

BOLETÍN DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

AMEBAS DE VIDA LIBRE POTENCIALMENTE PATÓGENAS EN LA BAHÍA DE MARACAIBO Silvana B. Pertuz-Belloso y Nairobi C. Jiménez- Mendoza.....	102
INDUCCIÓN QUÍMICA DE POLIPLOIDÍA EN EL MOLUSCO BIVALVO <i>Polymesoda solida</i> (PHILIPPI, 1846) (BIVALVIA: CORBICULIDAE) Desireé Revilla Ramírez, Francisco Báez Contreras, Yajaira García de Severeyn, Héctor Severeyn, Patricia Villamediana Moreal.....	121
REGENERACIÓN <i>in vitro</i> DE CUATRO CULTIVARES DE PAPA (<i>Solanum tuberosum</i> L.) A PARTIR DE SECCIONES DE HOJA Y EN PRESENCIA DE DIFERENTES REGULADORES DE CRECIMIENTO Torres Jhonathan, Geine Alvarado y Alexander Hernández.....	134
CRUSTÁCEOS ASOCIADOS AL BANCO NATURAL DE PEPITONA (<i>Arca zebra</i> SWAINSON, 1833) EN EL NORORIENTE DE VENEZUELA Roberto Díaz-Fermín, Vanessa Acosta Bálbos, Luisana Pereda – Figuera y Aulo Apointe.....	147
ESTRUCTURA POBLACIONAL DE <i>Atrina seminuda</i> Y <i>Pinna carnea</i> (BIVALVIA: PINNIDAE) EN LA ISLA DE CUBAGUA, VENEZUELA María Salomé Rangel y Alejandro Tagliafico.....	164
USO DE SUSTRATOS Y DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO EN EL ENRAIZAMIENTO DEL ICACO (<i>Chrysobalanus icaco</i> L.) MEDIANTE ESTACAS Maribel Ramírez Villalobos, Brígida Caraballo y Aly Urdaneta.....	181
INSTRUCCIONES A LOS AUTORES.....	191
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS.....	201

Vol.50, Nº 2, Agosto 2016

UNA REVISTA INTERNACIONAL DE BIOLOGÍA
PUBLICADA POR LA
UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA



Inducción química de poliploidía en el molusco bivalvo *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) (Bivalvia: Corbiculidae)

Desireé Revilla Ramírez^{1,2}, Francisco Báez Contreras¹, Yajaira García de Severeyn², Héctor Severeyn² y Patricia Villamediana Monreal¹

Laboratorio de Citogenética¹, Laboratorio de Cultivo de Invertebrados Acuáticos², Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Apartado postal 4001, Maracaibo, Venezuela. desire.revilla@gmail.com

Resumen

Debido a la creciente demanda en el consumo de organismos acuáticos, la acuicultura ha adquirido mayor importancia a través del implemento de técnicas para el mejoramiento genético de las especies que son cultivadas. Una de las técnicas más empleadas es la inducción artificial de poliploidía. Esta técnica fue aplicada en el molusco bivalvo estuarino *Polymesoda solida* y para ello se empleó la cafeína a una concentración de 15 mM a embriones recién fecundados a los 30 y 40 minutos de duración de exposición (10 y 20 min) después de la fecundación. Para medir el efecto de los tratamientos se determinó el número cromosómico y el porcentaje de embriones poliploides presentes en cada metafase observada. Los resultados obtenidos evidenciaron la presencia de un porcentaje alto de células poliploides en los tratamientos de 30 y 40 min post-inseminación (pi) y 10 min de exposición a la cafeína (93% y 80%, respectivamente), siendo muy bajo el número de triploides. El tratamiento a los 40 min de iniciada la fecundación y 20 min de exposición a la cafeína tuvo efectos deletéreos sobre la obtención de metafases. Los tratamientos con una duración de 10 min, permitieron la obtención de embriones poliploides en *P. solida*.

Palabras clave: *Polymesoda solida*; poliploidía; cafeína; embriones.

Chemistry induction of polyploidy in the bivalve mollusk *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) (Bivalvia: Corbiculidae).

Abstract

Due to the growing demand of aquaculture organisms, aquaculture has become more important through the implement of techniques for genetic improvement of the species is cultivated. One of the most used techniques is the artificial induction of polyploidy. The technique was applied in the estuarine bivalve mollusk *Polymesoda solida*, using caffeine treatment at a concentration of 15 mM (exposition at 10 and 20 min) on newly, 30 and 40 min in fertilized embryos. To measure the effect of treatments on chromosome number and percentage of present polyploid embryos was determined for each metaphase observed. Results indicated that polyploidy cells were obtained only with the 10 minutes caffeine treatment both at 30 and 40 min post-fecundation but the percentage (93% and 80%, respectively) of triploid was very low. The combination of 20 min caffeine treatment and 40 minutes after fecundation had deleterious effects on the obtainment of metaphases. Treatments lasting 10 minutes, allows obtaining *P. solida* polyploid embryos.

Keywords: *Polymesoda solida*; polyploidy; caffeine; embryos.

Introducción

La biotecnología aplicada a la acuicultura ha adquirido importancia debido a la creciente demanda del consumo de organismos acuáticos, lo que ha intensificado los estudios sobre la factibilidad de establecer cultivos comerciales (Zarain y Villalobos 2012). Entre los procedimientos biotecnológicos que se han aplicado está la manipulación del genoma para inducir poliploidía (Beaumont y Hoare 2003, Liu et al. 2006, Piferrer et al. 2009). La poliploidía ha sido inducida en diferentes especies de bivalvos, con la finalidad de establecer los criterios biológicos y metodologías para su posterior producción en masa (Gomelsky 2003, Zarain y Villalobos 2012, Valenzuela 2013).

Son numerosas las metodologías desarrolladas para obtener moluscos poliploides, como los choques de temperatura, cambios de presión hidrostática y agentes químicos como la cafeína, la citocalasina - B y la 6 - dimetilaminopurina (Gomelsky 2003, Norris y Preston 2003, Norris et al. 2005, Piferrer et al. 2009). La cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$) es un producto del metabolismo secundario de algunas plantas, además es un derivado purínico que se incorpora en el ácido desoxirribonucleico (ADN) induciendo cambios puntuales en los que se reemplaza la adenina por la guanina, por consiguiente se considera un agente mutagénico (Ocampo et al. 2008). Du-

rante la maduración del ovocito (fase meiótica), la cafeína afecta los microtúbulos evitando la citocinesis. La cafeína se ha empleado exitosamente en la producción de poliploides en la ostra *Crassostrea gigas* (Thunber, 1793) y en el mejillón *Mytilus gallo provincialis* (Lamarck, 1819) (Scarpa et al. 1994).

Los moluscos poliploides se caracterizan por presentar mayor sobrevivencia y proporción de masa muscular que los diploides, aportando múltiples ventajas para aquellas especies de cultivo que presentan interés económico (Gomelsky 2003, Valenzuela 2013). También se ha observado que estos moluscos bivalvos pueden presentar esterilidad total o parcial, producto de la inducción de poliploidía, con el objetivo de redirigir el metabolismo energético hacia el aumento de la biomasa o el crecimiento (Norris y Preston 2003, Ramírez 2009). Esta condición presenta la ventaja de impedir que los poliploides puedan ser introducidos accidentalmente en las poblaciones naturales diploides (Maeda 2002).

En los pectínidos (vieiras) iberoamericanos, se ha empleado citocalasina B, para inducir triploidía en especies como *Argopecten ventricosus* (Sowerby, 1842) distribuida desde México y Perú (Ruiz et al. 2000) y *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835) localizada en México (Maldonado et al. 2004). En Venezuela se han realizado estudios de inducción no concluyentes en *Euvola ziczac* (Linneo 1758) (Maeda 2002). En el país la acuicultura de bivalvos no se ha alcanzado la escala de producción masiva; sin embargo, desde mediados del siglo pasado, se han realizado diversas investigaciones en función de establecer paquetes tecnológicos para el cultivo de estos organismos (Villarroel et al. 2004). Hoy en día, sólo existen actividades de cultivo a pequeña escala y en estado de desarrollo de diferentes especies de moluscos bivalvos. Es por ello que la acuicultura de moluscos bivalvos aún no se ha consolidado (Lodeiros y Freitas 2008).

El desarrollo de biotecnologías que permitan aprovechar especies, como el bivalvo estuarino *Polymesoda solida* (Philippi 1846), de importancia comercial en el Sistema del Lago de Maracaibo, es colectado y consumido artesanalmente y comercializado en mercados locales, su explotación ha aumentado notablemente, debido a que ha sustituido a otras especies sobreexplotadas como *Tivela mactroides* (Born 1779) (García et al. 1994, Severeyn et al. 1994, Muñoz 2002). Para la especie *P. solida* se han realizado diversos trabajos en los que destacan, desarrollo embrionario (García 1984), fecundación y fecundidad de gametos (Fuenmayor 2006), número cromosómico, encontraron una variabilidad entre $2n=22$ y $2n=30$ (Molleda et al. 1999). Sin embargo no hay antecedentes de poliploidización. El objetivo de este trabajo es inducir poliploides en el molusco bivalvo *P. solida* mediante el tratamiento con cafeína. Este constituye el primer paso para poder desarrollar un paquete tecnológico para producir en masa a esta especie con características mejoradas.

Materiales y Métodos

Área de recolecta, transporte y aclimatación

Se recolectaron almejas de *P. solida* en la zona nor-occidental del Sistema del Lago de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, en la localidad costera de San Rafael del Moján (10°57'44.42" N y 71°43'37.15" O). De forma manual se eliminó el lodo y se colocaron las almejas en recipientes de plástico con agua del lugar para evitar el estrés. Luego fueron trasladadas al Laboratorio de Cultivo de Invertebrados Acuáticos de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia donde se alojaron en acuarios con agua de mar artificial (Instan Oceans) a 5 unidades prácticas de salinidad (UPS). Las almejas fueron alimentadas diariamente con un cultivo mixto de microalgas y mantenidas a una temperatura a 23°C.

Obtención de gametos y cultivo

Se abrieron las valvas de las almejas y se realizó el lavado de gónadas. Los gametos obtenidos se colocaron en vasos de precipitado con agua de mar artificial a 5 UPS. Se determinó la concentración de espermatozoides por medio de una cámara de Neubauer. La concentración espermática utilizada fue de 100 espermatozoides por ovocitos. Los gametos se colocaron en vasos precipitados para inducir la fecundación, estas se mantuvieron a una temperatura de constante de 27±1°C y una salinidad de 5 UPS (Fuenmayor 2006).

Tratamiento inductor

Como método inductor se empleó cafeína 15mM (Scarpa et al. 1994). Las alícuotas de ovocitos se dividieron en 5 grupos experimentales: el grupo control sin tratamiento, el tratamiento 1 (T1) 30 min post-inseminación (pi) y 10 min de duración de cafeína, el tratamiento 2 (T2) 30 min pi y 20 min de duración de cafeína, el tratamiento 3 (T3) 40 min pi y 10 min de duración de cafeína, y el tratamiento 4 (T4) 40 min pi y 20 min de duración de cafeína. Para retirar el tratamiento, los embriones fueron pasados por un tamiz de 4µm y se lavaron con agua de mar. Cada experimento se realizó por triplicado y a una temperatura constante de 27±1°C.

Análisis citogenético

Se analizaron embriones de dos, cuatro, ocho y dieciséis células de los cinco grupos experimentales. Luego de 2hpi, los cigotos fueron concentrados por centrifugación a 500 rpm por 5 min. Se agregó colchicina al 0,1 mM (C-9754, Sigma) por 2 h. Se centrifugó a 1000 rpm por 5 min y se decantó el sobrenadante. Se agregó KCl (P-4504, Sigma) a 75mM por 45 min a 37°C, se centrifugó a 1000 rpm por 5 min y se descartó el sobrenadante. Luego el botón celular se fijó tres veces en metanol:

ácido acético (3:1, v/v) por 15 min, se centrifugó y se descartó el sobrenadante cada vez. Se agregó al botón celular ácido acético al 50% a 37°C, se dejó reposar por 3 min. Se añadió fijador y se guardó en refrigeración a 4°C por 24 h con la finalidad de lograr la máxima fijación de las células.

Para las extensiones cromosómicas, se colocaron 2 ó 3 gotas de la suspensión celular en láminas portaobjetos, después de 24 h de secado se tiñeron con Giemsa a pH 10 por 3 min, y se observaron en un microscopio óptico (Olympus CX21). Las mejores extensiones cromosómicas fueron fotografiadas con una cámara digital (C-5060, Olympus).

Análisis estadístico

En promedio se evaluaron 22 ovocitos en los grupos experimentales, se analizó el índice mitótico (número de metafases/número de blastómeros analizados x 100) fue analizado mediante el test de χ^2 del paquete estadístico SAS®. Las diferencias entre las frecuencias se consideraron significativas para valores de *P* menores a 0,05. El número cromosómico se determinó a través del número modal. El nivel de ploidía se determinó a partir del conteo de metafases visibles y según la proporción de células diploides y poliploides. Los resultados obtenidos del conteo de cromosomas se expresaron como frecuencia en los diferentes tiempos del tratamiento y control.

Resultados

El T1 mostró el mayor porcentaje de índice mitótico con un 42,5% (51/120), mostrando diferencias significativas ($P < 0,05$) con el grupo control (30,76%; 64/208), T3 (28,26%; 52/184) y T4 (14,28%; 32/224). Este último (T4) arrojó el menor porcentaje de índice mitótico difiriendo ($P < 0,05$) con todos los tratamientos incluyendo el T2 (32,66%; 81/248). De un total de 280 placas metafásicas observadas, sólo 57 fueron contables, distribuidos como sigue: 13 metafases representados con un 20,13% (13/64) en el grupo control; 15 metafases correspondientes al 29,49% (15/51) para el T1. En el T2 se contabilizaron 12 metafases para un 14,8% (12/81); mientras que en el T3 se analizaron 15 metafases contables, analizables un 28,84% (15/52) y por último, en el T4 sólo se observaron 2 metafases contables que representan el 6,25% (2/32).

La variación en el número cromosómico para los embriones del grupo control se observó en valores de 27 y 32 cromosomas que corresponden al número modal. Patrón similar al observado en el T2 con 34 cromosomas. El T1, con menor tiempo de exposición de cafeína, presentó una mayor variación cromosómica, entre 46 y 57 cromosomas; mientras que el T3, mostró un número modal de 57 cromosomas. Las dos placas metafásicas observadas en embriones del T4 mostraron 28 y 29 cromosomas (Tabla 1, Fig. 1).

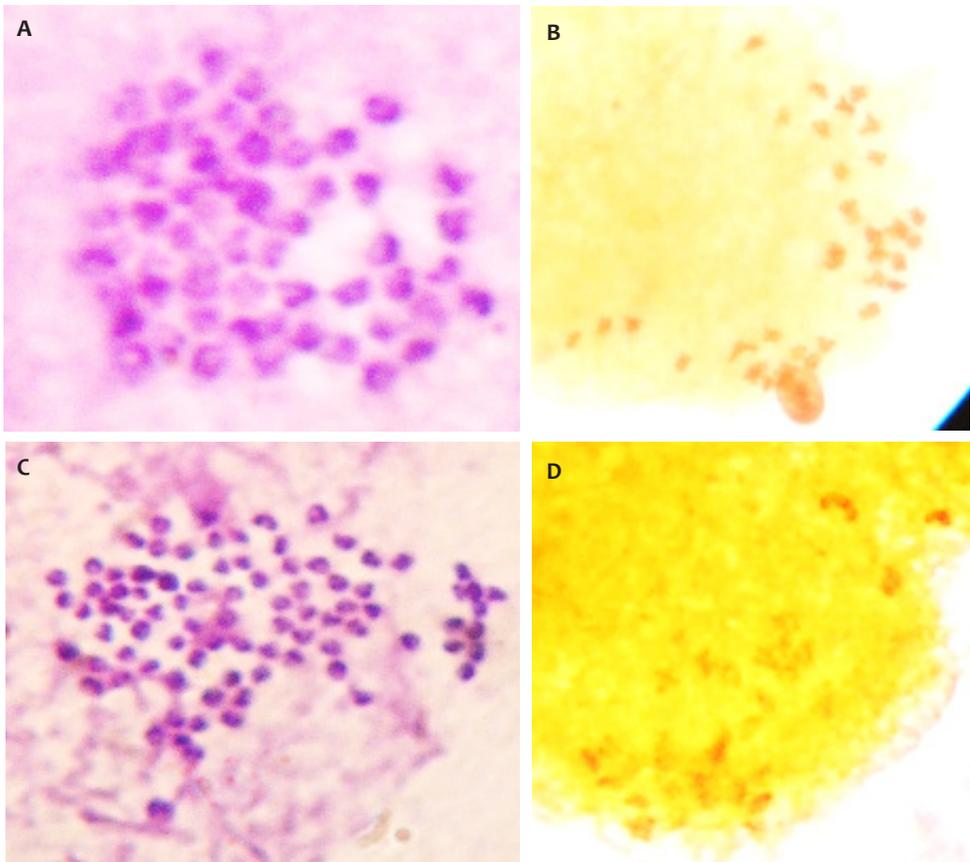


Figura 1. Cariotipos de la almeja *Polymesoda solida*. A) T1 placa metafásica con 57 cromosomas (2000X). B) T2 placa metafásica con 34 cromosomas (2000X). C) T3 placa metafásica con 87 cromosomas (2000X), y D) T4 placa metafásica con 29 cromosomas (2000X).

Discusión

En este estudio el número modal del grupo control osciló entre 27 y 32 cromosomas. Sin embargo, estudios citogenéticos previos en *P. solidae* videncian una alta tasa de anomalías cromosómicas numéricas en las células (Molleda *et al.* 1999). Esto hace difícil determinar con exactitud su número cromosómico. Si se consideran ambos estudios un $2n=30$, sería el número cromosómico más probable a seleccionar para esta almeja. Este número cromosómico se encuentra dentro del rango (26-38), siendo descrito para dos especies del género *Corbicula*, miembros de la misma familia (Corbiculidae) a la cual pertenece *Polymesoda* (Ebied 1998, Parket *et al.* 2000).

En algunos moluscos bivalvos la determinación de un número cromosómico exacto es difícil de establecer, lo que ha sido relacionado con la presencia de mutaciones cromosómicas. Este fenómeno genético es conocido en ostras desde la década de los 60 (Crosby y Stiles 1968). Stiles y Choromanski (2002) mostraron que el porcentaje de esas mutaciones oscilan alrededor del 3% en las gónadas. También se indica que la heteropoliploidía (hiperploides) ocurre naturalmente con un porcentaje que oscila alrededor del 12%. Si se combinan estos dos tipos de mutaciones se alcanza hasta un 15%. En *Ostrea desenlamellosa* (D'Orbigny, 1846) se ha reportado hasta un 16,5% de células aneuploides (Insua y Thiriot 1991). Al parecer tanto el porcentaje natural de células aneuploides como de poliploides no siguen un patrón específico en los distintos grupos de moluscos bivalvos. Por ejemplo, el mejillón *Mytilus edulis* ($2n=28$) presenta hasta un 8% de células aneuploides con un número cromosómico entre 27 y 30 (Thiriot y Ayraud 1982).

Una de las razones que puede explicar la variación cromosómica observada en *P. solida* son los efectos derivados de la colchicina y los fijadores. La acción de los fijadores (principalmente del ácido acético), puede reducir el tamaño de los cromosomas (Henegariu et al. 2001), resultando de en un conteo erróneo de las metafases. Igualmente es difícil obtener células en mitosis con algún grado de sincronización en el proceso de espiralización cromosómica en los organismos, por lo tanto es necesario mantener controlado el agente mitostático (Rodríguez et al. 1991, Gallardo 2005).

La técnica de secado al aire para el conteo de cromosomas utilizada en este trabajo, ha sido descrita por Gong et al. (2004), asociando la técnica con la pérdida común de cromosomas, provocando variación del número cromosómico. Un análisis de conteo de cromosomas es necesario para comprobar un nuevo método de inducción de poliploidía en moluscos, ya que otras técnicas como citometría de flujo, no pueden identificar pequeñas variaciones en el número de cromosomas, como aneuploidías o mosaicos (Gong et al. 2004, Normand et al. 2009).

La inducción de poliploides por medio de cafeína se ha empleado con éxito por Zhang et al. (1998), quienes obtuvieron entre 30 y 41,5% de triploides en la ostra *C. gigas*. Scarpa et al. (1994) obtuvieron mayor producción de triploides con 71% en el mejillón *M. galloprovincialis*. El estudio más reciente usando cafeína para producir triploides se realizó en el molusco gasterópodo *Halliotis discus* (Okumura et al. 2007) donde se obtuvieron entre 91 y 100% de triploides.

El tiempo de exposición al tratamiento químico es un factor crítico para la producción de poliploides y por ello se le considera un cuello de botella para lograr una inducción exitosa de poliploides (Maeda 2002). En este estudio, los embriones expuestos a 10 min de cafeína (T1 y T3) presentaron cambios en el material genético que se tradujeron en células poliploides. No se observaron células poliploides en T2 y T4, donde sólo se presentaron células con números cromosómicos similares al control. Aunque en el T4 sólo se obtuvieron 2 metafases contables,

este resultado es comparable con los mostrados por Gong *et al.* (2004), en donde induciendo poliploidía en la ostra *C. gigas* no se produjo suficientes metafases para realizar una evaluación del número cromosómico.

La variación cromosómica en los tratamientos con cafeína ha sido reportado para la producción de moluscos poliploides inducidos, relacionándolos con aneuploides como en Gong *et al.* (2004), para la inducción de poliploidía en *C. gigas*, igualmente *Pinctada martensii* muestra una ganancia en su genoma diploide (He *et al.* 2000). Para *Nucella lapillus* se ha señalado que las variaciones en el número de cromosomas es el resultado de un alto grado de polimorfismo Robertsoniano asociado a la presencia de cromosomas “B” (Pascoe y Dixon 1994). Sin embargo, los cromosomas “B” pueden ser distinguidos con facilidad de los cromosomas normales por las siguientes condiciones: reducido tamaño en comparación con el resto de cromosomas, variación numérica, heterocromáticos (bandas-C positivas), alta frecuencia en células meióticas, sin emparejamiento (sin recombinación) en meiosis I (Beukeboom 1994). Esto fue reportado por Arias *et al.* (2007), en donde los cromosomas de *Plicopurpura pansa* y *P. columellaris* cumplen con las condiciones señaladas.

La presencia de mosaicos en moluscos inducidos por tratamiento químico son más probables debido a una inestabilidad fundamental de animales poliploides artificiales (Normand *et al.* 2009). En los resultados, los niveles de variación cromosómica observados, son cromosomopatías numéricas, por consiguiente, estos tratamientos producen la obtención de células con un mayor tamaño nuclear, lo que se relaciona con el volumen nuclear, de tal manera que un aumento del número de cromosomas en los organismos poliploides se asocia a menudo con un aumento del tamaño celular, característica de un organismo poliploide inducido (Pierce 2010).

Se puede observar, al examinar la tabla 1, que el grado de poliploidía es elevado, siendo del 93 % para T1 y de 80% para T3. Los T1 y T3 presentan mayor producción de embriones poliploides, y por consiguiente se sugiere continuar con el desarrollo embrionario ya que según Beumont y Fairbrother (1991) la valoración de un organismo poliploide es primordial realizarla en los primeros estadios embrionarios para asegurar el rendimiento de estos organismos y así corroborar que tipo de tratamientos presentan los mayores porcentajes de poliploides para su posterior producción en masa.

Es importante, continuar con la evaluación de especies inducidas a poliploides, considerando los aspectos genéticos, fisiológicos y ambientales para proporcionar datos de referencia necesarios para una evaluación sobre algún impacto. La inducción de técnicas para la formación de moluscos poliploides, serán de utilidad para los acuicultores mejorando su producción (Cogswell *et al.* 2005).

Conclusiones

El tratamiento con cafeína de 10min de duración y con un tiempo de 30 y 40 min pi, permite la obtención de embriones poliploides en *P. solida*. Las metafases obtenidas en embriones de *P. solida*, presentan variación cromosómica, incluyendo el grupo control. Este trabajo, es el primero que se reporta en el país, para la obtención de embriones poliploides en esta especie que es de interés comercial en la región, el cual podría ser aprovechado para incentivar a los productores acuícolas a utilizar este tipo de biotecnologías.

Literatura citada

- ARIAS, L., J. GONZÁLEZ, H. FLETES, L. RODRÍGUEZ Y G. DEL VALLE. 2007. Cariotipos de los caracoles de tinte *Plicopurpura pansa* y *Plicopurpura columellaris* (Gastropoda: Muri-
cidae). Rev. Biol. Trop. 55:853-866.
- BEAUMONT, A. Y K. HOARE. 2003. Biotechnology and Genetics in Fisheries and aquacul-
ture. Blackwell Science. Estados Unidos. 118 pp.
- BEAUMONT, A. Y J. FAIRBROTHER. 1991. Ploidy manipulation in mollusca shellfish: a re-
view. J Shellfish Res. 10:1-18.
- BEUKEBOOM, L. 1994. Bewildering Bs: an impression of the 1st B-Chromosome Conferen-
cie. Heredity 73: 328-336
- COGSWELL, A., E. KENCHINGTON, W. MACDONALD Y S. ROACH. 2005. The viability of cyto-
chalasin B and heat shock induction for the production of triploid *Mytilus edulis*. Can.
Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 2527:32.
- CROSBY, L. Y S. STILES. 1968. Fertilization and completion of meiosis in spawned eggs of
the American oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. International Journal of Cytology,
Cytosystematics and Cytogenetics 21:65-73.
- EBIED, A. 1998. Karyological studies on three Egyptian freshwater species of Eulamelli
branchia (Mollusca: Bivalvia). Cytologia 63:17-26.
- FUENMAYOR, B. 2006. Fecundidad y Efecto de la salinidad sobre la fecundación del mo-
lusco bivalvo *Polymesoda solida* en condiciones de laboratorio. Trabajo especial de
grado. Facultad Experimental de Ciencias. 28 pp.
- GALLARDO, J. 2005. Análisis citogenético en tres especies de abulones de baja california
mediante procesamiento digital de imágenes. Tesis doctoral, Centro de Investiga-
ción Científica y de Educación Superior de Ensenada, México, 101 pp.
- GARCIA, Y. 1984. Biología y Ecología de *Polymesada arctata* (Deshaye) almeja presente en
el Lago de Maracaibo. Trabajo Especial de Grado. La Universidad del Zulia, Maracai-
bo. Venezuela, 17 pp.

- GARCÍA, Y., H. SEVEREYN Y J. EWALD. 1994. Early development of the estuarine mollusk *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) (Bivalvia: Corbiculidae) in Lake Maracaibo, Venezuela. *Am. Malacol. Bull.* 11:51-56.
- GOMELSKY, B. 2003. Chromosome set manipulation and sex control in common carp: a review. *Aquat. Living Resour.* 16:408-415.
- GONG, N., H. YANG, G. ZHANG, B. LANDAUY X. GUO. 2004. Chromosome inheritance in triploid oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *Heredity* 93:408-415.
- HE, M., Y. LIN, Q. SHEN, J. HU Y W. JIANG. 2000. Production of tetraploid pearl oyster (*Pinctada martensii* Dunker) by inhibiting the first poplar body in eggs from triploids. *J. Shellfish Res.* 19:147-151.
- HENEGARIU, O., N. HEEREMA, L. WRIGHT., P. BRAY., D. WARD Y G. VANCE. 2001. Improvements in cytogenetic slide preparation: controlled chromosome spreading, chemical and gradual denaturing. *Cytometry* 43:101-109.
- INSUA, A. Y Y. THIRIOT. 1991. The characterization of *Ostrea denselamellosa* (Mollusca, Bivalvia) chromosomes: karyotype, constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions. *Aquat.* 97: 317-325.
- LIU, W., M. HEASMAN, R. SIMPSON, S. DWORJANYN Y I. PIROZZI. 2006. Growth and feeding in juvenile triploid and diploid blackli abalone, *Haliotis rubra* (Leach, 1814), at two temperatures. *Aquat. Nutr.* 12: 410-417.
- LODEIROS, C. Y L. FREITES. 2008. Estado actual y perspectivas del cultivo de moluscos bivalvos en Venezuela. Estado actual del cultivo y manejo de bivalvos y su proyección futura (factores que afectan su sustentabilidad en América Latina). Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. 135-150pp.
- MAEDA, A. 2002. Los moluscos pectinidos de Iberoamérica Ciencia y Acuicultura. Primera Edición. Editorial LIMUSA. México. 106-107 pp.
- MALDONADO, R., J. RAMÍREZ, S. AVILA Y A. IBARRA. 2004. Triploid lion-paw scallop (*Nodipecten subnodosus* Sowerby); growth, gametogenesis, and gametic cell frequencies when grown at a high food availability site. *Aquat.* 235:185-205.
- MOLLEDA, P., Y. G. DE SEVEREYN, H. SEVEREYNY J. MOLINA. 1999. Determinación del número de cromosomas de *Polymesoda solida* (Bivalvia: Corbiculidae) utilizando dos métodos citogenéticos. *Ciencia.* 7:17-22.
- MUÑOZ, J. 2002. Tasa de filtración a diferentes salinidades y temperaturas, del molusco bivalvo *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) presente en el lago de Maracaibo. Trabajo Especial de Grado, Facultad Experimental de Ciencias, Dpto. de Biología, Univ. del Zulia, Maracaibo. 26 pp.

- NORMAND, J., B. ERNANDE., J. HAURE., H. MCCOMBIE Y P. BOUDRY. 2009. Reproductive effort and growth in *Crassostrea gigas*: comparison of young diploid and triploid oysters issued from natural crosses or chemical induction. *Aquat Biol.* 7: 229–241.
- NORRIS, B. Y N. PRESTON. 2003. Triploid induction in the tropical abalone, *Haliotis asinina* (Linne), with 6-dimethylaminopurine. *Aquat. Res.* 34: 261-264.
- NORRIS, B., F. COMAN., M. SELLANS Y N. PRESTON. 2005. Triploid induction in *Penaeus japonicus* (Bate) with 6- dimethylaminopurine. *Aquat. Res.* 36: 202-206.
- OCAMPO, R., L. RÍOS, L. BETANCUR Y M. OCAMPO. 2008. Curso práctico de Química orgánica. Enfocado a Biología y alimentos. Primera Edición. Editorial Universidad de Caldas. Colombia. 46 pp.
- OKUMURA, S., K. ARAI, Y. HARIGAYA, H. EGUCHI, M. SAKAI, H. SENBOKUYA, S. FURUKAWA Y K. YAMAMORI. 2007. Highly efficient induction of triploid Pacific abalone *Haliotis discus hannai* by caffeine treatment. *Fish. Sci.* 73:237-243.
- PARK, G., T. YONG, I. IM-KYUNGY E. CHUNG.2000. Karyotype of three species of *Corbicula* (Bivalvia: Veneroidea) in Korea. *J. Shellfish Res.* 19:979-982.
- PASCOE, P. Y D. DIXON. 1994. Structural chromosomal polymorphism in the dog-whelk *Nuccella lapillus* (Mollusca: Neogastropoda). *Mar. Biol.*118:247-253.
- PIERCE, B. 2010. Genética un enfoque conceptual. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 260 pp.
- PIFERRER, F., A. BEAUMONT, J. FALGUIERE, M. FLAJSHANS, P. HAFFRAY Y L. COLOMBO. 2009. Polyploid fish and shellfish: Production, Biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquat.* 293: 125-156.
- RAMÍREZ, A. 2009. Evaluación de la ventaja productiva y grado de esterilidad en triploides de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Sowerby 1835) como una alternativa para el cultivo en el parque nacional Bahía de Loreto, Golfo de California. Tesis de Maestría en Ciencias de Recursos Marinos. CICIMAR- IPN. 93 pp.
- RODRIGUEZ, F., M. GASCA Y J. DE LA ROSA, J. 1991. Un método citogenético para la obtención de cromosomas para estudios de bandedo y de morfología fina de los cariotipos de moluscos bivalvos de la familia *Ostreidae*. *Cienc. Mar.* 17: 1-10.
- RUIZ, C., J. RAMÍREZ, J. ALLEN Y A. IBARRA. 2000. Triploid catarina scallop (*Argopecten ventricosus* Sowerby II, 1842): growth, gametogenesis, and suppression of functional hermaphroditism. *Aquat.* 186: 13-32.
- SCARPA, J., J. TORO Y K. WADA. 1994. Direct comparison of six methods to induce triploidy in bivalves. *Aquaculture.* 119: 119-133.

- SEVEREYN, H., Y. GARCIA DE S. Y J. EWALD. 1994. Revisión taxonómica de *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) (Bivalvia: Corbiculidae) nuevo nombre de *P. arcata* la almeja estuarina del Lago de Maracaibo y otros estuarinos de las costas atlánticas tropicales de América. *Ciencia*. 2: 53-65.
- STILES S. Y J. CHOROMANSKI. 2002. Trends in genetics of bivalve mollusks: A review. International Council for the exploration of the sea, Mariculture Committee. Report C.M. 2002/U11, NOAA/NMFS, Connecticut, Estados Unidos. 89 pp.
- THIRIOT C. Y N. AYRAUD. 1982. Les caryotypes de quelques espèces de Bivalves et de Gastéropodes marins. *Mar. Biol.* 70: 165-172.
- VALENZUELA, T. 2013. Efecto de los factores ambientales sobre el crecimiento y supervivencia de ostiones triploides y diploides de *Crassostrea gigas* en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa. Tesis para obtener el título de Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente. Instituto Politécnico Nacional. México. 30 pp.
- VILLARROEL, E., E. BUITRAGO Y C. LODEIROS. 2004. Identificación de factores ambientales que afectan al crecimiento y la supervivencia de *Crassostrea rhizophorae* (mollusca: bivalvia) bajo condiciones de cultivo suspendido en el Golfo de Cariaco, Venezuela. *Rev. Cien, FCV-LUZ*. 14: 28-35.
- ZARAIN, M. Y C. VILLALOBOS. 2012. Manual de operación y manejo biológico del cultivo de Ostión. Centro de Ciencias de Sinaloa. Primera Edición. México, 9 pp.
- ZHANG, G., Y. CHANG, J. SONG, J. DING, J. SHEN Y Y. WANG. 1998. Triploidy induction in Pacific oyster *Crassostrea gigas* by caffeine with thermal shock. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 16:22-29.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

**BOLETÍN DEL CENTRO DE
INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS**

Vol.50 N° 2_____

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada
en agosto de 2016, por el **Fondo Editorial Serbiluz,**
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve