

مطالعه کاربولوجی میگوی سفید هندی *Penaeus indicus* (Fennero penaeus) خلیج فارس و دریای عمان

فیروزه خلیل آبادی نژاد^{۱*}، سعید تمدنی جهرمی^۲، سیده منصوره منصوره^۱، کیانا پیریان^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندر عباس

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس

۳- دانشگاه بوعلی سینا، همدان

چکیده

سابقه و هدف: اطلاعات کروموزومی جانداران علاوه بر کمک به شناخت بهتر بیولوژی و طبقه بندی آن ها، در جهت اصلاح نژاد و دست کاری های کروموزومی نیز موثر است. میگو سفید هندی *Penaeus indicus* از مهم ترین گونه های پرورشی ایران است. **مواد و روش ها:** میگوهای مولد از آب های حوزه شرق و غربی بندر جاسک صید شدند. رنگ آمیزی مراحل رشدی توسط کلشی سین و هیپوتونیک KCl در غلظت و زمان های مختلف انجام شد. گسترش کروموزومی متافازی به دو روش کامپوس- راکوس و له کردن بافت و رنگ آمیزی با گیمسا یا آب مقطر بررسی شد.

یافته ها: بافت بیضه بهترین گسترش را نشان داد. تعداد کروموزوم های دیپلوئید ($2n=86$) با هاپلوئید ($n=43$) تایید شد که در این میان ۲۷ جفت کروموزوم متاسنتریک / سب متاسنتریک و ۱۶ جفت اکرو/تلوسنتریک تشخیص داده شد.

بحث: با وجود اختلافات کروموزومی مشاهده شده در مطالعه های کاربوتایی گونه های خانواده پنائیده، تعداد کروموزوم های دیپلوئید ($2n=86$) تعیین شده در این مطالعه در محدوده تعداد کروموزوم دیپلوئیدی (86 تا 92) گزارش های پیشین قرار دارد.

نتیجه گیری: جهت مطالعه کاربوتاییپینگ و گسترش کروموزومی گونه های جنس پنائیده بافت بالغ بیضه و رنگ آمیزی گیمسا ۱۰٪ و تهیه لام به روش له کردن بافت به عنوان بهترین روش های آماده سازی تعیین شدند.

کلمات کلیدی: کاربوتاییپ، خلیج فارس و دریای عمان، *Penaeus indicus* (Fennero penaeus)

مقدمه

پایه اصلاح نژاد یا آزمایش های دست کاری کروموزومی باشد که توسط آن می توان وضعیت کروموزومی و سطح پلوئیدی را تشخیص داد (۴). مطالعه های کاربولوجیکی اطلاعات اساسی در مورد تعداد، اندازه و ریخت شناسی کروموزوم هایی که برای دست کاری های کروموزومی در حیوانات مهم می باشند را فراهم می آورد. به طور کلی در سخت پوستان اطلاعات کروموزومی به دلیل تعداد زیاد و اندازه کوچک کروموزوم ها در مقایسه با حشرات و سایر مهره داران، به نسبت کم است، به علاوه بافتی با درصد بالای سلول های در حال تقسیم در گونه های موجود در رده سخت پوستان وجود ندارد. تعداد کروموزوم های دیپلوئید در سخت پوستان از ۶ عدد در یک دکاپود *Acanthocyclops robustus* تا بیش از ۳۷۶ در یک آستاکید *Astacus trowbridgii* گزارش شده است که بیش ترین تعداد کروموزوم ثبت شده تاکنون در متازوآها می باشد (۲۰).

تجزیه و تحلیل کاربوتاییپ گام کلیدی جهت بهبود ذخایر از طریق دست کاری پلوئیدی، دورگه گیری و مهندسی ژنتیکی می باشد. مطالعه های سیتوژنتیک می تواند در مطالعه های دورگه گیری بسیار

بیش از ۳۰ گونه میگو از جنس پنائوس در دنیا شناسایی شده است که مطالعه ها کروموزومی این جنس تاکنون به گونه های *P.setiferus*, *P.stilyrostris*, *P.vannamei*, *P.stilyrostris*, *P.japonicus*, *P.occidentalis*, *P.orientalis*, *P.duorarum*, *P.aztecus*, *P.californiensis* و *P. emisulcatus* محدود شده است (۴،۷،۱۰،۱۲،۱۳،۱۶،۱۸). گونه *Penaeus indicus* یکی از مهم ترین گونه های پرورشی ایران است. اطلاعات کروموزومی این گونه میگو می تواند به درک بهتر بیولوژی و طبقه بندی آن کمک نماید. به علاوه چنین داده هایی می تواند

مسئول نویسنده: گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن،

ایران

پست الکترونیکی: fkhali1384@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۰۷

مفید واقع شود. دوره گیری امروزه به عنوان یک روش ژنتیکی برای معرفی گونه های جدید محسوب می شود، گونه هایی که مقاوم به آب شیرین و شور، سریع الرشد، مقاوم به بیماری و صف های مطلوب دیگر می باشند. درضمن تجزیه و تحلیل کروموزوم ها می تواند به تشخیص افتراقی یاخته های طبیعی و بدخیم نیز کمک نماید. در این مقاله به نتایج حاصل از شمارش کروموزوم ها و کاربوتایپ میگوی سفید هندی پرداخته شده است.

مواد و روش ها

نمونه برداری

هفده عدد میگوی مولد *Penaeus indicus* از هر دو جنس با وزن بین ۶۵-۲۱/۷ گرم از آب های حوزه شرق و غرب بندر جاسک صید شدند. مراحل مختلف رشدی میگوها نیز از هجری های هرمرز لارو کوهستک، سنترف جاسک و شیل گستر کوهستک در سال ۱۳۸۵ جمع آوری گردیدند.

رنگ آمیزی مراحل لاروی

مراحل تخم لقاح یافته، جنین، ناپلیوس، زوا و پست لارو در آزمایشگاه مرکز تکثیر شهید کلاهی میناب وابسته به شیلات هرمزگان با غلظت های مختلف کلشی سین (۰/۲۵، ۰/۰۴، ۰/۰۵، ۰/۰۷، ۰/۱ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب) در آب دریا با دمای ۲۸-۳۴ درجه سانتی گراد و شوری ۲۸-۳۵ در هزار (بسته به فصل) به مدت ۱۰۰-۴۵ دقیقه قرار داده شدند و سپس در محلول هیپوتونیک KCl (۰/۷۵ مولار) به مدت ۲۰ دقیقه تا یک ساعت (۴، ۴۳، ۴۲، ۴۱، ۴۰، ۳۹، ۳۸، ۳۷، ۳۲، ۳۱، ۳۰، ۲۶، ۲۰، ۱۵، ۵، ۴۸، ۳۳، ۳۴، ۳۵) در ۲۷ درجه سانتی گراد غوطه ور شدند. نمونه ها در محلول تازه تهیه شده کارنوی (سه قسمت متانول و یک قسمت اسید استیک گلاسیال (Merck)) به صورت دو تعویض هرکدام ۳۰ دقیقه یا پنج تعویض هرکدام ۱۰ دقیقه فیکس شدند. درنهایت، نمونه ها در اتانول- اسید استیک ۱:۱ در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت ذخیره شدند. تهیه گسترش کروموزومی به روش های کامپوس-راموس (۴) و له کردن بافت تهیه شدند. لام ها جهت خشک شدن ۲۴ ساعت در معرض هوا قرار گرفتند و سپس با گیمسای ۱۰ درصد (Merck) رقیق شده با بفر فسفات (pH= ۶/۸) یا آب مقطر به مدت های ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۲۰، ۳۰ دقیقه رنگ آمیزی شدند.

رنگ آمیزی نمونه های بالغ

میگوهای نر و ماده بالغ دو ماهه در آزمایشگاه به صورت داخل عضلانی و داخل صفاقی به میزان ۲ میکروگرم بر گرم (از محلول ۰/۵ درصد کلشی سین در سرم فیزیولوژی) تزریق و به طور انفرادی بسته به دمای محیط در ۲۹-۳۳ درجه سانتی گراد به مدت ۶، ۵/۵، ۴، ۳ ساعت نگه داری شدند. بافت های بیضه، آبشش، هپاتوپانکراس و تخمدان پس از جداسازی به قطعات کوچک بریده و در محلول

هیپوتونیک KCl (۰/۷۵ مولار) به مدت ۲۰، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دقیقه یا در سترات سدیم (۰/۹ درصد) به مدت ۲۵ دقیقه در ۲۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سلول ها در محلول کارنوی تازه به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه به ترتیب سه و دو تعویض فیکس شدند. بعد از فیکساسیون بافت ها در متانول- اسید استیک ۱:۱ در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. گسترش های کروموزومی به وسیله روش له کردن بافت (Squash) تهیه شدند.

مطالعه گسترش های کروموزومی

گسترش های کروموزومی متافازی میوزی و میتوزی نمونه ها با میکروسکوپ Olympus BX40 با روغن ایمرسیون و بزرگ نمایی 100x مشاهده گردیده و با دوربین دیجیتالی الیمپوس عکس برداری شدند. عکس های گرفته شده از گسترش متافازی با نرم افزار فتوشاپ ۸ کاربوتایپ شدند. به دلیل عدم دسترسی به امکانات ویژه امکان اندازه گیری طول بازوهای کروموزومی وجود نداشت.

نتایج

در میگوهای بالغ، بافت های آبشش، هپاتوپانکراس و تخمدان بافت های مناسبی برای تهیه گسترش کروموزومی نبودند اما گسترش های تهیه شده از بافت بیضه، گسترش های خوبی بودند و بافت مناسبی محسوب می شدند (شکل ۱ و ۳). از بین تیمارهای مختلف رنگ آمیزی، تیمار به صورت تزریق کلشی سین ۲ میکروگرم بر گرم درون ماهیچه ای به مدت ۶-۴ ساعت، هیپوتونیک KCl (۰/۷۵ مولار) به مدت ۳۰ دقیقه و کارنوی ۱ ساعت با سه بار تعویض و رنگ آمیزی با گیمسای ۱۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه، بهترین رنگ آمیزی را نشان داد (شکل ۱ و ۳). لام های تهیه شده با روش له کردن بافت سرد، لام های بسیار مناسبی بودند. نتایج کروموزومی به دست آمده از نمونه های تخم، جنین و لارو گسترش خوبی را نشان ندادند. در بررسی های میکروسکوپی، پس از شمارش تعداد کل ۱۵۴ پلاک متافازی تعداد کروموزوم های دیپلوئید از ۵۷ تا ۸۸ عدد با نمای ۸۶ به میزان ۴/۱ درصد متافاز میوزی بود. تعداد کروموزوم های هاپلوئید مشاهده شده از ۳۴ تا ۵۰ عدد با نمای ۴۳ به میزان ۳۶/۵ درصد متافاز میتوزی بود (جدول ۱ و ۲). بنابراین تعداد کروموزوم های دیپلوئید (n=۴۳) به وسیله میانگین تعداد کروموزوم های هاپلوئید (n=۴۳) در بیضه بالغین این گونه تایید شد. تعداد کروموزوم های دیپلوئید میگو سفید هندی (n=۸۶) و هاپلوئیدی آن (n=۴۳) به دست آمد که ۲۷ جفت کروموزوم متاسنتریک/ ساب متاسنتریک و ۱۶ جفت اکرو/تلوسنتریک تشخیص داده شد که وجود کروموزوم های جنسی قابل تشخیص نبود (شکل ۲).

درصد	تعداد سلول	تعداد کروموزوم
۲۲/۵	۲۳	۸۸
۴۱/۱	۴۲	۸۶
۷/۸	۸	۸۴
۱/۹	۲	۸۳
۳/۹	۴	۸۲
۵/۸	۶	۸۰
۱/۹	۲	۷۸
۱/۹	۲	۷۶
۴/۹	۵	۷۴
۰/۹۸	۱	۷۳
۱/۹	۲	۶۴
۱/۹	۲	۶۳
۰/۹۸	۱	۶۰
۱/۹	۲	۵۷
۱۰۰	۱۰۲	مجموع

جدول ۱- تعداد کروموزوم های دیپلوئید میگو سفید هندی *Penaeus indicus*

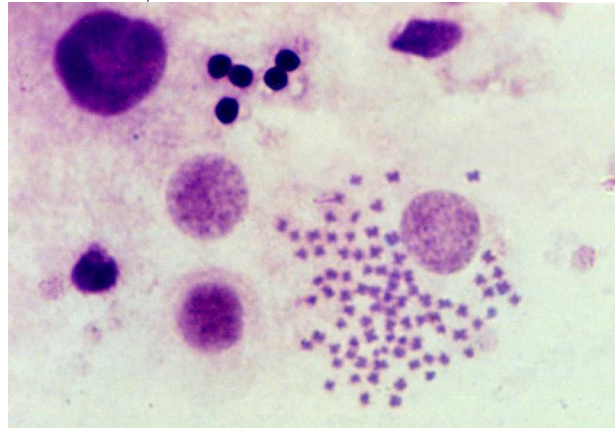
تعداد کروموزوم	۵۰	۴۸	۴۷	۴۶	۴۴	۴۲	۳۸	۳۴	مجموع
تعداد سلول	۲	۷	۱۲	۵	۳	۱۹	۲	۲	۵۲
درصد	۳/۸	۱۳/۴	۲۳	۹/۶	۵/۷	۳۶/۵	۳/۸	۳/۸	۱۰۰

جدول ۲- تعداد کروموزوم های هاپلوئید میگو سفید هندی *Penaeus indicus*

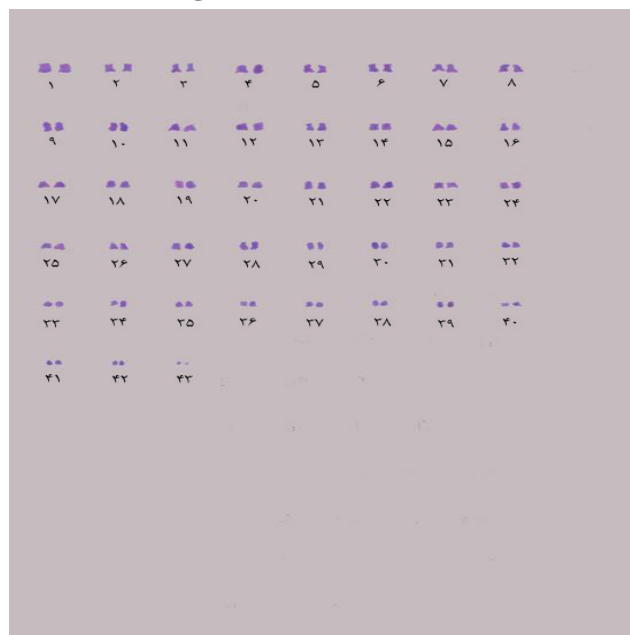
بحث

جهت تهیه گسترش های کروموزومی در مرحله متافاز بافت های در حال تکثیر سریع مورد نیاز می باشند. همان طور که نتایج نیز نشان دادند بافت تخمدان به رغم داشتن تقسیم سلولی زیاد، به دلیل دارا بودن مواد زرده ای و چربی زیاد مناسب نبود. به نظر می رسد وقوع مراحل مختلف رسیدگی که هر یک موجب وقوع تغییرهای قابل توجهی در ساختمان و فیزیولوژی تخمدان می گردد، باعث می شود که تشخیص مرحله رسیدگی مناسب جهت برداشت بافت تخمدان دشوار گردد (۱۵). هم چنین تحقیقی جهت تهیه کاربویولوژی خرچنگ شناگر آبی خلیج فارس نشان داد که استفاده از بافت تخمدان خرچنگ های بالغ گسترش های کروموزومی مناسبی نداشت (۲).

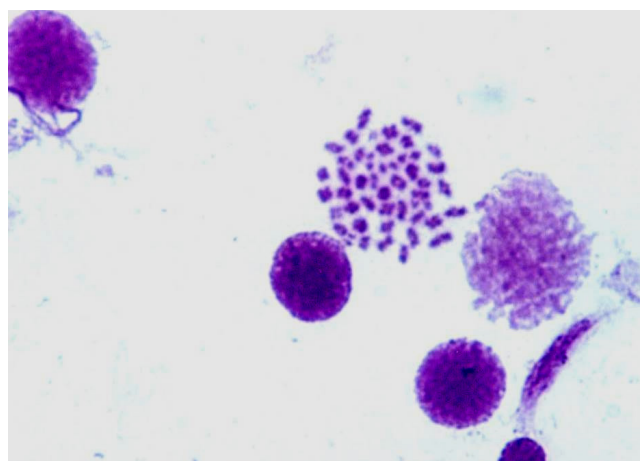
اما بافت بیضه، یک بافت عالی در تجزیه و تحلیل کاربوتایپ به شمار می رود زیرا تنها منبع متافازی میتوزی و میوزی می باشد (۶). تحقیق ها نشان داده است که بیضه ها به علت داشتن پلاک های متافازی میتوزی و میوزی، جهت تهیه کاربوتایپ در گونه های سخت پوستان و از جمله خرچنگ ها مناسب ترین اندام به شمار می روند (۸). در این تحقیق نیز پلاک های متافازی مناسبی از بافت بیضه تهیه شد که به خوبی عدد هاپلوئید گونه مورد مطالعه را نشان داد.



شکل ۱- گسترش متافازی دیپلوئیدی بافت بیضه میگو سفید هندی *Penaeus indicus* با بزرگنمایی X۱۰۰



شکل ۲- کاربوتایپ میگو سفید هندی *Penaeus indicus* با بزرگنمایی X۱۰۰



شکل ۳- گسترش متافازی هاپلوئید بافت بیضه میگو سفید هندی *Penaeus indicus* با بزرگنمایی X۱۰۰

براساس بررسی هایی که zhu و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی گونه *Portunus trituberculatus* انجام دادند، عدد کروموزومی این گونه را $n = 106$ تعیین کردند و بهترین بافت را برای شمارش عدد کروموزومی این گونه بیضه معرفی کردند (۲۱). هم چنین بر اساس نتایج حاصل از بررسی آمینی و منصوری بر روی میگوی موزی در خلیج فارس، (*Penaeus merguensis*) بهترین بافت جهت تهیه گسترش کروموزومی این گونه بافت بیضه و تعداد کروموزوم های دیپلوئید $n = 88$ عنوان شد (۳).

در بین روش های گوناگون مطالعه کروموزومی سخت پوستان، استفاده از روش تزریق در بالغین ساده ترین روش می باشد که در مطالعه حاضر، نیز تزریق درون ماهیچه ای به میزان ۲ میکروگرم بر گرم به ازای هر گرم وزن بدن در جنس نر بهترین نتیجه را نشان داد. بررسی ها بر روی گونه خرچنگ دراز آب شیرین نشان داد که تیمار کلشسین مناسب برای سخت پوستان گرم آبی ۱ تا ۲ میکروگرم به ازای هر گرم وزن بدن و به مدت ۸ تا ۱۲ ساعت بود (۲). در حالی که برای سایر سخت پوستان تیمار کلشسین مناسب ۱ میکروگرم به ازای هر گرم وزن بدن و برای مدت ۴ تا ۶ ساعت اعلام شده است (۱۷). در این تحقیق نیز مدت زمان مناسب ۴ تا ۶ ساعت برآورد شد. مطالعه ها نشان داده است که در سخت پوستان اطلاعات کروموزومی به نسبت اندک است، زیرا تعداد کروموزوم های آن ها زیاد و اندازه کروموزوم ها در مقایسه با حشرات و مهره داران، کوچک است، وجود کروموزوم های نقطه ای شکل نیز از ویژگی های این رده می باشد (۱۹).

در این مطالعه به دلیل اندازه بسیار کوچک کروموزوم های گونه *P. indicus* و تعداد کم گسترش های کروموزومی مناسب، تمایز بین کروموزوم های تلوسنتریک و اکروسنتریک امکان پذیر نبود و هم چنین ممکن است کاربوتایپ پیشنهاد شده تا اندازه ای دارای خطا باشد. تعداد کروموزوم های دیپلوئید و هاپلوئید ($n = 86$) و ($n = 43$) به دست آمده در این مطالعه در محدوده تعداد کروموزوم دیپلوئیدی است که قبلا برای سایر گونه های میگو (۸۶ تا ۹۲) گزارش شده است (۱۰)، مورلی و همکاران (۱۴) تعداد کروموزوم های گونه *P. indicus* را $n = 88$ (۲) با فرمول کروموزومی ۳۰-۲۷ جفت متاسنتریک، ۱۵-۸ جفت ساب متاسنتریک، ۴-۱ جفت ساب تلوسنتریک و بدون مشاهده کروموزوم تلوسنتریکی گزارش داده اند اما در این مطالعه تعداد کروموزوم های دیپلوئید و هاپلوئید با فرمول کروموزومی متفاوتی به دست آمد، به طوری که تحقیقات نشان داده اند که این چنین اختلاف های کروموزومی در مطالعه ها کاربوتایپینگ بیش تر گونه های خانواده پنائیده مشاهده شده است به عنوان مثال تعداد کروموزوم های دیپلوئید گونه *Penaeus japonicus* توسط نیاما (۱۶) $n = 92$ (۲) گزارش شده است در حالی

که تعداد کروموزوم های دیپلوئید در همین گونه توسط هایاشی و فوجی وارا (۹) $n = 86$ (۲) گزارش شده است و هم چنین مایورگا (۱۲) و چو (۶) تعداد کروموزوم های گونه *Penaeus vannamei* را به ترتیب $n = 92$ (۲) $n = 46$ (۲) و $n = 88$ (۲) $n = 44$ (۲) گزارش داده اند. به طور کلی علت تفاوت در تعداد کروموزوم های گونه های موجود در نواحی جغرافیایی مختلف را بیش تر به تنوع شرایط محیطی احتمال داده اند که توانسته خصوصیت های ژنتیکی موجود را تحت تاثیر قرار دهد، البته به طور احتمال عوامل دیگری در ایجاد اختلافات دخیل می باشند که هنوز به خوبی روشن نشده است (۵، ۱۱). در این تحقیق تشخیص کروموزوم های جنسی ممکن نشد. این امر ممکن است به دلیل وجود کروموزوم های نقطه ای شکل متعدد در این گونه ها و یا روش رنگ آمیزی باشد. به همین جهت پیشنهاد می شود که در بررسی های کروموزومی از روش FISH استفاده شود (۲).

به هر حال تفاوت ریختی کروموزوم های جنسی در تنها کمتر از ۶ درصد گونه های آبزیان مشاهده شده است (۱).

تحقیق ها بیش تری برای شناسایی تفاوت های جغرافیایی موثر در تعداد کروموزوم در میان گونه های جنس *Penaeus* نیاز می باشد که امید است کاربرد تکنیک های بهبود یافته در تهیه کاربوتایپ و نیز رویکرد های زیست شناسی مولکولی درک ما را از ژنتیک و تکامل سخت پوستان و خانواده پنائیده افزایش دهد.

نتیجه گیری

از آنجا که بررسی کاربوتایپی و گسترش کروموزومی گونه های جنس *Penaeus* متغیر است بنابراین روش بهینه ای جهت رنگ آمیزی بسیار مهم می باشد. به طور کلی با تحقیقات انجام شده در این آزمایش می توان گفت بهترین بافت، بافت بیضه و بهترین روش رنگ آمیزی گیمسای ۱۰٪ است و بهترین روش تهیه اسلاید جهت مطالعه ها میکروسکوپی را می توان روش له کردن بافت را معرفی کرد.

سپاسگزاری

در پایان از مسئولین و کارشناسان موسسه شیلات هرمزگان، اداره دام پزشکی هرمزگان، آزمایشگاه مرکز آموزش بندر کلاهی میناب، کارگاه تکثیر و پرورش هرمز لاروکوهستک، کارگاه تکثیر و پرورش سنتدرف جاسک و کارگاه تکثیر و پرورش شیل گسترکوهستک و کلیه عزیزانی که در اجرای هرچه بهتر این طرح هم کاری های لازم را نمودند، کمال تشکر و قدردانی را می نمایم.

منابع

۱. هالمرن، ا.، ۱۳۸۴ اصول و روش های مطالعه ها ژنتیکی ماهیان. ترجمه ایرج هاشم زاده سقرلو، جلد اول، انتشارات نقش مهر، چاپ اول، صفحه ۵۳
۲. جزایری، الف.، پاپهن، ف. و مصلح آبادی، ز. ۱۳۸۹ مطالعه کاربیلوژیک خرچنگ شناگر آبی خلیج فارس (*Portunus plagicus*). مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره هفتم، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۴۴-۳۷
3. Amini, F. and S.M. Mansoori, Karyological study on Persian Gulf Banana shrimp, *Penaeus (Fenneropenaeus) merguensis*. J. veterinary research, 2010. 65(1): 37-41.
4. Campos-Ramos R., Chromosome studies on the marine shrimps *Penaeus vannamei* and *P. californiensis* (Decapoda). J. Crustacean Biology, 1997. 17: 666-673.
5. Chavez Justo, C., M. Murofushi, K. Aida and H. Hanyu, Karyological studies on the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 1991. 97: 327-334.
6. Chow, S., W.J. Dougherty and P.A., Sandifer Meiotic chromosome complements and nuclear DNA contents of four species of shrimps of the genus *Penaeus*. J. Crustacean Biology, 1990. 10: 29-36.
7. Goswami U., Chromosomal studies in *Penaeus aztecus* Ives prawn larvae. Mahasagar-Bulletin of the National Institute of Oceanology, 1985. P. 18: 75-77.
8. Hasegawa M., Simple and rapid for a chromosomes study of crustacean. Res. Crustacea. 1981. 11: p. 111-113.
9. Hayashi K.I., Y. Fujiwara, A new method for obtaining metaphase chromosomes form the regeneration blastema of *Penaeus japonicas* (Marsupenaeus). Nippon Suisan Gakkaishi, 1988. 54: p. 1563-1565.
10. Hosseini S.J., E. Elahi and R. Raie, The chromosome number of the Persian Gulf shrimp *Penaeus semisulcatus*. Iranian Int J Sci, 2003. 5: p. 13-23.
11. Jixun D., Z. Quanqi and B. Zhenmin, Karyotype studies on *Penaeus orientalis*. Journal of Ocean University of Qingdao, 1989. 19: p. 97-103.
12. Mayorga Z., Genetica de crustaceos. Documenta 1982.10(85): p. 3-6.
13. Milligan D.J., A method for obtaining metaphase chromosome spread from marine shrimp with notes on the karyotypes of *Penaeus aztecus*, *P. setiferus* and *P. duorarum*. Proc. VII. World Maricul. Soci. San Diego, Calif, 1976. p. 327-332.
14. Morelli M.L., L. Vonau and V. Diter, Karyotype of the marine shrimp *penaeus indicus*(Crustacea and Decapoda) established by using an image analysis system. Ophelia, 1998. 49(2): p. 83-95.
15. Nakamura H.K., A. Michaii, T. Wada, M. Awaji and S.J. Townssley, Achech list of decapoda chromosomes(Crustacea). Bull Natl Inst Aquac, 1988. 13: p. 1-9.
16. Niiyama H., Cytol. Genet. Oguma Commem, 1948. 1: p. 19-20
17. Tan X.G., J. Qin, B. Chen, L. Chen and X. Li, Karyological analyses on red claw *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). J. aquaculture, 2004. 234: p. 65-76
18. Xiang J., Chromosome studies on *Penaeus orientalis*. Oceanologia et Limnologia nica, 1988. 19: p. 205-209.
19. Xiang J.H., A.J. Courtney and L.H. Zhou, Chromosome complements in the spermatogenesis of tow Penaeid prawns, *Penaeus merguensis* and *Penaeus esculentus*. Cytologia. 1996. 61: p. 317-320.
20. Xuequn T., G. Jian, B.C. Qin, C. Liqiao and L. Xiaoxu, Karyological analysis on red claw crayfish

Cherax quadricarinatus (Decapoda: Parastacidae). *Aquaculture*, 2004. 234: p. 65-76.

21. Zhu D.F., C.L. Wang and Z.Q. Li, Karyotype analysis on *Portunus trituberculatus*. *Journal of fisheries china*, 2005. 5: p. 1-4.