HAL
open science

# L'ADN pour observer les mammifères marins, sentinelles d'un milieu qui change.Editeur Association Dirac. ISBN-13: 979-1095209027

Jean-Luc Jung

## To cite this version:

Jean-Luc Jung. L'ADN pour observer les mammifères marins, sentinelles d'un milieu qui change.Editeur Association Dirac. ISBN-13: 979-1095209027. Cétacés, Nouvelles connaissances issues de la recherche française, Association Dirac, 2017, ISBN-13: 979-1095209027. hal-02967925

**HAL Id: hal-02967925**

**https://hal.science/hal-02967925v1**

Submitted on 15 Oct 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# L'ADN pour observer les mammifères marins, sentinelles d'un milieu qui change

**Jean-Luc Jung,**
Docteur en Biologie Moléculaire et Cellulaire,
Laboratoire BioGeMME, Université de Brest

L'écologie moléculaire utilise des approches de génétique et de biologie moléculaires pour répondre à des questions portant sur l'analyse de la biodiversité, la génétique des populations, l'écologie comportementale, ou la conservation du milieu naturel. Elle a ouvert de nouvelles voies pour l'étude de problématiques complexes, incluant la détection et l'analyse de structures de populations naturelles et la différenciation génétique au sein des espèces ; et elle apporte de nouvelles compréhensions des impacts des changements environnementaux, locaux ou globaux, qu'ils soient d'origine anthropique ou non.

Dans le milieu marin, l'absence de barrières physiques aisément discernables - par comparaison au milieu terrestre - renforce la complexité des études. Encore plus lorsque sont concernés les mammifères marins, en règle générale extraordinairement mobiles. Pour une espèce migratrice comme la baleine à bosse, des déplacements de plus de 8000 km, exceptionnellement même entre bassins océaniques, sont observés [1]. Dès lors, comprendre les forces écologiques, biologiques, comportementales, et cerner les modifications du milieu naturel qui forment et/ou bouleversent les espèces et les populations de mammifères marins est particulièrement complexe. Des connaissances approfondies des espèces dans leur milieu sont nécessaires et des outils d'analyse moléculaire de pointe doivent être mis en œuvre.

Au laboratoire BioGeMME[2] de l'Université de Brest, nous étudions la biodiversité des mammifères marins en utilisant ce type d'approches. Nous avons deux niveaux d'étude. En premier lieu, la diversité spécifique, que nous analysons en dressant des catalogues d'espèces (nous avons travaillé le long des côtes Atlantiques Françaises et en Mauritanie). En plus de listes d'espèces retrouvées en un endroit particulier, ces travaux apportent aussi des surprises et des résultats spectaculaires, comme l'identification d'une très probable nouvelle espèce de baleine à bec et la découverte du rorqual d'Omura en Atlantique, à 18000 km de son aire de répartition précédemment connue.

En second lieu, nous caractérisons la biodiversité intraspécifique. Pour cela, nous étudions les structures de populations d'espèces de mammifères marins, ciblées car ayant démontré des variations de présence et/ou d'abondance dans des zones géographiques particulières durant les dernières décennies. Ceci dans le but de caractériser génétiquement ces populations, puis d'identifier et de

[1] Stone GS, Florez-Gonzalez L, Katona S (1990) Whale migration record. *Nature*, **346**, 705.
[2] L'acronyme BioGeMME signifie "*Biologie et Génétique des Mammifères Marins dans leur Environnement*"

version avant mise en page

comprendre les forces environnementales ou/et comportementales à l'origine de ces variations et déplacements. Nous avons travaillé principalement sur 3 espèces, le marsouin commun, le phoque gris et la baleine à bosse. Cette dernière espèce, emblématique, particulièrement connue du grand public pour son comportement, ses sauts spectaculaires, et sa répartition cosmopolite, occupe la majeure partie de notre temps de travail actuel.

## Le code-barre ADN, un outil performant pour l'analyse de la biodiversité spécifique des mammifères marins

Lister de manière exhaustive les différentes espèces qui fréquentent un endroit particulier représente le premier niveau requis de connaissance de la biodiversité des mammifères marins. Il faut aussi déterminer quelles espèces (ou groupes) sont résidentes ou de passage, et dans ce dernier cas, quelle utilisation elles ont de la zone considérée (pour se nourrir, se reproduire, ou simplement la traverser). Une fois ces connaissances établies, d'éventuelles variations inter-annuelles pourront refléter des impacts de changement du milieu, d'origine anthropique ou non.

Mais observer les cétacés présents et reconnaitre l'espèce à laquelle ils appartiennent, contrairement à une idée un peu préconçue, n'est pas toujours aisé, mis à part quelques espèces emblématiques et fort bien connues à l'exemple des grands dauphins en mer d'Iroise ou des baleines à bosse à Saint-Pierre-et-Miquelon (figure 1) ou à Madagascar.

Certains cétacés peuvent être difficiles à observer, que ce soit à cause de leur abondance réduite, de leur mode de vie discret, ou des deux facteurs cumulés. Ces espèces ne sont souvent connues que par quelques spécialistes des cétacés et même dans certains cas uniquement grâce à des animaux échoués. La présence de ces espèces ne sera alors pas détectée de manière récurrente chaque année, et dresser leur liste exhaustive devient compliqué. La taxonomie, encore en cours de définition, des cétacés renforce encore cette complexité : par exemple, le nombre d'espèces de rorquals de l'ancien complexe de Bryde est encore en cours de définition. A *Balaenoptera omurai*, *B. brydei* et *B. edeni* (ces deux dernières sont en cours de définition formelle) pourrait bien s'ajouter une nouvelle espèce identifiée dans le golfe du Mexique en 2014[3], dont le faible nombre d'individus identifié fait craindre qu'elle ne risque de disparaitre juste après sa reconnaissance. Les aires de répartitions de ces espèces sont bien sûr, et de fait, encore très loin d'être bien connues. Une autre famille de cétacés, les baleines à bec ou ziphiidés, requiert encore beaucoup d'études. Les ziphiidés sont tous des grands plongeurs (le record de plongée mesuré pour un cétacé est actuellement détenu par une baleine à bec de Cuvier, à 3000 m de profondeur[4]). Ce comportement les rend discrets par nature. Mais il s'agit aussi de la famille

[3] Rosel PE, Wilcox LA (2014) Genetic evidence reveals a unique lineage of Bryde's whales in the northern Gulf of Mexico. *Endangered Species Research*, **25**, 19–34.

[4] Schorr GS, Falcone EA, Moretti DJ, Andrews RD (2014) First long-term behavioral records from Cuvier's beaked whales (*Ziphius cavirostris*) reveal record-breaking dives. *PLoS ONE*, **9**, e92633–10.

Version avant mise en page

taxonomique la plus complexe chez les cétacés, plus de vingt espèces sont déjà identifiées, et certaines sont encore cryptiques.

L'identification correcte des spécimens de ces espèces rares, à la taxonomie complexe et peut-être en cours de définition, dont les caractéristiques anatomiques sont peu connues, est un véritable challenge. Des prélèvements peuvent être réalisés lors de campagnes de biopsies ou bien, non-invasifs et opportunistes, grâce aux suivis d'échouages, aux prélèvements de fèces, aux fragments de peaux se détachant des animaux, voir même à l'ADN environnemental. Dans certains cas, les échantillons à analyser peuvent être très dégradés, ou partiels, rendant impossible une identification taxonomique correcte.

Dans tous ces cas, l'outil moléculaire permet *in fine* des identifications au niveau de l'espèce. La démarche du « *Code-barre ADN* » constitue une partie spécifique de nos projets dans les approches d'écologie moléculaire : initiée en 2003 à l'Université de Guelph au Canada[5] et techniquement relativement simple, elle consiste à identifier l'espèce de l'organisme dont provient un échantillon biologique en séquençant une partie de son ADN mitochondrial. Les données sont regroupées au niveau mondial, permettant des analyses performantes. Nous avons démontré que cette démarche, adaptée aux mammifères marins, est extrêmement efficace. Nous l'avons appliquée à la définition des *code-barres ADN* pour les cétacés, à l'identification des restes d'animaux trop partiels pour être déterminés autrement (figure 2), ainsi que pour des études de régime alimentaire. Toutes les séquences déterminées sont publiées dans les banques de données (*Barcoding Of Life Database* http://boldsystems.org/ et la *Genbank* https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/).

Des échantillons de cétacés non identifiables provenant de Mauritanie sont aussi envoyés à Brest, pour analyse au Laboratoire BioGeMME. En effet, les côtes de la Mauritanie accueillent une biodiversité extraordinaire, actuellement sous la menace de plusieurs types d'activités humaines. Des transects de surveillance et d'identification des cétacés échoués sont organisés par le Programme "*Biodiversité Gaz Pétrole*" (http://www.programmebgp.mr/fr/). C'est dans ce cadre, et en utilisant la démarche du *code-barre ADN*, que nous avons identifié le premier spécimen de rorqual d'Omura (*Balaenoptera omurai*) en Atlantique (figure 3). Cette espèce de rorqual, appartenant à la même famille que la baleine à bosse ou la baleine bleue, est certainement l'espèce la moins connue de toutes les grandes baleines. Découverte en 2003, on pensait son aire de répartition limitée aux régions tropicales et subtropicales de l'est de l'Océan Indien et de l'ouest du Pacifique. Le spécimen Mauritanien de *B. omurai*, totalement inattendu, n'a été identifié que grâce à l'utilisation d'outils d'analyse de l'ADN.

Les approches moléculaires permettent aussi de préciser certains points de la taxonomie des mammifères marins. C'est dans le cadre d'un projet mené par Phil Morin, collègue de la NOAA (*National Oceanic and Atmospheric Administration*, en français l'Agence américaine d'observation

[5] Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **270**, 313–321.

version avant mise en page

océanique et atmosphérique) que nous avons pu participer ainsi à l'identification d'une nouvelle espèce de baleine à bec[6].

## Complexité et importance de la biodiversité intraspécifique des baleines à bosse

Les baleines à bosse (*Megaptera novaeangliae*) forment une espèce de cétacés cosmopolite, dont le comportement est caractérisé par des migrations annuelles à longue distance - plusieurs milliers de kilomètres - entre aires d'alimentation estivales situées dans les hautes latitudes et zones de reproduction hivernales, tropicales et subtropicales, utilisées pour s'accoupler et mettre bas. Si l'espèce est emblématique et a été très étudiée, sa structuration génétique reste encore largement à préciser ; au regard par exemple de la complexité des déplacements des individus, des fidélités aux sites qui semblent très marquées pour les zones de nourrissage, des apprentissages comportementaux (fig. 1), mais aussi bien sûr de l'impact des pressions du milieu, notamment d'origine anthropique. Dans l'hémisphère sud, 7 stocks (dont certains divisés en plusieurs sous-stocks) ont été définis par la Commission Baleinière Internationale (CBI), sur la base des aires d'alimentation en Antarctique, des corridors de migration et des aires de reproduction caractérisés. Un huitième stock est constitué par une population séparée et atypique, ne migrant plus, localisée dans le nord de l'Océan Indien. Il est particulièrement important maintenant de faire la part entre ces stocks définis sur la base de critères multiples et les structures réelles de populations, en mettant par exemple en évidence les flux de gènes entre stocks et sous-stocks et les variations inter-annuelles de voies migratoires et de constitution des stocks. Dans l'hémisphère nord, les structures de populations semblent moins complexes et ont fait l'objet de plus d'études, notamment génétiques. Néanmoins, la compréhension globale de certains phénomènes reste incomplète, tout spécialement concernant les corridors migratoires. Les liens entre proximité génétique des individus et les comportements, par exemple les chemins migratoires ou les habitudes alimentaires, représentent des pistes de recherche actuelles particulièrement pertinentes. Les approches à mettre en œuvre sont pluridisciplinaires. Elles doivent de plus être relativement pérennes, et permettre des comparaisons sur plusieurs années. L'influence des changements environnementaux doit pouvoir être appréhendée autant que possible sur des échelles géographiques comparables à celles des migrations.

Les projets "Baobab" puis "Générations", portés par le professeur Olivier Adam de l'Université Paris VI et du CNRS (pour une description du projet et des partenaires impliqués voir https://lejournal.cnrs.fr/articles/dans-le-sillage-des-baleines-a-bosse), ont été ciblés sur le stock C, et particulièrement sur les eaux de Madagascar. Ces projets sont pluridisciplinaires. Leur partie génétique, que nous menons à BioGeMME, et qui nous implique particulièrement Aurore Lambert,

[6] Morin PA, Scott Baker C, Brewer RS *et al.* (2016) Genetic structure of the beaked whale genus *Berardius* in the North Pacific, with genetic evidence for a new species. *Marine Mammal Science*, doi:10.1111/mms.12345.

version avant mise en page

Vétérinaire qui se spécialise actuellement en génétique, et moi-même, a pour but de permettre *in fine* de faire le lien (ou peut être plutôt de montrer les différences) entre structure génétique et définition des stocks de la CBI et, en termes plus fondamentaux, de pouvoir détecter et caractériser, si elles existent, d'éventuelles variations inter-annuelles et/ou de chemins migratoires.

La diversité génétique des baleines à bosse fréquentant les eaux de Madagascar a déjà été analysée deux années successives. Les résultats obtenus jusqu'à présent montrent leur grande diversité génétique, et l'absence de groupes génétiques détectés à l'aide des marqueurs nucléaires, d'héritage biparental. Par contre, l'ADN mitochondrial, hérité de la mère uniquement, révèle plus de structuration génétique au sein de l'échantillonnage, reflétant certainement l'existence de groupes génétiques d'origine ancestrale. Ces résultats peuvent être comparés à grande échelle géographique grâce aux données de séquences contenues dans les banques de données spécialisées.

Dans l'hémisphère nord, nous étudions les baleines à bosse de deux zones d'alimentation, à la fois particulièrement riches en termes de biodiversité et particulièrement fréquentées et exploitées par l'Homme : les eaux de l'archipel français de Saint-Pierre-et-Miquelon (figure 1), et deux zones particulières en mer de Béring. Si nos travaux commencent juste à Saint-Pierre-et-Miquelon, ils ont déjà abouti à de premiers résultats intrigants en mer de Béring. Olga Filatova (de l'Université de Moscou) et Erich Hoyt (Whale and Dolphin Conservation), tous deux participant au programme FEROP (www.russianorca.com/indexeng.htm), étudient depuis des années deux groupes d'animaux fréquentant, en mer de Béring, l'île Béring (55° 08′ 08″ N 166° 10′ 41″ E, la plus grande des îles du Commandeur) et l'île Karaginsky (58° 55′ 00″ N 164° 20′ 00″ E). Dans ces deux sites, faisant partie de la même zone d'alimentation, les baleines à bosse présentent de manière intrigante des comportements alimentaires très différents, se nourrissant spécifiquement de poissons en bancs autour de l'île Karaginsky, et de zooplancton près de l'île Béring. Les études menées par photoidentification[7] dans les dernières années ont montré qu'il n'existait quasiment pas d'échange entre les deux sites. Notre travail a consisté à déterminer si ces différences de comportement alimentaire au sein d'une même zone de nourrissage pouvaient se retrouver en termes de génétique, reflétant par exemple des origines différentes des baleines concernées (des baleines à bosse se reproduisant dans deux zones différentes qui utiliseraient la même zone d'alimentation, sans se mélanger) ou, autre exemple, des lignées maternelles différentes.

Cette étude a permis à un étudiant, Gaëtan Richard, de travailler sur le terrain et en Laboratoire. Gaëtan a effectué des biopsies de baleines à bosse en mer de Béring sous la direction d'Olga Filatova, puis il est venu réaliser les analyses génétiques à Brest au laboratoire BioGeMME. Les résultats montrent que, comme attendu, la diversité génétique des baleines à bosse de la mer de Béring est relativement faible par rapport à celle qui est retrouvée chez des animaux de l'hémisphère sud. Mais les polymorphismes de l'ADN mitochondrial (figure 4) montrent une différence nette entre les

[7] Chez les baleines à bosse, des photographies de la nageoire caudale sont utilisées pour identifier les individus

version avant mise en page

échantillons provenant de l'île Béring et ceux de l'île Karaginsky. Notre hypothèse actuelle relie l'existence de ces différences génétiques à celle de lignées maternelles, dans lesquelles l'apprentissage du comportement alimentaire par la mère au baleineau serait différent. Ces résultats suggèrent quelque chose de particulièrement nouveau pour les baleines à bosse. La fidélité des baleines à bosse pour leur zone de nourrissage est en effet bien connue à grande échelle géographique. Mais ici, il apparait que cette fidélité pourrait bien s'exercer aussi à des échelles géographiques largement plus précises qu'imaginé jusque là. En termes de conservation du milieu, de nouvelles problématiques de protection pourraient bien découler de ces résultats : dans notre cas, les iles du Commandeur sont largement protégées dans le cadre d'une réserve de biosphère de l'UNESCO. Mais l'ile Karaginsky n'est actuellement pas protégée, et les baleines à bosse la fréquentant, dont on voit qu'elles forment un groupe différent, particulier, voient donc leur habitat soumis à de nombreuses perturbations d'origine anthropique ! A terme, c'est un niveau de biodiversité intra-spécifique qui est menacé.

Ces quelques exemples de travaux menés au Laboratoire BioGeMME de l'Université de Brest démontrent bien toute l'importance de l'étude en laboratoire de l'ADN de populations naturelles des prédateurs supérieurs du milieu marin que sont les cétacés.
Ces espèces, situées au sommet de la chaine alimentaire et ayant des longues durées de vie, sont aussi considérées comme des espèces indicatrices de la qualité du milieu marin, sentinelles des changements que peut subir ce milieu, de part les activités humaines.
Mieux les connaitre revient donc aussi à mieux connaitre leur écosystème en général, et donc à mieux pouvoir le protéger.

version avant mise en page

Figure 1 : Baleines à bosse photographiées à Saint-Pierre-et-Miquelon par Joël Détcheverry (membre de l'association FNE SPM). Dans les deux cas, un adulte, très probablement la mère, accompagne un baleineau. Les eaux de Saint-Pierre-et-Miquelon constituent une zone d'alimentation importante de l'espèce. Cette proximité adulte - jeune permet certainement un apprentissage intergénérationnel, qui peut se refléter ensuite dans l'existence de groupes génétiques comme nous l'avons montré en mer de Béring. Photographies ©Joël Détcheverry

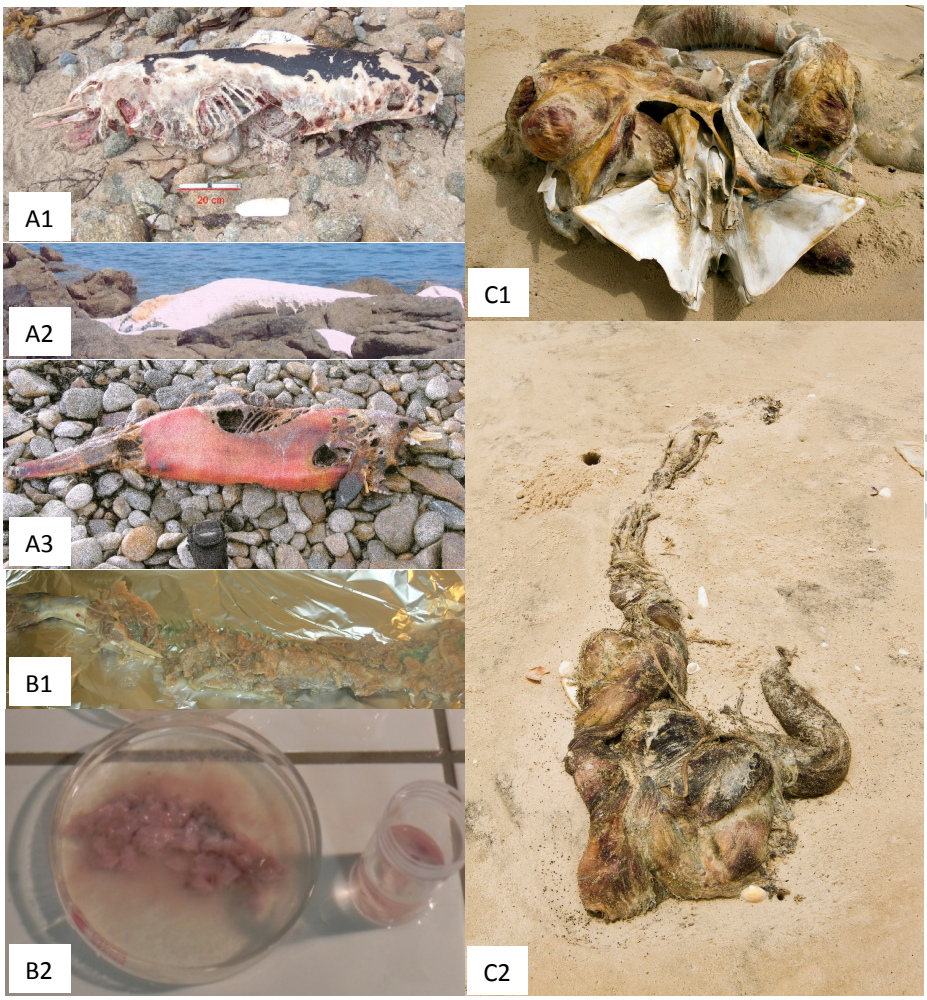


Figure 2 : Exemple d'échantillons très dégradés dont l'espèce a été identifiée par *code-barre ADN*

A1-3 : Parties de cétacés échoués le long de la côte finistérienne et identifiés comme dauphin commun (A1 et A3) et rorqual commun (A2). © Réseau national échouage

B1-2 : Reste de proies retrouvés dans l'estomac d'une phoque gris (B1) et d'un marsouin commun (B2) © BioGeMME-Océanopolis

C1-2 : Restes partiels de grands cétacés retrouvés le long des côtes Mauritaniennes, et identifiés comme provenant d'un rorqual boréal. ©Wim Mullié

version avant mise en page

Figure 3 : Le spécimen "MauBs3", retrouvé en novembre 2013 en Mauritanie par Wim Mullié dans le cadre du programme "Biodiversité Gaz Pétrole" et identifié par la suite par *code-barre ADN* comme appartenant à l'espèce *Balaenoptera omurai.* Photographie ©Wim Mullié

version avant mise en page

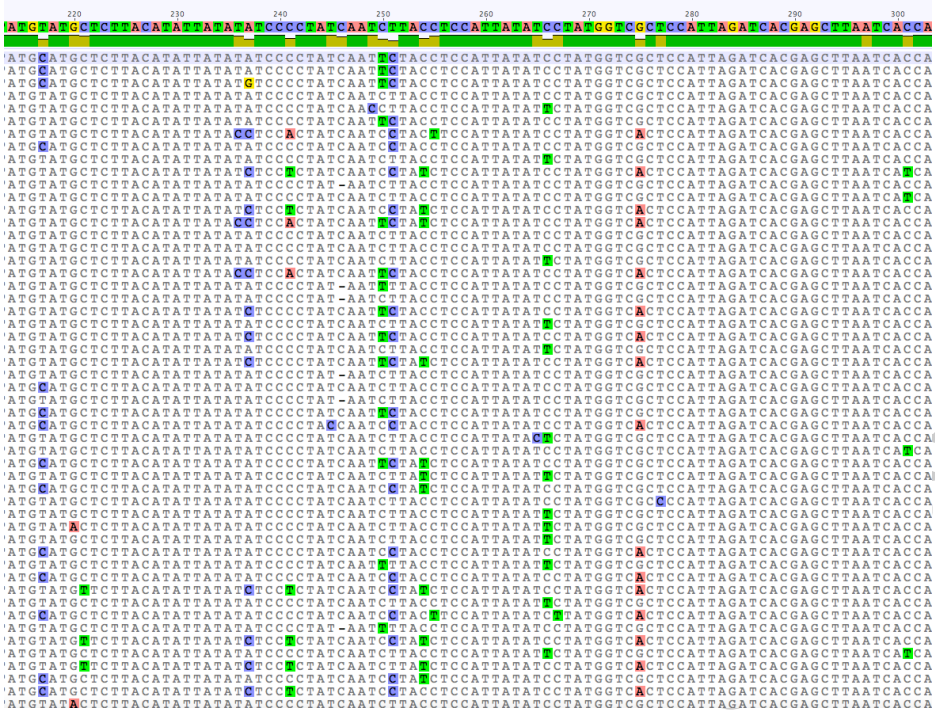

**Figure 4 : Exemple d'alignement de séquences d'ADN**. Les séquences d'une même région du génome (nucléaire ou mitochondrial) sont déterminées chez différents individus de la même espèce, par exemple, comme ici, chez différents grands dauphins. Elles sont ensuite alignées selon leurs ressemblances (chaque ligne correspond à la séquence d'un individu) et les différences mises en évidences (ici grâce à un code couleur). @BioGeMME

version avant mise en page

# Quelques lectures (en anglais) pour aller plus loin

## Sur l'utilisation du *code barre ADN* chez les mammifères marins

Mullié W.C., Ba O., Marret F., Wagne M.M., Ould Bilal A.S., Ould Sidaty Z.E.A., **Jung J.-L.** & Van Waerebeek K. (2015) Monitoring large marine vertebrates through DNA barcoding. *Barcode Bulletin*. 6(4):10-11.

Méheust E., Alfonsi E., Le Menec P., Hassani S. & **Jung J.-L.** (2015) DNA-barcoding identification of soft remains of prey in the stomach contents of grey seals (*Halichoerus grypus*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*). *Marine Biology Research*, 11:385-395.

**Jung J.-L.** & Hassani S. (2015) Analyzing Marine Predator Diets of the Iroise Sea. *Barcode Bulletin*. 6(1): 4-5.

Alfonsi E.*, Méheust E.*, Fuchs S., Carpentier F.-G., Quillivic Y., Viricel A., Hassani S. & **Jung J.-L.** (2013) The use of DNA barcoding to monitor the marine mammal biodiversity along the French Atlantic coast. *Zookeys,* 365:5–24.

## Sur la découverte de *Balaenoptera omurai* en Mauritanie et celle d'une nouvelle espèce de baleine à bec

**Jung J.-L.***, Mullié W.C.*, Van Waerebeek K.*, Wagne M.M., Samba Ould Bilal A., Ould Sidaty Z.A., Toomey L., Méheust E. & Marret F. (2016) Omura's whale off West Africa: autochthonous population or inter-oceanic vagrant in the Atlantic Ocean? *Marine Biology Research*, 12:66-75.

Morin P.A., Baker C.S., Brewer R.S., Burdin A.M., Dalebout M.L., Dines J.D., Fedutin I., Filatova O., Hoyt E., **Jung J.-L.**, Lauf M., Potter C.W., Richard G., Ridgway M., Robertson K.M. & Wade P.M. (2016) Genetic structure of the beaked whale genus *Berardius* in the North Pacific, with genetic evidence for a new species. *Marine Mammal Science*. doi:10.1111/mms.12345

version avant mise en page