

ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE DU CODAGE DE L'INFORMATION OLFACTIVE
CHEZ L'ABEILLE *APIS MELLIFERA*

P. Déglise

Laboratoire de Neurobiologie de l'Insecte, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne,
31062 Toulouse cedex.

INTRODUCTION

L'olfaction chez les insectes est un sens très développé qui joue un rôle important dans la recherche de nourriture, la reconnaissance des congénères et la communication intra et inter spécifique.

L'organisation du système olfactif de l'insecte présente de fortes similitudes avec celle décrite chez le vertébré ce qui rend le modèle insecte particulièrement intéressant pour l'étude électrophysiologique du codage de l'information olfactive au niveau du cerveau. Les molécules odorantes sont captées par les neurones sensoriels olfactifs répartis tout le long de l'antenne. Ces neurones envoient leurs axones dans les lobes antennaires (l'équivalent du bulbe olfactif des vertébrés) où ils se répartissent dans des neuropiles globulaires appelés glomérules. L'information est relayée des lobes antennaires vers les corps en champignon, par les neurones de projection, équivalents des cellules mitrales des vertébrés. Au sein des glomérules des interneurons locaux gabaergiques assurent une régulation inhibitrice des réseaux nerveux. Les corps en champignon sont des structures paires, qui assurent la perception de l'odeur. Chaque corps en champignon comporte deux calices et un pédoncule. Dans les calices les neurones de projection se connectent aux dendrites des cellules de Kenyon. Les axones de ces cellules constituent la voie de sortie vers les pédoncules et forment les lobes alpha et bêta.

Des enregistrements électrophysiologiques chez la sauterelle et l'abeille (Laurent G. et al. 1994) (Stopfer M. et al. 1997) ont récemment montré que la présentation d'un stimulus olfactif provoque l'apparition d'une activité oscillatoire au sein des calices. La stimulation déclenche également l'activation d'un ensemble de neurones de projection dont la décharge est synchronisée avec les oscillations. Chaque odeur active un ensemble spécifique de neurones évoluant dans le temps, créant ainsi un profil d'activation spatio-temporelle unique (Laurent G. et al. 1996).

Le but de notre recherche est de vérifier chez l'abeille si les paramètres de synchronisation entre les neurones de projection des lobes antennaires et les cellules de Kenyon des corps en champignons sont conservés lorsqu'une odeur est associée à une récompense, c'est-à-dire lorsque l'odeur utilisée comme stimulus conditionnel est associée à un renforcement au cours d'un conditionnement olfactif de type pavlovien.

MATERIEL ET METHODES :

Tous les enregistrements ont été effectués sur des abeilles butineuses *Apis Mellifera*. Les abeilles sont prélevées sur un nourrisseur, situé à distance du rucher, assurant ainsi uniquement la capture de butineuses.

Les animaux sont fixés dans un tube de plexiglas au niveau du thorax, la tête est immobilisée grâce à un mélange de cire et de colophane. Une ouverture en forme de rectangle est pratiquée entre la base des antennes, les calices et les yeux. Les glandes sont retirées ainsi que les trachées afin d'assurer un meilleur contact entre l'électrode d'enregistrement et le tissu. Le tube digestif est retiré afin d'éliminer toute source de mouvements du cerveau de l'animal.

Les odeurs utilisées sont le pentanol, l'hexanol, le citral, le géraniol et le café. Elles sont délivrées pendant une seconde à une fréquence de 0,1 Hz, grâce à un système contrôlé par ordinateur.

Pour les enregistrements extracellulaires, les électrodes utilisées sont en borosilicate, et leur diamètre interne est de $1\mu\text{M}$. La solution interne est un liquide physiologique (en mM : 140 NaCl, 5 KCl, 5 CaCl_2 , 4 NaHCO_3 , 1 MgCl_2 , 6.3 HEPES, pH 7), servant également pour la perfusion de l'animal.

Les enregistrements intracellulaires sont effectués grâce à des électrodes en borosilicate ayant une résistance interne de $150\text{ M}\Omega$ et remplies d'acétate de potassium à 0,3M. Le signal est amplifié (AM-systems, 1800), puis filtré avec un filtre passe bande de type butterworth d'ordre 2 (5 Hz, 45 Hz). Il est digitalisé par une carte d'acquisition (National Instruments, 16 bits , PCI-6034 E), et pilotée par le logiciel Labview (National instruments). Les enregistrements sont visualisés et analysés par ordinateur grâce à des routines écrites en langage G (National Instruments) et sous Matlab (The Mathworks inc.).

RESULTATS

Ce travail a tout d'abord consisté à enregistrer des signaux extracellulaires, c'est-à-dire des oscillations, provenant des corps en champignon. Le seul site favorable à de tels types d'enregistrements est localisé autour des lobes alpha, plus précisément en position latérale et dorsale.

Plusieurs odeurs ont été testées, seul le citral induit une réponse importante au niveau de ce site d'enregistrement.

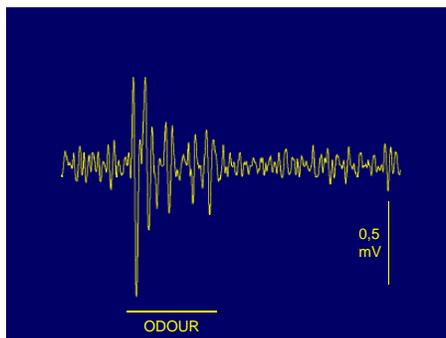


Figure 1 : Exemple d'enregistrement extracellulaire au niveau des corps en champignon de l'abeille.

L'odeur présentée est le citral, et est présentée pendant une seconde.

Toutes les caractéristiques des ces oscillations ont été définies : l'amplitude est de l'ordre du millivolt ce qui est en accord avec les résultats précédents (Stopfer M. et al. 1997). La durée de la réponse est courte, 400-800 ms, contrairement aux réponses observées chez la sauterelle (Laurent G. et al. 1994) (Stopfer M. et al. 1999) chez laquelle les oscillations sont visibles pendant toute la durée de la stimulation odorante (1 seconde) ; la fréquence du signal est comprise entre 20 et 35 Hz.

Après marquage du site d'enregistrement à la rhodamine dextran, les voies marquées correspondent aux axones des cellules de Kenyon, allant se projeter dans le lobe alpha.

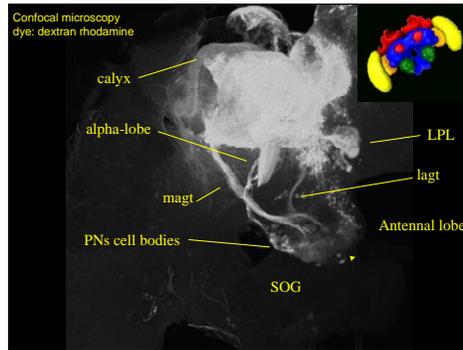


Figure 2 : Microscopie confocale du site d'enregistrement situé dans un corps en champignon d'abeille, marqué avec de la rhodamine dextran.

Afin de confirmer que les oscillations obtenues proviennent bien de l'activité nerveuse et ne sont pas des artefacts, des injections de picrotoxine (100 μ M, 0.1nl) (antagoniste des récepteurs GABA), ont été pratiquées au niveau des lobes antennaires. Vingt minutes (à corriger si nécessaire) après l'injection de la drogue, les oscillations disparaissent. La picrotoxine inhibe l'activité des neurones locaux et donc empêche la synchronisation de l'activité d'ensembles de neurones de projection, à l'origine des oscillations. Cette expérience démontre bien que le signal enregistré en bordure du lobe alpha est de nature neuronale.

La deuxième étape du travail a consisté à enregistrer les neurones de projection au niveau des lobes antennaires. Les enregistrements intracellulaires des neurones de projection ont montré qu'il y avait deux grands types de réponse à la suite d'une stimulation odorante, soit une augmentation de la fréquence de décharge de ces neurones, soit une inhibition.

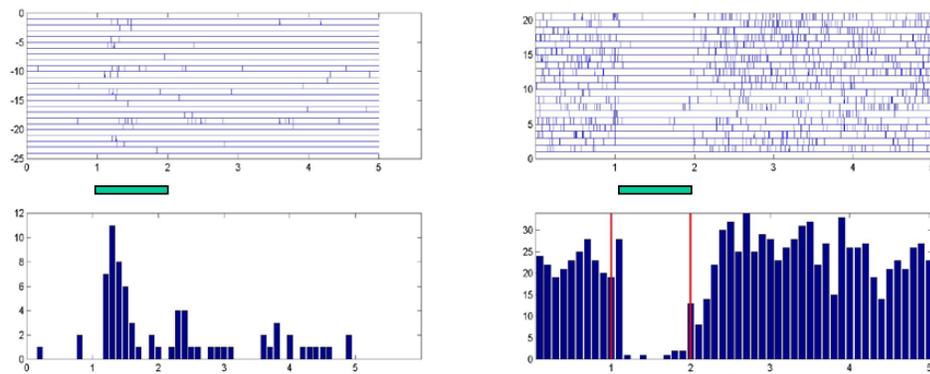


Figure 3 : Exemple de deux enregistrements intracellulaires de neurones de projection du lobe antennaire. La partie supérieure représente les rasters, et la partie inférieure, les PSTH, la présentation de l'odeur est signalée par une barre verte.

CONCLUSION

Ces résultats montrent que les oscillations obtenues sont bien de nature neuronale et que leurs caractéristiques sont semblables à celles rapportées dans les travaux de Stopfer et al 1997.

Les travaux en cours consistent à effectuer simultanément des enregistrements extracellulaires et intracellulaires chez des abeilles naïves et chez des abeilles ayant subi un conditionnement olfactif. Ces doubles enregistrements permettront de suivre l'évolution du codage d'une odeur renforcée et de le comparer au codage d'une odeur neutre.

REFERENCES

- Laurent G., Naraghi M., 1994, *Odorant-induced oscillations in the mushroom bodies of the locust*, J. Neurosci., 14(5), pp: 2993-3004.
- Laurent G., Wehr M., Davidowitz H., 1996, *Temporal representations of odors in an olfactory network*, J. Neurosci., 16(12), pp: 3837-3847.
- Stopfer M., Bhagavan S., Smith B., Laurent G., 1997, *Impaired odour discrimination on desynchronisation of odour-encoding neural assemblies*, Nature, 390, pp: 70-74.
- Stopfer M., Laurent G., 1999, *Short-term memory in olfactory network dynamics*, Nature, 402, pp: 664-668.