

凡纳滨对虾的遗传育种研究现状

A review of genetics and breeding of *Litopenaeus vannamei*

张灵侠, 沈琪, 胡超群

(中国科学院南海海洋研究所, 广东 广州 510301)

中图分类号: Q953.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)02-0091-05

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei* Boone), 由于其生长快, 抗环境变化能力强, 对饵料的要求低, 肉味鲜美、出肉率高, 成为世界上公认的优良养殖对虾品种之一。凡纳滨对虾自 1998 年从美国夏威夷再次引进到中国华南, 并相继突破集约化防病养殖和全人工繁育技术以来^[1], 已成为中国海水养殖动物中发展最快的一个种类, 其养殖产量已达到中国养殖对虾产量的 80%~90%。然而目前中国凡纳滨对虾亲虾多数直接从虾塘挑选, 造成品质参差不齐, 抗病力下降, 生产周期延长, 严重制约了中国凡纳滨对虾养殖业持续健康发展。凡纳滨对虾亟需形成稳定优良的养殖品系。

对虾的遗传育种工作, 起步较晚, 基础较差, 但近年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。作者主要对凡纳滨对虾的遗传学和育种学研究概况进行总结和评述, 为进一步开展凡纳滨对虾的遗传育种学研究提供参考。

1 遗传学

1.1 基因组和染色体数目

细胞遗传学是进行遗传育种的基础, 对虾细胞遗传学研究最早是 Carnoy 报道了褐虾(*Crangon cataphractus*)的染色体。到目前为止, 已报道的对虾属虾类共有 12 种, 染色体数目变化范围较小, 多数对虾二倍体数目为 88, 少部分为 92, 其中凡纳滨对虾染色体数目尚有争议。1982 年 Mayorga^[2]报道凡纳滨对虾染色体数目为 $2n = 92$, 后来 Chow^[3]发表的研究表明凡纳滨对虾染色体数目为 $2n = 88$, 同时 Chow^[3]用流式细胞仪(flow cytometry)测定了凡纳滨对虾的基因组大小, 大约是人类基因组的

70%。最近邱高峰等^[4]统计了凡纳滨对虾的有丝分裂染色体数目($2n$)和减数分裂二价体数目(n), 报道凡纳滨对虾染色体数目为 $2n = 88$, $n = 44$, 与 Chow 等研究结果相一致。

1.2 数量遗传学

许多具有重要经济价值的遗传性状, 如生长速率、体质量、抗逆性、抗病性、饵料转化系数等, 均为数量性状, 由微效多基因控制。研究和改良数量性状是遗传学和育种的重要内容。但水生动物不像陆生动物, 易受到很多条件的制约。如研究重要经济性状需要的大量亲本、明确的家系和相配套的养殖条件^[5]。现在凡纳滨对虾、斑节对虾(*Penaeus monodon*)、日本对虾(*Penaeus japonicus*)已经成功获得了大规模确定交配的家系^[6,7], 加快了特定选育目标的实现。估算遗传力(heritability)大小对于选择育种具有重要指导意义。根据相关文献, 由全同胞来估算对虾生长速度的遗传力是 $0.3 \sim 0.5$ ^[6-9], 为指导对虾生长性状选育奠定了理论基础, 然而凡纳滨对虾经一代选育后, 其生长力只有 4.4%^[6]。暗示估算遗传力受环境的影响很大, 且估计值存在较大的标准偏差。凡纳滨对虾有关数量性状的遗传力如表 1。最近刘小林等^[10]研究了凡纳滨对虾形态性状(头胸甲长、体长、头胸甲宽、尾长等)与体质量之间的关系以及对体质量的直接影响大小, 通过形态性状的选择达到选种目的。

收稿日期: 2005-01-06; 修回日期: 2005-03-07

基金项目: 中国科学院知识创新工程项目(ZKCX2-211)

作者简介: 张灵侠(1980-), 女, 安徽蒙城人, 在读硕士, 从事海洋生物学研究; 沈琪, 通讯作者, 电话: 020-89023216, E-mail: zhanglingxia1980@126.com

表 1 凡纳滨对虾若干性状的遗传力

遗传性状	发育阶段	遗传力	研究者	
个体大小	前蚤状幼体 I	0.00 ~ 0.64	Lester ^[8]	
	糠虾幼体 I	0.00 ~ 0.18		
	后期幼体 I	0.15 ~ 0.36		
生长速率	早期稚虾(冬季)	0.53 ±0.27	Lester 等 ^[8]	
	后期稚虾(冬季)	0.60 ±0.25		
	后期幼体(春季)	0.35 ±0.17		
	后期稚虾(春季)	0.05 ±0.06		
体质量	成虾	0.42 ±0.05	Carr 等 ^[9]	
	成虾	0.45 ±0.01		Fjalestad 等 ^[6]
	成虾	0.50 ±0.13		
抗 TSV		0.22 ±0.09	Fjalestad 等 ^[6]	
抗 TSV		0.35 ±0.03		

1.3 群体遗传学和遗传多样性

1.3.1 蛋白质水平

从 20 世纪 70 年代开始,蛋白质电泳技术被用来研究对虾的同工酶、等位基因酶等蛋白质多态性。Perez-Farfante 等^[11]利用同工酶技术对对虾属进行分类,将该属分为美对虾亚属(*Eropenaeus*),滨对虾亚属(*Litopenaeus*),沟对虾亚属(*Melicertus*),对虾亚属(*Penaeus*) 4 个亚属。同时许多专家对不同地理居群凡纳滨对虾的生化遗传差异及群体遗传结构进行比较研究,经研究发现,对虾遗传变异性较低,地理差异较小,杂合度较低,十足目平均杂合度为 0.048^[12-14]。Cariolou 等^[15]通过双相电泳技术获得了凡纳滨对虾雌虾的特异蛋白质电泳图谱,认为是编码蛋白质基因的不同表达的结果。随着养殖业的发展,从 80 年代开始,一些大型养殖场开始建立封闭的养殖群体,这些群体不再引进大量野生对虾。封闭群体的建立有利于对虾的遗传育种研究,但是出现了对虾群体的严重近交现象。因此许多研究者利用等位基因酶技术检测凡纳滨对虾养殖群体遗传多样性和封闭群体的有效大小(effective population size, N_e)。Sunden 等^[16]对凡纳滨对虾 3 个分别来自墨西哥、巴拿马、厄瓜多尔的野生群体和 1 个自从 1983 年封闭养殖群体的 26 个基因位点进行了比较研究,发现野生群体和封闭养殖群体的杂合度都较低,平均为 0.017。与野生群体相比,封闭群体杂合度没有显著降低,只是等位基因数目减少,故封闭群体仍然保持显著的有效大小。黎中宝、吴仲庆^[17]研究了养殖环境中的凡纳滨对虾、日本对虾和刀额

新对虾(*Metapenaeus ensis*)的等位基因的变化,发现它们在一些位点上杂合子缺失,杂合度降低,显著偏离 H-W 平衡($P < 0.01$)。杂合子的缺失,对养殖业的可持续发展极为不利,将导致有些等位基因从基因库中消失,造成种群遗传多样性的降低。如何保持封闭群体的有效大小。在短期内应尽量增大基础群体的遗传多样性;从长远角度考虑,应该提供大量的亲本,防止后代近交^[15]。

蛋白质电泳技术虽然反映了 DNA 水平的差异,但是它仅仅是对基因产物的分析,检测的是基因的表型。故对于等位基因杂合度低,亲缘关系较近的对虾类,利用蛋白质电泳分析只能反映出形态上早已表现出来差异,难以测定出遗传差异;而且要获得可靠的群体统计数据,必须检测大量样品。因此,难以以为凡纳滨对虾遗传育种提供有用的遗传标记。

1.3.2 DNA 水平

随着以 DNA 为基础的分子标记和 PCR 技术的日益成熟,DNA 分子生物技术广泛应用于凡纳滨对虾遗传多样性的比较、亲缘关系的分析、品系的鉴定、连锁图谱的构建等。

1.3.2.1 线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 多态性

mtDNA 作为核外遗传物质,其进化速度快,具有非重组变异和母系遗传的特点;且基因组很小,15 ~ 17 kb,处于限制性内切酶的分析范围,便于进行限制性片断长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分析,因此成为群体遗传结构和遗传分类的合适标记。

Palumbi 等^[18]通过对 mtDNA 的 12S 部分序列和细胞色素氧化酶 I(cytochrome oxidase subunit I, COI)基因扩增、测序,发现形态上相似的凡纳滨对虾和细角滨对虾(*Penaeus stylirostris*)存在很显著的分子差异。Baldwin 等^[19]利用 mtDNA 的 COI 基因部分序列的 PCR-RFLP,阐述了对虾属 6 个亚属 13 个种的系统发育和演化情况,并不支持 Perez-Farfante 和 Kensley 于 1997 年以体外纳精囊作为补充分类依据修正的对虾属分类结果。Maggioli 等^[20]根据 16S mtDNA 的 PCR-RFLP 多态性,报道了大西洋西部的滨对虾属和美对虾属(*Farfentepenaeus*)起源和演化,分析得出了桃红对虾(prink shrimp)属于美对虾属,与同工酶标记分析得到的结论一致。另外 Alcivar 等^[21]在进行不同遗传背景下(母本生长速度不同)的凡纳滨对虾子代对 IHHNV (infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus)和 BP(*Baculovirus penaei*)易感性的研究中发现,当母本具有很低生长速度时,子代感染率很高。

利用 mtDNA-PCR 技术分析子代,结果显示各子代的 mtDNA 单态模本(haplotypes)相同,进一步研究发现各子代在不同生长发育时期,12S rRNA 的表达存在明显差异,预示着在复杂的核-质遗传体系中,凡纳滨对虾个体生长速率和对疾病的易感性可能和 12S rRNA 的表达有关。

1.3.2.2 核基因组 DNA 多态性

RAPD(randomly amplified polymorphic DNA)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,检测位点多,适合种内和种间的遗传检测。尤其 RAPD 技术对于分析缺乏 DNA 探针和分子遗传背景知之甚少,杂合度较低的虾蟹类基因组具有其他同类技术难以比拟的优点。因而在凡纳滨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^[22,23]利用 RPAD 技术研究培育的凡纳滨对虾家系,发现不同家系产生不同的电泳图谱,认为 RAPD 标记作为凡纳滨对虾家系培育过程中的不同家系特征分子标记的潜力很大,有利于加快凡纳滨对虾纯系的建立。Gullian 等^[24]从野生健康凡纳滨对虾的肝胰腺中提取了 3 种益生菌(弧菌 P62、弧菌 P63、杆菌 P64),利用 RAPD 技术检测了它们在养殖凡纳滨对虾中的定居百分数。使用这 3 种菌的凡纳滨对虾组体质量明显比对照组高($P < 0.05$)。

微卫星 DNA 又称简单序列重复(short sequence repeat DNA,SSR),一般以 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 RFLP 和串联重复序列(VNTRs)更随机分布。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。凡纳滨对虾微卫星具有高频多态性,136 对引物对其扩增,结果显示有 93 对具有多态性,所得多态性信息量(polymorphism information content,PIC)为 0.195~0.873,杂合性 10%~100%^[25]。Bagshaw 等^[26]报道了凡纳滨对虾一个新微卫星 DNA 位点,在凡纳滨对虾基因组里大约有 10^6 拷贝,用其作探针检测对虾属其他虾类,发现只有龙虾(*Lobster*)、小龙虾(*Crayfish*)基因组中出现。

1.3.2.3 功能基因组的研究

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应用于甲壳动物基因的克隆和测序。在重要功能基因筛选与克隆方面,抗病与免疫相关功能基因的筛选与应用正成为国际上的发展趋势。美国开展了凡纳滨对虾的功能基因组研究,建立了相关组织的 cDNA 文库,测

定了数千个 EST(表达序列标签技术)序列,还应用获得的 EST 制备了 cDNA 文库微阵列,用于筛选病毒应答基因^[27]。le Chevalier 等^[28]从凡纳滨对虾的消化腺 cDNA 文库分离了 α -糖苷酶 cDNA,具有 2830 个碱基,包含一个编码 919 个氨基酸的开放阅读框,与人类溶酶体酸性-葡萄糖苷酶、麦芽糖酶、葡糖淀粉酶表现出很高的相似性,推测可能是糖基水解酶家族 31 号。Sellos 等^[29]从凡纳滨对虾肝胰腺 cDNA 文库中分离了血淋巴中的血蓝蛋白,其多态性很低,与 *Panulirus interruptus* 非常相似,暗示在节肢动物进化过程中,血蓝蛋白具有很强的独立性和保守性。Francisco 等^[30]从凡纳滨对虾血细胞 cDNA 文库中筛选到 6 种编码甲壳素酶的 cDNA,根据核苷酸序列不同分为两种类型,所表达出的甲壳素结构与具有 WAP 蛋白家族功能域的抗菌肽相似,推测可能和抗病有关。

2 育种学研究

2.1 选择育种

选择育种作为一种传统而有效的育种手段在陆生作物中取得了显著成绩。水产养殖业由于受到环境的制约,选择育种迟迟没有得到很大的发展。凡纳滨对虾人工育苗的成功为其开展选择育种提供了可能。同时对虾世代时间短,生育力高都有利于选择育种的开展。到目前为止,凡纳滨对虾在中国还没有形成优良的养殖品系。因此凡纳滨对虾的选择育种具有很大的潜力。

Lester 等^[31]提出了以同工酶结合形态测定为基础进行亲本选择的对虾遗传育种方案,强调维持养殖群体的有效大小,避免随机漂变和近交衰退。Argue 等^[32]对凡纳滨对虾生长力和抗 TSV(taura syndrome virus)进行了研究,经一代选择体质量比对照组提高 21.2%,对于挑选 70%抗 TSV 和 30%高生长速率的凡纳滨对虾,经一代选择,成活率比对照组提高了 18.4%。在凡纳滨对虾家系选育过程中,发现生长迅速的个体 mtDNA 的 COI 基因与生长缓慢的个体的 COI 基因序列不同,证明 DNA 序列的组成差异可以作为数量性状特征分子标记,为以后的遗传选育工作奠定了良好的基础^[31]。

2.2 SPF 和 SPR 苗种的培育

随着对虾养殖业的发展,越来越多的疾病严重威胁着全球对虾的产量。从长远角度来说,面对多种流行病,唯一能够保持对虾产量的方法是无特定病原(specific pathogen free,SPF)和抗特定病原(specific pathogen resistant,SPR)品系的建立。美

国早在 1982 年制定的海产对虾养殖计划 (US marine shrimp Farming project, USMSFP), 是最早的养殖对虾遗传选育计划, 选育对象包括凡纳滨对虾、斑节对虾等几种主要养殖对虾。利用 RFLP, RAPD, 微卫星 DNA 等技术对凡纳滨对虾、斑节对虾的遗传多样性及种群遗传结构进行研究, 用于指导高健康对虾和无特异病原虾 SPF 的系统选育。Wolfus 等^[33] 也将微卫星标记应用于凡纳滨对虾的养殖选育计划, 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。Emmerick 等^[34] 利用 nest-PCR 技术报道了凡纳滨对虾的 IHNV 流行病学, 确定 IHNV 经由母体垂直传播, 得到了无 IHNV 病原的 (IHNV-FREE) 的凡纳滨对虾亲虾, 因而无节幼体数量和质量大幅度提高。

2.3 转基因育种

转基因技术能够克服物种间固有的生长隔离, 实现物种间遗传物质的交换, 使遗传信息在新的宿主细胞或个体中高效表达, 产生出人类需要的基因产物, 或改良、创造出具有更多优良经济性状的品种。由于对虾繁殖和发育生物学的特殊性, 进行对虾转基因遗传操作难度很大。到目前为止, 世界范围内转基因对虾的研究也仅有十几例, 其中主要研究转基因凡纳滨对虾。Toullec^[35] 等在凡纳滨对虾、细角对虾 (*Penaeus stylirostris*)、印度对虾 (*Penaeus indicus*) 中发现了类脊椎动物生长因子, 因此给凡纳滨对虾无节幼体服用促人体生长激素, 产生了很好的效果, 表明脊椎动物的优良性状基因可以转给对虾。最近美国夏威夷大学的 Piera Sun 等在凡纳滨对虾转基因工作中, 克隆得到了对虾肌动蛋白启动子, 应用显微注射、基因枪和电脉冲等方法获得了转基因凡纳滨对虾并申请了专利。然而上述主要是尝试将其他动植物的转基因元件转入对虾细胞中, 观察有外源基因表达的情况, 缺乏进一步有关表达整合以及传代的研究^[36]。

3 结语

随着基础生物技术的发展, 越来越多的分子方法, 例如质谱 (mass spectrometry)、双相电泳、基因克隆、单克隆抗体等运用到对虾的遗传学、组织学、分子生物学、细胞生物学研究中, 加快了对虾遗传育种工作的步伐。凡纳滨对虾在种群遗传结构和遗传多样性、数量遗传学、功能基因组学、选择育种和转基因育种等方面都取得了较大的进展。同时其他主要养殖对虾品种的遗传育种工作也取得了突破。例

如两种主要养殖对虾日本对虾、斑节对虾遗传图谱的构建, 中国对虾单倍体 (雌核发育、雄核发育) 和多倍体育种的成功, 许多养殖对虾之间的杂交成功 (*Penaeus setiferus* × *Penaeus stylirostris*, *Penaeus setiferus* × *Penaeus schmitti*, *Penaeus monodon* × *Penaeus penicillatu* 等等)。然而凡纳滨对虾在这些方面的研究尚属空白。今后, 应借鉴其他对虾研究成果, 加强凡纳滨对虾遗传育种研究, 尽快形成具有优良经济性状的凡纳滨对虾品系。

参考文献:

- [1] 胡超群, 任春华, 沈琪, 等. 凡纳对虾和细角对虾规模化全人工养殖技术的研究 [A]. 中国海洋湖沼学会. 第 3 届全国海珍品养殖研讨会论文集 [C]. 北京: 科学出版社, 2001. 117-120.
- [2] Mayorga Z. Genetica de crustaceas [J]. *Documenta*, 1982, 10 (85): 3-6.
- [3] Chow S, Dougherty W L, Sandifer P A. Meiotic chromosome complement and nuclear DNA contents of four species of shrimps of the genus *Penaeus* [J]. *Journal of Crustacean Biology*, 1990, 10 (1): 278-283.
- [4] 邱高峰, 楼允东, 顾功超. 南美白对虾染色体的研究 [J]. 上海水产大学学报, 1997, 6 (1): 50-53.
- [5] Benzie J A H. Penaeid genetics and biotechnology [J]. *Aquaculture*, 1998, 164: 23-47.
- [6] Benzie J A H. Genetic improvement of prawns [A]. World Congress on the Application of Genetics to Livestock Production. Proceedings of the Sixth World Congress on the Application of Genetics to Livestock Production Armidale (27) [C]. Armidale (Australia): University of New-England, 1998. 103-110.
- [7] Benzie J A H, Kenway M, Trott L. Estimates for the heritability of size in juvenile *Penaeus monodon* prawns from half-sib matings [J]. *Aquaculture*, 1997, 152: 49-53.
- [8] Lester L J. Difference in larval growth among families of *Penaeus stylirostris stimpson* and *Penaeus vannamei* Boone [J]. *Aquacul and Fish Mgmt*, 1988, 19: 243-251.
- [9] Carr W H, Fialestad K T, Godin V M, et al. Genetic variation in weight and survival in a population of specific pathogen-free shrimp *Penaeus vannamei* [A]. Flegel T W, Mackael I H. Book of Abstracts World Aquaculture Society [C]. Carolina (American): The World Aquaculture, 1997. 265-272.
- [10] 刘小林, 吴长功, 张志怀, 等. 凡纳滨对虾形态性状对体重的影响效果分析 [J]. 生态学报, 2004, 4 (4): 15-20.
- [11] Perez-Farfante I. Western Atlantic shrimp of genus *penaeus* [J]. *Fish Bull US Fish Wildl Serv*, 1969, 67:

研究综述 REVIEWS

- 461-591.
- [12] Lester L J. Population genetics of penaeid shrimp from the Gulf of Mexico [J]. **J Hered**, 1979, 70: 175-180.
- [13] Redfield J A, Hedgecock D, Nelson K, *et al.* Low heterozygosity in tropical marine crustaceans of Australia and the trophic stability hypothesis [J]. **Mar Biol Lett**, 1980, 1: 303-313.
- [14] Benzie J A H. Population genetic structure in penaeid prawns [J]. **Aquac Res** 2000, 31: 95-119.
- [15] Cariou M A, Flytzanis C N. Specific gene expression in distinct tissues of the shrimp *Penaeus vannamei* [J]. **Comp Biochem Physiol**, 1993, B106: 705-716.
- [16] 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 [J]. **Aquaculture**, 1991, 97: 131-142.
- [17] 黎中宝, 吴仲庆. 几种优良养殖对虾杂合性的比较研究 [J]. **海洋科学**, 2002, 26(12): 45-48.
- [18] Palumbi S R, Benzie J H A. Large mitochondrial difference between morphologically similar penaeid shrimp [J]. **Mol Mar Biol Biotechnol**, 1991, 1: 27-34.
- [19] Baldwin J D, Bass A L, Bowen B W, *et al.* Molecular phylogeny and biogeography of the marine shrimp *Penaeus* [J]. **Mol Phylogenet Evol**, 1998, 10: 399-407.
- [20] Maggioni R, Rogers A D, Maclean N, *et al.* Molecular phylogeny of Western Atlantic *Farfantepenaeus* and *Litopenaeus* shrimp based on mitochondrial 16S partial sequences [J]. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 2001, 18(1): 66-73.
- [21] Alcivar-Warren A, Overstreet R M, Arun K D, *et al.* Genetic susceptibility of cultured shrimp (*Penaeus vannamei*) to infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus and baculovirus penaei: possible relationship with growth status and metabolic gene expression [J]. **Journal of Invertebrate Pathology**, 1997, 170(3): 190-197.
- [22] Garcia D K, Dhar A K, Alcivar-Warren A, *et al.* Molecular analysis of a RAPD marker [B20] reveals two microsatellites and differential mRNA expression in *Penaeus vannamei* [J]. **Mol Mar Biol Biotechnol**, 1996, 5: 71-83.
- [23] Garcia D K, Faggart M A, Rhoades L, *et al.* Genetic diversity of cultured *Penaeus vannamei* shrimp using three molecular genetic techniques [J]. **Mol Mar Biol Biotechnol**, 1994, 3(5): 270-280.
- [24] Gullian M, Thompson F, Rodriguez J, *et al.* Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei* [J]. **Aquaculture**, 2004, 233: 1-14.
- [25] Meehan D, Xu Z, Zuniga G, *et al.* High Frequency and large number of polymorphic microsatellites in cultured shrimp, *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* Crustacea: Decapoda [J]. **Marine Biotechnology**, 2003, 5(4): 311-330.
- [26] Bagshaw J C, Buckholt M A. A novel satellite/microsatellite combination in the genome of the marine shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. **Gene**, 1997, 184(2): 211-214.
- [27] 陈松林. 水产养殖生物基因组的研究现状和发展趋势 [A]. 中国水产学会. 世界水产养殖科技大趋势 [C]. 北京: 海洋出版社, 2003. 80-85.
- [28] Le Chevalier P, Sellos D, Macleun N, *et al.* Molecular cloning of a cDNA encoding alpha-glucosidase in the digestive gland of the shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. **Cellular And Molecular Life Sciences**, 2000, 57(7): 1135-1143.
- [29] Sellos D, Lemoine S, Wormhoudt A V, *et al.* Molecular cloning of hemocyanin cDNA from *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda): structure, evolution and physiological aspects [J]. **FEBS Letter**, 1997, 407(2): 153-158.
- [30] Francisco V A, Gloria Y P, Florinda J V, *et al.* Structural and functional differences of *Litopenaeus vannamei* crustins [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology, part B**, 2004, 38(4): 415-422.
- [31] Lester L J. Developing a selective breeding plan for penaeid shrimp mariculture [J]. **Aquaculture**, 1983, 33: 41-50.
- [32] Argue B J, Arce S M, Lotz J M, *et al.* Selective breeding of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to taura syndrome virus [J]. **Aquaculture**, 2002, 204: 447-460.
- [33] Wolfus G M, Garcia D K, Alcivar-Warren A, *et al.* Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs [J]. **Aquaculture**, 1997, 152: 35-47.
- [34] Emmerik M, Edwin Y, Juan L, *et al.* Prevention of IHNV vertical transmission in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. **Aquaculture**, 2003, 219: 57-70.
- [35] Toullec J V, Le Moullac M, Cuzon G, *et al.* Immunoreactive human growth hormone like peptides in tropical penaeids and the effect of dietary HGH on *Penaeus vannamei* larval development [J]. **Aquatic Living Resources**, 1991, 4(2): 125-132.
- [36] 张晓军, 相建海. 对虾转基因研究的现状和展望 [J]. **中国生物工程杂志**, 2003, 3(12): 36-42.

(本文编辑: 刘珊珊)