

Génétique biochimique de populations de *Crassostrea gigas* en France (côte atlantique) et au Japon (Miyagi)

Dario Moraga⁽¹⁾, Makoto Osada⁽²⁾, Albert Lucas⁽¹⁾ et Tadashi Nomura⁽²⁾

⁽¹⁾ Laboratoire de Biologie marine, Faculté des Sciences, 29287 Brest, France.

⁽²⁾ Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan.

Received January 31, 1989; accepted March 21, 1989.

Biochemical genetics of *Crassostrea gigas* populations from France (Atlantic coastline) and from Japan (Miyagi).

Moraga D., M. Osada, A. Lucas, T. Nomura. *Aquat. Living Resour.*, 1989, 2, 135-143.

Abstract

By means of starch gel electrophoresis, the genetic variations of 16 natural or cultured *Crassostrea gigas* populations from the French Atlantic coasts were compared with one from Miyagi (Japan). In the 17 populations examined, allele frequencies of the 13 loci analysed showed 4 monomorphic loci for the same allele in French populations and only 3 for the Japanese population. Two particular alleles were detected exclusively in the Japanese population (Aat-1⁹⁰ and α Gpd-1¹¹²). Nevertheless, the frequency of the most common allele for each locus was the same in France and in Japan. The genetic variation criteria (proportion of polymorphic loci, heterozygosities, mean number of alleles per locus), which were relatively high, were of the same order of magnitude in Japan and in France, including a population hatched in captivity. The genetic identity criteria show a very high similarity between the populations from Japan and France. Within the latter, multivariate analysis revealed four estuarine populations with characteristic genotypes.

Keywords : Genetic polymorphism, *Crassostrea gigas*.

Résumé

En utilisant la technique de l'électrophorèse sur gel d'amidon, la variabilité génétique de 16 populations de *Crassostrea gigas* naturalisées ou cultivées sur les côtes atlantiques françaises ont été comparées à une population de Miyagi (Japon). Les résultats de fréquences alléliques obtenus pour 13 locus analysés dans les 17 populations examinées, ont montré 4 locus monomorphes pour le même électromorphe pour les populations françaises et seulement 3 pour la population japonaise. Deux allèles particuliers (Aat-1⁹⁰ et α Gpd-1¹¹²) ont été décelés dans la population japonaise. Cependant, les fréquences des allèles les plus communs pour chaque locus sont les mêmes en France et au Japon et les critères de variabilité génétique (taux de polymorphisme, taux d'hétérozygotie, nombre moyen d'allèle par locus) qui sont très élevés, sont du même ordre au Japon et en France, y compris pour une population originaire d'écloserie. Les critères d'identité génétique ont montré une similarité très forte entre la population du Japon et celle de France. Parmi celles-ci, quatre populations d'estuaires ont montré certains génotypes particuliers mis en évidence par analyse factorielle des correspondances.

Mots-clés : Polymorphisme génétique, *Crassostrea gigas*.

INTRODUCTION

L'huître japonaise *Crassostrea gigas* (Thunberg) a été importée en France depuis 1971, en remplacement de l'huître portugaise *Crassostrea angulata* (L.) décimée par l'iridovirose (affection parasitaire des branchies). L'introduction de *Crassostrea gigas* a consisté en l'importation de géniteurs provenant de Colombie britannique (Canada) et de naissain du Japon de la préfecture de Miyagi. Comme les huîtres de Colombie britannique provenaient elles aussi de la même préfecture japonaise, on peut en conclure que les gisements français sont constitués de la «race Miyagi» (Grizel, 1988; Ozaki et Fujio, 1985).

Les données disponibles sur le polymorphisme biochimique de *C. gigas* des côtes atlantiques françaises étaient jusqu'ici très limitées puisque Pichot et Pichot (1981) n'ont utilisé que l'analyse des protéines totales et que Lucas et al. (1983) n'ont travaillé que sur des populations d'écloserie. La présente étude, basée sur

l'analyse de 10 systèmes enzymatiques représentant 13 locus, a pour but de combler cette lacune.

Dans cette étude, on cherchera à interpréter d'éventuelles différences du polymorphisme biochimique sur des échantillons qui, tous de même nature subspécifique («race Miyagi»), ont eu des origines différentes (naissain naturel ou d'écloserie) et ont subi l'effet de facteurs écologiques différents en fonction des sites géographiques et des conditions de grossissement.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Localisation des échantillons étudiés

Les populations de *C. gigas* de la côte atlantique française qui sont analysées dans la présente étude ont trois provenances (fig. 1).

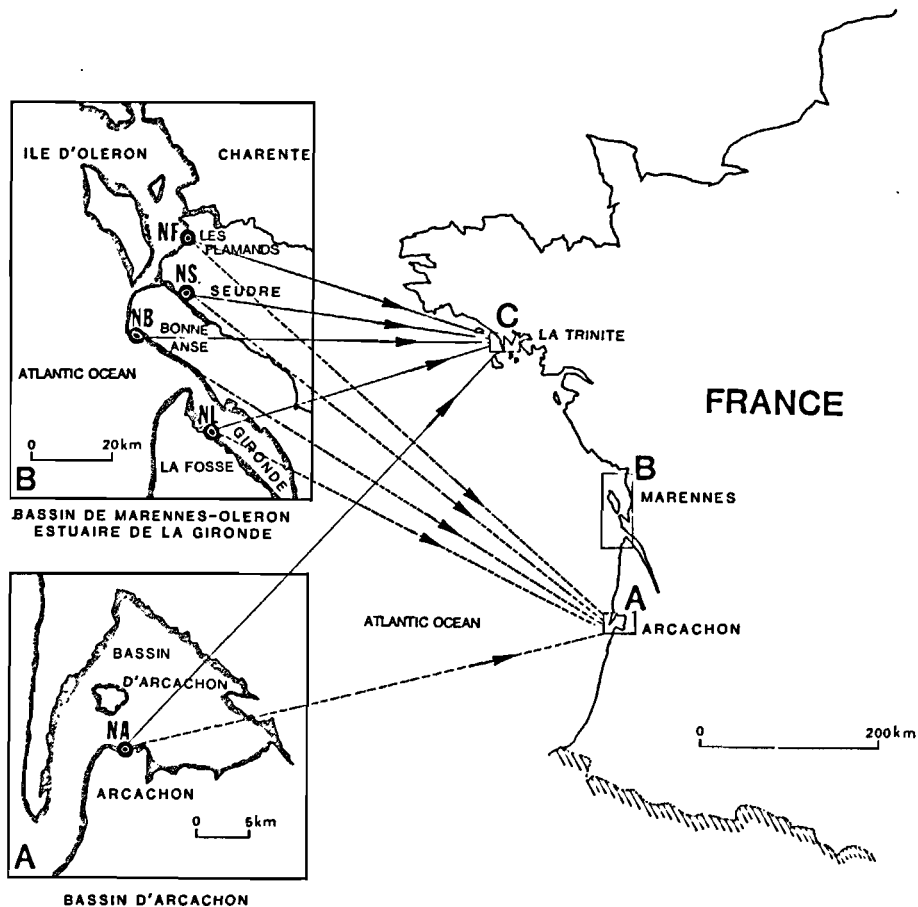


Figure 1. — Localisation des populations du littoral atlantique. Les 5 populations «naturalisées» sont représentées sur les cartouches A et B et désignées par la lettre N suivie de la lettre attribuée à chaque site (NF, Flamands, etc.). Les transferts de ces populations sur les lieux de culture, à Arcachon (A) et La Trinité (C) sont indiqués par des flèches. Une 6^e population, issue d'écloserie, a été cultivée à La Trinité (TH).

Localities of the studied populations on the Atlantic coastline. The 5 "naturalized" populations are shown on cartouches A and B and coded by the letter N followed by the letter attributed to each site (NF, Flamands, etc.). The transfer of these populations to the culture zones, at Arcachon (A) and La Trinité (C), are marked by arrows. A 6th population, from a hatchery, was cultivated at La Trinité (TH).

— Populations provenant de bancs qui se sont spontanément formés après l'introduction de l'espèce en 1971, sur des substrats rocheux sans intervention directe de l'homme et qu'on appellera «populations naturalisées».

— Populations provenant de naissain capté en milieu naturel et ayant ensuite subi les conditions d'élevage en parcs découvrants, caractérisées par une culture en poches ostréicoles disposées sur tables, qu'on appellera «populations cultivées».

— Population provenant de naissain obtenu en éclosérie ou les géniteurs étaient aussi originaire de la préfecture de Miyagi (Lucas *et al.*, 1983) et ayant ensuite subi les mêmes conditions d'élevage que précédemment et qu'on appellera «population d'éclosérie».

A titre de comparaison, des exemplaires d'une population cultivée de la préfecture de Miyagi, ont été analysés (fig. 2).

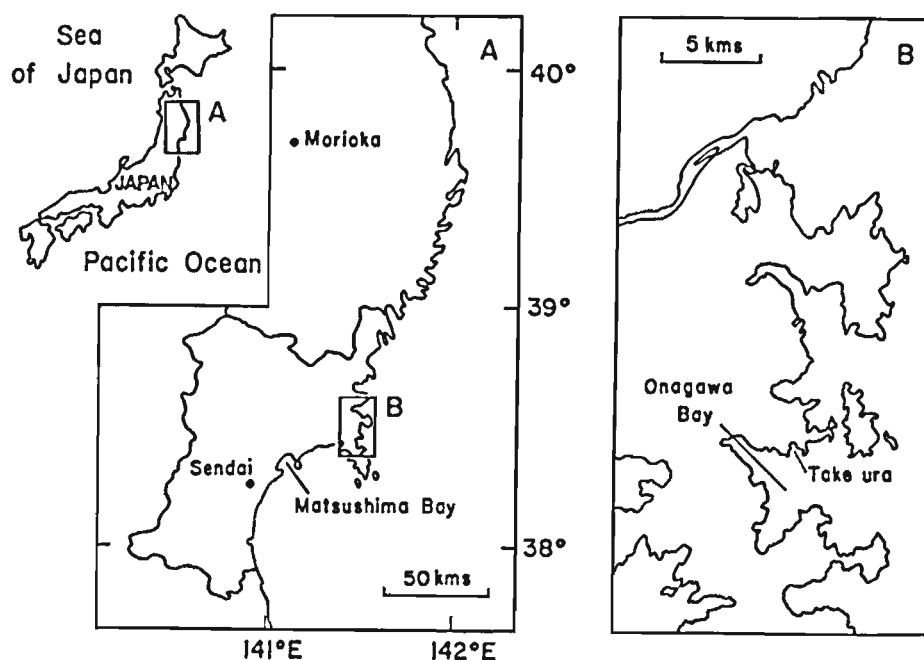


Figure 2. — Localisation du prélèvement d'huître *C. gigas* réalisé à Take-Ura (Japon, préfecture de Miyagi).

Localisation of the oyster sample of C. gigas obtained from Take-Ura (Japan, Miyagi Prefecture).

Analyses électrophorétiques

Tenant compte des remarques de Smith *et al.* (1986) les comparaisons de tous les échantillons ont été faites en utilisant les mêmes enzymes et en opérant dans les mêmes conditions électrophorétiques au laboratoire de Brest. Cependant, les préparations des exemplaires ont été différentes. Ceux de France ont été disséqués et conservés à -70°C , tandis que ceux du Japon ont été disséqués et lyophilisés à Sendai et envoyés à Brest sous cette forme. Les électrophorèses ont été réalisées en gel d'amidon (Sigma) à 11%. Les solutions tampon et de révélation de divers systèmes utilisés dérivent des méthodes décrites par Selander *et al.* (1971), Buroker *et al.* (1975) et Shaw et Prasad (1970).

Nomenclature

Les différents locus codant des enzymes de même activité (isozymes) ont été désignés par des indices numériques où celui à migration la plus anodale reçoit l'indice 1. Cette nomenclature a été adoptée par la majorité des auteurs ayant travaillé sur les Ostreidae (Wilkins et Mathers, 1973; Buroker *et al.*, 1975; Fujino et Nagaya, 1977; Fujio, 1979; Gosling, 1982; Buroker, 1983; Ozaki et Fujio, 1985; Smith *et al.*, 1986).

Les allèles de chaque locus ont été désignés en ajoutant ou soustrayant un chiffre proportionnel au nombre de millimètres mesurés sur le gel, par rapport à un allèle arbitrairement désigné «100». Cet allèle «100» est celui qui a été, pour chaque locus, le plus fréquent dans la population d'Arcachon (NA), qui a

donc joué le rôle de référence pour l'ensemble de l'étude.

Interprétation des données

La variabilité génétique intrapopulationnelle a été estimée par les paramètres suivants: le taux de polymorphisme, le taux d'hétérozygotie moyen, observé et calculé, et le nombre moyen d'allèles par locus. Les écarts à la loi de Hardy-Weinberg ont été appréciés par l'indice de Selander (1970) dont une valeur négative indique une déficience en hétérozygotes, et une valeur positive un excès en hétérozygotes.

La conformité de la distribution génotypique observée dans les échantillons, à la distribution attendue

Tableau 1. — Fréquences alléliques de 17 échantillons de *Crassostrea gigas*; n: nombre de gènes analysés.Allelic frequencies on 17 samples of *Crassostrea gigas*; n: number of individuals analysed; RM: relative mobility, —: no data, PJ: population from Japan.

Locus	Allèle RM	P. du Japon PJ	P. naturalisées					P. cultivées à Arcachon					P. cultivées à La Trinité					
			NA	NB	NF	NL	NS	AA	AB	AF	AL	AS	TA	TB	TF	TL	TS	TH
Ak	n	50	58	39	43	56	50	53	47	52	49	51	58	57	57	60	59	51
	115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,009	0	0	0
	110	0	0,019	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	105	0,50	0,125	0,130	0,179	0,073	0,025	0,070	0,138	0,125	0,082	0,125	0,121	0,044	0,123	0,100	0,076	0,059
	100	0,870	0,798	0,796	0,750	0,845	0,925	0,840	0,819	0,798	0,877	0,779	0,810	0,921	0,807	0,808	0,839	0,784
	95	0,080	0,048	0,018	0,036	0,082	0,000	0,080	0,040	0,048	0,041	0,058	0,060	0,026	0,061	0,067	0,085	0,157
Aat-1	90	0	0,010	0,056	0,035	0	0,050	0,010	0,013	0,028	0	0,038	0,009	0,009	0	0,025	0,025	0
	n	50	52	40	43	55	50	53	47	52	49	51	58	56	56	60	53	51
	100	0,990	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Aat-2	90	0,010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	n	49	52	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	110	0,357	0,269	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
α-Gpd-1	100	0,551	0,606	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	90	0,092	0,125	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	n	50	52	—	49	—	—	53	54	—	42	54	58	60	59	30	53	49
	112	0,010	0	—	0	—	—	0	0	—	0	0	0	0	0	0	0	0
Gpi-2	108	0,040	0,019	—	0,010	—	—	0,009	0	—	0,031	0,046	0,025	0,008	0,034	0,050	0,020	0,026
	100	0,910	0,942	—	0,969	—	—	0,963	1,000	—	0,938	0,926	0,932	0,950	0,941	0,900	0,956	0,895
	96	0,030	0,039	—	0	—	—	0,009	0	—	0,031	0,028	0,009	0,017	0,025	0,017	0,020	0,079
	92	0,010	0	—	0,021	—	—	0,019	0	—	0	0	0,034	0,035	0	0,033	0,004	0
	n	50	59	48	52	55	51	53	54	53	50	53	59	59	60	56	59	50
	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,009	0	0,017	0	0	0	0	0
	115	0	0	0,021	0	0	0,020	0	0,010	0	0	0	0	0,008	0	0	0	0
Lap-1	110	0,060	0,028	0,032	0,023	0,030	0,039	0,009	0	0,038	0	0,065	0,026	0	0,007	0,036	0,052	0
	106	0	0	0	0,023	0,019	0	0,038	0	0	0,009	0,026	0	0,018	0	0,018	0,020	
	100	0,930	0,887	0,872	0,895	0,874	0,912	0,868	0,943	0,905	0,937	0,833	0,912	0,924	0,917	0,911	0,860	0,930
	95	0	0	0	0,035	0,029	0	0	0	0	0	0,026	0	0	0	0	0,018	0
	90	0,010	0,056	0,053	0,012	0,028	0,039	0,085	0,047	0,057	0,063	0,084	0,010	0,059	0,050	0,053	0,052	0,050
	85	0	0	0,042	0,012	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	80	0	0,009	0	0	0,020	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	n	50	58	50	46	60	52	53	52	53	41	52	58	61	60	59	59	49
Lap-2	100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	n	50	58	50	46	60	52	53	52	53	41	52	58	61	60	59	59	49
	110	0	0	0	0	0	0,048	0	0	0	0	0	0	0	0	0,009	0	0
	108	0	0,029	0	0,011	0,107	0	0,029	0,009	0,038	0,047	0,038	0	0,033	0,042	0	0	0
	104	0,160	0,078	0,123	0,045	0,054	0,078	0,125	0,096	0,104	0,047	0,038	0,052	0,058	0,075	0,052	0,093	0
	100	0,790	0,725	0,817	0,848	0,723	0,759	0,750	0,779	0,783	0,797	0,792	0,810	0,833	0,750	0,847	0,712	0,908
	96	0,020	0,119	0,036	0,054	0,062	0,029	0,077	0,106	0,075	0,062	0,132	0,138	0,067	0,117	0,102	0,186	0,071
	94	0,030	0,039	0,024	0,022	0,125	0,086	0	0,010	0	0,047	0	0	0,009	0,016	0,009	0	0,021
	92	0	0,009	0	0	0,009	0	0,019	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 2. — Variabilité génétique de 17 populations de *Crassostrea gigas*, réparties en 5 groupes.Genetic variability in 17 *Crassostrea gigas* populations, distributed into five groups:

	Population du Japon	Populations naturalisées	Populations cultivées à		Population d'écloserie
			Arcachon	La Trinité	
Proportions de locus polymorphes:					
$p \leq 0,95$	53,8	47,1	45,7	48,3	48,6
$p \leq 0,99$	76,9	57,0	59,2	63,3	62,5
Nombre moyen d'allèles par locus	2,77	3,17	2,90	3,21	2,58
Hétérozygotie observée	0,146	0,157	0,157	0,150	0,155
Hétérozygotie attendue	0,189	0,168	0,162	0,152	0,158
Indice de Selander	-0,227	-0,065	-0,031	-0,013	-0,019

selon la loi de Hardy-Weinberg a été vérifiée par le test χ^2 et par le test χ^2 avec la correction de Yates au seuil de 5%.

La divergence génétique interpopulationnelle a été estimée par les indices de distance et d'identité génétique selon Nei (1972). Pour comparer les différentes populations et les différents sites, une analyse factorielle des correspondances (AFC), portant sur les génotypes, a été réalisée d'après un programme écrit en Fortran 77 sur ordinateur compatible IBM PC.

RÉSULTATS

Les 10 systèmes enzymatiques étudiés sont codés par 19 locus: Ak, Aat-1, Aat-2, α Gpd-1, α Gpd-2, Gpi-1, Gpi-2, Lap-1, Lap-2, Mdh-1, Mdh-2, Me-1, Me-2, Pgm-1, Pgm-2, 6 Pgdh-1, 6 Pgdh-2, Sod-1, Sod-2. Certains locus n'ont pu être analysés statistiquement par suite d'une faible résolution des bandes sur les zymogrammes. Les résultats des fréquences alléliques obtenues pour les 13 locus analysés dans les 17 populations examinées figurent dans le tableau 1. Quatre locus se sont révélés monomorphes pour le même allèle (Aat-1, Lap-1, Me-1, Sod-1) dans les populations françaises et trois pour l'échantillon de la population japonaise (Lap-1, Me-1, Sod-1). L'échantillon du Japon fait apparaître deux allèles particuliers au niveau de 2 locus (Aat-1⁹⁰ et α Gpd-1¹¹²). Cependant, les fréquences des allèles les plus communs pour chaque locus sont de même ordre sur les échantillons des côtes françaises que sur celui du Japon.

Les critères de variabilité génétique établis dans le tableau 2 montrent qu'il n'y a pas de différences tranchées entre les divers groupes de populations, bien que la population japonaise (50 individus) et celle d'écloserie (51) représentent des échantillonnages faibles par rapport aux autres (populations naturalisées: 247, populations cultivées à Arcachon: 252, cultivées à La Trinité: 291).

La distribution des génotypes n'est pas significativement différente, au seuil de 5%, des conditions définies par la loi de Hardy-Weinberg, pour la plupart des locus analysés. Cependant des écarts à la panmixie ont été observés au locus α Gpd-1 pour Arcachon

(NA), Pgm-1 et Lap-2 pour la population japonaise (PJ) et Lap-2 pour l'échantillon issu d'écloserie (TH).

Les indices de ressemblance et de distance génétique de Nei (1972) calculés sur la base de 35 électromorphes appartenant à 10 locus enzymatiques font ressortir une forte similarité entre les 5 populations naturalisées et la population japonaise (tabl. 3). Ces valeurs varient de 0,003 à 0,012 pour la distance génétique et 0,989 à 0,997 pour l'identité. Les mêmes calculs opérés sur les populations de culture donnent des résultats encore plus proches de la similarité. Le tableau 3 montre que les différences les plus sensibles se révèlent entre les populations de la Fosse (NL) et des Flamands (NF).

L'analyse factorielle des correspondances (AFC) appliquée aux génotypes a permis de révéler quelques associations génotypiques caractéristiques de certaines populations. Ainsi sur la figure 3 le premier plan (axes 1 et 2) apporte 65,8% de l'inertie totale des axes factoriels. Les génotypes Pgm-1^{80/120}, Mdh-2^{90/100} et Lap-2^{94/110} caractérisent la population de la Scudre (NS). Les populations d'Arcachon (NA) et La Fosse (NL) révèlent certains génotypes particuliers (Gpi-2^{80/100}, AK^{90/110} et Lap-2^{92/100}). Ce même type d'analyse appliqué aux populations en culture (fig. 4) a permis de caractériser la population élevée à Arcachon (AA) par les génotypes Pgm-1^{85/115}, Pgm-1^{95/115}, Lap-2^{92/108}. Les génotypes cités ci-dessus apparaissent tous à de faibles fréquences.

DISCUSSION

Les niveaux de variabilité génétique observés dans les 16 échantillons de *Crassostrea gigas* du littoral français et sur un échantillon du Japon, sont comparables à ceux observés par d'autres auteurs sur cette espèce (tabl. 4). D'après ce tableau, on constate que 2 populations issues d'écloserie (en Grande-Bretagne et en France) ne présentent pas une variabilité nettement différente des autres populations de *C. gigas*, alors que Wilkins (1975) craignait un tel phénomène. Certes le nombre moyen d'allèles est dans les deux cas légèrement réduit, mais les taux de polymorphisme et d'hétérozygotie ne le sont pas.

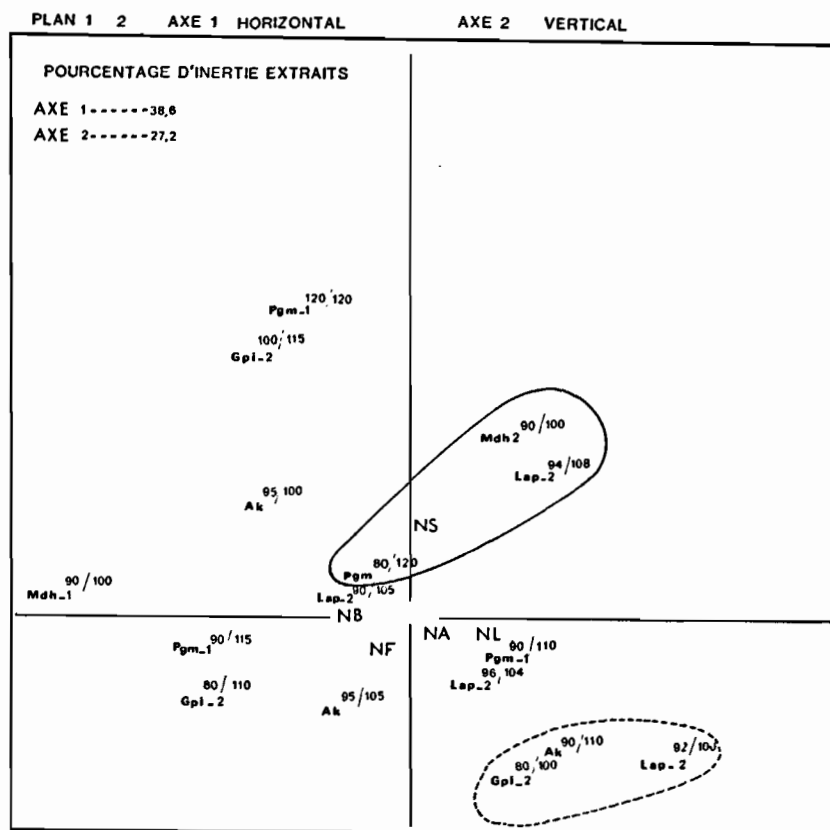


Figure 3. — Analyse des correspondances entre les génotypes des populations « naturalisées ». NA = Arcachon. NB = Bonne Anse. NF = Flamands. NL = La Fosse. NS = Seudre.

Multivariate analysis of the genotypes of naturalized populations.

Tableau 3. — Distance génétique (au-dessus de la diagonale) et identité génétique (au-dessous de la diagonale) entre la population japonaise et les différentes populations naturalisées sur le littoral atlantique français. PJ: population du Japon.

Genetic distance (above diagonal) and genetic identity (below the diagonal) between the Japanese populations on Atlantic French coastline. PJ: Japanese population

	PJ	NA	NB	NF	NL	NS
PJ	—	0,005	0,005	0,007	0,007	0,003
NA	0,995	—	0,003	0,006	0,004	0,004
NB	0,995	0,997	—	0,005	0,009	0,005
NF	0,993	0,994	0,995	—	0,012	0,007
NL	0,993	0,996	0,991	0,989	—	0,005
NS	0,997	0,996	0,995	0,993	0,995	—

Ce tableau montre aussi que la variabilité des populations de *C. gigas* originaires du Japon ne diffèrent pas significativement de populations d'un autre pays, étudiées par les mêmes auteurs: Buroker *et al.* (1975) et Buroker *et al.* (1979a) pour les États-Unis, Smith

et al. (1986) pour la Nouvelle-Zélande, nous-même pour la France.

Les valeurs de l'indice de Selander sont toutes négatives pour les populations de *C. gigas* analysées dans le tableau 4, ce qui correspond à un déficit en hétérozygotes. Un tel phénomène a été observé chez d'autres Ostreidac par Buroker *et al.* (1979a et b), Buroker (1983) Fujio *et al.* (1983), Hedgecock et Okazaki (1984) et sur plusieurs populations de bivalves comme l'on signalé Zouros et Foltz (1984).

Les résultats fournis par les indices de Nei montrent une forte homogénéité des populations de *Crassostrea gigas* sur le littoral atlantique français. Il n'est donc pas observé d'effet de site. Qui plus est, la comparaison avec l'échantillon du Japon donne des résultats du même ordre (tabl. 3). Ce n'est qu'en utilisant l'AFC, qu'il a été possible de mettre en évidence certains génotypes particuliers chez 3 populations naturalisées (NS, NA, NL) et une population de culture (AA), toutes quatre situées en zone estuarienne.

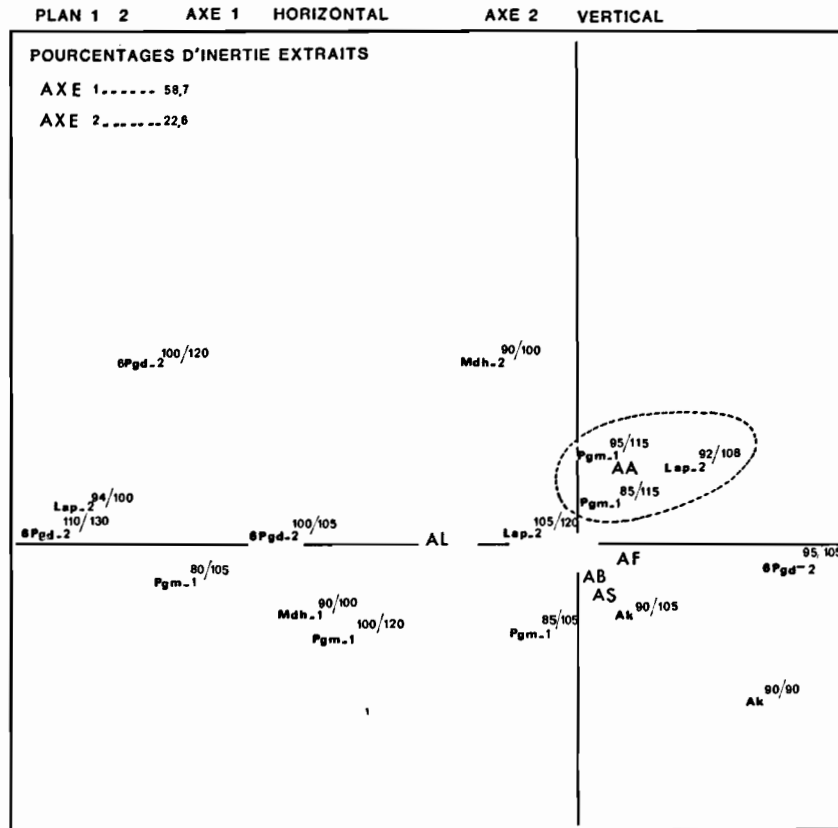


Figure 4. — Analyse des correspondances entre les génotypes des populations cultivées à Arcachon. AA = Arcachon. AB = Bonne Anse. AF = Flamands. AL = La Fosse. AS = Seudre.

Multivariate analysis of the genotypes of cultivated populations at Arcachon.

Tableau 4. — Valeurs des critères de variabilité génétique observées par divers auteurs chez *Crassostrea gigas*. Les références marquées d'un astérisque correspondent à des populations issues d'écloserie. D: indice de Selander.

Genetic variability values, observed by different authors in *Crassostrea gigas*; (*) populations coming from hatcheries. D: Selander index.

Référence	Localité	Taux de polymorphisme (%)		Hétérozygotie (%)		D	Nombre moyen d'allèles
		$p \leq 0,95$	$p \leq 0,99$	observée	calculée		
Buroker et al. (1975)	USA	53,3		21,0	24,5	-0,143	2,70
Buroker et al. (1979 a)	Japon		58,3-63,0	19,5-22,2	20,1-23,8	-0,030	2,82
Gosling (1982)	Grande-Bretagne (*)		52,6	17,6	20,3	-0,133	2,66
Fujio et al. (1983)	Japon	50,0		18,6	20,5	-0,093	
Ozaki et Fujio (1985)	Japon	50,0		19,3	20,7	-0,067	
Smith et al. (1986)	Nouvelle-Zélande	47,1		18,2	23,0	-0,209	2,79
Smith et al. (1986)	Japon	47,1		18,0	22,9	-0,214	2,82
Cette étude	France	47,0	59,7	15,4	16,0	-0,038	3,09
Cette étude	France (*)	48,6	62,5	15,5	15,8	-0,019	2,58
Cette étude	Japon	53,8	76,9	14,6	18,9	-0,227	2,77

Remerciement

Les auteurs remercient Monsieur Henri Grizel, IFREMER — La Tremblade, coordinateur du programme « données de base sur la génétique des huîtres », Monsieur Spyros Fisas (Centre IFREMER, Brest) pour l'utilisation du programme AFC, Messieurs Michel Salaün et Alain Paimbèni pour leur aide dans la réalisation des figures.

RÉFÉRENCES

- Buroker N. E., W. K. Hershberger, K. K. Chew, 1975. Genetic variation in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Fish. Res. Board Can.*, **32**, 2471-2477.
- Buroker N. E., W. K. Hershberger, K. K. Chew, 1979 a. Population genetics of the family Ostreidae. I. Intraspecific studies of *Crassostrea gigas* and *Saccostrea commercialis*. *Mar. Biol.*, **54**, 157-169.
- Buroker N. E., W. K. Hershberger, K. D. Chew, 1979 b. Population genetics of the family Ostreidae. II. Interspecific studies of the genera *Crassostrea* and *Saccostrea*. *Mar. Biol.*, **54**, 171-184.
- Buroker N. E., 1983. Population genetics of the American oyster *Crassostrea virginica* along the Atlantic coast and the Gulf of Mexico. *Mar. Biol.*, **75**, 99-112.
- Fujio Y., 1979. Enzyme polymorphism and Population structure of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku J. Agric. Res.*, **30**, 32-42.
- Fujino K., N. Nagaya, 1979. Biochemical polymorphism in the Pacific Oyster. I. Variants in Myogen and Esterases. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **43**, 983-988.
- Gosling E. M., 1982. Genetic variability in hatchery-produced pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, **26**, 273-287.
- Grizel H., 1988. Introduction en France de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. *Cons. int. Explor. Mer, C. M.*, **4**.
- Hedgcock D., N. B. Okazaki, 1984. Genetic diversity within and between populations of American oysters (*Crassostrea*). *Malacologia*, **25**, 535-545.
- Lucas A., D. Moraga, J. Marin, 1983. Enzymatic polymorphism in two generations of *Crassostrea gigas* broodstock in a commercial hatchery. *J. Moll. Stud. Suppl.* **12A**, 106-110.
- Nei M., 1972. Genetic distance between populations. *Am. nat.*, **106**, 283-292.
- Ozaki H., Y. Fujio, 1985. Genetic differentiation in geographical population of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) around Japon. *Tohoku J. Agric. Res.*, **36**, 49-61.
- Pichot Y., P. Pichot, 1981. Étude électrophorétique du muscle adducteur de l'huître japonaise *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Cons. int. Explor. Mer, C. M.* 1981/F, **45**.
- Selander R. K., 1970. Behaviour and genetic variation in natural populations. *American Zoologist*, **10**, 53-66.
- Selander R. R., H. H. Smith, S. Y. Young, W. E. Jonhson, J. B. Gentry, 1971. Biochemical polymorphism in the genus *Peromyscus*. I. Variation of the old field mouse (*Peromyscus polionotus*). *Studies in Genetics. Univ. Texas Publ.*, **7103**, 49-90.
- Shaw C. R., R. Prasad, 1970. Starch-gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. Genetics*, **4**, 297-320.
- Smith P. J., H. Ozaki, Y. Fujio, 1986. No evidence for reduced genetic variation in the accidentally introduced oyster *Crassostrea gigas* in New Zealand. *N.Z.J. Mar. Freshwat. Res.*, **20**, 569-574.
- Wilkins N. P., 1975. Genic variability in marine Bivalvia: implications and applications in molluscan mariculture. *In: Mariculture, G. Persoone, E. Jaspers eds. Proceedings of the 10th European Symposium on Marine Biology. 1, Universa Press, Wetteren, Belgium*, 549-563.
- Wilkins N., N. F. Mathers, 1973. Enzyme polymorphism in European oyster, *Ostrea edulis* (L.). *Anim. Blood groups Biochem. Genet.*, **4**, 41-47.
- Zouros E., D. Foltz, 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in Bivalve Molluscs. *Malacologia*, **25**, 583-591.