

مقایسه ساختار ژنتیکی مولدین میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931)

وارداتی و پرورشی با استفاده از روش ریز ماهواره‌ای

چکیده

هدف از اجرای این تحقیق مقایسه شاخص‌های ژنتیکی ذخیره‌های مختلف مولدین میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) وارداتی (دو ذخیره) با مولدین پرورشی (یک ذخیره) مراکز تکثیر استان بوشهر در سال ۱۴۰۰ بود. در این مطالعه پس از استخراج DNA از بافت عضله مولدین ذخیره‌های مختلف، شاخص‌های ژنتیکی آن‌ها با استفاده ۱۰ جفت نشانگر اختصاصی پلی مورفیک از طریق روش ریز ماهواره‌ای مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میانگین آلل‌های واقعی در مولدین پرورشی نسل اول (F1) با میزان $4/00 \pm 0/298$ بیشتر از مقادیر مربوط به مولدین وارداتی نسل صفر در سال اول و دوم (F0:1, 2) به ترتیب با میزان $3/50 \pm 0/269$ و $3/90 \pm 0/233$ می‌باشد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در مولدین پرورشی با میزان $0/259 \pm 0/081$ نسبت به مولدین وارداتی نسل صفر سال اول و دوم به ترتیب با میزان $0/240 \pm 0/075$ و $0/161 \pm 0/040$ بیشتر بود، لیکن با توجه به افزایش هتروزیگوسیتی قابل‌انتظار میزان تنوع ژنتیکی در هر سه ذخیره کاهش یافت. ضریب هم‌خونی در مولدین وارداتی نسل صفر سال دوم با میزان $0/480 \pm 0/276$ بیشتر از مقادیر به‌دست‌آمده در مولدین پرورشی و وارداتی نسل صفر سال اول به ترتیب با میزان $0/300 \pm 0/286$ و $0/030 \pm 0/456$ بود. بیشترین میزان فاصله ژنتیکی ($0/380$) و تمایز ژنی ($0/100$) میان مولدین وارداتی نسل صفر سال اول با نسل صفر وارداتی سال دوم وجود داشت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده یکی از دلایل کاهش شاخص‌های ژنتیک در مولدین وارداتی در مقایسه با مولدین پرورشی نسل اول می‌تواند ناشی از کم بودن تعداد مولدین وارداتی مشارکت‌کننده در آمیزش (جمعیت بنیادی) و بهبود ژنتیکی مولدین پرورشی بوده باشد.

واژگان کلیدی: میگوی سفید غربی، مولد وارداتی، مولد پرورشی، شاخص ژنتیک.

محمد خلیل پذیر^{۱*}

آیه سادات صدر^۲

محمدعلی نظاری^۳

سجاد پورمظفر^۳

اشکان اژدری^۴

عقیل دشتیان نسب^۶

۱، ۳، ۶ پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، بوشهر، ایران.

۲. پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، اهواز، ایران.

۴. ایستگاه تحقیقات نرم‌تنان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، بندرلنگه، ایران.

۵. مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، چابهار، ایران.

کد مقاله: ۱۴۰۰۳۰۹۱۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۳۰

این مقاله پژوهشی و برگرفته از طرح پژوهشی

است.

مقدمه

میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) مهم‌ترین گونه میگوی پرورشی در سراسر جهان می‌باشد که سالانه بیش از چهار میلیون تن از تولید آبی‌پروری را به خود اختصاص داده است (FAO, 2019). در حال حاضر این گونه بیش از ۸۱ درصد از کل پرورش میگو در جهان

را تشکیل می‌دهد (Knibb et al., 2020). پرورش این گونه نقش مهمی در امنیت غذایی داشته و به‌طور قابل توجهی به اقتصاد ملی و معیشت کشورهای آسیایی، آفریقایی و آمریکای جنوبی کمک کرده است (FAO, 2012). این گونه به‌عنوان یک گونه غیربومی امروزه توانسته به‌عنوان گونه نخست پرورشی کشور محسوب گردد. با این وجود امروزه پرورش میگو در ایران به‌عنوان مهم‌ترین فعالیت اقتصادی با رشد سالانه ۶ درصد، با ارزش‌آوری بیش از ۱۴۵ میلیون دلار به ۴۸ هزار تن رسیده است (سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۹). با این وجود تخمین زده شده بود که تا پایان برنامه ششم توسعه در شهر یور سال ۱۴۰۰ میزان تولید میگو در کشور به رقم بالغ بر ۶۰ هزار تن برسد که به دلایل متعددی از جمله شیوع بیماری لکه سفید و مشکلات مربوط به تأمین مولدین عاری از بیماری خاص تاکنون این رقم محقق نشده است. با توجه به وجود ۶۱۰۰ هکتار سطح زیر کشت پرورش میگو در استان بوشهر، تأمین پست لارو باکیفیت و عاری از بیماری ارتباط مستقیمی با استفاده از مولدین باکیفیت و اصلاح نژاد شده دارد. با توجه به اینکه مولدین میگو قادرند در شرایط اسارت با تعداد کم تکثیر پیدا کنند هرگونه انتخاب دسته‌جمعی بدون ثبت اطلاعات شجره‌ای و یا سوابق خانوادگی می‌تواند بر سهم ژنتیکی در نسل بعدی اثر داشته باشد (Perez-Enriquez et al., 2009). بنابراین می‌توان با تولید مولدین اصلاح و به‌گزین شده در مراکز تکثیر تا حدود زیادی از پس‌روی ژنتیکی ناشی از هم‌خونی در اثر آمیزش‌های خویشاوندی و انتخاب‌های نادرست از طریق شناسایی جمعیت‌های مختلف این گونه در مراکز تکثیر پیشگیری نمود (Ren et al., 2020b). امروزه مشاهده می‌شود که مراکز تکثیر استان بوشهر مولدین مورد نیاز خود را از پست لاروهای حاصل از مولدین پرورش‌یافته در شرایط آب و هوایی ایران تأمین می‌نمایند. روند انتخاب مولدین پرورشی در مراکز تکثیر میگوی استان بوشهر بیشتر بر اساس صفت رشد می‌باشد، به‌طوری‌که در این روش میگوهای انتخاب می‌شوند که در زمان کوتاه‌تری به حداکثر رشد خود رسیده‌اند (پذیر و همکاران، ۱۴۰۰a). این نحوه انتخاب مولد علاوه بر اینکه باعث از بین رفتن شانس مشارکت میگوهای با وزن کمتر در تولید نتایج بعدی می‌گردد با حذف بسیاری از آل‌های مؤثر نیز همراه است (Moss et al., 2005; Tamayo, 2006). با اینکه هم‌خونی در جمعیت‌های میگوی پرورشی به‌خودی‌خود بد نیست لیکن افزایش این شاخص در جمعیت‌های میگو به دنبال آمیزش‌های خویشاوندی یک پدیده شایع می‌باشد، از این رو تجمع افراد هم‌خون در چندین نسل احتمال بروز آل‌های زیان‌آور مغلوب را در حالت هموزیگوت افزایش می‌دهد (Tave, 1993; Soares et al., 2021). به دنبال این رویداد پسرایی ناشی از هم‌خونی می‌تواند منجر به کاهش تنوع ژنتیکی و کاهش عملکرد صفاتی مانند رشد، بازماندگی و افزایش حساسیت به عوامل بیماری‌زا می‌گردد. از سوی دیگر باینکه واردات مولد از خارج از کشور می‌تواند به غنای ژنتیکی ذخایر مولدین میگوی سفید غربی در کشور کمک نماید، لیکن به دلیل افزایش هزینه‌های تولید این کار به‌ندرت انجام می‌گیرد. با این وجود در برخی از سال‌ها مدیران مراکز تکثیر بدون آگاهی از سوابق شجره‌نامه‌ای و شاخص‌های ژنتیکی مولدین خریداری‌شده، اقدام به واردات محدود مولدین عاری از بیماری خاص با هزینه‌های هنگفت نموده‌اند. عنوان شده که شایع‌ترین علت کاهش تنوع ژنتیکی در میگوها استفاده از تعداد کم مولدین در مراکز تکثیر و آمیزش‌های صورت گرفته در اثر انتخاب‌های سهوی یا عمدی می‌تواند باشد (Knibb et al., 2020). بنابراین اطلاع از شاخص‌های ژنتیکی مولدین تا حدود زیادی می‌تواند مانع از پس‌روی ژنتیکی ناشی از هم‌خونی در نسل‌های مختلف مولدین پرورشی در کشور گردد. یکی از راهکاری اساسی افزایش بهره‌وری، اطلاع از شاخص‌های ژنتیکی مولدین، به‌گزینی و ایجاد آمیزش بین گروهی ذخایر پرورش داده‌شده به‌منظور بالا بردن هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در نتایج حاصله و افزایش میزان تنوع ژنتیکی می‌باشد (Hillen et al., 2017). از این رو در این مطالعه سعی شده با مقایسه میزان شاخص‌های ژنتیکی مولدین وارداتی و پرورشی در دو نسل مختلف، میزان شاخص‌های ژنتیکی در آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه شاخص‌های ژنتیکی مولدین میگوی سفید غربی وارداتی (دو ذخیره) از شرکت مولوکائی بروداستوک (Molokai Broodstock Company) واقع در منطقه مولوکائی جزیره هاوایی به عنوان مولدین وارداتی نسل صفر (F0: 1,2) طی دو سال متوالی با شاخص‌های ژنتیکی مولدین پرورشی (یک ذخیره) حاصل از مولدین وارداتی نسل صفر سال اول (F0:1) به عنوان مولدین پرورشی نسل اول (F1) طی سال ۱۴۰۰ در پژوهشکده میگوی کشور مورد مقایسه قرار گرفتند. بدین منظور بطور جداگانه نمونه‌گیری از ۳۰ قطعه بافت عضله پای شنای مولدین وارداتی در سال اول و دوم و مولدین پرورشی نسل اول در مجموع ۹۰ قطعه به عمل آمد. نمونه‌های اخذ شده در مجاورت الکال ۷۰ درصد در درجه حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی پژوهشکده میگوی کشور منتقل گردیدند. استخراج ماده ژنتیکی DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت تجاری پیشگامان زیستی پارسه انجام شد. روش کار به این صورت بود که بعد از جدا سازی ۵۰-۳۰ میلی گرم از بافت عضله پای شنا و افزودن ۱۷۰ میکرولیتر بافر لیزکننده (Lysis buffer) همراه با ۳۰ میکرولیتر پروتئیناز K به هر کدام از میکروتیوب‌های حاوی نمونه‌های بافتی، هموژنیزه نمودن آنها انجام شد. انکوباسیون آنها به مدت یک ساعت در درجه حرارت ۵۶ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. در ادامه با انتقال محلول بدست آمده به ستون‌های فیلتردار و افزودن بافرهای مختلف موجود در کیت با استفاده از ۲۰۰ میکرولیتر اتانول مطلق ۹۸ درصد و سانتریفوژ نمودن در دور ۱۰،۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه استخراج ماده ژنتیکی نمونه‌ها انجام شد. بمنظور تعیین کیفیت و کمیت DNA های استخراج شده به ترتیب براساس وجود یا عدم وجود باند از ژل آگاروز ۱ درصد و نانودراپ مدل A&E Lab در طول موج‌های ۲۶۰، ۲۸۰ نانومتر و نسبت $\frac{260}{280}$ نانوگرم بر میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفتند (García-Alegria et al., 2020).

تکثیر توالی‌های تکراری DNA های نمونه‌های استخراج شده از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction) با استفاده از ۱۰ جفت نشانگر اختصاصی پلی مورفیک میگوی سفید غربی ساخته شده توسط شرکت متابیون آلمان به سفارش شرکت سهامی خاص روبین طب صورت پذیرفت (Wolfus et al., 1997; Cruz et al., 2003; Freitas et al., 2007; Garcia and Alcivar-Warren, 2007) (جدول ۱).

جدول ۱: توالی نشانگرهای استفاده شده در تکثیر توالی‌های تکراری ریزماهورهای میگوهای سفید غربی (*L.vannamei*) (سال ۱۴۰۰).

ردیف	پرایمر	توالی (5'→3')	جفت باز
Lvan01		F: GCCATAAACGCAAGACTGAG	۱۴۶-۱۳۶
		R: GCAGGTATACGGTCATGTGTA	
Lvan07		F: AAAGAGGAAGATGAGGAAG	۲۲۳-۱۸۹
		R: CCTCGGTTACGTATTTATTG	
Pvan0013		F: TGCTCTGGTAACGACAAACG	۲۸۴-۲۷۶
		R: AGACCTGTGGCGAAGTGC	
Pvan1758		F: TATGCTCGTTCCCTTTGCTT	۱۸۹-۱۶۳
		R: TTGAAGGAAAAGTGTTGGGG	
Pvan1815		F: GATCATTCGCCCCCTCTTTTT	۱۴۱-۱۲۶
		R: ATCTACGGTTCGAGAGCAGA	
TUMXLv5.27		F: CAGACCCTAAATCTCCGTGC	۱۸۲-۱۶۶
		R: TGGAAAGGTCAGAGGTCACG	

جفت باز	توالی (5'→3')	پرایمر	ردیف
۲۲۲-۲۰۰	F: CCTTTATGACTTCCCCCGAC R: CCGTACAGAAACGGAACGTC	TUMXLv5.38	
۲۲۸-۲۱۶	F: TTACCGCCTAAGAGCGAATG R: TGTCTTTTCGTACCAGTCAAG	TUMXLv8.32	
۲۱۷-۲۱۰	F: GTGTGTTGCGGAATCGAA R: CTAACCCAATATCGAATC	M1	
۱۲۶-۱۱۵	F: TGCTAGAATGTCTTTTCAAG R: GTCTGGGGAAATCTTTAATG	TUDGLv5-7.33	

در این مطالعه از دستگاه ترموسایکلر مدل PCR Max جهت تکثیر توالی‌های تکرار شونده DNA (مایکروساتلایت) استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به ازای هر نمونه در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR Master Mix- Amplicon)، ۱ میکرولیتر از هر نشانگر اختصاصی پیشرو و پسرو با غلظت ۱۰ پیکومول، ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه و ۱ میکرولیتر DNA با غلظت ۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر تهیه شد. تکثیر نشانگرها توسط دستگاه ترموسایکلر از سه مرحله تشکیل شده بود، مرحله اول شامل واسرشت شدن اولیه (Initial denaturation) در درجه حرارت ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه برای یک چرخه، مرحله دوم شامل واسرشت شدن (Denaturation) در ۹۴ درجه سانتیگراد، اتصال به قطعه هدف (Annealing) در درجه حرارت ۵۴-۶۰ درجه سانتیگراد و بسط شدن (Extension) در درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد هر کدام به مدت ۳۰ ثانیه برای ۳۰ چرخه تنظیم گردید. در انتها بسط نهایی در درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه در یک چرخه صورت پذیرفت. بعد از تزریق ۵ میکرولیتر محصول PCR به درون چاهک‌های ایجاد شده بر روی ژل پلی آکریل آمید ۶ درصد همراه با نشانگر استاندارد ۱۰۰-۳۰۰۰ جفت باز، پس از ران نمودن دستگاه الکتروفورز عمودی مدل Amersham Se600 به مدت ۲ ساعت و ۳۰ دقیقه و رنگ آمیزی ژل پلی آکریل آمید با نیترات نقره ۰/۱ درصد، طول هر باند با توجه به طول نشانگر استاندارد محاسبه شد (پذیر و همکاران، ۱۴۰۰a,b) (Borrell et al., 2003). برای دستیابی به داده‌های خام و ژنوتیپ‌ها، امتیاز دهی باندها توسط نرم افزار UVD0C صورت گرفت در ادامه با استفاده از نرم افزار GeneA1Ex (ver. 6.5) برای هر نشانگر مقادیر فراوانی آلل‌های مؤثر و واقعی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، ماتریکس شباهت و فاصله ژنتیکی (Nei, 1978)، تعادل هاردی-واینبرگ، تفاوت ژنتیکی (Fst)، ضریب هم خونی (Fis)، درصد واریانس مولکولی تعیین شد (Doyle and Doyle, 2016). درخت موضع شناسی تکاملی بین نمونه‌ها براساس فاصله ژنتیکی با استفاده از نرم افزار TFPGA ترسیم شد. در پایان مطالعه با توجه به مستقل بودن ذخیره‌های مختلف از یکدیگر اختلاف میان هتروزیگوسیتی مشاهده شده با هتروزیگوسیتی قابل انتظار و ضریب هم خونی ذخیره‌های مختلف میگو تجزیه و تحلیل آنها به ترتیب از طریق آزمون t-test مستقل و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با سطح اطمینان ۹۵، صورت پذیرفت.

نتایج

نتایج حاکی از آن بود که تعداد آلل‌های مشاهده شده برای داده‌های غالب در جایگاه‌های مختلف در سه ذخیره مولد بررسی شده در دامنه ۳-۵ آلل قرار داشت. با توجه به اینکه میانگین آلل‌های واقعی مشاهده شده در مولدین پرورشی نسل اول (F1) با میزان $4/000 \pm 0/298$ بیشتر از مقادیر مربوط به مولدین وارداتی نسل صفر در سال اول و دوم (F0:1,2) به ترتیب با میزان $3/500 \pm 0/269$ و $3/900 \pm 0/233$ بود لیکن هیچگونه

اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P>0/05$). همچنین نتایج مشابهی در رابطه با میانگین تعداد آل‌های مؤثر در ذخیره‌های مولد بررسی شده مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲: فراوانی آل‌های واقعی و مؤثر در نسل‌های مختلف مولدین میگوی سفید غربی وارداتی نسل صفر سال اول و دوم (F0:1,2) و مولدین پرورشی میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

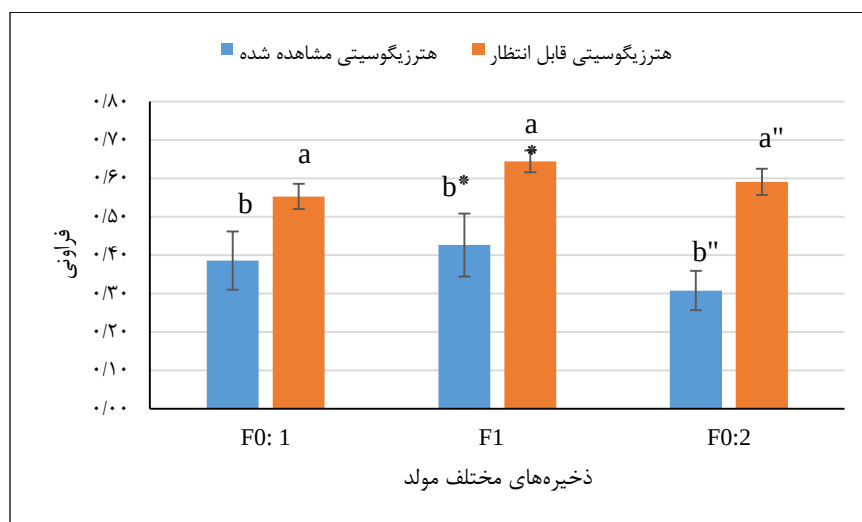
جمعیت	F0 (1)	F0 (2)	F1 (1)
تعداد آل‌های واقعی	۳/۰±۵۰۰/۲۶۹ ^a	۳/۰±۹۰۰/۲۳۳ ^a	۴/۰±۰۰۰/۲۹۸ ^a
تعداد آل‌های مؤثر	۲/۰±۳۴۵/۱۶۷ ^a	۲/۰±۶۰۹/۲۲۱ ^a	۲/۰±۹۷۹/۲۳۹ ^a

بررسی نتایج الگوهای آلی برای داده‌های غالب در ذخیره‌های مختلف حاکی از آن بود که بیشترین میزان فراوانی آل‌های مشاهده شده به میزان کمتر از ۵ درصد در مولدین پرورشی نسل اول با میزان $۳/۴۰۰±۰/۲۶۷$ مشاهده شد. این در حالی بود که در مولدین وارداتی سال اول این میزان در مقایسه با سایر ذخیره‌ها کمتر بود (جدول ۳).

جدول ۳: جدول فراوانی آل‌های مشاهده شده و آل‌های اختصاصی نسل‌های مختلف مولدین میگوی سفید غربی (L. vannamei) وارداتی (F0:1,2) و پرورشی نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

جمعیت	F0 (1)	F0 (2)	F1 (1)
آل‌های مشاهده شده $\leq 5\%$	۳/۰±۰۰/۲۵۸	۳/۰±۳۰۰/۲۶۰	۳/۰±۴۰۰/۲۶۷
فراوانی آل‌های اختصاصی	۰/۰±۰۰۰/۰۰۰	۰/۰±۲۰۰/۲۰۲	۰/۰±۳۰۰/۱۵۳

با وجود بیشتر بودن میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در مولدین پرورشی نسل اول (F1) با میزان $۰/۲۵۹±۰/۰۸۱$ نسبت به مولدین وارداتی نسل صفر در سال‌های اول و دوم (F0:1, 2) به ترتیب با میزان $۰/۲۴۰±۰/۰۷۵$ و $۰/۱۶۱±۰/۰۴۰$ هیچگونه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P>0/05$). این در حالی بود که میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نسبت به قابل انتظار در تمامی ذخیره‌های بررسی شده بطور معنی‌داری کاهش یافته بود ($P<0/05$), بر این اساس مشاهده شد که تنوع ژنتیکی مولدین ذخیره‌های مختلف کاهش یافته است (شکل ۱).



شکل ۱: مقادیر تنوع ژنتیکی نسل‌های مختلف مولدین میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) وارداتی سال اول و دوم نسل صفر (F0:1, 2) و مولدین پرورشی نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

نتایج حاکی از آن بود که با وجود پائین بودن میزان ضریب هم خونی در میگوهای وارداتی نسل صفر در سال اول (F0:1) به میزان 0.480 ± 0.276 در مقایسه با مولدین وارداتی نسل صفر سال دوم (F0:1) و پرورشی نسل اول (F1) به ترتیب با میزان 0.303 ± 0.456 و 0.303 ± 0.456 هیچگونه اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت ($P < 0.05$). همچنین مشاهده شد که میزان ضریب هم‌خونی در جایگاه‌های مختلف مربوط به ذخیره مولدین وارداتی سال اول نسل صفر (F0:1) و نسل اول مولدین پرورشی (F1) به ترتیب در چهار و دو جایگاه منفی شده بود، لیکن در مولدین وارداتی سال دوم نسل صفر (F0:1) هیچ جایگاه منفی مشاهده نشد. (جدول ۴).

جدول ۴: مقادیر ضریب هم خونی در نسل‌های مختلف مولدین میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) وارداتی سال اول و دوم نسل صفر (F0:1, 2) و مولدین پرورشی نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

جمعیت	F0 (1)	F0 (2)	F1 (1)
ضریب هم خونی	0.303 ± 0.456^a	0.480 ± 0.276^a	0.480 ± 0.276^a

بررسی تعادل هاری-واینبرگ بمنظور نشان دادن چند شکلی‌ها (Polymorphic) در جمعیت‌های مختلف حاکی از آن بود که تمامی جایگاه‌های بررسی شده جمعیت مولدین وارداتی سال اول نسل صفر (F0:1) بطور معنی‌داری منجر به ثبات و فراوانی آلل‌ها شده بودند ($P < 0.001$, $P < 0.01$). لیکن هیچگونه تفاوت معنی‌داری در سه جایگاه TUMXLv5.38، TUDGLv5-7.33 و TUGAPv1-3.6 در این جمعیت مشاهده نشد ($P > 0.05$). این در حالی بود که در جمعیت مولدین وارداتی سال دوم نسل صفر (F0:2) میزان این شاخص تنها در دو جایگاه TUMXLv5.27 و TUMXLv5.38 معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). با این وجود نتایج بدست آمده از ذخیره مولدین پرورشی نسل اول (F1) دلالت بر معنی‌دار بودن این شاخص در تمامی جایگاه‌ها را داشت ($P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$) (جدول ۵).

جدول ۵: نتایج آزمون کای (X²) برای تعادل هاری - واینبرگ برای جایگاه‌های مختلف پلی مورفیک در جمعیت‌های مختلف مولدین میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) و ارداتی و پرورشی در نسل‌های مختلف (سال ۱۴۰۰).

جایگاه	Lvan0 1	Lvan07	Pvan 0013	Pvan 1758	TUMXLv 5.27	TUMXL v5.38	TUMXL v8.32	TUDGPv 33-5.378	TUDGL v 5- 7.33	TUGAP v1-3.6
درجه آزادی	۳	۱۰	۶	۳	۶	۳	۳	۶	۱	۶
آزمون مربع کای	۸/۹۶۸	۶۵/۱۴۰	۵۹/۴۹۱	۳۲/۴۵۹	۱۵/۰۱۶	۱/۰۱۰	۱۹/۸۶۶	۵۴/۹۴۴	۳/۱۸۵	۱۱/۳۵۵۰
احتمال	۰/۰۳۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۲۰	۰/۷۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۷۴	۰/۰۷۸
معنی‌دار	*	***	***	***	*	ns	***	***	ns	ns
درجه آزادی	۶	۱۰	۶	۳	۶	۳	۳	۶	۱۰	۶
آزمون مربع کای	۳۲/۲۸۷	۴۱/۳۳۵	۵۰/۲۰۹	۱۴/۷۰۰	۱۰/۳۲۱	۱/۸۳۲	۳۰/۰۳۰	۱۴/۱۲۶	۲۵/۲۷۱	۴۲/۰۹۳
احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۱۱۲	۰/۶۰۸	۰/۰۰۰	۰/۰۲۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰
معنی‌دار	***	***	***	**	ns	ns	***	*	**	***
درجه آزادی	۶	۱۰	۶	۳	۱۰	۳	۳	۱۰	۳	۱۰
آزمون مربع کای	۳۰/۲۶۲	۳۱/۹۴۸	۴۷/۴۰۹	۴/۴۴۹	۲۳/۸۱۱	۱۰/۶۲۴	۳۲/۴۴۰	۲۷/۶۹۸	۱۲/۱۸۶	۶۷/۸۲۵
احتمال	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۲۱۷	۰/۰۰۸	۰/۰۱۴	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰
معنی‌دار	***	***	***	ns	**	*	***	**	**	***

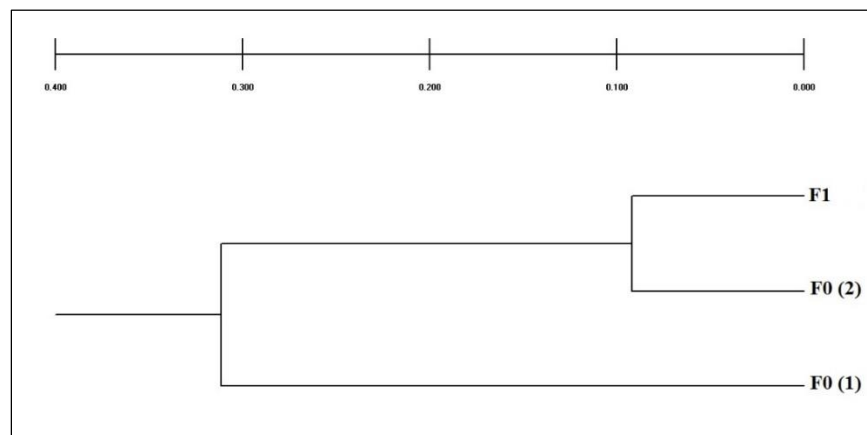
*, **, ***: معنی دار بودن

ns: غیر معنی‌دار

بررسی نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که بیشترین میزان فاصله ژنتیکی میان مولدین وارداتی نسل صفر سال اول (F0:1) با مولدین وارداتی نسل صفر سال دوم (F0:2) و پرورشی نسل اول وجود داشت، این در حالی بود که کمترین میزان فاصله ژنتیکی میان مولدین نسل اول پرورشی (F1) و مولدین وارداتی نسل صفر سال دوم مشاهده شد (جدول ۶ و شکل ۲).

جدول ۶: فاصله ژنتیکی مولدین میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) و ارداتی سال اول و دوم نسل صفر (F0:1, 2) و مولدین پرورشی نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

F0:1	F1	F0: 2
۰/۰۰۰		F0: 1
۰/۳۰۷	۰/۰۰۰	F1
۰/۳۸۰	۰/۱۳۳	F0: 2



شکل ۲: رابطه فیلوژنتیکی مولدین مختلف میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) وارداتی سال اول و دوم نسل صفر (F0:1, 2) و مولدین پرورشی نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

بیشترین میزان شباهت ژنتیکی میان مولدین پرورشی نسل اول و مولدین وارداتی نسل صفر سال دوم وجود داشت. این در حالی بود که کمترین شباهت ژنتیکی میان مولدین وارداتی نسل صفر سال اول با نسل وارداتی نسل صفر سال دوم مشاهده شد (جدول ۷).

جدول ۷: شباهت ژنتیکی مولدین میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) وارداتی سال اول و دوم نسل صفر (F0:1, 2) و مولدین پرورشی نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

F0: 1	F1	F0: 2
۱/۰۰۰		F0: 1
۰/۷۳۵	۱/۰۰۰	F1
۰/۶۸۴	۰/۸۷۷	۱/۰۰۰ F0: 2

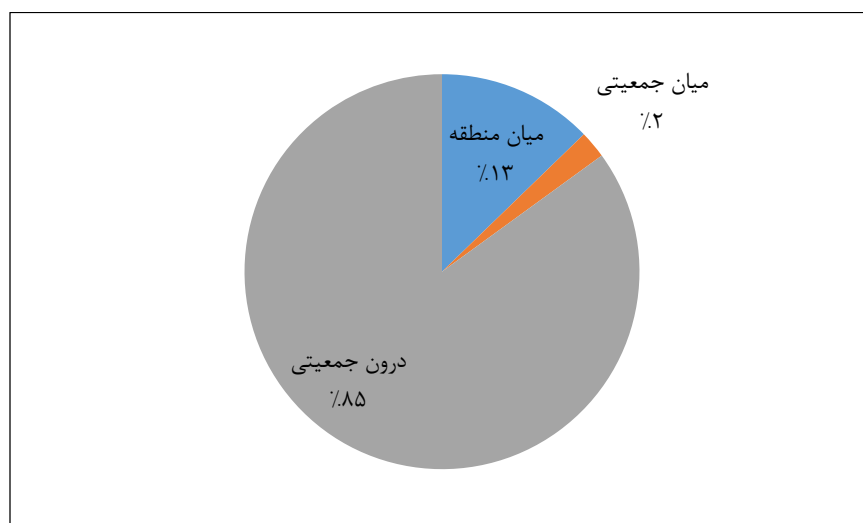
نتایج حاکی از آن بود که بیشترین میزان تمایز ژنی (Fst) میان مولدین وارداتی نسل صفر سال اول و دوم وجود داشت و کمترین میزان تمایز ژنی میان مولدین وارداتی نسل صفر در سال دوم و مولدین پرورشی نسل اول مشاهده شد (جدول ۸).

جدول ۸: تمایز ژنتیکی مولدین میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) وارداتی سال اول و دوم نسل صفر (F0:1, 2) و مولدین پرورشی نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

F0: 1	F1	F0: 2
۰/۰۰۰		F0: 1
۰/۰۷۹	۰/۰۰۰	F1

F0: 2 ۰/۰۰۰ ۰/۰۳۸ ۰/۱۰۰

نتایج حاکی از آن بود که ۸۵ درصد از واریانس مولکولی تنوع ژنتیکی مشاهده‌شده در ذخیره‌های مولدین وارداتی نسل صفر در سال اول و دوم و مولدین پرورشی نسل اول مربوط به درون جمعیت می‌باشد (شکل ۳).



شکل ۳: درصد واریانس مولکولی موجود در مولدین میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) وارداتی نسل صفر در سال اول و دوم (F0:1, 2) و مولدین پرورشی نسل اول (F1) (سال ۱۴۰۰).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به مقایسه صورت گرفته میان شاخص‌های ژنتیکی در مولدین وارداتی و پرورشی در نسل‌های مختلف مشاهده شد که تعداد آل‌های مشاهده‌شده برای داده‌های غالب با دامنه ۳-۵ آل در جایگاه‌های مختلف به‌شدت کاهش یافته بود. این در حالی بود که Goyard و همکاران (۲۰۰۳) تعداد آل‌ها در جمعیت‌های وحشی را در دامنه ۲۷-۱۴ گزارش کرده بودند، با این‌وجود عنوان شده بود که در جمعیت‌های پرورشی به دلیل افزایش آمیزش‌های خویشاوندی و عدم انتخاب درست مولدین در مراکز تکثیر ممکن است بعد از ۴ تا ۷ نسل میزان فراوانی آل‌ها به‌شدت کاهش می‌یابد. Ren و همکاران (۲۰۱۸) با مطالعه بر روی ذخایر میگوی سفید غربی پرورش داده‌شده در مراکز تکثیر کشور چین عنوان نمودند که مدیران مراکز تکثیر به دلیل اجرای برنامه‌های به‌گزینی توانسته‌اند مولدینی با شاخص‌های ژنتیکی مناسب تولید نمایند، به‌گونه‌ای که میانگین فراوانی آل‌های مشاهده‌شده در آن‌ها با میانگین ۵/۸۵ در دامنه ۴-۱۲/۴۳ قرار داشت. نتایج مطالعه حاضر نیز بر این امر دلالت دارد که علاوه بر کاهش تعداد آل‌های مشاهده‌شده برای داده‌های غالب در مولدین وارداتی و پرورشی میزان فراوانی آل‌های اختصاصی در مولدین وارداتی و پرورشی در مقایسه با مطالعات دیگر به‌شدت کاهش یافته است. Valles و همکاران (۲۰۰۴) عنوان نمودند که تعادل هاری-واینبرگ قادر است که ثبات و فراوانی آل‌ها را در نسل‌های مختلف موردبررسی قرار دهد. امروزه از این معادله جهت بررسی رابطه میان فراوانی ژنوتیپ و آل‌ها استفاده می‌گردد (Goyard et al., 2003). با توجه به اینکه افزایش آل‌های نول می‌تواند موجب افزایش هموزیگوسیتی و کاهش هتروزیگوسیتی در جمعیت‌ها گردند (Castric et al., 2002)، لیکن هرگونه انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های شناسایی‌شده می‌تواند منجر به افزایش آل‌های نول و کاهش تنوع ژنتیکی شود (Vallez, 2005). از این‌رو هر چه فراوانی آل‌ها در جمعیت‌های شناسایی‌شده

کمتر باشد جمعیت بجای چندی شکلی شدن (پلی مورف شدن) به سمت یک شکلی شدن (مونومورف شدن) پیش خواهد رفت، که این حالت معمولاً به دنبال نسل گیری متعدد از یک جمعیت و افزایش میزان آمیزش‌هایی خواهر-برادری (Full-sib Family) در جوامع رخ می‌دهد (Castric *et al.*, 2002)، بنابراین در جمعیت‌هایی که دچار تنگناهای ژنتیکی (Bottleneck) می‌شوند، به‌ویژه جمعیت‌هایی که در اسارت و یا در محیط‌های بسته نگهداری شده‌اند و یا مراکزی که دسترسی آن‌ها به منابع وحشی غیرممکن است این حالت بیشتر مشاهده می‌شود (Norris *et al.*, 1999). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده مشاهده شد که در مولدین پرورشی نسل اول به‌طور معنی‌داری در تمامی جایگاه‌ها، تعادل هاردی-واینبرگ منجر به ثبات و فراوانی آلل‌ها شده بودند لیکن در دو ذخیره مولد وارداتی سال اول و دوم علیرغم ثبات مشاهده‌شده در برخی از جایگاه‌ها این تعادل به‌صورت غیر معنی‌دار بود. ازاین‌رو می‌توان این‌گونه عنوان نمود که در رابطه با مولدین پرورشی نسل اول به دلیل به‌کارگیری تعداد بیشتر افراد در تکثیر به‌عنوان جمعیت بنیادی (Founder population)، میزان مشارکت افراد در آمیزش افزایش یافته بود. Rezaee و همکاران (۲۰۱۶) عنوان نمودند مشارکت بیشتر افراد در آمیزش احتمال پلی‌مورف شدن نتایج و ظهور آلل‌های اختصاصی را افزایش خواهد داد.

در رابطه با میزان تنوع ژنتیکی مولدین باوجود عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار در میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در ذخیره‌های مختلف مولدین وارداتی و پرورشی بررسی شده نتایج دال بر این بود که میزان این شاخص در مولدین پرورشی نسبت به مولدین وارداتی بیشتر است. لذا باوجود پائین بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل‌انتظار نتایج بررسی اختلاف میان این دو شاخص حاکی از آن بود که میزان تنوع ژنتیکی موجود در مولدین وارداتی نسل صفر در سال اول در مقایسه با مولدین پرورشی نسل اول حاصل از مولدین وارداتی سال اول و مولدین وارداتی نسل صفر سال دوم بیشتر شده است. Perez-Enriquez و همکاران (۲۰۰۹) عنوان نمودند که افزایش میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده نسبت به هتروزیگوسیتی قابل‌انتظار علاوه برافزایش میزان تنوع ژنتیکی با کاهش ضریب هم‌خونی می‌تواند همراه گردد.

بررسی فاصله ژنتیکی مولدین ذخیره‌های مختلف حاکی از آن بود که به دلیل فاصله کم و شباهت ژنتیکی بالای مولدین وارداتی سال دوم و پرورشی نسل اول این مولدین در یک شاخه جداگانه قرارگرفته بودند. همچنین میزان ضریب هم‌خونی در ذخیره‌های مختلف نشان داد که میزان این شاخص در مولدین وارداتی سال دوم در مقایسه با مولدین وارداتی سال اول و پرورشی نسل اول افزایش یافته، لیکن مقایسه این مقادیر با مقادیر به‌دست‌آمده در مولدین بومی‌شده میگوی سفید غربی مراکز تکثیر چین با میزان ۰/۰۷ دلالت برافزایش مقادیر این شاخص را داشت (Ren *et al.*, 2018). یکی از دلایل افزایش ضریب هم‌خونی در مولدین نسل صفر وارداتی سال دوم کم بودن جمعیت مؤثر از مولدین مشارکت‌کننده در برنامه‌های تولیدمثلی و در مولدین پرورشی می‌تواند ناشی از آمیزش نامناسب مولدین استفاده‌شده در برنامه‌های تکثیر باشد. بنابراین کاهش جمعیت مؤثر علاوه بر ایجاد تنگناهای ژنتیکی هم می‌تواند با کاهش میزان تنوع ژنتیکی، فراوانی آللی و افزایش ضریب هم‌خونی در میگوهای پرورشی همراه باشد (Wolfus *et al.*, 1997). انتخاب مولدین پرورشی در مراکز تکثیر استان بوشهر بیشتر بر اساس شاخص رشد انجام می‌گیرد در صورتی که این انتخاب با شاخص‌های ژنتیکی توأم گردد پس‌روی ناشی از هم‌خونی در نتایج حاصل از مولدین پرورشی روی نخواهد داد. در این خصوص عنوان‌شده که رابطه ژنتیکی بین صفت رشد و صفات تولیدمثلی از طریق انتخاب میگوهای ماده با رشد سریع علاوه بر اینکه تأثیری در کیفیت تخم‌ها ندارد می‌تواند باعث افزایش تولید لارو نیز گردد (Ren *et al.*, 2020a). همچنین Tan و همکاران (۲۰۱۹) عنوان نمودند که به‌گزینی میگوهای ماده بر اساس برآورد شاخص‌های ژنتیکی مرتبط باصفت رشد میگوهای سفید غربی پرورش‌یافته در آب‌های لب‌شور می‌تواند منجر به بهبود این صفت در این جنس شود. ازاین‌رو می‌توان با اجرای برنامه‌های به‌گزینی و تعیین شاخص‌های ژنتیکی تا حدود زیادی از پس‌روی ژنتیکی ناشی از افزایش میزان ضریب هم‌خونی جلوگیری نمود (پذیر و همکاران، ۱۴۰۰b).

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان عنوان نمود که علت کاهش شاخص‌های ژنتیکی و افزایش ضریب هم‌خونی در مولدین نسل صفر وارداتی در مقایسه با مولدین پرورش‌یافته در شرایط آب و هوایی کشور می‌تواند ناشی از محدودیت در واردات مولدین به کشور و کم بودن تعداد افراد مشارکت‌کننده باشد. در مولدین پرورشی به دلیل افزایش جمعیت بنیادی و افزایش سهم افراد مشارکت‌کننده در آمیزش میزان شاخص‌های ژنتیکی

در این مولدین نسبت به مولدین وارداتی بهبود پیدا کرده بود. همچنین به‌گزینی صورت گرفته در میان مولدین پرورشی باعث شده بود که شاخص‌های ژنتیکی با کاهش روبرو نشوند؛ بنابراین توصیه می‌شود که برای بهبود شاخص‌های ژنتیکی و ممانعت از پس‌روی ناشی از هم‌خونی علاوه بر به‌گزینی مولدین بر اساس شاخص‌های ژنتیکی از آمیزش‌های برون گروهی میان ذخیره‌های مولدین وارداتی با ذخیره‌های به‌گزین شده پرورشی یافته در کشور بهره برده شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله، نویسندگان از همکاری پرسنل محترم مرکز تولید میگوی عاری از بیماری خاص وابسته به پژوهشکده میگوی کشور بوشهر تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

- پذیر، م. ح.، قاسمی، س. ا. و آئین‌جمشید، خ.، ۱۴۰۰a. بررسی شاخص‌های ژنتیکی جمعیت‌های مختلف مولدین میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در مراکز تکثیر استان بوشهر. زیست‌شناسی دریا، ۱۳ (۴۹): صفحات ۲۶-۱۷.
- پذیر، م. ح.، قاسمی، س. ا. و میربخش، م.، ۱۴۰۰b. شاخص‌های ژنتیکی نسل‌های مختلف مولدین پرورشی میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931) در مراکز تکثیر واقع در سواحل خلیج فارس استان بوشهر. علوم و فنون شیلات، ۱ (۲): صفحات ۲۲۶-۲۱۳.
- سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۹. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران ۱۳۹۹-۱۳۹۴. معاونت برنامه‌ریزی و مدیریت منابع - دفتر برنامه‌ریزی و بودجه - گروه برنامه‌ریزی و آمار، ۶۴ ص.
- Borrell, Y., Espinosa, G., Romo, J., Blanco, G., Vázquez, E. and Sánchez, J. A., 2003. DNA microsatellite variability and genetic differentiation among natural populations of the Cuban white shrimp *Litopenaeus schmitti*. Marine Biology, 144(2): 327-333.
- Castric, V., Bernatchez, L., Belkhir, K. and Bonhomme, F., 2002. Heterozygote deficiencies in small lacustrine populations of brook charr *Salvelinus fontinalis* Mitchill (Pisces, Salmonidae): a test of alternative hypotheses. Heredity, 89 (1): 27-35.
- Cruz, P., Ibarra, A. M., Mejia-Ruiz, H., Gaffney, P. M., and Pérez-Enríquez, R., 2003. Genetic Variability Assessed by Microsatellites in a Breeding Program of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Marine Biotechnology, 6 (2): 157-164.
- Doyle, R. W. and Doyle, R. W., 2016. Inbreeding and disease in tropical shrimp aquaculture: a reappraisal and caution. Aquaculture Research, 47(1): 21-35.
- FAO., 2019. Aquaculture production (quantities and values) 1950-2019. In: FishStatJ -Software for Fishery Statistical Time Series. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome.
- FAO., 2012. Aquaculture production (quantities and values) 1950-2012. In: FishStatJ -Software for Fishery Statistical Time Series. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome.
- Freitas, P. D., Jesus, C. M. and Galetti, P. M., 2007. Isolation and characterization of new microsatellite loci in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* and cross-species amplification in other penaeid species. Molecular Ecology Notes, 7(2): 324-326.
- García-Alegria, A. M., Anduro-Corona, I., Pérez-Martínez, C. J., Corella-Madueño, M. A. G., Rascón-Durán, M. L. and Astiazaran-Garcia, H., 2020. Quantification of DNA through the nanodrop spectrophotometer: Methodological validation using standard reference material and sprague dawley rat and human DNA. International Journal of Analytical Chemistry 2020,

- Garcia, D. K. and Alcivar-Warren, A., 2007.** Characterization of 35 new microsatellite genetic markers for the pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Their usefulness for studying genetic diversity of wild and cultured stocks, tracing pedigree in breeding programs, and linkage mapping. National Shellfisheries Association, 26(4): 1203–1216.
- Goyard, E., Arnaud, S., Vonau, V., Bishoff, V., Mouchel, O., Pham, D., Wyban, J. and Boudry, P., 2003.** Residual genetic variability in domesticated populations of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia, French Polynesia and Hawaii and some management recommendations. Aquatic Living Resource, 16(6): 501–508.
- Hillen, J. E. J., Coscia, I., Vandeputte, M., Herten, K., Hellemans, B., Maroso, F., Vergnet, A., Allal, F., Maes, G. E. and Volckaert, F. A. M., 2017.** Estimates of genetic variability and inbreeding in experimentally selected populations of European sea bass. Aquaculture, 479, 742–749.
- Knibb, W., Giang, C. T., Premachandra, H. K. A., Ninh, N. H. and Domínguez, B. C., 2020.** Feasible options to restore genetic variation in hatchery stocks of the globally important farmed shrimp species, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 518, 734823.
- Moss, S. M., Otsoshi, C. A. and Leung, P. S., 2005.** Optimizing strategies for growing larger *L. vannamei*. Global Aquaculture Advocate, 8(5): 68–69.
- Nei, M., 1978.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89(3): 583–590.
- Norris, A. T., Bradley, D. G. and Cunningham, E. P., 1999.** Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild *Atlantic salmon* (*Salmo salar*) populations. Aquaculture. 180(3-4): 247–264.
- Perez-Enriquez, R., Hernández-Martínez, F. and Cruz, P., 2009.** Genetic diversity status of White shrimp *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* broodstock in Mexico. Aquaculture, 297(1-4): 44–50.
- Ren, S., Mather, P. B., Prentis, P., Li, Y., Tang, B. and Hurwood, D. A., 2020a.** Quantitative Genetic Assessment of Female Reproductive Traits in a Domesticated Pacific White Shrimp (*Penaeus vannamei*) Line in China. Scientific Reports, 10(1): 1–10.
- Ren, S., Prentis, P., Mather, P. B., Li, Y., Tang, B. and Hurwood, D. A., 2020b.** Genetic parameters for growth and survival traits in a base population of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) developed from domesticated strains in China. Aquaculture. 523, 735148.
- Ren, S., Mather, P. B., Tang, B. and Hurwood, D. A., 2018.** Levels of genetic diversity and inferred origins of *Penaeus vannamei* culture resources in China: Implications for the production of a broad synthetic base population for genetic improvement. Aquaculture. 491, 221–231.
- Rezaee, S., Farahmand, H. and Nematollahi, M. A., 2015.** Genetic diversity status of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using SSR markers in Iran. Aquaculture International, 24(2): 479–489.
- Soares, P. E. T., Dantas, M. D. A., de Cássia, B., Silva-Portela, R., Agnez-Lima, L. F. and Lanza, D. C. F. 2021.** Characterization of *Penaeus vannamei* mitogenome focusing on genetic diversity. PLOS ONE, 16(7): e0255291.
- Tamayo, R. J. M., 2006.** Assessment of genetic variability in two lots of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) introduced to Cuba.
- Tan, J., Luan, S., Cao, B., Luo, K., Meng, X. and Kong, J., 2019.** Evaluation of genetic parameters for reproductive traits and growth rate in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in brackish water. Aquaculture, 511, 734244.
- Tave, D. 1993.** Genetics for fish hatchery managers. The AVI Publ. Comp. Inc. New York.
- Valles-Jimenez, R., Cruz, P. and Perez-Enriquez, R., 2004.** Population Genetic Structure of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: Microsatellite DNA Variation. Marine Biotechnology, 6(5): 475–484.
- Vallez, R., 2005.** Thesis: Studies on genetic structure of white shrimp, (*Litopenaeus vannamei*), from Oriental Pacific inferred by microsatellite analysis and DNA mitochondrial. Post-Grade Studies. La Paz, Mexico, Biology Investigations Center from Northeast. 74.

Wolfus, G. M., Garcia, D. K. and Alcivar-Warren, A., 1997. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. *Aquaculture*, 152(1-4): 35–47.