



# ESCALA MACROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL DE HEMBRAS DE *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) VALIDADA HISTOLÓGICAMENTE, PERÚ

## HISTOLOGICALLY VALIDATED GONADAL MATURITY SCALE OF *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) FEMALES, PERU

Luis Tito<sup>1,\*</sup>  Manuel Vera<sup>1</sup>  Elmer Ordinola<sup>1</sup>   
Solange Alemán<sup>1</sup>  Ángel Perea<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Instituto del Mar del Perú, Laboratorio Costero de Tumbes, Perú.

<sup>2</sup> Instituto del Mar del Perú, Laboratorio Costero de Chimbote, Perú.

\*Correspondencia. E-mail: [ltito@imarpe.gob.pe](mailto:ltito@imarpe.gob.pe)

Recibido: 03-08-2022, Aceptado: 11-01-2024, Publicado: 01-02-2024

### RESUMEN

*Litopenaeus vannamei* (langostino blanco) en la Región Tumbes es un recurso de importancia económica, y que, a pesar de la constante presión pesquera, carece de información biológica y pesquera. El objetivo, para identificar las fases de madurez gonadal en hembras, es elaborar una escala macroscópica validada histológicamente. De octubre 2017 a diciembre 2018, se recolectaron 600 ovarios de la pesquería artesanal de Tumbes, entre La Cruz (3°37'19"S – 80°33'19"W) y Grau (3°39'34"S – 80°36'53"W), los que se analizaron histológicamente, empleando la técnica de infiltración en parafina. Se establecieron seis fases de madurez gonadal: virginal (fase 0), reposo (fase I), en maduración (fase II), maduro (fase III), desovado (fase IV) y en recuperación (fase V), diferenciando a hembras juveniles de adultas, así como a las que se encuentran en recuperación. También, se identificaron cinco tipos de células sexuales: cuatro tipos de ovocitos en diferente grado de desarrollo (ovocito inmaduro, pre-vitelogenado, vitelogenado y maduro) y el ovocito atrésico. Con estos resultados, se diferencian fácilmente y de manera precisa, las fases de madurez gonadal en hembras de *L. vannamei* por lo que se convertirá en una herramienta práctica y de fácil uso en campo.

PALABRAS CLAVE: *Litopenaeus vannamei*, fases de madurez gonadal, validación histológica, Tumbes

### ABSTRACT

*Litopenaeus vannamei* in the Tumbes Region is an economically significant resource. Despite continuous fishing pressure, there is a lack of biological and fishery information. The objective, in order to identify gonadal maturity stages in females, is to develop a macroscopic scale validated histologically. From October 2017 to December 2018, 600 ovaries were collected from the artisanal fisheries in Tumbes, spanning from La Cruz (3°37'19"S – 80°33'19"W) to Grau (3°39'34"S – 80°36'53"W). These were histologically analyzed using the paraffin infiltration technique. Six gonadal maturity stages were established: virginal (stage 0), resting (stage I), maturing (stage II), mature (stage III), spawning (stage IV), and recovering (stage V), allowing the differentiation between juvenile and adult females, as well as those in recovery. Additionally, five types of sexual cells were identified: four types of oocytes at different developmental stages (immature, previtellogenic, vitellogenic, and mature) and atretic oocytes. With these results, the gonadal maturity stages in female *L. vannamei* can be easily and precisely distinguished, making it a practical and user-friendly tool in the field.

KEYWORDS: *Litopenaeus vannamei*, gonadal maturity stages, histological validation, Tumbes

## 1. INTRODUCCIÓN

SCELZO (2016) indica que, “los langostinos son recursos naturales renovables importantes desde el punto de vista bioecológico y de la economía pesquera, son animales de ciclo de vida relativamente corto cuyos adultos se agrupan formando

## 1. INTRODUCTION

SCELZO (2016) indicates that ‘shrimps are important renewable natural resources from both a bioecological and fishery economy perspective, being animals with relatively short life cycles whose adults gather in significant

COMO REFERENCIAR ESTE ARTÍCULO: Tito, L., Vera, M., Ordinola, E., Alemán, S. & Perea, Á. (2024). Escala macroscópica de madurez gonadal de hembras de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) validada histológicamente, Perú. *Bol Inst Mar Perú*, 39(1), 26-37. <https://doi.org/10.53554/boletin.v39i1.396>

importantes concentraciones siendo objeto de la pesca comercial” (pág. 71).

A nivel mundial, son cuarenta especies de langostinos peneidos (langostinos) los que sustentan las pesquerías langostineras, estas especies habitan en las zonas intertropicales y subtropicales, en áreas influenciadas por los deltas, estuarios o lagunas y sobre fondos fangosos o areno fangosos (GARCÍA & LE RESTE, 1986), alimentándose de restos de materia orgánica particulada e invertebrados.

*Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) (Decapoda: Penaeidae), es una especie muy importante a nivel mundial, por lo que desde hace muchos años se ha desarrollado en torno a ella una actividad acuícola sostenida.

En Tumbes, las especies de langostinos con mayor importancia comercial son langostinos blancos (*Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus occidentalis*), langostino azul (*Litopenaeus stylirostris*), langostino café (*Farfantepenaeus californiensis*) y langostino rojo (*Farfantepenaeus brevisrostris*); otras que son capturadas en menor proporción pertenecen a los géneros *Rimapenaeus* spp., *Xiphopenaeus* sp., *Sicyonia* spp. y *Protrachypene* sp. (ORDINOLA et al., 2008; LLANOS et al., 2010).

En las capturas efectuadas con red de arrastre, durante un estudio efectuado de febrero a junio 2003 en Tumbes, sobresalieron las especies *F. californiensis* (42,1%) y *L. vannamei* (23,1%) (ORDINOLA et al., 2008), aunque esta proporción puede variar al tratarse de embarcaciones que emplean red de cortina tipo trasmallo, en la que *L. vannamei* destaca.

SCELZO (2016) menciona que:

El aumento de la presión pesquera y la importancia social y económica generan la necesidad de obtener información básica y aplicada para lograr un manejo adecuado de los recursos pesqueros, entre los que se cuentan: conocimiento de la biología básica y dinámica reproductiva, siendo el proceso reproductivo el responsable de la renovación del stock ... La reproducción de *L. vannamei* está gobernada por factores internos y externos, por ejemplo, el ciclo de la gametogénesis a nivel de la población está regulado por cambios ambien-

concentrations and are subject to commercial fishing’ (p. 71).

Globally, forty species of penaeid shrimps, sustain numerous shrimp fisheries. These species predominantly inhabit intertropical and subtropical regions, specifically within areas influenced by deltas, estuaries, or lagoons, typically over muddy or sandy-muddy seabed (GARCÍA & LE RESTE, 1986). Their diet consists of particulate organic matter remnants and various invertebrates.

*Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) (Decapoda: Penaeidae) holds exceptional global significance and has been the focus of sustained aquaculture activities for several years.

In Tumbes, the most commercially species are white shrimp (*Litopenaeus vannamei* and *Litopenaeus occidentalis*); blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*); brown shrimp (*Farfantepenaeus californiensis*), and red shrimp (*Farfantepenaeus brevisrostris*). Other species caught in smaller proportions belong to the genera *Rimapenaeus* spp., *Xiphopenaeus* sp., *Sicyonia* spp., and *Protrachypene* sp. (ORDINOLA et al., 2008; LLANOS et al., 2010).

During a study conducted from February to June 2003 in Tumbes, *F. californiensis* and *L. vannamei* were the predominant species caught using trawl nets, accounting for 42.1% and 23.1% of the catch, respectively (ORDINOLA et al., 2008). However, it is noteworthy that these proportions might vary notably when dealing with vessels utilizing purse seine nets, where *L. vannamei* tends to exhibit heightened prominence.

SCELZO (2016) states that:

The increase in fishing pressure and the social and economic importance generates the need to obtain basic and applied information for proper management of fishery resources, including the knowledge of basic biology and reproductive dynamics, with the reproductive process responsible for stock renewal... The reproduction of *L. vannamei* is governed by internal and external factors; for instance, the gametogenesis cycle at the population level

tales, es decir por factores externos (temperatura, intensidad luminosa, sincronismo con la productividad del mar, entre los más importantes) e internos (neuro-hormonales).

Uno de los elementos más importantes en el estudio de cualquier recurso pesquero es el conocimiento de su biología reproductiva, siendo la determinación de las fases de madurez gonadal, la base para el estudio de sus aspectos reproductivos que sustentan estimaciones como la talla de madurez y periodos de actividad reproductiva y desove, los cuales son fundamentales en la toma de decisiones para el manejo racional de un recurso pesquero (TRESIERRA *et al.*, 2002; BUITRÓN *et al.*, 2015).

Según los autores arriba citados, la catalogación de las fases de madurez gonadal, generalmente, se efectúa por observación directa, es decir con base en las características de la morfología externa de las gónadas tales como tamaño y color, lo que puede conducir muchas veces a un juicio subjetivo y no permite obtener apreciaciones refinadas; por lo que, recomiendan que las escalas de madurez gonadal se basen en estudios histológicos, los cuales permiten obtener una descripción detallada de los tipos de ovocitos y de esa manera establecer un mejor criterio para distinguir e identificar las fases de madurez.

Estudios sobre madurez gonadal de hembras de langostinos o camarones, se basan en escalas de madurez macroscópicas que diferencian las fases de madurez solo por coloración y tamaño de los ovarios (RUÍZ & MENDIA, 2008; ALVARADO, 2005). PÉREZ y PARAMO (2014) determinaron y caracterizaron las fases de madurez en hembras de *Farfantepenaeus notialis*, en el campo macroscópico y progresión microscópica de los ovocitos como: I (Inmadura), II (Inmadura en desarrollo), III (En maduración), IV (Madura) y V (Desovada). Además, PEIXOTO *et al.* (2011) describieron cuatro fases de madurez gonadal macroscópica con base histológica para *Farfantepenaeus paulensis*, a saber: I (Inmaduro), II (En desarrollo), III (Maduro) y IV (Desovado).

Por su parte, *L. vannamei* carece de una escala de madurez gonadal macroscópica validada histológicamente que cumpla las condiciones antes

is regulated by environmental changes, *i.e.*, external factors (temperature, light intensity, synchronism with sea productivity, among the most important) and internal factors (neuro-hormonal).

An essential aspect in comprehending any fishery resource lies in unraveling its reproductive biology. The determination of gonadal maturity stages forms the cornerstone for investigating reproductive facets, aiding in estimations like maturity size, periods of reproductive activity, and spawning events. These estimations are pivotal for informed decision-making in the prudent management of fishery resources (TRESIERRA *et al.*, 2002; BUITRÓN *et al.*, 2015).

Despite direct observation being a commonly employed method for categorizing gonadal maturity stages based on external gonadal characteristics like size and color, this approach often leads to subjective judgments, lacking refinement. Consequently, the recommendation stands to base gonadal maturity scales on histological studies, allowing for meticulous characterization of oocyte types, thus providing a superior criterion to discern and identify maturity stages.

Prior studies on gonadal maturity in female prawns or shrimps have relied on macroscopic maturity scales, primarily differentiating stages based on ovary coloration and size (RUÍZ & MENDIA, 2008; ALVARADO, 2005). PÉREZ & PARAMO (2014) delineated maturity stages in females of *Farfantepenaeus notialis* employing both macroscopic observations and microscopic examination of oocyte progression as I (Immature), II (Developing Immature), III (Maturing), IV (Mature), and V (Spawned). Similarly, PEIXOTO *et al.* (2011) described four macroscopic gonadal maturity stages for *Farfantepenaeus paulensis* based on histological observations, namely: I (Immature), II (Developing), III (Mature), and IV (Spawned).

Remarkably, *L. vannamei* lacks a histologically validated macroscopic gonadal maturity scale meeting the aforementioned criteria, impeding the precise determination of its gonadal maturity stages at a given time. This deficiency hampers the accuracy of estimated reproductive indices and the formulation of appropriate regulatory

descritas, que permita determinar con mayor precisión sus fases de madurez gonadal en un momento determinado; lo que ajustaría los índices reproductivos estimados y ayudaría a recomendar mejores medidas de regulación (talla mínima de captura y vedas reproductivas dinámicas) para su adecuado manejo pesquero.

El presente trabajo tiene por objetivo elaborar una escala macroscópica de madurez gonadal de hembras de *L. vannamei* con sustento histológico para identificar de manera simplificada sus fases de madurez.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Entre los años 2017 y 2018, se colectaron 600 ovarios de *L. vannamei*, provenientes de la captura comercial efectuada entre La Cruz (3°37'19"S – 80°33'19"W) y Grau (3°39'34"S – 80°36'53"W) por la flota artesanal mediante el uso de cortina tras-mallo.

En el laboratorio, previo a la colecta, se efectuó el muestreo biométrico y biológico, siguiendo a ESPINOZA *et al.* (2016), de ejemplares de 20 a 51 mm de longitud de cefalotórax (LC). Una vez extraídos los ovarios, se estudiaron sus características macroscópicas más resaltantes (tamaño, color, aspecto y presencia de cromatóforos) y se fotografiaron con una cámara Nikon de alta resolución para su posterior análisis y comparación con las características microscópicas obtenidas del análisis histológico.

Los ovarios fueron fijados en formaldehído amortiguado (bufferado) al 10%, para ser procesados histológicamente utilizando el método de infiltración en parafina (HUMASON, 1979).

Se realizaron cortes a 7 µm de grosor empleando un micrótopo de rotación. Las secciones histológicas obtenidas se colorearon manualmente con hematoxilina-eosina y como medio de montaje se utilizó Entellán (BUITRÓN *et al.*, 2015). Las secciones fueron observadas en un microscopio compuesto LEICA a diferentes aumentos (40x y 100x) para distinguir y describir los distintos tipos de ovocitos presentes a lo largo del desarrollo gonadal, utilizando para este fin y como referentes a PÉREZ *et al.* (1979) y HUNTER y MACEWICZ (1985), y

measures, such as defining minimum catch sizes and implementing dynamic reproductive closures essential for effective fishery management.

Our study aims to develop a macroscopic gonadal maturity scale for *L. vannamei* females with histological support to simplify the identification of its maturity stages.

## 2. MATERIAL AND METHODS

A total of 600 *Litopenaeus vannamei* ovaries were systematically collected over the period spanning 2017 to 2018. The sampling endeavors were concentrated in the geographic expanse stretching from La Cruz (3°37'19"S – 80°33'19"W) to Grau (3°39'34"S – 80°36'53"W) and were executed by the artisanal fleet deploying a trammel net.

Preceding the collection phase, biometric and biological sampling procedures, following ESPINOZA *et al.* (2016), were conducted within the laboratory setting. Specimens with the cephalothorax length range of 20 to 51 mm were subjected to this assessment. Post-extraction of the ovaries, an analysis of their macroscopic attributes—size, color, appearance, and the presence of chromatophores—was undertaken. High-resolution imaging was obtained using a Nikon camera to capture detailed visual data for comparative evaluation with microscopic characteristics obtained through histological analysis.

For histological processing, the ovaries were rigorously fixed in 10% buffered formaldehyde and prepared utilizing the paraffin infiltration technique, as delineated by HUMASON, 1979.

Sections with a thickness of 7 µm were crafted using a rotary microtome. The resultant histological sections underwent manual staining employing hematoxylin-eosin, with Entellan serving as the mounting medium (BUITRÓN *et al.*, 2015). Subsequent scrutiny involved the observation under a LEICA compound microscope, facilitating examinations at magnifications (40x and 100x). This analysis aimed to characterize the diverse oocyte types evident across gonadal development stages, PÉREZ *et al.* (1979) and HUNTER & MACEWICZ (1985) were consulted. Photographic documentation of these microscopic observa-

luego ser fotografiadas para su análisis posterior. Finalmente, se procedió a analizar y asociar las características macroscópicas y microscópicas, obtenidas con las fotos previamente tomadas, para elaborar y describir las fases de madurez gonadal (BUISTRÓN *et al.*, 2015).

### 3. RESULTADOS

Mediante la observación microscópica de los ovarios de *Litopenaeus vannamei*, se diferenciaron cinco tipos de células sexuales: ovocito inmaduro, ovocito pre-vitelogenado, ovocito vitelogenado, ovocito maduro y ovocito atrésico. A continuación, se detallan las características macroscópicas y microscópicas (tipo de ovocitos, presencia de vitelo, grosor de la pared ovárica, presencia de estructuras celulares y cantidad de ovocitos atrésicos) de las fases de madurez observadas en las gónadas de hembras de *L. vannamei*.

#### VIRGINAL (Fase 0)

**Características macroscópicas:** ovarios pequeños con forma tubular alargada, delgados y translucidos. No se observan los lóbulos ováricos laterales (Fig. 1-A).

**Características microscópicas:** se observan ovocitos inmaduros de color morado y ovocitos pre-vitelogenados agrupados y rodeados de tejido conectivo. Tiene una pared ovárica delgada (Fig. 1-B).

#### Reposo (Fase I)

**Características macroscópicas:** ovarios translucidos, delgados y alargados. Se observa claramente la presencia de lóbulos ováricos laterales. Son individuos adultos que se han reproducido por lo menos una vez en su vida (Fig. 1-C).

**Características microscópicas:** de características muy similares a la fase virginal (0), diferenciándose por presencia de una pared ovárica gruesa, además puede presentar ovocitos atrésicos. (Fig. 1-D).

#### EN MADURACIÓN (Fase II)

**Características macroscópicas:** ovarios de color amarillo con algunas partes translúcidas. Lóbulos ováricos anteriores y laterales medianamente desarrollados y presencia de cromatóforos (Fig. 2-E).

tions was undertaken to facilitate in-depth subsequent analysis. An integrated analysis strategy was employed, aligning the macroscopic and microscopic characteristics acquired during the study with the previously captured photographic records. This served as the foundation for the development and detailed description of the gonadal maturity stages (BUISTRÓN *et al.*, 2015).

### 3. RESULTS

Through microscopic observation of the *Litopenaeus vannamei* ovaries, five types of sex cells were differentiated: immature oocyte, previtellogenic oocyte, vitellogenic oocyte, mature oocyte, and atretic oocyte. Below are the macroscopic and microscopic characteristics (type of oocytes, presence of yolk, thickness of the ovarian wall, presence of cellular structures, and quantity of atretic oocytes) of the maturity phases observed in the ovaries of *L. vannamei* females.

#### VIRGINAL (Stage 0)

**Macroscopic features:** small ovaries with an elongated tubular shape, thin, and translucent. The lateral ovarian lobes are not visible (Fig. 1-A).

**Microscopic features:** immature oocytes in purple and previtellogenic oocytes grouped and surrounded by connective tissue. It has a thin ovarian wall (Fig. 1-B).

#### RESTING (Stage I)

**Macroscopic features:** translucent, elongated, and thin ovaries. The presence of lateral ovarian lobes is visible. These are adult individuals that have reproduced at least once in their life (Fig. 1-C).

**Microscopic features:** very similar to the virginal phase (0), distinguished by the presence of a thick ovarian wall. It may also present atretic oocytes. (Fig. 1-D).

#### MATURING (Stage II)

**Macroscopic features:** yellow ovaries with some translucent areas. Moderately developed anterior and lateral ovarian lobes and presence of chromatophores (Fig. 2-E).

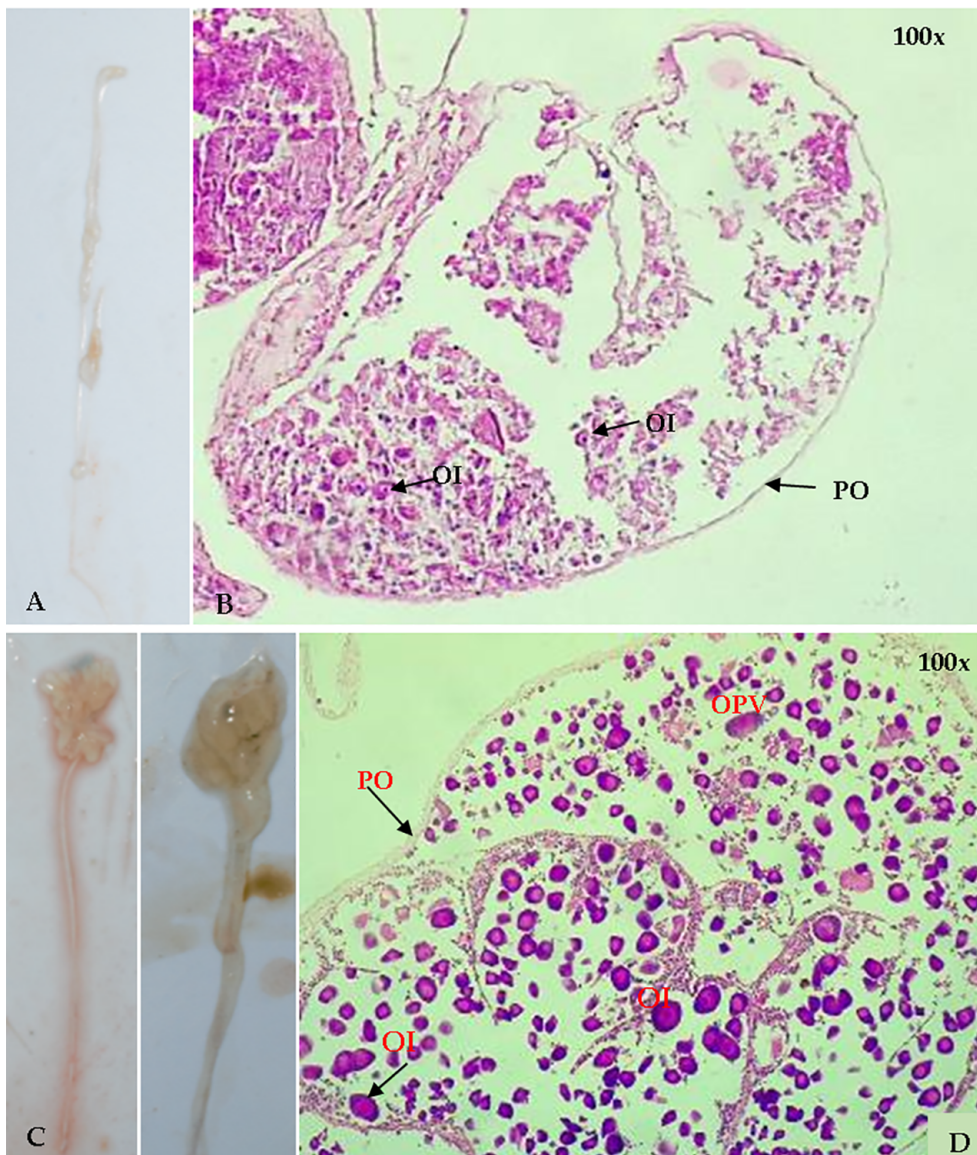


Figura 1.- Fases de madurez gonadal: **Virginal** (0) (A, B) y **Reposo** (I) (C, D), hembras de *Litopenaeus vannamei*  
 Fotografías: macroscópicas (A, C) y microscópicas (B, D)  
 OI: Ovocitos inmaduros, OPV: Ovocitos pre-vitelogenados, PO: Pared ovárica

Figure 1. Gonadal maturity stages: **Virginal** (0) (A, B) and **Resting** (I) (C, D), *L. vannamei* females  
 Photographs: macroscopic (A, C) and microscopic (B, D)  
 OI: Immature oocytes, OPV: Previtellogenic oocytes, PO: Ovarian wall

**Características microscópicas:** presencia de ovocitos vitelogenados de color rosado. También pueden observarse ovocitos inmaduros y pre-vitelogenados (Fig. 2-F).

**MADURO (Fase III)**

**Características macroscópicas:** ovarios grandes y turgentes aparentemente fusionados, con coloración amarilla a verde petróleo uniforme a lo largo de toda la gónada. Ausencia de partes traslúcidas y lóbulos ováricos anteriores y laterales se observan muy bien desarrollados. Hay presencia de cromatóforos (Fig. 2-G).

**Microscopic features:** presence of pink vitellogenic oocytes. Immature and previtellogenic oocytes may also be observed (Fig. 2-F).

**MATURE (Stage III)**

**Macroscopic features:** large and turgid ovaries fused, with a uniform yellow to petrol-green coloration throughout the entire gonad. Absence of translucent parts, and well-developed anterior and lateral ovarian lobes. Presence of chromatophores (Fig. 2-G).

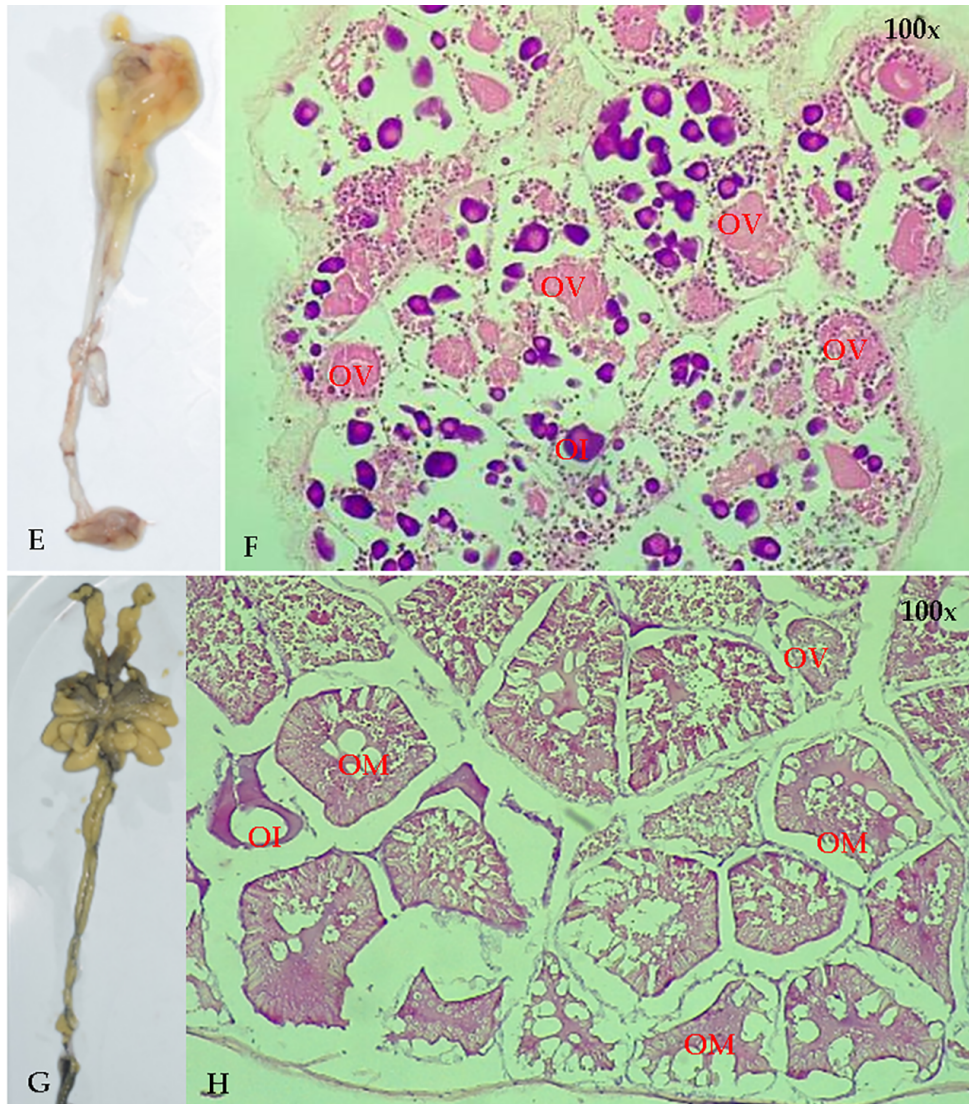


Figura 2.- Fases de madurez gonadal: **En maduración** (II) (E, F) y **Maduro** (III) (G, H), hembras de *Litopenaeus vannamei*

Fotografías: macroscópicas (E, G) y microscópicas (F, H)

OI: Ovocitos inmaduros, OV: Ovocitos vitelogenados, OM: Ovocitos maduros

Figure 2. Gonadal maturity stages: **In maturation** (II) (E, F) and **Mature** (III) (G, H), *L. vannamei* females

Photographs: macroscopic (E, G) and microscopic (F, H)

OI: Immature oocytes, OV: Vitellogenic oocytes, OM: Mature oocytes

**Características microscópicas:** presencia de ovocitos maduros predominantes de color rosado, además presentan cuerpos periféricos bien desarrollados con forma de bastón ubicados en el borde del ovocito y dispuestos hacia su centro. También pueden observarse ovocitos inmaduros, pre-vitelogenados y vitelogenados (Fig. 2-H).

**DESOVADO (Fase IV)**

**Características macroscópicas:** ovarios de aspecto flácido, de color amarillo claro el cual es uniforme en toda la gónada, son de menor tamaño con relación a un ovario maduro y presentan cromatóforos (Fig. 3-I).

**Microscopic features:** predominant presence of mature oocytes in pink coloration, with well-developed peripheral bodies shaped like rods located at the oocyte’s edge and arranged toward its center. Immature, previtellogenic, and vitellogenic oocytes may also be observed (Fig. 2-H).

**SPAWNED (Stage IV)**

**Macroscopic features:** ovaries appear flaccid, light yellow, and uniform across the entire gonad. They are smaller than mature ovaries and exhibit chromatophores (Fig. 3-I).

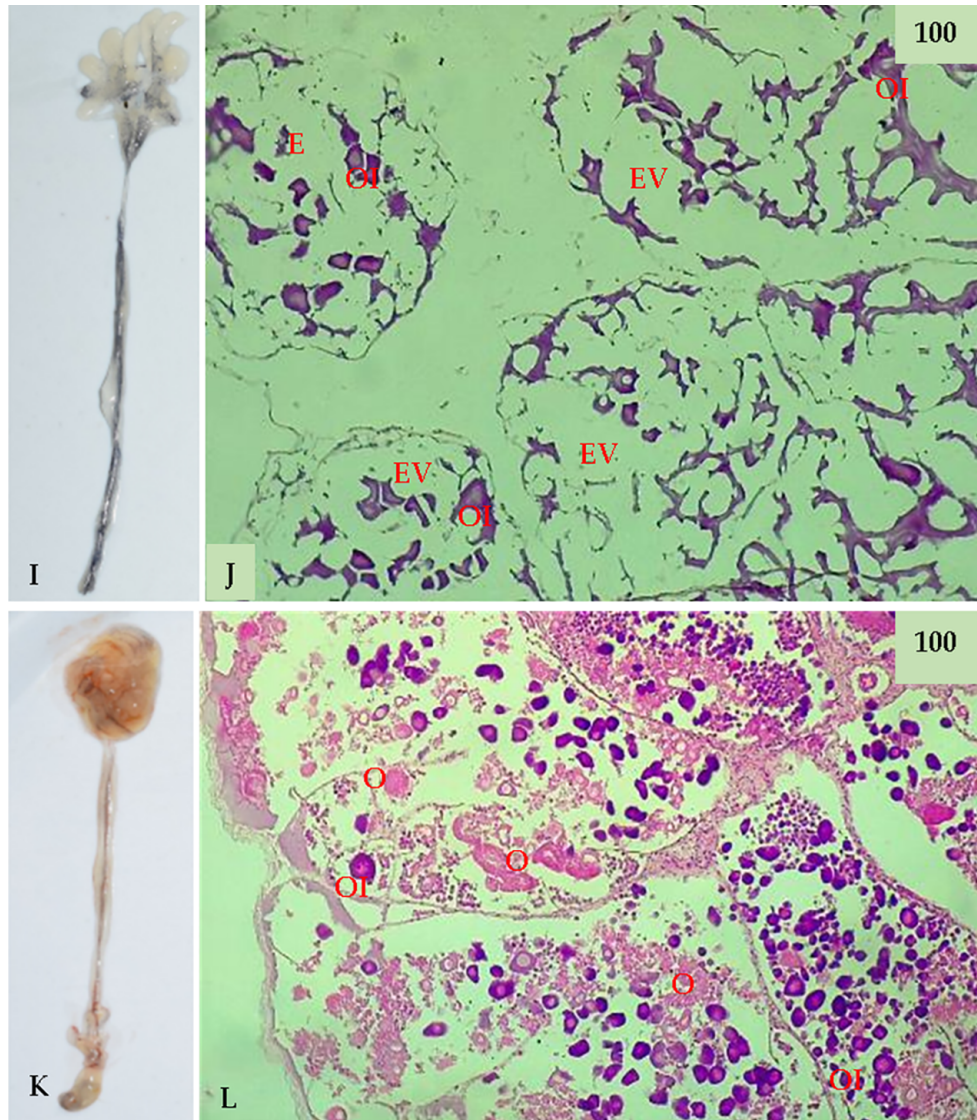


Figura 3.- Fotografías macroscópicas (I, K) y microscópicas (J, L) de las fases de madurez gonadal **Desovado (IV)** (I, J) y **En recuperación (V)** (K, L) de hembras de *Litopenaeus vannamei*  
 OI: Ovocitos inmaduros, OV: Ovocitos vitelogenados, OA: Ovocitos atrésicos, EV: Espacios vacíos

Figure 3. Gonadal maturity stages: **Spawned (IV)** (I, J) and **Recovery (V)** (K, L), *L. vannamei* females  
 Photographs: macroscopic (I, K) and microscopic (J, L)  
 OI: Immature oocytes, OV: Vitellogenic oocytes, OA: Atretic oocytes, EV: Empty spaces

**Características microscópicas:** presencia de ovocitos inmaduros y pre-vitelogenados los cuales predominan y algunos ovocitos maduros, hay presencia de muchos espacios vacíos producto del desove; también puede observarse algunos ovocitos atrésicos y estructuras foliculares como evidencia de ovocitos que han sido evacuados al medio. (Fig. 3-J).

#### RECUPERACIÓN (Fase V)

**Características macroscópicas:** ovarios medianamente pequeños y flácidos de color amarillo claro con algunas partes traslúcidas y presencia de cromatóforos. También presentan lóbulos ováricos anteriores y laterales (Fig. 3-K).

**Microscopic features:** presence of immature and previtellogenic oocytes predominating, with some mature oocytes. Many empty spaces result from spawning. Also, some atretic oocytes and follicular structures indicate oocytes that have been released into the environment (Fig. 3-J).

#### RECOVERY (Stage V)

**Macroscopic features:** moderately small, flaccid ovaries, light yellow with some translucent areas, and the presence of chromatophores. Also, anterior and lateral ovarian lobes occurred (Fig. 3-K).



**Características microscópicas:** presencia de ovocitos inmaduros y pre-vitelogenados, los cuales predominan y ovocitos atrésicos en menor proporción (Fig. 3-L).

#### 4. DISCUSIÓN

La escala de madurez gonadal, actualmente empleada por los especialistas del Laboratorio Costero del IMARPE en Tumbes, para catalogar las fases de madurez de gónadas de *Litopenaeus vannamei*, es una adaptación de las escalas propuestas por PÉREZ *et al.* (1979) y MÉNDEZ (1981). Sin embargo, existen características macroscópicas que, debido al carácter dinámico de la reproducción, son más difíciles de enmarcar dentro de una fase y se debe tener cuidado al diferenciarlas como es el caso de las fases virginal y de reposo, las cuales deben ser adecuadamente diferenciadas ya que un error a este nivel puede producir una subestimación de la población reproductora. Al respecto, el presente trabajo, con base en el análisis histológico, permite discriminar macroscópicamente las hembras juveniles o virginales (fase virginal) de las hembras adultas (fase de reposo).

Las características macroscópicas tales como longitud, coloración, presencia de cromatóforos, flaccidez y grado de transparencia son herramientas visuales que permiten la clasificación de las fases de madurez gonadal (PÉREZ *et al.*, 1979; PÉREZ & PARAMO, 2014). Microscópicamente, HUNTER y MACEWICZ (1985) establecen la diferenciación y clasificación de los ovocitos con base en criterios de distribución, tamaño, presencia de vitelo y forma de capa folicular. En este sentido, WEST (1990) señala que uno de los criterios utilizados para clasificar a los ovarios en una fase de madurez es la presencia del tipo de ovocito más avanzado. En el presente trabajo se diferenciaron cinco tipos de células sexuales: cuatro tipos de ovocitos en diferente grado de desarrollo (ovocito inmaduro, pre-vitelogenado, vitelogenado y maduro) y el ovocito atrésico, cuya presencia determinó la fase de madurez gonadal.

Por su parte, FLORES y HIRT (1999) mencionan que el análisis de las características macroscópicas y microscópicas de las gónadas permite elaborar escalas que posibilitan la evaluación de las fases de madurez gonadal cuando se trabaja en campo.

**Microscopic features:** presence of immature and previtellogenic oocytes, which predominate, and a smaller proportion of atretic oocytes (Fig. 3-L).

#### 4. DISCUSSION

The current gonadal maturity scale used at IMARPE's Coastal Laboratory of Tumbes for *Litopenaeus vannamei* is adapted from PÉREZ *et al.* (1979) and MÉNDEZ (1981) scales. Challenges arise in classifying certain macroscopic characteristics, notably in the virginal and resting stages, which require precise differentiation to avoid underestimating the reproductive population. Our study, supported by histological analysis, facilitates the macroscopic differentiation of juvenile/virginal females from adults.

Macroscopic characteristics like size, coloration, chromatophores, flaccidity, and transparency aid in categorizing gonadal maturity stages (PÉREZ *et al.*, 1979; PÉREZ & PARAMO, 2014). At the microscopic level, HUNTER and MACEWICZ (1985) establish the differentiation and classification of oocytes based on distribution criteria, size, presence of yolk, and follicular layer shape. In this regard, WEST (1990) notes that one criterion used to classify ovaries into a maturity stage is the presence of the most advanced type of oocyte. Our study differentiated five types of sexual cells: four types of oocytes at different developmental stages (immature, previtellogenic, vitellogenic, and mature oocytes), and the atretic oocyte, whose presence determined the gonadal maturity stage.

On the other hand, FLORES & HIRT (1999) indicate that analyzing macroscopic and microscopic characteristics of gonads allows for the development of scales enabling evaluation of gonadal maturity phases when working in the field. This work related the most prominent macroscopic and microscopic features that facilitated the creation of the gonadal maturity scale specific to *Litopenaeus vannamei*, whose description allows for easy and precise differentiation of gonadal maturity phases.

En este trabajo, se relacionaron las características macroscópicas y microscópicas más resaltantes que permitieron elaborar la escala de madurez gonadal propia para *Litopenaeus vannamei*, cuya descripción permite diferenciar fácilmente, y de manera precisa, las fases de madurez gonadal.

PÉREZ *et al.* (1979) realizaron un estudio histológico a las gónadas de hembras de *Litopenaeus occidentalis* y *L. stylirostris* y encontraron similitud en su desarrollo ovárico. Así mismo, estos autores describieron las características microscópicas y macroscópicas más resaltantes y propusieron seis fases de madurez gonadal (inmadurez, en desarrollo, maduración incipiente, maduración avanzada, maduración total y desovado). Por su parte, PEIXOTO *et al.* (2011) describieron cuatro fases de madurez gonadal macroscópica con base histológica para *Penaeus paulensis* (inmaduro, en desarrollo, maduro y desovado). Sin embargo, ambos autores no diferenciaron a las hembras adultas de las juveniles, ni la fase de recuperación (la cual indica el fin de la actividad reproductiva de cada individuo para ingresar a un periodo de reposo y reinicio posterior de la actividad reproductiva, completando así su ciclo reproductivo). En el presente estudio se propone una escala de madurez gonadal macroscópica de seis fases basada en las identificaciones histológicas (virginal, reposo, en maduración, maduro, desovado y recuperación) la que diferencia y separa en su descripción a las hembras inmaduras o virginales de las adultas en reposo, así como a las que se encuentran en fase de recuperación. Como resultado de este trabajo, también se observó, en un mismo ovario, presencia de ovocitos en diferentes grados de desarrollo lo cual evidencia que *L. vannamei* es una especie con maduración gonadal asincrónica y reproducción parcial.

La escala de madurez gonadal propuesta para *L. vannamei* que ha sido validada microscópicamente es una herramienta práctica y de fácil uso para realizar lecturas macroscópicas (a simple vista) más precisas de sus distintas fases de madurez gonadal, por lo que se convertirá en una herramienta práctica y de fácil uso en campo; además, permitirá obtener resultados más exactos para la estimación de índices reproductivos, favoreciendo a las medidas de protección tales como veda reproductiva y talla mínima de extracción.

PÉREZ *et al.* (1979) conducted a histological study on the gonads of *Litopenaeus occidentalis* and *L. stylirostris*, finding similarities in their ovarian development. These authors described the most noticeable microscopic and macroscopic characteristics and proposed six gonadal maturity stages (immature, developing, incipient maturation, advanced maturation, complete maturation, and spawning). On the other hand, PEIXOTO *et al.* (2011) described four macroscopic gonadal maturity stages based on histology for *Penaeus paulensis* (immature, developing, mature, and spawning). Nevertheless, both sets of authors did not differentiate between adult and juvenile females, nor did they include the recovery stage (which indicates the end of reproductive activity for each individual, entering a period of rest before restarting reproductive activity, thus completing their reproductive cycle). This study proposes a six-stage macroscopic gonadal maturity scale based on histological identifications (virginal, resting, maturing, mature, spawned, and recovery), which differentiates and separates immature or virginal females from resting adults, as well as those in the recovery stage. As a result of this work, it was also observed, within the same ovary, the presence of oocytes in different stages of development, evidencing that *L. vannamei* is a species with asynchronous gonadal maturation and partial reproduction.

Our proposed gonadal maturity scale for *L. vannamei*, which has been validated microscopically, is a practical and user-friendly tool for more precise macroscopic (visible) readings of its various gonadal maturity phases. Hence, it will become a practical and easy-to-use tool in the field. Furthermore, it will lead to more accurate estimations of reproductive indices, favoring protective measures such as reproductive bans and minimum extraction sizes.

## 5. CONCLUSIONES

Se proponen seis fases de madurez gonadal para hembras de *Litopenaeus vannamei*, con base en estudios histológicos, las mismas que, según su descripción, son fáciles de diferenciar, siendo este un primer aporte en el tema para la especie en la Región Tumbes. Macroscópicamente, se describen detalladamente los cambios morfológicos y de coloración de las gónadas. Microscópicamente, se determinó el grado de desarrollo de los ovocitos y su presencia en cada fase de madurez, lo que permitió determinar que *Litopenaeus vannamei* es un desovador parcial asincrónico. En la presente escala propuesta se describe y agrupa a los ovarios translúcidos en dos fases de madurez (virginal y reposo) según sus características, además de incorporar la fase en recuperación.

### Agradecimientos

A Manuel Cobeñas por su valioso apoyo en los muestreos en laboratorio, en la colección y procesamiento histológico de gónadas hasta su observación al microscopio y aportes bibliográficos para redacción del presente artículo. A Mervin Guevara por las facilidades brindadas para la recolección de información y muestras a analizar.

## 5. CONCLUSIONS

Six gonadal maturity stages are proposed for *Litopenaeus vannamei* females based on histological studies, which, according to their description, are easily distinguishable. This represents an initial contribution to the topic for the species in the Tumbes Region. Morphological and color changes in the gonads are detailed at the macroscopic level. Microscopically, the degree of oocyte development and their presence in each maturity stage was determined, allowing the determination that *Litopenaeus vannamei* is an asynchronous partial spawner. The proposed scale describes and groups translucent ovaries into two maturity stages (virginal and resting) based on their characteristics, as well as incorporating the recovery stage.

### Acknowledgments

The authors would like to thank Manuel Cobeñas for his valuable support in laboratory samplings, collection, histological processing of gonads up to their microscope observation, and bibliographic contributions to drafting this paper. Also, they express their gratitude to Mervin Guevara for facilitating the collection of information and samples for analysis.

## 6. REFERENCIAS

- ALVARADO, D. P. (2005). *Período reproductivo del camarón café Farfantepenaeus californiensis (Holmes, 1900) en el litoral de Agiampo, Sonora-Sinaloa, México* [Tesis de Maestría en Ciencias]. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. <http://dSPACE.cibnor.mx:8080/handle/123456789/95>
- BUITRÓN, B., PEREA, A., MORI, J., SÁNCHEZ, J., ROQUE, C., CASTILLO, J. & GÁLVEZ, M. A. (2015). Madurez gonadal de algunos peces de importancia comercial: Escalas macroscópicas validadas microscópicamente. *Bol Inst Mar Perú* 30(1-2), 3-9. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/2935>
- ESPIÑOZA, E., ALEMÁN, S., RAMÍREZ, P. & CASTILLO, G. (2016). Protocolo para muestreo biológico y biométrico de crustáceos marinos. *Inf Inst Mar Perú*, 43(4), 402-424. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3126>
- FLORES, S. A. & HIRT, L. M. (1999). Biología reproductiva de las hembras de *Hemiodus orthonops* (Eigmann y Kenedy, 1909) (Pisces, Hemiodidae). *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 25, 111-120. <https://institutodepesca.org/index.php/bip/article/view/655>
- GARCÍA, S. & LE RESTE, L. (1986). *Ciclos vitales, dinámica, explotación y ordenación de las poblaciones de camarones peneidos costeros* (Documento Técnico de Pesca N° 203). FAO.
- HUMASON, G. L. (1979). *Animal tissue techniques* (4° ed.). W. H. Freeman and Company.
- HUNTER, J. R. & MACEWICZ, B. J. (1985). Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. In R. Lasker (Ed.), *An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: Application to the northern anchovy, Engraulis mordax*, (pp. 79-94). NOAA. <https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/5695>
- LLANOS, J., INGA, C., ORDINOLA, E. & RUJEL, J. (2010). Investigaciones biológico pesqueras en la Región Tumbes, Perú. 1996-2005. *Inf Inst Mar Perú*, 37(3-4), 95-113. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/2007>
- MÉNDEZ, M. (1981). Claves de identificación y distribución de los langostinos y camarones (Crustacea: Decapoda) de mar y ríos de la costa del Perú. *Bol Inst Mar Perú*, 5(1), 1-170. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/1028>
- ORDINOLA, E., INGA, C. & ALEMÁN, S. (2008). Un estudio sobre langostinos (Penaeoidea) en Caleta La Cruz, Tumbes. Febrero-Junio 2003. *Inf Inst Mar Perú*, 35(3), 231-240. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/1973>

- PEIXOTO, S., WASIELESKY, W. & CAVALLI, R. O. (2011). Broodstock maturation and reproduction of the indigenous pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in Brazil: An updated review on research and development. *Aquaculture*, 315(1-2), 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.04.009>
- PÉREZ FERRO, D. G. & PARAMO GRANADOS, J. E. (2014). Estadios de madurez del camarón rosado *Farfantepenaeus notialis* (Penaeidae) en el caribe colombiano. *Acta biológica colombiana*, 19(2), 185-194. <https://doi.org/10.15446/abc.v19n2.39838>
- PÉREZ CERQUERA, O., QUIROZ MERCADO, C. & VIACA VA CAMPOS, M. (1979). Avances en el estudio de la reproducción del langostino (Género *Penaeus*). *Inf Inst Mar Perú*, (73), 1-29. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/298>
- RUÍZ, A. E. & MENDIA, L. F. (2008). Observaciones morfológicas y reproductivas en el langostino *Pleoticus muelleri* Bate, 1888 procedente de embarcaciones comerciales del puerto Rawson, Argentina. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(3), 675-680. <https://www.scielo.cl/pdf/revbiolmar/v43n3/art26.pdf>
- SCELZO, M. A. (2016). Biología reproductiva del langostino y del camarón de las aguas marinas argentinas. En E. E. Boschi (Ed.), *El Mar Argentino y sus recursos pesqueros. Tomo 6: Los crustáceos de interés pesquero y otras especies relevantes en los ecosistemas marinos* (pp. 71-88). Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero. <http://hdl.handle.net/1834/14368>
- TRESIERRA AGUILAR, A. E., CULQUICHICÓN MALPICA, Z. G. & VENEROS URBINA, B. (2002). *Biología reproductiva en peces*. Nuevo Norte S. A.
- WEST, G. (1990). Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 41(2), 199-222. <https://doi.org/10.1071/MF9900199>