



Co-funded by
the European Union



PROTOCOLES PAMBAS D'ÉCHANTILLONNAGES BIOLOGIQUES DE CREVETTES PROFONDES POUR L'IDENTIFICATION DES STOCKS (LABORATOIRE)

4- COLLECTION DE TISSU POUR ANALYSE GÉNÉTIQUE (GEN)



Montse Pérez and Eva García-Isarch

GENERALITÉS

- Les individus échantillonnés pour les analyses génétiques (GEN) sont les mêmes que ceux préalablement photographiés pour la morphométrie (MOR).
 - Même fréquence de collecte des tissus pour l'analyse génétique (GEN) selon l'espèce, la zone et le pays.
 - Même classes de taille sélectionnées par sexe et par espèce.
- Un échantillon de tissu doit être prélevé sur 50 individus par sexe, préalablement échantillonnés pour la morphométrie (MOR) et pour la biologie (BIO), en suivant la procédure décrite ci-dessous.

Parapenaeus longirostris											
Année	Mois-année/ pays-zone	MAURITANIE			SÉNÉGAL		GUINÉE-BISSAU		GUINÉE	ANGOLA	
		NORD	CENTRE	SUD	NORD	SUD	NORD	SUD	Guinée	NORD	CENTRE
Année 1	Mar-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Arrêt biologique	Alistado
	Apr-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	May-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Jun-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Jul-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Aug-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	biologique	BIO	BIO
	Sep-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Oct-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Nov-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Dec-26	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Jan-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Arrêt biologique	Alistado
	Feb-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Arrêt biologique	Alistado
Année 2	Mar-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Arrêt biologique	Alistado
	Apr-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	May-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Jun-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Jul-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Aug-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	biologique	BIO	BIO
	Sep-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Oct-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Nov-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Dec-27	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO
	Jan-28	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Arrêt biologique	Alistado
	Feb-28	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Arrêt biologique	Alistado

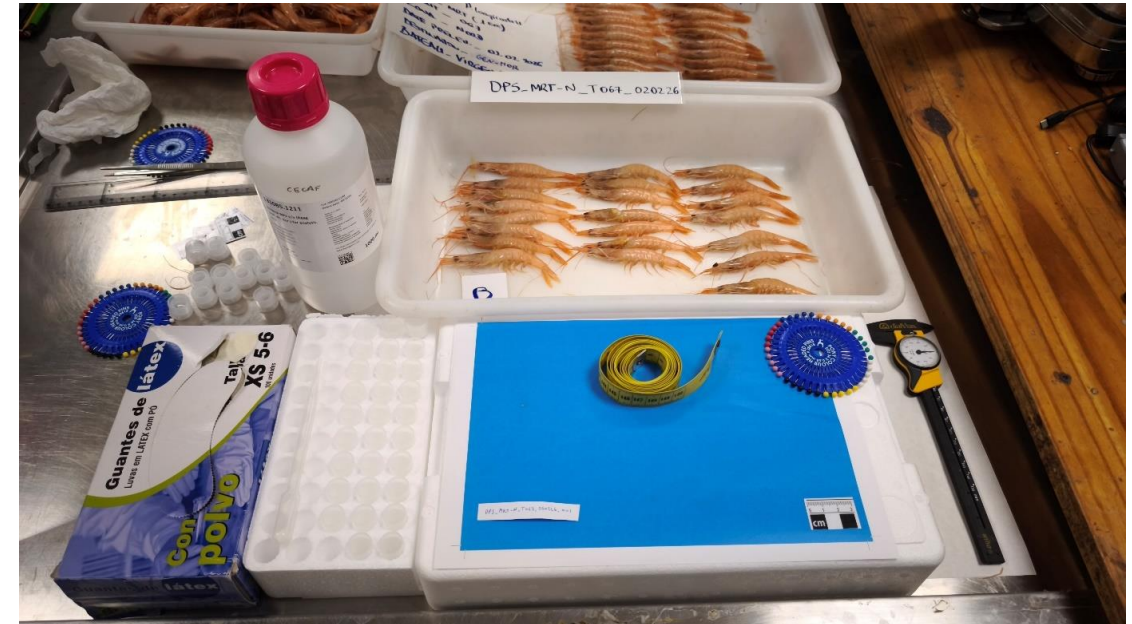
P. longirostris		
Lcar (MM)	Mâle	Femelle (Immature)
23-25	50	50

A. varidens		
mm Lcar	Mâle	Femelle (Immature)
26-28	50	-
36-39	-	50

PROCÉDURE DÉTAILLÉE

1) Préparation du matériel :

- Éthanol non dénaturé à 96%.
- Tubes de 2 ml avec bouchon à vis
- Pipettes Pasteur en plastique (5 ml)
- Ciseaux, scalpel et pinces (forceps)
- Étiquettes en papier imperméable avec codification
- Ruban adhésif Scotch
- Crayon et stylos à encre résistante à l'eau
- Gants de latex
- Le formulaire (même que l'utilisé pour MOR)



IMPORTANT :

Assurez-vous que le matériel (ciseaux, forceps, scalpels, etc.) est stérilisé.

Ne jamais manipuler les tissus à mains nues : l'opérateur doit porter des gants propres.

PROCÉDURE DÉTAILLÉE

2) Préparation et étiquetage des tubes

Préparer des tubes de 2 ml contenant au moins 1 ml **d'éthanol non dénaturé à 96 %**.

Chaque tube doit porter le Sample ID, avec le même code que celui utilisé pour l'individu en MOR).

Un double étiquetage est requis :

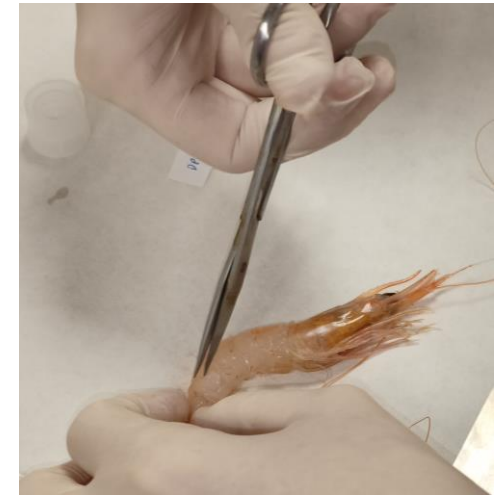
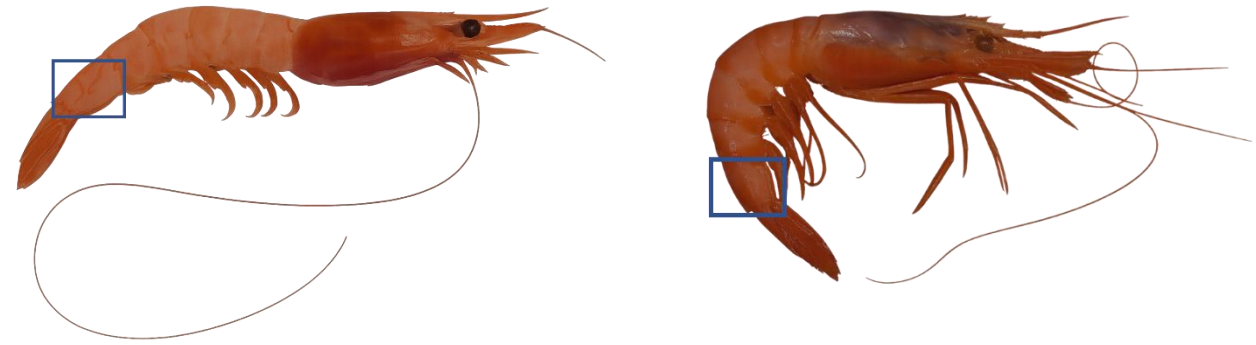
- **Étiquette extérieure** : écrire le code sur les étiquettes spéciales fournies, à l'aide d'un stylo indélébile ou d'un crayon. Recouvrir l'étiquette avec du ruban adhésif *Scotch* pour éviter qu'elle ne s'efface en cas de fuite d'éthanol.
- **Étiquette intérieure** : insérer dans le tube un papier imperméable portant le même code, écrit au crayon (l'éthanol peut dissoudre l'encre extérieure).



PROCÉDURE DÉTAILLÉE

3) Prélèvement du tissu :

Coupez, à l'aide d'instruments chirurgicaux, l'intégralité du dernier (6^e) segment abdominal de chaque individu (zone indiquée en bleu sur la figure). Il est déconseillé de prélever des fragments trop volumineux : un excès de tissu altère la qualité de la conservation en raison d'un mauvais ratio éthanol/tissu.



IMPORTANT:

Les échantillons peuvent être prélevés sur des individus frais ou congelés. Ils ne peuvent pas être prélevés sur des individus ayant été exposés ou fixés au formol.

PROCÉDURE DÉTAILLÉE

4) Conservation immédiate

Placer immédiatement le fragment musculaire dans le tube étiqueté, contenant de l'éthanol à 96 %.

Remplir le tube d'éthanol de manière à ce que le tissu n'occupe pas plus de 30 % du volume total.

Bien refermer le bouchon (Figure 4).



Exemple du ratio tissu/éthanol et taille de l'échantillon.

5) Annotation dans le formulaire d'échantillonnage biologique :

Inscrire « GEN » dans la colonne « OBS » du formulaire afin d'assurer la correspondance entre données BIO et MOR.

6) Nettoyage du matériel

Nettoyez les instruments chirurgicaux **après chaque individu**, avec de l'eau et de l'éthanol commercial. Sécher avec un papier propre chaque fois.

PROCÉDURE DÉTAILLÉE

7) Conservation des échantillons :

Conserver les tubes avec le tissu à -20°C. Si ce n'est pas possible, maintenir une température ≤ 4 °C.

8) Renouvellement de l'éthanol :

Après 4 à 5 jours, retirer soigneusement l'éthanol du microtube et le remplacer par de l'éthanol neuf (toujours à 96 %).

9) Envoi des échantillons :

Les échantillons doivent être envoyés au laboratoire génétique de l'IEO (Vigo) :
montse.perez@ieo.csic.es

CADRE – RÉSUMÉ DES ÉTAPES À SUIVRE DANS LES ÉCHANTILLONNAGES MENSUELS ET ANUEL

ÉCHANTILLONNAGES BIO (MENSUEL) :

Jour 1-2 :

Pour chaque exemplaire :

1. Taille (LCar)
2. Poids frais (total) (PT)
3. Sexe
4. Maturité (MAT)
5. Poids de la gonade (P gonad)

ÉCHANTILLONNAGE MOR-GEN (ANNUEL) :

Jour 1-2 :

Pour chaque exemplaire :

1. Photographies de l'individu (MOR)
2. Taille (LCar)
3. Poids frais (total) (PT)
4. Sexe
5. Maturité (MAT)
6. Prélèvement de tissu pour la génétique (GEN)*

Jour 4-5

Retirez soigneusement l'éthanol des microtubes contenant les échantillons génétiques et les remplacer par de l'éthanol neuf.



Merci pour votre attention

Obrigada pela vossa atenção

Gracias por vuestra atención

Thanks for your attention