

## **Je découvre un *Kaloplocamus ramosus* (Cantraine, 1835). Que puis-je faire ?**

Beaucoup, en fait, car nous savons très peu de choses sur sa façon de vivre et sa biologie. Afin de rentabiliser au maximum votre chance (cette espèce est rarement observée), vos efforts et le spécimen lui-même, il convient d'agir méthodiquement.

Notez que nous sommes également intéressés par des spécimens de *K. acutus* **Baba, 1949** aux fins de comparaison. Cette espèce-ci a été observée dans les Océans Indien et Pacifique.

Le texte qui suit, ou certains de ses paragraphes, pourra paraître superflu aux biologistes et aux naturalistes aguerris. Comme nous souhaitons également encourager la collaboration de plongeurs-naturalistes amateurs, nous préférons fournir trop d'explications plutôt que trop peu.

### **AVERTISSEMENT:**

Vous êtes sensé vous informer préalablement au sujet des lois et réglementations nationales et/ou locales en matière de prélèvements de faune marine sur le site concerné. RBINS(\*), DORIS (\*) et le rédacteur du présent 'Protocole' déclinent toute responsabilité, quelle qu'elle soit, en cas de non-observation des lois et règlements précités.

La liste « A faire » suivante constitue une séquence d'actions idéale. Mais nous serons bien sûr ravis de la réalisation de n'importe quelle partie de cette liste de souhaits.

A chaque étape, notez ce que vous observez, ce que vous faites et ce que vous utilisez: ce ne sera jamais superflu. La "**Fiche de terrain *K. ramosus***", que vous trouverez à la fin de ce 'Protocole', garantit que toutes les informations importantes seront enregistrées sur le terrain même. Elle fait partie intégrante du dossier 'Documentation' que vous nous enverrez avec le spécimen (voir § 6 Documentation).

Si vous envisagez de prélever le spécimen et/ou sa proie, vous aurez besoin de 150 à 200 ml d'une solution d'environ 96% d'éthanol exempt d'additifs. C'est le seul produit de préservation et de conservation qui autorisera les analyses ADN qui sont prévues. Ces analyses pourraient nous permettre, entre autres, d'expliquer la bizarre distribution mondiale de cette espèce et de confirmer s'il s'agit d'une seule espèce très variable ou d'un complexe d'espèces très ressemblantes.

La solution d'éthanol à 96% peut normalement être obtenue en pharmacie si aucun laboratoire voisin ne peut la fournir.

Les autres produits (le formol, par exemple) modifient la structure moléculaire des tissus, ce qui empêche la réussite des analyses d'ADN.

**ATTENTION:** L'éthanol est un produit très inflammable. Tenez-le éloigné de toute flamme ou source de chaleur. Et ne le buvez pas: l'éthanol industriel est toxique.

**ATTENTION:** L'éthanol dissout les pigments chromatiques immédiatement. Parce que les schémas de pigmentation de *K. ramosus*'s peuvent être très variables, il est de la plus haute importance de photographier chaque spécimen avant de l'immerger dans l'éthanol

## **1 – Sur le terrain (en plongée par exemple), lorsque le spécimen est vivant**

1.1 – Observez le comportement du spécimen, mesurez sa longueur ou prenez des repères à l'aide de votre équipement de façon à en déterminer les dimensions plus tard. Notez la profondeur, la température de l'eau, le type d'environnement (crevasse, sous une pierre ou surplomb, à la surface d'un bloc, etc.), si c'est en plongée de jour ou de nuit.

1.2 – Photographiez le spécimen sous eau dans son environnement sous différents angles ainsi que le dit environnement. Il est souhaitable de prendre plusieurs photos de près et à haute résolution (5 à 10 Megapixels). Ensuite récoltez-le si vous y êtes autorisé.

1.3 – Si le spécimen était occupé à se nourrir (ses proies habituelles sont des bryozoaires arborescents), photographiez et prélevez cette proie pour identification ultérieure par un spécialiste familier de la faune locale.

## **2 – A la maison ou au laboratoire, lorsque le spécimen est vivant**

2.01 – Déposez le spécimen dans un petit aquarium ou un conteneur transparent rempli d'eau de mer. Notez la date et l'heure. Lorsqu'il est détendu de façon naturelle, mesurez-le à nouveau et reprenez quelques photos sous différents angles. Pour quelques unes, posez une échelle centimétrique à côté de l'animal ou sous le conteneur.

2.02 – Si vous l'aviez observé occupé à se nourrir et que vous avez récolté sa proie, déposez-la dans l'aquarium/conteneur avec le spécimen, observez et notez ce qui se passe. Si le spécimen s'en nourrit, prenez-en des photos.

2.03 – Si possible, gardez-le vivant quelques jours et essayez de photographier sa sole pédieuse (la face inférieure du pied) lorsqu'il rampe sur les parois de l'aquarium/conteneur.

2.04 – La nuit (ou dans l'obscurité) 'agacez-le' doucement avec une petite tige en plastique, en verre ou en bois (cure-dents). Avec un peu de chance il émettra de courts flashes de lumière bleutée. Si votre appareil peut photographier en rafales, essayez d'enregistrer cette bio-luminescence. Ou bien utilisez une caméra video. L'appareil devrait être prêt à l'emploi avant le début des 'agacements'. Notez le nombre de flashes par série et la durée de ces dernières.

2.05 – Si le spécimen dépose un ruban de ponte (les nudibranches le font souvent lorsqu'ils sont stressés par leur capture), notez la date et l'heure. Prenez-en des photos aussi proches et nettes que possible : vues d'ensemble et de détail sous divers angles, quelques unes avec une échelle centimétrique à leur côté ou par dessous. Mesurez le diamètre de la spirale, la longueur et l'épaisseur du ruban.

2.06 – Si vous disposez d'une loupe binoculaire (grossissements x5 to x30 or x40), détachez prudemment le ruban du support et déposez-le dans un petit récipient plat et transparent. Prenez des photos des capsules d'oeufs au travers de l'oculaire, sous divers grossissements (notez ces derniers pour chaque photo). Un petit appareil numérique convient fort bien. Si possible, mesurez la longueur et le diamètre de quelques capsules prises au hasard : au moins 10, de préférence 20.

2.07 – S'il y a plusieurs oeufs par capsule, comptez-les dans quelques capsules prises au hasard : au moins 10, de préférence 20.

2.08 – Estimez le nombre de capsules contenues dans le ruban de la façon suivante :

- i) comptez leur nombre dans une section de 1 mm de ruban ;
- ii) multipliez ce nombre par la longueur du ruban.

2.09 – Si vous observez l'éclosion de larves (depuis 1 à plusieurs jours après la ponte), notez la date et l'heure. Notez aussi si ces larves sont nageuses ou si elles rampent immédiatement sur le fond du récipient. Ensuite mesurez-les (longueur et largeur) et prenez quelques photos en notant les grossissements.

2.10 – Ensuite, rincez le ruban avec un peu d'éthanol et déposez-le dans un petit flacon très propre à fermeture hermétique, préalablement rincé à l'éthanol. Immergez-le complètement et ajoutez une étiquette (voir § 5 – Etiquetage). Ce flacon sera joint à celui du spécimen lors de son envoi. Ceci est très important car, à ce jour, personne ne connaît le type de développement larvaire de cette espèce et le diamètre des capsules peut fournir un indice. Ceci pourrait aider à comprendre son schéma de dispersion mondiale.

2.11 – Si la proie présumée a été récoltée (bryzoaire arborescent), photographiez-la de près et si possible sous loupe binoculaire (x5 à x30 ou x40). Notez les grossissements pour chaque photo. Déposez-la ensuite dans un petit flacon très propre à fermeture hermétique, préalablement rincé à l'éthanol. Immergez-la complètement et ajoutez une étiquette (voir § 5 – Etiquetage). Ce flacon sera joint à celui du spécimen lors de son envoi afin de permettre l'identification ultérieure par un spécialiste familier de la faune locale.. Ceci est également très important car, à ce jour, personne ne connaît les proies de *K. ramosus* (ou de *K. acutus*) hors de Méditerranée ou du Golfe de Gascogne (Europe).

## **3 – Lorsque le spécimen est mort**

Dès que les étapes ci-dessus ont été réalisées, il nous faut préserver le spécimen en vue des futurs examens morphologique et anatomique ainsi que de l'analyse de son ADN.

Ceci nécessite l'emploi d'une solution d'éthanol à 96% exempte d'additifs. Elle peut normalement être achetée en pharmacie si aucun laboratoire proche ne peut la fournir.

A ce moment, soit l'animal est déjà mort naturellement, soit il est encore vivant. Dans ce cas il faudra l'anesthésier (voir § 4 – Anesthésie).

Dès que le spécimen est mort et pour éviter sa décomposition, il doit être immédiatement introduit dans un petit flacon très propre à fermeture hermétique, préalablement rincé à l'éthanol. Immergez-le complètement dans l'éthanol et ajoutez une étiquette (voir § 5 – Etiquetage). Le volume d'éthanol devra être égal à 5 fois (de 5 à 10 fois) le volume du spécimen. A ma connaissance, le volume moyen d'un *K. ramosus* est de 3 à 5 ml. Le volume d'éthanol correspondant est d'environ 25 ml. Un flacon de 30 ml (ou plus) conviendra fort bien.

A cause de l'éthanol, le spécimen va dégager de l'eau et ainsi diluer la solution. Il est dès lors très important de remplacer la solution 2 ou 3 fois pendant les premières 24 heures. Cela suffira.

Si l'éthanol n'est pas disponible immédiatement, surgelez le spécimen dans juste assez d'eau de mer pour le couvrir. Dès que l'éthanol est disponible, éliminez autant d'eau que possible lors de la décongélation.

#### **4 – Anesthésie (Narcotisation)**

Si vous devez tuer le spécimen, anesthésiez-le d'abord. C'est plus éthique et il conservera une attitude détendue, ce qui facilitera l'identification et les examens ultérieurs.

4.1 – Si vous disposez de chlorure de magnésium ( $MgCl_2$ ), immergez l'animal dans juste assez d'eau de mer pour bien le couvrir et attendez qu'il se détende complètement. Ensuite ajoutez 10 gouttes d'une solution d'au moins 7 g de  $MgCl_2$  dans 93 g d'eau douce (solution à 7%). Une cuiller à café bien pleine de  $MgCl_2$  dans un peu moins de 1 litre d'eau conviendra. Attendez une heure puis agacez légèrement le spécimen avec une aiguille ou un cure-dents. S'il réagit, ajoutez quelques gouttes, attendez une heure, ... Dès qu'il ne réagit plus, il sera probablement mort. Placez-le alors immédiatement dans un petit flacon très propre à fermeture hermétique, préalablement rincé à l'éthanol. Procédez ensuite comme expliqué au § 3 ci-dessus.

4.2 – Si vous ne disposez pas de chlorure de magnésium ( $MgCl_2$ ), immergez l'animal dans juste assez d'eau de mer pour bien le couvrir et mettez-le dans un réfrigérateur pendant quelques heures jusqu'à ce qu'il soit détendu et engourdi par le froid. Ensuite congelez-le, toujours en eau de mer, pendant une ou deux heures. Puis décongelez-le, rincez-le à l'eau douce et placez-le immédiatement dans un petit flacon très propre à fermeture hermétique, préalablement rincé à l'éthanol. Procédez ensuite comme expliqué au § 3 ci-dessus.

4.3 – En l'absence de  $MgCl_2$  et de congélateur, immergez l'animal dans de l'eau de mer comme ci-dessus et attendez qu'il soit détendu. Puis ajoutez progressivement de petites quantités d'éthanol 96% à l'eau de mer et patientez environ une heure. Agacez-le légèrement avec une aiguille ou un cure-dents. S'il réagit, ajoutez encore quelques gouttes, attendez une heure, ... Dès qu'il ne réagit plus, il sera probablement mort. Placez-le alors immédiatement dans un petit flacon très propre à fermeture hermétique, préalablement rincé à l'éthanol. Procédez ensuite comme expliqué au § 3 ci-dessus.

#### **5 – Etiquetage**

En l'absence d'étiquetage adéquat, un spécimen n'est d'aucune utilité. Il est capital de savoir ce qu'il y a dans le récipient, où et quand il a été prélevé et par qui (si un complément d'information s'avère nécessaire). Insérez l'étiquette dans le récipient.

Utilisez du papier non-acide ou du papier pour photocopies de bonne qualité et un crayon. Si vous n'êtes pas certains de l'absence d'acidité du papier, utilisez ce que vous avez, insérez l'étiquette dans un sachet en plastique et collez ce dernier à l'extérieur du récipient avec de l'adhésif transparent. Soyez généreux avec l'adhésif.

Les notes que vous avez prises ainsi que les références de vos photos seront consignées en détail dans la "**Fiche de terrain *K. ramosus***" (voir le § 6 – Documentation). Ajoutez-y des pages supplémentaires selon les nécessités.

Cela permet de réduire le contenu de l'étiquette à ceci :

- <b>Identifiant de terrain</b> du spécimen : (référence unique sur étiquette, documents associés, photos, etc.)	<b>KR_aaaa_votre nom</b> (aaaa = année) <b>KR_aaaa_votre nom_bryoz</b> ou <b>_ponte</b> selon le cas
- <b>Nom de l'espèce</b>	<b>K. ramosus (Cantraine, 1835)</b> ou <b>K. acutus Baba, 1955</b>
- <b>Date de collecte</b> (au format AAAA-MM-JJ)	
- <b>Localisation</b> (ocean, pays ou île, site de plongée) and/or (geographic coordinates)	voir "Fiche de terrain <i>K. ramosus</i> " pour details
- <b>Profondeur</b> (en mètres)	
- <b>Collecteur</b> (nom complet)	<b>Coll.:</b> -----
- Si <b>Documents associés</b> (photos, ponte, bryozoa etc.) mentionner ce qui est d'application :	<b>'+ Docs' et/ou 'Photos', 'ponte', bryozoa' etc.</b>

Si vous prélevez plus d'un spécimen sur le même site, ajoutez un 'sous-numéro' différent à l'Identifiant de terrain pour chaque spécimen et les informations (notes, documents, photos) qui lui sont associées.

Si plus d'un spécimen est collecté à la même date mais sur des sites différents, complétez une "**Fiche de terrain *K. ramosus***" par site, chacune avec son propre 'Identifiant de terrain'. Tenez-en compte pour les références de vos notes, photos, etc.

### 6 – Documentation ("**Fiche de terrain *K. ramosus***")

Toutes les informations associées à un spécimen (nom de localité, coordonnées géographiques, profondeur, proie, environnement, mesures, photos, notes diverses, etc.) seront enregistrées dans la "Fiche de terrain *K. ramosus*" ci-dessous.

Mentionnez-y également votre nom, coordonnées personnelles, adresse de courrier électronique (e-mail) ainsi que toute restriction que vous souhaiteriez appliquer à l'usage futur de votre contribution.

Dès que ce document est complété, daté et signé, scannez-le (de préférence) ou photographiez-le page par page en veillant à la netteté des photos. Envoyez alors ce scan ou ces photos, en même temps que toutes les informations (notes, photos, etc.) que vous souhaitez nous transmettre, par courrier électronique aux deux adresses suivantes :

- 1- JEMU (c/o Gontran Sonet / RBINS) – e-mail : gontran.sonet(at)naturalsciences.be
- 2- Alex Vanhaelen – e-mail : Kramosus.project(at)hotmail.com

### 7 – Emballage et expédition

Chaque récipient, bien étanche, doit être emballé soigneusement de façon à éviter toute coulure pendant le transport et être expédié le plus rapidement possible à l'adresse suivante, accompagné d'une copie papier de la « Fiche de terrain » :

Joint Experimental Molecular Unit (JEMU) – *K. ramosus* project  
c/o Gontran Sonet - Operational Division Phylogeny and Taxonomy  
Royal Belgian Institute for Natural Sciences (RBINS)  
Rue Vautier street, 29  
B- 1000 Brussels  
BELGIUM (Europe)

Votre spécimen sera stocké dans un surgélateur à -80° C jusqu'à ce que suffisamment de spécimens soient rassemblés, depuis autant de localités dans le monde que possible, pour permettre une fructueuse étude basée sur son ADN.

Si vous souhaitez en savoir un peu plus au sujet de cette espèce, suivez ces liens:

- DORIS lien : [http://doris.ffessm.fr/fiche2.asp?fiche\\_numero=3812](http://doris.ffessm.fr/fiche2.asp?fiche_numero=3812)
- Sea Slug Forum : <http://www.seaslugforum.net/showall/kaloram>
- Sea Slug Forum : <http://www.seaslugforum.net/showall/kaloacut>

Nous souhaitons vivement vous remercier pour votre aide dans notre tentative de débusquer les secrets de *K. ramosus*.

N.B. Ce document est fortement redevable à Virginie Winant (RMCA) et Gontran Sonet (JEMU/RBINS).

Alex Vanhaelen

Scientific associate  
Royal Belgian Institute for Natural Sciences (RBINS)  
Operational Division Phylogeny and Taxonomy – Malacology section.  
Rue Vautier, 29  
B- 1000 Brussels  
BELGIUM (Europe)  
e-mail: avanhaelen(at)naturalsciences.be  
**e-mail réservé au projet K. ramosus** : Kramosus.project(at)hotmail.com

RBINS : Royal Belgian Institute for Natural Sciences, Brussels, Belgium. ([www.naturalsciences.be](http://www.naturalsciences.be))  
RMCA : Royal Museum for Central Africa, Tervuren, Belgium ([www.africamuseum.be](http://www.africamuseum.be))  
DORIS : Données d'Observations pour la Reconnaissance et l'Identification de la faune et de la flore Subaquatiques. (<http://doris.ffessm.fr/>)

o - o - O - o - o

**"Fiche de terrain *K. ramosus*"**

Un scan ou une photo très nette de ce document doit être envoyé avec le dossier numérisé à  
1- JEMU (c/o Gontran Sonet / RBINS) – e-mail : gontran.sonet(at)naturalsciences.be  
2- Alex Vanhaelen – e-mail : Kramosus.project(at)hotmail.com

**Projet : Kramosus project**

**RBINS n° I.G.:**

**RBINS n° INV.:**

**Identifiant de terrain :**  
(cf. étiquette) (AAAA = année)

**KR\_AAAA\_votre nom** (ou son abréviation) pour le spécimen  
**KR\_AAAA\_votre nom \_spawn** pour sa ponte  
**KR\_AAAA\_votre nom \_bryoz** pour sa proie supposée

Si le specimen est un **K. acutus**:

**KA\_AAAA\_votre nom** (ou son abréviation) pour le spécimen  
etc.

**Collecteur :** (votre nom) :  
votre prénom:  
(ou son équivalent)

-  
-

Adresse postale complète  
(y compris le pays & code postal) :

Adresse électronique (e-mail):

**Données de récolte**

**Date de récolte** (au format AAAA-MM-JJ) :

**Profondeur** (en mètres) :

**Plongée de jour ou de nuit** :

**Localisation** (dénomination officielle/administrative)

**Océan :**

**Mer :**

**Continent :**

**Pays** (nom complet) :

**Pays** (code ISO) :

**Etat ou Province** :

**District** (park, county, lake, river):

**Municipalité** :

**Site exact** (localité précise, y compris le nom du site, la distance et orientation 'boussole' depuis un repère principal repris sur une carte [e.g. ville ou village, sommet de montagne, lac, carrefour, route, etc.] – Toutes les distances doivent être exprimées en unités métriques).

**Coordonnées géographiques** (doivent être exprimées au format "degrés.degrés décimaux". N'oubliez pas de calibrer préalablement votre GPS selon la date par défaut du 'World Geodetic System 1984' (WGS84). Enregistrez les données avec au moins 2 digits après la virgule (ou point décimal) pour une meilleure précision (e.g. 45.837).

Notez que les latitudes « sud » et longitudes « ouest » s'expriment par des nombres décimaux **négatifs**.

**Latitude** (nord-sud)

**Longitude** (est-ouest)

**Ecologie** (toute information relative au site de collecte [e.g. description du biotope, salinité, température de l'eau, nature du substrat, courants, où le spécimen a-t-il été trouvé—sous une pierre, dans un trou ou grotte, etc.]

--

**Données de collecte** (comment le spécimen a-t-il été prélevé et manipulé [méthode & produits] ?)

--

**Taxonomie**

<b>Taxon</b>	<b>Genre :</b>
	<b>espèce :</b>
<b>Auteur</b> (nom, année)	
<b>Identifié par</b> (nom, date)	
<b>Identifié avec</b> (référence de la source) (guide, livre, article, site Internet)	

**Documentation photographique** (référence de la photo: numéro and 'texte' du photographe) [e.g. - n° de la photo\_KR\_nomcollecteur&initiales\_text ] Si nécessaire, établissez une liste séparée, à joindre.)

- - -
-------------

**Divers**

**Ponte associée au spécimen ?** (NON ou OUI + 'Identifiant de terrain' du spécimen) :

**Bryozoa (proie) associé au spécimen ?** (NON ou OUI + 'Identifiant de terrain' du spécimen):

**Autres informations :**

--

**Restrictions à l'utilisation de votre matériel**

(quelles restrictions voulez-vous imposer à l'utilisation de votre matériel ? S'il y en a, indiquez la liste détaillée du matériel concerné et des restrictions que vous y associez.)

--

Date : ----/----/-----

votre signature :