

Prélèvements d'ADN non invasifs par écouvillonnage de grands dauphins en milieu naturel dans le Parc naturel marin d'Iroise : un test réussi !

Jean-Luc JUNG^{1*}, Justine GIRARDET¹, Armel BONNERON²,
Stéphane DIXNEUF², Cécile GICQUEL²

¹Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité (ISYEB), Muséum national d'Histoire naturelle, CNRS, Sorbonne Université, EPHE, UA, et Station marine de Dinard, 35800 Dinard, France.

²Parc naturel marin d'Iroise, OFB, Pointe des renards, 29217 Le Conquet, France.

*Contact : jean-luc.jung@mnhn.fr

Le Parc naturel marin d'Iroise, situé à la pointe de la Bretagne, abrite deux groupes côtiers de grands dauphins (*Tursiops truncatus*, Fig. 1). Il est aussi fréquenté par des grands dauphins pélagiques de passage. Des grands dauphins solitaires et familiers peuvent aussi y être rencontrés, tels, récemment, Zafar et Randy (Nunny et Simmonds, 2019). Ces grands dauphins, et tout spécialement les deux groupes côtiers, sont suivis depuis des années par les équipes du Parc naturel marin d'Iroise, notamment par des approches de photo-identification. Aucune donnée génétique les concernant n'est disponible, mais des campagnes de prélèvement de biopsies sont difficilement envisageables à cause de leur impact en matière de dérangement. Pourtant, estimer les flux de gènes entre les groupes côtiers voisins ou avec les individus pélagiques est de grande importance en matière de conservation. Décrypter les liens entre relations familiales et structure sociale des groupes côtiers est également nécessaire pour bien comprendre leur dynamique.

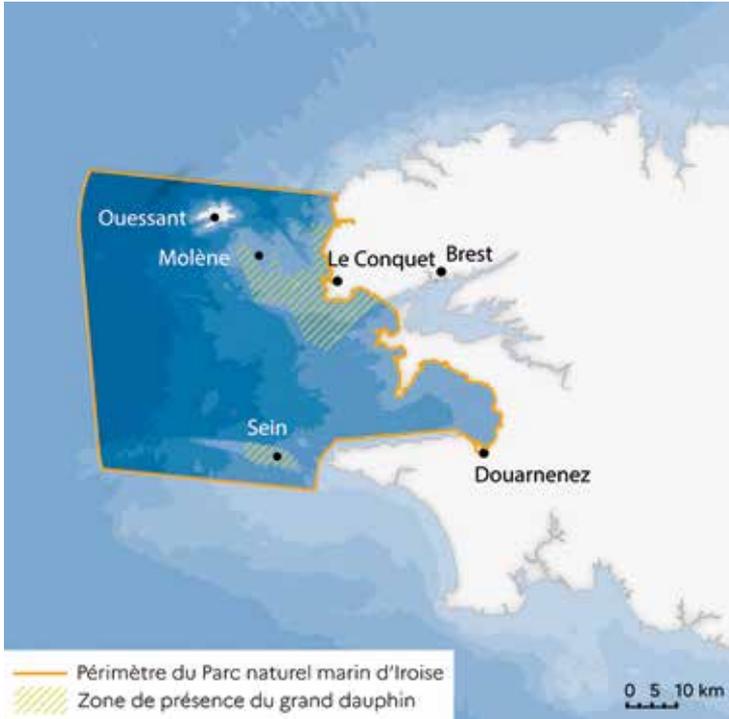


Figure 1. Périmètre du Parc naturel marin d'Iroise et zones de présence pour les deux groupes de grands dauphins côtiers (© Parc naturel marin d'Iroise – OFB).

Une approche reposant sur des prélèvements non-invasifs peut représenter une solution. Nous avons pu par exemple étudier de manière fine les liens familiaux au sein d'un groupe social de cachalots sans réaliser de biopsies, mais en prélevant des fragments de peaux mortes libérés spontanément (Sarano *et al.*, 2021 ; Girardet *et al.*, 2022). Chez les delphinidés, des prélèvements de souffle ou de cellules externes de l'épiderme ont déjà été utilisés comme source d'ADN (Frère *et al.*, 2010 ; Harlin *et al.*, 1999 ; Delfour *et al.*, 2014). En Iroise, certains grands dauphins peuvent s'approcher des bateaux de manière récurrente. Nous avons conçu une approche d'échantillonnage non invasive par écouvillonnage afin d'obtenir des échantillons exploitables pour des analyses ADN (Fig. 2). Les écouvillons choisis (« Puritan sterile cotton tipped applicators » Puritan, Guilford, Maine, USA) sont conçus spécifiquement pour les prélèvements d'ADN.



Figure 2. Écouvillons utilisés pour réaliser les prélèvements (Puritan, Guilford, Maine, USA).

Des prélèvements ont été effectués à titre expérimental en frottant la peau de dauphins depuis le bateau avec l'écouvillon, soit lorsque le dauphin est en partie émergé (peau en contact avec l'air) ou en immersion (écouvillon frotté à la peau du dauphin en dessous de la surface de l'eau). Après prélèvement, les écouvillons ont été conservés sur le bateau pour le reste de la sortie en mer, puis placés à -20°C jusqu'à extraction de l'ADN. Des fragments de l'ADN mitochondrial ont été amplifiés puis séquencés. Les protocoles d'extractions de l'ADN sont équivalents à ceux décrits dans Jung *et al.* (2016) ; l'amplification de l'ADN mitochondrial a été réalisée dans les conditions décrites par Louis *et al.* (2014).

Dans cette étape de test, neuf échantillons ont été prélevés, sur deux grands dauphins solitaires (Zafar et Randy, respectivement 2 et 1 prélèvements) ainsi que sur 6 grands dauphins de l'archipel de Molène. Seize extractions d'ADN ont été réalisées, dont 13 ont permis d'obtenir des séquences d'ADN mitochondrial de qualité (Fig. 3).

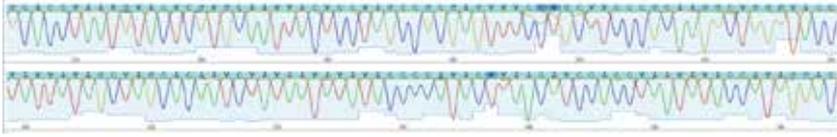


Figure 3. Exemple de chromatogramme exploitable obtenu après séquençage avec l'amorce DLP1.5 dans les conditions de Louis *et al.* (2014).

Nous avons pu comparer nos données entre elles ainsi qu'avec les haplotypes définis par Louis *et al.* (2014), qui permettent de distinguer génétiquement grands dauphins pélagiques et côtiers en Atlantique nord. Nous avons identifié 2 haplotypes différents dans nos échantillons, correspondant aux haplotypes KF650783 et KF650784 de Louis *et al.* (2014). Ces haplotypes sont tous deux retrouvés chez des groupes de grands dauphins côtiers (KF650783 est qualifié de « côtier nord » et est retrouvé principalement au nord de l'Angleterre, KF650784 étant quant à lui qualifié de « côtier sud » et retrouvé principalement dans la Manche ; Louis *et al.*, 2014). Un tel résultat était donc attendu pour le groupe côtier de Molène. Les deux individus solitaires, Randy et Zafar (Nunny et Simmonds, 2019), présentent deux haplotypes différents : Randy possède l'haplotype KF650783 alors que Zafar a l'haplotype KF650784. Ces résultats suggèrent que Zafar et Randy pourraient bien être originaires de groupes côtiers. Ces premiers tests ont été menés depuis le terrain jusqu'aux analyses de laboratoire. Ils démontrent que notre approche d'échantillonnage non invasive est réalisable concrètement et permet d'obtenir des échantillons biologiques source d'ADN en qualité et quantité suffisantes pour leur analyse.

Une demande d'autorisation a été déposée auprès du CSRPN (Conseil Scientifique Régional du Patrimoine Naturel) de Bretagne afin de poursuivre ce projet sur une plus grande échelle, et de caractériser génétiquement les deux groupes côtiers du parc naturel marin d'Iroise. Cette approche pourrait aussi être appliquée ailleurs, par exemple pour étudier les groupes de grands dauphins des sanctuaires Pelagos en Méditerranée (Notarbartolo-di-Sciara *et al.*, 2008 ; Gnone *et al.*, 2011) et Aoga dans les Antilles.

Références

- DELFOUR F., MÉHEUST E., ADAM O., MERCERA B., JUNG J.-L., 2014. Optimizing non-invasive sampling for genetic studies of marine mammals. *42nd Annual EAM Symposium*, Mars 2014, Tenerife, Espagne.
- FRÈRE C.H., KRZYSZCZYK E., PATTERSON E.M., HUNTER S., GINSBURG A., MANN J., 2010. Thar she blows! A novel method for DNA collection from cetacean blow. *PLoS ONE*, 5(8): e12299. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012299>
- GIRARDET J., SARANO F., RICHARD G., TIXIER P., GUINET C., ALEXANDER A., SARANO V., VITRY H., PREUD'HOMME A., HEUZEY R., GARCIA A., ADAM O., MADON B., JUNG J.-L., 2022. Long distance runners in the marine realm: New insights into genetic diversity, kin relationships and social fidelity of Indian Ocean male sperm whales. *Front. Mar. Sci.*, 9: 815684. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.815684>
- GNONE G., BELLINGERI M., DHERMAIN F., DUPRAZ F., NUTI S., BEDOCCHI D., MOULINS A., ROSSO M., ALESSI J., McCREA R.S., AZZELLINO A., AIROLDI S., PORTUNATO N., LARAN S., DAVID L., DI MEGLIO N., BONELLI P., MONTESI G., TRUCCHI R., FOSSA F., WURTZ M., 2011. Distribution, abundance, and movements of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in the Pelagos Sanctuary MPA (north-west Mediterranean Sea). *Aquatic Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 21: 372-388. <https://doi.org/10.1002/aqc.1191>

- HARLIN A.D., WÜRSIG B., BAKER C.S., MARKOWITZ T.M., 1999. Skin swabbing for genetic analysis: application to dusky dolphins (*Lagenorhynchus obscurus*). *Mar. Mammal Sci.*, 15: 409-425. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1999.tb00810.x>
- 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? *Mar. Biol. Res.*, 12:66-75.
- LOUIS M., VIRICEL A., LUCAS T., PELTIER H., ALFONSI E., BERROW S., BROWNLOW A., COVELO P., DABIN W., DEAVILLE R., DE STEPHANIS R., GALLY F., GAUFFIER P., PENROSE R., SILVA M.A., GUINET C., SIMON-BOUHET B., 2014. Habitat-driven population structure of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, in the North-East Atlantic. *Mol. Ecol.*, 23: 857-874. <https://doi.org/10.1111/mec.12653>
- NOTARBARTOLO-DI-SCIARA G., AGARDY T., HYRENBACH D., SCOVAZZI T., VAN KLAVEREN P., 2008. The Pelagos Sanctuary for Mediterranean marine mammals. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.* 18: 367-391. <https://doi.org/10.1002/aqc.855>
- NUNNY L., SIMMONDS M.P., 2019. A Global Reassessment of Solitary-Sociable Dolphins. *Front. Vet. Sci.*, 5:331. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00331>
- SARANO F., GIRARDET J., SARANO V., VITRY H., PREUD'HOMME A., HEUZEY R., GARCIA-CEGARRA A.M., MADON B., DELFOUR F., GLOTIN H., ADAM O., JUNG J.-L., 2021. Kin relationships in cultural species of the marine realm: case study of a matrilineal social group of sperm whales off Mauritius Island, Indian Ocean. *R. Soc. Open Sci.*, 8 (2): 201794. <https://doi.org/10.1098/rsos.201794>