

## 5. PROTOCOLE D'ÉCHANTILLONNAGE DES GONADES EN VUE D'ÉVALUER LE SEX RATIO

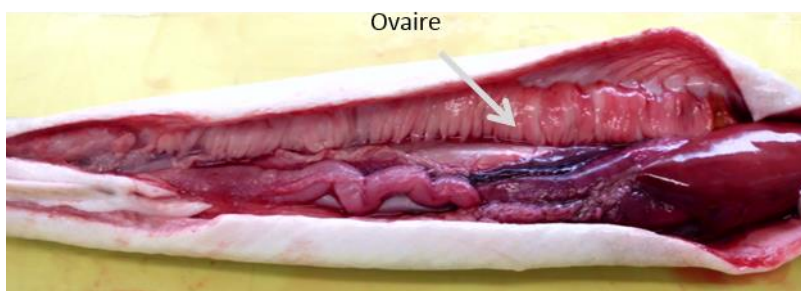
Ce protocole est un guide pour l'échantillonnage et l'éventuelle conservation des gonades pour une analyse histologique et/ou moléculaire lorsqu'une identification du sexe basée sur l'aspect macroscopique n'est pas possible. Cela concerne principalement des anguilles de 20 à 30 cm, mais certaines anguilles de moins de 30 cm peuvent avoir des gonades permettant l'identification macroscopique du sexe, et certaines de plus de 30 cm peuvent présenter des gonades non différenciées macroscopiquement. Pour connaître le sexe des anguilles jaunes, celles-ci doivent être mises à mort et leurs gonades immédiatement examinées.

### 5.1. Observation macroscopique

Chez les plus grosses anguilles jaunes, et *a fortiori* chez les argentés, il est assez aisé d'identifier le sexe sur la base d'une analyse macroscopique des gonades (Fig.1):

- **Les ovaires** présentent des voiles, qui lorsque les gonades sont plus développées divisent les gonades en petits compartiments allongés ;
- **Les testicules** se présentent sous la forme de lobes plutôt individualisés, solidement attachés à la partie dorsale de la gonade (la gonade ne se déchire pas quand on tire dessus).

FEMELLE



MÂLE

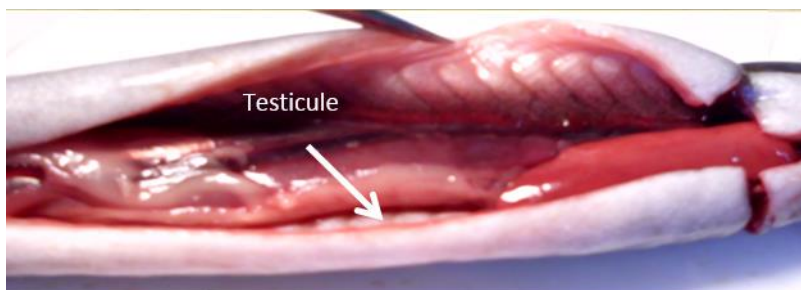


Figure 1. Localisation et aspect macroscopique de l'ovaire (femelle) et du testicule (Mâle) dans la cavité abdominale.

La distinction morphologique entre un testicule et un ovaire reste difficile sur les anguilles de petite taille et on peut souvent tomber sur des gonades indifférenciées ou intersexes (Beullens *et al.* 1997). Les catégories de gonades (undifférenciés/intersexes, mâle et femelle) sont illustrés Fig.2. Attention, le fait que les lobes soient séparés (3) n'est pas un critère pour décider du sexe mâle.

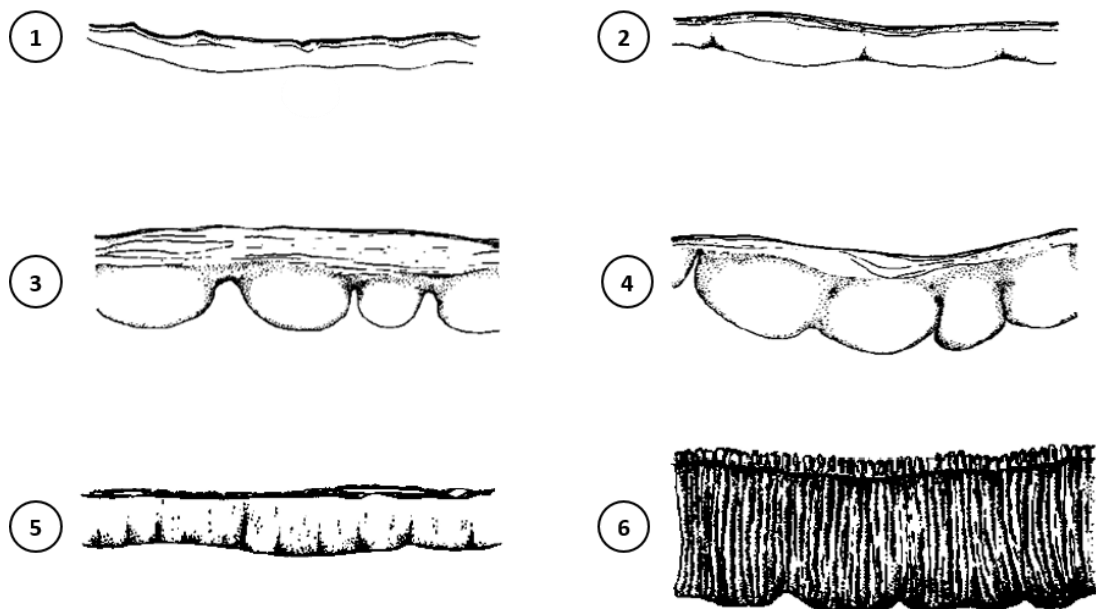


Figure 2. Aspect morphologique des gonades d'anguille : Indifférencié (1 et 2) ou Intersexe (3) ; Mâle (4) ; Femelle (5 et 6) (d'après Beullens *et al.*, 1997).

Si l'aspect macroscopique ne permet pas d'identifier le sexe, les gonades doivent être retirées et conservées pour pouvoir ensuite réaliser des analyses (voir Fig. 3 et section 5.2).



Figure 3. Extraction des gonades chez l'anguille juvénile.

## 5.2. Extraction et conservation pour analyses moléculaires et histologiques

Les procédures suivantes doivent être mises en place pour conserver les échantillons afin de pouvoir ensuite procéder aux différentes analyses :

### A - Pour l'analyse moléculaire

- Pendant la dissection vous pouvez utiliser quelques gouttes de RNAlater pour limiter la dégradation de l'ARN. Cela présente aussi l'avantage de rendre les gonades plus visibles ;
- Une fois la première gonade extraite (c'est généralement la gauche) la placer rapidement dans un eppendorf RNA free de 1.5 ml rempli de RNAlater ;
- Garder ces eppendorfs à basse température (mais pas en dessous de 0°C) et les conserver pendant au moins 1 heure au frigo (4°C), mais ça peut être toute la nuit ;
- Retirer le RNAlater, percer le couvercle de l'eppendorf (petit trou) et mettre au -80 °C.

### B - Pour l'analyse histologique

- Mettre l'autre gonade dans une histosette à grille fine ;
- Immerger dans du Bouin pendant 1 à 3 h ;
- Rincer 1h à l'eau claire ;
- Transférer dans du formol à 10%.

## Références

Beullens K., E.H. Eding, P. Gilson, F. Ollevier, J. Komen and C.J.J. Richter. 1997. Gonadal differentiation, intersexuality and sex ratios of European eel (*Anguilla anguilla* L.) maintained in captivity. *Aquaculture*, 153:135-150.

## Données Biométriques

(Longueur Totale - mm; Poids - g; Poids Eviscéré - g)

[illegible]