

Evaluation du microbiote respiratoire comme indicateur de santé des populations nord et sud de baleines à bosse (*Megaptera novaeangliae*)

Direction de thèse

Prof Olivier ADAM, Institut Jean le Rond d'Alembert, Sorbonne Université – bioacoustique et spécialiste des cétacés

Prof Sébastien DUPERRON, Muséum National d'Histoire Naturelle – UMR 7245 MCAM - écologie microbienne

Autres collaborateurs : **DR Isabelle CHARRIER**, Neurosciences Paris-Saclay, **Prof Olivier GROS**, U. Antilles, UMR 7205 ISYEB, **Dr Anjara Saloma**, Cetamada

Contexte

L'intensification de nombreuses activités humaines en mer, telles que la pêche et le trafic maritime, augmentent la pression exercée sur les populations de grands mammifères marins (Ryan et al., 2023). **Les baleines à bosse *Megaptera novaeangliae*** sont placées en statut « *least concern* » sur la liste rouge de l'IUCN (Cooke, 2018), et il est important de maintenir les politiques de conservation en faveur de cette espèce emblématique, ce qui passe par l'approfondissement des connaissances, en particulier de l'état sanitaire des individus, difficile à suivre en raison de leur grande mobilité, leur milieu de vie et à la nécessité de limiter leur dérangement lors des prélèvements.

Le microbiote de différentes espèces a émergé comme **un marqueur pertinent de l'état de santé**, à la fois de l'organe dont il est analysé (par exemple la détection de pathogènes), mais aussi plus généralement de l'individu hôte (McFall-Ngai et al., 2013). Les études portant sur les cétacés (en captivité ou sur des échouages) semblent indiquer une prédisposition aux pathologies impliquant le système respiratoire (Gonzales-Viera et al., 2011). Mais récemment, il a été montré que prélever des échantillons de leurs souffles peut être aussi effectué en milieu naturel, en s'approchant raisonnablement des individus de manière non invasive.

La pertinence des analyses de microbiote, notamment respiratoire, dans le suivi sanitaire des populations de cétacés n'a pas encore été évaluée en comparaison avec des paramètres plus classiquement utilisés (scores corporels, dosages hormonaux, microbiote cutané). Leur potentiel à révéler la présence de pathogènes ou de maladies reste largement inexploré. Le projet de thèse propose **d'analyser et de suivre dans le temps le microbiote de baleines à bosse à partir d'échantillons de leurs souffles. D'autres méthodes complémentaires** seront également réalisées, tout en respectant les chartes d'approche et de respect des cétacés : biopsies cutanées, photogrammétries et données d'échouage afin de pouvoir estimer leur état de santé. L'analyse de ces différents éléments pourrait faciliter **l'évaluation de l'état de santé des individus d'une population**, dans le cadre de procédures standardisables.

Objectif scientifique

Le but de cette étude est de **déterminer si le microbiote respiratoire est un indicateur objectif pertinent de l'état sanitaire des baleines à bosse** ; et par conséquent sur la potentielle fragilité de cette espèce. D'autre part, il s'agit de comparer sur le long terme des souffles collectés sur plusieurs années (en 2018, 2023, 2024, 2025 et 2026).

Cette étude visera à confronter la composition du microbiote respiratoire à d'autres indices sanitaires (hormones sexuelles et de stress, score corporel...) et mettra en évidence des différences intra- et inter-populations, ainsi que de décrire, pour la 1^{ère} fois, le microbiote des baleineaux nouveau-nés et le lien avec celui de leur mère.

Justification de l'approche scientifique

L'accès au microbiote respiratoire passe par la collecte de souffles de baleines à bosse, ce qui est réalisé en capturant les gouttelettes de souffle de baleines lors de leurs respirations en surface, sur la surface stérile de boîtes de Petri sans milieu de culture, placées au bout d'une perche. Le microbiote respiratoire se compose d'une diversité de micro-organismes incluant les bactéries, les archées, les protistes et les virus. Le séquençage à haut débit de gènes marqueurs (métabarcoding ARNr 16S, 18S à l'aide d'amorces universelles procaryotes et eucaryotes (non métazoaires, séquençage Illumina) permettra d'**identifier les membres de ce microbiote** sans devoir recourir à la mise en culture qui sous-estime la diversité réellement présente. Le séquençage du métagénome de ces communautés microbiennes (Illumina HiSeq) permettra d'**inventorier les fonctions potentielles** de ce microbiote (voies métaboliques, gènes de production de toxines...), ainsi que de révéler la présence de virus à ADN. La comparaison avec les bases de données pourra révéler des **espèces potentiellement pathogènes** pour l'hôte.

D'autres données seront collectées sur les mêmes individus : biopsies passives (squames) ou actives (en utilisant une flèche tirée via une arbalète permettant le carottage de peau). Ces échantillons cutanés permettront d'**identifier génétiquement les individus**, de mesurer les **taux d'hormones sexuelles** (testostérone, progestérone...) et

de stress par immunodétection spécifique des hormones dans la couche de gras. Le **sexe ratio** sera déterminé en étudiant 2 gènes marqueurs : SRY et ZFX/ZFY. Le taux d'hormone stéroïde sera déterminé en utilisant une méthode de radio-immuno-assay (RIA). Les **données biométriques** (« body score ») seront obtenues à partir d'images aériennes de drone.

Afin de se prémunir de biais éventuels liés aux particularités des populations étudiées, un **comparatif entre les populations de baleines à bosse** de l'hémisphère sud et de l'hémisphère nord sera réalisé. De plus, une comparaison entre zone d'alimentation et zone de reproduction sera effectuée dans l'hémisphère nord. Cette étude prévoit donc trois zones de terrain qui seront échantillonnées deux années de suite. La première est une population de l'hémisphère sud de baleines à bosse (Madagascar) durant la période de reproduction. Le second volet s'intéressera aux populations Nord dans les zones de reproduction (Guadeloupe) et d'alimentation (St-Pierre-et-Miquelon).

Les données issues de l'analyse du microbiote seront analysées à l'aide de statistiques multivariées qui permettront de comparer les microorganismes identifiés à des **listes de pathogènes connus de mammifères** (dont les cétacés) ; le microbiote respiratoire du **baleineau par rapport à sa mère** ou à d'autres individus adultes ; les **variations du microbiote d'une population entre années** d'échantillonnage ; et enfin les **différences entre populations nord et sud**. Ces données seront comparées avec les autres indicateurs de santé (sexe, hormones, présence d'un baleineau, body score) afin de **relier l'état de santé et le microbiote**, et de révéler l'existence de taxons ou de fonctions fortement corrélés à ces paramètres, et pouvant donc servir de **bio-indicateurs**, validant la pertinence du microbiote comme indicateur de l'état sanitaire.

Faisabilité du projet :

Le projet de thèse s'appuiera sur des organisations locales pour la logistique et les matériels : Cétamada (Madagascar, depuis 2009) ; l'Université des Antilles (O. Gros, UMR ISYEB) ; et SPM Frag'iles (J. Detcheverry ; Saint-Pierre-et-Miquelon). Des tests préalables ont déjà validé le protocole de collecte des souffles et de leur analyse par métabarcoding pendant deux campagnes de terrain (2018, 2023, plus de 69 souffles collectés à chaque fois). L'échantillonnage cutané est intégré aux saisons annuelles de récoltes. Les laboratoires partenaires disposent des compétences dans les outils moléculaires et bioinformatiques nécessaires à la production et l'analyse des résultats.

Adéquation à l'Institut ou l'Initiative

Le projet permettra de renforcer les connaissances dans un **contexte de fragilisation dû à l'intensification des activités humaines**. Il implique des chercheurs aux compétences élargies, avec pour motivation scientifique d'explorer les océans et les écosystèmes marins dont les grandes baleines sont considérées comme keystone species. Cette recherche est basée sur la collaboration entre deux laboratoires de l'Alliance Sorbonne Université aux compétences complémentaires : suivi de terrain et anatomie du système respiratoire (O. Adam) ; et microbiologie (S. Duperron), et bénéficie de collaborations sur le terrain (CNRS, Université des Antilles, Cétamada, SPM Frag'iles).

Profil du candidat recherché

Biologiste ou microbiologiste marin, avec une très bonne connaissance des mammifères marins (biologie, comportement, physiologie) ; motivation pour le terrain ; grande autonomie et capacité à s'adapter ; une compétence vétérinaire serait un plus

Bibliographies - References

Cooke J.G., 2018. *Megaptera novaeangliae*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T13006A50362794. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T13006A50362794.en>

Gonzales-Viera O., Chavera A., Yaipén-Llanos C. & Perales-Camacho R., 2011. Histopathological Aspects and Etiology of Pneumonias in Stranded Marine Mammals from Lima, Peru. *Braz J Vet Pathol*, 4(1):23-29.

McFall-Ngai M., Hadfield M.G., Bosch T.C.G., Carey H.V., et al, 2013. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110:3229–36. doi: 10.1073/pnas.1218525110

Ryan C., Santangelo M., Stephenson B., Branch T.A., Wilson E.A. & Savoca M.S., 2023. Commercial Krill Fishing Within a Foraging Supergroup of Fin Whales in the Southern Ocean. *Ecology*, 104(4):e4002. <https://doi.org/10.1002/ecy.4002>