

**MÉTHODES D'ÉLEVAGE DES GASTÉROPODES OPISTHOBRANCHES
DE PETITES ET MOYENNES DIMENSIONS.
MISE AU POINT D'UN CIRCUIT FERMÉ EN EAU DE MER.
PREMIERS RÉSULTATS**

Claude POIZAT

Laboratoire de biologie marine, Université de Provence,
Centre de St-Jérôme, 13 - Marseille 13^e - France

SUMMARY

The systematic, ecologic, biologic and physiologic studies of Gasteropoda Opisthobranchia of the gulf of Marseilles (mediterranean coast of France), specially of the méiobenthic Opisthobranchia (Poizat, 1971) require an observation on living animals. The living organisms gathered from november 1970, have been maintained over, more or less longer, under increasing material conditions, the results of which is a recirculating sea-water aquarium. In it, the sea-water salinity is kept constant, sea-water is filtrated and oxygenated. The water temperature is regulated by a cooling *water-bath* system.

RESUME

Les études systématiques, écologiques, biologiques et physiologiques (neurosecrétion) entreprises sur les Opisthobranches du golfe de Marseille, particulièrement sur les Opisthobranches méiobenthiques et les petites espèces épiphytes (Poizat, 1971), imposent une observation *in vivo* des spécimens récoltés. Le matériel vivant prélevé depuis novembre 1970 a été maintenu en vie pendant des périodes plus ou moins longues, grâce à des moyens matériels croissants dont l'aboutissement a été la création d'un circuit fermé en eau de mer climatisée, filtrée, oxygénée et à salinité assez stable. L'originalité de ce circuit réside dans son système de climatisation par *bain-marie inversé*.

INTRODUCTION

Les exigences assez précises des Gastéropodes Opisthobranches méiobenthiques vis à vis de certains paramètres physico-chimiques de l'eau de mer (températures inférieures à 20°C et assez constante, salinité stable et bonne oxygénation) et des conditions hydrodynamiques (renouvellement permanent des masses d'eau) posent quelques problèmes quant à la survie en aquarium, pendant de longues périodes, de ces animaux de très petite taille. Leur reproduction par l'intermédiaire d'un stade larvaire planctonique complique le problème d'élevage proprement dit, car, la plupart du temps, la nourriture de la larve quand ce n'est pas celle de l'adulte, nous est inconnue. Nous avons ainsi recherché, dans un premier temps, un système susceptible de maintenir en vie ces petits Mollusques pendant des périodes aussi longues que possible. Le circuit fermé mis au point, primitivement conçu pour les seules espèces méiobenthiques, a été, à titre d'essai, utilisé pour des spécimens de plus grandes dimensions : c'est ainsi que, actuellement, le circuit permet de conserver dans de bonnes conditions des petits Opisthobranches (*Hedylopsis suecica*, *Elysia viridis*) et des spécimens moyens (*Peltodoris atromaculata*, *Berthella elongata*, *Flabellina affinis*, *Hervia costai*) qui se sont bien adaptés.

Des installations apparemment très élaborées ont été mises au point dans divers laboratoires français (Tardy, 1969) ou étrangers (Lickey *et al.* 1970). Certains systèmes visent même à recréer toujours pour des Mollusques, les conditions de milieu de la zone intertidale (Thompson, 1968). C'est dire toute l'importance prise par les recherches sur les modalités d'élevage des Mollusques en aquarium.

TECHNIQUES

La taille réduite (quelques mm) des Gastéropodes Opisthobranches méiobenthiques étudiés dans le cadre des recherches du laboratoire, oblige à conserver les spécimens vivants dans des récipients de volume réduit (quelques centimètres cubes) de manière à pouvoir observer, surveiller et éventuellement compter les animaux sans trop de perte de temps. Les techniques décrites ci-après et qui se sont succédées dans le temps pour aboutir au circuit définitif, obéissent à cet impératif. Arnold (1966) a d'ailleurs, dans la même optique, réalisé un ingénieux dispositif pour cultures de Foraminifères et autres petits organismes. Cazaux (1970) décrit pour l'élevage de Polychètes (à stades larvaires planctoniques) diverses techniques qui ont retenu notre attention (Galtsoff, 1959). Enfin, pour satisfaire aux mêmes impératifs liés aux faibles dimensions des organismes, un dispositif très simple mais efficace a été utilisé et décrit pour la microfaune (von Thun, 1966).

1. — Utilisation de récipients clos, remplis d'eau de mer stagnante, et placés dans une pièce froide non climatisée

Les animaux sont placés avec leur sable d'origine (quelques grammes) comme le faisait Magagnini (1964) pour ses élevages de *Nerilla antennata* (mésopsammique), à l'intérieur de petites boîtes en plastique sans couvercle, de forme aplatie et de dimensions réduites : 3,5 cm. 2,5 cm. 1 cm (planche 2, fig. 1). Celles-ci sont immergées dans des récipients en plastique de type *tiroirs de rangement* (25 cm. 16 cm. 6 cm) remplis d'eau de mer (environ 1,5 litre) où barbotte un *sucre diffuseur* d'air alimenté par un compresseur qui assure l'aération. Une dizaine de *tiroirs de rangement* ainsi équipés ont été gardés dans une pièce froide non climatisée, où la température entre novembre 1970 et mai 1971 a fluctué entre 12 et 21°C. Cette pièce est exposée au Nord et si les rayons du soleil n'y pénètrent pratiquement pas, la luminosité y est toutefois assez forte et renforcée d'ailleurs par trois lampes de 500 W. Les fenêtres y sont laissées entr'ouvertes et le chauffage arrêté.

2. — Mise en circuit des " tiroirs de rangement " dans un système activé par une pompe filtrante et climatisé directement par un " cryoéchangeur "

2.1. — Description du système

Les *tiroirs de rangement* servent, comme dans la technique précédente de bacs d'élevage pour les petits Mollusques et sont intégrés dans un circuit qui comprend plusieurs éléments (récipients et pompe) disposés sur 4 plans horizontaux numérotés de 0 à 3 verticalement et de bas en haut (fig. 1, planche 1, fig. 1).

— *plan inférieur (plan 0)* : sur ce plan est placé une pompe électrique refoulante, dont le corps, d'une contenance de 5 litres, est muni d'une cartouche de "charbon actif" chargé de filtrer l'eau.

— *plan 1* : sur ce plan se trouvent 2 bacs en plastique, chacun d'une contenance de 12 litres, soient au total, 24 litres d'eau de mer. Les 2 bacs sont reliés l'un à l'autre pour assurer l'homogénéité du niveau d'eau.

— *plan 2* : sur le plan 2 sont disposés en deux groupes de quatre, les 8 *tiroirs de rangement* qui servent de bacs d'élevage des petits spécimens ainsi que des pontes. La contenance des *tiroirs* étant de 1,5 litre environ, on a au total 12 litres d'eau de mer dans les 8 *tiroirs* .

— *plan supérieur (plan 3)* : sur le plan supérieur sont placés deux bacs en plastique d'une contenance de 12 litres chacun. Dans l'un de ces bacs, se trouve un *thermomètre de contact* qui commande le fonctionnement d'un appareil de réfrigération appelé commercialement *cryoéchangeur* . C'est dans les deux bacs supérieurs que nous conservons les espèces de taille moyenne (*Peltodoris* , *Flabellina* , etc.) et leur nourriture (hydriques, spongiaires, algues).

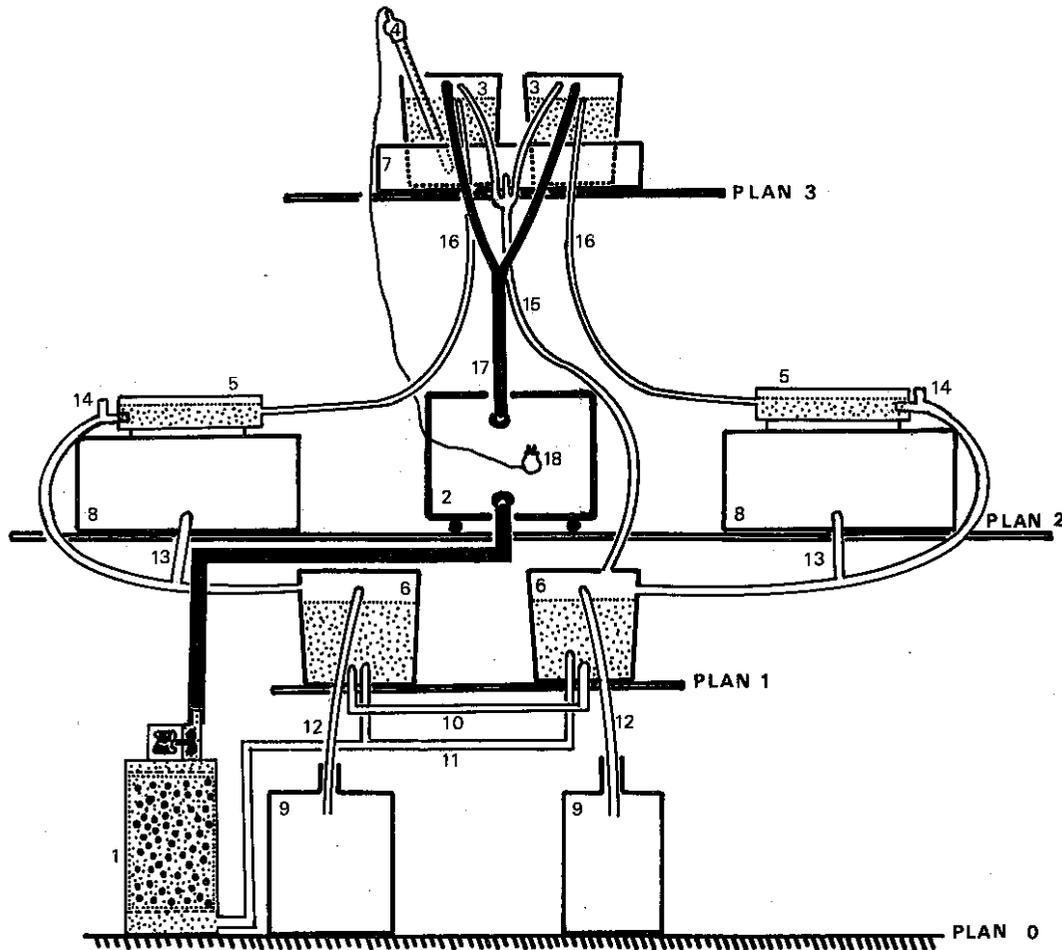


Figure 1 — Représentation schématique du circuit à réfrigération "directe" par "cryoéchangeur".

Légende : 1 : pompe électrique à cartouche filtrante de charbon actif, 2 : "cryoéchangeur", 3 : bacs supérieurs du plan III, 4 : "thermomètre de contact", 5 : "tiroirs de rangement" servant de bacs d'élevage pour les Opisthobranches méiobenthiques, 6 : bacs inférieurs du plan I, 7 : "bac de débordement" du plan III, 8 : "bacs de débordement" du plan II, 9 : bidons recueillant l'eau des "surverses" des bacs du plan I au moment des remplacements de l'eau de mer du circuit, 10 : intercommunication des bacs du plan I, y assurant l'équiniveau, 11 : conduit de descente de l'eau vers la pompe, 12 : surverses des deux bacs du plan I, 13 : conduits ramenant dans les bacs du plan I, l'eau recueillie par "les bacs de débordement", en cas de débordement d'un ou de plusieurs "tiroirs" d'élevage, 14 : sorties d'eau des "tiroirs de rangement" munies de leur filtre et d'une prise d'air permettant un écoulement régulier, 15 : conduit ramenant aux bacs du plan I, l'eau captée par les "surverses" des bacs du plan III, ou par le "bac de débordement" du plan III, 16 : conduit d'alimentation des "tiroirs de rangement", 17 : conduit de montée de l'eau venant de la pompe, passant à travers le "cryoéchangeur" et alimentant les bacs du plan III, 18 : fil et prise de raccordement du "thermomètre de contact" avec le "cryoéchangeur".

La capacité totale d'un tel circuit est de 65 litres d'eau de mer environ. Ce système est disposé dans la pièce non climatisée utilisée pour la technique précédente, mais cette fois, les fenêtres sont fermées et le chauffage maintenu. De la sorte, la température de l'eau de mer du circuit est la résultante de deux effets antagonistes, l'action du *cryoéchangeur* réglé à 17°C, et le chauffage de la pièce dont la température reste à 20°C en hiver, mais monte jusqu'à 28°C en été.

2.2. — Fonctionnement

La pompe (plan 0) reçoit l'eau de mer des deux bacs du plan 1 et l'envoie à travers la tubulure du *cryoéchangeur* vers les deux bacs supérieurs du plan 3. Ainsi, dans ces derniers, s'accumule de l'eau de mer refroidie conformément au réglage du *thermomètre de contact* situé dans l'un des deux bacs et qui commande le fonctionnement du *cryoéchangeur*. Cette eau froide (température égale à 17°C) s'écoule par gravité vers les 8 *tiroirs de rangement* du plan 2, et qui, ainsi mis en circuit, ont leur eau constamment renouvelée. L'eau de mer qui sort de ces 8 bacs redescend vers les deux bacs du plan 1 et de là, retourne dans la pompe. La température des divers bacs du système est contrôlée par des thermomètres témoins.

L'eau de mer des deux bacs supérieurs (plan 3) ainsi que celle qui circule dans les *tiroirs de rangement* (plan 2) est aérée activement à l'aide de *sucre diffuseurs* reliés par une tubulure plastique à deux compresseurs d'air.

3. — Circuit fermé en eau de mer filtrée et climatisée par un système dit de bain-marie inversé

3.1. — Description du système

La disposition précédente est maintenue aux quelques modifications et perfectionnements près (planche 1, fig. 2 ; planche 2, fig. 2 à 6). Le changement important est dû au système de climatisation du circuit d'eau de mer qui n'est plus refroidi directement par le *cryoéchangeur* mais par l'intermédiaire d'un circuit d'eau douce mise en mouvement par une deuxième pompe et refroidie par le *cryoéchangeur*.

Dans ce dispositif, les éléments (bacs, *tiroirs de rangement*, et pompes) sont répartis de la manière suivante :

- la pompe d'eau de mer et la pompe d'eau douce, placées toutes deux sur le plan 0 d'une part, et les 2 bacs en plastique du plan 1 d'autre part, sont enfermés dans un *container frigorifique* de 1 m³ environ et rempli d'eau douce. Ce *container* est constitué d'un bac en P.V.C. (Chlorure de polyvinyle) revêtu extérieurement de laine de verre et de bois, assurant un bon isolement thermique, préservé d'ailleurs par un couvercle de bois et de polystyrène assujetti étroitement au *container*. Les 2 pompes (plan 0) ne sont pas, dans le système définitif (fig. 2), en contact direct avec l'eau douce du *container frigorifique*, mais enfoncées dans un *puits* étanche en-dessous des niveaux de l'eau douce du *container* et de l'eau de mer des deux bacs du plan 1. Ces derniers sont d'ailleurs, comme dans le système précédemment décrit, reliés l'un à l'autre pour leur assurer un niveau identique.

- les autres éléments (bacs d'élevage du plan 2, bacs supérieurs du plan 3) sont disposés de la même façon que dans le cas précédent.

La capacité totale du circuit est, comme précédemment, de 65 litres d'eau de mer environ. L'eau douce chargée de refroidir l'eau de mer atteint un volume de 250 litres environ. L'ensemble, qui est mobile, est disposé dans la pièce fermée et chauffée en hiver, utilisée pour les techniques précédentes.

3.2. — Fonctionnement

La pompe d'eau de mer située au plus bas du système (plan 0) reçoit l'eau de mer des deux bacs plastique du plan 1 qui baignent entièrement dans l'eau douce du *container frigorifique*. Cette pompe renvoie l'eau de mer qu'elle reçoit par gravité, dans les deux bacs plastique supérieurs (plan 3) qui eux-mêmes alimentent par gravité, les 8 *tiroirs de rangement* du plan 2. De là, l'eau de mer redescend dans les 2 bacs plastique du plan 1 à l'intérieur du *container frigorifique*.

La deuxième pompe est enfoncée dans son *puits*, en-dessous du niveau supérieur de l'eau douce, à l'intérieur du *container frigorifique*. L'eau douce s'écoule donc par gravité dans le corps de la pompe, puis est renvoyée par celle-ci dans la tubulure du *cryoéchangeur* où elle est refroidie. De là, l'eau douce (refroidie) regagne directement le *container frigorifique*. Dans ce dernier, se constitue donc une importante masse d'eau froide où baignent les deux bacs plastique à eau de mer du plan 1. L'eau de mer climatisée de la sorte par le circuit réfrigérant à eau douce, subit ainsi les effets d'un véritable *bain-marie inversé*.

3.3. — Détails techniques

3.3.1. — Isolement des animaux

Les animaux de petites dimensions (*Hedylopsis*, *Embletonia*, *Doto*, *Elysia*, etc.) sont conservés dans les 8 "*tiroirs de rangement*" du plan 2. Les animaux de dimensions moyennes (*Hervia*, *Peltodoris*, *Flabellina*, *Berthella*, etc.) sont à l'intérieur des deux bacs en plastique supérieurs (plan 3). La fuite des spécimens dans les tubulures reliant les divers récipients et pompe du système est empêchée par l'utilisation de filtres coiffant les orifices de sortie des 2 bacs supérieurs, les orifices d'entrée et de sortie des *tiroirs de rangement*. Ces filtres ont été confectionnés à l'aide de soies à bluter à mailles fines pour les petits spécimens (maille de 100 à 200 microns), alors que les spécimens moyens sont retenus par des filtres à maille plus importante (1/2 à 2 mm).

3.3.2. — *Les surverses*

L'utilisation de filtres qui empêchent la fuite des animaux dans les tubulures du circuit, expose en contrepartie celui-ci à des débordements par colmatage d'un ou plusieurs filtres. Ces colmatages sont d'autant plus fréquents que la maille de la soie à bluter utilisée est plus faible. Donc, ce danger existe surtout au niveau des *tiroirs de rangement* . Les pertes d'eau de mer ainsi provoquées sont très graves car elles aboutissent plus ou moins rapidement, au désamorçage de la pompe d'eau de mer et par conséquent à un arrêt de la climatisation.

Les deux bacs supérieurs (plan 3) dont les sorties d'eau sont garnies de filtres sont eux aussi exposés à ces inconvénients. Pour remédier à ceux-ci, nous avons ménagé dans chacun des 2 bacs supérieurs 2 sorties possibles pour l'eau de mer envoyée par la pompe : d'une part, la sortie normale munie de son filtre à grosse maille et conduisant l'eau aux 8 bacs d'élevage (plan 2), et d'autre part, à quelques cm au-dessus de la première sortie, une deuxième sortie munie d'un filtre analogue et n'entrant en action que si la sortie normale est colmatée. Dans ce dernier cas, l'eau redescend directement dans les deux bacs plastique du plan 1, grâce à cette deuxième sortie qui ainsi, joue le rôle d'une *surverse* .

Les bacs inférieurs (plan 1) à l'intérieur du *container frigorifique* sont eux aussi munis d'une *surverse* dont le rôle, expliqué dans le chapitre *résultats* , se borne au remplacement de l'eau de mer du circuit. Plongés dans l'obscurité du *container* , ces 2 bacs n'hébergent aucun animal. Cependant, leur *surverse* est garnie d'un filtre à maille très fine, de manière à ne pas perdre au moment des remplacements d'eau de mer, les larves devenues libres dans le circuit.

3.3.3. — *Les bacs de débordement*

Les colmatages des filtres des bacs d'élevage (plan 2) d'une part, de la sortie normale et de la *surverse* de chacun des 2 bacs supérieurs (plan 3) d'autre part, amènent le débordement de ces bacs, donc la perte d'eau de mer et par suite, l'arrêt du circuit. Cet arrêt est empêché grâce aux *bacs de débordement* qui captent l'eau débordant des bacs colmatés et la ramènent directement aux bacs inférieurs (plan 1). Ainsi, les deux bacs supérieurs (plan 3) sont placés dans un *bac de débordement* en relation directe avec les deux bacs inférieurs (plan 1). De même, les 8 *tiroirs de rangement* (plan 2) sont 4 par 4 placés sur 2 *bacs de débordement* reliés directement eux aussi aux 2 bacs du plan 1.

3.3.4. — *Stabilisation de l'alcalinité de l'eau de mer du circuit*

L'alcalinité de l'eau de mer du circuit est stabilisée par environ 2 kg de sable coquillier disposé dans de petits récipients en plastique ouverts, à l'intérieur des différents bacs du système. Ce problème est illustré par un travail récent (Goldizen, 1970) où on insiste sur l'utilisation de carbonate de calcium naturel ("gravelles coralliennes" et coquilles de Mollusques) qui contient un minimum de 4 % de Magnésium et qui est plus soluble dans l'eau de mer que la calcite (carbonate de calcium pur) en présence d'ions hydrogène.

4. — Perfectionnements apportés récemment

Actuellement nous apportons un certain nombre de perfectionnements au circuit (fig. 2) :

4.1. — *Diminution des risques de débordement*

Les risques de débordement des bacs supérieurs (plan 3) et des bacs d'élevage du plan 2 surtout (*tiroirs de rangement*) ont été diminués en augmentant la surface des filtres coiffant les orifices de sortie de l'eau de mer.

4.2. — *Augmentation de la capacité du circuit*

4.2.1. — Les deux bacs supérieurs (plan 3) sont remplacés par un bac unique en plastique, fermé hermétiquement par un couvercle et d'une capacité de 180 litres. Nous n'y plaçons cependant que 100 litres d'eau de mer environ.

4.2.2. — Les deux bacs inférieurs (plan 1) sont remplacés par deux bacs en plastique, fermés hermétiquement par un couvercle, et d'une capacité de 38 litres chacun. Il n'y a cependant, jusqu'au niveau de la *surverse* , que 30 litres d'eau de mer.

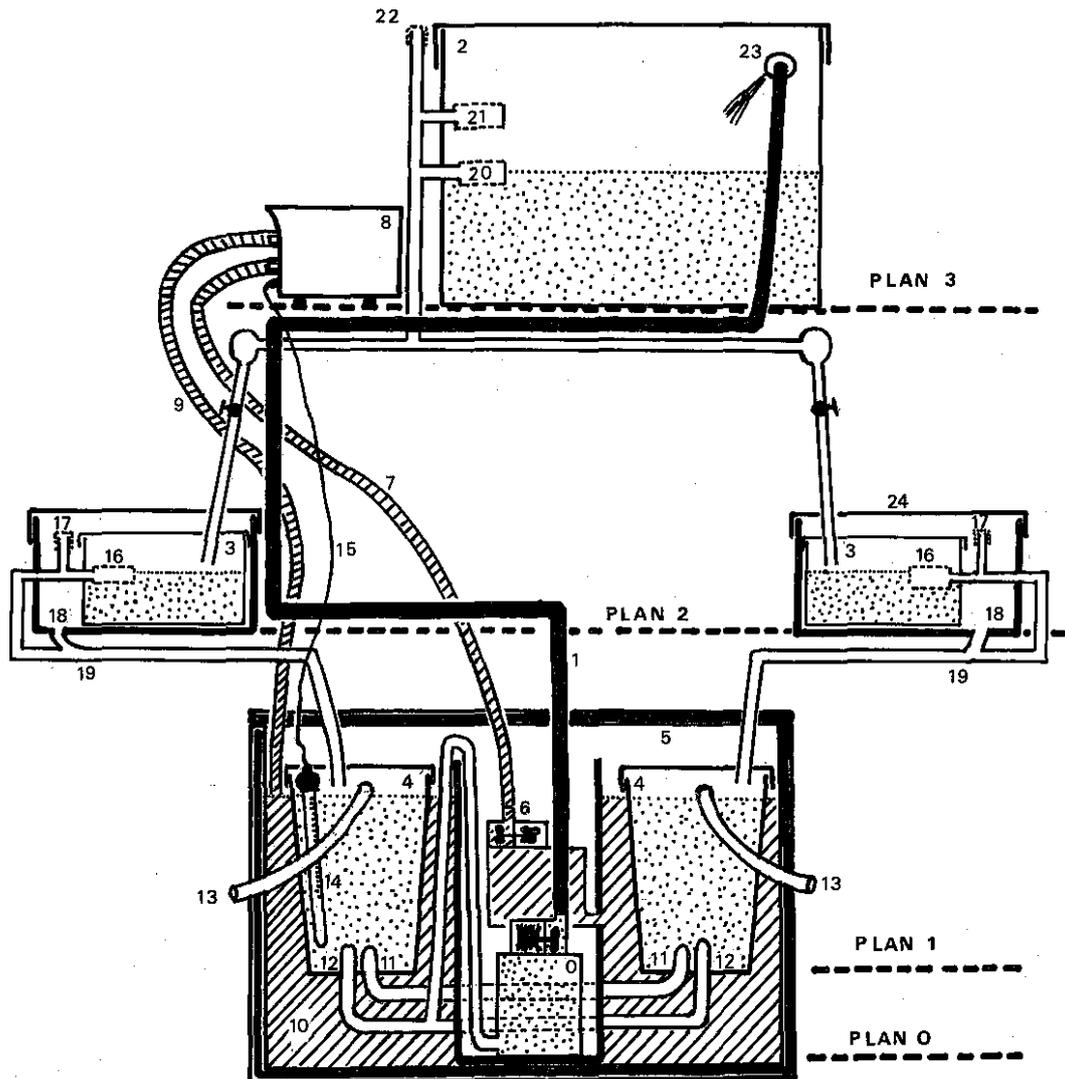


Figure 2 — Représentation schématique du circuit définitif en eau de mer réfrigérée par "bain-marie inversé".

Légende : 0 : pompe électrique à eau de mer, avec ou sans cartouche filtrante, 1 : conduit de montée de l'eau de mer vers le bac supérieur du plan III, 2 : bac supérieur du plan III, 3 : bacs d'élevage du plan II, 4 : bacs inférieurs du plan I, 5 : "container frigorifique", 6 : pompe électrique à eau douce, 7 : conduit de montée de l'eau douce vers le "cryoéchangeur", 8 : "cryoéchangeur" 9 : conduit de retour de l'eau douce dans le "container frigorifique", 10 : eau douce (en hachuré), 11 : intercommunication entre les 2 bacs inférieurs du plan I, y assurant l'équilibre, 12 : conduit de descente de l'eau vers la pompe à eau de mer, 13 : "surverses" des 2 bacs du plan I, permettant le remplacement de l'eau de mer du circuit, 14 : "thermomètre de contact", 15 : fil et prise de raccordement du "thermomètre de contact" avec le "cryoéchangeur", 16 : filtres de grande surface coiffant les sorties d'eau de mer des bacs d'élevage, 17 : prises d'air assurant une sortie régulière de l'eau des bacs d'élevage, 18 : "bacs de débordement" et leur conduit ramenant l'eau aux bacs du plan I en cas de débordement des bacs d'élevage, 19 : conduits de descente de l'eau de mer vers les bacs du plan I, 20 : filtres de grande surface coiffant les 3 sorties d'eau de mer du bac supérieur du plan III, 21 : filtres de grande surface coiffant les 3 "surverses" du bac du plan III, 22 : prises d'air assurant un écoulement régulier et puissant de l'eau de mer vers les bacs d'élevage du plan II, 23 : rampe d'arrivée de l'eau de mer dans le bac supérieur du plan III, 24 : feuilles plastique transparentes recouvrant les 2 "bacs de débordement" du plan II.

Remarque : pour des raisons de dessin, les 2 pompes (eau douce et eau de mer) qui sont normalement sur le même plan (plan 0), sont représentées l'une en-dessous de l'autre.

4.2.3. — Les tiroirs de rangement sont remplacés par des récipients en plastique de plus grande hauteur et pourvus d'un couvercle. Ces récipients sont disposés non pas au-dessus des deux bacs de débordement comme précédemment, mais à l'intérieur de ceux-ci, l'ensemble étant recouvert par une feuille de plastique transparent.

En définitive, le circuit ainsi modifié contient donc au total un peu plus de 175 litres d'eau de mer.

5. — Caractéristiques techniques des appareils utilisés

5.1. — L'appareil réfrigérant

L'appareil réfrigérant utilisé dans le circuit est commercialement connu sous le nom de *cryoéchangeur*. Celui-ci possède un compresseur d'une puissance de 1/5 de cheval. Les températures obtenues vont de + 30°C à - 40°C. Cet appareil est commandé par un *thermomètre de contact* qui permet une régulation d'une grande précision. La tubulure du *cryoéchangeur* est chromée à l'intérieur ; il en sera question dans le chapitre *résultats*.

5.2. — La pompe à eau de mer

C'est une pompe en plastique qui débite 500 litres d'eau à l'heure. Le corps de la pompe renferme une charge filtrante (charbon actif). La puissance de cette pompe est de 45 W.

5.3. — La pompe à eau douce

C'est une pompe en plastique qui débite 240 litres d'eau à l'heure. Cette pompe est utilisée sans filtre dans notre circuit. Sa puissance est de 28 W.

RESULTATS

1. — Résultats obtenus par la première technique de novembre 1970 à mai 1971

L'utilisation des *tiroirs de rangement* remplis d'eau de mer stagnante et placés dans une pièce froide non climatisée a permis des survies allant de quelques jours à plusieurs mois, entre novembre 1970 et mai 1971 (tableau n° 1). Certains animaux se sont même apparemment accouplés (*Hedylopsis suecica* et *Embletonia pulchra*), et d'autres ont pondu (*Elysia viridis* sur des Entéromorphes). Les espèces les plus résistantes sont *Hedylopsis suecica* avec 182 jours de survie, *Philine catena* avec 189 jours, *Elysia viridis* avec 178 jours. Au contraire, les petites espèces épiphytes (*Aegires punctilucens*, *Favorinus branchialis*, etc.) disparaissent en quelques jours, vraisemblablement faute d'une nourriture convenable.

La mort accidentelle entre le 31/05/1971 et le 03/06/1971 de la totalité du stock de Mollusques a été due au passage à la seconde technique, comme il sera expliqué dans le paragraphe suivant. Par conséquent, les résultats obtenus avec les *tiroirs de rangement* remplis d'eau stagnante oxygénée par aérateur, sont très satisfaisants et peuvent être sans doute améliorés en plaçant ces récipients soit dans une pièce froide climatisée, soit en *bain-marie* dans un circuit réfrigérant, ce qui est confirmé par les travaux de Tardy (1969). Les inconvénients majeurs de cette technique résident dans la fréquence trop grande des changements de l'eau de mer (3 fois par semaine) des *tiroirs*, dans les variations brutales de la salinité de l'eau de mer au cours de ces changements, et enfin, dans la faible inertie thermique du volume d'eau très réduit des *tiroirs* en cas d'arrêt de la climatisation de la pièce froide.

2. — Résultats dus à la réfrigération directe par cryoéchangeur de mai à août 1971

La non climatisation de la pièce froide utilisée cependant de façon satisfaisante de novembre 1970 à mai-juin 1971, et l'élévation des températures printanières nous ont contraint à intégrer les *tiroirs de rangement* dans un circuit réfrigéré. Ce circuit est refroidi directement par un *cryoéchangeur* c'est-à-dire que l'eau de mer est envoyée dans la tubulure de cet appareil grâce à une pompe.

Cette technique a amené la disparition rapide et totale de l'ensemble des animaux conservés en vie depuis plusieurs mois. Les tentatives faites ultérieurement avec cette technique, jusqu'en août 1971, n'ont abouti qu'à des échecs répétés, les animaux mourant très rapidement en quelques heures, malgré les rinçages maintes fois renouvelés du circuit, à l'aide d'eau distillée puis avec de l'eau de mer.

La solution à ce problème a été apportée par des travaux récents (Bernhard et Zattera, 1966, 1970, Lickey et al., 1970, Robertson, 1968) dont les résultats nous ont permis d'incriminer la tubulure du *cryoéchangeur*. Bien que chromée intérieurement, celle-ci est attaquée activement par l'eau de mer avec pour conséquence, la formation dans le circuit fermé de sels divers, sulfates de chrome notamment.

TABLEAU 1

Animaux en élevage dans des bacs en eau de mer stagnante.

Espèces captives dans des bacs en eau de mer stagnante ("Tiroirs de rangement").	Nombre de spécimens :	Date de récolte :	Date de disparition (mort)	Date de fixation "in vivo"	Durée de survie	Remarques Particularités
<i>Hedylopsis suecica</i>	2	26/11/1970	—	04/02/1971	70	} 2 individus ont subi l'ablation des rhinophores le 12/01/1971. } 1 accouplement (24/03/1971)
	2	26/11/1970	—	04/03/1971	98	
	2	26/11/1970	31/05/1971	—	182	
	12	13/03/1971	03/06/1971	—	82	
	3	27/03/1971	03/06/1971	—	68	
<i>Embletonia pulchra</i>	5	26/11/1970	—	03/02/1971	69	} 1 accouplement (mars 1971)
	1	26/11/1970	20/03/1971	—	114	
	1	26/01/1971	—	03/02/1971	8	
	6	13/03/1971	03/06/1971	—	82	
<i>Philine catena</i>	1	26/11/1970	03/06/1971	—	189	
	4	13/03/1971	03/06/1971	—	82	
	1	27/03/1971	03/06/1971	—	68	
<i>Elysia viridis</i>	1	17/12/1970	31/05/1971	—	178	Pontes sur Entéromorphes (15/03/71)
<i>Aegires punctilucens</i>	1	26/01/1971	02/02/1971	—	7	
<i>Favorinus branchialis</i>	1	27/03/1971	05/04/1971	—	9	

En conséquence, pour éviter tout contact d'une pièce métallique avec l'eau de mer du circuit, nous en avons modifié le système de refroidissement en réalisant une climatisation par *bain-marie inversé*, décrite au paragraphe suivant.

Toutefois, un circuit réalisé sur ce modèle dans le laboratoire d'Ecologie Terrestre (Université de Provence, Centre de Saint-Jérôme) est utilisé sans inconvénient en eau douce et donne toute satisfaction : élevages à cycle complet de Diptères, de Coléoptères et de Trichoptères, dont les larves se développent dans les ruisseaux.

3. — Résultats obtenus par la technique dite du "bain-marie inversé" depuis août 1971

3.1. — Avantages pratiques du système

3.1.1. — Fonctionnement

La conception du circuit lui assure une importante autonomie de fonctionnement permettant, malgré des absences de surveillance ou d'entretien pendant plusieurs semaines, d'assurer la survie des espèces maintenues en captivité. A ce sujet, un certain nombre d'avantages méritent d'être soulignés :

— *désamorçage des pompes impossible* : la position des deux pompes (eau douce et eau de mer) en dessous du niveau des liquides qu'elles doivent déplacer, rend tout désamorçage impossible, même en cas de coupure plus ou moins longue du courant électrique. Les interruptions de courant enregistrées n'ont jamais remis en cause le fonctionnement du circuit : dès le rétablissement du courant, les deux pompes se remettent en marche ainsi que les compresseurs d'air qui assurent l'oxygénation.

— *vidange des "tiroirs de rangement" et des bacs supérieurs (plan 3) impossible* : en cas d'arrêt du circuit (coupure de courant ou panne toujours possible de la pompe d'eau de mer), ni les 8 bacs d'élevage (*tiroirs de rangement*), ni les deux bacs supérieurs ne peuvent se vider de leur eau. La position des orifices

de sortie de l'eau de mer, à la partie supérieure de ces récipients, interdit une telle éventualité. Seule la circulation de l'eau de mer dans le circuit est momentanément interrompue (stagnation de l'eau dans les différents bacs), ce qui n'est pas immédiatement préjudiciable aux animaux puisque l'oxygénation de l'eau des bacs reste assurée.

— *débordements des "tiroirs de rangement" et des bacs supérieurs improbables et pertes d'eau impossibles* : les *surverses* installées dans les bacs supérieurs, la surface accrue des filtres aux orifices de sortie de l'eau des *tiroirs de rangement* rendent improbables les débordements. Si ceux-ci se produisent, les *bacs de débordement* qui collectent l'eau et la ramène directement à la pompe, interdisent le désamorçage de celle-ci, donc l'arrêt de la climatisation du circuit.

3.1.2. — Entretien

Les tâches d'entretien se limitent au décolmatage des filtres de sortie des 8 bacs d'élevage et des 2 bacs supérieurs. Avant d'être nettoyés, ces filtres sont observés à la loupe binoculaire, afin d'y récupérer certains spécimens qui y élisent domicile. Les Diatomées qui se développent sur les parois des bacs supérieurs surtout, sont broûtées au fur et à mesure de leur développement, par des Prosobranches comme les Gibbules, placés à cette fin dans les bacs. Si le nettoyage complet de l'un des bacs s'impose, chacun d'eux peut être retiré du circuit et nettoyé à grande eau, sans qu'il soit nécessaire d'interrompre le fonctionnement du système.

3.1.3. — Observation des animaux

Les petites espèces méiobenthiques qui sont l'objet essentiel de nos recherches, sont observées directement, soit en retirant du circuit, sans pour autant l'arrêter, le bac d'élevage (*tiroir de rangement*) renfermant les animaux, soit en prenant dans l'un des *tiroirs* les petites boîtes en plastique renfermant le sable et les animaux, l'ensemble étant alors placé dans des boîtes de Pétri avant d'être observé à la loupe binoculaire.

3.1.4. — Stabilité de la température et de la salinité de l'eau de mer du circuit

Le volume relativement important d'eau de mer (environ 175 litres dans le système définitif) refroidie par environ 250 litres d'eau douce renfermée dans un *container frigorifique* permet une remarquable stabilité de la température sous le contrôle du *thermomètre de contact* plongé dans l'eau de mer. Ces masses d'eau, 425 litres en tout, opposent aux variations de température du laboratoire, une inertie thermique très grande : les diminutions nocturnes de la température du laboratoire en-dessous de la température imposée par le réglage du *cryoéchangeur* (17°C) sont sans effet sur la température de l'eau du circuit qui accuse une diminution égale à 1/2°C. Cette éventualité s'est présentée en novembre 1971, lors de l'interruption pendant plusieurs jours, du chauffage central dans les laboratoires.

La salinité varie dans des proportions négligeables, chaque récipient composant le circuit étant rigoureusement fermé par un couvercle. D'ailleurs, les réserves d'eau de mer filtrée, accumulées au laboratoire et stockées dans des bouteilles en plastique hermétiquement fermées, permettent de renouveler partiellement une fois par semaine l'eau du circuit. Cette opération est très simple, l'eau de mer étant introduite dans le circuit sans vidange préalable, par l'intermédiaire des *tiroirs*. La *surverse* des bacs inférieurs (plan 1) entre alors en action pour éliminer l'eau en excès dans le circuit et qui se déverse en dehors du *container frigorifique*. Cette façon de faire permet de maintenir la salinité au taux normal de 38 ‰.

3.2. — Durées de survie observées depuis août 1971

Les durées de survie sont très inégales pour les différentes espèces placées dans des conditions identiques (tableau 2). Si les paramètres physico-chimiques de l'eau de mer du circuit (température, salinité, pH, etc.) sont convenables, le problème de la nourriture des animaux reste entier pour la plupart des petites espèces épiphytes (*Doto coronata*, *Capellinia exigua*, etc.), des espèces moyennes épibiontes (*Flabellina affinis*, *Hervia costai*, etc.), et enfin des petites espèces méiobenthiques (*Pseudovermis papillifer*, *Embletonia pulchra*) qui se nourrissent d'hydrides méiobenthiques.

Seules, survivent dans le circuit fermé, les espèces trouvant dans ce milieu artificiel, une nourriture adéquate et suffisante : *Hedylopsis suecica* qui se nourrit de petits détritiques et broûte les Diatomées fixées aux grains de sable (Odhner, 1938, 1952), *Elysia viridis* qui ne quitte pas les *Codium* dont elle se nourrit (25 spécimens en vie depuis le 22/08/1971), *Peltodoris atromaculata* (4 spécimens en vie depuis août 1971) dont la survie n'avait jamais dépassé quelques jours à un mois lors de tentatives précédemment faites et

TABLEAU 2

Animaux en élevage dans le circuit fermé, en eau de mer réfrigérée par un système de "bain-marie inversé".

Dimensions des Opisthobranches :	Espèces maintenues en captivité dans le circuit fermé :	ÉCOLOGIE	Lieux de prélèvement : <i>Golfe de Marseille</i> (Pomègues, Riou, Jarre, If, Ratonneau, Frioul, Plateau des Chèvres), <i>Île de Port-Cros</i> , Var.	Date de mise en aquarium et nombre de spécimens :		Date approximative et nombre de disparitions (mort)		Nombre de survivants et de jours de survie :		Nourriture d'après Odhner (O.), Haefelfinger (H.), Vicente (V.) et Naville (N.)
				Date	Nombre de spécimens	Date	Nombre de morts :	Survivants	Nombre de jours	
OPISTHOBANCHES DE PETITES DIMENSIONS (dimensions inférieures au cm)	<i>Hedylopsis suecica</i>	MEIOBENTHIQUES	passe Plane-Riou île Jarre passe Plane-Riou Plateau des Chèvres	23/08/71	12	?	5	7	en vie	Diatomées (O.)
				23/08/71	1	03/09/71	1	0	11	
				09/09/71	26	?	6	20	en vie	
	<i>Hedylopsis spiculifera</i>		passe Plane-Riou passe If-Ratonneau Plateau des Chèvres	09/09/71	2	-	0	2	en vie	?
				09/09/71	1	08/10/71	1	0	30	
	<i>Philitoglossa helgolandica</i>		passe Plane-Riou passe Plane-Riou	23/08/71	3	05/09/71	3	0	13	?
				02/10/71	1	20/10/71	1	0	18	
	<i>Embletonia pulchra</i>		passe Plane-Riou passe If-Ratonneau passe Plane-Riou Plateau des Chèvres passe If-Ratonneau	09/09/71	11	04/10/71	11	0	25	Cnidaires méiobenthiques (N.)
				09/09/71	7	03/11/71	7	0	55	
				02/10/71	3	03/11/71	3	0	30	
				02/10/71	4	03/11/71	4	0	30	
				02/10/71	11	03/11/71	11	0	30	
	<i>Pseudovermis</i> sp.		passe Plane-Riou passe Plane-Riou	09/09/71	1	19/09/71	1	0	10	Cnidaires méiobenthiques
23/08/71		1		10/09/71	1	0	18			
<i>Philine catena</i>	passe Plane-Riou passe Plane-Riou passe If-Ratonneau passe Plane-Riou Plateau des Chèvres passe If-Ratonneau	23/08/71	16	?	14	2	en vie	Carnivore (V.)		
		09/09/71	24	?	17	7	en vie			
		09/09/71	37	?	37	0	25			
		02/10/71	3	?	2	1	en vie			
		02/10/71	11	?	11	0	20			
<i>Elysia viridis</i>	île Riou îles du Frioul	23/08/71	25	-	0	25	en vie	<i>Codium tomentosum</i> (H.) (V.)		
		01/12/71	54	-	0	54	en vie			
		02/10/71	1	25/10/71	1	0	23			
		09/09/71	1	10/10/71	1	0	30			
<i>Polycera quadrilineata</i>	Plateau des Chèvres	02/10/71	1	25/10/71	1	0	23	?		
		09/09/71	1	10/10/71	1	0	30	?		
		09/09/71	1	09/10/71	1	0	35	?		
02/10/71	1	09/10/71	1	0	15					
<i>Doto coronata</i>	passe If-Ratonneau	09/09/71	1	10/10/71	1	0	30	?		
<i>Capellinia exigua</i>	passe Plane-Riou passe Plane-Riou Plateau des Chèvres	09/09/71	1	09/10/71	1	0	35	?		
		02/10/71	1	09/10/71	1	0	15			
		02/10/71	3	20/10/71	3	0	15			
OPISTHOBANCHES DE MOYENNES DIMENSIONS (de 1 cm à 6 cm en extension)	<i>Facalina drummondii</i> <i>Berghia coerulescens</i> <i>Hervia costai</i> <i>Placida dendritica</i> <i>Peltodoris atromaculata</i> <i>Flabellina affinis</i> <i>Berthella elongata</i> <i>Trinchesta coerulæa</i>	EPIPHYTES, EPIBIONTES, ETC.	Plateau des Chèvres	02/10/71	1	?	1	0	30	?
				02/10/71	1	?	1	0	30	?
				02/10/71	1	?	0	1	en vie	<i>Eudendrium ramosum</i> (V.)
				23/08/71	1	?	1	0	60	<i>Bryopsis plumosa</i> (H.)
				23/08/71	3	-	0	3	en vie	<i>Petrosia dura</i> (V.)
				19/09/71	4	?	3	1	en vie	
				24/11/71	4	-	0	4	en vie	
				23/08/71	10	?	7	3	en vie	<i>Eudendrium ramosum</i> (H.) (V.)
				23/08/71	1	-	0	1	en vie	?
24/11/71	2	-	1	1	en vie	Algues côtières et <i>Eudendrium racemosum</i> (V.)				

dont la nourriture est à base du spongiaire *Petrosia dura* (Vicente, 1967) absent d'ailleurs de notre circuit fermé. Dès le 02/12/1971, nous notons l'accouplement de deux *Peltodoris*, les animaux restant tête bêche, reliés l'un à l'autre par leur partie antérieure droite, pendant une dizaine d'heures. L'espèce *Berthella elongata* (unique spécimen) survit depuis la date de sa récolte à l'île Plane (Est de Marseille) le 23/08/1971, et ne semble pas incommodée par sa captivité, bien que la nature de sa nutrition qui semble se faire normalement, nous échappe totalement pour l'instant ; l'animal reste caché tout le jour sous un bloc concrétionné placé dans l'un des bacs supérieurs du circuit ; nous l'avons surpris à plusieurs reprises, le soir,

en allumant brusquement la lumière, en dehors de son refuge qu'il quitte apparemment pour se nourrir d'un aliment pour poissons d'aquarium et appelé commercialement *Infusyl*; ce produit est un bouillon de culture séché à base d'infusoires. D'ailleurs, les *Peltodoris* semblent utiliser également cet aliment sur lequel elles se tiennent de longues minutes, presque chaque jour.

Ajoutons enfin, que certaines espèces qui avaient bien survécu avec la première technique (bacs en eau stagnante), *Philine catena* par exemple, n'ont pas pour la majorité d'entre elles dépassé 25 jours de survie dans le circuit (tableau 2). Toutefois, il paraît utile de préciser à ce sujet, que la majorité des individus disparus étaient de jeunes spécimens prélevés d'ailleurs dans un milieu pollué, la passe If-Ratonneau, à l'intérieur du golfe de Marseille (Poizat, 1971). En conséquence, il semble bien que la majorité des *Philine catena*, plongées brusquement dans un milieu pauvre en matières organiques, l'eau filtrée du circuit, soient mortes de malnutrition. La mortalité des *Philine catena* récoltées dans d'autres zones lessivées donc pauvres en matières organiques, a été beaucoup plus faible (tableau 2). Tel est le cas des animaux prélevés dans la passe Plane-Riou, à l'Est de Marseille et dont les fonds sont balayés par des courants permanents (Poizat, 1971).

3.3. — Survie d'autres animaux placés à titre d'essai dans le circuit

Des Echinodermes (Ophiures, Echinides, Astérides), des Pélécytopodes (*Cardium*, *Venus*, *Tellina*, etc.), des Gastéropodes Prosobranches (*Nassa*, *Cerithium*, *Gibbula*, etc.), des Crustacés Décapodes (Pagures) récoltés isolément ou dans les sables en même temps que les Opisthobranthes méiobenthiques, sont en vie dans le circuit, certains depuis le mois d'août 1971. Des Echinodermes (*Psammechinus*) prélevés en août 1971 ont montré une croissance très sensible.

3.4. — Difficultés d'obtention d'un cycle complet de développement des Opisthobranthes et perspectives d'élevage

L'élevage des Opisthobranthes "de génération en génération, afin d'avoir toujours un stock de matériel permettant l'expérimentation" est "une difficulté que personne, à ma connaissance, n'a réussi jusqu'à ce jour à surmonter" (Tardy, 1969). En effet, "la très grande majorité des Opisthobranthes donne naissance à des véligères à existence planctonique et trophique de plusieurs semaines" (Tardy, 1969). Ce fait a été également souligné par Vicente (1967) élevant des larves d'*Aplysia* et d'*Haminaea*.

Nos tentatives d'élevage effectuées depuis novembre 1970 ont confirmé ces perspectives pessimistes : mort des Opisthobranthes adultes dont la nourriture nous est inconnue ou qu'il nous est difficile d'avoir en quantité suffisante et de façon permanente, prédation des pontes de Mollusques Opisthobranthes dans l'aquarium par des Infusoires, des Copépodes, etc, mort des trochophores de *Glossodoris valenciennesi* que nous conservions depuis plusieurs semaines, par manque d'une nourriture adéquate, etc.

Cependant, la survie à plus de 80 % de quelques petites espèces (*Elysia viridis*, *Hedylopsis suecica*) sur lesquelles nous concentrons nos efforts, permet d'envisager prochainement pour elles, un début de réussite : utilisation d'antibiotiques (Lagarde *et al.*, 1967), filtration et stérilisation de l'eau de mer par rayons ultra-violet (Herald *et al.*, 1962) avant introduction dans le circuit, pour lutter contre les Infusoires et autres prédateurs des pontes, nourriture des larves grâce à divers produits déjà essayés avec succès pour d'autres animaux à stades larvaires planctoniques (Guérin, 1970), ou bien grâce à des matières organiques dissoutes (Stephens, 1967, 1968), suppression de la cartouche filtrante de la pompe grâce à l'ensemble des précautions précédentes, de manière à laisser toute liberté dans le circuit, aux larves devenues planctoniques ; cette filtration n'apparaît pas indispensable, compte tenu du volume relativement très grand d'eau de mer (175 litres) en comparaison de la taille minuscule des Opisthobranthes méiobenthiques et des risques d'auto-pollution quasiment nuls qu'ils représentent.

CONCLUSIONS

Les tentatives d'élevage effectuées dans le cadre d'une étude des Mollusques Gastéropodes Opisthobranthes méiobenthiques et autres petits Opisthobranthes ont fourni les premiers résultats suivants.

1. — Un aquarium en circuit fermé, d'une capacité de 175 litres d'eau de mer, adapté à la taille réduite des Opisthobranthes étudiés, a été mis au point. Ce circuit, d'une grande sécurité et autonomie de fonctionnement vue sa simplicité, permet déjà de maintenir en vie pendant de longues périodes, quelques

espèces petites et moyennes. L'eau de mer du système est climatisée par l'intermédiaire d'un circuit d'eau douce (250 litres) lui-même refroidi par un appareil désigné commercialement sous le nom de *cryo-échangeur*. Les récipients et la pompe du circuit d'eau de mer baignent dans le circuit d'eau douce et pour cela, on peut parler de refroidissement par *bain-marie inversé*. L'ensemble est disposé dans une pièce fermée, bien éclairée et chauffée. De la sorte, une bonne stabilisation de température de l'eau de mer à $17^{\circ}\text{C} \pm 1/2^{\circ}\text{C}$. La salinité ne varie presque pas, les différents récipients du circuit étant clos. Elle est réajustée chaque semaine par adjonction d'eau de mer stockée en grande quantité au laboratoire dans des bouteilles en plastique fermées hermétiquement et conservées au frais. Le circuit ne comporte aucune partie métallique pouvant entrer en contact avec l'eau de mer.

2. — Un certain nombre d'Opisthobranche de petites dimensions (*Hedylopsis suecica*, *Elysia viridis*) et de moyennes dimensions (*Peltdoris atromaculata*, *Berthella elongata*) sont en vie dans le circuit depuis plusieurs mois. L'étonnante vitalité de ces animaux, malgré leur captivité, laisse penser que leur nutrition s'effectue normalement, à partir des algues (*Codium*), des hydrides et d'aliments divers pour alevins que nous introduisons dans les bacs d'élevage. Ceci nous permet d'envisager pour eux, un véritable élevage malgré leur reproduction par l'intermédiaire d'un stade larvaire planctonique.

REFERENCES

- Arnold Z.M., 1966. A laboratory system for maintaining small volume culture of Foraminifera and other organisms. *Micropaleontology*, USA, 12(1) : 109-118.
- Bernhard M., Zattera A., Filesi P., 1966. Suitability of various substances for use in the culture of marine organisms. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, 35 : 89-104.
- Bernhard M., Zattera A., 1970. The importance of avoiding chemical contamination for a successful cultivation of marine organisms. *Helgoländer wiss. Meeresunters*, 20 : 655-75.
- Cazaux C., 1970. Recherches sur l'écologie et le développement larvaires des Polychètes de la région d'Arcachon. *Thèse ès Sciences, Fac. Sciences Université de Bordeaux* (Juin 1970) : 355 pp.
- Galtsoff P.S., 1959. General methods of collecting, maintaining and rearing marine Invertebrates in the laboratory. *Culture Methods for Invertebrate Animals*, Dover Publications, New-York : 590 pp.
- Goldizen V.C., 1970. Management of closed-system marine aquariums. *Helgoländer wiss. Meeresunters*, 20 : 637-641.
- Guérin J.P., 1970. Utilisation de nourritures artificielles pour l'élevage de jeunes stades d'invertébrés benthiques. *Théthys*, 2(3) : 557-566.
- Herald E.S., Dempster R.P., Wolters C., Hunt M.L., 1962. Filtration and ultraviolet sterilization of sea-water in large-closed and semi-closed aquarium systems. *Bull. Inst. océanogr.*, Monaco, N° spécial 1 B : 49-62.
- Haefelfinger H.R., 1960. Catalogue des Opisthobranche de la rade de Villefranche-sur-Mer et ses environs. *Rev. suisse Zool.* 67(27) : 323-351.
- Lagarde E., Arnold Z.M., 1967. Utilisation des antibiotiques dans la réalisation des cultures de Foraminifères sous faible volume. I. — Etude de l'action des antibiotiques sur les microflores hétérotrophes marines. II. — Application à la technique des cultures de Foraminifères. *Vie et Milieu*, 18(1.A) : 27-45.
- Lickey M.E., Emigh R.L., Randle F.R., 1970. A recirculating sea-water aquarium system for inland laboratories. *Mar. Biol.*, 7(2) : 149-152.
- Magagnini G., 1964. Elevage au laboratoire d'une espèce mésopsammique : *Nerilla antennata* O. Schmidt (Archannelida Nerillidae). *Cah. Biol. mar.*, 5(4) : 405-409.
- Naville A., 1925. Sur la présence d'une *Embletonia*, Mollusque Nudibranche, dans le canal de Caen à la mer. *C.R. Acad. Sci.*, 181 (21) : 812-813.
- Odhner N.Hj., 1938. Observations on *Hedylopsis suecica* Odhner. *Proc. malac. Soc. Lond.*, 23 (4) : 231-235.
- 1952. Petits Opisthobranche peu connus de la côte méditerranéenne de France. *Vie et Milieu*, 3(2) : 136-147.

- Poizat C., 1971. Etude préliminaire des Opisthobranches de quelques sables marins des parages de Marseille. *Téthys*, 4(1) (sous presse).
- Robertson D.E., 1968. Role of contamination in trace element analysis of sea-water. *Analyt. Chim.* 40 : 1067-1072.
- Stephens G.C., 1967. Dissolved organic material as a nutritional source for marine and estuarine invertebrates. *Amer. Ass. Advanc. Sci. Publ.*, 83 : 367-373.
- 1968. Dissolved organic matter as a potential source of nutrition for marine organisms. *Am. Zool.*, 8(1) : 95-106.
- Tardy J., 1969. Contribution à l'étude des métamorphoses chez les Nudibranches. *Thèse ès Sciences Fac. Sci. Univ. Poitiers* (4 juillet 1969) : 62 pp.
- Thompson T.E., 1968. Experiments with molluscs on the shore and in a laboratory tide-model. *School Science Review*, 170 : 4-6.
- Thun W. (von), 1966. Eine Methode zur Kultivierung der Mikrofauna. *Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerhaven*, vol. spec. 2 : 277-280.
- Vicente N., 1967. Contribution à l'étude des Gastéropodes Opisthobranches. I. Systématique, Ecologie, Biologie. *Rec. Trav. St. mar. Endoume*, 58 (Bull. 42) : 134-179.

REMERCIEMENTS

Avant de clore ce mémoire, je tiens à remercier sincèrement Monsieur le Professeur N. Vicente, qui, malgré les moyens restreints du laboratoire de Biologie Marine, m'a laissé toute latitude financière et m'a fait totalement confiance dans la réalisation de ce circuit, tout en m'aidant par ses suggestions. J'exprime ma sincère gratitude à Monsieur M. Vidal, aide-technique, qui, grâce à sa remarquable habileté et à son dévouement, m'a grandement aidé à réaliser les diverses installations décrites dans cet exposé.

Manuscrit accepté le : 15 décembre 1971.

ADDENDUM

Au moment de la mise sous presse (fin mai 1972), plusieurs points méritent d'être soulignés :

1/ Le circuit fermé décrit, climatisé par un système de "bain-marie inversé", fonctionne sans problème depuis bientôt une année. La température y reste stabilisée à 18°C., le "cryoéchangeur" étant assisté depuis peu, en prévision des températures estivales, par un réfrigérateur classique.

2/ Jusqu'à mars 1972, la majorité des Gastéropodes Opisthobranches placés dans le circuit, ont survécu sans difficulté : le cycle complet de certaines espèces a même été obtenu. Nous avons alors soit fixé, - soit déplacé dans des aquariums analogues, la majorité des espèces, ne maintenant dans le circuit, que deux espèces méiobenthiques : *Hedylopsis suecica* et *Embletonia pulchra* sur lesquelles portent tous nos efforts, afin d'en étudier le cycle biologique.

3/ A ce propos, les *Hedylopsis* sont conservées soit dans leur sable d'origine (sable coquillier grossier), - soit dans un sable artificiel de même granulométrie constitué par des billes de verre (1 mm de diamètre) : la transparence de ces dernières permet de suivre de façon continue et sans nécessité de tri, les animaux colorés par du rouge neutre au moment de leur récolte.

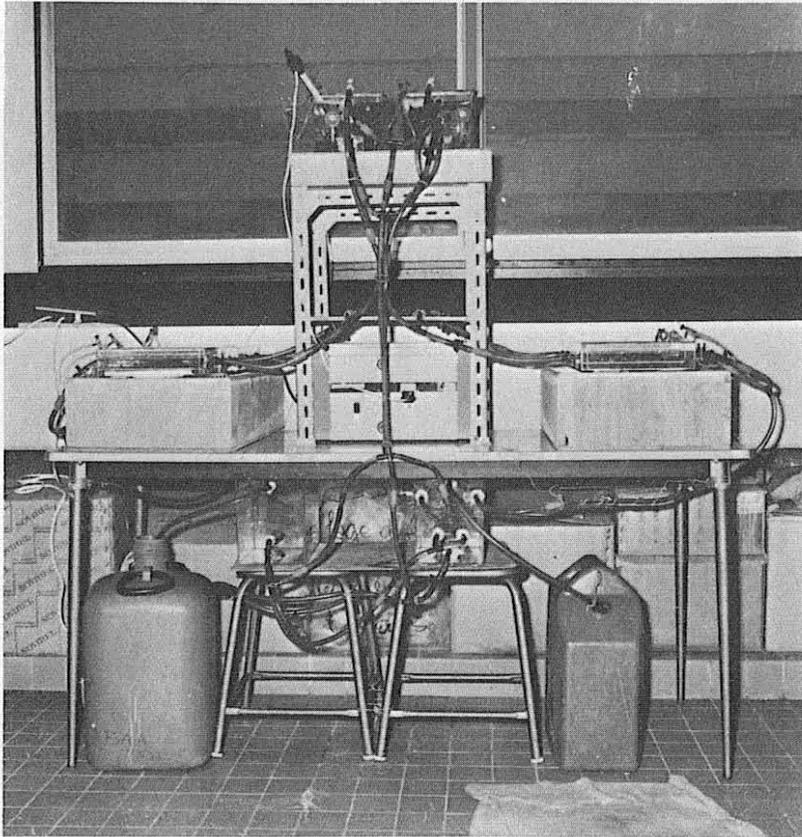


Figure 1 – Circuit à réfrigération "directe" par "cryoéchangeur".

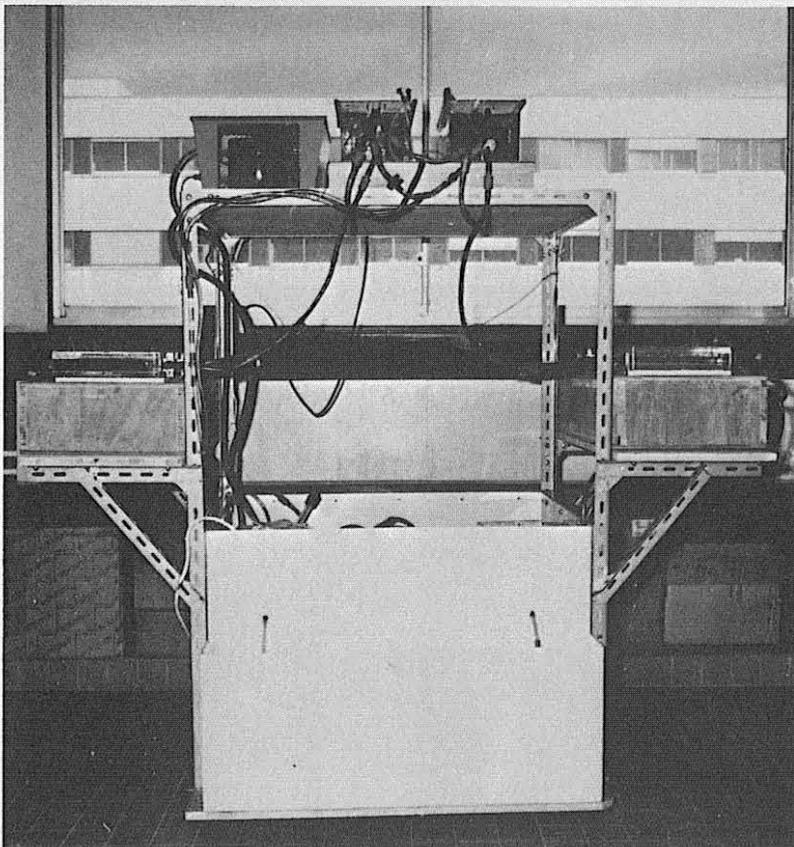


Figure 2 – Circuit en eau de mer réfrigérée par un système de "bain-marie inversé".

Planche 2 - (Photos N. Vicente).

Figure 1 - "*Tiroir de rangement*" en eau stagnante oxygénée par "*sucre diffuseur*".

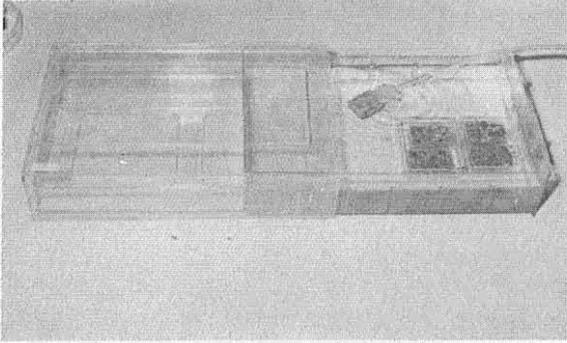
Figure 2 - Vue de l'intérieur du "*container frigorifique*" rempli d'eau douce où baignent les 2 bacs du plan I, la pompe à eau de mer (premier plan) et la pompe à eau douce (deuxième plan).

Figure 3 - Vue plongeante sur le "*cryoéchangeur*" (partie supérieure de la photo) et sur 4 des 8 "*tiroirs de rangement*" sur leur "*bac de débordement*".

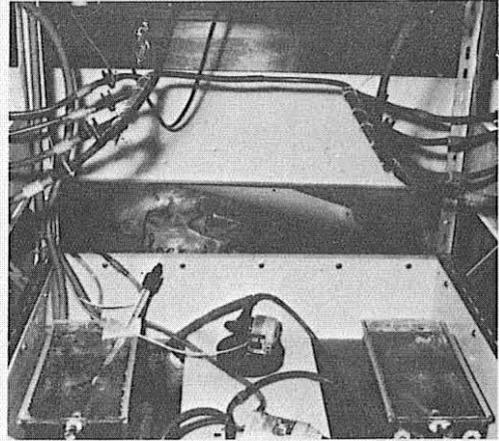
Figure 4 - Vue rapprochée sur 4 des 8 "*tiroirs de rangement*" du circuit, l'un (le "B") étant ouvert, montrant les petites boîtes plastique et leur contenu de sable où vivent les Opisthobranches méiobenthiques.

Figure 5 - Vue des 2 bacs supérieurs et du "*cryoéchangeur*" sur le plan III, et de l'ensemble des conduits d'arrivée et de distribution de l'eau de mer.

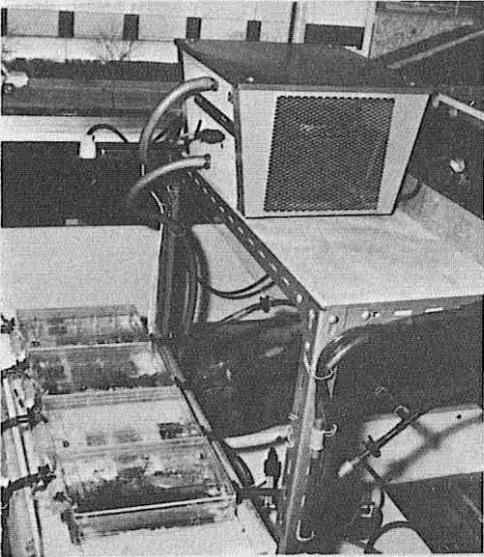
Figure 6 - Vue rapprochée de l'un des 2 bacs supérieurs du plan III, dans le "*bac de débordement*", dans lequel sont visibles quelques individus de *Peltodoris atromaculata*.



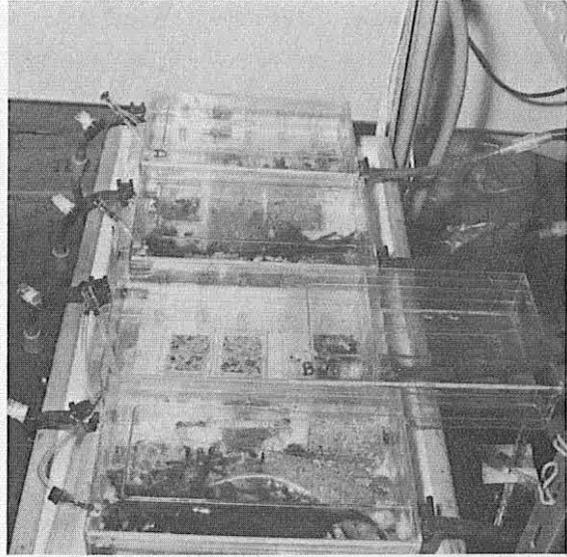
1



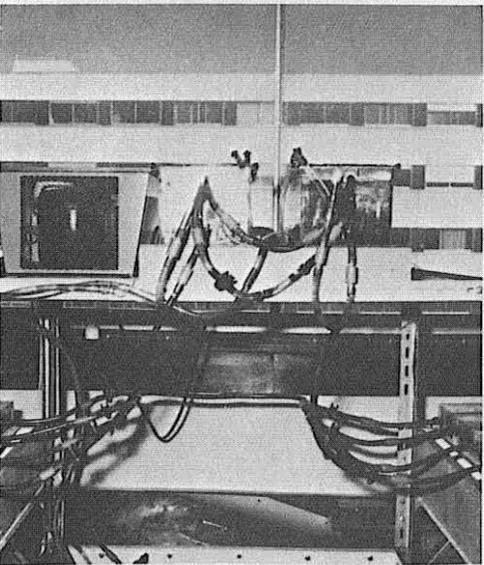
2



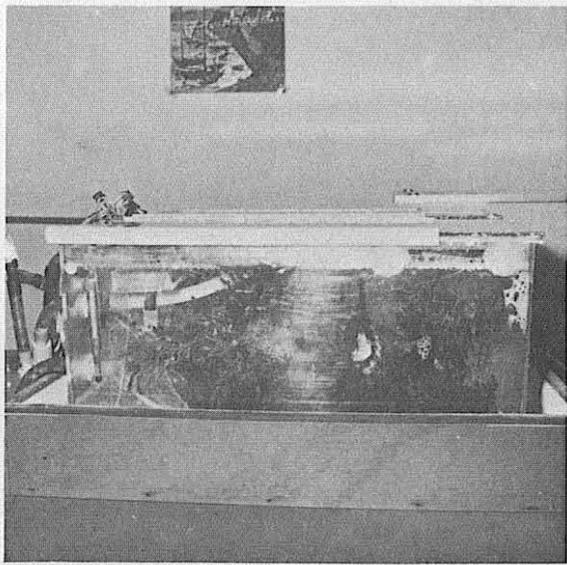
3



4



5



6