

DESARROLLO MORFOLOGICO E HISTOLOGIA DEL DIGESTIVO DE LARVAS DE BAGRE NEGRO, *Rhamdia quelen* (PISCES, PIMELODIDAE)

Lucía Boiani,¹ Martin Bessonart,¹ Nibia Berois² y María Salhi¹

¹Sección Zoología Vertebrados, Facultad de Ciencias, Universidad de la República,
Iguá 4225 CP 11400 Montevideo, Uruguay. boiani@adinet.com.uy

²Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo

RESUMEN

Se describen los principales cambios morfológicos e histológicos a nivel del tubo digestivo que sufren las larvas de bagre negro (*Rhamdia quelen*), así como el crecimiento y la supervivencia en los primeros 15 días tras la eclosión. La supervivencia a los 15 días de eclosionar fue de 76.4±6.8 %.

Las larvas crecieron un 205% respecto a su longitud total en 15 días. A partir del día cinco se observó una disminución en la tasa de crecimiento coincidiendo con el comienzo la alimentación exógena, lo que podría indicar que el tipo de alimento proporcionado (alimento inerte y nauplios de *Artemia*) y/o la cantidad suministrada no sean tan adecuados como las propias reservas vitelinas. Pocos días luego de comenzar a alimentarse por si mismas, las larvas atraviesan una serie de cambios morfológicos, diferenciación de aletas y bigotes, desarrollo de vejiga natatoria, etc., que les permiten capturar su alimento. A lo largo del ensayo el tubo digestivo se diferencia en tres sectores, estómago, intestino anterior y posterior, similares a los descritos para otras especies. Al finalizar el ensayo el estómago no era funcional, careciendo aún de glándulas gástricas. El hígado y páncreas se encontraban diferenciados al momento de la apertura de la boca. Luego de 15 días las larvas de bagre negro no habrían finalizado aún su transformación en alevines, careciendo aún de aletas impares diferenciadas.

PALABRAS CLAVE: *Rhamdia quelen* larvas, crecimiento, tubo digestivo, cambios morfológicos

ABSTRACT

Morphologic and histological development of the digestive tract of black catfish larvae, *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae)

In this paper we describe the most important morphological and histological changes of the digestive tract of black catfish (*Rhamdia quelen*) larvae, as well as their growth and survival during the first 15 days after hatching. Survival on the 15th day after hatching was 76.4±6.8 %. Larvae grew 205 % of their total length in 15 days. A reduction in the growth rate was observed from fifth day, coincident with the beginning of the exogenous feeding. This could suggests that the food and/or the quantity of the food was not as adequated as the yolk. Few days after the beginning of the exogenous feeding the larvae went through many morphological changes, including fin and barbels differentiation, gas bladder development, etc., that allows them to catch their food. During the essay the digestive tract was differentiated into three portions, stomach, foregut and hindgut, similar to that described for other species. At the end of the essay the stomach was still not functional, lacking of gastric glands. Liver and pancreas were differentiated when the larvae opened the mouth. After 15 days black catfish larvae did not finish the transformation into fingerlings, still lacking differentiated paired fins.

KEYWORDS: *Rhamdia quelen*, larvae, growth, digestive tube, morphological changes

INTRODUCCIÓN

Al eclosionar, las larvas de peces pasan por una primera etapa de alimentación endógena o fase lecitotrófica, en la cual obtienen su alimento del saco vitelino. Luego, tras la apertura de la boca, pasan a una fase de alimentación exógena. Salvo en salmónidos y algunos pocos peces de agua dulce como el pez gato americano o bagre de canal, *Ictalurus punctatus* (Lovell, 1977), las larvas de peces dependen del alimento vivo durante las primeras fases de vida (Stickney, 1979) y su cultivo ha sido posible gracias al cultivo de presas vivas, principalmente rotíferos (*Brachionus plicatilis*) (Watanabe *et al.*, 1983) y a la utilización de nauplios y metanauplios de *Artemia* (Leger *et al.*, 1986). Sin embargo el alimento vivo presenta una serie de desventajas, como la dificultad de su obtención, necesidad de un control sanitario, composición variable pudiendo no satisfacer los requerimientos nutricionales de la especie y por último, supone un gasto extra en energía y mano de obra. Por otro lado es posible utilizar alimento inerte (ración microparticulada balanceada o microdieta), evitando los inconvenientes de las presas vivas. No obstante, no siempre se alcanzan los mismos resultados que con el alimento vivo (Gatesoupe *et al.*, 1977). Esto se debe en parte al desconocimiento de los requerimientos de algunos nutrientes para la mayoría de especies. Por otra parte, las microdietas utilizadas tienen que adaptarse a la capacidad digestiva de las larvas a lo largo del desarrollo, ya que el tubo digestivo en larvas de peces es morfológica, histológica y fisiológicamente menos desarrollado que el de los adultos (Govoni *et al.*, 1986).

El bagre negro o bagre sudamericano, *Rhamdia quelen* (Siluriforme, Pimelodidae), se investiga en nuestro país con fines productivos (Varela *et al.* 1982a, b y c; Salhi y Bessonart, 2000; Salhi *et al.*, 2001, 2004, Bessonart *et al.*, 2001).

Esta especie produce miles de huevos (más de 100.000 por kg de peso de hembra) de pequeño tamaño de los cuales eclosionan larvas con muy poco vitelo, requiriendo alimento a muy temprana edad, normalmente a partir del tercer o cuarto día de vida (Luchini, 1990).

Al igual que otras especies, durante su desarrollo las larvas de bagre atraviesan una etapa crítica en el momento en que la larva agota su saco vitelino y comienza la alimentación exógena, etapa en la que se dan altos niveles de mortandad (De Silva y Anderson, 1998).

Para poder desarrollar una alimentación adecuada para cada especie y fase larvaria, que permita una producción exitosa, se considera de gran importancia el conocimiento de la morfología y desarrollo de las larvas de peces, en particular de su sistema digestivo.

Con el fin de estudiar el desarrollo larvario del bagre negro, se realizó un ensayo en laboratorio de cultivo de larvas de esta especie en el que se estudió el crecimiento y la supervivencia, describiéndose los cambios morfológicos observados a lo largo del tiempo. Asimismo, se realizó un estudio de las principales características observadas a nivel histológico del tracto digestivo y sus variaciones durante los primeros 15 días de vida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los huevos de *R. quelen* provenían del Centro de Investigaciones Pesqueras y Piscicultura de la DINARA en Villa Constitución (Salto). La puesta fue obtenida por inducción hormonal de una hembra y fecundación natural por un solo macho. La eclosión y el desarrollo larvario tuvo lugar en la Sección Zoología Vertebrados de Facultad de Ciencias.

Se tomaron medidas de tres muestras de huevos así como de sus correspondientes embriones utilizando una lupa provista de un micrómetro ocular ($d = 0.5\text{mm}$).

Para estimar los parámetros de crecimiento y supervivencia se sembraron por triplicado larvas recién eclosionadas en peceras de vidrio de tres litros a una densidad de 83 ind./l. Para referir el crecimiento se tomó como día cero el día de la eclosión.

Se sembró también un control en un recipiente de 45 litros con una densidad en torno a 150 ind./l. De allí se tomaron muestras para el estudio morfológico e histológico así como para el análisis del crecimiento diario.

Todas las instalaciones contaron con aireación para mantener los niveles de oxígeno y se limpiaron diariamente para preservar la calidad de agua. Se recambió diariamente el 65% del volumen con agua previamente declorinizada.

A partir del día 2 se proporcionó a las larvas yema de huevo cocido y leche descremada en polvo en una proporción de 1:1, dos veces por día.

Las larvas se revisaron periódicamente para observar el momento de la primera ingestión de alimento.

A partir del sexto día las larvas fueron alimentadas con nauplios de *Artemia* (500 nauplios/l) en dos tomas diarias. Se comenzó la alimentación con nauplios de *Artemia* a partir del momento en que se observó bajo lupa que las larvas tenían ya un tamaño de boca suficiente para poder ingerirlos.

La supervivencia larvaria se determinó por conteo del total de individuos en cada pecera al final del ensayo (día 15). El crecimiento se determinó mediante medidas de longitud total de 30 larvas al principio del ensayo y de 90 larvas (30 de cada una de las peceras) al final del mismo.

Del control se tomaron muestras de larvas ($n = 30$) a diario para estudiar cambios morfológicos (apertura de boca, aparición de aletas, etc.) y se midió longitud total, preanal y cefálica, para analizar la evolución del crecimiento. También se midió la altura y la longitud del saco vitelino mientras estuvo presente. Asimismo, se tomaron a lo largo del ensayo muestras de 30 larvas por día para el estudio histológico.

Las medidas de las larvas se tomaron usando una lupa provista de un micrómetro ocular ($d = 0.5\text{ mm}$) tras anestesarlas con 2-fenoxietanol.

La tasa de crecimiento diario (SGR) se calculó según la expresión:

$$\text{SGR (\%)} = ((\ln \text{LT final} - \ln \text{LT inicial}) / \text{número de días}) \times 100.$$

Una vez medidas, las larvas se fijaron en formaldehído al 4% tamponado ($\text{pH} = 7.6$) para su observación morfológica. Se tomaron larvas recién eclosionadas, de 3, 7 y 14 días de edad para al estudio histológico, se fijaron del mismo modo que las anteriores aunque minimizando la manipulación, luego fueron transferidas a una solución Bouin (1 hora), deshidratadas e incluidas en parafina. Los cortes longitudinales de 8.0 micras de espesor se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (Lillie, 1965).

RESULTADOS

La temperatura del agua durante el ensayo osciló entre 19 y 22.5 °C.

Las medidas iniciales de los huevos (diámetro mayor del huevo, DMH) y de sus embriones (diámetro del espacio ocupado por el embrión, DE) fueron las siguientes:

$$\text{DMH} = 2.59 \pm 0.14 \text{ mm}, \text{DE} = 1.40 \pm 0.07 \text{ mm} (n = 22)$$

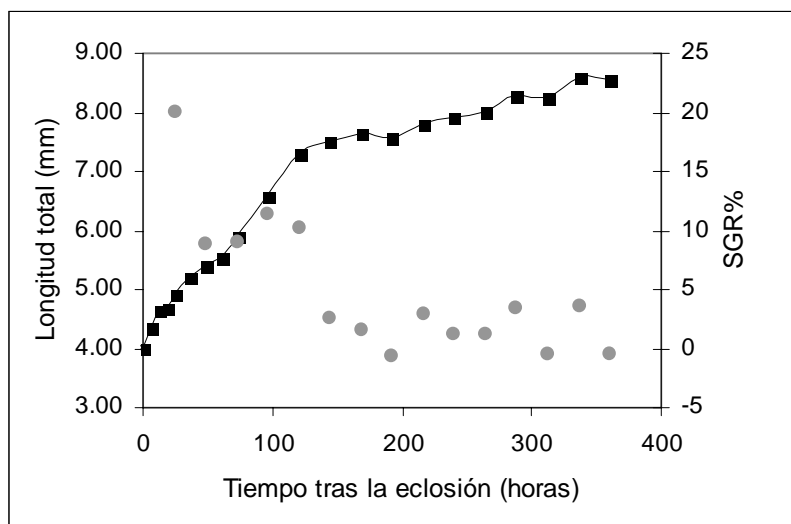


Fig. 1. Longitud total (■) y tasa de crecimiento diario, SGR (●) en función del tiempo.

Supervivencia y crecimiento

A los 15 días, la supervivencia de las larvas sembradas en las peceras fue de $76.4 \pm 6.8 \%$, duplicándose su talla inicial, con una tasa de crecimiento de 205.3% de la longitud total.

La tasa de crecimiento diario (SGR) en promedio durante el ensayo fue de 5.01% .

Alrededor de los 5 días de edad (120 horas), la velocidad de crecimiento disminuyó notoriamente (Figura 1), coincidiendo con el momento de la apertura de la boca y comienzo de la alimentación exógena de las larvas.

Principales cambios morfológicos

En la Tabla 1 se detallan los principales cambios morfológicos observados a diario y en la Figura 2 se muestra el aspecto de las larvas de bagre negro a distintas edades.

Las larvas **al eclosionar** carecían de pigmentación, la longitud media observada fue de 4.03 ± 0.27 mm, visualizándose 19 miómeros. La parte posterior del cuerpo se encontraba rodeada de una aleta primaria ("finfold"), a partir de la cual se desarrollarán las aletas impares. El saco vitelino medía 1.13 ± 0.09 mm en longitud y 0.94 ± 0.11 mm en altura. Aún no se distinguían los ojos. El digestivo consistía en un tubo recto sobre el saco vitelino, cerrado por ambos extremos.

Luego de **dos días** ya se habían pigmentado casi en su totalidad, distinguiéndose claramente los ojos y la boca, aunque esta última aún no parecía estar abierta al digestivo. Medían 5.39 ± 0.23 mm de longitud total y se contaban 48 miómeros. Un par de bigotes y dos pares de barbas propios de la especie ya se hallaban presentes, un par a los costados del labio superior, otro en el labio inferior y un último par a la altura del mentón. Se observaba ventralmente el esqueleto branquial visualizándose en algunas de las larvas los arcos branquiales. Delante del saco vitelino se distinguía el corazón, que comenzaba a pigmentarse al igual que la sangre. En algunas larvas el extremo final de la notocorda comenzaba a curvarse hacia arriba.

Tabla 1. Crecimiento (longitud total) y principales cambios morfológicos observados a diario, en larvas de bagre negro.

<i>Edad</i>	<i>Longitud total (mm)</i>	<i>Observaciones</i>
0 h	4.03 ± 0.27	Sin ojo. Poco pigmentadas. Boca y ano cerrados. Digestivo como un tubo recto.
6 h	4.37 ± 0.17	La cuenca del ojo marcada. comienza a pigmentarse. al igual que la parte inferior del saco vitelino (SV) y a nivel de la cabeza.
12 h	4.65 ± 0.20	Mayor pigmentación. Se dibuja la boca.
18 h	4.71 ± 0.12	La boca cerrada pero dibujada. con una pequeña protuberancia a cada lado.
24 h	4.93 ± 0.20	Pigmentación en el zona dorsal hasta la cola. El corazón se observa anaranjado. La boca está abierta pero no al digestivo. Bigotes incipientes (pequeñas protuberancias): 2 comisura del labio superior. 2 labio inferior y 2 en mentón .
36 h	5.21 ± 0.09	Comienzan a desplegarse.
48 h	5.39 ± 0.23	Ya crecieron los bigotes y barbas. La sangre está pigmentándose. Cavidades del nostril distinguibles. Se observa el esqueleto branquial. Notocorda curvada hacia arriba en zonal caudal. La cabeza despegada del SV.
60 h	5.54 ± 0.28	La pigmentación alcanza el extremo caudal. por debajo de la notocorda y hasta el SV. El digestivo se ve ensanchado por encima del SV.
3 d	5.90 ± 0.19	Aparición de opérculos como membranas a los lados de la cabeza. Sobre el digestivo se ve la vejiga natatoria.
4 d	6.61 ± 0.19	Comienzo de alimentación exógena. Digestivo dividido en dos sectores: un ensanchamiento anterior seguido de un tubo recto. Algunas ya no tienen vitelo.
5 d	7.32 ± 0.18	Se esbozan las aletas pectorales. posteriores a los opérculos. Presencia de un reborde en la aleta primaria. La mayoría tienen toda esta aleta. aunque partida por el ano. Casi ninguna tiene SV visible. Digestivo dividido en tres sectores: embolsamiento y pliegue formando un asa continuada en un tubo recto.
6 d	7.52 ± 0.22	Embolsamiento en el tubo digestivo. continuado en un asa.
7 d	7.64 ± 0.20	Se comienzan a formar radios a nivel de la futura aleta caudal.
10 d	7.92 ± 0.29	Comienzan a formarse las aletas pélvicas, muy pequeñas detrás del opérculo.
11 d	8.02 ± 0.24	El digestivo medio forma una curva en forma de asa.
12 d	8.30 ± 0.29	El asa del digestivo se encuentra plegada hacia un costado. Borde de la aleta caudal irregular
13 d	8.27 ± 0.28	En la aleta caudal se pueden contar claramente 13 radios.
14 d	8.58 ± 0.31	En las aletas pectorales se pueden contar 5 radios.

La mayoría de las larvas abrieron la boca al **cuarto día**, encontrándose alimento en el digestivo tras su suministro. A esta edad, se distinguían dos sectores, un embolsamiento anterior que luego se continuaba en forma de un tubo simple hasta el ano. Los bigotes se observaban serrados por delante al igual que los labios por dentro. La pigmentación se extendió a todo el cuerpo. Algunas larvas de 4 días de edad ya no presentaban saco vitelino visible.

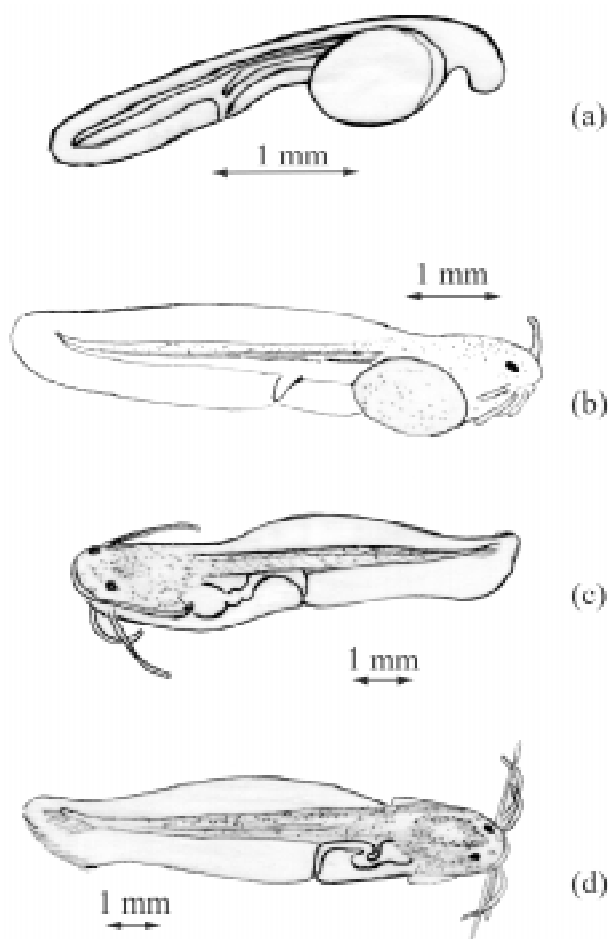


Fig. 2 Larvas de *Rhamdia quelen* a) Recién eclosionada b) 3 días de edad c) 7 días de edad d) 14 días de edad

Luego de **siete días** las larvas alcanzaron una longitud de 7.64 ± 0.20 mm no observándose ninguna con saco vitelino visible. El tubo digestivo se encontraba dividido en tres sectores, un embolsamiento y un asa que se continuaba en un tubo recto hasta el ano. Se distinguían claramente los opérculos a los lados de la cabeza. A esta edad comenzaron a formarse los radios de la futura aleta caudal, además de distinguirse las aletas pectorales en el sector ventral de la cabeza por detrás de los opérculos.

Al finalizar el ensayo, **quince días** luego de eclosionar, las larvas medían 8.55 ± 0.32 mm en longitud. El digestivo presentaba pocos cambios visibles en cuanto a su morfología, a excepción de un mayor plegamiento del asa observada en larvas de 7 días.

La aleta primaria que envolvía el cuerpo ya no se encontraba completa, reduciéndose aparentemente su área, comenzando más allá de la cabeza y terminando antes de la aleta caudal, que ya tomó forma, al igual que las aletas pélvicas, apareciendo estas últimas muy pequeñas aún.

Descripción histológica del digestivo

Las larvas de bagre negro, a los **3 días** tras la eclosión presentaban un tubo digestivo recto, no diferenciado (Fig. 3), con un epitelio columnar simple. No se observaron células mucosas a nivel del epitelio intestinal (Fig. 4).

A los **7 días** fue posible observar un tubo digestivo diferenciado en sectores. La porción posterior del digestivo anterior o estómago incipiente (Fig. 5), presentaba una luz amplia, con un epitelio uniestratificado columnar sin células mucosas y plegado. El digestivo medio poseía un epitelio simple cuboidal, menos plegado que el anterior y con abundantes células mucosas (Fig. 6). El digestivo posterior presentaba un epitelio simple cuboidal (Fig. 7). El hígado aparece ligado al páncreas (Fig. 8), encontrándose en la parte anterior del digestivo.

A los **14 días** de vida se observó un digestivo más desarrollado (Fig. 9), con un mayor plegamiento de la pared del estómago (Fig. 10), y presencia de células mucosas más numerosas en el digestivo medio (Fig. 11) y ausentes en el digestivo posterior (Fig. 12).

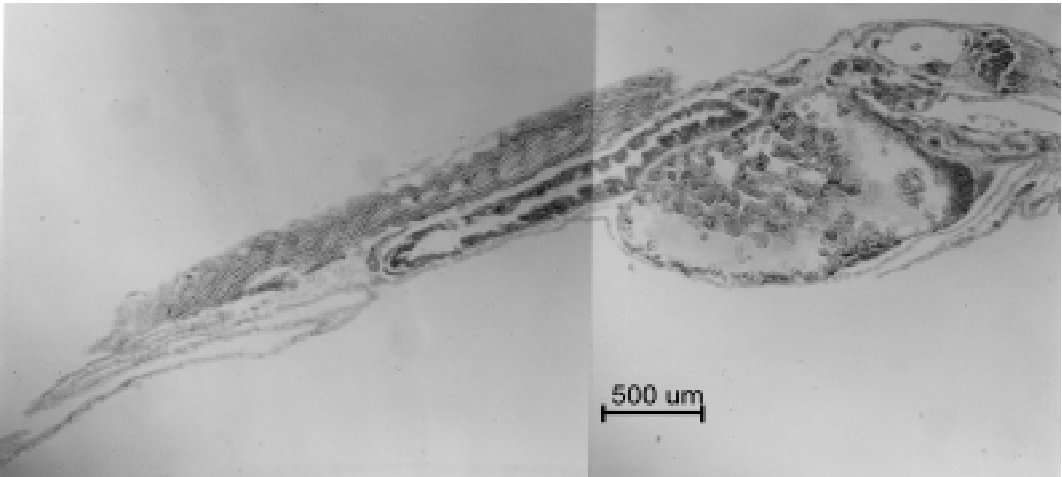


Fig. 3 Digestivo de larva de 3 días de edad.

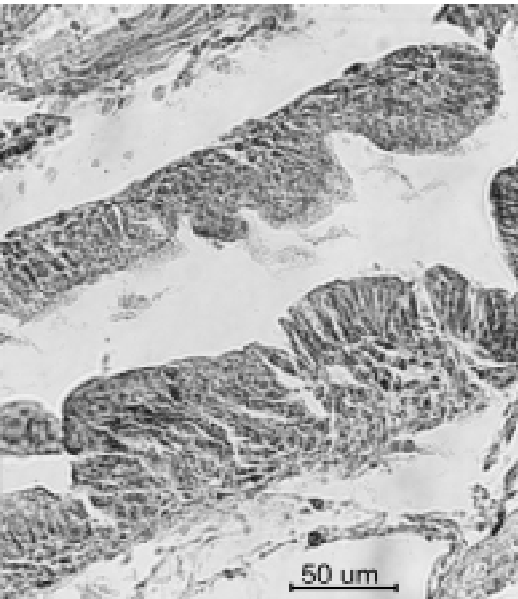


Fig. 4 Intestino de larva de 3 días de edad.

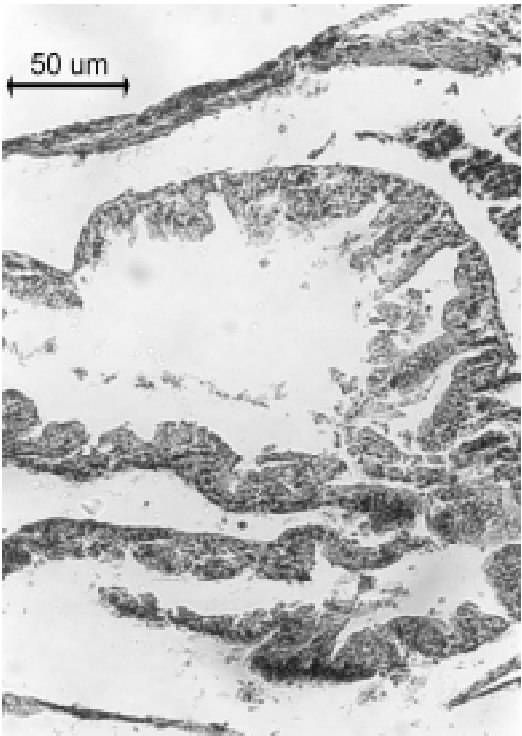


Fig. 5 Estómago de larva de 7 días de edad.

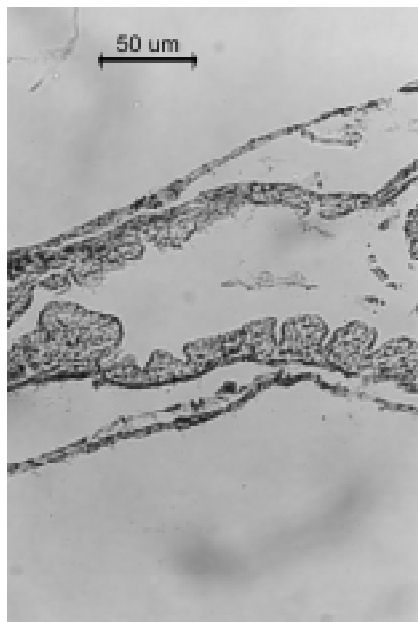


Fig. 6 Digestivo medio de larva de 7 días de edad.

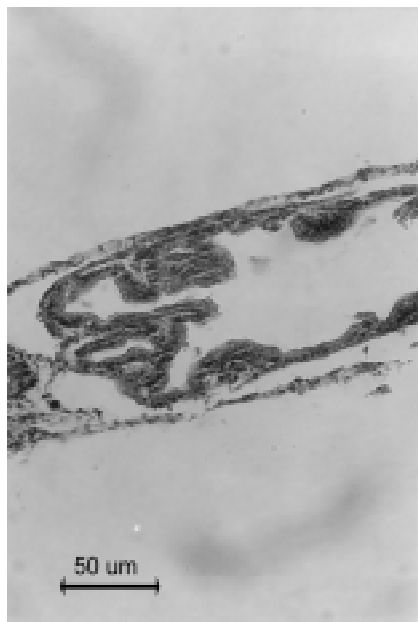


Fig. 7 Sección posterior del intestino, larva 7 días de edad.

DISCUSIÓN

La supervivencia obtenida al finalizar el ensayo (76%) es bastante similar a la observada por Luchini y Avendaño-Salas en 1984, que fue del 64% luego de 17 días en un grupo alimentado con yema de huevo, hígado y sangre y del 80% en las larvas alimentadas exclusivamente con nauplios de *Artemia*.

Una vez que las larvas pasaron a la fase de alimentación exógena se observó un elentecimiento en el crecimiento, tanto en los valores de SGR, como en la curva de crecimiento (Figura 1). Esto estaría indicando que la calidad o cantidad del alimento suministrado resulta inferior al de las reservas del saco vitelino. El mayor crecimiento obtenido en las peceras respecto al control, podría deberse a la menor densidad de larvas en las mismas, resultando en una mayor disponibilidad de espacio y de alimento.

A diferencia de dos de las especies de pez gato africano, *Clarias gariepinus* (Verreth *et al.*, 1992) y *Heterobranchus longifilis* (Ogunji y Rahe, 1999), que pueden ser alimentadas desde el inicio con nauplios de *Artemia*, las larvas de bagre negro mantenidas bajo las condiciones descritas no consumen *Artemia* al comienzo de la alimentación exógena, debido al tamaño de boca insuficiente para poder ingerir los nauplios.

Al eclosionar, las larvas de bagre negro se encontraban poco desarrolladas, experimentando grandes cambios en su patrón morfológico durante los 5 primeros días correspondientes a la fase lecitotrófica.

Inicialmente poseían una aleta primaria rodeando por completo el cuerpo a partir de la cual comenzaron a diferenciarse las aletas impares, formándose gradualmente los radios. Las aletas pares comenzaron a esbozarse antes que las impares. Para cuando abrieron la boca tenían los ojos desarrollados, así como papilas gustativas a nivel de bigotes, barbas y labios, que probablemente les permitirían detectar el alimento con mayor facilidad. A su vez el desarrollo de las aletas y la formación de la vejiga natatoria incrementaron su movilidad y por ende las posibilidades de encontrar y capturar el alimento.

A nivel del tracto digestivo se observaron cambios en su morfología pocos días después de comenzar a alimentarse, pasando de ser un tubo recto indiferenciado a poseer distintos sectores. Primero se ensanchó el

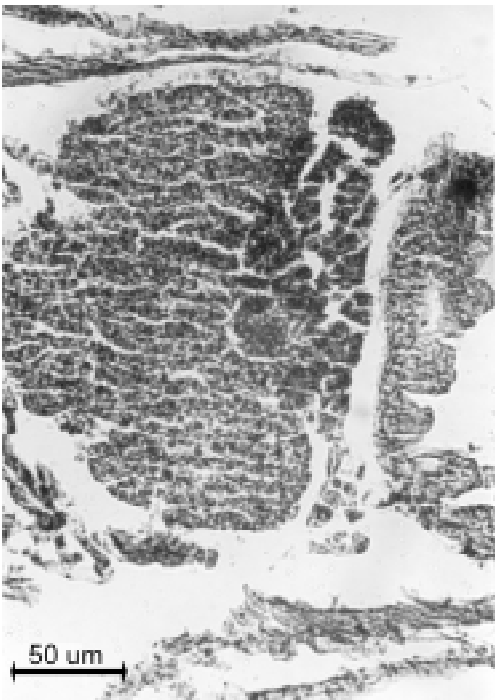


Fig. 8 Hígado y páncreas de larva de 7 días de edad.

sector anterior y luego comenzó a enrollarse el sector posterior, aumentando así su longitud relativa respecto al cuerpo. El incremento en longitud del tubo digestivo es un mecanismo por el cual se aumenta la superficie absorbente, de forma de mejorar la eficiencia en la alimentación (Stroband y Dabrowski, 1979).

Verreth *et al.* (1992) para *C. gariepinus* y Ogunji y Rahe (1999) para *H. longifilis* utilizaron la diferenciación de las aletas dorsales como un indicativo de que ha finalizado la transformación en juvenil. Según este aspecto, en el caso de las larvas de bagre negro utilizadas en este experimento, luego de 15 días no habrían finalizado su transformación en juvenil, dado que en ese momento aún carecían de aletas impares diferenciadas.

Al igual que a nivel morfológico externo, la larvas presentaron grandes cambios a nivel histológico del sistema digestivo una vez comenzada la alimentación exógena. Se observaron cambios similares a los observados en larvas de pez gato africano (Verreth *et al.*, 1992) y en rodaballo, *Scophthalmus maximus* (Segner *et al.*, 1994).

El digestivo anterior se diferenció en un esófago y un estómago rudimentario que no parecía ser aún completamente funcional, probablemente actuando principalmente como reservorio del alimento, ya que carecía de glándulas gástricas. Sin embargo el digestivo medio y posterior presentaron un epitelio aparentemente funcional, con células altas y núcleos basales.

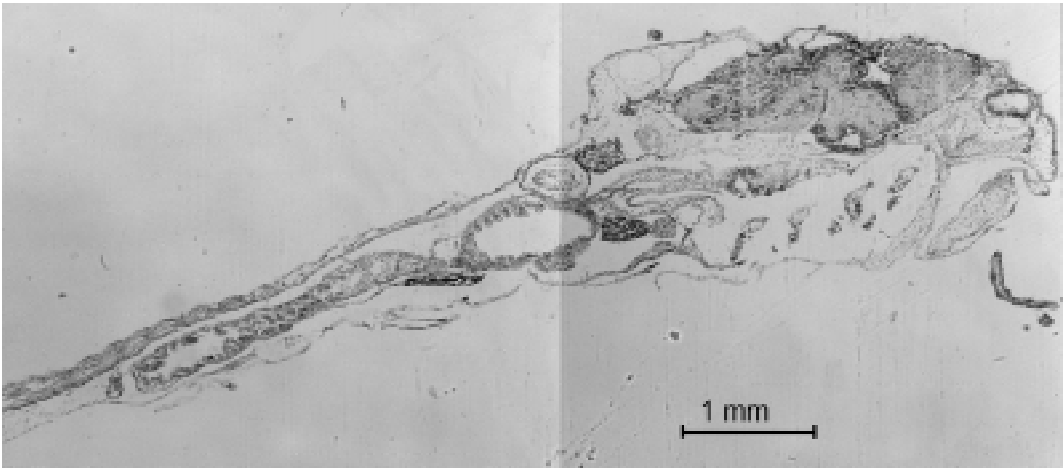


Fig. 9 Digestivo de larva de 14 días de edad.

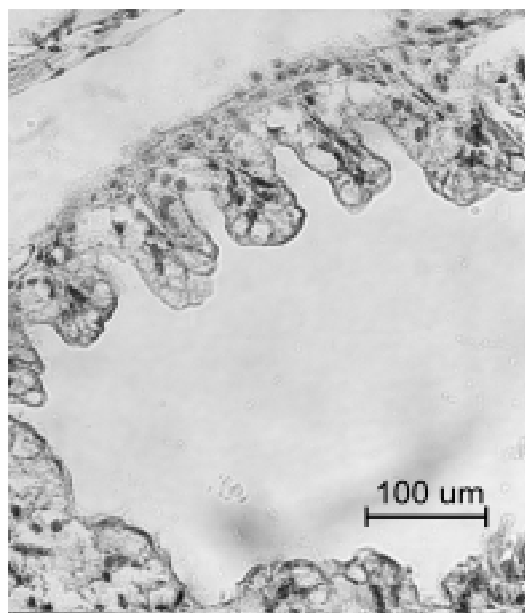


Fig. 10 Estómago de larva de 14 días de edad.

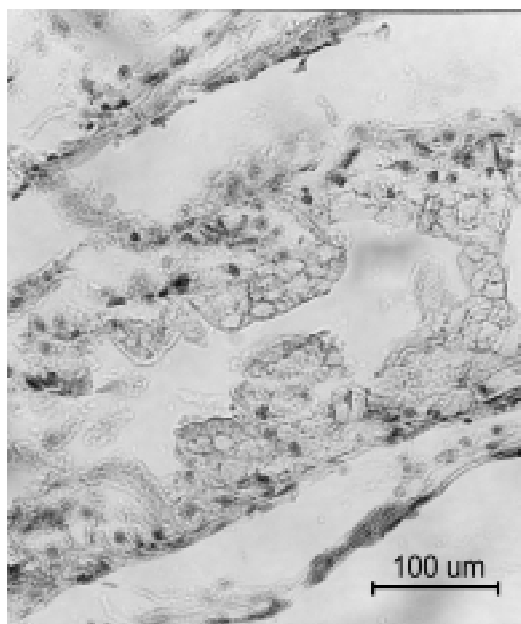


Fig. 11 Digestivo medio larva de 14 días de edad

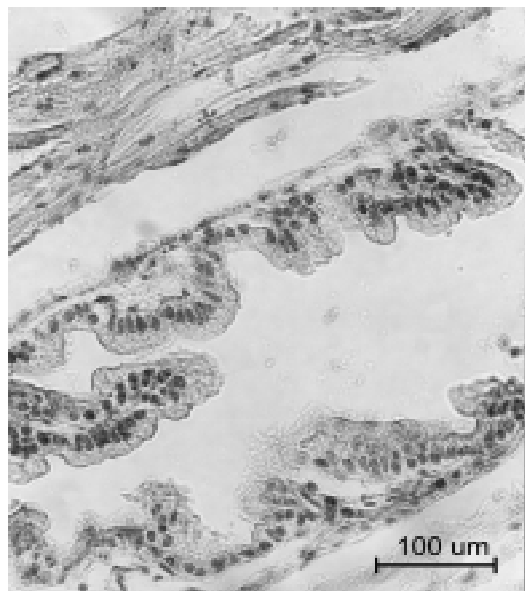


Fig. 12 Digestivo posterior larva de 14 días de edad.

En el primer sector del intestino se observaron abundantes células mucosas, pudiendo encontrarse también inclusiones lipídicas, aunque para poder afirmarlo sería necesario utilizar un colorante específico para lípidos como por ejemplo Sudan III o IV (Lillie, 1965). En concordancia con esta observación, diversas especies estudiadas presentan inclusiones lipídicas en el primer sector del intestino (Stroband y Dabrowski, 1979; Govoni *et al.*, 1986).

El grosor de los cortes (8 mm), no permitió visualizar microvellosidades, las cuales indicarían la capacidad absorbente del epitelio.

El hígado y el páncreas se encontraban diferenciados al inicio de la alimentación exógena, al igual que se ha observado en larvas de pez gato africano (Verreth *et al.*, 1992). Durante la fase larvaria se han encontrado siempre separados ambos órganos, no formándose el hepatopáncreas hasta finalizada la transformación en juvenil (Stroband y Dabrowski, 1979).

El bagre negro presenta características de historia de vida tales como alta fecundidad, ausencia de cuidado parental, incubación corta y prolongado estadio larvario, que lo clasificarían como especie altricial. Por estas razones es probable que se requiera de la utilización de alimento vivo, al menos durante los primeros días de vida de las larvas, antes de poder utilizar eficientemente una ración balanceada.

BIBLIOGRAFIA

- Bessonart, M., Salhi, M., Chediak, G., Carnevia, D., Bellagamba, M., 2001. Nutrición del “bagre negro”, *Rhamdia quelen*, II. Requerimientos cualitativos de ácidos grasos en dietas para alevines. Publicación especial de la Sociedad Zoológica del Uruguay. Actas de las VI Jornadas de Zoología del Uruguay.
- De Silva, S. S. y Anderson, T. A., 1998. Fish nutrition in aquaculture. Chapman & Hall aquaculture series 1, Ed. Chapman & Hall, U.S.A., 319pp.
- Gatesoupe, F.J., Girin, M. y Luquet, P., 1977. Recherche d’une alimentation artificielle adaptée à l’élevage des stades larvaires des poissons. II-Application à l’élevage larvaire du bar et de la sole. rd Meeting of the ICES. Working Group on Mariculture, Brest, May 10-13, 1977. Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4: 59-66.
- Govoni, J.J., Boehlert, G.W. & Watanabe, Y., 1986. The physiology of digestion in fish larvae. Environmental Biology of Fishes, 1-3: 59-77.
- Léger, P., Bengtson, D.A., Simpson, K.L., Sorgeloos, P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev. 24, 521– 623.
- Lillie, R. D., 1965. Histopathologic technic and practical histochemistry. Ed. Mc Graw- Hill, 3ª edición, U.S.A., 715 pp.
- Lovell, R.T., 1977. Feeding Practices. En : R.R. Stickney y R.T. Lovell (Eds.), Nutrition and feeding of channel Catfish. South. Coop. Ser. Bull., 281: 50-56.
- Luchini, L., 1990. Manual para el cultivo del bagre sudamericano (*Rhamdia sapo*). FAO Serie RLAC/90/16-PES-20, 60 pp.
- Luchini, L. y Avendaño-Salas, T., 1984. Preliminary data on larval survival of South American catfish, *Rhamdia sapo*. Aquaculture 42:175-177.
- Ogunji, J.O., Rahe, R.E., 1999. Larval development of the African catfish *Heterobranchus longifilis* Val., 1840 (Teleostei; Clariidae) and larval behaviour. J. Aqua. Trop. 14 (1): 11-25.
- Salhi, M. y Bessonart, M., 2000. Cultivo de peces en el Uruguay: el bagre negro. XVI Reunión Latinoamericana de Producción Animal y III Congreso Uruguayo de Producción Animal, marzo de 2000, Montevideo, Uruguay.
- Salhi, M., Bessonart, M., Chediak, G., Carnevia, D., Bellagamba, M., 2001. Nutrición del bagre negro, *Rhamdia quelen*, I. Requerimientos de proteínas y energía en dietas para alevines. Publicación especial de la Sociedad Zoológica del Uruguay. Actas de las VI Jornadas de Zoología del Uruguay.
- Segner, H., Storch, V., Reinecke, M., Kloas, W., Hanke, W., 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. Marine Biology, 119: 471-486.
- Stickney, R.R., 1979. Principles of Warm Water Aquaculture. Wiley Interscience Publ, New York. 375 pp.

- Stroband, H.W.J. y Dabrowski, K.R., 1979. Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in fresh-water fish larvae. M. Fontaine (Ed), Nutrition des Poissons. Actes du Colloque CNERNA, Editions du CNRS, Paris. pp 355-374.
- Varela, Z., Fisher, K. y Fabiano, G., 1982a. Reproducción artificial del bagre negro (*Rhamdia sapo*). Inf. Téc. Inst. Nal. Pesca, Uruguay, nº 32, 31pp.
- Varela, Z., Fisher, K. y Fabiano, G., 1982b. Primeras experiencias de cría de larvas de bagre negro (*Rhamdia sapo*) en laboratorio. Inf. Téc. Inst. Nal. Pesca, Uruguay, nº 33, 20pp.
- Varela, Z., Fisher, K. y Chediak, G., 1982c. Primeras observaciones sobre el crecimiento del bagre negro (*Rhamdia sapo*) en laboratorio. Informe Técnico INAPE, Uruguay, nº 34, 20pp.
- Verreth, J.A.J., Torreele, E., Spazier, E., Van Der Sluiszen, A., Rombout, J.H.W.M., Booms, R. y H. Segner, 1992. The development of a functional digestive system in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). J. World Aquac. Soc., 23 (4): 268-298.
- Watanabe, T., Kitajima, C., Fujita, S., 1983. Nutritional values of live organism used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture 34: 115-143.