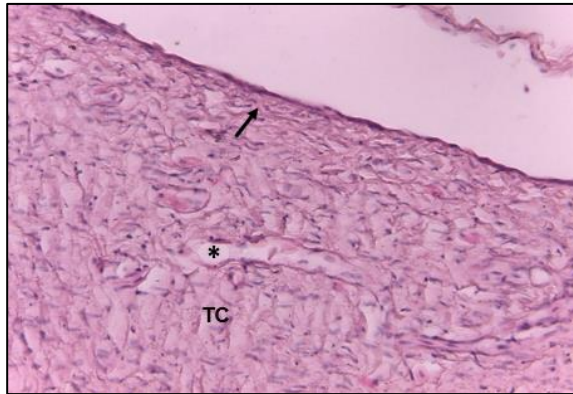


Figura 1: Vista microscópica del estroma de ejemplar de *Arapaima gigas* de 6 meses de edad, aumento de 40x. Coloración H/E. TC: Tejido conectivo, (*): fibras de colágeno, Flecha: Fibras colágeno.

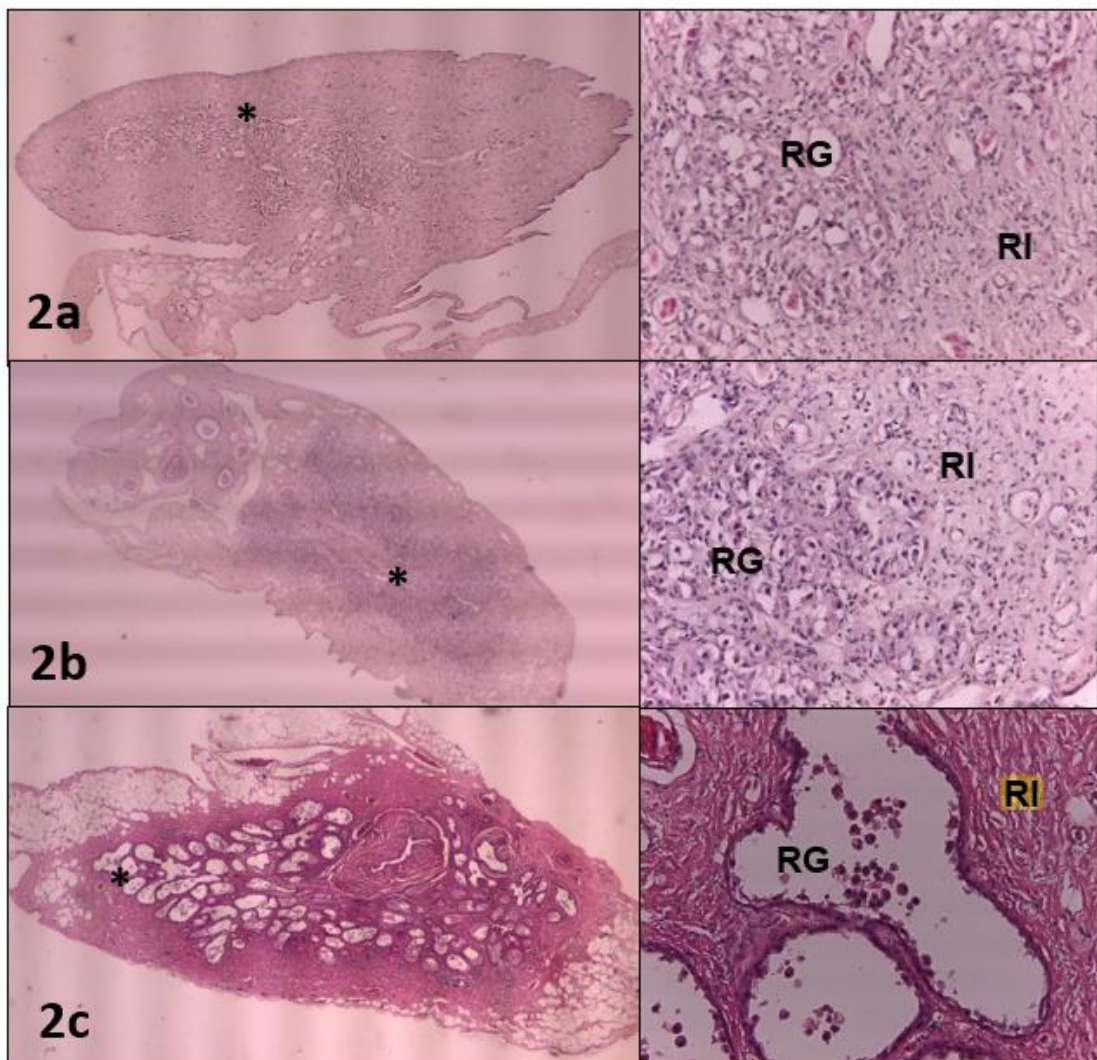


Figura 2: Vista panorámica del corte histológico de testículo de *Arapaima gigas* donde se puede observar la diferencia proporcional de estroma-parénquima entre los grupos etarios: a) Ejemplares de 6 meses, aumento de 4x. b) Ejemplar de 12 meses, aumento de 4x. c) Ejemplar de 18 meses de edad, aumento de 4x. (*) Vista microscópica del parénquima/estroma, aumento de 40x. Coloración H/E. RG: Región germinal, RI: Región intersticial.

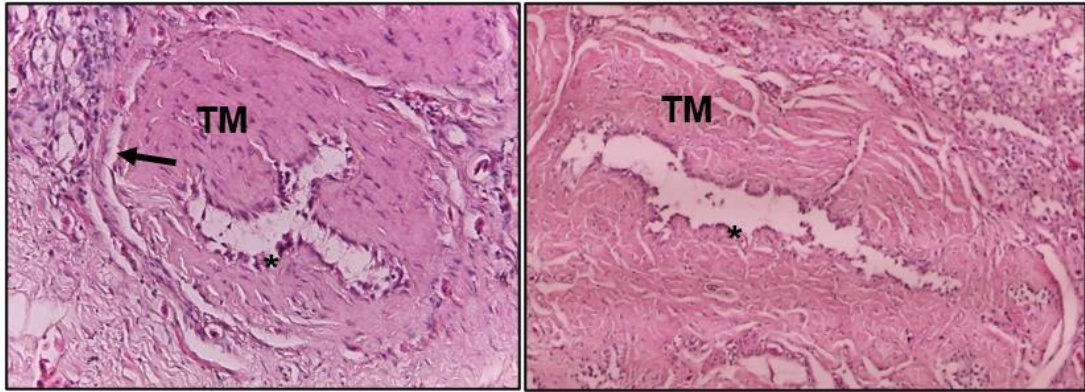


Figura 3: Vista histológica del conducto deferente empleando el lente objetivo de 10X. Coloración H/E.
 TM: Tejido muscular, Flecha: Túnica adventicia, (*): Lamina propia.

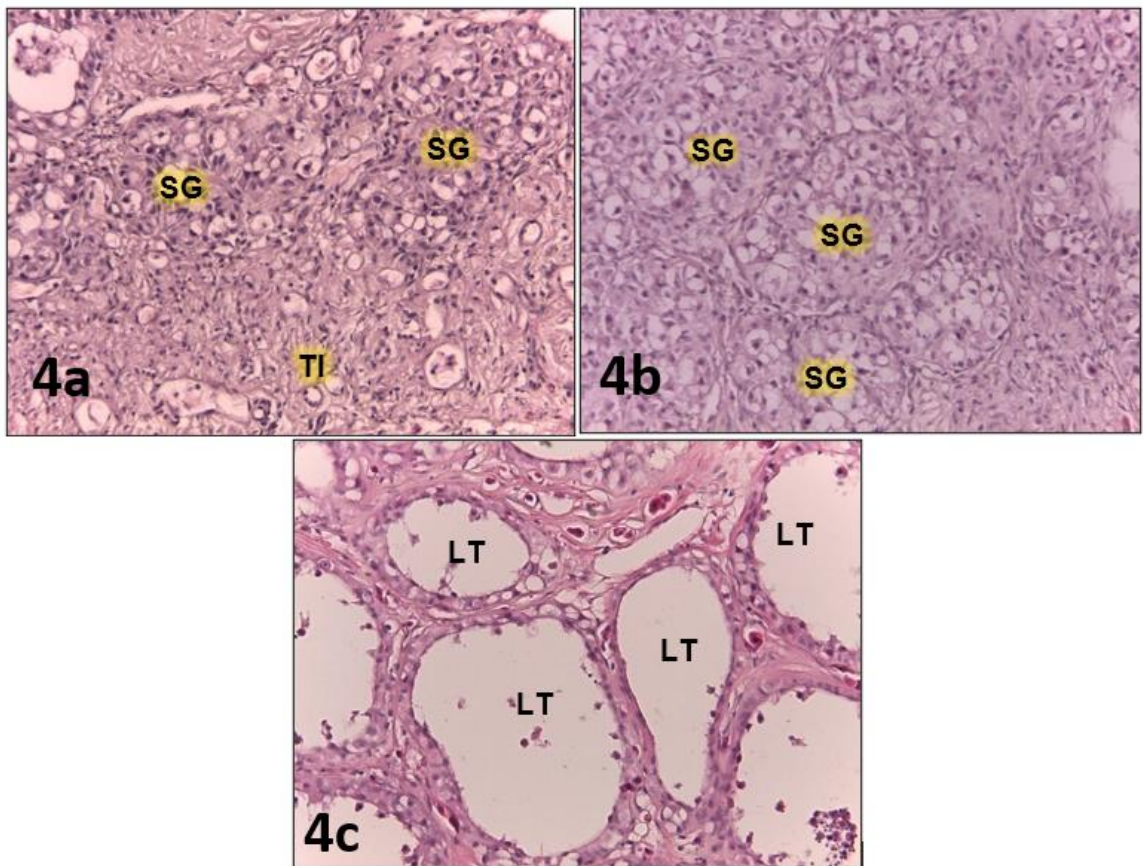


Figura 4: Vista microscópica del parénquima en ejemplar de *Arapaima gigas*: a) Ejemplar de 6 meses, aumento de 40x. b) Ejemplar de 12 meses, aumento de 40x. c) Ejemplar 18 meses de edad, aumento de 40x. Coloración H/E. SG: Espermatogonia, LT: Luz tubular, TI: Tejido intersticial.

PARÉNQUIMA

6 MESES

Se observó agrupaciones de células germinales sin llegar a formar túbulos seminíferos definidos o diferenciados tanto a mayor y menor aumento. Estas células germinales corresponden a células germinales inmaduras o espermatogonias las cuales son células redondas y grandes con abundante citoplasma traslucido, núcleo basófilo ovalados o circulares ubicadas en la membrana basal (Figura 5a).

Además, se observó la presencia de fibroblastos alrededor de las agrupaciones celulares, dando la apariencia de formar estructuras circulares (Figura 5b). En base a la clasificación realizada por Lopez *et al.*, (2013), los ejemplares de 6 meses de edad pertenecen a la fase I o Inmaduros.

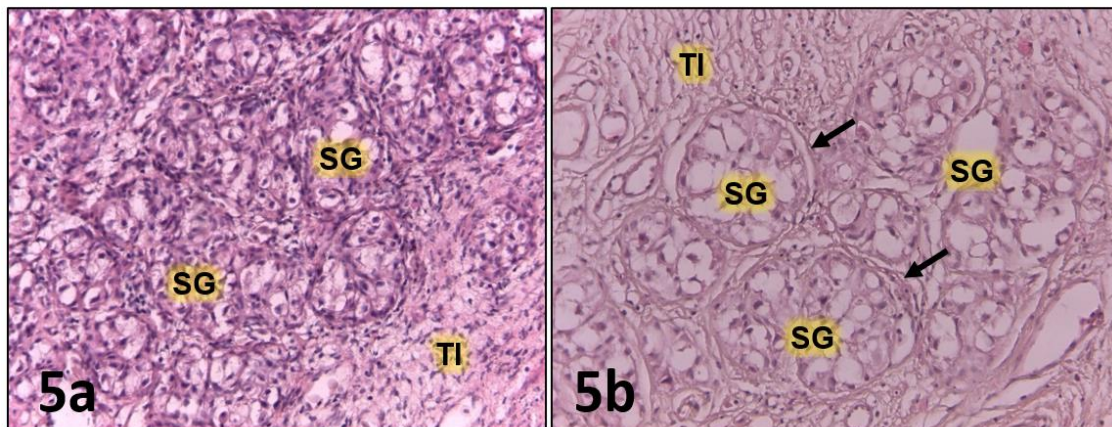


Figura 5: Parénquima testicular de ejemplares de *Arapaima gigas* de 6 meses de edad: a) Túbulos seminíferos sin luz y poco diferenciados entre sí, aumento de 40x. b) Túbulos seminíferos sin luz, relativamente diferenciados entre sí gracias a la presencia de membrana basal definida, aumento de 40x. Coloración H/E. SG: Espermatogonia, TI: Tejido intersticial, Flecha: Pared tubular.

12 MESES

En la mayoría de muestras (13/15) se observó escasa formación de luz tubular, donde se pudo ver aglomeraciones de células germinales sin luz y otras iniciando la diferenciación. La pared tubular, a diferencia del resto de muestras, era más delgada o menos definida, sin embargo, las células germinales formaban un epitelio cubico simple o compuesto lo cual permitía identificar o contabilizar los túbulos formados a mayor aumento (Figura 6a).

Sólo dos de las quince muestras (2/15) presentaron túbulos seminíferos con luz. En una muestra se observó presencia de espermatozoides en la luz tubular, sin embargo, los espermatozoides no llenaban por completo la luz (Figura 6c). Además de ello, las células germinales se encontraban principalmente en la pared tubular y otras pocas presentes en la luz tubular. Los túbulos seminíferos se encontraban perfilados por una membrana basal gruesa conformada de músculo liso y una capa de epitelio cúbico plano correspondiente a las células germinales (Figura 6b).

De acuerdo a lo descrito por Lopez *et al.*, (2013), el primer grupo de ejemplares de 12 meses serían clasificados como Inmaduros o estarían en la Fase I. Mientras que el segundo grupo, con estructuras histológicas más desarrolladas, pertenecerían a la Fase II o en desarrollo.

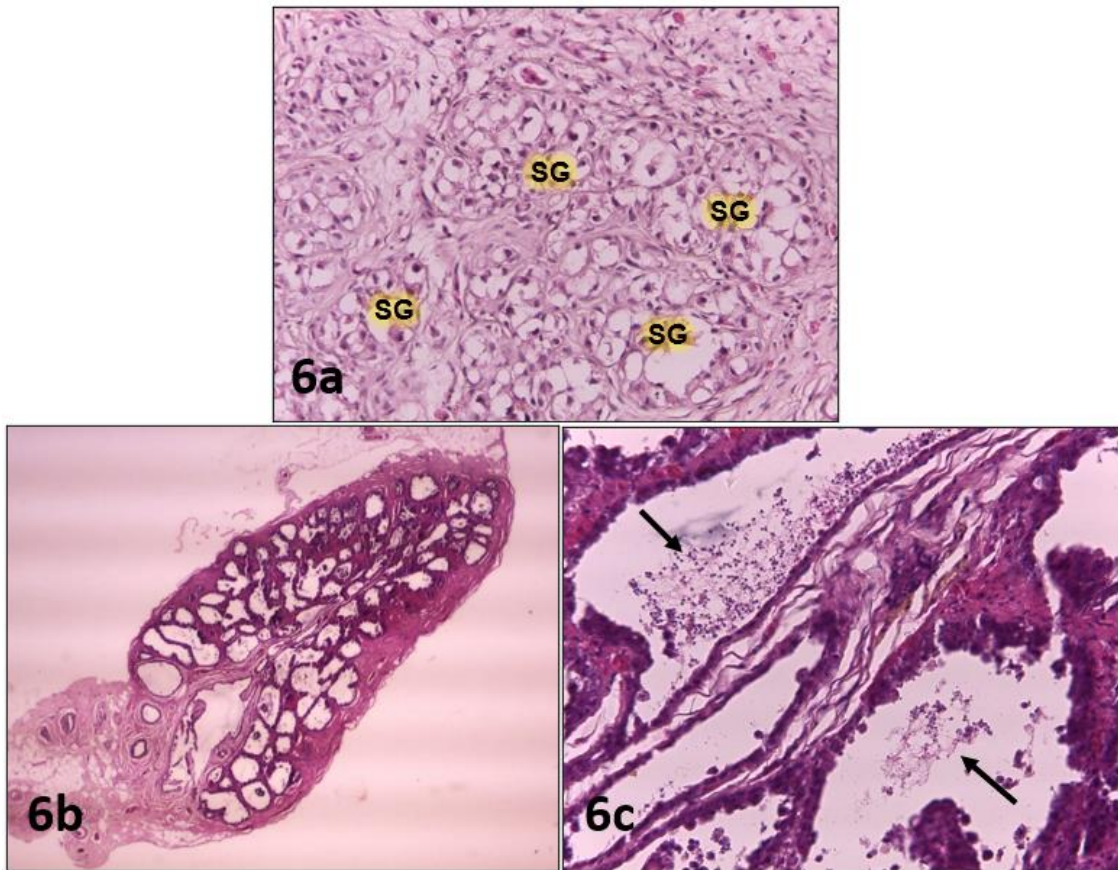


Figura 6: Vista histológica del parénquima testicular de ejemplares de *Arapaima gigas* de 12 meses de edad: a) Túbulos seminíferos sin luz e inicio de formación de la luz tubular, aumento de 40x. b) Vista histológica de testículo de Paiche con túbulos con luz, aumento de 10x. c) Túbulo seminífero con presencia de espermatozoides y células germinales, aumento de 40x. Coloración H/E. SG: Espermatogonias, Flecha: Espermatozoides.

18 MESES

En este grupo, siete de las dieciséis muestras (7/16) no presentaron luz tubular. En algunos casos, no fue posible diferenciar entre los túbulos seminíferos debido a la lámina basal, sin embargo, otras muestras presentaban lámina basal bien definida y se podía apreciar el inicio del proceso de formación de luz tubular (Figura 7a). Las espermatogonias, células de mayor tamaño con abundante citoplasma, se encontraban conformando los túbulos seminíferos al igual que los espermatocitos y espermátides, células germinales de mayor grado de desarrollo, son células más pequeñas con citoplasma compacto y núcleo circular basófilo. (Figura 7b). De acuerdo a la

clasificación de Lopez et al., (2013), dichas muestras corresponden tanto a la “Fase I o Inmaduros” y a la “Fase II o en desarrollo” dependiendo las características histológicas encontradas.

En las demás muestras de este grupo de ejemplares (9/16) fue posible diferenciar luz tubular a partir del objetivo de menor aumento (Figura 7c). Se observó un epitelio simple o estratificado de células germinales sobre la lámina basal de los túbulos seminíferos que correspondían a espermatocitos o células germinales de mayor grado de desarrollo (Figura 7d). Dichas células presentaban forma circular y núcleo basófilo circular ubicado en la parte central. Por otra parte, fue posible identificar células germinales, espermatozoides o ambas dentro de la luz tubular (Figura 7e). Empleando el objetivo de mayor aumento o de inmersión, se pudo diferenciar la cabeza y flagelo de los espermatozoides; la cabeza presentaba coloración basófila y forma redonda, mientras que el flagelo era delgado, largo y eosinófilo (Figura 7f). Cabe resaltar, que los espermatozoides no llenaban la luz tubular en su totalidad. En base a estos hallazgos y las características establecidas por Lopez *et al.*, (2013), estos ejemplares pertenecen a la “Fase III” o ejemplares “Maduros”.

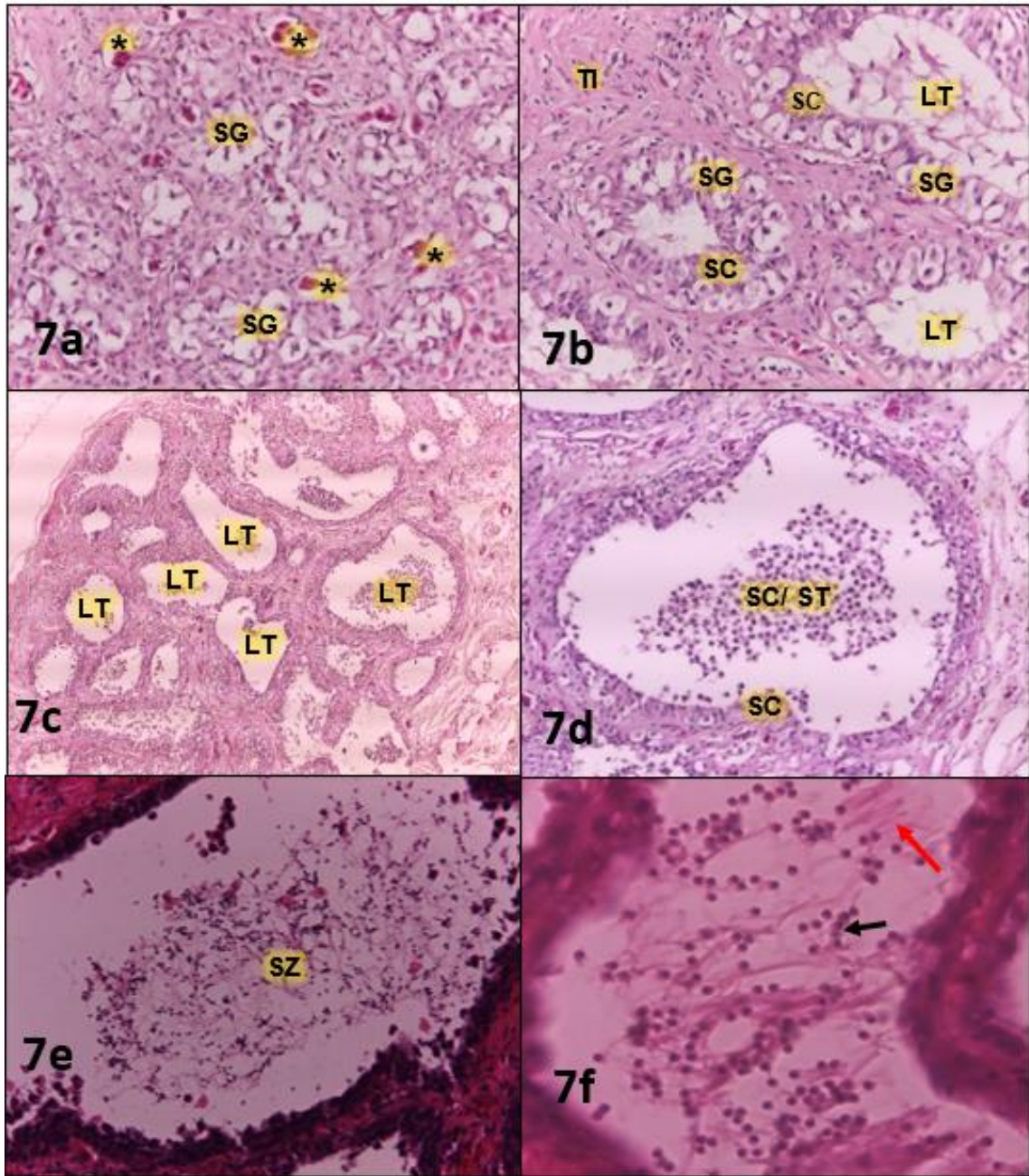


Figura 7: Vista histológica del parénquima de ejemplares de *Arapaima gigas* de 18 meses de edad: a) Túbulos seminíferos sin luz y poco diferenciables entre sí, aumento de 40x. b) Túbulos seminíferos con luz tubular formada o en proceso de formación, con presencia de restos celulares, aumento de 40x. c) Testículo de paiche con presencia de túbulos seminíferos con luz, aumento de 10x. d) Túbulos seminíferos con presencia de células germinales y espermatozoides en la luz tubular, aumento de 40x. e) Túbulo seminífero con espermatozoides al interior de la luz, aumento de 40x. f) Espermatozoides presentes al interior de la luz tubular, aumento 100x. Coloración H/E. SG: Espermatogonia, SC: Espermatocito, ST: Espermatíde, SZ: Espermatozoide, Flecha negra: cabeza de espermatozoides, flecha roja: cola de espermatozoides, (*): capilares sanguíneos.

CONTEO DE TUBULOS SEMINIFEROS:

Se realizó la revisión completa de cada lámina histológica para el conteo de túbulos seminíferos presentes. Dicha revisión se realizó con el aumento 10X, sólo en dos de las quince muestras (2/15) de 12 meses edad y nueve de las dieciséis muestras (9/16) de 18 meses edad, se pudo identificar los túbulos seminíferos con luz. En el resto de las muestras, incluidas las muestras correspondientes a 6 meses de edad, no se pudo contabilizar los túbulos seminíferos ya que el desarrollo celular no permitió la diferenciación o formación de los mismos.

Cabe mencionar que el conteo se realizó tomando en cuenta todas las secciones histológicas presentes en las láminas de cada muestra. En base a ello, se obtuvo un promedio de 176.5 túbulos seminíferos en las muestras de 12 meses y 305.7 en las muestras de 18 meses de edad (Cuadro 1).

Cuadro 1: Promedio de túbulos seminíferos en testículos de *Arapaima gigas* de 12 y 18 meses de edad.

Edad	Número de túbulos por muestra	Promedio de túbulos seminíferos
12 meses	224	176.5
	129	
18 meses	155	305.7
	255	
	409	
	386	
	674	
	241	
	136	
	142	
353		

De las muestras con túbulos seminíferos con luz, se pudo identificar presencia de espermatozoides en solo 1 de las 2 muestras de 12 meses de edad y en 7 de las 9 muestras de 18 meses de edad. Además, se vio que las muestras que presentaban espermatozoides, los túbulos seminíferos eran de mayor tamaño, pero en menor cantidad que en las muestras sin presencia de espermatozoides. (Cuadro 2).

Cuadro 2: Registro numérico de túbulos seminíferos e identificación de presencia de espermatozoides en testículos de *Arapaima gigas* de 12 y 18 meses de edad.

Edad	Número de túbulos seminíferos	Espermatozoides
12 meses	224	NO
	129	SI
18 meses	155	NO
	255	NO
	409	SI
	386	SI
	674	SI
	241	SI
	136	SI
	142	SI
	353	SI

REGISTRO BIOMÉTRICO:

LONGITUD DE GÓNADAS:

Con los datos del registro biométrico, se calculó el promedio de longitud de gónadas de los ejemplares de paiche de 6, 12 y 18 meses de edad. A partir de esos datos, se elaboró un gráfico comparativo de barras en donde se pudo apreciar que los ejemplares de 18 meses de edad son los que presentan el promedio más alto, observando una tendencia lineal (Figura 8).

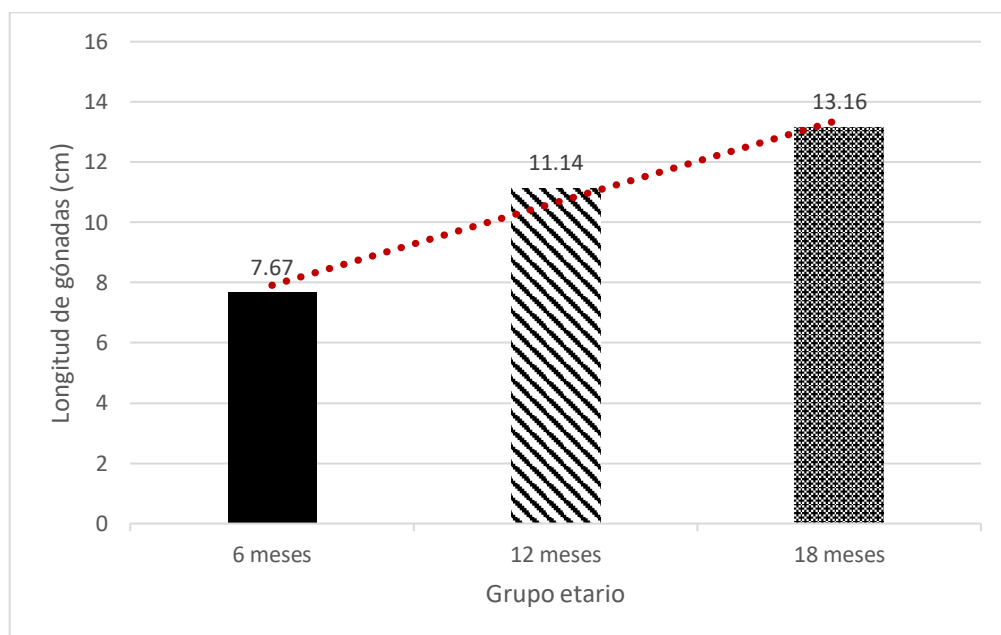


Figura 8: Gráfico de barras de la longitud de gónada promedio (cm) de ejemplares de *Arapaima gigas* de 6, 12 y 18 meses de edad. Línea punteada: Línea de tendencia.

ANCHO DE GÓNADAS:

Se calculó el promedio de ancho de gónada para cada grupo etario del estudio (6, 12 y 18 meses) utilizando los datos del registro biométrico. Con los resultados obtenidos, se elaboró un gráfico de barras en donde se puede ver que, a diferencia de la longitud de gónada, los ejemplares de 12 meses de edad son los que presentan el mayor promedio. Cabe resaltar que la diferencia entre ejemplares de 12 y 18 meses no es tan grande como la que hay entre los ejemplares de 6 y 12 meses de edad, presentando de igual forma una tendencia creciente lineal (Figura 10).

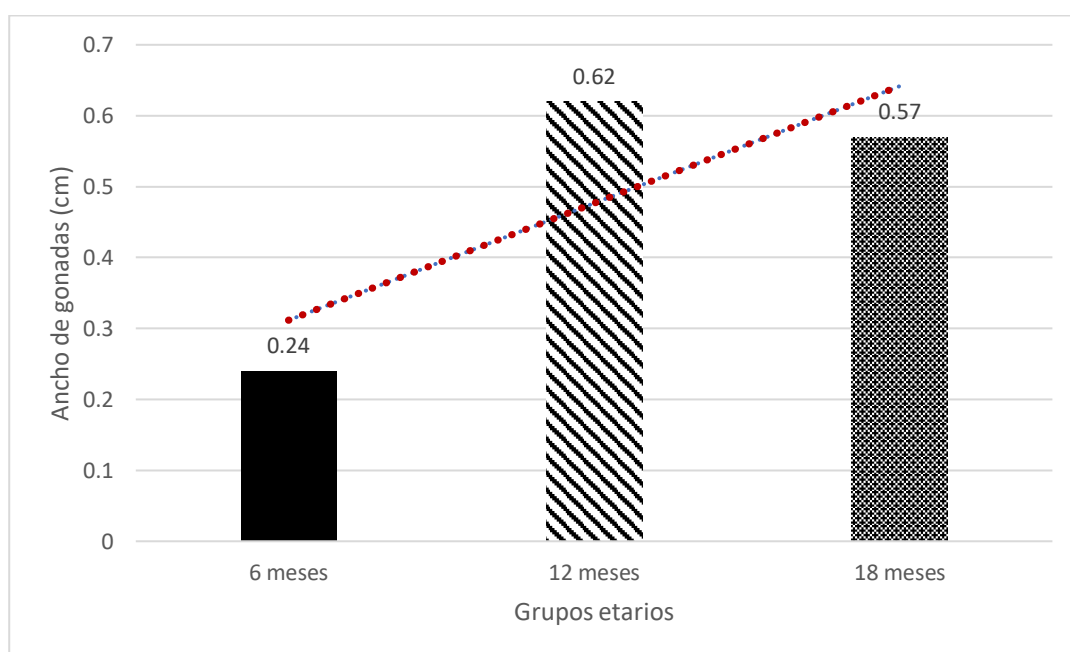


Figura 10: Gráfico de barras de ancho de gónada promedio (cm) de ejemplares de *Arapaima gigas* de 6, 12 y 18 meses de edad. Línea punteada: Línea de tendencia.

DISCUSIÓN

La descripción histológica de los ejemplares de paiche realizada en el presente estudio permitió visualizar y analizar las estructuras testiculares en diferentes grupos etarios. En donde el compartimiento intersticial estaba compuesto por tejido conectivo, fibras colágeno, células mioideas y vasos sanguíneos de diferente calibre. Lo cual coincide con lo observado por Romagosa *et al.* (1999) al analizar testículos de sábalo cola roja (*Brycon cephalus*), esta especie pertenece a la infraclase teleósteo al igual que el Paiche. Además, el conducto deferente con lámina propia rodeada por una capa de tejido conectivo y capas de tejido muscular también fueron descritas por Van & Pieterse (2008) al analizar muestras de bagre de dientes afilados (*Clarias gariepinus*).

Sin embargo, el conducto deferente en esta especie de teleósteo presentó mayor cantidad de láminas de tejido muscular comparadas con las observadas alrededor del conducto deferente de los ejemplares de paiche en el presente estudio.

En cuanto a la región parenquimal, se observó túbulos seminíferos lobulados dispuestos longitudinalmente cuyos diámetros variaban dependiendo del grado de desarrollo. Concordando con estos hallazgos, AbuAlnasr (2016) y Van & Pieterse (2008) observaron presencia de túbulos seminíferos de diferente diámetro al analizar muestras de testículo de mojarra (*Gerres filamentosus*) y bagres de dientes afilados (*Clarias gariepinus*) respectivamente; y además identificaron la presencia de una membrana basal conformada por células mioideas rodeando los túbulos seminíferos y espermatozoides libres en la luz tubular, cabe mencionar que los peces muestreados, fueron diferentes a los del presente estudio, ya que eran ejemplares sexualmente maduros, por lo que la presencia de espermatozoides correspondía a la fase de madurez.

Por otra parte, se pudo observar las espermatogonias con forma redondeada, abundante citoplasma y núcleo basófilo visible ubicado en la parte central o basal de las células germinales, las cuales se encontraban en mayor cantidad en los ejemplares de paiche de 6 meses de edad. Estas características también fueron descritas en los estudios realizados por Chakrabarti & Banerjee (2015) al analizar testículos de pez aguja de agua dulce, *Xenentodon cancila*. Asimismo, tanto Lopez *et al.* (2013) como Amaral (2019), observaron que las células germinales se encontraban inicialmente dispersas a lo largo de testículo, y posteriormente se restringieron a la región central de la gónada a medida que los testículos de paiche presentaban mayor grado de desarrollo tal y como se puede apreciar en las muestras del presente estudio.

Se identificó la presencia de células germinales en diferentes etapas de maduración dentro de un mismo túbulo seminífero, lo cual indica que el desarrollo de dichas células sucede de manera progresiva conforme va transcurriendo la espermatogénesis, por tal motivo no se encuentra un solo tipo de célula germinal dentro de cada túbulo. Este escenario también fue descrito por Sajann & Mercy (2016) al realizar la evaluación histológica de testículos de peces ornamentales (*Sahyadria denisonii*). Además de ello, se pudo observar que el tamaño celular disminuye gradualmente hasta llegar a las células germinales más desarrolladas, los espermatozoides, los cuales presentaron cola eosinofílica y cabeza redondeada con coloración basófila. Coincidiendo con dichas características a lo mencionado por AbuAlnasr (2016), quien identificó la misma estructura en los espermatozoides del *Gerres filamentosus* (mojarra de hebra).

Los detalles generales de la estructura testicular mencionados en el presente estudio, así como en los otros estudios citados, coinciden con la descrita para la mayoría de peces teleósteos la cual incluye la demarcación de túbulos seminíferos por una membrana basal y una capa superpuesta, a veces incompleta, de células de Sertoli y células mioideas (Billard 1986).

Respecto a los datos biométricos y características celulares de los túbulos seminíferos en los ejemplares evaluados, se observó que a partir de los 12 meses de edad los paiches presentan túbulos seminíferos con espermatoцитos, es decir células germinales más desarrolladas. Cabe mencionar que la medida más baja de longitud total registrada en este grupo etario fue de 82cm. Concordando con los hallazgos encontrados, en el estudio realizado por Lopez *et al.* (2013) registró túbulos seminíferos con células en proceso de meiosis en paiches juveniles con una longitud total superior a los 80 cm. Mientras que el ejemplar macho más grande evaluado por Amaral (2019) tenía una longitud total de 75 cm y solo presentó túbulos seminíferos con espermatoгонias rodeados por células de Sertoli más no túbulos con espermatoцитos (meióticos).

Además, la longitud total mínima de los ejemplares del presente estudio donde se identificó presencia de espermatozoides en la luz tubular fue en un macho de 18 meses de edad de 107 cm de longitud total, lo cual no coincide con lo reportado por Godinho *et al.* (2005) quien detectó actividad gonadal en los ejemplares machos que tenían entre 115-124 cm de longitud total. Según Godinho *et al.* (2005), estas diferencias de longitud total de ejemplares de paiche en la madurez sexual pueden ser debidos a una combinación de agentes ambientales y antrópicos. Además, identificar los estadios de madurez sexual o gonadal en machos es más difícil que en las hembras gracias a que los espermatozoides, células de mayor grado de madurez sexual, pueden estar presentes en muestras de estadio II o previas a la maduración sexual, convirtiéndose en un indicador no determinante (Castillo *et al.*,2015).

Por otra parte, en el análisis histológico se identificó ciertos ejemplares cuyos hallazgos o descripción histológica era incongruente con el grupo etario al que correspondían mostrando cierta individualidad fisiológica, esto puede ser a causa de distintos factores tales como la nutrición, ya que una inadecuada alimentación ya sea por la mala calidad o cantidad de alimento, puede influenciar de forma negativa a la formación de gónadas en los ejemplares y afectar el éxito reproductivo en cautiverio (Franco-Rojas, 2011).

Asimismo, y en relación con el punto anterior, la densidad de siembra es otro factor que puede estar involucrado debido a que pueden surgir problemas con la calidad de agua y disponibilidad de alimentos por altas densidades en los estanques. Esta situación incrementará los niveles de estrés en los ejemplares los cuales son más sensibles a variaciones ambientales durante la etapa de maduración sexual (Franco-Rojas, 2011).

En cuanto, al desarrollo gonadal en términos de amplitud y longitud, los resultados mostraron que la longitud del testículo no presenta la misma línea de crecimiento que el ancho de gónada en los ejemplares evaluados ya que el valor promedio más alto de longitud de gónada correspondía a los ejemplares de 18 meses mientras que los ejemplares de 12 meses registraron el valor promedio más alto de ancho de gónadas. Sin embargo, el valor promedio obtenido por ejemplares de 12 meses es más cercano al promedio obtenido por los ejemplares de 18 meses que al promedio obtenido por los ejemplares de 6 meses respecto al ancho de gónadas. Este aumento progresivo en las medidas de ancho y largo de gónadas es congruente con lo expuesto por Grier & Taylor (1998) al evaluar ejemplares de robalo blanco (*Centropomus undecimalis*), donde registró un aumento de volumen en los testículos durante la maduración temprana de esta especie. Esto ocurre conforme va progresando el proceso de espermatogénesis ya que existe un aumento de divisiones celulares, lo cual hace que los espermatozoides y demás células germinales ocupen más espacio contribuyendo al aumento de altura y ancho de los testículos durante el ciclo reproductivo según lo explicado por los mismos autores. Asimismo, el índice gonadosomático (GSI) asume un incremento en el tamaño de gónada conforme el ejemplar va avanzando con el desarrollo (Flura, M. Z. *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

Los ejemplares de paiche de 6 meses de edad presentaron mayor proporción de estroma y células germinales inmaduras, mientras que en los ejemplares de 12 y 18 meses el parénquima ocupó mayor espacio y presentaron estructuras más desarrolladas.

Según lo encontrado en estudio, se evidenció individualidad fisiológica en ciertas muestras evaluadas, detectándose ejemplares de 12 meses con características histológicas correspondientes a individuos de mayor grado de madurez sexual y ejemplares de 18 meses de edad con características histológicas similares a individuos más jóvenes. Si bien son la minoría de muestras, se demuestra que el grado de madurez sexual no depende únicamente de la edad de los ejemplares ya que puede verse afectado por factores externos.

La presencia de espermatozoides en los túbulos seminíferos no es un indicativo de madurez sexual en los ejemplares de paiche ya que en el presente estudio se identificó espermatozoides en ejemplares sexualmente inmaduros.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AbuAlnasr, T. M. A. 2016. Histological changes in the testes of the fish, *Gerres filamentosus* (Cuvier, 1829) during the reproductive cycle in the Hurghada Red Sea, Egypt. In 5th International Conference on Agriculture, Environment and Biological Sciences (ICAEBS-16).
- Alcantara-Bocanegra, F. 1990. Observaciones sobre el comportamiento reproductivo del paiche, *Arapaima gigas*, en cautiverio. *Folia Amazónica*, 2(1-2), 163-166.
- Alván Aguilar, M. A. 2010. Determinación del sexo del paiche, *Arapaima gigas* (Cuvier 1829) utilizando técnicas inmuno-enzimáticas (EIA) específicas para la vitelogenina y los esteroides sexuales 17 β -estradiol y 11-K testosterona. Tesis de Biólogo. Iquitos, Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. 16 p.
- Alván-Aguilar, M. A., Chu-Koo, F. W., Monge, G. C. B., Panduro, L. Á. C., & Ríos, D. A. V. 2016. Análisis de las estadísticas de producción de carne y semilla de Paiche *Arapaima gigas* en Loreto y Ucayali (Perú). *Folia Amazónica*, 25(2), 183-189.
- Amaral, A. D. C. 2019. Aspectos estruturais da diferenciação sexual do pirarucu *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) e do jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). Tesis de Ciencias Agrarias. Manaus, Brasil: Universidade Federal do Amazonas. p 34-47.
- Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Nutrition Développement*, 26(4), 877-920.
- Campos, L. (2001). Historia biológica del paiche o pirarucu (*Arapaima gigas*, Cuvier) y bases para su cultivo en la Amazonía, Iquitos - Perú. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. [Internet]. [acceso 20 octubre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.iiap.org.pe/handle/IIAP/184>

- Carreiro, C. R. P., Furtado-Neto, M. A. A., Mesquita, P. E. C., & Bezerra, T. A. 2011. Sex determination in the Giant of Amazon Basin *Arapaima gigas* using laparoscopy. *Acta Amazonica*, 41(3), 415-420.
- Castillo, J., Gálvez Escudero, M., & Sánchez Espinoza, J. 2015. Escala de madurez gonadal de caballa *Scomber japonicus peruanus* (Jordan y Hubbs, 1925). *IMARPE*, 30, 40-49. [Internet]. [acceso 20 junio 2021]. Disponible en: <https://revistas.imarpe.gob.pe/index.php/boletin/article/view/102/96>
- Chakrabarti, P., & Banerjee, A. S. 2015. Histological findings and seasonal distribution of different germ cells in the testicles of freshwater needle fish, *Xenentodon cancila* (Hamilton). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(3), 74-80.
- Chu-Koo, F., Dugué, R., Aguilar, M. A., Daza, A. C., Bocanegra, F. A., Veintemilla, C. C., ... & Nunez, J. 2009. Gender determination in the Paiche or Pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 β -estradiol, and 11-ketotestosterone levels. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35(1), 125-136.
- CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de especies Amenazadas de Fauna y Flora). 2017. Apéndices I, II y II CITES. en vigor a partir del 4 de abril de 2017. Disponible en: <https://cites.org/esp/app/appendices.php>.
- Coca Méndez, C., Rico López, G., Carvajal-Vallejos, F., Salas, R., Wojchiechowski, J., & Damme, P. 2012. La cadena de valor del pescado en el norte amazónico de Bolivia: contribución de especies nativas y de una especie introducida (el Paiche - *Arapaima gigas*) (21st. Ed., pp. 29-47). La Paz: PIEB
- Ferreira, G. T., & Guedes, L. F. 2017. O mapeamento de uma cadeia extrativista na Amazônia: *Arapaima gigas* em reservas de desenvolvimento sustentável. *Environmental & Social Management Journal/Revista de Gestão Social e Ambiental*, 11(2), 02-17.

- Flura, M. Z., Rahman, B. S., Rahman, M. A., Ashraful, M., Alam, M., & Pramanik, M. H. 2015. Length-weight relationship and GSI of hilsa, *Tenualosa ilisha* (hamilton, 1822) fishes in Meghna river, Bangladesh. *Int. J. Nat. Soc. Sci*, 2(3), 82-88.
- Franco-Rojas, H. H. & Peláez, M. 2007. Cría y producción de pirarucú en cautiverio. Experiencias en el Piedemonte Caqueteño. Universidad de la Amazonia, Florencia (Caquetá-Colombia). [Internet]. [acceso 20 agosto 2021]. Disponible en: <http://apps.udla.edu.co/documentos/docs/ViceRectoria%20de%20Investigaciones%20y%20Posgrados/Publicaciones/Libros/Manual%20pirarucu.pdf>
- Franco-Rojas, H. H. 2011. Evaluación de la densidad y alimentación en el desempeño reproductivo del pirarucu *Arapaima gigas* en cautiverio. Sede Amazonía. Tesis para magister en Estudios Amazónicos. Caquetá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Godinho, H. P., Santos, J. E., Formagio, P. S., & Guimarães-Cruz, R. J. 2005. Gonadal morphology and reproductive traits of the Amazonian fish *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). *Acta Zoológica*, 86(4), 289-294.
- Grier, H. J., & Taylor, R. G. 1998. Testicular maturation and regression in the common snook. *Journal of Fish Biology*, 53(3), 521-542.
- Imbiriba, E. P. 2001. Potencial de Criacao de Pirarucu, *Arapaima gigas*, em Cativeiro. *Acta Amazonica*, 31(2), 299-316.
- Krol, J., Glogowski, J., Demska-Zakes, K., & Hliwa, P. 2006. Quality of semen and histological analysis of testes in Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. during a spawning period. *Czech Journal of Animal Science*, 51(5), 220-226.

- Lopez, K., Rocha, R., Ferreira, A. M., Helder Q.L. 2013. Notas sobre a biología reproductiva do Pirarucu (*Arapaima gigas*) Schinz 1822 Biología, conservação e manejo participativo de pirarucus na Pan-Amazônia :43-57 p
- Mañanós, E., Duncan, N., & Mylonas, C. 2008. Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In Cabrita, E., Robles V. & Herraéz, P., Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species. (1st ed., pp 3-80). Florida: Taylor and Francis Group.
- Mlačó, N., Katica, A., & Pilić, S. 2014. Comparative histology of testes of brown (*Salmo trutta m. Fario*) and california (*Oncorhynchus mykiss*) trout during the spawning period. Biotechnology in Animal Husbandry, 30(3), 489-497.
- Núñez, J., Chu-Koo, F., Berland, M., Arévalo, L., Ribeyro, O., Duponchelle, F., & Renno, J. F. 2011. Reproductive success and fry production of the paiche or pirarucu, *Arapaima gigas* (Schinz), in the region of Iquitos, Perú. Aquaculture Research, 42(6), 815-822.
- Rojas, H. 2005. Contribución al conocimiento de la reproducción del Pirarucú *Arapaima gigas* (Cuvier, 1817) (PISCES: ARAPAMIDAE) en cautiverio. Tesis de Biólogo. Caquetá, Colombia: Universidad de la Amazonia.
- Romagosa, E., Narahara, M. Y., Borella, M. I., Parreira, S. F., & Fenerich-Verani, N. 1999. Ultrastructure of the germ cells in the testis of matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei, Characidae). Tissue and Cell, 31(6), 540-544.
- Sajan, S., & Mercy, T. A. 2016. Characterization of Testis and Sperm Morphology of *Sahyadria denisonii* (Day 1865) an Endemic and Threatened Ornamental Fish of the Western Ghats of India. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 16(3), 525-532.

- Schulz, R. W., Menting, S., Bogerd, J., França, L. R., Vilela, D. A., & Godinho, H. P. 2005. Sertoli cell proliferation in the adult testis—evidence from two fish species belonging to different orders. *Biology of reproduction*, 73(5), 891-898.
- Schulz, R. W., De França, L. R., Lareyre, J. J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H., & Miura, T. 2010. Spermatogenesis in fish. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 390-411.
- Schulz, R.W. & Nóbrega, R.H. 2011. Regulation of spermatogenesis. In: Farrell, A., *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment* (1st ed., pp. 627-634). Amsterdam: Academic Press.
- Tello, V. 2012. Estado actual de la crianza del Paiche, *Arapaima gigas*, en la región Loreto. Tesis de Biólogo. Iquitos, Perú: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.
- Torati, L. 2017. Reproductive physiology of *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) and development of tools for broodstock management. Tesis doctoral de Fisiología. Stirling, Reino Unido: University of Stirling.
- Uribe, M. C., Grier, H. J., & Mejía-Roa, V. 2014. Comparative testicular structure and spermatogenesis in bony fishes. *Taylor & Francis Journal*, 4(3), 1-13.
- Van Dyk, J. C., & Pieterse, G. M. 2008. A histo-morphological study of the testis of the sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) as reference for future toxicological assessments. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(4), 415-422.

ANEXO

Cuadro 3: Longitud total (cm) de ejemplares de *Arapaima gigas* de 12 y 18 meses de edad:

Edad		
6 meses	12 meses	18 meses
62	82	97
62	91	97
67	91	99
67	92	101
79	93	105
65	95	106
68	96	107
72	96	108
68	96	109
	97	111
	98	112
	98	112
	99	114
	103	118
	105	123
		153