

## Efectos de la incorporación en la dieta de pigmentos carotenoides, sobre el desarrollo gonadal y la madurez de los ovocitos en hembras de trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum, 1972)

Genoveva Ingle de la Mora<sup>1</sup>, J. L. Arredondo-Figueroa<sup>2</sup>, Irene de los Angeles Barriga-Sosa<sup>2</sup>, J. Bazán-Arias<sup>2</sup> y J. Vernon-Carter<sup>3</sup>

Instituto Nacional de la Pesca, Dirección General de Investigación en Acuicultura, México<sup>1</sup>  
Planta Experimental de Producción Acuícola, Depto. de Hidrobiología, División de CBS, UAM Iztapalapa, México, D.F.<sup>2</sup>  
Depto. Ingeniería y Procesos Hidráulicos, División de CBI, UAM Iztapalapa, México<sup>3</sup>

**RESUMEN.** Se utilizaron cuatro grupos experimentales con 60 hembras de trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*) cada uno, con un peso promedio de 467 g, las cuales fueron sometidas a un ensayo aleatorio para comparar la eficiencia de cuatro dietas conteniendo diferentes concentraciones de pigmentos carotenoides y determinar si la concentración y el origen del mismo presentaba una influencia sobre el desarrollo gonadal y la maduración de los ovocitos. La primera dieta fue una dieta control no pigmentada (C); la segunda contenía 100 mg kg<sup>-1</sup> de Carofil Rosa (CR); la tercera y cuarta contenía 200 (CR200) y 250 (CR250) mg kg<sup>-1</sup> de oleoresina saponificada de chile rojo (*Capsicum annum*), respectivamente. Los resultados mostraron que existieron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las dietas C y CR250 con respecto al índice gonadosomático (IGS), peso promedio de la gónada (PG) y el diámetro de los ovocitos (DO), presentando la última dieta los valores más altos de estos factores. Los tratamientos de CP y CR200 presentaron valores similares. Al final del experimento solamente se observó el 10% de ovocitos maduros en la dieta CR250.

**Palabras clave:** Oleoresina saponificada de chile rojo, pigmentos carotenoides, desarrollo gonadal, maduración de ovocitos, trucha arco iris.

**SUMMARY.** Effects of the dietary incorporation of carotenoid pigments on gonad development and oocyte maturity in females of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1972). Four groups of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) each with 60 females with an average body weight of 467 g were submitted to an aleatory assay in order to compare the efficiency of four diets containing different concentrations of carotenoid pigments, and to determine if pigment concentration and source had an influence on female gonad development and oocyte maturity. The first diet was the non-pigmented control (C). The second diet contained 100 mg kg<sup>-1</sup> of Carophyll Pink (CR). The third and fourth diets contained 200 (RC200) and 250 (RC250) mg kg<sup>-1</sup> of saponified red chili oleoresin, respectively. The results indicated significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between C and RC250, with respect to the gonado-somatic index (IGS), average gonad weight (PG) and average diameter of oocyte (DO), with CR250 showing higher IGS, PG and DO values. Treatments CR and CR200 presented similar values. At the end of the experimental period, only 10% of oocytes were mature in the RC250 diet.

**Key words:** Saponified red chili oleoresin, carotenoid pigments, gonad development, oocyte maturity, rainbow trout.

### INTRODUCCION

Durante los últimos años, se ha incrementado notablemente el uso de pigmentos carotenoides en el cultivo de la trucha arco iris y el salmón, debido a que estos producen un atractivo color en el músculo, que incrementa su aceptación por los consumidores y resulta en un incremento de hasta el 30% de su valor económico. Los Salmónidos no son capaces de sintetizar *de novo* estos pigmentos, por lo que resulta necesario incorporarlos en el alimento balanceado durante su proceso de cultivo.

La depositación de los pigmentos carotenoides en los Salmónidos no es constante a lo largo de su ciclo de vida, ya

que varía de acuerdo a la edad, la época del año y el estado de madurez (1,2). Los pigmentos agregados en las dietas balanceadas, no necesariamente son fijados en el tejido muscular del pez, sino que también se concentran a través de diferentes rutas metabólicas en otros tejidos, especialmente en la piel y en las gónadas (3,4). La maduración sexual de los peces Salmónidos, esta asociada a un periodo inicial de rápido crecimiento, seguido por un intenso desarrollo de las gónadas, un descenso en la tasa de crecimiento y una disminución marcada en el consumo de alimento previo a la reproducción (5,6). Durante la madurez sexual, las truchas muestran bajas concentraciones de carotenoides en el tejido muscular, debido a que éstos pigmentos se distribuyen a otros

órganos y tejidos, así por ejemplo, la astaxantina se mueve del tejido muscular y se acumula en las gónadas en el caso de las hembras y en la piel en el caso de los machos (7-10). Se ha visto que durante la maduración sexual, cantidades considerables de pigmentos carotenoides son transportados a los ovocitos en donde es posible registrar hasta el 18% del total de carotenoides, que es similar a la encontrada en el tejido muscular (2). Se ha sugerido que la derivación de los carotenoides a las gónadas, esta relacionado con los procesos de maduración y fertilización de los óvulos maduros. De acuerdo con esta información, los pigmentos carotenoides juegan un papel destacado en los procesos de maduración de las gónadas y de los ovocitos, así como en el desarrollo embrionario y la sobrevivencia de los alevines en los Salmónidos en general.

En relación a los pigmentos naturales como aquellos obtenidos del Chile rojo (*Capsicum annuum*), actualmente no existen estudios acerca de sus efectos sobre el desarrollo gonadal en las especies de Salmónidos y mucho menos de las vías metabólicas utilizadas por la capsantina (el principal pigmento carotenoides del Chile rojo), aunque se puede asumir, que probablemente las vías metabólicas son similares a la astaxantina sintética, aunque su efecto sobre el desarrollo gonadal y en particular sobre los ovocitos no esta bien definido.

El objetivo del presente trabajo, consistió en investigar la influencia de los pigmentos carotenoides como la astaxantina sintética y la capsantina incluida en la oleoresina saponificada del Chile rojo (*Capsicum annuum*), sobre el desarrollo de las gónadas y la maduración de los ovocitos, en hembras de trucha arco iris de primera reproducción, bajo condiciones de cultivo.

## MATERIALES Y METODOS

### Preparación de las dietas

Las dietas experimentales, fueron asignadas de manera aleatoria y consistieron en una dieta control (C) sin ningún pigmento, la dieta de Carofil rosa (CR), que incluyó el pigmento sintético Carofil Rosa y dos dietas con extracto de oleoresina saponificada de Chile rojo (*Capsicum annuum*) (CR200 y CR250), (Tabla 1). Las dietas experimentales se prepararon utilizando una dieta basal para engorde de trucha arco iris, elaborada por la Empresa Alimentos Balanceados Almazán (bajo Licencia de Silver Cup, USA), la cual contenía  $40.6 \pm 0.12\%$  de proteína cruda,  $18.8 \pm 0.02\%$  de lípidos y  $1.1 \pm 0.11\%$  de fibra cruda. A esta dieta se le añadió el aceite de pescado y los pigmento carotenoides. Posteriormente, se colocó en un molino para obtener "pellets" de 8 mm de diámetro, los que fueron secados durante 12 horas a  $45^\circ\text{C}$  y después de esto, se mantuvieron almacenados en bolsas plásticas negras en refrigeración a  $4^\circ\text{C}$  hasta su uso.

TABLA 1  
Tipos y concentración de pigmentos utilizados en las dietas experimentales

Dietas	Pigmentos	Concentración (miligramos por kilogramo de alimento)
C	Sin pigmento	5
CR <sup>(1)</sup>	Carofil rosa	100
CR200 <sup>(2)</sup>	Extracto de oleoresina saponificada de Chile rojo	200
CR250 <sup>(2)</sup>	Extracto de oleoresina saponificada de Chile rojo	250

Dietas: Control (C); Carofil rosa (CR); CR200 (Chile rojo 200); CR250 (Chile rojo 250).

<sup>(1)</sup> Carofil rosa: contiene 8% de astaxantina (Hoffman-La Roche, Basel, Suiza).

<sup>(2)</sup> Florafil R-3 líquido (Prodemex, SA de CV, Sonora, México). Extracto saponificado de harina de Chile rojo (*Capsicum annuum*), emulsificado, estabilizado con antioxidantes y dispersado en agua. Partición relativa por cromatografía: Total de dihidroxipigmentos rojos 40-45%; Dihidroxicapsantina 35-45%; Dihidroxicapsorubina 0.5-2%; Dihidroxiluteína 1-8%; Dihidroxizeaxantina 1-8%; Total de carotenoides 10-20%.

### Procedimiento experimental

Se utilizaron doscientos cuarenta hembras de trucha arco iris con un peso promedio de  $476 \pm 63.5$  g y nueve meses de edad, las cuales fueron separadas en cuatro grupos experimentales de 60 peces cada uno. Las truchas fueron introducidas en estanques circulares de 4,000 litros cada uno, conectados a un sistema cerrado de recirculación y reacondicionamiento de agua. Las truchas fueron climatizadas por un periodo de 20 días previo al experimento, con el objetivo de estandarizar el peso total promedio del grupo y el experimento tuvo una duración de 45 días. Las truchas fueron alimentadas dos veces al día, con el 15% de su peso vivo. La biomasa para cada grupo experimental fue registrada cada 15 días y sirvió para ajustar la entrega de las cinco dietas.

Se registraron los siguientes parámetros de calidad del agua: temperatura del agua y concentración de oxígeno disuelto, mediante un oxímetro YSI modelo 57 (Yellow Springs Instrument Company, Yellow Spring, Ohio, USA) y pH con un potenciómetro digital marca Orion, modelo 410A. Nitrógeno amoniacal total (NAT), amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ), nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ) y nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ), con un equipo Hach 2000/DR (Hach Company, Loveland, Co. USA).

### Determinación de los estados de maduración de las gónadas y los ovocitos

Cada 15 días, se sacrificaron aleatoriamente 20 peces de cada grupo y se registró la longitud total en centímetros (LT),

peso total en gramos (PT) y el peso de la gónada en gramos (PG). El índice gonadosomático (IGS) fue estimado de acuerdo con el criterio de Rossemblum y colaboradores (11), mediante la fórmula siguiente:

$$\text{IGS} = (\text{Pg/Pt}) * 100$$

Donde:

IGS = Índice gonadosomático del pez.

Pg = Peso de las gónadas (g).

Pt = Peso total (g).

Ocho pares de gónadas de cada grupo experimental fueron seleccionadas aleatoriamente y fijadas en formol al 10%. De cada gónada se tomaron 100 ovocitos, los cuales se observaron al microscopio óptico (Kart Zeiss Company) y se midieron con oculares micrométricos de 10x, 16x, 40x y 100x, y se obtuvo el diámetro promedio de los ovocitos (DO). Para determinar el grado de desarrollo de los ovocitos, éstos fueron sumergidos en una solución aclaradora (12) y se clasificaron de acuerdo a la escala de madurez de Tyler y colaboradores (5), quienes consideran cinco clases de talla de acuerdo a su diámetro: I, formada por ovocitos menores de 0.4 mm; II, de 0.4 a 0.59 mm; III, de 0.6 a 0.79 mm; IV, 0.8 a 0.99 mm y V, de 1.0 a 1.2 mm. Los ovocitos mayores de este diámetro se consideran vitelogénicos y los folículos maduros alcanzan un diámetro promedio de 5 mm.

#### Análisis estadístico

Para determinar si existían diferencias significativas entre los grupos experimentales y los tiempos, con respecto al índice gonadosomático (IGS), el peso promedio de las gónadas (PG) y el diámetro de los ovocitos (DO), se aplicó un Análisis de Varianza de una sola vía y una prueba *a posteriori* de Tuckey HSD, por medio del Programa Statistica (Statsoft Inc., OK, USA).

### RESULTADOS Y DISCUSION

Los parámetros fisicoquímicos registrados a lo largo del periodo experimental se mantuvieron constantes (Tabla 2) y sus promedios indican que las condiciones experimentales fueron adecuadas, permitiendo una buena sobrevivencia y un adecuado crecimiento de las truchas, resultados que están acordes con los reportados por Klontz (13) para el cultivo de la trucha arco iris.

Durante los 45 días experimentales, no se registró mortalidad y el incremento de peso diario fue satisfactorio, siendo de 5.6 y 5.0 gramos /día en promedio para las dietas pigmentadas y control respectivamente. Estos datos confirman que la calidad del agua en el sistema cerrado de recirculación y reacondicionamiento, fue apropiada. Además,

la dieta cubrió adecuadamente los requerimientos nutricionales. Únicamente el amoniaco ( $\text{N-NH}_3$ ) presentó concentraciones altas, que son considerados dentro del rango subletal para la trucha arco iris ( $> 0.05 \text{ mg/L}$ ) Klontz (13); no obstante ello, las hembras de trucha arco iris no mostraron síntomas de intoxicación, ni exhibieron una conducta anormal, ni tampoco presentaron mortalidad.

TABLA 2

Valores promedios de los parámetros fisicoquímicos registrados en los estanques de producción a lo largo del experimento

Dietas	O.D. (mg/L)	Amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) (mg/L)	Nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) (mg/L)	Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) (mg/L)	pH	Temperatura (°C)
C	7.4	0.589	5.36	0.1712	8.5	19.0
CR	7.5	0.573	5.70	0.3000	8.6	19.0
CR200	7.6	0.651	5.83	0.1942	8.6	19.0
CR250	7.2	0.690	5.80	0.0656	8.6	19.0

O.D. = Oxígeno disuelto.

Los valores promedios del índice gonadosomático (IGS) registrados en la dieta control (C), no mostraron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a los tiempos de muestreo, mientras que las dietas CR y CR200, sí mostraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre los 15 y 30 días, pero no entre los 30 y 45 días. En cambio, la dieta CR250, registró diferencias ( $p \leq 0.05$ ) en los tres periodos de muestreo (Tabla 3).

TABLA 3

Índice gonadosomático (IGS) de los tratamientos durante los tres periodos

Tratamiento/Tiempo	C	CR	CR200	CR250
15 días	1.19 <sup>a</sup>	1.24 <sup>a</sup>	1.29 <sup>a</sup>	1.23 <sup>a</sup>
30 días	1.69 <sup>a</sup>	2.46 <sup>b</sup>	2.40 <sup>b</sup>	2.58 <sup>b</sup>
45 días	1.95 <sup>a</sup>	3.69 <sup>bc</sup>	3.65 <sup>bc</sup>	3.99 <sup>bc</sup>

a-c: Las letras diferentes en las columnas, indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los valores promedio y los tiempos de análisis.

El peso promedio de las gónadas (PG), en todas las dietas presentaron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) en relación al tiempo de muestreo, excepto a los 15 días donde no hubo diferencias significativas entre las dietas; a los 30 días la dieta C fue significativamente menor a las otras dietas y a los 45 días, la dieta C fue también menor a las otras dietas. Las dietas CR y

CR200 no presentaron diferencias significativas entre ellas a los 30 y a los 45 días. La dieta CR250, fue la que presentó los mayores valores promedios del PG siendo significativamente mayor a las restantes dietas (Tabla 4).

TABLA 4

Peso promedio de las gónadas (PG), entre los tratamientos y los tiempos

Tratamientos/Tiempo	C	CR	CR200	CR250
15 días	0.18 <sup>a,A</sup>	0.19 <sup>a,A</sup>	0.21 <sup>a,A</sup>	0.46 <sup>a,A</sup>
30 días	0.48 <sup>b,A</sup>	3.69 <sup>b,B</sup>	4.99 <sup>b,B</sup>	6.33 <sup>b,BC</sup>
45 días	2.04 <sup>c,A</sup>	6.21 <sup>c,B</sup>	7.42 <sup>c,B</sup>	11.97 <sup>c,C</sup>

a-c: Letras diferentes en las columnas, indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los tiempos.

A-C: Letras diferentes en las filas, indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre las dietas.

El diámetro promedio de los ovocitos (DO), mostraron que la única dieta que no presentó diferencias significativas en los tiempos de muestreo fue la dieta control y su fase de desarrollo no pasó de I. Las demás dietas, sí presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), exhibiendo diferentes fases de desarrollo de los ovocitos en el transcurso del ensayo. En particular, la dieta CR250 presentó los valores promedios más altos de DO y cambios en las fases de desarrollo de los ovocitos en los tres tiempos. A los 15 días del experimento, no se observaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre las distintas dietas y los cambios se produjeron entre los 30 y 45 días del experimento respectivamente, siendo más evidentes en este último periodo (Tabla 5).

TABLA 5

Diámetro promedio de los ovocitos (DO) y su fase de desarrollo, registrada en los tres periodos en las distintas dietas (mm)

Tratamiento/ tiempo	C	CR	CR200	CR250
15 días	I 0.19 <sup>a,A</sup>	I 0.22 <sup>a,A</sup>	I 0.21 <sup>a,A</sup>	I 0.22 <sup>a,A</sup>
30 días	I 0.26 <sup>a,A</sup>	II 0.46 <sup>b,B</sup>	II 0.60 <sup>b,B</sup>	III 0.68 <sup>b,BC</sup>
45 días	I 0.60 <sup>a,A</sup>	V 1.95 <sup>c,B</sup>	V 1.86 <sup>c,B</sup>	V 2.89 <sup>c,C</sup>

a-c: Letras diferentes en las columnas, indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los tiempos.

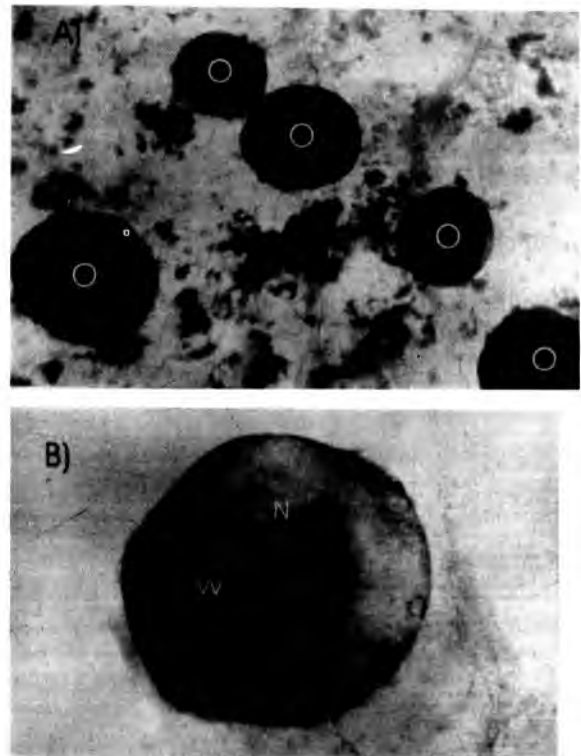
A-C: Letras diferentes en las filas, indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las dietas.

El análisis morfológico de los ovocitos de las diferentes dietas, mostró a los 15 días un desarrollo homogéneo en cuanto a su diámetro y estructura interna, exhibiendo un

proceso previtelogénico, con un núcleo grande y central que ocupaba la mayoría del espacio interno. Después de los 30 días, los ovocitos mostraron un considerable incremento en tamaño en las dietas CR, CR200 y CR250. En este periodo, los ovocitos presentaron vesículas vitelinas en la mayor parte del citoplasma, un núcleo esférico con varios nucleolos en la periferia. Hacia el final de la vitelogenénesis tardía, el núcleo presentó una forma oval (Figura 1).

FIGURA 1

A) Ovocitos (O) en las fases I, II y III ( $\Phi$  0.2 a 0.6 mm).  
B) Ovocito en la fase V ( $\Phi$  2.9 mm), que muestran un vitelogenénesis tardía, con una gran cantidad de vesículas vitelinas (Vv) y un núcleo oval (N)



A los 45 días, las gónadas presentaron ovocitos bien zonificados, con diferentes diámetros y estados de desarrollo. Los ovocitos en la parte central de la gónada mostraron diámetros más grandes y un mayor desarrollo. Se observaron diferencias entre las dietas C y CR250. La primera mostró el 97% de los ovocitos con diámetros reducidos y sin evidencia de vesículas vitelinas. En contraste, en la última dieta el 10% de los ovocitos mostró evidencias de una vesícula germinal desplazada hacia la periferia, lo que significó la presencia de folículos totalmente maduros. Las dietas CR y CR200, mostraron características similares, presentando ovocitos de un mayor tamaño, con grandes cantidades de vesículas vitelinas, aunque la vesícula germinal se mantuvo en una posición central.

Los resultados del IGS, PG y DO, señalan que el crecimiento de las gónadas a lo largo del experimento fue diferente en cada tratamiento y que los efectos de los pigmentos astaxantina y el extracto de la oleorresina saponificada de Chile rojo, fueron evidentes sobre el desarrollo de las gónadas. Debido a que no se observaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre la ganancia de peso diario en los tratamientos, las diferencias observadas en el desarrollo gonadal no pueden ser atribuidas a la dieta. En este sentido, se estima que las diferencias exhibidas por estos indicadores son debidas principalmente a la concentración y al origen de los pigmentos carotenoides incorporados en la dieta. El mayor desarrollo de las gónadas y de los ovocitos, fue observado en la dieta CR250 y el más bajo en la dieta control.

Los resultados obtenidos en este trabajo, confirman que los pigmentos carotenoides sintéticos y naturales, fueron redistribuidos y acumulados durante el desarrollo de las gónadas, siendo transportados por la sangre y acumuladas en las gónadas (4-10,14). A pesar del grado de desarrollo alcanzado por los ovocitos en la dieta CR250, el 90% de ellos fueron inmaduros, lo cual pudo deberse a que las hembras utilizadas en este experimento, todavía no alcanzaban su madurez sexual ya que la temperatura del agua a lo largo del experimento fue en promedio de 19 °C. Generalmente, las hembras de trucha arco iris alcanzan su primera madurez sexual al año o a los dos años de edad y la temperatura óptima del agua para la reproducción fluctúa entre los 5.5 a 8 °C (15). En nuestro caso particular, estas dos condiciones no se cumplieron. Sin embargo, la influencia directa de los pigmentos utilizados en este experimento sobre la maduración de las gónadas fue evidente. Hasta el momento, la única información disponible sobre el efecto de los pigmentos sobre la maduración de las gónadas, es mediante el uso de pigmentos sintéticos tales como la astaxantina y cantaxantina (16-19) y queda aún mucho que aprender, sobre los efectos en la maduración gonadal de los pigmentos naturales como la capsantina, que es el componente más importante de extracto de oleorresina saponificada de Chile rojo (*Capsicum annuum*).

La evidente relación lineal, encontrada en este estudio entre los pigmentos carotenoides y el desarrollo de las gónadas y los ovocitos, indica el papel fundamental que representan éstos durante el proceso de desarrollo gonadal, sin embargo, es necesario realizar investigaciones más detalladas, que permitan conocer más a fondo los mecanismos de transporte y las vías metabólicas de la capsantina, así como encontrar la concentración óptima del pigmento para promover el desarrollo gonadal de las hembras de trucha arco iris. Este último aspecto, es de importancia práctica, ya que permitiría mejorar la producción masiva de alevines y crías en las granjas productoras de trucha arco iris; con lo cual se mejoraría la rentabilidad económica.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de la tesis Doctoral del primer autor, en el Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. La parte experimental del mismo fue realizada gracias al apoyo económico de la Empresa Productos Deshidratados de México, S.C. y del Consejo Divisional de la División de CBS, de la UAM Iztapalapa. Deseamos expresar nuestro agradecimiento a los alumnos de la Licenciatura en Ingeniería Bioquímica Diana F. Rodríguez Hernández, Tania A. Romero Hernández y a los alumnos de la Licenciatura en Hidrobiología Felicitas Sosa Lima y Alejandro Zugasti Cruz, por el apoyo que nos brindaron para la realización de este experimento.

## REFERENCIAS

1. Choubert G. Pigments carotenoids et reproduction des poissons. Bull Fr Peche Piscic 1986;300: 25-32.
2. Bjerken B, Storebakken T, Liaaen-Jensen S. Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation. Aquaculture 1992;108: 333-346.
3. Choubert G, Blanc J, M. Dynamics of dietary canthaxanthin utilization in sexually maturing female rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) compared to triploids. Aquaculture 1989; 83: 359-366.
4. Torrison O, J. Pigmentation of salmonids: interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout. Aquaculture 1989; 79: 363-374.
5. Tyler C, R, Sumpter J, P, Campbell P, M. Uptake of vitellogenin into oocytes during early vitellogenic development in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J Fish Biol 1991;38: 681-689.
6. Tyler C, R, Pottinger T, G, Santos E, Sumpter J, P, Price S, A, Brooks S, Magler, J, J. Mechanism controlling egg size and number in the rainbow trout. Biol of Reprod. 1996;54: 8-15.
7. Steven D, M. Studies on animal carotenoids. II. Carotenoids in the reproductive cycle of the brown trout. J Exp Biol 1949;26: 295-303.
8. Crozier G, F. Tissue carotenoids in prespawning and spawning sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerka*). J Fish Res Board Can 1970;27: 973-975.
9. Kitahara T. Behaviour of carotenoids in the chum salmon (*Oncorhynchus keta*) during anadromous migration. Comp Biochem Physiol 1983;76B: 97-101.
10. Ando A, Gjerde B, Roald S, O. Biological, chemical and organoleptic changes during maturation of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture 1986;53: 7-20.
11. Rossemblum M, Pudney J, Callard I. Gonadal morphology enzyme histochemistry and plasma steroid levels during the annual reproductive cycle of male and female brown billhead catfish *Ictalurus nebulosus* Laseuer. J Fish Biol 1987;31: 325-341.

12. Stoeckel J, N, Richard J, N. Comparison of methods for viewing the germinal vesicle in fish oocytes. *The Progressive Fish-Culturist* 1992;54: 115-118.
13. Klontz G, W. Fish for the future: Concepts and methods of intensive aquaculture. College of Forestry, Wildlife and Range Sciences, Idaho Forest, Wildlife and Range Experiment Station. University of Idaho, USA, 1991.
14. Shnarevich I, D, Sakhnenko E, G. Dynamics of carotenoids in tissues and organs of fish relative to the sexual cycle. *Gidrobiol. Zh.* 1971;7: 90-93.
15. Estay F, Díaz N, F, Neira R, Fernández X. Analysis of reproductive performance of rainbow trout in a hatchery in Chile. *The Progr Fish-Cult* 1994;56: 244-249.
16. No H, Storebakken K, T. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin and canthaxanthin in freshwater and saltwater. *Aquaculture* 1992;101: 123-134.
17. Al-Khalifa S, Simpson K, L. Metabolism of astaxanthin in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp Biochem Physiol* 1988; 91 B: 563-68.
18. Guillou A, Choubert G, Storebakken T, De la Noüe J. Bioconversion pathway of astaxanthin into retinol in mature rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Rich.). *Comp Biochem Physiol* 1989;94B: 481-485.
19. No H, Storebakken K, T. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin at different water temperatures. *Aquaculture* 1991;97: 203-216.

Recibido: 11-07-2003

Aceptado: 31-05-2004