

# 斑节对虾的遗传育种研究

谭树华<sup>1</sup>, 王桂忠<sup>1</sup>, 周杰良<sup>2</sup>

(1. 厦门大学海洋学系 361005; 2. 湖南生物与机电工程职业技术学院园艺系 410129)

斑节对虾(*Penaeus monodon*)俗称草虾, 是世界三大养殖虾类之一。广泛分布于印度洋和西太平洋, 也是我国本土优质对虾资源之一, 但尚未形成遗传稳定的养殖品系, 养殖种苗除少数来自海捕外, 绝大多数通过人工繁殖获得。供人工繁殖的亲虾主要来自两方面: 一是捕捞野生怀卵虾, 二是通过摘除眼柄和人工诱导野生雌虾性成熟和产卵, 但二者均依赖野生资源。斑节对虾养殖的迅速发展对野生资源造成了极大的压力, 过度开发势必引起种质的退化; 同时, 长期依赖野生亲体培育苗种产生了一些弊端, 如亲体携带病毒, 养殖对象生长减慢, 抗病力下降等。因此, 为保护野生资源和阻止野生虾类遗传多样性的丧失, 尽快形成遗传稳定的养殖品系显得尤为迫切。

对虾的遗传及育种工作始于 80 年代, 但由于受技术手段的限制, 进展较慢。自 90 年代以来, 由于各种生物技术和分子生物学技术应用于对虾的遗传学和育种研究, 研究步伐明显加快。本文主要对斑节对虾的遗传学和育种研究概况进行了总结和述评, 旨在为斑节对虾等虾类的遗传学和育种研究提供参考资料。

## 1 遗传学研究

### 1.1 数量遗传学研究

养殖对象的大多数经济意义性状(如生长速率、抗逆性、大小等)都是多基因控制的数量性状。研究和改良数量性状是遗传学和育种的重要内容, 可为评估对选择反应等提供理论基础和方法。但其受环境影响较大, 使合理评估一些数量性状遗传受到制约。早期的虾类大小等的遗传力评估误差太大<sup>[1]</sup>。而后来的一些数量遗传研究方法的改进则为遗传育种提供了一些合理的指导, 但数量遗传的资料仍较少。许多研究表明, 对虾的生长是可遗传的, 遗传力估计为 0.1-0.35<sup>[2,3]</sup>。生长和存活的遗传力为 0.42±0.059<sup>[4]</sup>。Benzie 等<sup>[5]</sup>以 18 尾斑节对虾雄虾, 各自与 2 尾雌虾交配, 以相对受环境影响较少的父系成份变化来评估第 6 周和第 10 周重量的遗传力大小, 后代中大约 10% 的生长差异受遗传控制, 而第 6 周和第 10 周重量的遗传力分别为 0.56±0.03, 0.39±0.004<sup>[6]</sup>。Cheng 和 chen 等<sup>[7]</sup>对养殖环境中的斑节对虾生长特性和体长、体重等遗传参数的进行了相关性研究。而 Primavera 等<sup>[8]</sup>则报道了不同来源(野生和养殖)、不同性别、不同发育阶段的斑节对虾的头胸甲长、体长和体重等遗传参数的相关性。目前, 一些新的方法和技术已开始应用于数量遗传学研究, 澳大利亚 CSIRO 小组已开始运用选择杂交和微卫星标记来评估对虾生

收稿日期:2002-09-18

长的遗传力, 以建立亲体谱系和生长相关的数量形状标记<sup>[9]</sup>。

## 1.2 细胞遗传学研究

细胞遗传学研究是染色体操作(单倍体、多倍体育种等)和遗传改良(杂交育种、转基因育种等)研究的基础, 孔凡俊等<sup>[10]</sup>报道斑节对虾的染色体数目为  $2n=88$ , 但没有核型分析的报道。随后 Kumard 等<sup>[11]</sup>报道其染色体为  $2n=88$ , 核型公式为  $2n=88=16m+20sm+10st+42t$ ,  $NF=124$ 。但还没有性染色体和带型分析的报道。

## 1.3 遗传结构及遗传多样性研究

群体的遗传结构及遗传多样性研究是遗传育种的基础, 对虾遗传改良和育种的一个主要障碍是对其遗传基础和养殖群体的遗传状况不能进行有效评价<sup>[12]</sup>。因此, 发展能表现遗传变异水平的各种标记一直是育种工作的重要内容。主要包括生化水平和 DNA 水平的分子标记的研究和应用。

### 1.3.1 生化水平的研究

80 年代, 对虾的遗传选育以对亲虾的同工酶和形态测定为基础, 选取遗传多样性高和杂合度大的亲体作为建群种, 然而, 同工酶数据由于方法的局限性, 揭示的遗传变异性很低, 地理差异小, 杂合度低。Benzie 等<sup>[13]</sup>综述的 27 个对虾种的实际杂合度为 0.01~0.11, Hedgecock 等<sup>[14]</sup>报道了十足目(Decapoda)平均杂合度为 0.048。然而, 90 年代以来, 斑节对虾的同工酶(或等位酶)数据表明, 由于各海区的生物地理和历史形成不同, 在其分布范围内存在不同的地理分布模式和遗传分化。Sugama 等对印度尼西亚 7 个种群的等位酶分析表明, 7 个种群具有相对较低的遗传变化, 平均杂合性  $H_o=0.03$ , 但聚类分析揭示分化程度随地理区域不同而存在变化<sup>[15-16]</sup>。然而 Forbes 等发现西南印度洋 2000 公里范围内的 5 个群体的遗传距离却低于 0.002, 平均杂合度为 0.08~0.12, 存在高基因流和随机交配性, 未出现遗传的地理变化<sup>[17]</sup>。

相对于其它生物, 斑节对虾等十足目动物的生化水平检测的遗传变异很低, 不能为遗传育种提供有用的遗传标记<sup>[3]</sup>。因而必需发展更为灵敏的 DNA 分子标记来评估其遗传结构和遗传多样性, 构建遗传连锁图谱, 以加快遗传育种进程。

### 1.3.2 DNA 水平研究

90 年代以来, 随着以 DNA 为基础的分子标记和 PCR 技术的广泛应用, 各种分子标记如 mtDNA, RAPD, 微卫星 DNA, AFLP 等, 作为遗传标记辅助育种的基础和重要内容, 亦被广泛用于斑节对虾野生群体和养殖群体的遗传学研究, 揭示出斑节对虾较高的遗传多样性水平和地理分化, 同时灵敏的分子标记还用于监测封闭群体近交的程度和有效繁殖种群的大小, 为遗传改良和遗传育种提供了遗传学上的基础。

#### 1.3.2.1 mtDNA 的应用

mtDNA 作为核外遗传物质, 其进化速度快、非重组变异和母系遗传等特点, 使其成为群体遗传结构和遗传多样性水平的合适标记, 但甲壳动物 mtDNA 较难提取和产量低<sup>[18]</sup>。因此, 除少部分采用 RFLP 分析外, 绝大部分采用 mtDNA 部分基因序列扩增产物的 RFLP 分析或测序数据。它比生化水平揭示的遗传变化水平高, 可为遗传育种亲体选择、QTL 鉴定提供分子依据。

Benzie 等<sup>[19]</sup>对澳大利亚西部和东部沿岸的斑节对虾 mtDNA 进行 RFLP 分析, 基因

型频率分析表明二者存在遗传分化,比等位酶揭示的遗传多样性更高。Bouchon 等<sup>[20]</sup>利用 mtDNA 的 16SrRNA 和 12SrRNA 的 PCR-RFLP 技术对斑节对虾和日本对虾进行鉴定,并发现来自斐济、澳大利亚和马来西亚的斑节对虾养殖品系间存在 1.68% 的序列差异,表明亲体间即已发生遗传分化。Klinbunga 等<sup>[21]</sup>也以 mtDNA-RFLP 对安德曼海和泰国湾三个斑节对虾种群的遗传结构和遗传变化进行了研究,杂合性分析二者存在地理分化,为遗传育种中建群种选择提供了遗传学上的证据,并报道了来自泰国、马来西亚和印尼的斑节对虾 mtDNA 核苷酸多样性为 0.040-0.058(平均为 0.0387),明显高于菲律宾(0.008-0.010)和澳大利亚(平均 0.010)种群。Shelehan 等以 mtDNA 的 12SrRNA 和 16SrRNA 的 PCR-RFLP 分析了印度南部斑节对虾种群的遗传变化,证明 PCR-RFLP 在虾类的遗传育种是一个有用的分子标记<sup>[22]</sup>。随后 Wilson 等对斑节对虾的 mtDNA 的完全序列、基因含量和顺序进行了研究<sup>[23]</sup>。数量性状座位(QTL)定位在南美白对虾(*Penaeus monodon*)中已有报道,其 mtDNA 的 CO I 基因变异同生长相关<sup>[6]</sup>。但斑节对虾的生长和繁殖等调控基因还未有报道。

### 1.3.2.2 RAPD 的应用

RAPD 是对基因组 DNA 序列多态性进行检测的一种简单可靠方法,无需了解遗传背景和进行特异引物设计。适合种内和种间的遗传检测,比 RFLP 检测的多态座位要多,对杂合度较低的虾类特别有用。因而在对虾的遗传多样性研究、遗传图谱构建和辅助标记育种等方面都有重要应用。

Garcia 等以 RAPD 标记研究斑节对虾的遗传变异,探讨了 RAPD 在建立对虾类标记辅助选择育种中的应用<sup>[3]</sup>。Tassanakajon 等<sup>[25]</sup>以 RAPD 技术分析了泰国 3 个地理种群的遗传差异,地理种群间遗传变化水平明显,并同时检测到地理种群的特异标记,因而可用于选择育种中亲体选择。随后 Tassanakajon 等<sup>[26]</sup>再以 RAPD 研究了野生斑节对虾的遗传变化,表明安德曼海和泰国湾这两个主要渔业区斑节对虾遗传分化明显,泰国和印度尼西亚斑节对虾的基因型频率也存在大的差异。Klinbunga 等<sup>[27]</sup>同时以 RAPD 和 mtDNA 的 16SrRNA、CO I 和 CO II 基因的 PCR-RFLP 分析了泰国湾和安德曼海斑节对虾共 5 个地理种群的遗传结构和遗传多样性,两方法均说明安德曼海和泰国湾种群存在遗传分化。

### 1.3.2.3 微卫星 DNA 的应用

微卫星 DNA 又称简单序列重复(SSR)或短串联重复(STR),一般为 1-5 个碱基为一单元的重复序列,在整个基因组上高度多态且比 RFLPs 和串联重复序列(VNTRs)更随机分布,是一种高度变化的中性遗传标记。对近缘种和地理分布范围缩小的物种的遗传变化敏感,也适合于检测长期养殖群体的遗传变化<sup>[28]</sup>。近几年来斑节对虾的遗传变化研究中也越来越多地采用微卫星标记。Tassanakajon 等<sup>[29]</sup>从部分基因组文库分离和研究了斑节对虾微卫星序列的特征,发现其主要为不完全的(GT)(n)和(CT)(n),且微卫星高度多态,可用于种群和亲体确定和检测养殖群体遗传变化。但在虾类中其丰度低和不易获得大量有用的微卫星位点而不适合遗传图谱构建和 QTL 检测<sup>[30,29]</sup>。而 Xu 等<sup>[31]</sup>从斑节对虾基因文库中,以重组克隆直接测序分离出了 99 个微卫星序列,则为斑节对虾等对虾类微卫星图谱构建提供了可能。Supungul 等<sup>[32]</sup>以 5 个微卫星位点调查了泰国 5 个地区斑节对虾的遗传分化,地理种群间杂合性存在差异,可分为三个明显不同的地理种群。随后 Xu 等<sup>[33]</sup>以 6 个微卫

星位点对菲律宾4个地区野生斑节对虾的遗传多样性与红树林和养殖系统的关系进行了研究。发现野生群体间和野生群体与养殖群体间均存在明显的遗传分化,养殖群体遗传多样性减少。Brooker等<sup>[34]</sup>亦从斑节对虾中分离出三个高度多态的微卫星位点,对澳大利亚5个种群的遗传结构和遗传分化进行了研究,表明与生物地理历史相关,和mtDNA和等位酶的研究结果相吻合。

### 1.3.3 分子遗传图谱的构建

动物基因图谱构建是基因结构和功能研究及QTL定位的基础,在水产动物中,对于家系化和处于选择育种起步阶段的种类非常适合<sup>[35]</sup>,已成功地用于多种鱼类的遗传改良。对虾遗传育种中,主要的养殖品种遗传图谱的构建工作也已取得了一些重要的进展。Moore等(1999)以AFLP初步构建日本对虾的遗传连锁图谱,并已确立了同性别决定和生长相关的AFLP标记<sup>[35,30]</sup>。Wilson等<sup>[35]</sup>用23个扩增片段长度多态性(AFLP)引物构建出了斑节对虾初步的遗传连锁图谱,三个品系中总共673个多态AFLP位点同孟德尔分离定律相吻合,116个公共AFLP标记用来构建三品系的公共遗传连锁图谱,该连锁图谱具20个连锁群覆盖总的遗传距离为1412cM。而斑节对虾基因组大小约为2000cM,单倍体连锁群数目估计为44个(日本对虾约为2300cM)。因此该图谱的标记间的遗传距离过大,需要更多的标记或采用其它标记来提高遗传的饱和度,扩大基因组的覆盖范围。随着斑节对虾遗传连锁图谱的完善,对一些重要性状基因如:生长、繁殖、内分泌调控、抗病、抗逆性等基因的定位将会比表型筛选容易得多。

### 1.3.4 基因研究

近十年来,随着分子生物学技术特别是基因克隆技术的不断发展,cDNA文库筛选方法亦被广泛用来对甲壳动物的基因进行克隆和测序,已克隆和鉴定的基因以酶基因、生长和发育等生理调控类基因为主,斑节对虾亦从cDNA文库分离和鉴定了部分基因。Tan等<sup>[36]</sup>从斑节对虾分离获得一个全长几丁质酶cDNA,编码一个具有几丁质酶蛋白家族功能域的含621个氨基酸的蛋白质,该几丁质酶1(PmChi-1)基因与日本对虾肝胰腺表达的几丁质酶1基因序列81.1%相同。Sritunyalucksanna等<sup>[37]</sup>以淡水龙虾*Pacifastacus leniusculus*的ProPo的一个cDNA片段作为探针,从斑节对虾血细胞cDNA基因文库中筛选到酚氧化酶基因的cDNA,该cDNA具3002bp,包含一个2121的开放阅读框架和1个881bp的3'-非饱和区,但没有信号肽,与所有已克隆节肢动物ProPo不同。随后Sritunyalucksanna等<sup>[38]</sup>从虾血细胞cDNA文库中分离出一个 $\beta$ -葡聚糖结合蛋白基因。另外,Boonchuoy等<sup>[39]</sup>从腹部肌肉cDNA文库中筛选出一个1.8Kb的cDNA克隆PMMO20,鉴定为烯醇丙酮酸水合酶基因。

高血糖激素(CHH)是调节糖类代谢为主的一种多功能神经肽激素,在甲壳动物生理功能中起重要作用。Davey等<sup>[40]</sup>从斑节对虾眼柄cDNA文库中通过分离前激素原基因,鉴定了5个甲壳动物高血糖激素(CHH)家族,该激素前体包含了一个信号肽,一个CHH前体相关肽和一个类CHH激素。Udomkit等<sup>[41]</sup>亦从斑节对虾眼柄cDNA文库克隆了CHH/MIH/GIH家族之一Pem-CMG肽,该肽与其它虾类的CHH/MIH/GIH家族同源性高,但该Pem-CMG基因编码序列仅有1个内含子,同早先报道的*Charybdis feriatus*的MIH和*Metapenaeus ensis*的CHH肽的MIH具两个内含子的结构明显不同。

## 2 育种学研究

### 2.1 选择育种

目前, 虾类均未形成养殖品系, 但其世代时间短、生育力高、人工培育苗种的成功等都有利于选择育种的开展, 而分子标记技术的广泛应用, 证明斑节对虾等虾类在分布区内存在一些遗传多样性高的种群, 提供了进行选择育种的遗传潜力。Lester 等<sup>[42]</sup>提出了以同工酶结合形态测定为基础进行亲体选择的对虾遗传育种方案, 表明维持有效繁殖群体大小、避免随机遗传漂变(瓶颈效应)和近交衰退至关重要。Sbordone 等<sup>[43]</sup>对养殖日本对虾的遗传分析表明, 由于有效亲体数目减少, 导致严重的瓶颈效应, F1 到 F5 代平均杂合性由 0.102 下降至 0.033, F7 代则为 0.018, 同时孵化率由 0.5 下降至 0.2。而 Sunden 等<sup>[44]</sup>对南美白对虾(*P. vannamei*) 3 个野生群体和一个养殖群体的遗传变化进行了研究, 该养殖群体自 1983 年即采用封闭式群体养殖, 发现群体的等位基因数目减少, 但杂合性没有显著降低, 近交和有效繁殖群体大小的减少不明显, 并认为通过短期扩大基础群体的多样性或通过采用大数目育种的后代可提高种质的遗传多样性, 防止近亲交配。最近 Goyard 等<sup>[45]</sup>对蓝对虾(*Penaeus stylirostris*)进行混合选择(mass selective), 与未经选择虾相比, 第五代时生长率增加了 21%。Argue 等<sup>[46]</sup>对南美白对虾的生长和抗 TSV (Taura Syndrome virus) 进行了选择育种, 经一代选择生长提高 21.2%, 70%抗 TSV 和 30%生长的选择, 经一代选择成活率提高了 18.4%。日本对虾在养殖条件下繁殖 3 代, 每代平均大小也增加了 15%<sup>[12]</sup>, 而斑节对虾还未有具体选择育种结果的报道。但其数量遗传学研究(如遗传力)方面的进展(如前 1.1 所述)和生物技术与分子生物学技术(如遗传图谱构建已初步完成)的应用, 必将推动斑节对虾的选择育种研究。

### 2.2 无特定病原 SPF 和抗特定病原 SPR 苗种的培育

自 20 世纪 80 年代末期对虾养殖病害时有发生以来, 目前病原数目不断增多(1988 年, 已知 6 种病毒感染虾类, 1993 年为 11 个, 1998 年已达 20 个), 加上种质退化, 养殖环境污染加剧, 已严重制约了对虾养殖业的健康、持续发展。而利用经过遗传改良(驯化)的对虾种群、培育无特定病原和抗特定病原(Specific pathogen Free and Specific Pathogen resistant)的种苗是解决这一问题的根本途径。已有的研究表明对虾的生长、抗病力是高度遗传的, 如南美白对虾的抗病遗传力 22%。20 世纪 90 年代, 美国的海产对虾养殖计划 USMSFP(U.S marine shrimp Farming Project)是最早的养殖对虾遗传选育计划, 其目的是高度健康的对虾种群的培育、遗传多样性的保持和重要商业性状的遗传改良, 从源头上为对虾养殖业提供健康的苗种, 其方法是以 RFLP、RAPD、微卫星 DNA 等技术对斑节对虾、南美白对虾的遗传多样性及种群的遗传结构进行了研究, 用于指导高健康对虾和无特异病原虾 SPF 的系统选育, 已经培育出高健康和无特异病原虾品系, 并得到了这些品系的特征分子标记。Wolfus 等(1997)将微卫星标记应用于南美白对虾等的养殖选育计划, 确定了 23 个种群特异性标记探针, 为高健康虾品系选育及监测种系内遗传变异程度提供了理论依据和指导。目前, 我国对虾主要养殖品种的苗种生产已基本突破, 但在对虾品种的选育方面, 与国外渔业发达国家相比, 还存在较大的差距。因此, 有必要加强中国对虾、斑节对虾等本地品种的良好选育工作, 培养抗病力强, 生长快的优良

品种。

### 2.3 杂交育种

虾类精荚移植人工受精和体外受精技术的成功,促进了虾类种间和种内杂交的研究。虾类种内人工授精在封闭式和开放式纳精囊虾类均有不少成功的报道<sup>[46]</sup>。Lin 和 Ting<sup>[49]</sup>研究了斑节对虾的精荚人工移植和人工受精。而对虾种间成功的杂交至今仅有四组:*P. monodon*×*P. penicillatus*<sup>[50]</sup>,*P. monodon*×*P. esculentus*<sup>[51]</sup>,*P. setiferus*×*P. stylirostris*和*P. setiferus*×*P. schmitti*<sup>[52]</sup>。斑节对虾仅有2个组合的成功报道, Lin 等<sup>[50]</sup>对*P. monodon*×*P. penicillatus*的回交试验,产生了杂交幼体,后代比双亲生长稍快,表现出杂交优势,但存活到 PL20 阶段都小于 1%,杂交后代摘除眼柄也不能促使卵巢性成熟。Benzie 等<sup>[51]</sup>对*P. monodon*×*P. esculentus*杂交,也成功地产出杂交后代,存活率较其它杂交对虾后代高,但孵化率低,故存活到 PL20 的幼体同其它组合相似约为 1%。随后 Benzie 等<sup>[53]</sup>对*P. monodon*×*P. esculentus*进行人工授精,产卵率达 53%,平均产卵数目为 158,000 到 438,000 之间,但 9 个产卵组的孵化率均低于 4%。杂交后代兼有斑节对虾的生长快的特点和两亲体的中间体色模式,并认为对虾杂交生产的障碍主要是受精和卵的孵化,而不是孵化幼体的活力。

### 2.4 转基因育种

转基因育种是采用显微注射、电穿孔、精子载体及基因枪等方法将目的基因导入受体中,使之整合和表达,定向改变某一性状以获得目的动物的一种方法。虾类的转基因研究已有近十年的历史,其中以中国对虾研究较多。近几年,斑节对虾的转基因育种也已取得了较大进展。Asulaiman 等<sup>[51]</sup>探讨了基因注射技术在斑节对虾转基因研究中的可行性,以 CMV(人巨细胞肥大病毒)为启动子,结合半乳糖苷酶基因的质粒从第二腹节肌肉注射,荧光检测在第 2、7、10 天后在注射部位检测到了基因表达,其它 2 个实验仅在第二腹节表达。而 Tseng 等<sup>[55]</sup>采用电脉冲法,以融合标记蛋白(pFLAG)为载体,以 CMV 为启动子,将含有目的基因碱性磷酸酶(BAP)的 DNA 片段(pFLAG-CMV-1-BAP)导入受精卵,Southern 杂交分析表明 31%转基因虾整合有外源基因,且在大部分组织呈镶嵌分布,免疫组化分析显示 pFLAG-BAP 融合蛋白存在于转基因虾的整个卵巢中。目前,无特定病原 SPF 或抗特定病原 SPR 疫苗的培育是对虾养殖业的一个重要方向,除将生长激素基因等转入对虾体内外,转基因育种的另一个重要应用即是将抗菌肽、溶菌酶和体液凝集素等抗病基因导入对虾体内,是解决目前对虾病原数目不断增加,抗逆性下降,种质资源退化的一个有效途径。但目前种间杂交卵的孵化率和后代的存活率和种内相比较低,仍处于起步阶段,但随着对虾转基因技术的不断成熟,SPF 疫苗生产这方面的应用将会增加。

## 3 结语

近十年来,斑节对虾在种群遗传结构和遗传多样性研究、数量遗传学、杂交育种和转基因育种等方面都取得较大进展,为其遗传育种和遗传改良提供了遗传学基础,特别是一些主要养殖虾类遗传连锁图谱的不断完善,一些特异性状基因的鉴别、筛选和克隆等

都将加快斑节对虾等虾类的遗传育种进程,为最终形成养殖品系打下基础,但虾类遗传育种仍要克服的一个主要障碍是养殖虾类不能自然性成熟或性腺发育不良。在我国斑节对虾的养殖、育苗、病害等研究较多,对种群遗传状况和基因研究基本尚属空白,这对其遗传育种和家系化是极为不利的,有必要加强这方面的研究。而单倍体育种(雌核发育、雄核发育)和多倍体育种、性别控制等在我国的中国对虾研究较多,具有一定基础,但斑节对虾尚未有这方面的报道,这也是一个值得研究的领域。

#### 参考文献:

- [1]Lester L.J. Difference in larval growth among families of *Penaeus styliostris* Stimpson and *Penaeus vannamei* Boone .Aquacul.Fish.Mgmt, 1988,19:243-251.
- [2] Daud, S.K., McAndrew, B.J., Penman, D. Genetic population subdivision in Malaysian *P.monodon* Fabricius and its relation to hatchery stock management. Proc.World Aquacult Soc ,1996: 98-99.
- [3]Garcia D K,Benzie,J.A H.RAPD markers of potential use in penaeid prawn *Penaeus monodon* breeding programs.Aquaculture 1995, 130:137-144.
- [4] Carr WH, Fjalestad KT, Godin D et al. Genetic variation in weight and survival in a population of specific pathogen-free shrimp *Penaeus vannamei*, World Aquaculture '96 Book of Abstracts World Aquaculture Society p63.
- 5]Benzie JAH, Kenway M, Trott L.Estimates for the heritability of size in juvenile *Penaeus monodon* prawns from half-sib matings.AQUACULTURE. 1997,152 (1-4) :49-53.
- [6]Benzie JAH.A review of the genetics and enviroment on the maturation and larval quality of the giant prawn *Penaeus monodon*. Aquaculture.1997, 155:69-85.
- [7]Cheng ching shan and Chen lo-chai.Growth and characteristic and relationship among body length ,body weigh and tail weigh of *Penaeus monodon* from a culture enviroment in Taiwan. Aquaculture 1990,91:253-263.
- [8]Primavera J.H, Parado-Estepa F.D,Lebata J.L.Morphometric relationship of length and weight of giant tiger prawn *Penaeus monodon* according to life stage, sex and source.Aquaculture .1998,164:67-75.
- [9] Moore S.S, Whan V, Crocos P.M, et al . Mapping quantitative trait loci in the japanese king prawn *Penaeus japonicus*. International Society of Animal Genetics Conference, Tours France. Abstract, 1996..
- [10]孔凡俊, 张东 斑节对虾的染色体组型分析. 水产学报 1993 17(1) :83-84.
- [11]Kumar.Prem,Lakra Wis .Somatic chromosome s of the Black Tiger Prawn *Penaeus monodon*(Penaeida:crustacean) .Bulletin of Marine Science,1996, 59(3):556-559.
- [12]Rothlisberg PC. Aspects of penaeid biology and ecology of relevance to aquaculture: a review, Aquaculture 1998,164: 49-65.
- [13]Benzie, JAH .Population genetic structure in penaeid prawns Aquac. Res.2000,31:95-119.
- [14] Hedgecock D,Tracey M.L,Nelson K,The Biology of Crustacea, Embryology, Morphology and Genetics. vol. 2. Academic Press, New York, pp. 1982,283- 403.
- [15]Sugama K, Haryanti , Benzie JAH et al .Genetic variation and population structure of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, in Indonesia,Aquaculture 2000,205:37-48.

- [16]Duda TF, Palumbi SR Population structure of the black tiger prawn, *Penaeus monodon* among western Indian Ocean and western Pacific populations. MARINE BIOLOGY. 1999. 134(4):705-710.
- [17]Forbes AT, Demetriades NT, Benzie JAH. Allozyme frequencies indicate little geographic variation among stocks of giant tiger prawn *Penaeus monodon* in the South-West Indian Ocean., South African Journal Of Marine Science. 1999, 21:271-277.
- [18]Ovenden JR Mitochondrial DNA and matine stock assessment: a review Aust J Mar Freshwater Res .1990,41:835-853.
- [19]Benzie J.A.H, Ballment E, Frusher, S Genetic structure of *Penaeus monodon* in Australia: concordant results from mtDNA and allozymes. Aquaculture. 1993. 111, 89-93.
- [20]Bouchon D, Souty-Grosset C, Raimond R. Mitochondrial DNA variation and markers of species identity in two penaeid shrimp species: *Penaeus monodon* Fabricius and *P. japonicus* Bate. Aquaculture. 1994, 127: 131-144.
- [21]Klinbunga, S Penman, DJ McAndrew, BJ Tassanakajon, A Mitochondrial DNA diversity in three populations of the giant tiger shrimp *Penaeus monodon*. Mar. Biotechnol. 1999, 1:113-121.
- [22]Shekhar MS Chandra, PK Restriction profile of amplified mitochondrial DNA of wild shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) populations of India Indian J. Mar. Sci , 2000:65-68.
- [23]Wilson K, Cahill V, Ballment, E Benzie, J. The complete sequence of the mitochondrial genome of the crustacean *Penaeus monodon*: Are malacostracan crustaceans more closely related to insects than to branchiopods? Mol. Biol. Evol. 2000 863-874.
- [24] Benzie JAH. Penaeid genetics and biotechnology . Aquaculture 1998. 164:23-47.
- [25]Tassanakajon A, Pongsomboon S, Rimphanitchayakit V. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for determination of genetic variation in wild populations of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. Mol Mar Biol Biotechnol. 1997, 6: 110-115.
- [26]Tassanakajon A, Pongsomboon, S Jarayabhand, P Klinbunga, S Boonsaeng, V. Genetic structure in wild populations of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using randomly amplified polymorphic DNA analysis. Mar. Biotechnol. 1998, 6:249-254.
- [27]Klinbunga S, Siludjai D, Wudthijinda W. Genetic heterogeneity of the giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand revealed by RAPD and mitochondrial DNA RFLP analyses. Mar Biotechnol. 2001, 3 (5):428-438.
- [28] Bierne N, Beuzart I, Vonau V. Microsatellite-associated heterosis in hatchery-propagated stocks of the shrimp *Penaeus stylirostris*, Aquaculture , 2002, 184: 203-219.
- [29]Tassanakajon A, Tiptawonnukul A, Supungul P, et al. 1998. Isolation and characterization of microsatellite markers in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. Mol Mar Bio And Biotech, 7(1):55-61.
- [30] Moore S.S, Whan V, Davis G.P, et al The development and application of genetics markers for the Kurama prawn *Penaeus japonicus* . Aquaculture. 1999, 173:19-32.
- [31] Xu Z, Dhar AK, Wyrzykowski J, et al. Identification of abundant and informative microsatellites from shrimp (*Penaeus monodon*) genome . Animal Genetics 1999, 30 (2): 150-156.
- [32]Supungul, P Sootanan, P Klinbunga, S et al. Microsatellite polymorphism and the population structure of



- the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand. Mar. Biotechnol. 2000 2:339-347.
- [33] Xu, ZK Primavera, JH de la Pena, LD Pettit, P Belak, J Alcivar-Warren, A Genetic diversity of wild and cultured Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites Aquaculture. 2001, 199:13-40.
- [34] Brooker AL, Benzie JAH, Blair D, Versini JJ. Population structure of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* in Australian waters determined using microsatellite markers. Mar Biol 2000, 136(1):149-157.
- [35] Wilson K, Li YT, Whan V, Lehnert S. Genetic mapping of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* with amplified fragment length polymorphism. Aquaculture 2002, 204(3-4):297-309.
- [36] Tan SH, Degnan BM, Lehnert SA, The *Penaeus monodon* chitinase 1 gene is differentially expressed in the hepatopancreas during the molt cycle Mar. Biotechnol. 2000, 2: 126-135.
- [37] Srithigorngul P, Panchan N, Vilaivan T. Immunochemical analysis and immunocytochemical localization of crustacean hyperglycemic hormone from the eyestalk of *Macrobrachium rosenbergii* Comp. Biochem. Physiol. B-Biochem. Mol. Biol. 1999, 124(1):73-80.
- [38] Sritunyalucksana K, Lee SY, Soderhall K, A beta-1,3-glucan binding protein from the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, Dev. Comp. Immunol 2002, 26(30):237-245.
- [39] Boonchuoy C, Boonyawan B, Panyim S, et al, A cDNA sequence of phosphopyruvate hydratase (enolase) from Black Tiger Prawn, *Penaeus monodon*. Asia Pac. J. Mol. Biol. 1999 7(1):89-94.
- [40] Davey ML, Hall MR, Willis RH, Five crustacean hyperglycemic family hormones of *Penaeus monodon*: Complementary DNA sequence and identification in single sinus glands by electrospray ionization-Fourier transform mass spectrometry, Mar. Biotechnol. 2000, 2(1):80-91.
- [41] Udomkit A, Chooluck S, Sonthayanon B, Molecular cloning of a cDNA encoding a member of CHH/MIH/GIH family from *Penaeus monodon* and analysis of its gene structure, J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2000, 244(1): 145-156.
- [42] Lester LJ. Developing a selective breeding plan for penaeid shrimp Aquaculture. 1983, 33:41-50.
- [43] Sbordoni V, Matthaes E, Cobdlis *et al*, Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). Aquaculture. 1986, 57:239-251.
- [44] Sunden, S.L.F., Davis, S.K. Evaluation of genetic variation in a domestic population of *Penaeus vannamei* Boone: a comparison with three natural populations. Aquaculture. 1991, 97, 131-142.
- [45] Goyard E, Patrois J, Peignon JM, et al. Selection for better growth of *penaeus stylirodtris* in Tahiti and New Caledonic. Aquaculture. 2002, 204:461-468.
- [46] Argue BJ, Aree SM, Lolz JM, *et al*. Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus. Aquaculture. 2002, 204:447-460.
- [47] Wolfus, Greg M.; Garcia *et al* Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs 1997, 152: 35-47.
- [48] Misamore M, Browdy C.L. Evaluating hybridization potential between *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* through natural mating, artificial insemination and in vitro fertilization. Aquaculture. 1997, 150:1-10.
- [49] Lin M.N and Ting Y.Y. spermatophore transplantation and artificial fertilization in brass shrimp *Penaeus*

- monodon*. Bull Jpn Soc Sci Fish. 1985, 52:585-589.
- [50] Lin M.N, Ting Y.-Y., Hanyu I. Hybridization of two closed-thelycum penaeid species *Penaeus monodon*=*P. penicillatus* and *P. penicillatus*=*P. monodon*, by means of spermatophore transplantation. Bull Taiwan Fish Res.Inst. 1988,45:83-101.
- [51] Benzie J.A.H, Kenway M, Ballment E, Frusher S, Trott L. Interspecific hybridization of the tigerprawns *Penaeus monodon* and *Penaeus esculentus*. Aquaculture, 1995,133:103-111.
- [52] Bray WA, Lawrence AL, Lester LJ, et al Hybridization of *Penaeus setiferus* Linnaeus 1767 and *Penaeus schmitti* Birkenroad 1936 Decapoda J.Crustacean Biol 1990,10:278-283.
- [53] Benzie JAH, Kenway M, Ballment E. Growth of *Penaeus monodon*X*Penaeus esculentus* tiger prawn hybrids relative to the parental species. AQUACULTURE. 2001,193 (3-4) : 227-237.
- [54] Asulaiman ZH, Chan RHM, Simanjuntak PM. Gene expression in black tiger prawns following intramuscular injection of beta-gal plasmid. Aquac Int. 1999,7:333-340.
- [55] Tseng FS, Tsai HJ, Liao IC, Song YL. Introducing foreign DNA into tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by electroporation. Theriogenology. 2000,54 (9) :1421-1432.