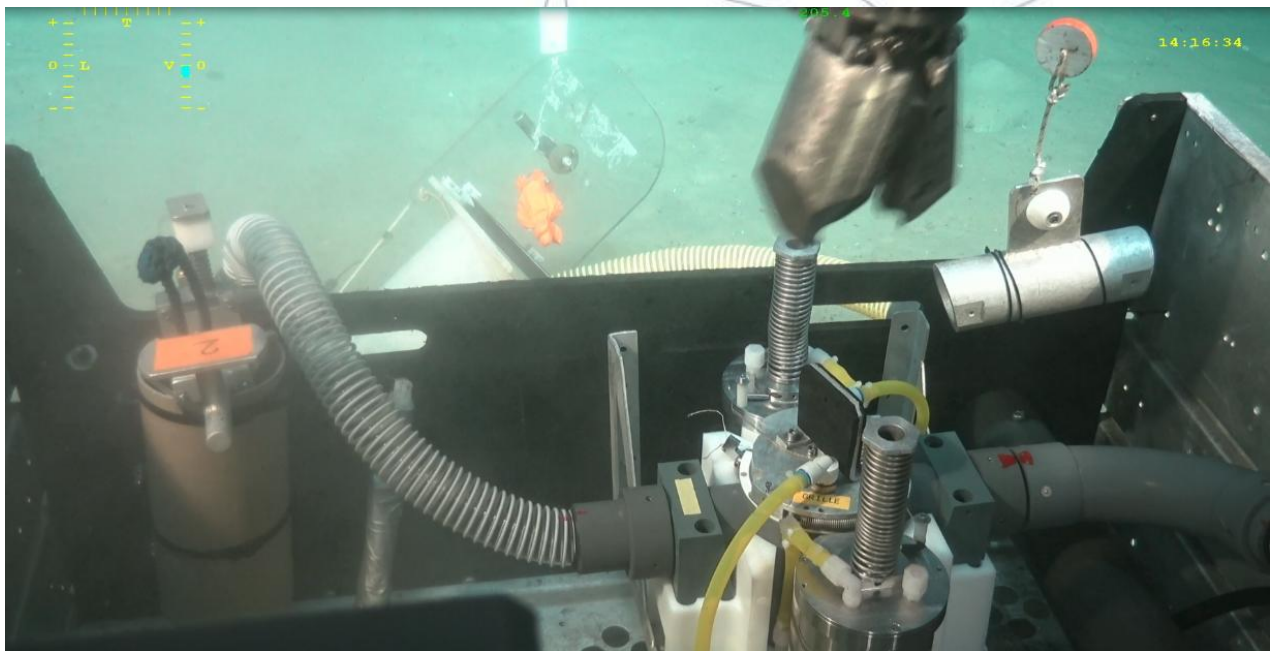




## ESSROV – du 19 au 25 janvier 2019

Tests opérationnels du préleveur FISH sur le ROV Victor 6000 pour la préparation de la mission CHUBACARC





## Fiche documentaire

<b>Titre du rapport : Tests opérationnels du préleveur FISH sur le ROV Victor6000 pour la préparation de la mission CHUBACARC lors des essais ROV du 19 au 25 janvier 2019.</b>	
<b>Référence interne :</b> REM/EEP/LM2E-2019  <b>Diffusion :</b> <input type="checkbox"/> libre (internet)  <input type="checkbox"/> restreinte (intranet) – date de levée d’embargo : AAA/MM/JJ  <input checked="" type="checkbox"/> interdite (confidentielle) – date de levée de confidentialité : 2023-12-31	<b>Date de publication :</b> 2019-01-25  <b>Version :</b> 1.0.0  <b>Référence de l’illustration de couverture</b> Ifremer/préleveur FISH en cours de prélèvement/2019-01-21  <b>Langue(s) :</b> Fr
<b>Résumé/ Abstract :</b> Le préleveur FISH (Fixateur <i>in situ</i> de substrats homogénéisés) a été développé dans le cadre de l’ANR Carnot DEEPECOS. Initialement mis en œuvre par le submersible Nautilie, l’objet des tests était d’adapter ce préleveur pour une utilisation par le ROV Victor 6000 avant son déploiement en conditions réelles lors de la mission CHUBACARC (mars-juin 2019). Deux boîtes de prélèvement ont donc été déployées sur l’engin par 2700m de fond, au Sud-Ouest de Brest. Une seule des boîtes a été percutée au fond avec succès, entraînant de nouvelles modifications à bord.	
<b>Mots-clés/ Key words :</b> FISH, aspirateur à faune, ROV VICTOR6000	
<b>Comment citer ce document :</b>	
<b>Disponibilité des données de la recherche :</b>	
<b>DOI :</b>	

<b>Commanditaire du rapport :</b>	
<b>Nom / référence du contrat :</b>	
<input type="checkbox"/> Rapport intermédiaire (réf. bibliographique : XXX) <input checked="" type="checkbox"/> Rapport définitif	
<b>Projets dans lesquels ce rapport s'inscrit (programme européen, campagne, etc.) :</b>	
<b>Auteur(s) / adresse mail</b>	<b>Affiliation / Direction / Service, laboratoire</b>
Valérie CUEFF-GAUCHARD / vcueff@ifremer.fr	REM/EEP/LM2E
Marie-Anne CAMBON-BONAVITA / macambon@ifremer.fr	REM/EEP/LM2E
Laurent BIGNON / Laurent.Bignon@ifremer.fr	REM/EEP/LEP
<b>Encadrement(s) :</b>	
<b>Destinataire :</b>	
<b>Validé par :</b>	

## Sommaire

### Table des matières

<b>1</b>	<b>Préambule : présentation de la mission et de l'outil .....</b>	<b>7</b>
1.1	Objectifs de la mission ESSROV 2019 .....	7
1.2	Présentation du préleveur FISH.....	7
<b>2</b>	<b>Déploiement du préleveur FISH lors de la plongée 01 .....</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>Analyse de la mise en œuvre des préleveurs FISH sur ESSROV .....</b>	<b>11</b>
3.1	Fonction aspiration.....	11
3.2	Fonction percussion fermeture de la boîte couplée à percussion des bouteilles de fixateur .....	12
3.2.1	Nouveau système de maintien de l'ouverture de la boîte .....	12
3.2.2	Fermeture par actionnement des ressorts.....	13
3.2.3	Percussion des bouteilles de fixateur.....	13
3.3	Fonction homogénéisation.....	13
3.4	Divers .....	14
<b>4</b>	<b>Conclusions .....</b>	<b>15</b>
<b>5</b>	<b>Annexe : Protocole de mise en œuvre de la boîte FISH par le ROV VICTOR 6000 .....</b>	<b>16</b>



# 1 Préambule : présentation de la mission et de l'outil

## 1.1 Objectifs de la mission ESSROV 2019

Le préleveur FISH a été mis en œuvre à plusieurs reprises par le Nautille sur plusieurs missions à la mer : HERMINE en 2017, ESSNAUT en 2017, BICOSE 2 en 2018.

Il convient désormais d'adapter cet outil pour permettre sa mise en œuvre par le ROV Victor 6000. Lors d'essais à Toulon en atelier, en novembre 2018, des adaptations ont été effectuées essentiellement au niveau du panier du ROV Victor pour faciliter la préhension lors de la fonction aspiration. Entre temps, de nouvelles boîtes ont été fabriquées avec un nouveau système de fermeture des bols à valider avant la mise en œuvre en conditions réelles lors de la mission Chubacarc qui aura lieu de fin mars à début juin 2019.

L'objectif de ces essais étaient donc de valider la mise en œuvre du préleveur FISH par le ROV Victor et de valider les modifications opérées.

## 1.2 Présentation du préleveur FISH

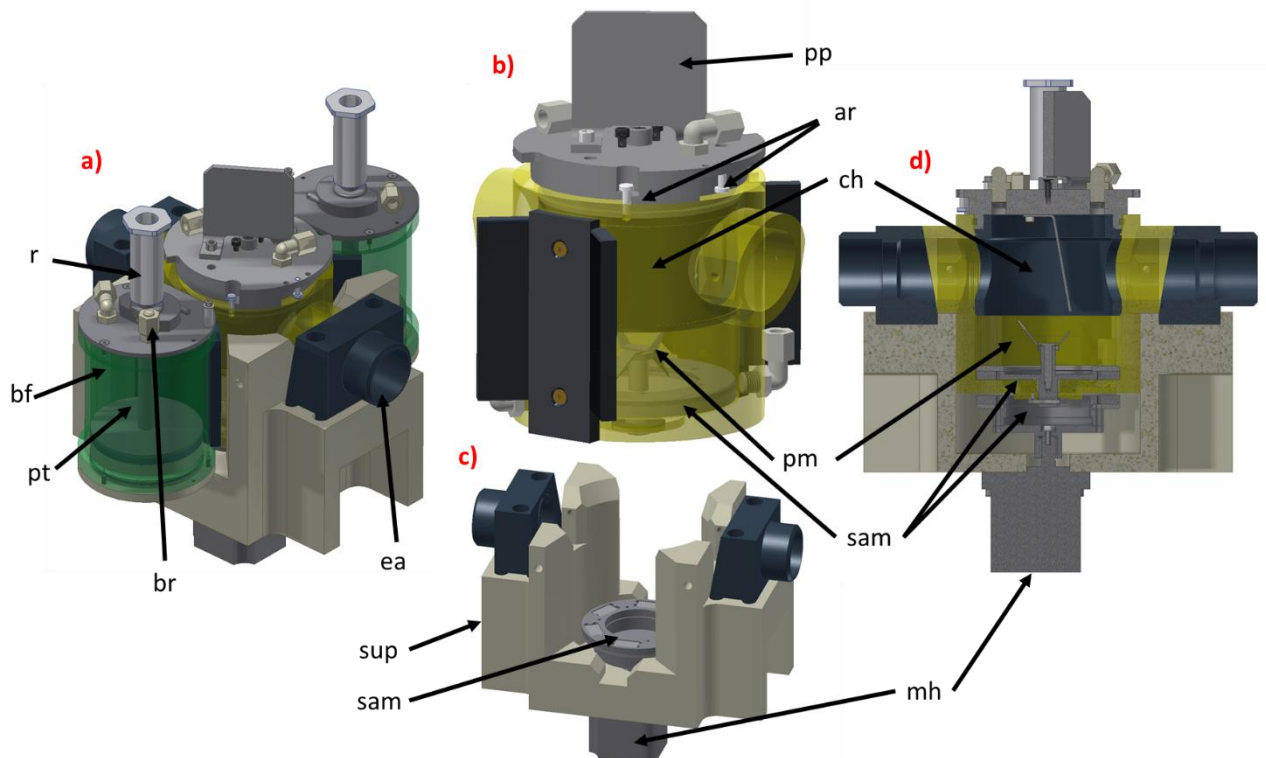
Le préleveur FISH combine plusieurs fonctions :

- ✓ Système permettant de prélever de la faune mobile à l'intérieur d'une boîte pouvant ensuite se fermer de façon étanche ;
- ✓ Injection de différents fixateurs chimiques possibles dans la boîte venant remplacer l'eau de mer prélevée avec les animaux ;
- ✓ Mixage pour homogénéiser le fixateur et blesser les chairs animales afin de permettre une bonne imprégnation des tissus animaux tout en maintenant l'état intègre des tissus.
- ✓ Remplacement de la boîte de prélèvement en cours de plongée par une 2<sup>ème</sup> boîte de prélèvement.

Le préleveur FISH est donc composé de :

- ✓ un support (Figure 1c) à poste dans le panier du sous-marin équipé d'un moteur hydraulique relié d'une part au sous-marin, et d'autre part à un système d'entraînement magnétique, pour la fonction de broyeur. Ce support est par ailleurs relié en entrée à un tuyau de prélèvement avec un embout et en sortie aux bols de l'aspirateur à faune ;
- ✓ un bol de prélèvement démontable (Figure 1b) équipé de :
  - un couvercle rotatif qui permet l'étanchéité du bol une fois actionnée sa fermeture grâce à des ressorts entraînés par l'enlèvement d'une goupille.
  - lames de mixeur
  - des aimants reliés aux lames de mixeur qui forment un accouplement magnétique avec le support relié au moteur hydraulique pour la fonction de broyeur. Ce système d'accouplement magnétique permet d'échanger 2 bols de prélèvement en cours de plongée pour faire plusieurs prélèvements successifs dans la même plongée.
- ✓ 2 bouteilles en inox remplies de différents types de fixateur chimiques possibles, accolées à la boîte de prélèvement, avec un transfert complet dans le bol de prélèvement sans mélange avec l'eau de mer de prélèvement, grâce à un système de piston déclenché en action simultanée avec la fermeture du bol de prélèvement. L'injection de fixateur entraîne la mort quasi instantanée des animaux en les fixant dans leur état physiologique naturel ;

- ✓ un raccord droit (by-pass) qui se clipse sur le support à vide pour permettre d'utiliser directement l'aspirateur à faune de l'engin en absence de bol préleveur du FISH.
- ✓ 1 support simple pour une manipulation aisée à la paillasse et pour maintenir la boîte FISH en bonne position dans l'ascenseur de l'engin sous-marin.



**Figure 1 : plans du préleveur FISH**

a) Système complet du préleveur avec son support

b) Bol de prélèvement

c) Support monté dans le panier de l'engin sous-marin

d) Coupe du bol de prélèvement monté sur son support

r : ressort, bf : bouteille de fixateur, pt : piston, br : bouchon de remplissage, ea : embout pour raccord tuyau aspirateur, pp : poignée de préhension, ar : accroches pour ressorts du couvercle, ch : chemisage étanche, pm : pâles du mixeur, sam : système d'accouplement magnétique, sup : support, mh : moteur hydraulique.

Deux nouveaux préleveurs ont été fabriqués en fin d'année 2018, le bol de prélèvement est désormais en PVC et l'intégralité des bouteilles de fixateur est en inox en raison des problèmes de corrosion rencontrés avec l'aluminium.

Par ailleurs, le système de fermeture du bol a été revu pour être simplifié : au lieu de tirer sur une goupille avec un pion à l'intérieur du couvercle, c'est un linguet en L s'insérant à la fois dans le bol et le couvercle pour maintenir le tout lié qui est retiré en tirant sur un flotteur à l'horizontal.

Par contre, le couplage magnétique est resté relié au moteur hydraulique d'origine, la modification pour passer en alimentation électrique ne pourra se faire qu'ultérieurement.



## 2 Déploiement du préleveur FISH lors de la plongée 01

Le préleveur FISH a été mis en œuvre par le ROV Victor 6000 lors de son unique plongée le 21/01/2019. Les 2 préleveurs ont pu être testés successivement puis le by-pass mis en place pour valider la remise en fonction de l'aspirateur à faune.

13:58	début manip préleveur FISH
13:59	saisie PBT contenant crevettes
14:00	ouverture PBT
14:01	saisie de l'embout de l'aspirateur à faune
14:03	arrivée d'un poisson qui a senti la présence des crevettes dans la PBT
14:05	embout de l'aspirateur qui se désolidarise du tuyau d'aspiration, il faudra tenir le tuyau jusqu'à la fin de la manip, risque pour tuyau en le pinçant
14:09	aspiration des crevettes OK, quelques-unes sont remontées dans le tuyau de façon visible
14:13	nouvelle aspiration, au moins 2 crevettes de plus sont passées dans le tuyau d'aspiration
14:15	saisie du flotteur relié au doigt de percussion du couvercle ==> les ressorts n'actionnent pas la fermeture du couvercle
14:16	actionnement de la fermeture de la boîte en donnant manuellement un quart de tour à la poignée de préhension avec la pince. Les bouteilles de fixateur percutent bien pour déverser leur contenu
14:17	mise en route du moteur hydraulique 20 sec puis 15 sec soit 35 sec en tout
14:19	saisie du préleveur FISH1 par la poignée
14:22	dépôt du préleveur dans le panier du ROV
14:25	mise en route du moteur hydraulique sans préleveur dans le support pour observer si rotation ou pas ==> la platine support tourne mais assez lentement : 0,5 rotation/sec
14:27	utilisation de la poignée et non du flotteur dédié pour l'insertion du préleveur FISH2
14:32	retour à PBT qui a encore un poisson naviguant autour
14:39	aspiration de crevettes dans FISH2 OK pendant 93 sec
14:40	perte du variateur ==> perte de temps de manip
14:45	reprise en main du ROV
14:49	déclenchement de la fermeture de la boîte avec le flotteur ==> ressorts non actionnés et le doigt en L reprend sa place, entraîné par le flotteur => bol toujours ouvert
14:51	nouvel essai de déclenchement de fermeture ==> le kevlar relié au flotteur casse donc plus de moyen d'enlever le doigt de son emplacement et d'actionner la fermeture du bol
14:53	relève quart équipe ROV
14:54	test de broyage des crevettes : 36 sec de moteur hydraulique
14:57	comme ROV a dérivé, retour ROV vers PBT
15:06	saisie de FISH2 dans son support par poignée
15:07	FISH2 lâchée dans panier près du support
15:08	by-pass mis en place dans support sans difficultés, un petit coup est donné sur la poignée pour être sûr qu'il est bien ajusté
15:12	tuyau de l'aspirateur inséré dans PBT pour prélever crevettes
15:13	55 sec d'aspiration dans ASPI1
15:14	tuyau de l'aspirateur réinséré dans son fourreau

15:15	PBT fermée
15:16	récupération de la PBT
15:17	PBT posée dans le panier

### 3 Analyse de la mise en œuvre des préleveurs FISH sur ESSROV

#### 3.1 Fonction aspiration

Au vu du trajet assez long d'assemblage de tuyaux menant au préleveur FISH (Figure 2) puis aux bols de l'aspirateur à faune, il était important de tester la puissance d'aspiration afin de s'assurer que le trajet n'entraînait pas trop de perte d'aspiration.

Le montage était resté en place suite aux essais en atelier à Toulon en novembre 2018. Des crevettes surgelées du commerce, plus grosses que nos crevettes d'étude, ont été insérées dans une boîte de prélèvement PBT afin de tester cette fonction.



Figure 2 : configuration du panier ROV lors de la plongée 01 ESSROV 2019

Lors de la plongée, l'embout du tuyau d'aspiration s'est désolidarisé du tuyau (Figure 3) à cause de l'angle exercé pour faire entrer l'embout à l'intérieur de la PBT. Cette situation n'a pas lieu d'être reproduite en conditions réelles mais il faut veiller à ce que le type de colle utilisée soit suffisamment robuste.

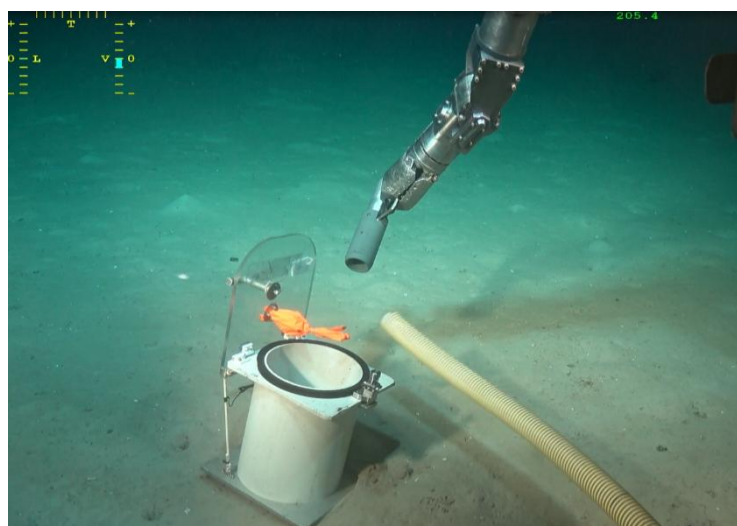


Figure 3 : désolidarisation de l'embout du tuyau de l'aspirateur à faune

Pour la suite de la plongée, les aspirations à l'intérieur de la PBT ont dû être réalisées en tenant le tuyau souple avec la pince du ROV, ce qui avait tendance à le déformer voire à l'écraser et donc gêner la montée des crevettes dans le tuyau.

L'aspiration de crevettes dans les bols FISH a été validée. Les bouts de tuyaux transparents permettent de visualiser les crevettes remontant à l'intérieur. Suite à l'installation du by-pass, des crevettes ont été aspirées sans problèmes jusqu'aux bols de l'aspirateur à faune installés à l'arrière du sous-marin. Cette fonction est donc validée.

### 3.2 Fonction percussion fermeture de la boîte couplée à percussion des bouteilles de fixateur

#### 3.2.1 Nouveau système de maintien de l'ouverture de la boîte

Le niveau système de percussion de la fermeture de la boîte était à valider.

Un linguet bloquant ensemble le couvercle et le haut du bol préleveur permet de maintenir la boîte en position ouverte. Ce linguet est relié à une tige métallique qui pousse le linguet hors de son emplacement lorsque celle-ci est poussée par le bras du ROV.

Un 1<sup>er</sup> essai a été effectué sur le pont et le système de tige a directement été écarté. En effet, la poussée du bras entraînait une déformation de la tige sans provoquer le basculement du linguet. Pour les essais en plongée, la tige a donc été remplacée par un flotteur relié au linguet par un bout de ficelle en kevlar (Figure 4). Même si le mouvement en rotation du haut vers l'avant pour désengager le linguet n'est pas aisé, celui-ci avait été validé sur le pont.

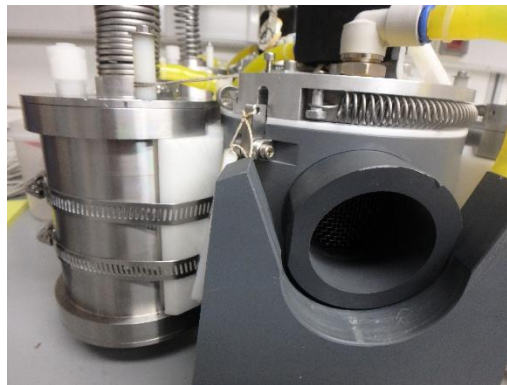


Figure 4 : linguet relié à flotteur

Lors du 1<sup>er</sup> essai au fond à 2660 m avec la boîte FISH1, le mouvement donné par la pince à partir du flotteur a bien permis de désengager le linguet pour rendre possible la fermeture du bol préleveur.

Lors du 2<sup>nd</sup> essai avec la boîte FISH2, le linguet a bien été retiré de son emplacement mais avec le poids du flotteur, le linguet a ensuite repris sa place. La manipulation du flotteur a donc été exercée à nouveau mais la ficelle en kevlar a cassé donc il n'a pas été possible de retirer le linguet pour rendre possible la fermeture du bol préleveur de FISH2. Le mouvement dans une direction horizontale à mettre en œuvre par le bras du ROV est difficile et risqué.

Donc Laurent Bignon a apporté une modification en perçant le couvercle du bol pour y insérer par le dessus une vis « goupille » à tige épaisse et longue venant remplacer le linguet (Figure 5). Pour actionner la fermeture du couvercle, il suffit donc de retirer la vis « goupille » reliée à un flotteur à la verticale, ce qui est beaucoup plus aisé comme mouvement pour le bras du ROV. Cette option a été validée lors d'un essai sur le pont à l'arrivée à quai.

Le retour au système de linguet en forme de L reste néanmoins possible.

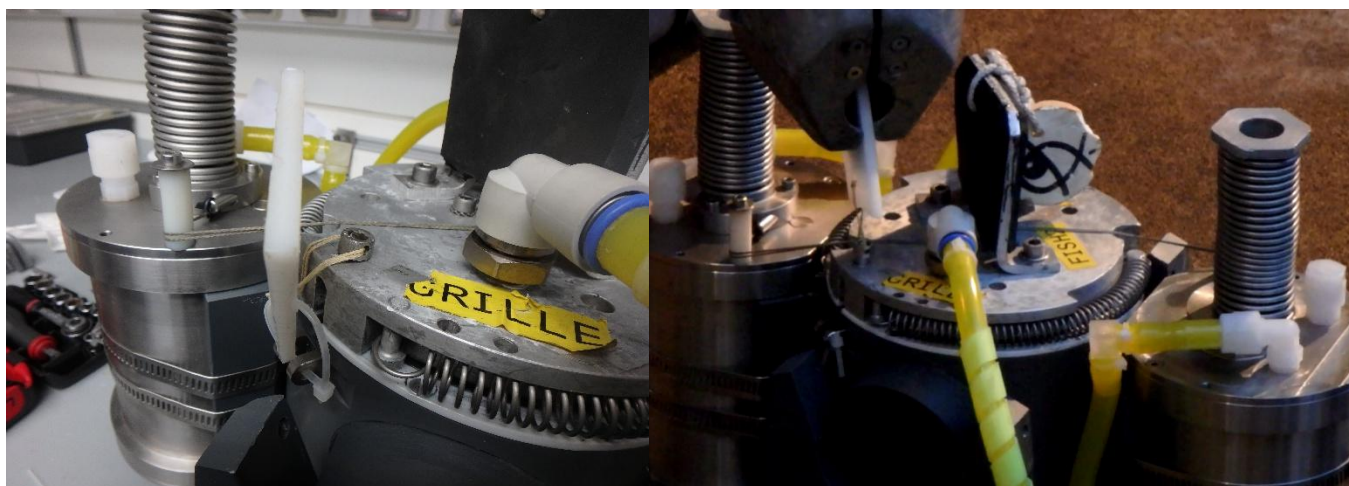


Figure 5 : linguet remplacé par vis « goupille »

### 3.2.2 Fermeture par actionnement des ressorts

Sur le pont ou en laboratoire, il n'y a eu aucun problème d'actionnement des ressorts pour entraîner directement la fermeture du bol de prélèvement.

La seule plongée s'est déroulée à 2660 m de profondeur et n'a pas permis d'actionner les ressorts. Il y a donc une déformation quelconque en grande profondeur qui bloque l'actionnement des ressorts. Le seul essai en plongée ayant entraîné la fermeture du bol par la seule force des ressorts avait été réalisé à 900 m avec le Nautille.

Néanmoins, un mouvement d' $\frac{1}{4}$  de tour de la poignée de préhension permet de fermer la boîte sans problèmes une fois le blocage en position ouverte désengagé.

Par ailleurs, nous nous sommes rendus compte que le bas des pitons servant d'accroche pour les ressorts ne descendait pas jusqu'au fond du trou dans le bol. Il y a un léger vide entre le bas du piton et le fond du trou, ce qui entraîne un affaissement au niveau du piton en cours de plongée et coince potentiellement le ressort quand on doit l'enlever. Cela ne facilite certainement pas l'entraînement du ressort mais le problème de non percussion des ressorts ne vient pas forcément de là... Des pions en inox de même diamètre que les pitons sciés à la bonne longueur ont donc été insérés pour combler le vide.

### 3.2.3 Percussion des bouteilles de fixateur

Il n'y a eu aucun problème à ce niveau-là. Lorsque la fermeture du bol est actionnée, les goupilles des bouteilles de fixateur se retirent de façon simultanée permettant l'entraînement des ressorts. Cet entraînement est assez lent à 2660 m de profondeur. Un colorant (éosine) mélangé au fixateur (RNA later) a mis en évidence la présence du fixateur dans le bol de prélèvement lors de sa récupération. Néanmoins, l'eau de mer ré-aspirée dans les bouteilles montrait une légère coloration elle aussi, indiquant un mélange partiel avec du fixateur.

## 3.3 Fonction homogénéisation

Il est à noter que les crevettes crues disponibles en grande surface étaient de taille relativement élevée pour la taille du bol préleveur. Elles étaient bien plus grosses que les spécimens prélevés en mission.



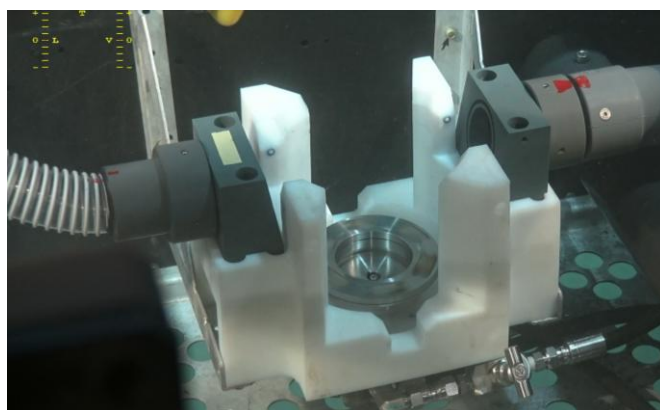
La puissance hydraulique du ROV est plus importante que celle du Nautil. Une vanne a donc été utilisée pour modifier le débit de puissance en amont du moteur hydraulique. Celle-ci a été réglée sur le pont en position quasi fermée.

La température de l'eau et la profondeur modifiant la fluidité de l'huile de la centrale hydraulique, il n'y a aucun moyen de s'assurer de la puissance réelle au fond par anticipation. Seuls différents essais en plongée permettront d'ajuster l'ouverture optimale de la vanne

Le moteur hydraulique a été actionné durant 35 sec pour les 2 prélèvements effectués (essai tout de même réalisé sur boîte FISH2 bien que celle-ci n'ait pas pu être fermée). Entre les 2 prélèvements, on a fait tourner le moteur à vide sans boîte engagée dans le support (Figure 6) afin d'observer la rotation de la platine magnétique. Celle-ci tournait plutôt lentement : calcul effectué de 0.5 rotation par seconde.

A l'arrivée, sur le 1<sup>er</sup> prélèvement, 2 crevettes semblent "un peu" abimées au niveau de la tête (Figure 7) mais ce n'est pas concluant...

Il faudra lors de la prochaine mise en œuvre ouvrir un peu la vanne. A l'avenir, il faudra aussi sûrement remplacer par un autre type de pâles plus hautes et plus larges.



**Figure 6 : test d'entraînement de la platine magnétique**



**Figure 7 : crevettes à la remontée. Flèches indiquant blessures des crevettes à la tête**

### 3.4 Divers

Les nouveaux raccords rotatifs qui relient les tuyaux au bol de prélèvement sont très pratiques d'utilisation. Il faudra en recommander pour remplacer les raccords des bouteilles de fixateur.

Le montage dans le panier avait déjà été effectué en atelier à Toulon et était resté sans modifications. L'embout de l'aspirateur a été recollé mais il faudra être vigilant à ce que ça tienne. Le démontage a été effectué en 4 grandes parties au niveau de la tuyauterie / support avec câblage hydraulique de façon à faciliter son remontage lors de CHUBACARC.

Les fixateurs étant corrosifs, il est important d'absolument tout démonter et rincer soigneusement avant séchage. Le montage / démontage avec les modifications de matériaux apportées ne pose aucun souci en dehors de la hauteur des pitons apportée. Il faut néanmoins penser à graisser légèrement le haut du couvercle entre chaque plongée pour que ça coulisse bien.

Au vu des modifications apportées à bord, il est nécessaire d'avoir d'autres vis « goupille » pour actionner la fermeture de la boîte ainsi que des flotteurs et plus de ficelle en kevlar pour la prochaine mission. Par ailleurs, il manquait les bouchons des câbles hydrauliques (prêt par l'équipe ROV).

## 4 Conclusions

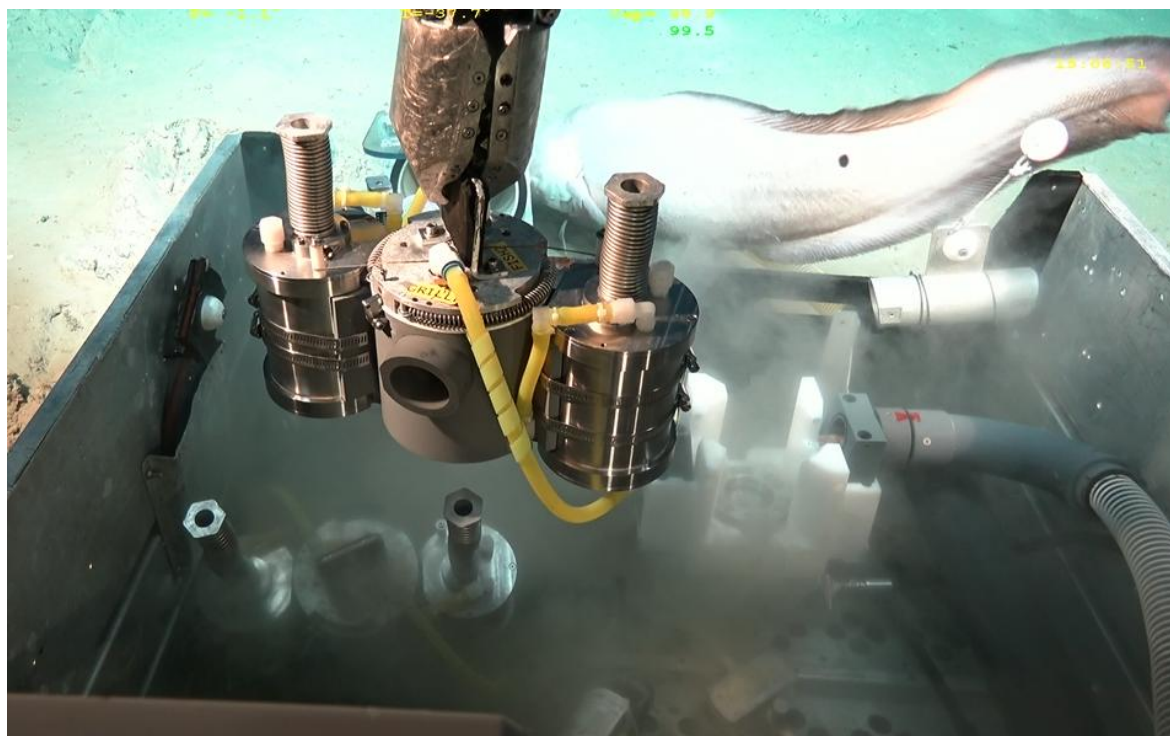
Les tests effectués avec le préleveur FISH lors d'ESSROV ont été concluants. De nouvelles petites modifications ont été apportées durant la mission pour améliorer la manipulation du préleveur par les bras du ROV Victor 6000.

Hormis quelques ajustements (ouverture de la vanne pour le moteur hydraulique), il ne devrait du coup pas y avoir de difficultés majeures lors de son déploiement prochain sur la mission CHUBACARC. Plusieurs opérateurs du ROV Victor sont donc formés à sa manipulation.

Le préleveur FISH est donc désormais compatible à la mise en œuvre par les 2 sous-marins : le submersible habité Nautille tout comme le ROV Victor 6000.

Les participants de la mission tiennent à remercier le personnel GENAVIR à bord ainsi que l'équipe du ROV et le chef de mission pour leur disponibilité et leur aide. Ils remercient également chaudement les collaborateurs à terre de RDT pour leur soutien et disponibilité.

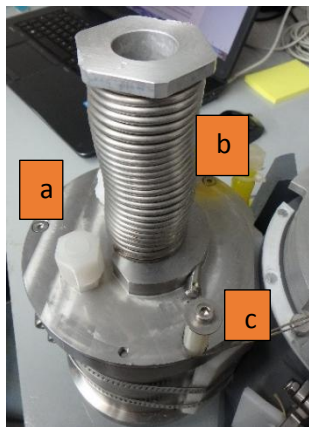
Merci aussi à Bob pour sa visite surprise, promis Victor te ramène à nouveau des crevettes la prochaine fois !



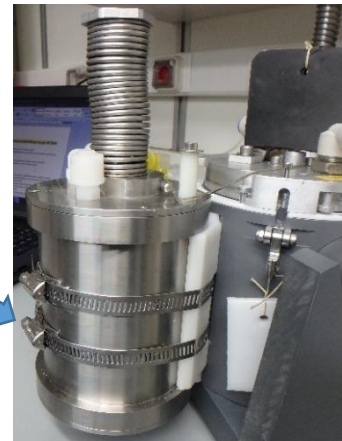
## 5 Annexe : Protocole de mise en œuvre de la boîte FISH par le ROV VICTOR 6000

### Montage de la boîte FISH

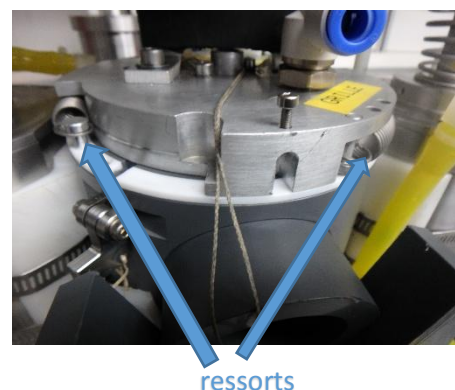
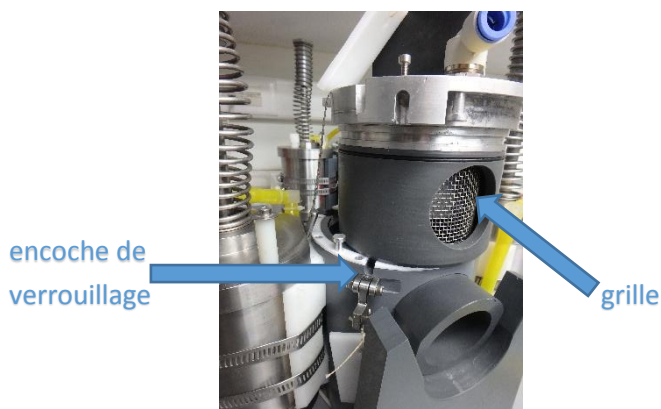
- 1) Enlever les 2 petites vis placées sur la tige supérieure des bouteilles de fixateur qui ont servi à aider à enlever le piston de la bouteille
- 2) Appairer les bouteilles de fixateur avec leur piston (n° poinçonné)
- 3) Solidariser la tige supérieure avec la bouteille de fixateur en vissant 2 petites vis et le petit pivot en plastique blanc support de la ficelle
  - a) vis 1 au niveau du poinçon,
  - b) vis 2 opposée à trou pour insérer goupille maintenant le ressort de la bouteille, près du tuyau
  - c) piton fixe composé d'un tube blanc traversé par une vis longue + une rondelle devant le trou pour insérer goupille maintenant le ressort



Colliers métalliques



- 4) Relier les bouteilles de fixateur au bol préleveur grâce à 2 colliers métalliques. Attention à les positionner côté extérieur des bouteilles et non près du support blanc pour ne pas gêner l'insertion des bouteilles dans le panier
- 5) Passer le bol préleveur à l'éthanol voire DNA away + RNase away
- 6) Mettre en place le couvercle du bol préleveur : indication grille au niveau de l'encoche permettant de verrouiller le couvercle en position ouverte

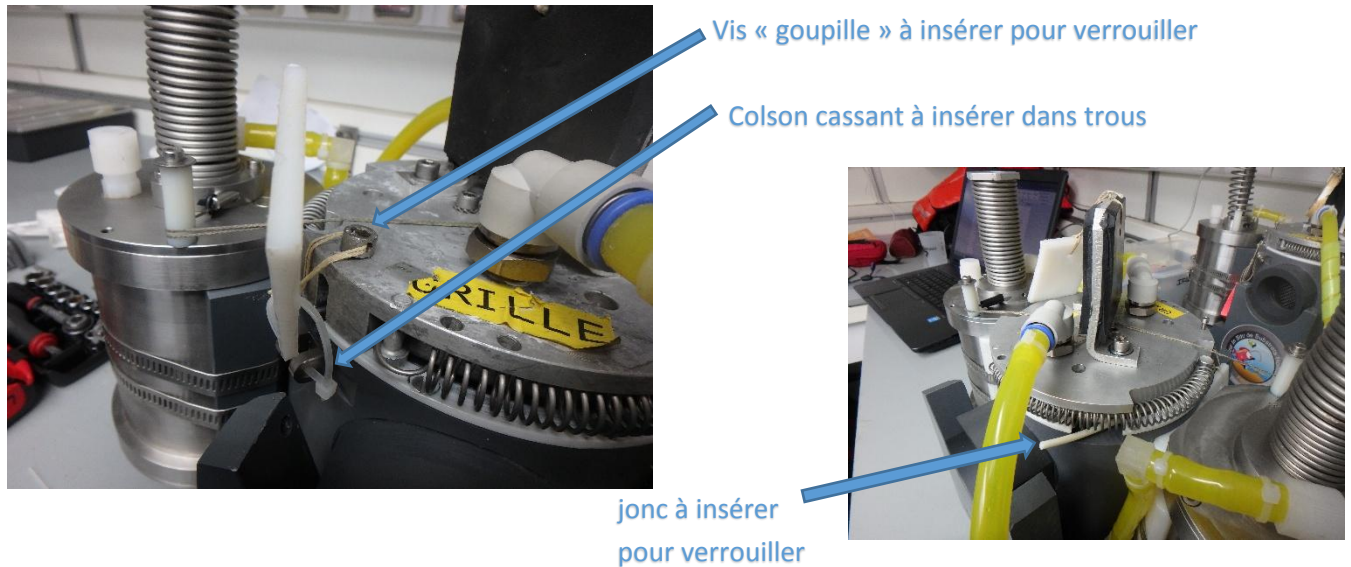


- 7) Mettre en place les 2 ressorts à l'aide d'une pince à bec
- 8) Relier tous les tuyaux entre bouteilles de fixateur et bol de prélèvement
- 9) Colsonner tous les embouts de tuyaux sur les raccords (12 colsons nécessaires : 4 pour tuyaux allant de bas de bouteille vers le couvercle du bol et 8 sur tuyaux allant du haut des bouteilles vers le bas du bol de prélèvement où montage en L)



## Préparation de la boîte FISH pour la plongée

- 1) Placer le couvercle du bol de prélèvement dans sa position initiale (en butée, ressorts tendus) et le verrouiller avec la vis « goupille » insérée à la verticale et raccordée à une ficelle en Kevlar + flotteur. Utiliser un colson cassant (voir avec équipe ROV pour en avoir quelques-uns) et l'insérer dans les trous du porte-vis pour bloquer le flotteur en position basse. Avec bout de kevlar plus grand, penser à relier le flotteur ailleurs sur la bouteille pour qu'on ne le perde pas lors du retrait de la goupille. Dans cette position, les ouvertures du couvercle sont en face de celles de la boîte. Celle-ci est donc ouverte. Celle-ci est donc ouverte.

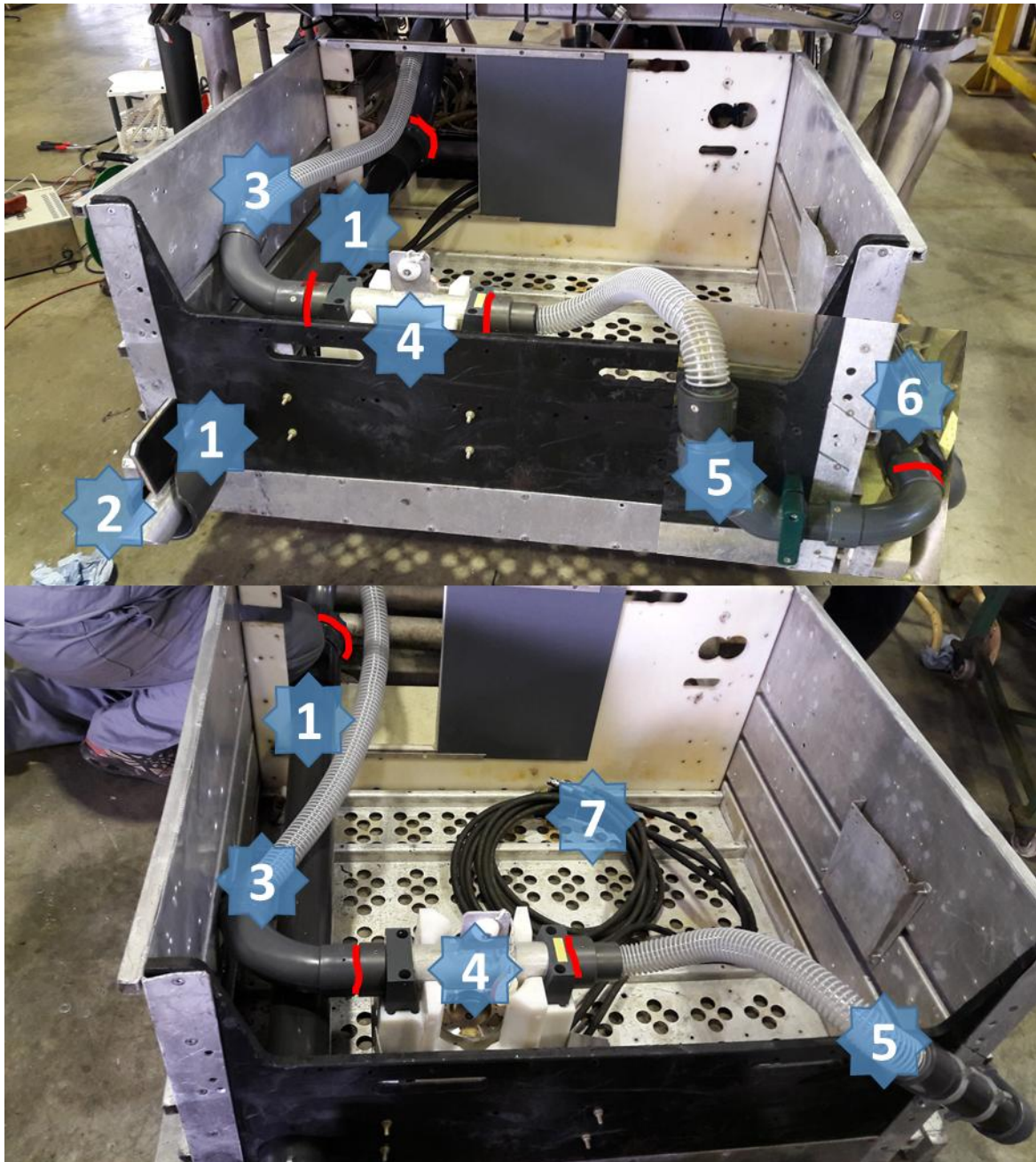


- 2) Insérer le jonc pour bloquer l'ouverture du couvercle : insertion sur côté opposé à grille
- 3) Mettre les pistons des bouteilles de fixateur en position initiale (en butée, ressort comprimé) et les verrouiller avec les goupilles de maintien dont le fil de kevlar qui les relie au couvercle du bol doit préalablement être passé autour du piton blanc.
- 4) Remplir les bouteilles avec le fixateur chimique par les bouchons de remplissage sur les tapes supérieures à l'aide d'un petit entonnoir : environ 700-800 ml par bouteille de fixateur soit 1.6L en tout. :
  - ✓ Soit RNA later fabrication « maison »
  - ✓ Soit formaldéhyde 5% (et non 3%) de façon à permettre une dilution partielle avec l'eau de mer au cours de l'injection.



### **Installation du système FISH dans le panier du ROV**

- 1) En parallèle, installer les différents éléments pour le système d'aspiration ainsi que le support avec le moteur hydraulique dans le panier du ROV tel que sur la vue d'ensemble (Figure 1).

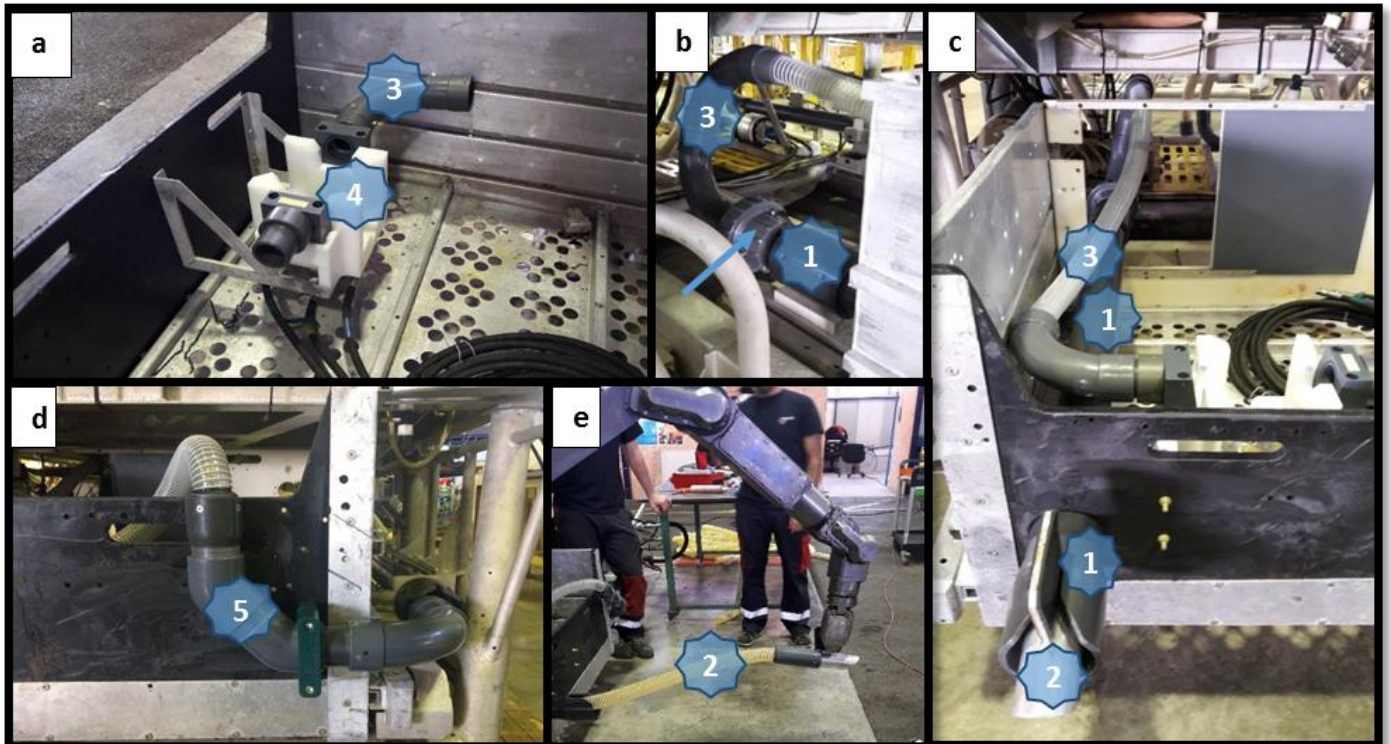


**Figure 1 : vue d'ensemble des différents éléments à installer dans le panier du ROV préalablement à la mise en œuvre pour une plongée**

- ✓ 1 : gaine en amont du préleveur FISH traversant le panier,
- ✓ 2 : embout relié à bout de tuyau aspirateur,
- ✓ 3 : raccords et bout de tuyau souple venant se visser sur socle du préleveur FISH,
- ✓ 4 : support du préleveur FISH relié à câbles hydrauliques à visser sur face avant du panier,



- ✓ 5 : tuyau souple et raccords à 90° venant se visser contre bord du panier en aval du préleveur FISH,
  - ✓ 6 : raccord et bout de tuyau s'insérant dans gaine d'origine de l'aspirateur à faune,
  - ✓ 7 : câbles hydrauliques à brancher sur centrale hydraulique du ROV.
- 2) Commencer par positionner les différentes parties. Lors du démontage, il a été fait en sorte de faire le moins de morceaux possible :
- ✓ Bloc 1 : N°1 et N°2 ensemble
  - ✓ Bloc 2 : N°3
  - ✓ Bloc 3 : N°4 relié aux câbles hydrauliques N°7
  - ✓ Bloc 4 : N°5 et N°6 ensemble



**Figure 2 : les différents éléments du montage**

- a) Support du préleveur FISH relié à câbles hydrauliques vissé sur face avant du panier avec raccord en amont en appui contre paroi du panier avec montage ensemble n°3 à installer et visser avant vissage des équerres
- b) & c) Assemblage des ensembles 1 (fourreau rigide) et 3 (tuyau souple transparent) avec en b), la partie qui passe derrière le panier avec une bague qui se visse entre les 2 ensembles
- d) Raccords à 90° venant se visser contre bord du panier en aval du préleveur FISH
- e) Sortie du tuyau d'aspiration de la boîte FISH de son fourreau, longueur de débattement possible pour aller aspirer les animaux.

- 3) Passer le tuyau rigide N°1 à l'intérieur du panier après avoir dévisser les vis coinçant le tuyau d'aspiration n°2 (Figure 2c)
- 4) Amener l'ensemble N°3 contre la paroi du panier (Figure 2c)
- 5) Installer la partie support N°4 au moyen d'équerres contre la face avant du panier (Figure 2a)
- 6) Installer la partie N°5 reliée au tuyau N°6 et visser sur l'avant du panier (Figure 2d)
- 7) Brancher les câbles hydrauliques



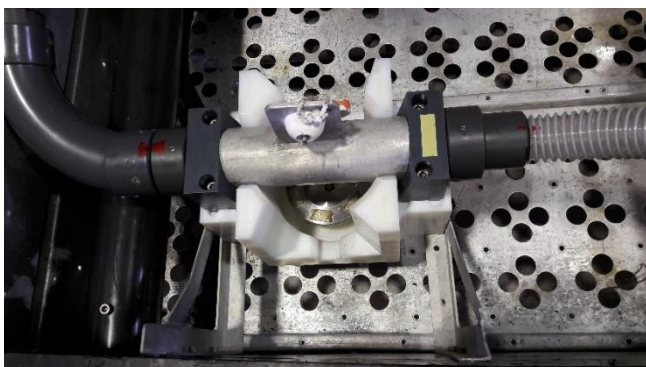
**Figure 3 : branchements des câbles hydrauliques en parallèle des câbles pour caméra 4K**

- 8) Positionner l'ensemble du préleveur FISH (boîte + bouteilles) dans le support, de manière à accoupler la boîte de prélèvement avec la platine d'accouplement magnétique montée dans le support. Faire attention au sens : grille vers côté droit du panier (vers centrale aspiration)
- 9) Régler l'ouverture de la vanne au niveau des tuyaux hydrauliques pour limiter la puissance d'entraînement
- 10) Faire attention au sens des pâles de façon à bien choisir le sens de rotation lors de l'actionnement du moteur.
- 11) Le préleveur est alors prêt à être utilisé.
- 12) Ne pas oublier le by-pass pour pouvoir utiliser l'aspirateur à faune.



### **Manipulation de la boîte FISH au fond par le ROV VICTOR**

- 1) Une fois sur site, au signal du scientifique, la pompe de l'aspirateur est mise en marche. Sortir l'embout sur côté gauche du panier (quand face au panier). Aspirer les crevettes de façon à avoir une vingtaine de crevettes. Attention à ne pas avoir un bol trop compact. La faune est alors aspirée dans le tuyau et se retrouve dans la boîte de prélèvement. Le couvercle est muni d'une grille en sortie obligeant la faune à rester coincée dans la boîte.
- 2) Lorsque la boîte est pleine, le pilote doit tirer verticalement sur le flotteur relié à la goupille de verrouillage sur le dessus du couvercle. Les ressorts sont supposés entrainer le couvercle en rotation jusqu'à atteindre sa butée (position fermée). Si les ressorts n'entraînent ni la fermeture du couvercle ni la percussion des bouteilles, donner un  $\frac{1}{4}$  de tour à la poignée (sens anti-horaire) pour fermer manuellement la boîte (attention à ne pas forcer trop loin, position alignée avec les pitons blancs)  
Lors de la rotation du couvercle, les goupilles des bouteilles de fixateur (dont les bouts sont reliés au couvercle) sont déclenchées. Les ressorts des bouteilles tirent alors sur les pistons, permettant ainsi de remplacer l'eau de mer de la boîte (aspirée sous le piston) par le fixateur chimique (injecté dans la boîte).
- 3) Une fois les bouteilles vidées dans la boîte, les lames d'homogénéisation sont mises en rotation afin de permettre au fixateur de pénétrer à l'intérieur de la faune prélevée : rester à la puissance maximale pendant 15 sec
- 4) La phase de prélèvement est alors terminée, la boîte est retirée du support au moyen du flotteur relié à la poignée et rangée dans l'ascenseur dans un compartiment adapté (ou dans support dans panier).
- 5) Une 2<sup>ème</sup> boîte de prélèvement peut alors être installée grâce au flotteur relié à la poignée de préhension ou le raccord droit by-pass vient remplacer la boîte pour rendre l'aspirateur à faune à nouveau utilisable.



Lors de l'insertion de la 2<sup>ème</sup> boîte, attention au sens d'insertion de la boîte, mettre côté grille indiqué sur boîte vers bols ASPI.

!!! durée de fixation au formaldéhyde 5% : 3h entre l'injection et l'ouverture de la boîte au laboratoire, remontée comprise.



### **Ouverture, démontage, lavage de la boîte FISH**

- 1) Récupérer la boîte dans une bassine propre décontaminée
- 2) Enlever les 2 ressorts avec une pince à bec long
- 3) Enlever le jonc
- 4) Décrocher les tuyaux jaunes du dessus du couvercle en déclipant l'embout en plastique transparent de la partie bleue du raccord (en poussant la bague bleue en butée contre le raccord)
- 5) Soulever le couvercle et libérer les crevettes dans la bassine en retournant la boîte
- 6) Trier les crevettes, les transférer dans RNA later fournisseur frais ou dans PBS1X pour rincer les crevettes pour FISH dans pot blanc 400 ml
- 7) Une fois les crevettes disséquées, nettoyer la boîte rapidement à cause de la corrosion provoquée par les fixateurs
- 8) Rincer 1 ou 2 fois le bol ouvert à grande eau, et vider – reremplir – vider les bouteilles de fixateur dans l'évier
- 9) Décrocher tuyaux en Tygon du dessus des bouteilles de fixateurs
- 10) Désolidariser les bouteilles de fixateur du bol de prélèvement en dévissant les colliers métalliques
- 11) Dévisser les 3 vis des tapes supérieures des bouteilles de fixateur (2 petites vis + vis piston blanc)
- 12) Visser les 2 petites vis dans petits trous des tapes supérieures de façon à soulever un peu la tape reliée au piston
- 13) S'aider du ciseau à bois en plastique rouge pour soulever d'avantage la tape
- 14) Tirer sur le piston pour l'enlever de la bouteille de fixateur
- 15) Si nécessaire, démonter l'arbre relié à la pôle Moulinex par le dessous du bol préleveur grâce à la pince serre-clips et enlever la platine magnétique, et le hachoir
- 16) Rincer l'ensemble soigneusement à l'eau savonneuse puis à l'eau du bouilleur
- 17) Bien vérifier qu'il n'y a pas de morceaux de chair ou de cuticule coincés au niveau de la grille du couvercle, sinon démonter la grille pour bien nettoyer si nécessaire
- 18) Sécher toutes les pièces à la soufflette d'air comprimé
- 19) Passer de l'éthanol dans les bouteilles de fixateur et le bol préleveur.
- 20) Remonter l'ensemble (voir section « Montage de la boîte FISH »).