Etudes anatomique et électrophysiologique du Deutocérébron de Camponotus ligniperda Latr.(Hyménoptère - Formicidae).

Claudine Masson (Département de Psychophysiologie Comparée, Institut de Neurophysiologie et Psychophysiologie, C.N.R.S., 31, chemin Joseph-Aiguier Marseille 9°, France).

Les relations interindividuelles dans une société de Fourmis sont nombreuses et complexes. Les divers individus communiquent entre eux sous la forme d'un "langage" dans lequel on peut, comme le pense SUDD, (1) reconnaître effectivement trois grands types de communications : le "langage chimique", le "langage sonore", le "langage antennaire". Ces différents langages prennent une importance différente selon l'espèce considérée, et d'autre part ces trois types de communications interfèrent très largement. Le "langage antennaire" nous intéresse plus particulièrement ; mais il est difficile de le différencier rigoureusement du "langage chimique" : pour tous deux, les antennes sont les récepteurs, si elles ne sont pas toujours les émetteurs.

On aimerait pouvoir parler comme pour les Abeilles du langage des Fourmis. L'idée n'en est pas nouvelle : dès 1810, HUBER (2) traitait déjà du sujet ! Plus tard FOREL (3) met en valeur l'importance des antennes dans les communications interindividuelles chez les Fourmis ; pourtant certains auteurs ont été sceptiques sur la valeur réelle de ce langage : tel WASSMANN (4) ; pour lui il y aurait une "mise en éveil" d'un individu par un autre, au moyen de mouvements antennaires ; mise en éveil parfois suivie d'un comportement d'imitation.

Dans tout comportement interviennent évidemment un grand nombre de paramètres, il en est ainsi dans les sollicitations ou les échanges au cours de comportements alimentaires (LE MASNE, (5), LE MASNE, (6), MONTAGNER(7)). En même temps que le mouvement signal de l'antenne est capté par l'antenne réceptrice, celle-ci peut simultanément enregistrer une odeur émise tout aussi significative, l'un et l'autre étant étroitement liés et nécessaires à la poursuite d'un comportement particulier.

La lecture du langage antennaire chez les Fourmis est donc des plus complexes. J'en ai entrepris une nouvelle approche par l'étude électrophysiologique du centre nerveux principal de l'antenne, le deutocérébron. Ce travail a de nombreux aspects en cours d'exploration. Je donne dans cette note quelques-uns des premiers résultats obtenus. Avant de commencer l'étude électrophysiologique du deutocérébron de Camponotus ligniperda, j'en ai fait l'étude anatomique dont les résultats font l'objet du premier chapitre de ce travail.

(1) SUDD,J.H., 1966 - An Introduction to the Behaviour of Ants, Ed.Arnold Publ., London.
(2) HUBER,J., 1810 - Vie et Moeurs des Fourmis indigènes, Paris & Genève.
(3) FOREL,A.,1928 - The social world of ants, C.K.Putman,London & N.York.
(4) WASSMANN, E.,1899 - Zool.Stuttgart, 11, 1-132.

...

I - RESULTATS ANATOMIQUES.

a) Matériel et technique.

Ce travail porte sur des ouvrières de Camponotus ligniperda Latr. (dont la taille est celle des ouvrières "major" ou légèrement inférieure) maintenues en élevage au laboratoire sous forme de fragments de sociétés prélevées dans la nature.

L'étude anatomique a été faite, d'une part par dissection fine dans une solution physiologique, souvent accompagnée d'une coloration sélective globale au bleu de méthylène, d'autre part au moyen des techniques histologiques classiques. L'étude des trajets de fibres est faite soit par la méthode de coloration de BODIAN, soit par la méthode de FITZGERALD(1964).

Il est souvent difficile d'obtenir des coupes sériées de la tête d'ouvrières adultes : la dureté de la chitine est un obstacle réel. Toutefois une dissection partielle de la capsule céphalique et des pièces buccales, ainsi que la fixation au liquide de Halmi, suivie d'un passage à l'acide trichloracétique, nous donnent des préparations très étudiables. De plus, il faut noter, après comparaison, que le complexe céphalique d'une ouvrière adulte, et celui d'une nymphe âgée juste avant la mue imaginale sont semblables. Bien évidemment, il est beaucoup plus aisé de faire des coupes sériées dans une nymphe vu la souplesse du tégument.

b) Généralités et description anatomique.

Le deutocérébron des Insectes n'a pas fait l'objet de recherches très précises, à la différence de ce qu'on peut observer pour d'autres centres nerveux comme les lobes protocérébraux et les corps pédonculés. Pourtant ce centre nerveux est facilement identifiable sur toute préparation histologique. Très tôt de nombreux auteurs se sont penchés sur l'étude globale du deutocérébron de divers Insectes : VIALLANES (8, a & b), BALDUS (9), HANSTRÖM (10), (11), PANOV (12), - ou même sur son étude plus fine, PRIGENT (13). Mais il n'existe pas à ma connaissance de travail de ce type sur le centre antennaire des Fourmis. C'est pourquoi il m'a paru intéressant d'entreprendre une étude plus fine de ce centre afin d'être en mesure d'étudier par la technique de l'électrophysiologie les variations

---

(5) LE MASNE, G., 1951 - in Grassé, Traité Zool., 10,2, 1104-1119.
(6) LE MASNE, G., 1953 - Ann.Sci.Nat.Zool.,15, 1-56.
(7) MONTAGNER, H., 1966 - Thèse Doctorat Etat, Fac.Sci.Nancy.
(8) VIALLANES, H., 1887 - a) Ann.Sci.Nat.Zool.,7e sér.,2, 5-100.
b) Ann.Sci.Nat.Zool.,7e sér.,4, 1-98.
(9) BALDUS, K., 1924 - Zeitschr.Wiss.Zool., 121.
(10) PANOV, A.A., 1961 - Entomol.Obozr. S.S.S.R., 40, 2, 259-270.
(11) PRIGENT, J.P., 1966 - Bull.Soc.Zool.Fr., 1, 91, n°3, 365-374.
(12)HANSTRÖM,B., 1928 - Vergleichende Anatomie des Nervensystems der wirbellosentiere.J.Springer, Berlin.
(13)HANSTRÖM, G., 1940 - Kungl.svenska Vetenskapskademiens Handlingen, Tredji Serien, 18, 1-8.

de son activité électrique en fonction des diverses stimulations simples et complexes que reçoit l'antenne.

Le deutocérébron de Camponotus, situé à l'avant du complexe cérébral, est formé d'une partie droite et d'une partie gauche. Chaque moitié donne naissance à un nerf antennaire et avance en s'enfonçant antérolatéralement. Chacune de ces moitiés est elle-même subdivisée en 2 parties essentielles, l'une dite classiquement "lobe olfactif" (antérieur), l'autre "lobe moteur" (plus postérieur). En fait, au cours d'une dissection, la partie visible est le lobe olfactif.

Le lobe olfactif est le centre des projections des récepteurs de divers ordres de l'antenne. Le centre moteur organise et coordonne les mouvements antennaires dont la signification comportementale est certaine.

A l'examen histologique c'est le lobe olfactif qui est le plus facilement identifiable ; en effet, il comporte un grand nombre de structures glomérulaires pelotonnées et relativement régulières, situées à la périphérie ; ces structures sont classiquement appelées "glomérules olfactifs".

Notons que chez les Insectes la structure anatomique du lobe olfactif varie considérablement, les glomérules en sont le paramètre variable, à la fois dans leur nombre, leurs dimensions, leur situation. Il peut exister un grand nombre de glomérules uniquement situés à la périphérie, ou bien un très petit nombre (1 ou 2) plus centraux, - ils peuvent même manquer. Cette gamme de structure glomérulaire peut se rencontrer chez des Insectes de position systématique voisine : ainsi chez les Trichoptères (EHNBÖM, K(14).

Quant à leur structure, les glomérules sont formés par des pelotes de neuropiles très denses à l'intérieur desquelles viennent s'intriquer deux formations distinctes : d'une part les terminaisons dendritiques des cellules ganglionnaires corticales de la région deutocérébrale, d'autre part les terminaisons axoniques sensorielles du nerf antennaire. Toutes les régions situées entre les glomérules sont formées par les fibres nerveuses elles-mêmes, axones antennaires et dendrites ganglionnaires. Il faut ajouter que les cellules ganglionnaires sont de plusieurs groupes, d'ailleurs peu nombreux (certainement trois groupes).

Chez Camponotus ligniperda Latr. les glomérules se présentent, dans le lobe olfactif, comme des structures de dimensions à peu près égales, situées à la périphérie du lobe autour d'un centre de fibres intriquées les unes dans les autres ; au milieu de celui-ci on trouve quelques glomérules épars.

La structure interne de chacun de ces glomérules paraît être de type classique : on voit arriver au niveau de ceux-ci des fibres dendritiques et des fibres axoniques ; on peut supposer qu'elles se terminent à l'intérieur du glomérule. Toutefois à l'examen histologique classique (même avec des coupes sériées très fines et avec des techniques de colorations

---

(14) EHNBÖM, K., 1948 - Opuscula entomologica, suppl.,8, C.W.K.Gleerup, Londres.

spécifiques) il est impossible de définir la nature et l'organisation interne d'un de ces glomérules olfactifs. C'est pourquoi j'ai commencé une étude ultrafine de ces formations : il semble en effet important de préciser leur structure, étant donné l'importance qu'elles ont dans l'interprétation des résultats expérimentaux de notre étude électrophysiologique du centre antennaire.

Ajoutons que le lobe olfactif est lui-même divisé à la périphérie en deux à trois lobules, tous identiques dans leur structure, le centre est formé de fibres intriquées, les glomérules olfactifs sont tous marginaux.

Postérieurement au lobe olfactif et plus ventralement, le "lobe moteur" - ou "lobe dorsal" - du deutocérébron s'allonge dans le sens antéro-postérieur. Il est très largement lié à la partie ventrale du protocérébron. Il ne comporte aucune structure glomérulaire ou même de structure régulière quelle qu'elle soit ; il est composé d'un neuropile confus dans lequel passent des faisceaux de fibres se rendant en diverses régions du cerveau.

°°°

A partir du nerf antennaire, se dirigeant vers le deutocérébron, on peut reconnaître essentiellement 2 types de fibres :

1) Les fibres fines : elles viennent de la base du nerf antennaire ; on les voit pénétrer dans le lobe olfactif ; elles semblent entrer dans les glomérules eux-mêmes. Il est difficile de les distinguer nettement les unes des autres par une étude à cette échelle ; elles apparaissent en un complexe assez compact ; j'attends les résultats de l'étude ultrafine pour préciser leur nature.

2) Les grosses fibres : Elles sont plus nettement localisées dans la région proximale du nerf antennaire, proche du centre nerveux ; on peut les suivre assez facilement jusque dans le deutocérébron ; on les voit pénétrer entre des cellules ganglionnaires du deutocérébron ; elles ne passent pas dans le lobe olfactif mais se trouvent contre celui-ci ; les unes se dirigent vers le lobe moteur où elles semblent se terminer ; alors que les autres, plus haut dans leur parcours, sont allées innerver des muscles et téguments de l'antenne, situés dans la tête.

II - RESULTATS ELECTROPHYSIOLOGIQUES.

a) Matériel et méthodes.

Les animaux sont utilisés pour les expériences peu de temps après avoir été prélevés dans la nature. Le dispositif expérimental est le même que celui utilisé pour l'étude des stimulations proprioceptives antennaires rapportées dans un travail précédent (MASSON, CORBIERE, CLARAC (15), schéma fig.1. L'animal en expérience est fixé dans un petit appareil de contention en plexiglass. Le montage nous laisse la possibilité, ou bien de maintenir les antennes de l'animal rigoureusement immobiles, ou bien de les libérer (ce qui importe pour les enregistrements faits lors de séquences comportementales semi-spontanées).

L'ouverture pratiquée dans la capsule céphalique est de petite taille

(15) MASSON,C.,CORBIERE,G.,CLARAC,F.,1969 - C.R.Soc.Biol.

et laisse apparaître uniquement les deux lobes olfactifs du deutocérébron et la base des 2 nerfs antennaires. Pour remédier à toute dessication éventuelle de la préparation celle-ci est immergée dans une goutte de solution de Ringer pour Invertébrés.

L'enregistrement est réalisé à l'aide d'une microélectrode de verre de 1 micron de diamètre, à extrémité effilée, remplie de la même solution physiologique que ci-dessus, dans laquelle plonge un fil d'argent chloruré assurant le contact avec la microsonde de l'abaisseur d'impédance et en liaison avec le micromanipulateur de Fonbrune qui nous permet de placer la microélectrode à l'endroit voulu au niveau du deutocérébron.

L'électrode indifférente, constituée aussi d'argent chloruré, est piquée dans un des premiers segments abdominaux.

Les réponses obtenues sont observées, après amplification, sur un oscilloscope Tektronix type 565, et filmés à l'aide d'une Caméra Grass.

b) Résultats électrophysiologiques.

Il existe nombre de travaux électrophysiologiques sur les récepteurs antennaires d'Insectes. Mais l'étude de l'activité électrique cérébrale des Insectes a surtout été entreprise au niveau d'autres centres que le deutocérébron (par exemple les corps pédonculés et les lobes optiques). Au niveau du deutocérébron de la Blatte, YAMADA (16) a mis en évidence des neurones à réponses caractéristiques, à la suite de stimulations antennaires olfactives. A ma connaissance aucun travail de ce type n'a encore été entrepris chez les Fourmis.

Les recherches rapportées ici sont de divers ordres :
- étude des modifications de l'activité électrique en certaines zones du deutocérébron, correspondant à des stimulations de type tactile proprioceptif ;
- étude du même phénomène, en fonction de stimulations olfactives ;
- enfin observation des variations de l'activité électrique du deutocérébron au cours de fragments de séquences comportementales autant que possible spontanées.

°°°

1 - Stimulations tactiles proprioceptives.

Nous avons enregistré des modifications de l'activité électrique du deutocérébron à la suite de stimulations tactiles (de type proprioceptif) de certains points de l'antenne de Camponotus. Ce type d'expérience a déjà donné lieu à une publication(MASSON, CORBIERE, CLARAC,(15).

- Stimulation au niveau de la membrane articulaire de l'antenne :

L'application d'une microtige de verre à la base de l'antenne, dans la région latéro-postérieure se traduit par des modifications de l'activité électrique du deutocérébron.

L'application de cette fine tige entraîne la déformation très localisée de quelques fibres nerveuses sous-jascentes à la membrane, liées

(16) YAMADA, M., 1968 - Nature, G.B.,217, n°5130, 778-779.

directement à un groupe musculaire de la base de l'antenne, comme les résultats anatomiques l'ont montré.

En absence de toute stimulation, l'activité électrique deutocérébrale recueille en tout point exploré une activité de base de faible amplitude. Pour une stimulation du type défini, l'activité induite dépend dans ses caractéristiques de la durée, de l'intensité, et parfois de la fréquence des stimulations appliquées ; de plus les réponses observées sont toujours contemporaines de la stimulation.

. A une stimulation brève (200 à 400 millisecondes) correspond une réponse brève constituée par un petit nombre d'unités de grande amplitude et de fréquence élevée(4 à 6 unités), Fig.II, A.

. A une stimulation "moyenne" (750 millisec.) correspond une réponse de même type (Fig.II, B).

. Après une stimulation plus longue (1 à 3 sec.) on observe tout d'abord, pendant toute la durée de la pression, une décharge polyunitaire (6 à 10 unités) d'amplitude variable et de fréquence élevée ; elle est suivie, dès que cesse la pression, de la disparition de la plupart de ces unités, mais on observe le plus souvent la persistance d'une ou deux de ces unités, de fréquence décroissante. (Fig.II, C).

Dans ce type d'expérience, avec stimulations longues (1 à 3 sec.), identiques et régulièrement répétées, j'ai pu observer à la longue une augmentation de la décharge pendant la stimulation et surtout après celle-ci. Il semble donc qu'une stimulation répétée des mêmes unités nerveuses provoque une augmentation de leur activité électrique.

Les résultats décrits ci-dessus ont tous été obtenus par stimulation ponctuelle à la base de l'antenne ; l'application de la même microtige à divers niveaux du scape a fourni jusqu'à maintenant moins de résultats (Fig.III, A). Le même phénomène se manifeste, encore plus marqué, pour tout article du funicule, y compris le dernier article et son extrémité. (Fig.III, D).

Par contre, j'ai pu observer des modifications de l'activité électrique plus nombreuses (inférieures toutefois aux réponses correspondant aux stimulations de la base de l'antenne) pour des stimulations faites au niveau des poils situés du côté externe à l'articulation scape-funicule (Fig.III, C).

°°°

Un grand nombre de zones ont été explorées sous la surface du deutocérébron. Je ne parlerai pas de "points", car la stéréotaxie exacte, difficile à faire sur ce très petit matériel n'a pas encore été obtenue. Lorsqu'une "zone" du deutocérébron est explorée, elle l'est pour chacune des stimulations tactiles proprioceptives. Ce qui permet de constater que certaines zones donnant des réponses positives pour un type de stimulation, peuvent être négatives pour d'autres (Fig.III).

De même j'ai observé que certaines zones, totalement silencieuses à ces diverses stimulations tactiles, répondent soit à une stimulation

olfactive, soit à une stimulation complexe de type comportemental : cette dernière fait intervenir un tel nombre de paramètres qu'il nous est impossible jusqu'à maintenant de déterminer lesquels d'entre eux interviennent.

Tout ce qui est décrit ci-dessus correspond à des enregistrements pour des stimulations antennaires homolatérales. J'ai également, successivement, pratiqué des stimulations homolatérales et contralatérales, l'électrode d'enregistrement étant toujours située dans la même région. Encore une fois la réponse obtenue dépend de la zone d'implantation de l'électrode. Lorsqu'on observe une réaction correspondant à une stimulation antennaire homolatérale, on peut soit ne rien obtenir à la suite d'une stimulation identique mais contralatérale, soit obtenir une décharge polyunitaire, comme le montre la Fig.II, C. et D.

En une même zone, la stimulation homo- et contralatérale fait décharger une certaine quantité d'unités, toutefois un nombre plus réduit est sensible aux stimulations contralatérales.

Ces résultats impliquent forcément un grand nombre d'expériences, ne serait-ce que des lésions à différents niveaux, afin de voir, étant en possession de la structure anatomique, la nature des liaisons entre les 2 lobes olfactifs ainsi qu'entre le deutocérébron et les autres centres principaux.

2 - Stimulations olfactives.

Je n'ai encore obtenu sur ce plan que peu de résultats, et des résultats partiels. Il faut néanmoins souligner qu'au cours de toutes les expériences à résultat positif réalisées jusqu'à maintenant, les réponses obtenues sont à effet OFF, alors que toutes celles signalées aux paragraphes précédents (stimulations tactiles proprioceptives) étaient contemporaines de la stimulation. Les odeurs sont approchées sous forme de petits morceaux de papier filtre imprégnés de la solution. Aucune soufflerie n'est utilisée, évitant ainsi au maximum d'autres stimulations pouvant interférer.

3 - Situations stimulantes complexes.

Je constate que l'approche d'un congenère ou d'une proie - vivante ou morte - près de l'animal d'expérience fait apparaître une série de mouvements ou de postures caractéristiques de l'antenne, dont les effets se traduisent par une variation de l'activité électrique au niveau du deutocérébron, variations qui sont visualisées sur l'écran de l'oscilloscope.

Si au cours d'une même présentation de l'objet stimulant on laisse les antennes tantôt libres, tantôt fixes, les unités mises en jeu sont différentes, - moins nombreuses dans le cas de contention totale.

Le problème est à ce niveau des plus complexes : "langage antennaire" et "langage chimique" sont intimement liés, et les différentes stimulations interfèrent très largement. L'étude anatomique et stéréotaxique devra nous apporter de précieux éléments, car une fois de plus on observe une activité électrique de forme différente selon la zone dans laquelle se trouve implantée la micro-électrode.

DISCUSSION - CONCLUSION

La partie anatomique de ce travail a été faite tout d'abord dans le but de contribuer à une meilleure connaissance de certaines régions du système nerveux central de la Fourmi ; mais aussi en vue d'entreprendre une étude électrophysiologique à partir de données anatomiques suffisamment précises.

Le deutocérébron, étant en rapport direct avec l'antenne - organe sensoriel d'importance capitale sur lequel il est relativement aisé d'intervenir - mérite une étude particulièrement attentive. Son intérêt est renforcé par le fait que ce centre nerveux a une structure assez simple, avec des fibres et des cellules de type assez peu variable : ce qui bien sûr en facilite l'étude structurale. L'interprétation électrophysiologique est, ensuite, suffisamment complexe.

Quant à l'interprétation fonctionnelle du deutocérébron, c'est l'anatomie qui doit nous apporter les renseignements indispensables. Il reste là un problème important à résoudre : celui de la nature des glomérules olfactifs et ce qui se passe à leur niveau ; il faut aussi déterminer s'il existe des circuits propres à ces glomérules, et intrinsèques au deutocérébron. De même qu'il sera nécessaire de connaître la nature ultrafine des relations sensorielles et motrices entre le deutocérébron et les autres centres du complexe céphalique. Afin de préciser quelles sont exactement les régions motrices et les régions sensorielles, et leur rôle, il faudra connaître aussi l'organisation d'un glomérule.

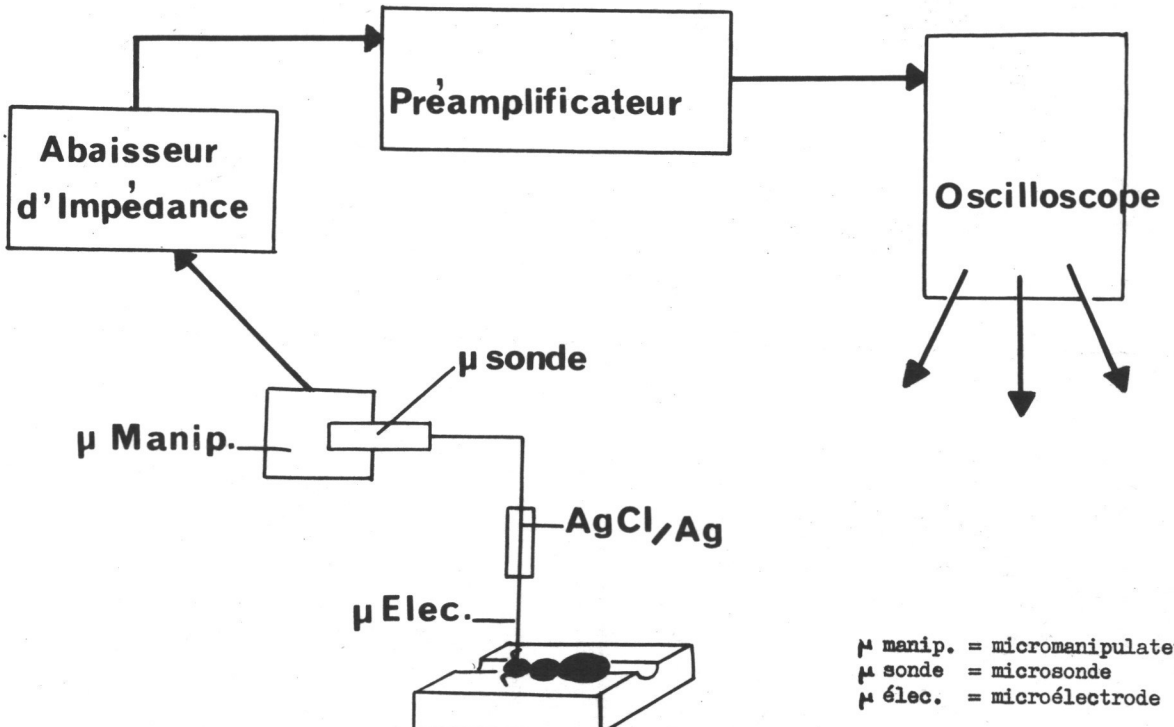
Seule la définition morphologique précise, à l'échelle de la microscopie optique classique, ou mieux encore, à l'échelle ultrafine, peut nous permettre de construire une hypothèse d'interprétation du fonctionnement du centre nerveux antennaire.

Effectivement les résultats électrophysiologiques rapportés ne peuvent que décrire les phénomènes consécutifs à des stimulations ; la zone explorée est encore trop grossièrement définie, et nos connaissances sur la nature des circuits intradeutocérébraux et des structures elles-mêmes ne nous permettent qu'une interprétation incomplètement satisfaisante.

Toutefois tous les résultats électrophysiologiques obtenus semblent bien montrer qu'il existe à l'intérieur du deutocérébron des zones spécifiques. Il reste à les déterminer, et là encore anatomie et électrophysiologie sont étroitement liées.

°°°

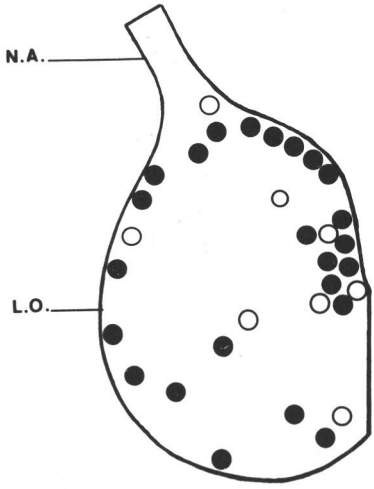
Nous pensons que la poursuite de l'étude électrophysiologique du deutocérébron de Camponotus ligniperda, avec des moyens plus précis et des techniques plus poussées, - étude actuellement en cours, - menée parallèlement à l'étude semi-fine et ultrafine du centre antennaire et surtout de ses régions glomérulaires, devrait apporter une contribution utile à la connaissance anatomo-fonctionnelle du complexe sensori-moteur antennaire de la Fourmi.



µ manip. = micromanipulateur
µ sonde = microsonde
µ élec. = microélectrode

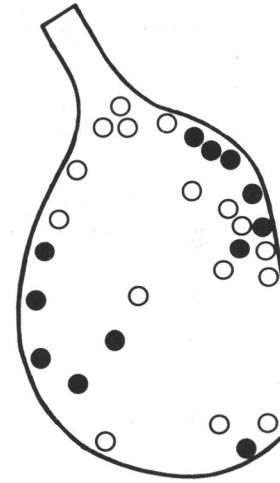
Fig. I : Dispositif expérimental.

- stimulation tactile à la base de l'antenne.



A

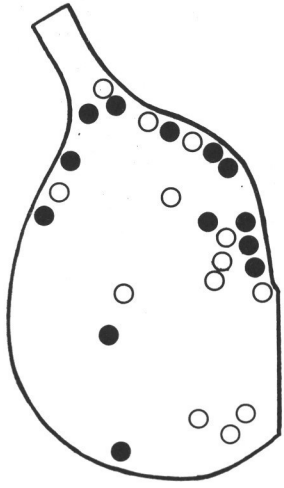
- stimulation tactile sur le scape.



B

- stimulation des soies externes de l'articulation scape-funicule.

C



- stimulation des articles du funicule.

D

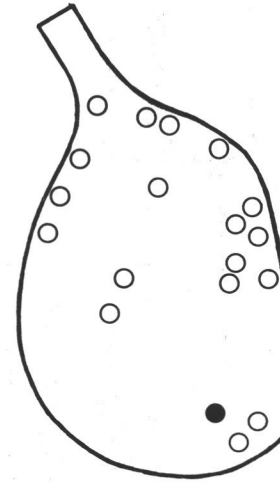


Fig. III : Réponses obtenues au niveau de certaines "zones" du lobe olfactif du deutocérébron à diverses stimulations.

● zone à réponse positive
○ zone à réponse négative

N.A. : nerf antennaire
L.O. : lobe olfactif

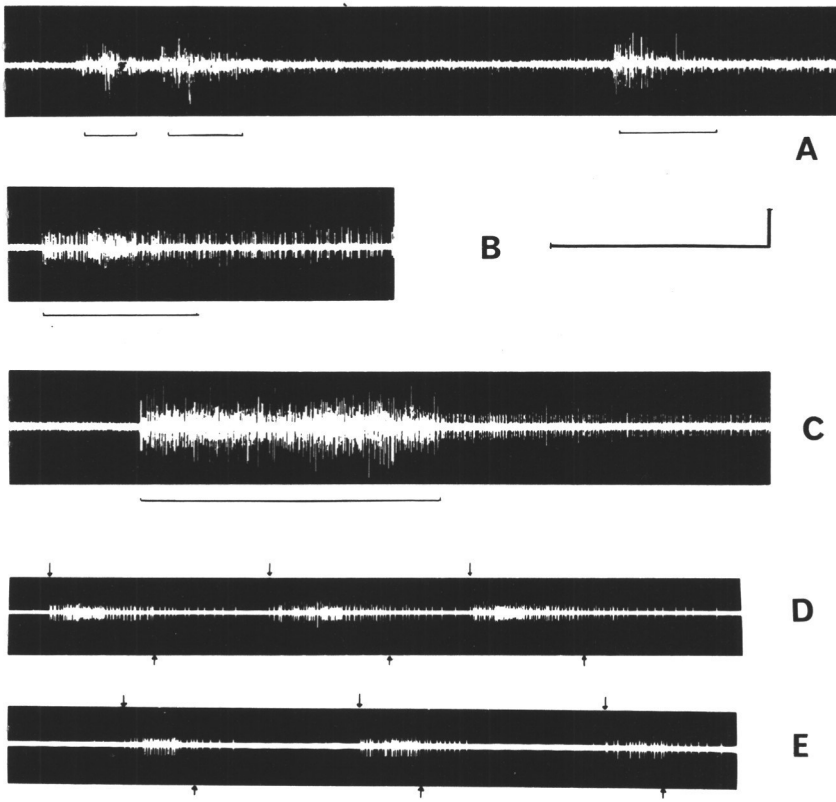


Fig. II. : Variation de l'activité électrique du deutocérébron en fonction des stimulations antennaires.