

**ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE DES SYSTÈMES
ESTÉRASIQUES CHEZ LES HYBRIDES INTERSPÉCIFIQUES
ENTRE TROIS ESPÈCES DU GENRE *SPHAEROMA*, *S. MONODI*
BOCQUET, HOESTLANDT, LÉVI, *S. RUGICAUDA* LEACH
ET *S. HOOKERI* LEACH (ISOPODES FLABELLIFÈRES).**

par

Marc Laulier

Laboratoire de Biologie animale, Faculté des Sciences
Université du Maine, 72017 Le Mans-Cédex, France

Résumé

L'obtention d'hybrides interspécifiques entre les espèces de *Sphaeroma* : *S. monodi*, *S. rugicauda* et *S. hookeri* a permis de préciser le comportement des isoenzymes estérasiques spécifiques.

Quel que soit le sens du croisement, tous les hybrides *rugicauda-hookeri* présentent le même équipement estérasique qui est identique à celui des espèces parentes.

De même, quel que soit le sens du croisement, tous les hybrides *monodi-hookeri* offrent le même équipement estérasique qui se caractérise par la disparition d'une isoenzyme spécifique de *S. monodi* et par l'apparition d'une nouvelle isoenzyme. L'ensemble des résultats nous conduit à considérer l'existence d'un système d'alloenzymes dont un allèle est propre à l'espèce *S. monodi* et l'autre aux espèces *S. rugicauda* et *S. hookeri*. La nouvelle zone d'activité résulte de la structure dimérique de ces estérases.

Selon E. Mayr, les phénomènes d'hybridation sont « suffisamment exceptionnels dans la plupart des groupes animaux pour qu'un article signale chaque hybride que l'on découvre ». Les expériences de croisements interspécifiques ne fournissent, certes, qu'une image faussée des relations naturelles, mais la facilité avec laquelle se réalise l'hybridation expérimentale entre certaines formes permet, pourtant, d'apprécier les parentés des différentes espèces à l'intérieur d'un même genre. C'est dans ce but que l'hybridation expérimentale, tentée chez les Sphéromes dès 1959, a permis la comparaison morphologique des hybrides entre les espèces *S. monodi*, *S. rugicauda* et *S. hookeri* (Lejuez, 1959, 1960, 1966). En raison de l'intérêt des recherches biochimiques dans l'étude de la variation géographique et des rapports phylogénétiques, nous avons réalisé l'analyse électrophorétique des lactates deshydrogénases chez les cinq espèces des côtes françaises de la Manche : *S. serratum*, *S. monodi*, *S. teissieri*, *S. rugicauda* et *S. hookeri* (Laulier et Lejuez, 1976) et chez les hybrides *hookeri-rugicauda*, *hookeri-monodi* et *rugicauda-monodi* (Laulier et Lejuez, 1977). Les résultats acquis sur l'analyse électrophorétique des estérases pour les cinq espèces considérées (Laulier, 1979) confirment l'isolement de *S. serratum* et de *S. teissieri* et la grande parenté du

couple *S. hookeri* et *S. rugicauda* avec lequel *S. monodi* présente des affinités ; l'étude des hybrides entre les trois dernières espèces permet de confirmer les analogies et de préciser le comportement des isoenzymes estérasiques pour les bandes qui présentent une coloration intense.

A. - MATÉRIEL ET TECHNIQUES

I. Matériel

L'hybridation entre les trois espèces a été réalisée au laboratoire sans difficulté particulière en isolant des ♀♀ vierges d'une espèce avec des ♂♂ d'une autre espèce. Tous les hybrides, comme les espèces parentes, ont été maintenus dans des conditions d'élevage standard : eau de mer de salinité normale avec des Entéromorphes et des feuilles d'orme séchées comme nourriture.

Bien que le nombre de descendance hybrides obtenues soit faible par rapport aux croisements réalisés, nous avons cependant obtenu suffisamment d'individus adultes ou de grande taille pour entreprendre l'étude des systèmes estérasiques et pour tenter d'obtenir des hybrides de deuxième génération. Jusqu'à présent, sur les 48 essais entrepris soit entre hybrides de première génération (9 croisements), soit entre hybrides et espèces parentes (39 croisements), un seul résultat positif a été acquis pour un croisement effectué entre 1 ♀ *rugicauda* et 1 ♂ hybride *hookeri-rugicauda*. Toutefois, les 7 descendants sont morts avant d'atteindre une taille propice à leur étude. Par ailleurs, la mort fréquente du mâle après l'accouplement et celle de la femelle après la ponte n'ont pas permis l'étude des phénotypes estérasiques parentaux. Signalons, cependant, que dans tous les croisements initiaux, les individus provenaient de populations définies antérieurement comme des populations à systèmes estérasiques monomorphes (Laulier, 1979).

II. Techniques

Les modalités d'extraction des estérases et leur électrophorèse (uni- ou bidimensionnelle) en gel d'acrylamide ont été précisées dans une publication antérieure (Laulier, 1979). Pour la révélation, nous avons utilisé, comme substrat, l' α naphtyl acétate et le β naphtyl acétate, soit indépendamment l'un de l'autre, soit en mélange. Aucun essai d'inhibition n'a été tenté.

L'examen des enzymogrammes révèle qu'il existe plusieurs systèmes enzymatiques possédant une activité estérasique. Afin de préciser les différences de charge ou de poids moléculaire ou des deux composantes à la fois, nous avons utilisé la méthode de Ferguson, reprise par Hedrick et Smith (*in* N. Ressler 1973 et H.R. Maurer 1971) basée sur la variation de la concentration des gels en acrylamide. L'utilisation de la gamme de gels de polyacrylamide à 7,5 p. 100, 10 p. 100, 12,5 p. 100 et 15 p. 100 nous a permis de calculer la mobilité relative

(Rm) des bandes ayant une activité estérasique ; cette mobilité est évaluée par rapport au front de migration matérialisé par le bleu de bromophénol. Dans tous les gels, le rapport acrylamide — bisacrylamide est demeuré constant. En effet, comme beaucoup d'auteurs, nous avons observé des anomalies dans la vitesse de migration lorsque le rapport est modifié.

B. - RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

I. Enzymogrammes estérasiques spécifiques (Fig. I)

Avant de procéder à l'analyse détaillée des hybrides interspécifiques, il convient de rappeler brièvement les caractéristiques des enzymogrammes spécifiques permettant d'identifier les espèces considérées.

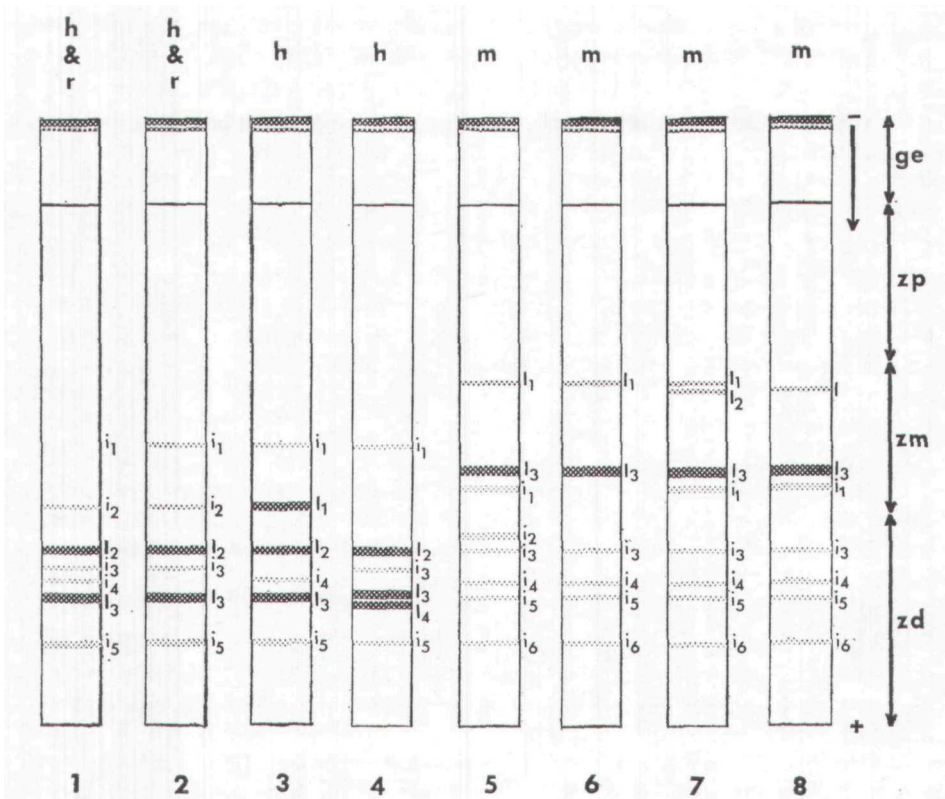


FIG. I

Activité estérasique après électrophorèse sur gel d'acrylamide cylindrique à 10 p. 100 de concentration pour trois espèces de *Sphaeroma* : h, *S. hookeri* ; r, *S. rugicauda* ; m, *S. monodi*.

I : bandes présentant une coloration intense ; i : bandes faiblement colorées. La flèche précise le sens de la migration, ge : gel d'espacement ; zp : zone proximale ; zm : zone médiane ; zd : zone distale.

Exception faite des gels 3 (2 *hookeri* sur 88) et 4 (1 *hookeri* sur 88) qui correspondent à des phénotypes rares, les gels 1 et 2 témoignent que les deux espèces *S. hookeri* et *S. rugicauda* se caractérisent par un équipement estérasique identique matérialisé par la présence de deux bandes intenses (I_2 et I_3) localisées dans la zone distale des gels (z.d.).

L'espèce *S. monodi* (gels 5, 6, 7 et 8) s'identifie essentiellement par la présence d'une ou deux bandes (I_1 et I_2) d'intensité moyenne et d'une bande intense (I_3) situées dans la zone médiane des gels (z.m.).

II. Electrophorégrammes estérasiques des hybrides interspécifiques

Hybrides *hookeri-rugicauda*.

L'analyse a porté sur 22 jeunes issus de 5 croisements effectués dans le sens ♀♀ *hookeri* x ♂♂ *rugicauda* et sur 8 descendants d'un croisement entre ♀ *rugicauda* x ♂ *hookeri*. Quel que soit le sens du croisement, ces hybrides de première génération (mâles, femelles ou sexuellement indifférenciés) sont identiques entre eux et présentent un équipement estérasique concordant parfaitement avec les phénotypes parentaux : 2 bandes intenses dans la zone distale (Planche I, 1).

La réalisation d'électrophorégrammes bidimensionnels dont nous avons décrit le principe dans une publication antérieure (Laulier, 1979) permet de confirmer les analogies moléculaires mises en évidence lors des migrations simples. Les enzymogrammes estérasiques bidimensionnels des hybrides *hookeri-rugicauda* (Planche I, 5) sont identiques à ceux des espèces parentes (Laulier, 1979).

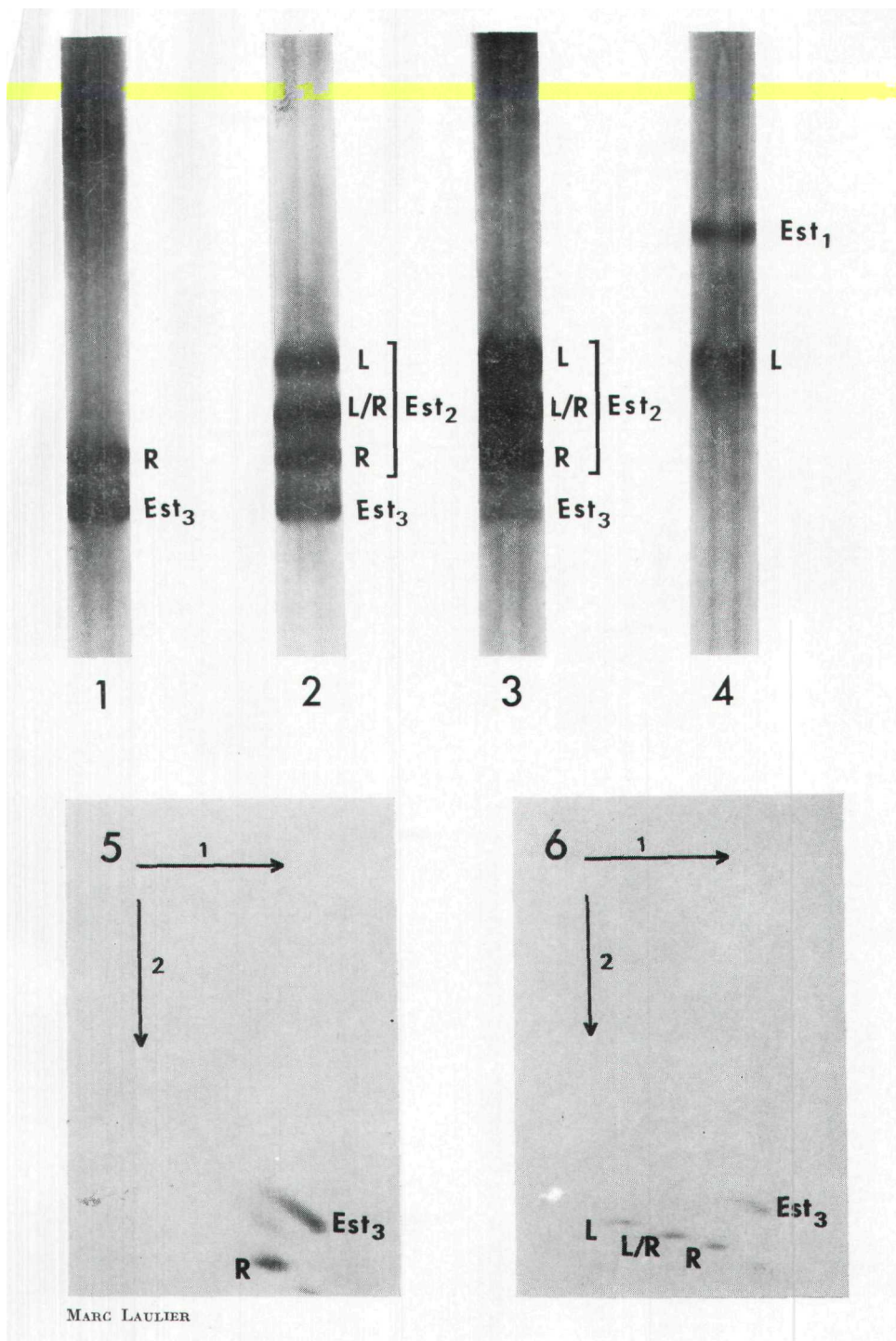
Indépendamment de leurs propriétés électrophorétiques, les bandes situées au même niveau chez les hybrides et les espèces parentes réagissent de façon identique sur l' α et le β naphthyl acétates ou sur le mélange α + β naphthyl acétates.

Hybrides *hookeri-monodi* et *rugicauda-monodi*.

L'étude des hybrides *hookeri-monodi* a porté sur l'analyse de 47 jeunes provenant de 9 descendance issues de croisements réalisés entre ♀♀ *hookeri* x ♂♂ *monodi* (ou les croisements réciproques des précédents : ♀♀ *monodi* x ♂♂ *hookeri*). Quel que soit le croisement initial, tous les hybrides, mâles ou femelles, présentent le même phénotype (Planche I, 2) qui diffère notablement de chacun des phénotypes parentaux.

Malgré le nombre de croisements réalisés dans les deux sens, seulement 4 descendance issues de croisements effectués entre ♀♀ *monodi* x ♂♂ *rugicauda* ont été obtenues et n'ont fourni que 6 individus mâles et femelles, utilisables pour les analyses. Le phénotype de ces hybrides (Planche I, 3) est identique au phénotype des hybrides *hookeri-monodi*.

Les analogies mises en évidence par les migrations unidimensionnelles ont été confirmées par les électrophorégrammes bidimensionnels. Les enzymogrammes des hybrides *rugicauda-monodi* (Planche I, 6) sont strictement identiques à ceux des hybrides *hookeri-monodi* (non figurés).



MARC LAULIER

PLANCHE I

1, 2, 3 et 4 : migrations unidimensionnelles sur gel d'acrylamide à 10 p. 100 suivies de la révélation des activités estérasiques (substrat : α naphthyl acétate).

gel 1 : hybride interspécifique de ♀ *hookeri* x ♂ *rugicauda*.

gel 2 : hybride interspécifique de ♀ *hookeri* x ♂ *monodi*.

gel 3 : hybride interspécifique de ♀ *monodi* x ♂ *rugicauda*.

gel 4 : *S. monodi*.

5 et 6 : migrations bidimensionnelles. La flèche 1 indique le sens de la première migration en gel à 10 p. 10°C et la flèche 2, le sens de la migration sur la plaque à gradient de concentration PAA 4/30 « Pharmacia ».

gel 5 : hybride interspécifique de ♀ *hookeri* x ♂ *rugicauda*.

gel 6 : hybride interspécifique de ♀ *monodi* x ♂ *rugicauda*.

III. Interprétation

L'étude des hybrides interspécifiques *hookeri-rugicauda* n'apporte aucune donnée nouvelle sur les estérases des deux espèces considérées sinon de confirmer l'homologie de leur équipement estérasique. Par contre, l'analyse des hybrides *hookeri-monodi* et *rugicauda-monodi* permet d'émettre certaines hypothèses et nous oblige à abandonner la nomenclature purement descriptive des bandes intenses retenue dans la publication antérieure (Laulier, 1979) pour définir trois systèmes estérasiques principaux que nous appellerons Est 1, Est 2 et Est 3, indépendamment de systèmes ayant une faible activité.

Système estérasique Est 1.

Les bandes I_1 et I_2 observées chez *S. monodi* n'ont pas d'équivalent chez *S. hookeri* et *S. rugicauda* et font défaut chez les hybrides impliquant l'espèce *monodi*. Rappelons que ces bandes présentent un comportement original vis-à-vis des différents substrats et inhibiteurs et qu'en particulier, elles offrent une réaction plus forte avec l'α naphthyl acétate qu'avec le β naphthyl acétate et résistent mieux à l'action de la chaleur que les autres estérases. L'ensemble de ces constatations nous conduit à considérer ces zones d'activité comme un système estérasique Est 1, caractéristique de l'espèce *S. monodi*. De plus, l'apparition d'une seule bande ou de deux bandes (I_1 , I_2) chez les individus *monodi* suggère l'existence de deux allèles *Est 1 L*, permettant la synthèse de l'estérase dont la migration est la plus lente (L) et matérialisée par la bande I_1 et *Est 1 R*, correspondant à l'enzyme dont la migration est la plus rapide (R) et caractérisée par la bande I_2 . La rareté de l'allèle *Est 1 R* dans les populations étudiées ne nous a pas permis de confirmer génétiquement cette hypothèse. Chez les hybrides interspécifiques *hookeri-monodi* et *rugicauda-monodi*, les gènes qui permettent la synthèse de ce système enzymatique Est 1 ne s'expriment pas.

Système estérasique Est 2.

L'ensemble des résultats obtenus lorsque l'espèce *S. monodi* est impliquée dans un croisement montre l'apparition d'une nouvelle bande qui occupe une position intermédiaire entre la bande I_3 caractéristique de *S. monodi* et la bande L_1 commune à *S. rugicauda* et à *S. hookeri*. Comme en témoignent les enregistrements (Fig. II, 4 et 5), l'intensité de la réaction est plus importante au niveau de cette bande intermédiaire qu'au niveau des bandes qui l'encadrent.

Ces données nous conduisent à admettre l'existence d'un système d'alloenzymes dont l'un des allèles est caractéristique de *S. monodi* et l'autre de *S. rugicauda* et de *S. hookeri*. La présence de la bande intermédiaire, plus active que chacune des deux autres isoenzymes, résulte de la structure dimérique de cette estérase et de la recombinaison des monomères propres à chacun des allèles. Cet ensemble définit un second système estérasique Est 2 comportant un allèle *R* responsable de l'enzyme dont la migration est la plus rapide (caractéristique de *S. rugicauda* et *S. hookeri*) et un allèle *L* permettant la

Synthèse de l'enzyme dont la migration est la plus lente (caractéristique de *S. monodi*).

Nous avons montré antérieurement (Laulier, 1979) que ces deux alloenzymes possèdent les mêmes propriétés vis-à-vis de différents substrats et inhibiteurs. Leur recombinant *L/R* réagit sur l' α naphthyl, le β naphthyl et sur le mélange $\alpha+\beta$ naphthyl d'une façon identique à chacune des molécules synthétisées par les gènes *L* ou *R*.

Système estérasique Est 3.

Indépendamment des bandes appartenant aux systèmes Est 1 et Est 2, les espèces *S. rugicauda* et *S. hookeri* présentent une bande intense I_3 située au même niveau de la zone distale des gels et qui se comporte de façon analogue vis-à-vis de différents substrats et inhibiteurs chez les deux espèces. La matérialisation de cette bande chez les hybrides interspécifiques avec *S. monodi* et ses réactions sur l' α et le β naphthyl acétates nous conduisent à admettre l'existence d'un troisième système estérasique Est 3.

La bande de faible intensité i_5 de *S. monodi*, (Fig. I, gels 5, 6, 7 et 8), située au niveau de la bande Est 3 de *S. rugicauda* et de *S. monodi* ne s'est jamais concrétisée par une réaction positive au niveau de la tache Est 3 en électrophorèse bidimensionnelle. Il est donc probable que les mailles d'un gel d'acrylamide à 30 p. 100 ne peuvent retenir cette molécule qui ne présente alors aucune analogie avec l'estérase Est 3.

Système à faible activité.

Chez les hybrides interspécifiques *rugicauda-monodi* et *hookeri-monodi*, nous avons observé, dans les cas les plus favorables, des bandes faiblement colorées, localisées entre les isoenzymes Est 2 et Est 2 *L/R*, d'une part et entre Est 2 *L/R* et Est 2 *R*, d'autre part, qui pourraient correspondre respectivement aux estérases i_1 et i_2 de *S. monodi*. Des bandes inconstantes peuvent aussi apparaître, chez les hybrides, entre les enzymes Est 2 *R* et Est 3. Dans le cas des hybrides *rugicauda-hookeri*, ces bandes peuvent correspondre aux zones de faible activité i_3 et i_4 communes aux deux espèces *S. rugicauda* et *S. hookeri* (Fig. I, gel 1). Dans le cas des hybrides *rugicauda-monodi* et *hookeri-monodi*, l'estérase la plus rapide pourrait correspondre aux bandes i_4 de *S. monodi*, *S. rugicauda* ou *S. hookeri* et l'estérase la plus lente à la bande i_3 commune à *S. rugicauda* et *S. hookeri*.

IV. Comparaison des différentes protéines constitutives des systèmes estérasiques Est 2 et Est 3

Selon Hedrick et Smith, la mobilité relative (R_m) des protéines varie exponentiellement en fonction de la concentration du gel en acrylamide. Des enregistrements nous ont permis de mesurer la distance de migration et de calculer la mobilité relative des différentes estérases chez les hybrides *rugicauda-hookeri* (Fig. II, 1, 2 et 3) et chez les hybrides *rugicauda-monodi* ou *hookeri-monodi* (Fig. II, 4, δ et 6). Les droites de la figure III, tirées à partir des points obtenus en repor-

tant le logarithme de la mobilité relative en fonction de la concentration en acrylamide permettent la comparaison des enzymes concernées. Selon la conception de Hedrick et Smith qui stipule que si les droites

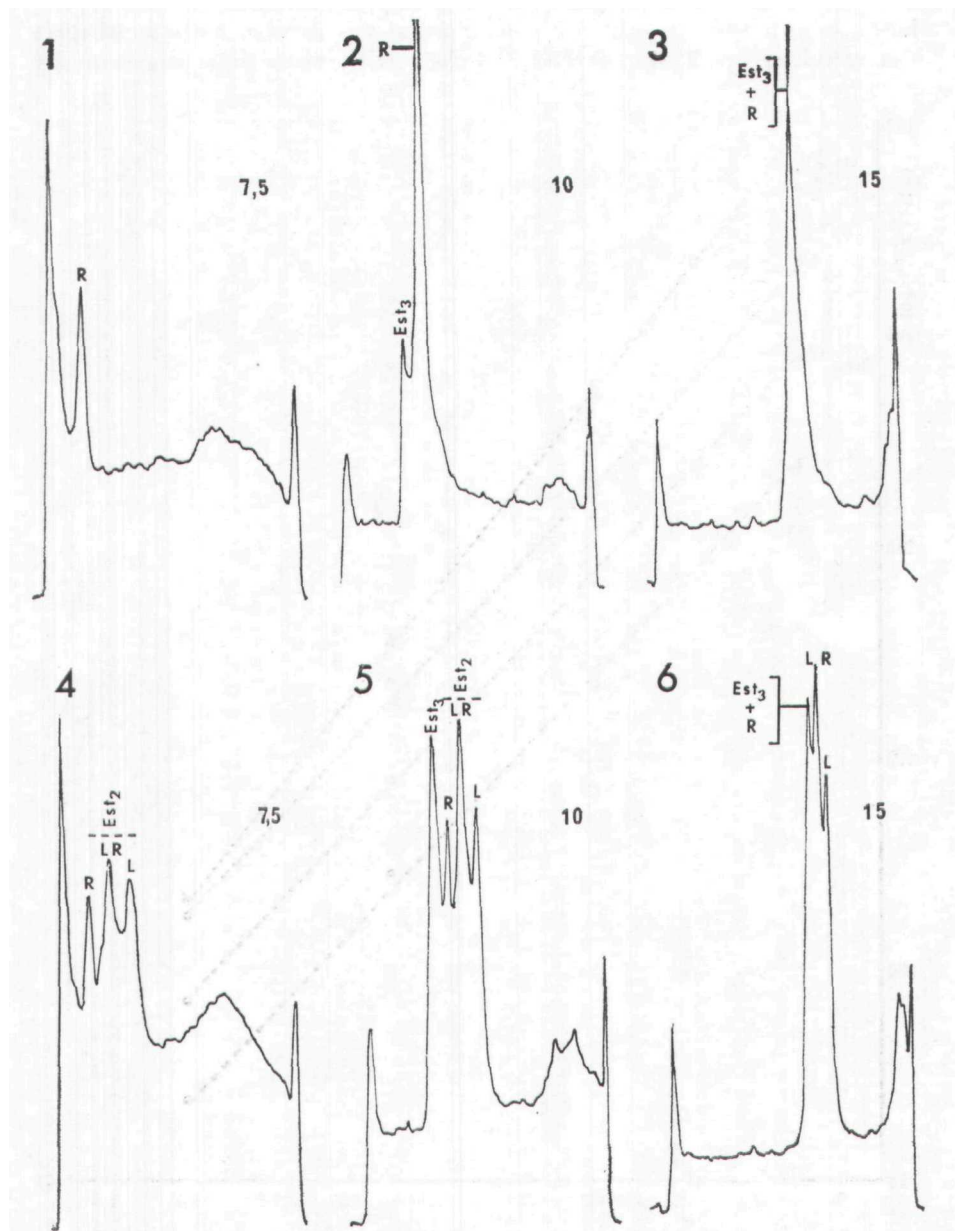


FIG. II

Enregistrements des électrophorégrammes estérasiques (substrat : α naphthyl acétate).

Evolution de la localisation des systèmes estérasiques en fonction de la concentration en acrylamide chez un hybride de *♀ rugicauda* x *♂ hookeri* (1, 2 et 3) et chez un hybride de *♀ monodi* x *♂ hookeri* (4, 5 et 6). En 1 et 4, le système Est 3 est pratiquement confondu avec le front de migration ; en 3 et 6, les enzymes du système Est 3 et Est 2 R sont localisées au même niveau.

(7,5, 10 et 15 représentent les concentrations des gels en acrylamide).

ont la même pente, les molécules étudiées ont un poids moléculaire identique, l'observation de la figure indique que les dimères L/L, L/R et R/R se caractérisent par un poids moléculaire identique alors que l'estérase Est 3 possède un poids moléculaire différent. Par ailleurs, le fait que le point de convergence des droites caractéristiques des enzymes des systèmes Est 2 et Est 3 soit situé dans une zone de

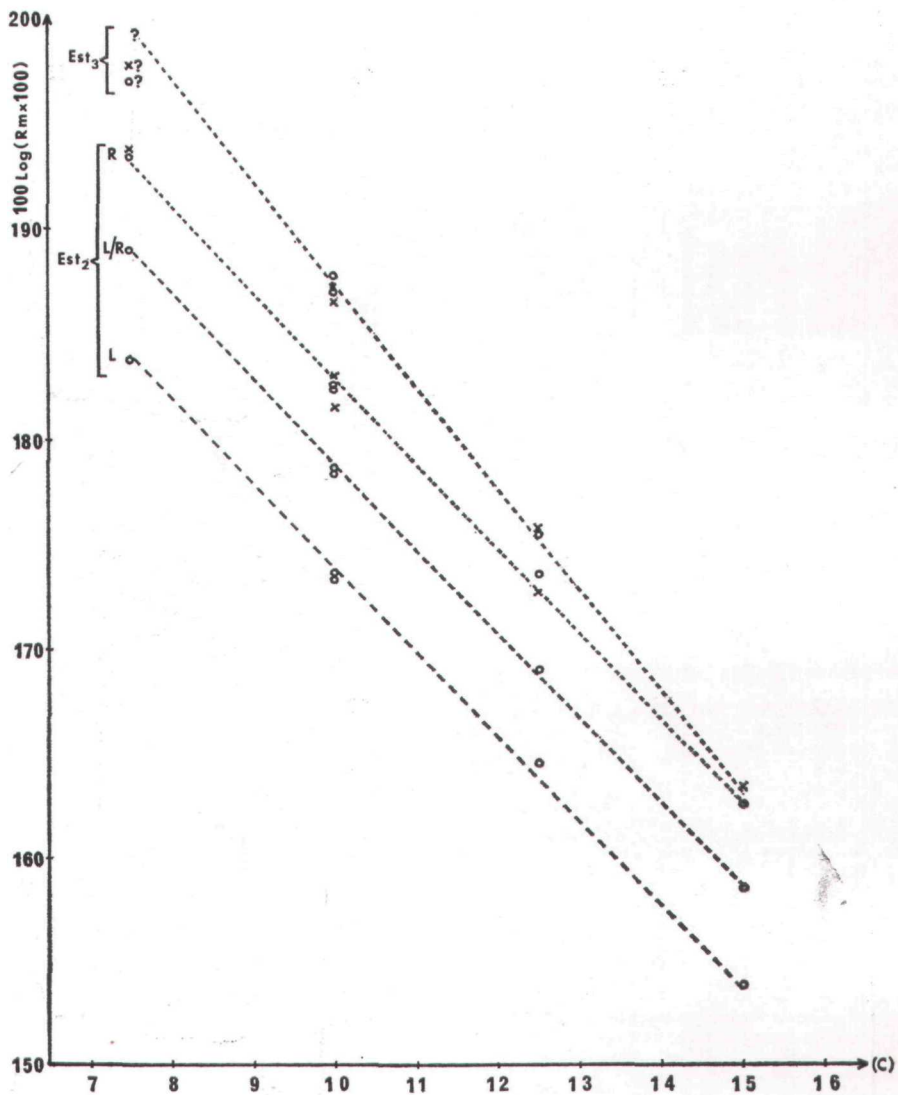


FIG. III

Etude des poids moléculaires et des charges relatives des enzymes des systèmes Est 2 et Est 3 selon le principe de Hedrick et Smith.

(C) : concentration en acrylamide.

(Rm) : mobilité relative de l'enzyme par rapport au front de migration.

x : points obtenus à partir d'hybrides de ♀ *hookeri* x ♂ *rugicauda* ; o : points obtenus à partir d'hybrides de ♀ *hookeri* x ♂ *monodi*. Pour le gel à 7,5 p. 100, une certaine imprécision, matérialisée par ?, subsiste en raison de la proximité du front de migration.

forte concentration en acrylamide indique que ces deux systèmes diffèrent à la fois par leur poids moléculaire et leur charge.

L'utilisation des plaques à gradient de concentration (système Pharmacia PAA 4/30) n'a pas permis de connaître le poids moléculaire des différentes enzymes. En effet, une électrophorèse de 13 heures, sur plaque, précédée d'une migration sur gel cylindrique n'est pas assez longue pour annuler les différences de vitesse de migration liées à la charge des protéines (Planche I, gel 6). Après 15 heures de migration, les enzymes du système Est 2 se dirigent toujours en se rapprochant notablement de la limite d'exclusion du gel. De l'avis des fournisseurs (Pharmacia) une migration d'au moins 30 heures serait nécessaire pour annuler les effets dus à la seule charge des protéines. L'ensemble de ces données n'est toutefois pas en contradiction avec les résultats acquis par la technique de Hedrick et Smith sur l'analogie des poids moléculaires des 3 isoenzymes du système Est 2.

Des migrations prolongées risquant de diminuer l'activité des estérases tout en augmentant les phénomènes de diffusion, nous n'avons utilisé les plaques à gradient de concentration que pour affiner les séparations et confirmer les analogies de comportement. Les enzymogrammes bidimensionnels des hybrides *rugicauda-hookeri* (Planche I, 5) sont identiques à ceux des espèces parentes (Laulier, 1979). Les électrophorégrammes bidimensionnels des hybrides *rugicauda-monodi* ou *hookeri-monodi* (Planche I, 6) montrent que l'isoenzyme L se caractérise par une tache analogue à la tache I_3 des enzymogrammes de *S. monodi* (Laulier, 1979). Cette tache émigre toujours beaucoup moins loin que la tache I_2 de *S. rugicauda* ou de *S. hookeri* qui se situe près de la limite inférieure de la plaque à gradient de concentration. Les migrations bidimensionnelles confirment enfin la disparition de la tache I_1 de *S. monodi* et l'apparition de l'isoenzyme L/R, située à égale distance des enzymes L/L et R/R.

C. - DISCUSSION ET CONCLUSION

Toute comparaison intraspécifique ou interspécifique de l'équipement protéique ou enzymatique nécessite une approche des propriétés physico-chimiques des molécules concernées, surtout dans le cas de protéines totales ou d'enzymes peu spécifiques comme les estérases. La simple observation des enzymogrammes estérasiques des espèces *S. rugicauda*, *S. hookeri* et *S. monodi* souligne de fortes analogies, notamment à l'intérieur du couple d'espèces *S. rugicauda* et *S. hookeri*.

L'étude des hybrides interspécifiques entre ces trois espèces confirme les analogies et précise que les isoenzymes I_3 de *S. monodi* et I_2 de *S. rugicauda* et *S. hookeri* sont, en fait, des alloenzymes définies par les allèles *Est 2 L* (caractéristique de *S. monodi*) et *Est 2 R* (caractéristique de *S. rugicauda* et de *S. hookeri*). Quel que soit le sens du croisement, ces deux gènes s'expriment chez les hybrides *rugicauda-monodi* et *hookeri-monodi* de taille moyenne ou grande. L'impossibilité

d'analyser des individus de petite taille ne nous permettra vraisemblablement pas de savoir si ces gènes se manifestent très tôt ou s'il existe un phénomène d'expression différée comme l'ont montré Champion et Whitt chez certains poissons. Alors que tous les gènes à activité estérasique des espèces *S. rugicauda* et *S. hookeri* s'expriment chez les hybrides *rugicauda-hookeri* quel que soit le sens du croisement, chez les hybrides *rugicauda-monodi* et *hookeri-monodi*, le gène *Est 1*, caractéristique de *S. monodi*, ne s'exprime pas. Rappelons que sur les 48 croisements (39 croisements en retour et 9 croisements entre hybrides F₁) réalisés dans le but de vérifier si ce gène disparaît par délétion chromosomique ou s'il est seulement inhibé, une seule portée comportant sept jeunes a été obtenue mais aucun des descendants n'a atteint une taille suffisante pour en permettre l'étude.

L'ensemble de ces résultats montre que, contrairement à l'analyse de la lactate NAD oxydoréductase qui aboutissait, pour chaque catégorie d'hybrides, à une répartition entre les deux types parentaux, les différents systèmes estérasiques peuvent s'exprimer de façon différente ou, même, ne pas s'exprimer chez les hybrides interspécifiques. Ces constatations s'accordent avec les travaux de Kaminsky qui souligne que « de multiples combinaisons peuvent exister en fonction du constituant considéré » et que cet état pourrait résulter de mécanismes de régulation différents d'un système enzymatique à l'autre.

Signalons, enfin, que la grande rareté ou l'absence d'hybrides de deuxième génération nous conforte dans le maintien du statut spécifique des *rugicauda* et des *hookeri* malgré leurs ressemblances morphologique et écologique, leur équipement enzymatique et leur capacité d'hybridation en première génération. Cette position est d'ailleurs confirmée par les travaux de J.O. Frier sur la consommation d'oxygène et les phénomènes d'osmorégulation chez ces deux espèces.

Summary

Owing to the production of interspecific hybrids between the species of *Sphaeroma* : *S. monodi*, *S. rugicauda* and *S. hookeri*, the behaviour of specific esterase isoenzymes can have been specified.

In whatever direction the crossing have been made, all the hybrids *rugicauda-hookeri* show an esterase equipment identical with that of the parent species.

In the same way in whatever direction the crossing may have been made, all the hybrids *monodi-rugicauda* and *monodi-hookeri* show the same esterase equipment which is distinguished by the disappearance of an isoenzyme specific of *S. monodi* and the appearance of a new **isoenzyme**.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- CHAMPION, M.J., WHITT, G.S., 1976. — Synchronous allelic expression at the glucose phosphate isomerase A and B loci in interspecific Sunfish hybrides. *Biochem. Genet.*, 14 (9-10), pp. 723-737.
- FRIER, J.O., 1976. — Oxygen consumption and osmoregulation in the isopods *Sphaeroma hookeri* Leach and *S. rugicauda* Leach. *Ophelia*, 15 (2), pp. 193-203.

- KAMINSKI, M., LEROY, 1., SYKIOTIS, M., 1971. — Etude des hybrides inter-spécifiques. Comparaison des estérases sériques chez la poule Rhode Island Red (M.44), la pintade et leurs hybrides obtenus par insémination artificielle. *Bull. Biol. France Belgique*, 105' (4), pp. 325-336.
- KÉRAMBRUN, p., 1975. — Variabilité biochimique et génétique de *Sphaeroma ghigii*, *S. hookeri* et *S. serratnm*. Comparaison interspécifique. *Mochem. Syst. Ecol.*, 3, pp. 95-100.
- LAULIEH, M., 1979. — Etude comparative de l'analyse électrophorétique des estérases pour cinq espèces de Sphéromes : *Sphaeroma serralum*, *S. monodi*, *S. teissieri*, *S. hookeri* et *S. rugicauda*. *Can. Biol. Mar.*, 20, pp. 417-429.
- LAULIEH, M., LEJUEZ, R., 1976. — Etude comparative de l'analyse électrophorétique de la lactate NAD oxydoréductase pour cinq espèces de Sphéromes : *Sphaeroma serralum*, *S. monodi*, *S. teissieri*, *S. rugicauda* et *S. hookeri*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 283, pp. 1779-1781.
- LAULIEH, M., LEJUEZ, R., 1977. — Analyse électrophorétique de la Lactate XAD oxydoréductase chez les hybrides interspécifiques entre trois espèces du genre *Sphaeroma* : *S. monodi*, *S. rugicauda* et *S. hookeri-hookeri*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 284, pp. 2535-2537.
- LEJUEZ, H., 1959. — Premières recherches sur l'hybridation interspécifique à l'intérieur du genre *Sphaeroma*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 249, pp. 1389-1391.
- LEJUEZ, H., 1960. — Hybridation expérimentale et naturelle entre *Sphaeroma hookeri* Leach et *Sphaeroma rugicauda* Leach. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 250, pp. 597-599.
- LEJUEZ, H., 1916. — Comparaison morphologique, biologique et génétique de quelques espèces du genre *Sphaeroma* Latreille (Isopodes flabellifères). *Arch. Zool. exp. gén.*, 107 (4), pp. 469-668.
- MAURER, H.R., 1971. — Disc elcctrophoresis and related techniques of polyacrylamide gel electrophoresis. W, de Gruyter. New York.
- MAYR, E., 1974. — Population, Espèces et évolution. Hermann. Paris.
- OXFORD, O.S., 1973. — Molecular weight relationships of the esterases in *Cepaea nemoralis* and *Cepaea hortensia* (Molluscs : Helicidae) and their genetic implications. *Biochem. Genet.*, 8 (4), pp. 365-382.
- RESSLER, N., 1973. — A systematic procedure for the determination of the heterogeneity and nature of multiple electrophoretic bands. *Analytical Biochemistry*, 51, pp. 589-610.
- WHEAT, T.E., WHITT, G.S., CHILDERS, W.F., 1973. — Linkage relationships of six enzyme loci in interspecific Sunfish hybrids (genus *Lepomis*) *Genetics*, (74), pp. 343-350.
- WHITT, G.S., CHILDERS, W.F., TRANQUILLI, J., CHAMPION, M., 1973. — Extensive heterozygosity of three enzyme loci in hybrid Sunfish populations. *Biochem. Genet.*, 8 (1), pp. 55-72.
- WHITT, G.S., CHO, P.L., CHILDERS, W.F., 1972. — Preferential inhibition of allelic isoenzyme synthesis in an interspecific Sunfish hybrid. *J. Exp. Zool.*, 179 (2), pp. 271-282.