

Sujet de Stage Master 2 de février à juin 2024

Rôle de la médiation chimique et impact du stress lié au pâturage dans la relation entre un papillon en voie d'extinction (le Damier de Godart) et sa plante hôte (la Céphalaire blanche)

Le contexte du stage :

Le Damier de Godart *Euphydryas desfontainii* (Godart, 1819) est un papillon de jour protégé et en régression. L'espèce est extrêmement localisée en France avec seulement 3 stations connues, toutes situées dans les Pyrénées-Orientales et l'Aude.

Plus d'informations ici : <https://www.gor66.fr/damier-de-godart/>.

E. desfontainii utilise en France la Céphalaire blanche *Cephalaria leucantha* (L.) Schrad. ex Roem. & Schult., 1818 comme unique plante-hôte lors de son cycle larvaire, tandis qu'à l'état imaginal c'est le Thym *Thymus vulgaris* L., 1753 qui fait office de plante nourricière principale. La présence et la survie de l'espèce sur un site est donc étroitement conditionnée par la présence l'abondance de ces 2 plantes. Or, nous avons constaté que ce papillon ne semble pas se reproduire sur certaines parcelles apparaissant pourtant très favorables (présence de Thym et Céphalaire au sein de milieux très similaires à ceux où l'espèce se reproduit). De la même manière, l'espèce a récemment disparu d'une station où les milieux ne paraissent pas avoir significativement évolué lors des 2 dernières décennies. Le seul point commun identifié entre ces sites est l'absence de pâturage ou d'une quelconque forme de gestion de ces milieux. La bibliographie nous offre des pistes de réflexion intéressantes : ainsi, il semblerait que la production de Glycosides (ou autres composés) chez la Céphalaire soit stimulée en réponse à un stress tel que le pâturage par exemple. Or, certaines espèces de papillons (cela a été montré chez des *Euphydryas* néarctiques) semblent être capables de percevoir l'existence d'un taux important de glycosides chez leur plante-hôte, ce qui stimulerait le réflexe de ponte des femelles. Ce phénomène s'expliquerait notamment par le fait que ces glycosides sont assimilés par les jeunes chenilles, ce qui les rendraient toxiques pour leurs prédateurs potentiels.

Nous émettons l'hypothèse que l'absence du Damier de Godart sur les stations *a priori* favorables est probablement due à l'absence de stress chez les pieds de *C. leucantha* présents, ce qui entrainerait une production réduite (voire une absence de production) de ces Glycosides (ou autres composés) par les plantes, et rendrait de fait ces sites défavorables pour *Euphydryas desfontainii*.

Ce projet financé par la Fédération de Recherche Energie Environnement de l'UPVD se fera en partenariat avec le Groupe Ornithologique du Roussillon (GOR), une association loi 1901, qui œuvre depuis 1990 pour la connaissance et la conservation des espèces et des habitats principalement dans les Pyrénées-Orientales. Il sera réalisé sur le terrain et dans les laboratoires CRIOBE et LGDP de l'UPVD. Les analyses seront effectuées sur les plateformes Bio2Mar (MSXM) et Bio-Environnement de l'UPVD.

L'objectif du stage et les missions:

Nous proposons, à travers cette étude, de caractériser les potentiels médiateurs chimiques produits par la Céphalaire blanche, qui sont susceptibles de favoriser la ponte du Damier de Godart sur cette plante hôte et d'observer si l'effet du stress stimule leur production.

- Dans un premier temps, nous allons évaluer l'hypothèse selon laquelle les différences de composition chimique entre les plantes des différentes zones de l'étude pourraient expliquer l'hétérogénéité de la répartition du Damier de Godart à travers une approche de métabolomique non-ciblée.

- Dans un second temps, nous allons caractériser l'effet d'un stress sur le métabolome et le transcriptome de la Céphalaire blanche par une approche expérimentale sur le terrain de manière à évaluer l'hypothèse d'une stimulation de la biosynthèse de ces médiateurs chimiques dans la plante stressée.

Pour atteindre ces objectifs, le projet s'articulera en 2 parties :

Partie 1 : Caractérisation de la diversité chimique (chemiotypes) de la Céphalaire blanche sur des sites géographiques contrastés.

Dix individus par site seront échantillonnés sur 5 sites (2 favorables, 1 en déclin et 2 défavorables, voir figure A). Les répliques collectés dans chaque zone seront lyophilisés, et analysés de la manière suivante :

- caractérisation de la chemosphère (composés volatiles susceptibles d'attirer les papillons lors de la ponte) par extractions dans l'hexane et analyses en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

- caractérisation de l'endométabolome « spécialisé » (métabolites secondaires non volatiles susceptibles d'être ingérés par les chenilles) par extraction à l'acétate d'éthyle et analyses en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-HRMS).

- caractérisation de l'endométabolome « primaire » (métabolites primaires susceptibles d'attirer les papillons lors de la ponte) par extraction avec un mélange hydroalcoolique et analyses en résonance magnétique nucléaire (RMN).

Partie 2 : Effet du stress sur le métabolome et le transcriptome de la Céphalaire blanche.

Sur une zone défavorable, 10 plantes non stressées et 10 plantes stressées par effet d'un broutage sélectif seront collectées. Les répliques récoltés seront broyés, homogénéisés et divisés en deux : une partie sera analysée par la méthode analytique ayant permis de mettre en évidence des différences métaboliques entre les sites de l'axe 1 et une partie sera immergée dans une solution de RNAlater, puis congelée à -20°C jusqu'à extraction des ARN messagers. Ces derniers seront séquencés par une méthode de séquençage haut-débit (technologie Illumina). Les transcriptomes des individus stressés seront assemblés *de novo*, et les lectures brutes alignées sur ces assemblages afin d'estimer les niveaux d'expression des gènes. Puis, une analyse spécifique permettra d'étudier les gènes différentiellement exprimés entre le lot contrôle et le lot brouté afin de définir des gènes candidats dont les niveaux d'expression seront ensuite associés aux résultats métabolomiques via des outils dédiés.

Profil du candidat :

Solides connaissances en chimie analytique.

Des notions de biologie, d'écologie et de traitement de données en métabolomique (LC-MS et RMN) et en transcriptomique sont souhaitables.

Contact : Nathalie Tapissier (nathalie.tapissier@univ-perp.fr), Joris Bertrand (joris.bertrand@univ-perp.fr) et Cédric Bertrand (cedric.bertrand@univ-perp.fr).