

TÌM HIỂU ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN MỘT SỐ QUẦN ĐÀN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*) NUÔI TẠI VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ MICROSATELLITE

Trần Thị Thúy Hà^{1*}, Nguyễn Thế Việt², Nguyễn Thị Hương¹, Nguyễn Hữu Đức²

¹ Viện Nghiên cứu nuôi trồng Thủy sản 1;

² Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông Nghiệp Hà Nội

Email*: thuyha@ria1.org

Ngày gửi bài: 29.05.2013

Ngày chấp nhận: 20.08.2013

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 5 chỉ thị microsatellite với hai phản ứng PCR đa mồi được sử dụng trên 5 quần đàn tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi ở Việt Nam nhằm đánh giá đa dạng di truyền của chúng. Số alen trên mỗi vị trí microsatellite dao động từ 6 đến 8 alen và có alen xuất hiện với tần số rất thấp (<0,1). Giá trị dị hợp tử quan sát (Ho, dao động từ 0,21 đến 0,50) thấp hơn so với dị hợp tử mong đợi (He, dao động từ 0,41 đến 0,72). Giá trị tương đồng (Fis) trung bình dao động trong khoảng 0,18 đến 0,40 và cao ở hai vị trí TUMXL v6.23 và Lvan 01 trên các quần đàn, lần lượt đạt 0,446 và 0,496. Giá trị Fst ở mức trung bình (0,054 – 0,185) và không thể hiện sự sai khác lớn về di truyền giữa các quần đàn. Nghiên cứu cho thấy, hiện tượng thiếu hụt dị hợp tử trong các quần đàn tôm thẻ chân trắng cần được khắc phục nhằm hạn chế hiện tượng suy thoái giống. Các chương trình chọn giống tôm thẻ chân trắng nên được thực hiện nhằm phát triển bền vững đối tượng này.

Từ khóa: Đa dạng di truyền, microsatellite, tôm thẻ chân trắng.

Investigation of Genetic Variation of Some Stocks of White Leg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Cultured in Vietnam Using Microsatellite Markers

ABSTRACT

In this study, five microsatellite loci in two sets of primers pooled PCR were used to assess the genetic diversity of five populations of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured in Vietnam. The number of alleles per locus ranges from 6 to 8 and low alleles frequency is observed at all loci (<0.1). The observed heterozygosity (Ho) ranges from 0.21 to 0.50, lower than the expected heterozygosity (He, 0.41 - 0.72). The average Fis value varies from 0.18 to 0.40, and high value found at loci TUMXL v6.23 and Lvan 01 for all populations, 0.446 and 0.496, respectively. Fst values were in average (0.054 – 0.185) and no significant genetic differences among five populations. The finding shows the evidence of heterozygote deficiencies all over five populations leading to a question for consideration of a solution. The selective breeding program of white leg shrimp should be done for sustainable development of the species.

Keywords: Genetic variation, microsatellite, white leg shrimp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) có giá trị kinh tế cao và là đối tượng nuôi giành được nhiều quan tâm do thời gian nuôi ngắn và có thể chịu được độ mặn trong khoảng rộng, từ 0,5-45‰. Vấn đề chất lượng con giống luôn được quan tâm và đặt ra nhiều câu hỏi cho các nhà quản lý cũng như người nuôi.

Xét về mặt di truyền, nguyên nhân chủ yếu dẫn tới sụt giảm chất lượng giống là do giao phối cận huyết (Mair, 2002). Trong quần thể chọn lọc, giao phối cận huyết gây ra các tác động tiêu cực như tăng đồng hợp tử, dẫn đến gia tăng biểu hiện của gen lặn gây hại, suy thoái cận huyết và giảm biến dị di truyền (Falconer, 1989; Pante và cs., 2001). Điều này dẫn đến làm tăng khả năng mắc bệnh, giảm khả năng tăng trưởng, kích cỡ

tối đa có thể đạt được của đối tượng được nuôi. Việc ứng dụng di truyền phân tử để đánh giá đặc điểm di truyền trên đối tượng thủy sản nói chung và tôm thẻ chân trắng nói riêng có ý nghĩa quan trọng.

Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã sử dụng chỉ thị phân tử microsatellite để đánh giá đa dạng di truyền phục vụ các chương trình chọn giống trên tôm thẻ chân trắng do đây là chỉ thị đồng trội cho đa hình cao và ổn định (Soto-Hernández and Grijalva-Chon, 2004; Cruz et al., 2004; Freitas and Galetti, 2005; Perez-Enriquez et al., 2009). Ở Việt Nam, các nghiên cứu chính trên tôm thẻ chân trắng mới chỉ tập trung vào sinh sản nhân tạo và nuôi thương phẩm. Việc đánh giá đa dạng di truyền một số quần đàn tôm đang nuôi ở Việt Nam có ý nghĩa rất quan trọng, là cơ sở khoa học để đề xuất các chương trình chọn giống trên tôm thẻ chân trắng giúp tăng biến dị di truyền và góp phần nâng cao hiệu quả cho việc phát triển đối tượng này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Mẫu tôm chân trắng được thu tại hai địa điểm chính là: Trung tâm quốc gia giống Hải sản miền Bắc - Cát Bà - Hải Phòng (địa điểm 1) và đầm nuôi tôm nước lợ thuộc thị xã Quảng Yên, huyện Yên Hưng, tỉnh Quảng Ninh (địa điểm 2). Các quần đàn thu mẫu gồm: Quần đàn tôm chân trắng có nguồn gốc từ Thái Lan (ký hiệu C-P), đàn bố mẹ được nhập trực tiếp về Việt Nam năm 2009 (địa điểm 1); quần đàn tôm chân trắng có nguồn gốc từ Hawaii (ký hiệu H-I), đàn bố mẹ được nhập trực tiếp về Việt Nam năm 2009 (địa điểm 1); quần đàn con lai C-P x H-I, được sản xuất năm 2012 (địa điểm 1); quần đàn tôm chân trắng người dân nuôi, tôm giống được mua từ công ty TNHH Việt Úc - Ninh Thuận (ký hiệu V-U) (địa điểm 2); quần đàn tôm chân trắng người dân nuôi, tôm giống được mua từ công ty TNHH Hải Châu - Ninh Thuận (ký hiệu H-C) (địa điểm 2).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thu mẫu

Tất cả các mẫu tôm được thu mua vào tháng 7 năm 2012. Mẫu chân bơi hoặc chân bò của 5 quần đàn tôm (40 mẫu/ quần đàn) được thu và bảo quản trong cồn 98%, sau đó chuyển về phòng thí nghiệm thuộc Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I, Đình Bảng - Từ Sơn - Bắc Ninh.

2.2.2. Tách chiết ADN

Tiến hành tách chiết ADN theo phương pháp kết tủa muối. Cắt nhỏ 0,5g mẫu và ủ trong 720µl dung dịch Cell Lysis Solution (pH 8): Tris - HCl 10mM, EDTA 100mM, SDS 2% và 7µl proteinase K 20mg/ml ở 60°C trong 2-3 giờ. Sau khi mẫu đã tan hết, sử dụng 240µl amonium acetate 7,5M để kết tủa protein. Tiến hành loại tủa và thu dịch nổi, ADN được tủa bằng ethanol 100% và rửa tủa bằng ethanol 70%. Để tủa khô tự nhiên trong không khí rồi hòa tan tủa trong nước khử ion và bảo quản ở -20°C. Kết quả ADN tách chiết sau đó được điện di kiểm tra trên gel agarose 1% trước khi thực hiện phản ứng PCR.

2.2.3. Phản ứng khuếch đại (PCR)

Thực hiện 2 phản ứng PCR đa môi để nhân 5 vị trí microsatellite với 5 cặp môi: *TUMXL v5.27*, *TUMXL v6.23*, *TUMXL v5.38*, *Lvan 01*, *Lvan 07* (Bảng 1). Phản ứng PCR với tổng thể tích 10µl bao gồm 1,5µl Dream Taq buffer 10X; 0,75mM MgCl₂; 0,125mM dNTP mỗi loại; 1,25U Dream Taq polymerase; 50-150ng ADN khuôn; 0,3µl đến 0,7µl mỗi 1pM mỗi loại. Phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt như sau: 94°C trong 5 phút; (94°C trong 40 giây, 50°C trong 45 giây, 72°C trong 1phút) với 35 chu kỳ; cuối cùng ở 72°C trong 15 phút.

Sản phẩm PCR được phân tích trên hệ thống phân tích di truyền GenomeLab GeXP A60974 của hãng Beckman Coulter sản xuất 2011. Sử dụng phần mềm Gene marker 1.3 để đọc kết quả phân tích đoạn. Phần mềm Genpop 4.0, GenAlex 6.5 được sử dụng để phân tích: cân bằng Hardy-Weinberg, mất cân bằng di truyền, số lượng alen/locus (Na), số alen hiệu quả (Ne), dị hợp tử quan sát và mong đợi (Ho và He), hệ số tương đồng (Fis), chỉ số sai khác di truyền (Fst).

Bảng 1. Các cặp mồi microsatellite sử dụng trong nghiên cứu

Tên mồi	Trình tự mồi (5' - 3')	Tm	Gene bank	Tác giả
<i>TUMXLv5.27</i>	F: CAGACCCTAAATCTCCGTGC R: TGGAAAGGTCAGAGGTCACG	50°C	AF360022	Luvesuto et al.(2007)
<i>TUMXLv6.23</i>	F: GTAAGCACCATAACTACCGC R: GCAGAATCAGATAAAGCGAG	50°C	AF360031	Meehan et al.(2003)
<i>Lvan07</i>	F: AAAGAGGAAGATGAGGAAG R: CCTCGGTTACGTATTTATTG	50°C	AY369258	Luvesuto et al.(2007)
<i>TUMXLv5.38</i>	F: CCTTTATGACTTCCCCGAC R: CCGTACAGAAACGGAACGTC	50°C	AF360024	Meehan et al.(2003)
<i>Lvan01</i>	F:GCCATAAACGCAAGACTGAG R: GCAGGTATACGGTCATGTGTA	50°C	JF715238.1	Luvesuto et al.(2007)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm di truyền của các quần đàn tôm thẻ chân trắng

Kết quả điện di kiểm tra ADN trên gel agarose 1% cho thấy các vạch băng sáng, rõ, đảm bảo cho các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả phân tích PCR cho thấy tổng số 36 alen đã được tạo ra khi sử dụng 5 chỉ thị microsatellite phân tích trên 5 quần đàn tôm chân trắng. Xuất hiện 6 alen tại vị trí *TUMXL v5.27*; 8 alen tại vị trí *TUMXL v6.23* và *Lvan 07*; 7 alen tại vị trí *TUMXL v5.38* và *Lvan 01*. Nhìn chung, số lượng alen ở từng vị trí microsatellite là ít hơn so với các nghiên cứu trước đây của các tác giả khác. Cụ thể, số alen tại vị trí *TUMXL v5.27* và *TUMXL v5.38* lần lượt là 9 và 12 alen (Lima et. al., 2010), tại vị trí *Lvan 01* và *Lvan 07* lần lượt là 13 và 17 alen (Luvesuto, 2007). Ngoại trừ tại vị trí *TUMXL v6.23*, số alen lớn hơn so với nghiên cứu trước của Meehan et al. (2003) vị trí *TUMXL v6.23* có 6 alen.

Quần đàn C-P có tổng số alen lớn nhất với 29 alen, tiếp đến là quần đàn V-U và quần đàn con lai C-P x H-I, lần lượt là 25 và 22 alen. Quần đàn H-C và H-I có số alen thấp nhất, lần lượt đạt 19 và 15 alen. Tương tự như vậy, quần đàn C-P có số alen trung bình cao nhất, đạt 5,8, các quần đàn còn lại là quần đàn V-U, quần đàn con lai C-P x H-I, quần đàn H-C, quần đàn H-I lần lượt là 5,0; 4,4; 3,8 và 3,0. Số alen hiệu quả của các quần đàn nghiên cứu thấp hơn nhiều so với tổng số alen, dao động từ 2,09 (quần đàn H-I)

đến 3,77 (quần đàn C-P). Sự khác biệt này được giải thích do quá trình đột biến, tái tổ hợp, trôi dạt di truyền, chọn lọc tự nhiên (Eding and Laval, 1999). Bên cạnh đó, các nguyên nhân khác liên quan đến kỹ thuật như PCR và phân tích đoạn và đọc kết quả có thể dẫn đến sự sai khác này. So với số alen hiệu quả trên ở hai vị trí *TUMXL v5.27* và *TUMXL v5.38* trong nghiên cứu của Lima et al. (2010) lần lượt là 7,18 và 6,14 thì kết quả tương ứng trong nghiên cứu này ở mức thấp hơn.

Ở nhiều vị trí microsatellite thuộc các quần đàn nghiên cứu, sự thiếu hụt dị hợp tử đã xảy ra. Mức hợp tử càng cao thì có nhiều biến dị di truyền và ngược lại. Ngoài ra, nếu có giao phối cận huyết thì dị hợp tử quan sát thấp hơn dị hợp tử mong đợi, mặt khác nếu dị hợp tử quan sát cao hơn dị hợp tử mong đợi thì quần thể bị ảnh hưởng bởi yếu tố cách ly. Trong nghiên cứu này, giá trị dị hợp tử quan sát thấp hơn so với giá trị dị hợp tử mong đợi. Các quần đàn C-P, H-I, C-P x H-I, V-U và H-C có giá trị dị hợp tử quan sát lần lượt là 0,49; 0,21; 0,40; 0,50 và 0,46 trong khi đó giá trị dị hợp tử mong đợi lần lượt là 0,72; 0,41; 0,62; 0,62 và 0,57 (Bảng 2). Kết quả này tương tự như ghi nhận của Cruz et al. (2004) và Luvesuto (2007) trên tôm thẻ chân trắng. Sự thiếu hụt này có thể giải thích do giao phối cận huyết tạo nên sự xuất hiện của các alen lặn. Sự xuất hiện của các “alen câm” hay lỗi trong phản ứng khuếch đại cũng có thể là nguyên nhân (Cruz et al., 2004). Xét trên hai vị trí *TUMXL v5.27* và *TUMXL v5.38*, các giá trị Ho và He

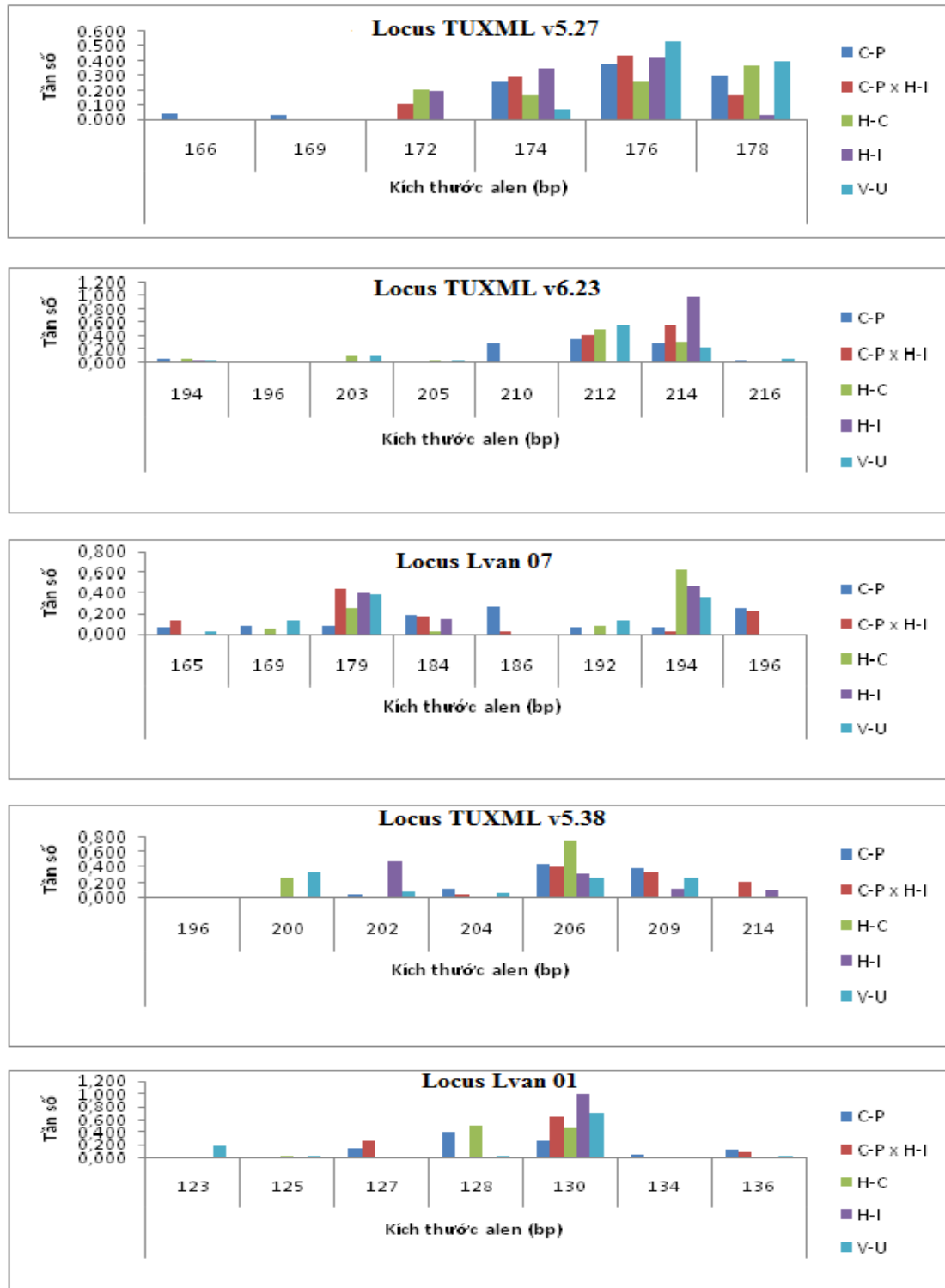
Tìm hiểu đặc điểm di truyền một số quần đàn tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi tại Việt Nam bằng chỉ thị microsatellite

trong nghiên cứu này là tương đương so với nghiên cứu của Lima et al.(2010) trên các quần đàn tôm chân trắng nuôi ở Pernambuco và Brazil. Với vị trí *Lvan 01* và *Lvan 07*, giá trị H_o (0,03-0,24 và 0,14-0,72) và H_e (0,02-0,72 và 0,55-0,82) thấp hơn so với nghiên cứu của Luvesuto (2007) (0,35-0,68 và 0,39-0,85) và (0,77-0,84 và 0,91-0,92).

Bảng 2. Cấu trúc di truyền của 5 quần đàn tôm nghiên cứu

Quần đàn	Vị trí	R	n	Na	Ne	H_o	He	Fis
C-P	TUMXL v5.27	166-178	40	5	3,32	0,65	0,70	0,07
	TUMXL v6.23	194-126	38	6	3,64	0,18*	0,73	0,75
	Lvan 07	165-196	36	8	5,45	0,72	0,82	0,12
	TUMXL v5.38	196-209	35	5	2,86	0,63	0,65	0,03
	Lvan 01	127-136	37	5	3,61	0,24*	0,72	0,66
	Trung bình		37,20	5,8	3,77	0,49	0,72	0,33
H-I	TUMXL v5.27	172-178	33	4	2,93	0,39*	0,66	0,40
	TUMXL v6.23	194-214	33	2	1,10	0,09	0,08	-0,05
	Lvan 07	179-194	29	3	2,54	0,14*	0,61	0,77
	TUMXL v5.38	202-214	34	4	2,84	0,38*	0,65	0,41
	Lvan 01	127-130	35	2	1,03	0,03	0,02	-0,01
	Trung bình		32,80	3,0	2,09	0,21	0,41	0,30
C-P x H-I	TUMXL v5.27	172-178	24	4	3,17	0,46	0,68	0,33
	TUMXL v6.23	203-216	24	4	2,14	0,08*	0,53	0,84
	Lvan 07	165-196	24	6	3,47	0,54*	0,71	0,24
	TUMXL v5.38	202-214	24	5	3,19	0,79	0,69	-0,15
	Lvan 01	127-136	24	3	2,01	0,13*	0,50	0,75
	Trung bình		24,00	4,4	2,80	0,40	0,62	0,40
V-U	TUMXL v5.27	174-178	30	3	2,23	0,47	0,55	0,15
	TUMXL v6.23	194-216	30	6	2,73	0,43	0,63	0,32
	Lvan 07	165-196	28	5	3,34	0,61	0,70	0,13
	TUMXL v5.38	200-209	29	5	3,75	0,69	0,73	0,06
	Lvan 01	123-136	29	6	1,94	0,31	0,48	0,36
	Trung bình		29,20	5,0	2,80	0,50	0,62	0,20
H-C	TUMXL v5.27	172-178	27	4	3,65	0,78	0,73	-0,07
	TUMXL v6.23	194-214	27	5	2,82	0,41	0,65	0,37
	Lvan 07	169-194	27	5	2,23	0,56	0,55	-0,01
	TUMXL v5.38	200-206	23	2	1,63	0,43	0,39	-0,13
	Lvan 01	125-130	27	3	2,15	0,15*	0,53	0,72
	Trung bình		26,20	3,8	2,50	0,46	0,57	0,18

Ghi chú: R: khoảng dao động alen (bp); n: số mẫu nghiên cứu; N_a : số alen trên locus; N_e : số alen hiệu quả; H_o : dị hợp tử quan sát; H_e : dị hợp tử mong đợi; *: sai khác có ý nghĩa so với định luật Hardy-Weinberg ($P<0,05$); Fis: hệ số tương đồng



Hình 1. Tần số alen tại các vị trí microsatellite trên 5 quần thể tôm thẻ chân trắng

Bảng 3. Chỉ số sai khác di truyền (Fst) giữa các quần đàn tôm thẻ chân trắng

C-P	C-P x H-I	H-C	H-I	V-U	Quần đàn
0,000					C-P
0,054	0,000				C-P x H-I
0,077	0,103	0,000			H-C
0,177	0,114	0,185	0,000		H-I
0,074	0,058	0,067	0,142	0,000	V-U

Xét tổng thể các locus trên từng quần đàn, hệ số tương đồng (Fis) dao động trong khoảng 0,18 đến 0,40. Quần đàn con lai C-P x H-I có giá trị tương đồng nhất trong 5 quần đàn (0,40); tiếp đến là hai quần đàn C-P và H-I với giá trị tương đồng lần lượt là 0,33 và 0,30. Giá trị này là tương đương với nghiên cứu của Lima et al. (2010) trên các quần đàn tôm chân trắng ở Pernambuco, Brazil (0,25 đến 0,38) và thấp hơn so với giá trị Fis đã được ghi nhận cho các quần đàn tôm chân trắng tự nhiên ở Mexico (Fis = 0,53, Valles-Jimenez, 2005). Sự khác biệt về giá trị Fis giữa các trại giống có thể là do sự khác biệt về cách thức quản lý, chẳng hạn như số lượng bể sinh sản, số lượng giống cho mỗi bể, tỷ lệ giới tính và việc lựa chọn tôm bố mẹ (Lima et al., 2010).

Xét trên từng vị trí microsatellite, giá trị Fis cao nhất tại vị trí *TUMXL v6.23* và *Lvan 01* trên quần đàn con lai C-P x H-I (0,84 và 0,75) và cũng tương đối cao đối với các quần đàn khác. Điều này cho thấy mức độ thiếu dị hợp tử tại hai vị trí này đáng báo động. Có thể giải thích kết quả này là do kích thước các quần đàn bố mẹ không lớn đã làm tăng tỷ lệ giao phối cận huyết và dẫn đến giảm đáng kể tỷ lệ dị hợp tử (Goyard et al., 2003; Freitas and Galetti, 2005), hay do trôi dạt di truyền và chọn lọc nhân tạo (Luvesuto, 2007).

Kết quả phân tích cũng cho thấy, di truyền của 9/25 vị trí microsatellite trên các quần đàn nghiên cứu sai khác có ý nghĩa so với định luật cân bằng Hardy - Weinberg ($P < 0,05$). Nghiên cứu của một số tác giả cũng báo cáo kết quả tương tự trên tôm chân trắng (Luvesuto, 2007) và tôm sú (Supungul et al., 2000; Xu et al.,

2001). Có thể nhận thấy, ở cả 5 vị trí microsatellite đều xuất hiện những alen với tần số rất thấp. Những alen này có thể dễ dàng mất đi nếu không có cách thức duy trì và quản lý tốt. Việc lai tạo giữa các quần đàn tôm có nguồn gốc khác nhau là một giải pháp hữu hiệu giúp duy trì đa dạng alen và có thể phục hồi một phần sự đa dạng di truyền bị mất đi như đề xuất của Freitas et al. (2007).

3.2. Quan hệ di truyền của các quần đàn tôm

Xét trên các quần đàn, giá trị Fst dao động từ 0,054 đến 0,185 và không có sự sai khác di truyền lớn giữa các quần đàn nghiên cứu (Bảng 3). Sai khác di truyền cao nhất là giữa quần đàn H-C và H-I (0,185); nhỏ nhất giữa quần đàn C-P và quần đàn con lai C-P x H-I (0,054). Theo Freitas and Galetti (2005), Gjerdem (2005), việc nhân giống dựa vào kiểu hình và giao phối cận huyết tăng đã góp phần thúc đẩy đáng kể trong việc tạo nên sự tương đồng di truyền giữa các quần thể.

4. KẾT LUẬN

Các vị trí microsatellite *TUMXL v5.27*, *TUMXL v6.23*, *Lvan 07*, *TUMXL v5.38* và *Lvan 01* trong phản ứng PCR đa môi cho kết quả đa hình khá cao và đã xác định được 36 alen trong các quần đàn tôm thẻ chân trắng nghiên cứu. Giá trị Fis ở mức trung bình, mức độ thiếu dị hợp tử là ở mức báo động đối với hai vị trí *TUMXL v6.23* và *Lvan 01* trên các quần đàn tôm chân trắng nghiên cứu. Chỉ số sai khác di truyền giữa các quần thể ở mức trung bình và không sai khác lớn giữa các quần đàn nghiên

cứu. Mặc dù có thể hạn chế về nguồn mẫu nghiên cứu cũng như số lượng các chỉ thị, kết quả nghiên cứu ban đầu cho thấy mức độ quan trọng của việc thực hiện các chương trình chọn giống nhằm nâng cao chất lượng tôm thẻ chân trắng góp phần phát triển bền vững cho ngành thủy sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cruz, P., Ibarra, A.M., Meija-Ruiz, H., Gaffney, P.M. and Perez-Henriquez, R. (2004). Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Mar. Biotechnol. 6:157-164.
- Eding, H. and Laval, G. (1999). Measuring the genetic uniqueness in Livestock, In Genenbanks and the conservation of farm animal genetic resources, Oldenbroek J.K. (editor). DLO Institute of Animal Science and Health The Netherlands, 33-55.
- Falconer, D.S. (1989). Introduction to Quantitative Genetics. 3rd edn. John Wiley and Sons, New York.
- Freitas, P.D. and Galetti Jr., P.M. (2005). Assessment of the genetic diversity in five generations of a commercial broodstock line of *Litopenaeus vannamei* shrimp. Afr. J. Biotechnol. 4:1362-1367.
- Freitas, P.D., Jesus, C.M. and Galetti Jr., P.M. (2007). *Litopenaeus vannamei* clone 5 microsatellite sequence. GenBank accession no. AY369258.
- Gjedrem, T. (2005). Selection and breeding programs in aquaculture. Springer. Dordrecht, 364 pp.
- 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 blueshrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia, French Polynesia and Hawaii and some management recommendations. Aquat Living Resour. 16: 501-508.
- Lima, A.P.S., Silva, S.M.B.C., Oliveira K.K.C., Maggioni, R. and Coimbra M.R.M. (2010). Genetics of two marine shrimp hatcheries of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in Pernambuco, Brazil. Ciencia Rural. Santa Maria. 40(2): 325 - 331.
- Luvesuto., E., Dominguez de Freitas, P. and Galetti Junior, P.M. (2007). Genetic variation in a closed line of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Penaeidae). Genetics and Molecular Biology, 30:1156-1160.
- Mair, G. (2002). Topical issues in genetic diversity and breeding genes and fish. Aquaculture Asia. 71: 15-29.
- Meehan, D., Xu, Z., Zuniga, G. and Alcivar-Warren, A. (2003). High frequency and large number of polymorphic microsatellites in cultured shrimp, *Penaeus (Litopenaeus vannamei)* (Crustacea: Decapoda). Mar. Biotechnol. 5: 311-330.
- Pante, M.J., Gjerde, B., and McMillan, I., (2001). Inbreeding levels in selected populations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. 192: 213-224.
- Perez-Enriquez, R., Hernandez-Martinez, F. and Cruz, P. (2009). Genetic diversity status of White shrimp *Penaeus (Litopenaeus vannamei)* broodstock in Mexico. Aquaculture 297: 44-50.
- Soto-Hernández, J. and Grijalva-Chon, J.M. (2004). Genetic differentiation in hatchery strains and wild White shrimp *Penaeus (Litopenaeus vannamei)* (Boone, 1931) from Northwest Mexico. Aquaculture 12: 593-601.
- Supungul, P., Sootanan, P., Klinbunga, S., Kamonrat, W., Jarayabhand, P. and Tassanakajon, A. (2000). Microsatellite polymorphism and the population structure of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand. Mar Biotech. 12: 339-347.
- Vaallies-Jimenez, R. (2005). Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: Microsatellite DNA variation. Marine Biotechnology, 6: 475-484.
- Xu, Z., Primavera, J.H., de la Pena, L.D., Pettit, P., Belak, J. and Alcivar-Warren, A. (2001). Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. Aquaculture. 199: 13-40.