

Olfaction des Insectes

Christophe Pouzat

Laboratoire de Physiologie Cérébrale, CNRS UMR 8118, Université Paris V

e-mail: christophe.pouzat@univ-paris5.fr

web: http://www.biomedicale.univ-paris5.fr/phycerv/C_Pouzat.html

11 Décembre 2006

Première partie I

Un fil conducteur

Un fil conducteur

- ▶ Nous allons brièvement commencer avec un problème, le liage perceptif, qui n'est pas traditionnellement lié à l'étude de l'olfaction chez les insectes.
- ▶ Je pense néanmoins que ce problème peut-être étudié avec profit dans ce système « simple ».
- ▶ L'organisation de la partie principale de ce cours peut-être vue comme une justification de la proposition précédente.

Une (très) brève introduction au problème biologique

Les neurophysiologistes cherchent à enregistrer de nombreux neurones simultanément car :

- ▶ Ils peuvent ainsi collecter plus de données par expérience.
- ▶ Ils ont de bonnes raisons de penser qu'une partie du « traitement de l'information » effectuée par les neurones implique une corrélation dans l'activité de ceux-ci : hypothèse du **liage perceptif par synchronisation**.

Qu'est-ce que le liage perceptif ?

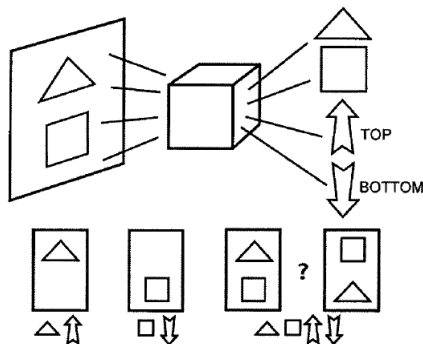


Figure 1. Rosenblatt's Example

Un exemple caricatural d'un système à 4 neurones. Un neurone détecte les triangles, un autre les carrés, un troisième détecte un objet dans l'hémi-champ visuel supérieur et le dernier un objet dans l'hémi-champ visuel inférieur.

Un exemple incontournable quand on parle du liage perceptif



Problèmes expérimentaux posés par l'étude du liage perceptif

- ▶ Il faut être sûr que l'animal reconnaisse le stimulus complexe, c'est-à-dire qu'il faut le **conditionner**.
- ▶ Si on souhaite travailler avec des vertébrés on est alors forcé d'employer des chats ou des singes.
- ▶ On se retrouve ainsi, après avoir passé des mois à conditionner l'animal, à chercher des neurones synchronisés dans des réseaux qui en comportent environ 10^7 ... On cherche donc, de mon point de vue, une aiguille dans une botte de foin.
- ▶ Les enregistrements *in vivo* chez les vertébrés sont instables : le cœur doit battre et les artères se dilatent ; c'est-à-dire que le tissu bouge par-rapport aux électrodes d'enregistrements.

Le système olfactif des insectes pour étudier le liage perceptif ?

- ▶ Les insectes peuvent être (plus ou moins) facilement conditionnés à associer une odeur avec une récompense sucrée.
- ▶ Une série de très belles expériences effectuées par Martin Hammer suggère qu'une partie des changements neuronaux déclenchés par le conditionnement olfactif a lieu dans le premier relais olfactif : **le lobe antennaire**.
- ▶ L'idée est alors de tester la réponse des neurones du lobe antennaire à un mélange de molécules simples comme le citral et l'octanol, chez des insectes conditionnés ou non à reconnaître le mélange.
- ▶ **Pour mettre en évidence une éventuelle synchronisation, il nous faut nécessairement enregistrer plusieurs neurones à la fois, si possible pendant longtemps.**

Deuxième partie II

Olfaction et comportement chez les Insectes

Olfaction et comportement

- ▶ L'un des intérêts majeurs de l'étude de l'olfaction chez les insectes est l'abondance des données établissant un lien clair entre olfaction et comportement.
- ▶ Le but de cette première partie va être de vous convaincre que le système olfactif des insectes constitue un formidable modèle pour le neuroéthologiste.
- ▶ Nous allons voir aussi que l'étude des relations olfaction / comportement fait intervenir un grand nombre de méthodes expérimentales.

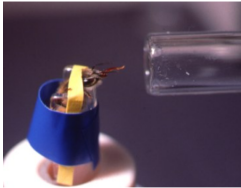
Olfaction et comportement

- ▶ L'un des intérêts majeurs de l'étude de l'olfaction chez les insectes est l'abondance des données établissant un lien clair entre olfaction et comportement.
- ▶ Le but de cette première partie va être de vous convaincre que le système olfactif des insectes constitue un formidable modèle pour le neuroéthologiste.
- ▶ Nous allons voir aussi que l'étude des relations olfaction / comportement fait intervenir un grand nombre de méthodes expérimentales.

Olfaction et comportement

- ▶ L'un des intérêts majeurs de l'étude de l'olfaction chez les insectes est l'abondance des données établissant un lien clair entre olfaction et comportement.
- ▶ Le but de cette première partie va être de vous convaincre que le système olfactif des insectes constitue un formidable modèle pour le neuroéthologiste.
- ▶ Nous allons voir aussi que l'étude des relations olfaction / comportement fait intervenir un grand nombre de méthodes expérimentales.

Extension du proboscis : exemple



Exemples de conditionnement (extension du proboscis) chez les insectes. En haut une abeilles (*Apis mellifera*), au milieu un bourdon (*Bombus terrestris*) en bas le papillon du ver du cotonnier (*Spodotera littoralis*).

Conditionnement associatif 1

- ▶ On applique en fait un paradigme pavlovien (conditionnement associatif) classique (Kuwabara, 1957 ; Takeda, 1961 ; Hammer & Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ On cherche d'abord un stimulus qui déclenche une réponse comportementale chez (presque) tous les individus de l'espèce : c'est le **stimulus inconditionnel**.
- ▶ Ici, le contact entre les antennes et/ou la langue (proboscis) de l'insecte avec une solution riche en sucrose déclenche chez tout individu « normal » la réponse d'extension du proboscis (« **proboscis extension response** », **PER**).
- ▶ On cherche ensuite un stimulus dont la présentation ne provoque aucune réponse comportementale typique, comme l'odeur de citron. Ce sera notre **stimulus conditionnel**.

Conditionnement associatif 1

- ▶ On applique en fait un paradigme pavlovien (conditionnement associatif) classique (Kuwabara, 1957 ; Takeda, 1961 ; Hammer & Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ On cherche d'abord un stimulus qui déclenche une réponse comportementale chez (presque) tous les individus de l'espèce : c'est le **stimulus inconditionnel**.
- ▶ Ici, le contact entre les antennes et/ou la langue (proboscis) de l'insecte avec une solution riche en sucrose déclenche chez tout individu « normal » la réponse d'extension du proboscis (« **proboscis extension response** », **PER**).
- ▶ On cherche ensuite un stimulus dont la présentation ne provoque aucune réponse comportementale typique, comme l'odeur de citron. Ce sera notre **stimulus conditionnel**.

Conditionnement associatif 1

- ▶ On applique en fait un paradigme pavlovien (conditionnement associatif) classique (Kuwabara, 1957 ; Takeda, 1961 ; Hammer & Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ On cherche d'abord un stimulus qui déclenche une réponse comportementale chez (presque) tous les individus de l'espèce : c'est le **stimulus inconditionnel**.
- ▶ Ici, le contact entre les antennes et/ou la langue (proboscis) de l'insecte avec une solution riche en sucrose déclenche chez tout individu « normal » la réponse d'extension du proboscis (« **proboscis extension response** », **PER**).
- ▶ On cherche ensuite un stimulus dont la présentation ne provoque aucune réponse comportementale typique, comme l'odeur de citron. Ce sera notre **stimulus conditionnel**.

Conditionnement associatif 1

- ▶ On applique en fait un paradigme pavlovien (conditionnement associatif) classique (Kuwabara, 1957 ; Takeda, 1961 ; Hammer & Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ On cherche d'abord un stimulus qui déclenche une réponse comportementale chez (presque) tous les individus de l'espèce : c'est le **stimulus inconditionnel**.
- ▶ Ici, le contact entre les antennes et/ou la langue (proboscis) de l'insecte avec une solution riche en sucrose déclenche chez tout individu « normal » la réponse d'extension du proboscis (« **proboscis extension response** », **PER**).
- ▶ On cherche ensuite un stimulus dont la présentation ne provoque aucune réponse comportementale typique, comme l'odeur de citron. Ce sera notre **stimulus conditionnel**.

Conditionnement associatif 2

- ▶ On présente ensuite à l'animal l'odeur, avant de lui présenter la solution sucrée. Après quelques répétitions, l'animal commence à répondre à l'odeur en tirant la langue, avant que la solution sucrée soit présentée.
- ▶ Chez Pavlov, le chien salive en entendant la cloche avant de voir sa gamelle.
- ▶ Lorsqu'on travaille « correctement » on effectue aussi un protocole d' « association inversée » (**backward pairing**) où la présentation d'une odeur différente suit la présentation de la solution sucrée.
- ▶ La présentation de cette autre odeur seule ne doit alors pas déclencher de réponse comportementale. Le premier protocole est appelé **forward pairing** en anglais.
- ▶ En d'autres termes on veut que l'animal apprenne que le stimulus conditionnel lui permet de **prédire** l'arrivée du stimulus inconditionnel.

Conditionnement associatif 2

- ▶ On présente ensuite à l'animal l'odeur, avant de lui présenter la solution sucrée. Après quelques répétitions, l'animal commence à répondre à l'odeur en tirant la langue, avant que la solution sucrée soit présentée.
- ▶ Chez Pavlov, le chien salive en entendant la cloche avant de voir sa gamelle.
- ▶ Lorsqu'on travaille « correctement » on effectue aussi un protocole d' « association inversée » (**backward pairing**) où la présentation d'une odeur différente suit la présentation de la solution sucrée.
- ▶ La présentation de cette autre odeur seule ne doit alors pas déclencher de réponse comportementale. Le premier protocole est appelé **forward pairing** en anglais.
- ▶ En d'autres termes on veut que l'animal apprenne que le stimulus conditionnel lui permet de **prédire** l'arrivée du stimulus inconditionnel.

Conditionnement associatif 2

- ▶ On présente ensuite à l'animal l'odeur, avant de lui présenter la solution sucrée. Après quelques répétitions, l'animal commence à répondre à l'odeur en tirant la langue, avant que la solution sucrée soit présentée.
- ▶ Chez Pavlov, le chien salive en entendant la cloche avant de voir sa gamelle.
- ▶ Lorsqu'on travaille « correctement » on effectue aussi un protocole d' « association inversée » (**backward pairing**) où la présentation d'une odeur différente suit la présentation de la solution sucrée.
- ▶ La présentation de cette autre odeur seule ne doit alors pas déclencher de réponse comportementale. Le premier protocole est appelé **forward pairing** en anglais.
- ▶ En d'autres termes on veut que l'animal apprenne que le stimulus conditionnel lui permet de **prédire** l'arrivée du stimulus inconditionnel.

Conditionnement associatif 2

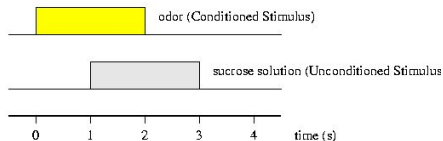
- ▶ On présente ensuite à l'animal l'odeur, avant de lui présenter la solution sucrée. Après quelques répétitions, l'animal commence à répondre à l'odeur en tirant la langue, avant que la solution sucrée soit présentée.
- ▶ Chez Pavlov, le chien salive en entendant la cloche avant de voir sa gamelle.
- ▶ Lorsqu'on travaille « correctement » on effectue aussi un protocole d' « association inversée » (**backward pairing**) où la présentation d'une odeur différente suit la présentation de la solution sucrée.
- ▶ La présentation de cette autre odeur seule ne doit alors pas déclencher de réponse comportementale. Le premier protocole est appelé **forward pairing** en anglais.
- ▶ En d'autres termes on veut que l'animal apprenne que le stimulus conditionnel lui permet de **prédire** l'arrivée du stimulus inconditionnel.

Conditionnement associatif 2

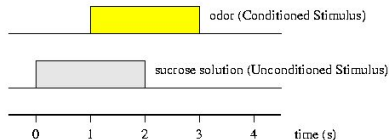
- ▶ On présente ensuite à l'animal l'odeur, avant de lui présenter la solution sucrée. Après quelques répétitions, l'animal commence à répondre à l'odeur en tirant la langue, avant que la solution sucrée soit présentée.
- ▶ Chez Pavlov, le chien salive en entendant la cloche avant de voir sa gamelle.
- ▶ Lorsqu'on travaille « correctement » on effectue aussi un protocole d' « association inversée » (**backward pairing**) où la présentation d'une odeur différente suit la présentation de la solution sucrée.
- ▶ La présentation de cette autre odeur seule ne doit alors pas déclencher de réponse comportementale. Le premier protocole est appelé **forward pairing** en anglais.
- ▶ En d'autres termes on veut que l'animal apprenne que le stimulus conditionnel lui permet de **prédire** l'arrivée du stimulus inconditionnel.

Forward et backward pairings : schéma de principe

Forward pairing

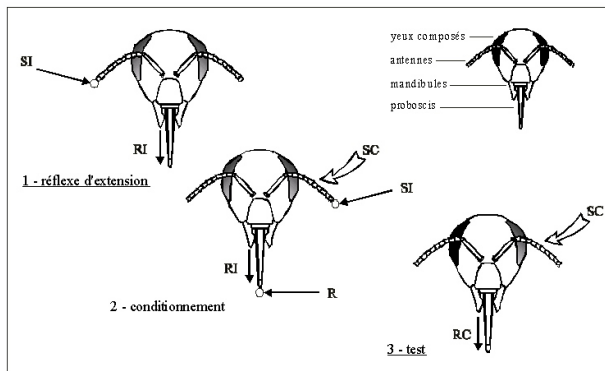


Backward pairing



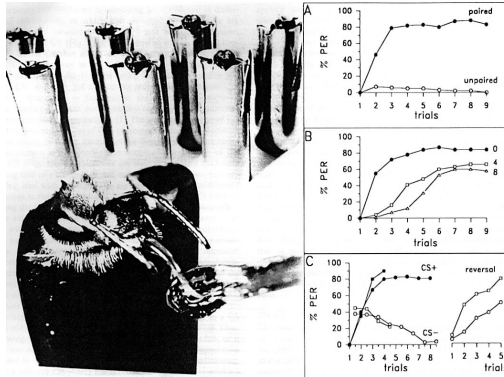
Schémas de **forward** et **backward pairings**. On remplace aussi parfois le **backward pairing** par un **unpaired stimulus**, c'est-à-dire une odeur présentée seule sans renforcement avec du sucrose.

Extension du proboscis et conditionnement associatif : schéma



Ce que ça donne sur l'abeille : SI, stimulus inconditionnel ; RI, réponse inconditionnelle ; SC, stimulus conditionnel ; R, récompense.

Extension du proboscis et conditionnement associatif : courbes d'apprentissage



Courbes d'apprentissage obtenues chez l'abeille par Hammer et Menzel (1995) : [http:](http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/15/3/1617)

[//www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/15/3/1617](http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/15/3/1617)

Conditionnement associatif : Les différentes phases

- ▶ Les spécialistes du conditionnement distinguent typiquement plusieurs phases dans la formation de la mémoire (Hammer et Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ Ainsi, lorsqu'une seule séquence odeur-sucrose est employée, l'insecte développe une mémoire de relativement courte durée (**Short Term Memory**, 1 jour). Cette mémoire fait intervenir des phosphorylations, mais pas de synthèse protéique.
- ▶ En employant plusieurs séquences odeur-sucrose, espacées de 2 à 10 minutes, l'insecte développe une mémoire de longue durée (**Long Term Memory**).
- ▶ Il faut insister ici sur le fait que nous parlons réellement de longue durée, en effet, les abeilles peuvent continuer à répondre à l'odeur à laquelle elles ont été conditionnées *pendant plusieurs semaines, c'est-à-dire, toute leur vie adulte.*
- ▶ Cette LTM fait intervenir une synthèse protéique.

Conditionnement associatif : Les différentes phases

- ▶ Les spécialistes du conditionnement distinguent typiquement plusieurs phases dans la formation de la mémoire (Hammer et Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ Ainsi, lorsqu'une seule séquence odeur-sucrose est employée, l'insecte développe une mémoire de relativement courte durée (**Short Term Memory**, 1 jour). Cette mémoire fait intervenir des phosphorylations, mais pas de synthèse protéique.
- ▶ En employant plusieurs séquences odeur-sucrose, espacées de 2 à 10 minutes, l'insecte développe une mémoire de longue durée (**Long Term Memory**).
- ▶ Il faut insister ici sur le fait que nous parlons réellement de longue durée, en effet, les abeilles peuvent continuer à répondre à l'odeur à laquelle elles ont été conditionnées *pendant plusieurs semaines, c'est-à-dire, toute leur vie adulte.*
- ▶ Cette LTM fait intervenir une synthèse protéique.

Conditionnement associatif : Les différentes phases

- ▶ Les spécialistes du conditionnement distinguent typiquement plusieurs phases dans la formation de la mémoire (Hammer et Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ Ainsi, lorsqu'une seule séquence odeur-sucrose est employée, l'insecte développe une mémoire de relativement courte durée (**Short Term Memory**, 1 jour). Cette mémoire fait intervenir des phosphorylations, mais pas de synthèse protéique.
- ▶ En employant plusieurs séquences odeur-sucrose, espacées de 2 à 10 minutes, l'insecte développe une mémoire de longue durée (**Long Term Memory**).
- ▶ Il faut insister ici sur le fait que nous parlons réellement de longue durée, en effet, les abeilles peuvent continuer à répondre à l'odeur à laquelle elles ont été conditionnées *pendant plusieurs semaines, c'est-à-dire, toute leur vie adulte.*
- ▶ Cette LTM fait intervenir une synthèse protéique.

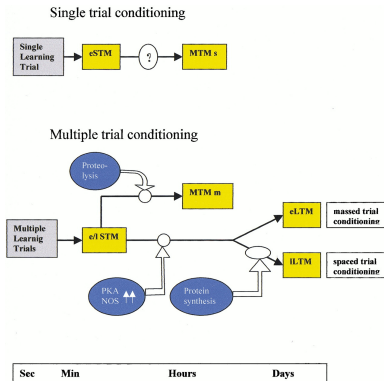
Conditionnement associatif : Les différentes phases

- ▶ Les spécialistes du conditionnement distinguent typiquement plusieurs phases dans la formation de la mémoire (Hammer et Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ Ainsi, lorsqu'une seule séquence odeur-sucrose est employée, l'insecte développe une mémoire de relativement courte durée (**Short Term Memory**, 1 jour). Cette mémoire fait intervenir des phosphorylations, mais pas de synthèse protéique.
- ▶ En employant plusieurs séquences odeur-sucrose, espacées de 2 à 10 minutes, l'insecte développe une mémoire de longue durée (**Long Term Memory**).
- ▶ Il faut insister ici sur le fait que nous parlons réellement de longue durée, en effet, les abeilles peuvent continuer à répondre à l'odeur à laquelle elles ont été conditionnées *pendant plusieurs semaines, c'est-à-dire, toute leur vie adulte.*
- ▶ Cette LTM fait intervenir une synthèse protéique.

Conditionnement associatif : Les différentes phases

- ▶ Les spécialistes du conditionnement distinguent typiquement plusieurs phases dans la formation de la mémoire (Hammer et Menzel, 1995 ; Menzel, 2001).
- ▶ Ainsi, lorsqu'une seule séquence odeur-sucrose est employée, l'insecte développe une mémoire de relativement courte durée (**Short Term Memory**, 1 jour). Cette mémoire fait intervenir des phosphorylations, mais pas de synthèse protéique.
- ▶ En employant plusieurs séquences odeur-sucrose, espacées de 2 à 10 minutes, l'insecte développe une mémoire de longue durée (**Long Term Memory**).
- ▶ Il faut insister ici sur le fait que nous parlons réellement de longue durée, en effet, les abeilles peuvent continuer à répondre à l'odeur à laquelle elles ont été conditionnées *pendant plusieurs semaines, c'est-à-dire, toute leur vie adulte.*
- ▶ Cette LTM fait intervenir une synthèse protéique.

Conditionnement associatif : Schéma des différentes phases



e/ISTM : early / late Short Term Memory ; MTM : Mid-Term Memory ;
e/ILTM : early (1 – 2 jours) / late (≥ 3 jours) Long Term memory ;
NOS : NO synthase ; massed/spaced trial : séquences odeur $\rightarrow$ sucrose
séparées de 30s / 2-10mn. Figure 2 de Menzel (2001).

Remarques sur le conditionnement olfactif des abeilles

- ▶ Lorsque des protocoles expérimentaux aussi simples que celui que nous venons de présenter sont exposés, on peut légitimement se demander si ils nous apprennent quoique ce soit sur le comportement de l'animal dans son environnement normal.
- ▶ Nous allons maintenant présenter des données permettant d'affirmer que le paradigme de conditionnement olfactif associatif est tout à fait pertinent.
- ▶ Nous allons « montrer » qu'une butineuse (qu'elle récolte du nectar ou du pollen) retourne toujours vers le même bosquet de fleurs et, parmi les fleurs disponibles, sélectionne toujours des individus de la même espèce, cela aussi longtemps que les fleurs fournissent du nectar ou du pollen (des jours, voire des semaines). C'est le phénomène de la **constance florale**.
- ▶ Un magnifique traitement de ce qui suit peut-être trouvé dans le livre de Thomas Seeley (1996) *The wisdom of the hive*.

Remarques sur le conditionnement olfactif des abeilles

- ▶ Lorsque des protocoles expérimentaux aussi simples que celui que nous venons de présenter sont exposés, on peut légitimement se demander si ils nous apprennent quoique ce soit sur le comportement de l'animal dans son environnement normal.
- ▶ Nous allons maintenant présenter des données permettant d'affirmer que le paradigme de conditionnement olfactif associatif est tout à fait pertinent.
- ▶ Nous allons « montrer » qu'une butineuse (qu'elle récolte du nectar ou du pollen) retourne toujours vers le même bosquet de fleurs et, parmi les fleurs disponibles, sélectionne toujours des individus de la même espèce, cela aussi longtemps que les fleurs fournissent du nectar ou du pollen (des jours, voire des semaines). C'est le phénomène de la **constance florale**.
- ▶ Un magnifique traitement de ce qui suit peut-être trouvé dans le livre de Thomas Seeley (1996) *The wisdom of the hive*.

Remarques sur le conditionnement olfactif des abeilles

- ▶ Lorsque des protocoles expérimentaux aussi simples que celui que nous venons de présenter sont exposés, on peut légitimement se demander si ils nous apprennent quoique ce soit sur le comportement de l'animal dans son environnement normal.
- ▶ Nous allons maintenant présenter des données permettant d'affirmer que le paradigme de conditionnement olfactif associatif est tout à fait pertinent.
- ▶ Nous allons « montrer » qu'une butineuse (qu'elle récolte du nectar ou du pollen) retourne toujours vers le même bosquet de fleurs et, parmi les fleurs disponibles, sélectionne toujours des individus de la même espèce, cela aussi longtemps que les fleurs fournissent du nectar ou du pollen (des jours, voire des semaines). C'est le phénomène de la **constance florale**.
- ▶ Un magnifique traitement de ce qui suit peut-être trouvé dans le livre de Thomas Seeley (1996) *The wisdom of the hive*.

Remarques sur le conditionnement olfactif des abeilles

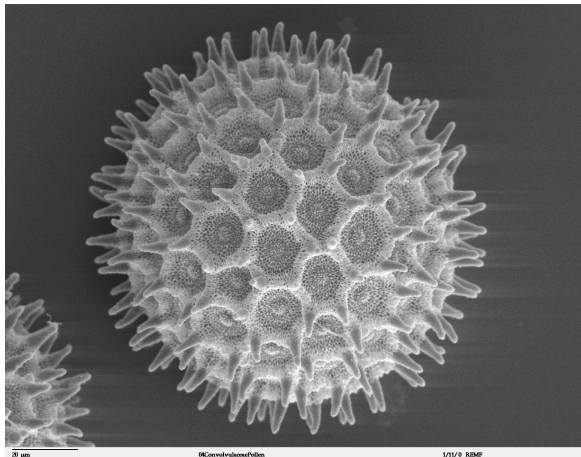
- ▶ Lorsque des protocoles expérimentaux aussi simples que celui que nous venons de présenter sont exposés, on peut légitimement se demander si ils nous apprennent quoique ce soit sur le comportement de l'animal dans son environnement normal.
- ▶ Nous allons maintenant présenter des données permettant d'affirmer que le paradigme de conditionnement olfactif associatif est tout à fait pertinent.
- ▶ Nous allons « montrer » qu'une butineuse (qu'elle récolte du nectar ou du pollen) retourne toujours vers le même bosquet de fleurs et, parmi les fleurs disponibles, sélectionne toujours des individus de la même espèce, cela aussi longtemps que les fleurs fournissent du nectar ou du pollen (des jours, voire des semaines). C'est le phénomène de la **constance florale**.
- ▶ Un magnifique traitement de ce qui suit peut-être trouvé dans le livre de Thomas Seeley (1996) *The wisdom of the hive*.

Le cas des abeilles qui récoltent le pollen 1



On commence par attraper des abeilles chargées de pollen lorsqu'elles rentrent à la ruche. Photo prise par Zachary Huang : <http://photo.bees.net/gallery/albums.php>.

Le cas des abeilles qui récoltent le pollen 2

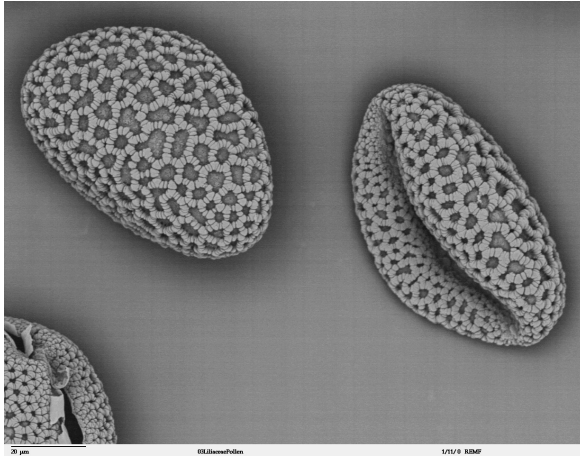


Le cas des abeilles qui récoltent le pollen 3



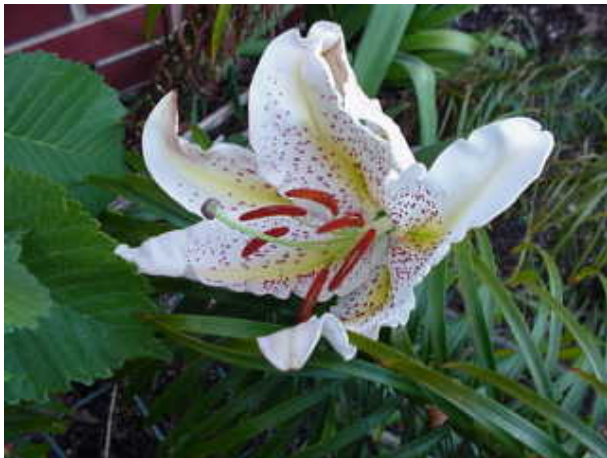
Ici il vient d'une fleur d'*Ipomea purpurea*.

Le cas des abeilles qui récoltent le pollen 4



Alors que celui-ci vient évidemment d'un *Lilium auratum*.

Le cas des abeilles qui récoltent le pollen 5



Dont la fleur est assez jolie, n'est-ce pas ?

Le cas des abeilles qui récoltent le pollen 6

Tout cela pour dire que l'examen du pollen rapporté par l'abeille permet d'identifier de façon non ambiguë la (ou les) espèce(s) de plantes visitées. Cela donne des résultats suivants :

Table 11.2 Flower constancy of some Apoidea. Flower constancy is expressed as the percentage of individuals with pollen from one plant species only. The figures do not include the (many) individuals which carry only a small fraction of different pollen species. (Source: modified from Grant, 1950)

<i>Genus</i>	<i>Pure pollen load (%)</i>
<i>Apis</i> (honeybee)	81
<i>Megachile</i> (leafcutter bee, solitary)	65
<i>Bombus</i> (bumblebee)	55
<i>Halictus</i> (sweet bee, solitary)	81
<i>Andrena</i> (mining bee, solitary)	54
<i>Anthophora</i> (mining bee, solitary)	20

Table donnée par Schoonhoven et al (1998), p 320.

Le cas des abeilles qui récoltent le nectar 1

- ▶ Là, la situation est un peu plus compliquée...
- ▶ On commence par sélectionner une île « déserte », c'est-à-dire, pour une abeille, une île sans fleurs. On y apporte ensuite une ou plusieurs ruches ainsi que des pots de fleurs...
- ▶ On place dans différents endroits des groupes de fleurs en prenant soin de toujours avoir plusieurs espèces de fleurs à chaque endroit. On rajoute un chercheur (étudiant) patient derrière chaque bosquet ainsi créé...

Le cas des abeilles qui récoltent le nectar 1

- ▶ Là, la situation est un peu plus compliquée...
- ▶ On commence par sélectionner une île « déserte », c'est-à-dire, pour une abeille, une île sans fleurs. On y apporte ensuite une ou plusieurs ruches ainsi que des pots de fleurs...
- ▶ On place dans différents endroits des groupes de fleurs en prenant soin de toujours avoir plusieurs espèces de fleurs à chaque endroit. On rajoute un chercheur (étudiant) patient derrière chaque bosquet ainsi créé...

Le cas des abeilles qui récoltent le nectar 1

- ▶ Là, la situation est un peu plus compliquée...
- ▶ On commence par sélectionner une île « déserte », c'est-à-dire, pour une abeille, une île sans fleurs. On y apporte ensuite une ou plusieurs ruches ainsi que des pots de fleurs...
- ▶ On place dans différents endroits des groupes de fleurs en prenant soin de toujours avoir plusieurs espèces de fleurs à chaque endroit. On rajoute un chercheur (étudiant) patient derrière chaque bosquet ainsi créé...

Le cas des abeilles qui récoltent le nectar 2

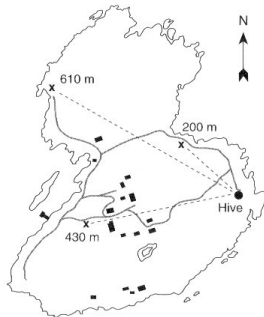


Figure 3.5 Map of the experimental layout on Appledore Island, Maine. A hive of bees was placed on the eastern side of the island, and a small patch of flowers was established at each of three remote points 200–610 m to the north and west. Black rectangles denote buildings.

Source Seeley (1996).

Le cas des abeilles qui récoltent le nectar 3



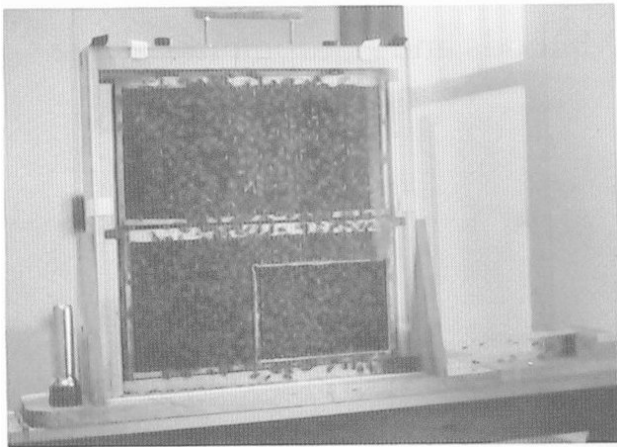
On marque alors les abeilles. Photo prise par Zachary Huang :
<http://photo.bees.net/gallery/albums.php>

Le cas des abeilles qui récoltent le nectar 4



On place la ruche dans une cabane (Seeley, 1996).

Le cas des abeilles qui récoltent le nectar 5



La ruche est en fait un peu spéciale....

Conclusions sur les butineuses

- ▶ Une butineuse, une fois qu'elle a trouvé des fleurs lui fournissant ce qu'elle cherche (nectar ou pollen) dans un endroit donné, retourne toujours au même endroit sur les mêmes fleurs (d'une seule espèce) cela tant que les fleurs continuent à fournir du nectar ou du pollen.
- ▶ Quand les fleurs arrêtent de donner du nectar (ou du pollen), la butineuse retourne au même endroit plusieurs fois par jour « pour vérifier », cela pendant 2 à 3 jours de suite.
- ▶ Si après 2 ou 3 jours il n'y a toujours pas de nectar (ou de pollen), la butineuse va commencer à suivre des danses dans la ruche, elle commencera ainsi à exploiter une nouvelle source.

Conclusions sur les butineuses

- ▶ Une butineuse, une fois qu'elle a trouvé des fleurs lui fournissant ce qu'elle cherche (nectar ou pollen) dans un endroit donné, retourne toujours au même endroit sur les mêmes fleurs (d'une seule espèce) cela tant que les fleurs continuent à fournir du nectar ou du pollen.
- ▶ Quand les fleurs arrêtent de donner du nectar (ou du pollen), la butineuse retourne au même endroit plusieurs fois par jour « pour vérifier », cela pendant 2 à 3 jours de suite.
- ▶ Si après 2 ou 3 jours il n'y a toujours pas de nectar (ou de pollen), la butineuse va commencer à suivre des danses dans la ruche, elle commencera ainsi à exploiter une nouvelle source.

Conclusions sur les butineuses

- ▶ Une butineuse, une fois qu'elle a trouvé des fleurs lui fournissant ce qu'elle cherche (nectar ou pollen) dans un endroit donné, retourne toujours au même endroit sur les mêmes fleurs (d'une seule espèce) cela tant que les fleurs continuent à fournir du nectar ou du pollen.
- ▶ Quand les fleurs arrêtent de donner du nectar (ou du pollen), la butineuse retourne au même endroit plusieurs fois par jour « pour vérifier », cela pendant 2 à 3 jours de suite.
- ▶ Si après 2 ou 3 jours il n'y a toujours pas de nectar (ou de pollen), la butineuse va commencer à suivre des danses dans la ruche, elle commencera ainsi à exploiter une nouvelle source.

Pourquoi la constance florale est-elle importante pour l'abeille ? (1)

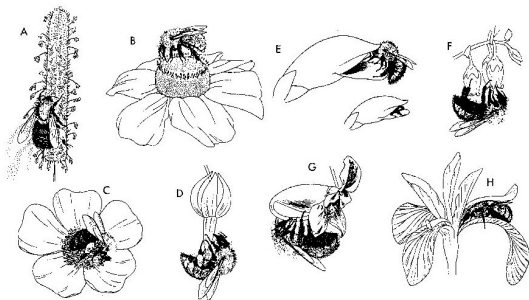


Figure 11.8 Handling of different kinds of flower by bumblebees collecting nectar or pollen. (A) Walking up inflorescence of grass (*Phleum* sp.) collecting pollen. (B) Collecting nectar and possibly pollen from a composite flower. (C) Grasping and vibrating groups of anthers in *Rosa* sp. during pollen collection. (D) Holding *Solanum dulcamara* blossom with legs and mandibles while shaking pollen from the tubular anthers by vibrating the flower. (E) Entering *Chelone* blossoms. (F) Collecting nectar from *Vaccinium* blossoms. (G) 'Robbing' nectar via a hole bitten in the spur of *Impatiens* sp. (H) Iris blossom being visited for nectar. (Source: reproduced from Heinrich, 1976, with permission.)

Les abeilles, comme tous les insectes butineurs (ici les bourdons) doivent apprendre à « manipuler » les fleurs... et cela peut prendre du temps (Heinrich, 1976 ; cité par Schoonhoven et al, 1998).

Pourquoi la constance florale est-elle importante pour l'abeille ? (2)

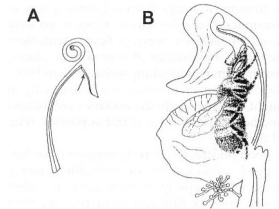


Figure 11.9 Monkshood flowers contain two vertical nectar petals, partly shaped into a tube, with nectaries located at the very end. **(A)** Nectar petal of *Aconitum vulparia* (arrow indicates tube entrance). **(B)** Flower of *Aconitum variegatum*, with worker bumblebee inserting its tongue into nectar petal. The bee, after entering at the bottom, must pass over the anthers to be able to probe into the tips of the two nectar petals. Monkshood species occur only in parts of the world where bumblebees occur. (Source: **(A)** reproduced from Knoll, 1956, with permission; **(B)** reproduced from Lavery and Plowright, 1988, with permission.)

La manipulation des fleurs prend du temps car elle n'est pas toujours évidente... tellement peu évidente que parfois il y a des échecs (Schoonhoven Et Al, 1998).

Pourquoi la constance florale est-elle importante pour l'abeille ? (3)

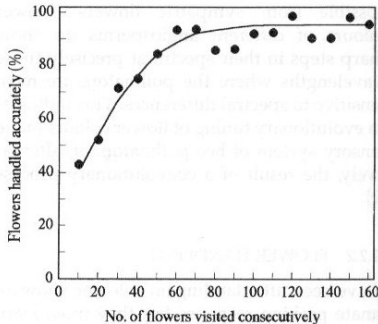


Figure 11.10 Improvement in handling success of naive bumblebees after one to 150 contacts with *Impatiens biflora* flowers. (Source: redrawn from Heinrich , 1979a.)

Mais le nombre d'échecs diminue avec le nombre de visites (Schoonhoven Et Al, 1998).

Une question

Pourquoi la constance florale est-elle aussi (très) importante pour les fleurs ?

Première ouverture du « cockpit »

- ▶ Comme nous l'avons annoncé dans l'introduction, ce qui est « agréable » quand on étudie l'olfaction chez l'insecte est que certains mécanismes cellulaires et moléculaires « responsables » de l'apprentissage olfactif peuvent être étudiés.
- ▶ Avant de les décrire nous allons brièvement présenter l'organisation du cerveau de l'insecte, ce qui nous permettra de voir où sont localisées les cellules et molécules impliquées dans l'apprentissage olfactif... pour cela il nous faut ouvrir le « cockpit », c'est-à-dire la cuticule.

Première ouverture du « cockpit »

- ▶ Comme nous l'avons annoncé dans l'introduction, ce qui est « agréable » quand on étudie l'olfaction chez l'insecte est que certains mécanismes cellulaires et moléculaires « responsables » de l'apprentissage olfactif peuvent être étudiés.
- ▶ Avant de les décrire nous allons brièvement présenter l'organisation du cerveau de l'insecte, ce qui nous permettra de voir où sont localisées les cellules et molécules impliquées dans l'apprentissage olfactif... pour cela il nous faut ouvrir le « cockpit », c'est-à-dire la cuticule.

Une blatte en situation d'enregistrement

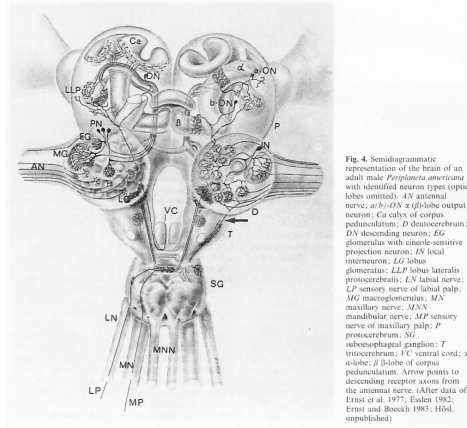


Une blatte (*Periplaneta americana*) avec cerveau exposé (Photo prise par Antoine Chaffiol et Hang Ung).

Le cerveau de la blatte

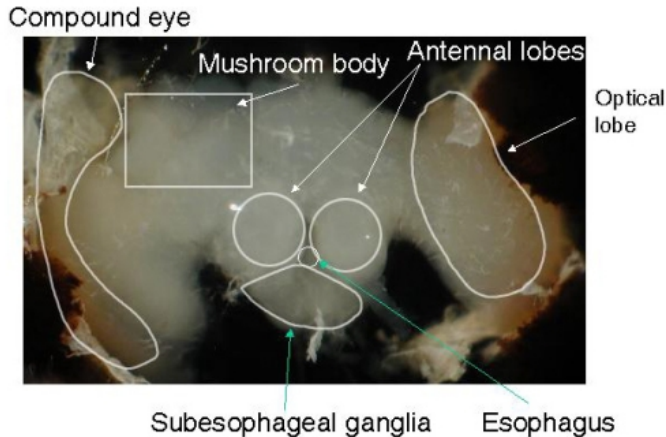
J. Boeckh and K.-D. Ernst: Neurophysiology of insect olfaction

55



Un œil expert distingue plusieurs « lobes ». Schéma de Boeckh et Ernst (1987).

Une abeille en situation d'enregistrement



Un cerveau d'abeille exposé pour une manipe. Antennal lobe : lobe antennaire ; Mushroom body : corps pédonculé. Photo prise par Zachary Huang : <http://photo.bees.net/gallery/albums.php>.

Structures olfactives du cerveau de l'insecte. (1)

Chez les insectes, la vaste majorité des récepteurs olfactifs sont situés sur les antennes, leurs axones projettent dans le cerveau où on distingue trois “structures” importantes pour l'olfaction :

- ▶ Les **Lobes Antennaires** (Antennal Lobes, ALs) qui sont les premiers relais olfactifs centraux. Ils sont l'équivalent des bulbes olfactifs chez les vertébrés.
- ▶ On y trouve deux populations neuronales, les **Neurones de Projections** (Projection Neurons, PNs) qui sont excitateurs (cholinergiques) et dont l'axone sort du AL et les **Neurones Locaux** (Local Neurons, LNs) qui sont inhibiteurs (principalement GABAergiques) et qui n'ont pas d'axone.
- ▶ Les PNs ont un rôle analogue aux cellules mitrales/touffues et les LNs ont un rôle analogue aux cellules en grain du bulbe olfactif.
- ▶ Les axones des PNs forment typiquement deux arborisations, une dans chacune des deux autres structures olfactives. Les ALs constituent la majeure partie de ce que les anatomistes nomment *Deutocerebrum*.

Structures olfactives du cerveau de l'insecte. (1)

Chez les insectes, la vaste majorité des récepteurs olfactifs sont situés sur les antennes, leurs axones projettent dans le cerveau où on distingue trois “structures” importantes pour l'olfaction :

- ▶ Les **Lobes Antennaires** (Antennal Lobes, ALs) qui sont les premiers relais olfactifs centraux. Ils sont l'équivalent des bulbes olfactifs chez les vertébrés.
- ▶ On y trouve deux populations neuronales, les **Neurones de Projections** (Projection Neurons, PNs) qui sont excitateurs (cholinergiques) et dont l'axone sort du AL et les **Neurones Locaux** (Local Neurons, LNs) qui sont inhibiteurs (principalement GABAergiques) et qui n'ont pas d'axone.
- ▶ Les PNs ont un rôle analogue aux cellules mitrales/touffues et les LNs ont un rôle analogue aux cellules en grain du bulbe olfactif.
- ▶ Les axones des PNs forment typiquement deux arborisations, une dans chacune des deux autres structures olfactives. Les ALs constituent la majeure partie de ce que les anatomistes nomment *Deutocerebrum*.

Structures olfactives du cerveau de l'insecte. (1)

Chez les insectes, la vaste majorité des récepteurs olfactifs sont situés sur les antennes, leurs axones projettent dans le cerveau où on distingue trois “structures” importantes pour l'olfaction :

- ▶ Les **Lobes Antennaires** (Antennal Lobes, ALs) qui sont les premiers relais olfactifs centraux. Ils sont l'équivalent des bulbes olfactifs chez les vertébrés.
- ▶ On y trouve deux populations neuronales, les **Neurones de Projections** (Projection Neurons, PNs) qui sont excitateurs (cholinergiques) et dont l'axone sort du AL et les **Neurones Locaux** (Local Neurons, LNs) qui sont inhibiteurs (principalement GABAergiques) et qui n'ont pas d'axone.
- ▶ Les PNs ont un rôle analogue aux cellules mitrales/touffues et les LNs ont un rôle analogue aux cellules en grain du bulbe olfactif.
- ▶ Les axones des PNs forment typiquement deux arborisations, une dans chacune des deux autres structures olfactives. Les ALs constituent la majeure partie de ce que les anatomistes nomment *Deutocerebrum*.

Structures olfactives du cerveau de l'insecte. (1)

Chez les insectes, la vaste majorité des récepteurs olfactifs sont situés sur les antennes, leurs axones projettent dans le cerveau où on distingue trois “structures” importantes pour l'olfaction :

- ▶ Les **Lobes Antennaires** (Antennal Lobes, ALs) qui sont les premiers relais olfactifs centraux. Ils sont l'équivalent des bulbes olfactifs chez les vertébrés.
- ▶ On y trouve deux populations neuronales, les **Neurones de Projections** (Projection Neurons, PNs) qui sont excitateurs (cholinergiques) et dont l'axone sort du AL et les **Neurones Locaux** (Local Neurons, LNs) qui sont inhibiteurs (principalement GABAergiques) et qui n'ont pas d'axone.
- ▶ Les PNs ont un rôle analogue aux cellules mitrales/touffues et les LNs ont un rôle analogue aux cellules en grain du bulbe olfactif.
- ▶ Les axones des PNs forment typiquement deux arborisations, une dans chacune des deux autres structures olfactives. Les ALs constituent la majeure partie de ce que les anatomistes nomment *Deutocerebrum*.

Structures olfactives du cerveau de l'insecte. (2)

- ▶ Les **Lobes Protocérébraux Latéraux** (LPLs, aussi appelés Lateral Horns, LHs) où on trouve des neurones commandant des motoneurones.
 - ▶ Ils constituent « officiellement » le relais de sortie du système olfactif. Ils sont beaucoup moins bien connus que les ALs et que la dernière structure (De Belle & Kanzaki, 1999).
 - ▶ Les **Corps Pédonculés** (Mushroom Bodies, MBs) sont « une boucle latérale » sur la voie « directe » AL-LPL. On y trouve un nombre énorme de petits neurones, les **Cellules de Kenyon** (Kenyon Cells, KCs).
 - ▶ C'est la structure où l'association entre différentes modalités sensorielles (eg, olfaction et vision) et sensée se produire.

Structures olfactives du cerveau de l'insecte. (2)

- ▶ Les **Lobes Protocérébraux Latéraux** (LPLs, aussi appelés Lateral Horns, LHs) où on trouve des neurones commandant des motoneurones.
- ▶ Ils constituent « officiellement » le relais de sortie du système olfactif. Ils sont beaucoup moins bien connus que les ALs et que la dernière structure (De Belle & Kanzaki, 1999).
- ▶ Les **Corps Pédonculés** (Mushroom Bodies, MBs) sont « une boucle latérale » sur la voie « directe » AL-LPL. On y trouve un nombre énorme de petits neurones, les **Cellules de Kenyon** (Kenyon Cells, KCs).
- ▶ C'est la structure où l'association entre différentes modalités sensorielles (eg, olfaction et vision) et sensée se produire.

Structures olfactives du cerveau de l'insecte. (2)

- ▶ Les **Lobes Protocérébraux Latéraux** (LPLs, aussi appelés Lateral Horns, LHs) où on trouve des neurones commandant des motoneurones.
- ▶ Ils constituent « officiellement » le relais de sortie du système olfactif. Ils sont beaucoup moins bien connus que les ALs et que la dernière structure (De Belle & Kanzaki, 1999).
- ▶ Les **Corps Pédonculés** (Mushroom Bodies, MBs) sont « une boucle latérale » sur la voie « directe » AL-LPL. On y trouve un nombre énorme de petits neurones, les **Cellules de Kenyon** (Kenyon Cells, KCs).
- ▶ C'est la structure où l'association entre différentes modalités sensorielles (eg, olfaction et vision) et sensée se produire.

Structures olfactives du cerveau de l'insecte. (2)

- ▶ Les **Lobes Protocérébraux Latéraux** (LPLs, aussi appelés Lateral Horns, LHs) où on trouve des neurones commandant des motoneurones.
- ▶ Ils constituent « officiellement » le relais de sortie du système olfactif. Ils sont beaucoup moins bien connus que les ALs et que la dernière structure (De Belle & Kanzaki, 1999).
- ▶ Les **Corps Pédonculés** (Mushroom Bodies, MBs) sont « une boucle latérale » sur la voie « directe » AL-LPL. On y trouve un nombre énorme de petits neurones, les **Cellules de Kenyon** (Kenyon Cells, KCs).
- ▶ C'est la structure où l'association entre différentes modalités sensorielles (eg, olfaction et vision) et sensée se produire.

Structures gustatives du cerveau de l'insecte.

Comme nous nous intéressons aussi au conditionnement associatif entre récompense sucrée et odeur, il faut savoir que les récepteurs gustatifs, qui eux sont situés en première approximation « partout »... (mais surtout sur les mandibule, la langue, les antennes, les pattes), projettent dans le **Ganglion Sub-Oesophageal** (Subosophageal Ganglion, SOG).

Pour en savoir plus sur le système gustatif, vous pourrez consulter avec profit le site de Frédéric Marion-Poll :

<http://quasimodo.versailles.inra.fr/fred/>.

Structures gustatives du cerveau de l'insecte.

Comme nous nous intéressons aussi au conditionnement associatif entre récompense sucrée et odeur, il faut savoir que les récepteurs gustatifs, qui eux sont situés en première approximation « partout »... (mais surtout sur les mandibule, la langue, les antennes, les pattes), projettent dans le **Ganglion Sub-Oesophageal** (Subosophageal Ganglion, SOG).

Pour en savoir plus sur le système gustatif, vous pourrez consulter avec profit le site de Frédéric Marion-Poll :

<http://quasimodo.versailles.inra.fr/fred/>.

Structures gustatives du cerveau de l'insecte.

Comme nous nous intéressons aussi au conditionnement associatif entre récompense sucrée et odeur, il faut savoir que les récepteurs gustatifs, qui eux sont situés en première approximation « partout »... (mais surtout sur les mandibule, la langue, les antennes, les pattes), projettent dans le **Ganglion Sub-Oesophageal** (Subosophageal Ganglion, SOG).

Pour en savoir plus sur le système gustatif, vous pourrez consulter avec profit le site de Frédéric Marion-Poll :

<http://quasimodo.versailles.inra.fr/fred/>.

Le tour de force de Martin Hammer. (1)

- ▶ Entre la fin des années 80 et le début des années 90 un thésard, Martin Hammer, du labo de Randolph Menzel à Berlin (<http://www.neurobiologie.fu-berlin.de/Menzel.html>) a réussi à identifier un neurone « responsable » du conditionnement olfactif chez l'abeille.
- ▶ Ce neurone a son corps cellulaire localisé dans le SOG. Il est directement ou indirectement excité par les récepteurs gustatifs. Il arborise dans les 3 structures clés de l'olfaction : les ALs, les MBs et le LPLs.
- ▶ Il est octopaminergique, c'est-à-dire qu'il a un effet neuromodulateur...
- ▶ Enfin on peut remplacer le stimulus inconditionnel (SI, la présentation de sucrose) par une stimulation directe de ce neurone (Hammer, 1993).

Le tour de force de Martin Hammer. (1)

- ▶ Entre la fin des années 80 et le début des années 90 un thésard, Martin Hammer, du labo de Randolph Menzel à Berlin (<http://www.neurobiologie.fu-berlin.de/Menzel.html>) a réussi à identifier un neurone « responsable » du conditionnement olfactif chez l'abeille.
- ▶ Ce neurone a son corps cellulaire localisé dans le SOG. Il est directement ou indirectement excité par les récepteurs gustatifs. Il arborise dans les 3 structures clés de l'olfaction : les ALs, les MBs et le LPLs.
- ▶ Il est octopaminergique, c'est-à-dire qu'il a un effet neuromodulateur...
- ▶ Enfin on peut remplacer le stimulus inconditionnel (SI, la présentation de sucrose) par une stimulation directe de ce neurone (Hammer, 1993).

Le tour de force de Martin Hammer. (1)

- ▶ Entre la fin des années 80 et le début des années 90 un thésard, Martin Hammer, du labo de Randolph Menzel à Berlin (<http://www.neurobiologie.fu-berlin.de/Menzel.html>) a réussi à identifier un neurone « responsable » du conditionnement olfactif chez l'abeille.
- ▶ Ce neurone a son corps cellulaire localisé dans le SOG. Il est directement ou indirectement excité par les récepteurs gustatifs. Il arborise dans les 3 structures clés de l'olfaction : les ALs, les MBs et le LPLs.
- ▶ Il est octopaminergique, c'est-à-dire qu'il a un effet neuromodulateur...
- ▶ Enfin on peut remplacer le stimulus inconditionnel (SI, la présentation de sucrose) par une stimulation directe de ce neurone (Hammer, 1993).

Le tour de force de Martin Hammer. (1)

- ▶ Entre la fin des années 80 et le début des années 90 un thésard, Martin Hammer, du labo de Randolph Menzel à Berlin (<http://www.neurobiologie.fu-berlin.de/Menzel.html>) a réussi à identifier un neurone « responsable » du conditionnement olfactif chez l'abeille.
- ▶ Ce neurone a son corps cellulaire localisé dans le SOG. Il est directement ou indirectement excité par les récepteurs gustatifs. Il arborise dans les 3 structures clés de l'olfaction : les ALs, les MBs et le LPLs.
- ▶ Il est octopaminergique, c'est-à-dire qu'il a un effet neuromodulateur...
- ▶ Enfin on peut remplacer le stimulus inconditionnel (SI, la présentation de sucrose) par une stimulation directe de ce neurone (Hammer, 1993).

Le tour de force de Martin Hammer. (2)

- ▶ Martin Hammer a nommé ce neurone : **VUMmx1**.
- ▶ V pour *ventral*, U pour *unpaired*, M pour *median*.
- ▶ Clairement, le nom « aide » à localiser le neurone... Il faut bien se rendre compte que ce genre d'enregistrements s'apparente à la pêche à la ligne voire même à la recherche d'une aiguille dans une botte de foin.

Le tour de force de Martin Hammer. (2)

- ▶ Martin Hammer a nommé ce neurone : **VUMmx1**.
- ▶ V pour *ventral*, U pour *unpaired*, M pour *median*.
- ▶ Clairement, le nom « aide » à localiser le neurone... Il faut bien se rendre compte que ce genre d'enregistrements s'apparente à la pêche à la ligne voire même à la recherche d'une aiguille dans une botte de foin.

Le tour de force de Martin Hammer. (2)

- ▶ Martin Hammer a nommé ce neurone : **VUMmx1**.
- ▶ V pour *ventral*, U pour *unpaired*, M pour *median*.
- ▶ Clairement, le nom « aide » à localiser le neurone... Il faut bien se rendre compte que ce genre d'enregistrements s'apparente à la pêche à la ligne voire même à la recherche d'une aiguille dans une botte de foin.

Le tour de force de Martin Hammer. (3)

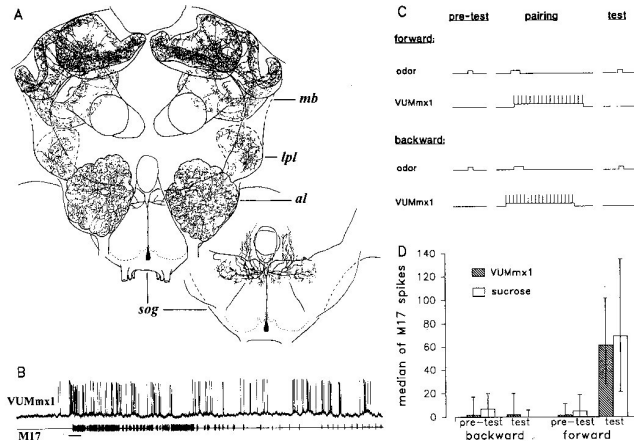
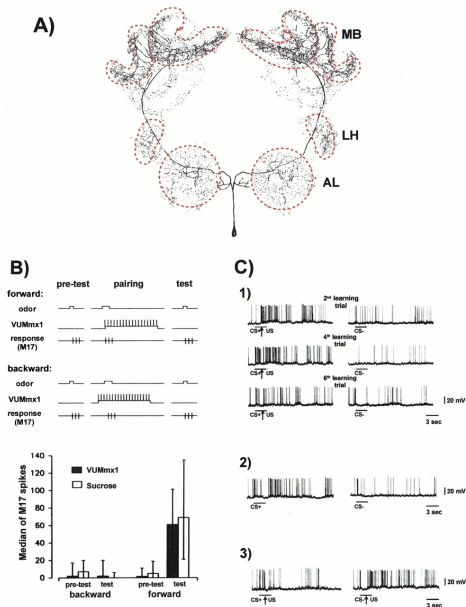


Figure 4. *A*, Morphology of the VUMmx1 neuron. VUMmx1 arborizes in the dorsal subesophageal ganglion (*sog*) and its axonal arborizations innervate the glomeruli of the antennal lobe (*al*), the lateral protocerebral lobe (*lpl*), and the *lip* and the basal ring (*br*) of the *mb* calyces. *B*, Intracellularly recorded response of the VUMmx1 neuron and extracellularly recorded response of the M17 muscle to sucrose stimulation of the antennae and proboscis (the US in PER conditioning). The scale bar indicates the time of sucrose stimulation (duration 1 sec). *C*, Substitution experiment (design). In the substitution experiment, the sucrose US in a single conditioning trial was replaced by an intracellular current injection (duration 30 sec) of the VUMmx1 neuron, which depolarized the cell and caused a discharge of action potentials. This depolarization was paired with an odor where odor-onset either preceded the start of the depolarization by 2 sec (forward) or followed it by 5 sec (backward). A pretest odor was presented 5 min before and a test odor 10 min after pairing. The behavioral effect of this treatment was measured as odor-evoked number of M17 spikes recorded extracellularly during a 10 sec interval after the onset of odor stimuli. *D*, Median of M17 spikes (with interquartile ranges) evoked by the pretest and test odor stimuli in both backward and forward conditioning experiments with either sucrose (white bars) or VUMmx1-depolarization (hatched bars), respectively. In experiments with sucrose stimulation, the protocol was the same as in the substitution experiment (modified from Hammer, 1993).

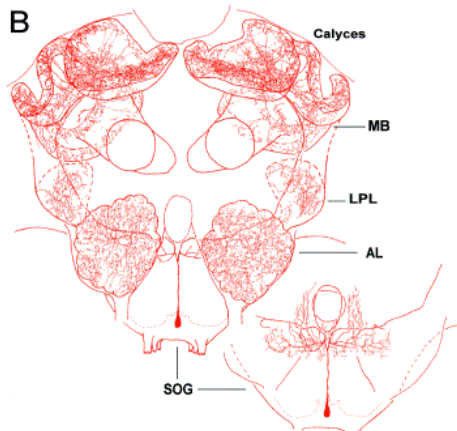
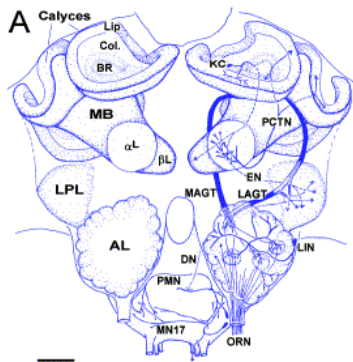
La figure la plus importante du papier de Hammer (1993).

Le tour de force de Martin Hammer. (4)



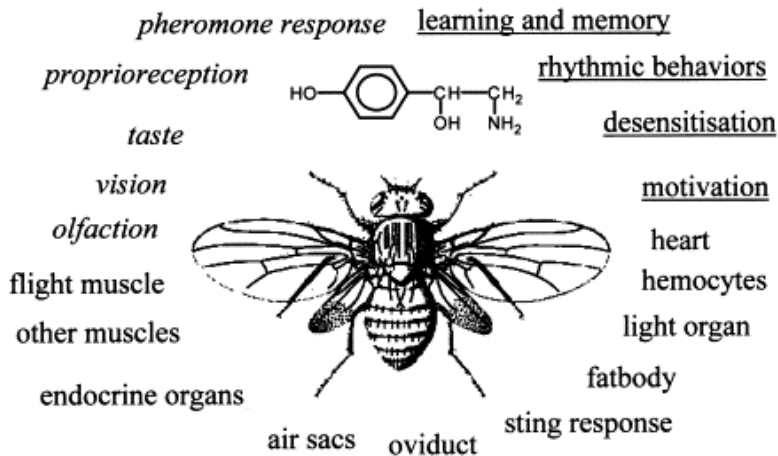
Une version modifiée et plus lisible (Menzel, 2001).

Le tour de force de Martin Hammer. (5)



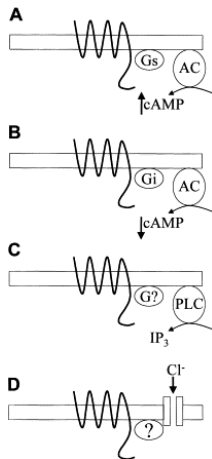
Comparaison entre structure globale du cerveau et arborisation de VUMmx1 (Hammer, 1997).

L'octopamine, c'est quoi ? (1)



L'octopamine, une amine biogène, est sensée être l'équivalent, chez les invertébrés, de l'adrénaline (norépinéphrine) chez les vertébrés (Roeder, 1999).

L'octopamine, c'est quoi ? (2)



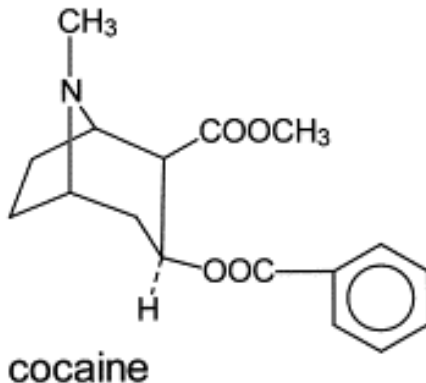
Les récepteurs à l'octopamine, sont des protéines à 7 segments transmembranaires couplés à des protéines G (en général) (Roeder, 1999). Certains ont été clonés chez la drosophile (Arakawa et al, 1990) ; chez des papillons de nuit : *Bonbyx mori* et *Heliothis virescens* (von Nickisch et al, 1996) ; chez l'abeille (Grohmann et al, 2003). Comme l'indique la figure ils peuvent activer ou inhiber la PKA, augmenter la concentration d'IP₃ et ouvrir des conductances Chlorure (Roeder, 1999).

L'octopamine, c'est quoi ? (3)



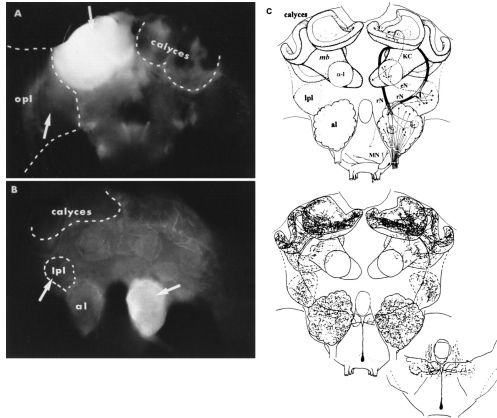
L'une des plantes les plus tristement célèbres au monde doit sa renommée à un alcaloïde qu'elle synthétise... et qui bloque le transporteur à l'octopamine des insectes.

L'octopamine, c'est quoi ? (4)



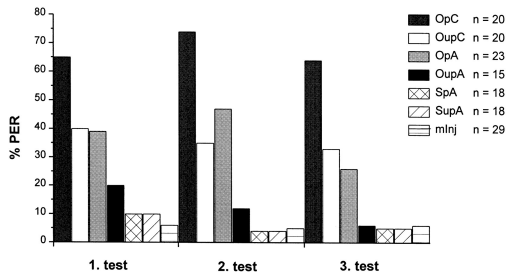
Cette plante est la **coca** et l'alcaloïde est la **cocaine**, qui, chez les vertébrés, bloque le transporteur à la dopamine (Roeder, 1999).

Peut-on remplacer la stimulation directe de VUMmx1 par une injection d'octopamine (OA)? (1)



Hammer et Menzel ont fait la manipe en injectant de l'octopamine (OA, ainsi que du jaune de Lucifère, pour visualiser l'extension de l'injection) dans nos régions préférées du cerveau : AL, MB et LPL (Hammer & Menzel, 1998).

Peut-on remplacer la stimulation directe de VUMmx1 par une injection d'octopamine (OA)? (2)



Effet du « couplage » d'une odeur (CS) avec une injection locale d'OA (US) dans les calices des MBs ou dans le AL sur le pourcentage de PER dans 3 essais, 30, 40 et 50 mn après injection. Odeur associée, ou non, avec une injection d'OA (OpA, OupA) ou de solution saline (SpA, SupA) dans le AL. (mlnj) un groupe (controle) pour lequel l'injection a été ratée. (OpC et OupC) deux groupes où l'injection d'OA dans les calices a été associée, ou non, à une odeur.

Quelle est la conséquence de l'activation du récepteur à l'OA lors du conditionnement associatif olfactif? (1)

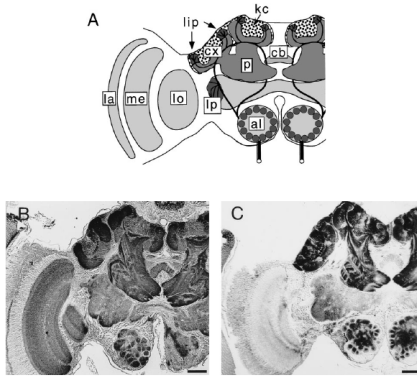


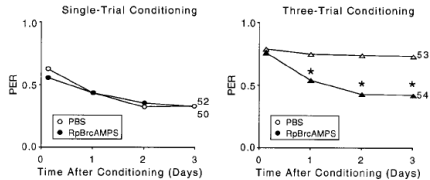
Fig. 2. Comparison of the distribution of PKAII and PKC in the honeybee brain with the neuropils involved in olfactory learning. A: Schematic of the honeybee brain. Neuropils that are involved in associative olfactory learning are darkly shaded. The antennal lobes (al) are the primary centers of olfactory processing. Receptor neurons from the antennal lobes project into the lip of the mushroom body calyx (cx) and the lateral protocerebral lobe (lp) via a medulla and a lateral pathway. The mushroom bodies are involved in higher integrative functions and receive input from different sensory modalities. They consist of calyx (cx), pedunculi (p), α -lobes, and intrinsic lobes

originating from the Kenyon cell somata (kc) located around the calyx. The distribution of PKAII (B) and Ca^{2+} /phospholipid-dependent PKC (C) in the honeybee brain shows characteristic differences as revealed by immunohistochemistry. While all neuropils in the honeybee brain show PKAII immunostaining (B), Ca^{2+} /phospholipid-dependent PKC (C) is concentrated in the mushroom bodies and the antennal lobes. The visual neuropil, like the brain (cb), medulla (me) and the lobula (lo) as well as most parts of the central brain are very weakly stained for PKC. Scale bars = 100µm.

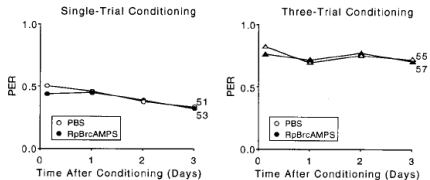
Localisation de la PKA (à gauche) et de la PKC (à droite) dans le cerveau de l'abeille (Mueller, 1999).

Quelle est la conséquence de l'activation du récepteur à l'OA lors du conditionnement associatif olfactif? (2)

A Injection 20 min Before Conditioning



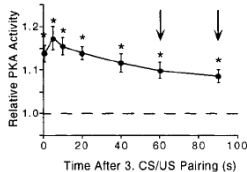
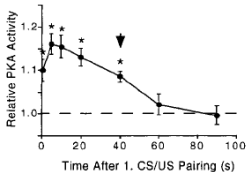
B Injection 10 min After Conditioning



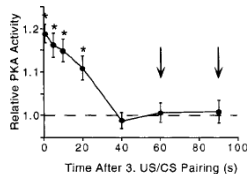
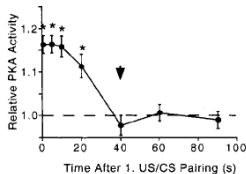
En réduisant l'activité de la PKA on bloque l'induction de mémoire à long term (lors conditionnement associatif olfactif). Ici Uli Mueller réduit de 25% l'activité de la PKA 20 minutes après l'injection. Dans ces conditions, 40 minutes plus tard l'activité normale de la PKA est de nouveau observée (Mueller, 2000).

Quelle est la conséquence de l'activation du récepteur à l'OA lors du conditionnement associatif olfactif? (3)

A Forward Pairing



B Backward Pairing



U Mueller mesure aussi directement l'activité PKA, *dans les lobes antennaires*, induite par différents protocoles de conditionnement à court et long terme (Mueller, 2000). Dans ce dernier article il démontre aussi une implication du NO et de la NOS.

Les phéromones sexuelles chez les papillons de nuit.

- ▶ On ne peut pas faire un cours sur le lien entre olfaction et comportement sans parler à un moment de la localisation de la femelle par le mâle chez les papillons de nuit.
- ▶ La situation est relativement simple. La femelle, typiquement localisée sur la plante hôte de l'espèce (c'est-à-dire la plante dont se nourrit la chenille), libère une odeur spécifique de son espèce. Cette odeur est toujours constituée d'un mélange de différents types moléculaires (typiquement aux moins deux types sont nécessaires pour déclencher le comportement, dont la description va suivre, chez le mâle). Le mâle qui peut être situé à plusieurs centaines de mètres, sent la phéromone et commence à voler (en remontant le vent) vers la femelle. Lorsqu'il est à quelques centimètres de celle-ci il commence à faire des mouvement abdominaux de copulation.
- ▶ Nous allons voir brièvement deux problèmes intéressant pour le neuroéthologiste : la reconnaissance d'un mélange phéromonal particulier et l'orientation du vol vers la source de phéromone (le papillon femelle).

Les phéromones sexuelles chez les papillons de nuit.

- ▶ On ne peut pas faire un cours sur le lien entre olfaction et comportement sans parler à un moment de la localisation de la femelle par le mâle chez les papillons de nuit.
- ▶ La situation est relativement simple. La femelle, typiquement localisée sur la plante hôte de l'espèce (c'est-à-dire la plante dont se nourrit la chenille), libère une odeur spécifique de son espèce. Cette odeur est toujours constituée d'un mélange de différents types moléculaires (typiquement aux moins deux types sont nécessaires pour déclencher le comportement, dont la description va suivre, chez le mâle). Le mâle qui peut être situé à plusieurs centaines de mètres, sent la phéromone et commence à voler (en remontant le vent) vers la femelle. Lorsqu'il est à quelques centimètres de celle-ci il commence à faire des mouvement abdominaux de copulation.
- ▶ Nous allons voir brièvement deux problèmes intéressant pour le neuroéthologiste : la reconnaissance d'un mélange phéromonal particulier et l'orientation du vol vers la source de phéromone (le papillon femelle).

Les phéromones sexuelles chez les papillons de nuit.

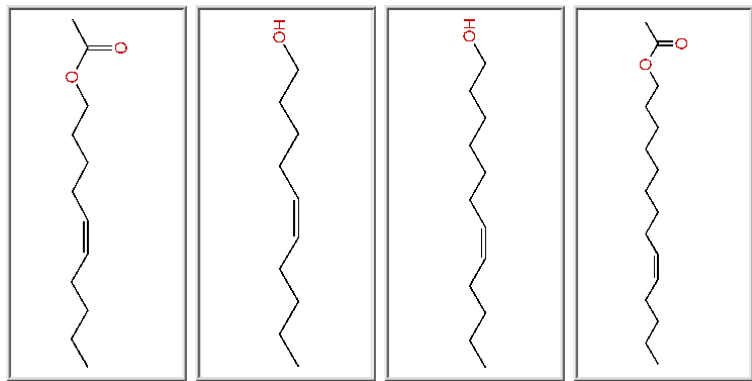
- ▶ On ne peut pas faire un cours sur le lien entre olfaction et comportement sans parler à un moment de la localisation de la femelle par le mâle chez les papillons de nuit.
- ▶ La situation est relativement simple. La femelle, typiquement localisée sur la plante hôte de l'espèce (c'est-à-dire la plante dont se nourrit la chenille), libère une odeur spécifique de son espèce. Cette odeur est toujours constituée d'un mélange de différents types moléculaires (typiquement aux moins deux types sont nécessaires pour déclencher le comportement, dont la description va suivre, chez le mâle). Le mâle qui peut être situé à plusieurs centaines de mètres, sent la phéromone et commence à voler (en remontant le vent) vers la femelle. Lorsqu'il est à quelques centimètres de celle-ci il commence à faire des mouvement abdominaux de copulation.
- ▶ Nous allons voir brièvement deux problèmes intéressant pour le neuroéthologiste : la reconnaissance d'un mélange phéromonal particulier et l'orientation du vol vers la source de phéromone (le papillon femelle).

L'importance de la composition du mélange phéromonal (1)



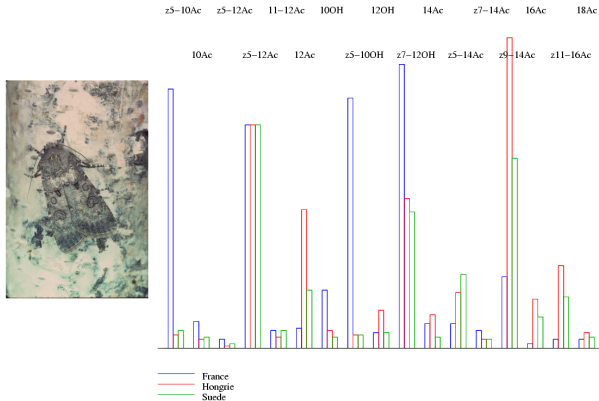
Notre victime, la Noctuelle des moissons (*Agrotis segetum*). Différentes *populations* de ce papillon (en France, Suède, Hongrie, Angleterre, Zimbabwe, etc) utilisent les mêmes molécules pour leur mélange phéromonal mais dans des *proportions différentes*. Source : Laboratoire de Christer Lofstedt (<http://www.pheromone.ekol.lu.se>).

L'importance de la composition du mélange phéromonal (2)



4 des molécules composants le mélange phéromonal des différentes populations d'*Agrotis segetum*. De gauche à droite : z5-10Ac, z5-10OH, z7-12OH, z9-14Ac. Pour une liste exhaustive, consulter la base de données suivante : <http://www-pherolist.slu.se/pherolist.php>.

L'importance de la composition du mélange phéromonal (3)



Les proportions des différentes molécules dans le mélange phéromonal pour trois populations européennes (<http://www-pherolist.slu.se/pherolist.php>).

L'importance de la composition du mélange phéromonal (4)



Lorsque les chemo-écologistes pensent avoir identifié le bon mélange phéromonal de la *population* considérée, ils le testent en plaçant une source de phéromone synthétique à un bout d'un tunnel à vol et un papillon mâle à l'autre bout. Source : Laboratoire de Christer Loefstedt (<http://www.pheromone.ekol.lu.se>).

L'importance de la composition du mélange phéromonal (5)



Ils peuvent ainsi montrer sans ambiguïté que les mâles d'une population donnée distinguent parfaitement « leur mélange phéromonal » de celui des autres populations. Source : Laboratoire de Christer Loefstedt (<http://www.pheromone.ekol.lu.se>).

L'importance de la composition du mélange phéromonal (6)

Des questions se posent alors « naturellement » au neuro-éthologiste et plus généralement au neurophysiologiste :

- ▶ Comment la représentation d'une odeur faite d'un mélange de molécules différentes se fait-elle ?
- ▶ Comment la distinction entre différents mélanges « proches » se fait-elle ?

L'importance de la composition du mélange phéromonal (6)

Des questions se posent alors « naturellement » au neuro-éthologiste et plus généralement au neurophysiologiste :

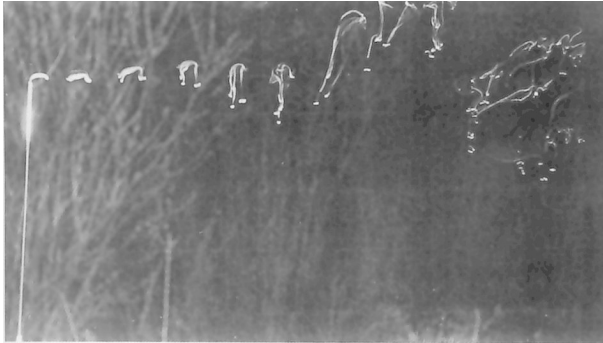
- ▶ Comment la représentation d'une odeur faite d'un mélange de molécules différentes se fait-elle ?
- ▶ Comment la distinction entre différents mélanges « proches » se fait-elle ?

L'importance de la composition du mélange phéromonal (6)

Des questions se posent alors « naturellement » au neuro-éthologiste et plus généralement au neurophysiologiste :

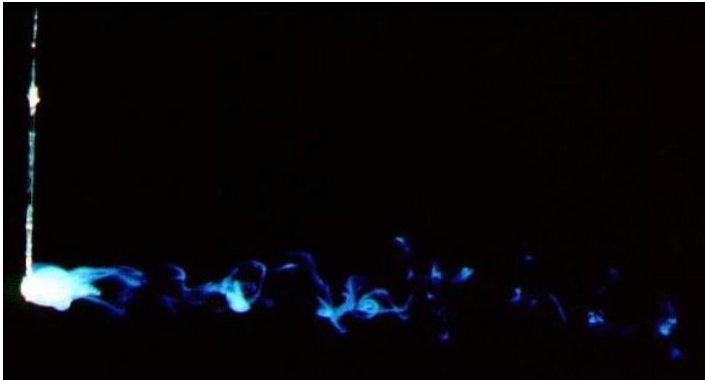
- ▶ Comment la représentation d'une odeur faite d'un mélange de molécules différentes se fait-elle ?
- ▶ Comment la distinction entre différents mélanges « proches » se fait-elle ?

L'orientation du vol vers la femelle : la nature discontinue du stimulus (1)



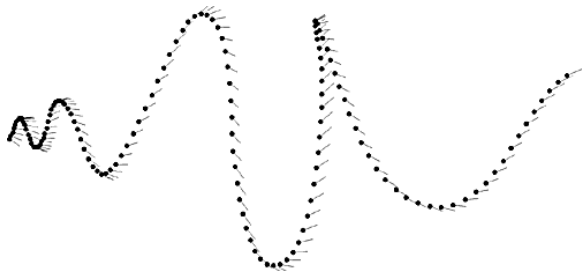
Simulation (analogique) d'une émission pulsatile d'odeur avec de l'air contenant un marqueur visible (du tetrachloride de titanium). Les bouffées sont émises 2 fois par seconde par le capillaire visible à gauche. La vitesse du vent est de 11 cm/s. Le champ visible sur la photo fait 60 cm de long (Conner et al, 1980 ; cité par Kaissling, 1987).

L'orientation du vol vers la femelle : la nature discontinue du stimulus (2)



La structure « en plumes » est aussi observée avec une source continue. Ici la vitesse du vent est de 75 cm/s (source : Mark Willis <http://flightpath.neurobio.arizona.edu/Odor/plume.html>).

L'orientation du vol vers la femelle : la nature discontinue du stimulus (3)



Vol d'un mâle du papillon *Manduca sexta* remontant le vent vers une source de phéromone (Projection à 2D d'une trajectoire qui est réellement à 3D). La position du papillon est marquée tous les 1/30 secondes.

L'orientation du corps est indiquée par le segment (source : Mark Willis <http://flightpath.neurobio.arizona.edu/newindex.html>).

Remarquer : les changements de direction fréquents, quand le papillon s'approche de la source il ralentit et tourne plus fréquemment.

L'orientation du vol vers la femelle : la nature discontinue du stimulus (4)



Photo prise lors de l'arrivée au but (*Manduca sexta*, source : Mark Willis <http://flightpath.neurobio.arizona.edu/newindex.html>).

Troisième partie III

Physiologie de l'olfaction chez les insectes (principalement)

Retour sur le cerveau et comparaison avec les vertébrés. (1)

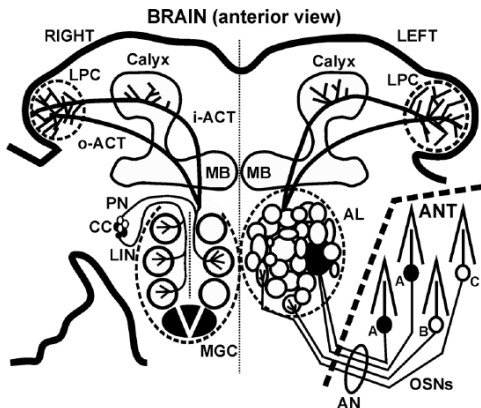
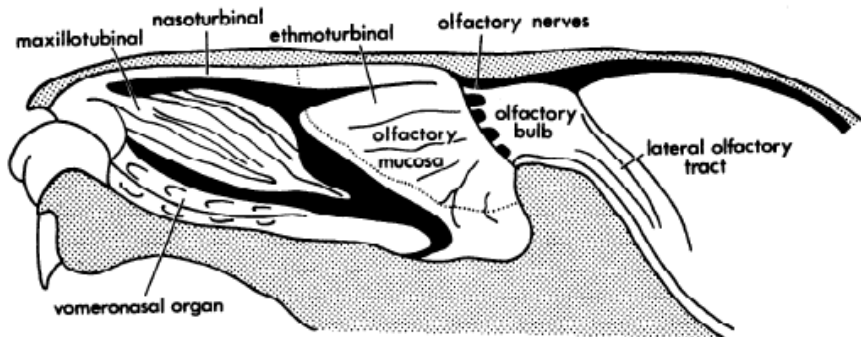


Schéma simplifié de la partie « olfactive » du système nerveux des insectes (Vogt, 2004).

Retour sur le cerveau et comparaison avec les vertébrés. (2)



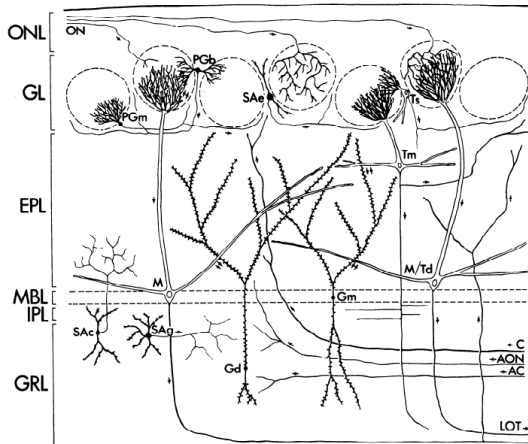
Le cas du mammifère (Shepherd, 1972).

Retour sur le cerveau et comparaison avec les vertébrés. (3)



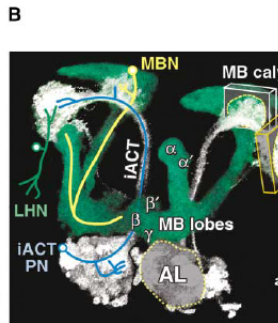
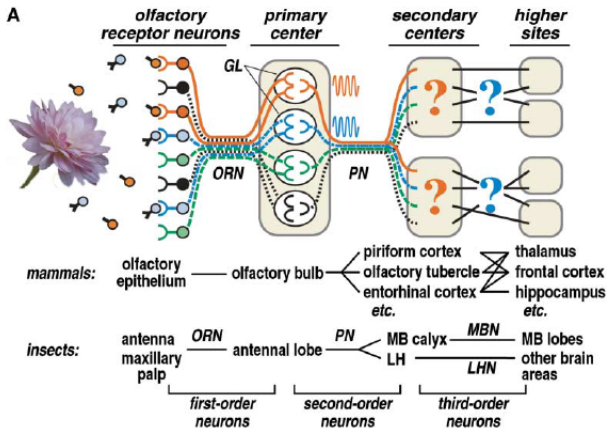
Coupe sagittale du bulbe
olfactif d'une souris
(source : <http://cpmcnet.columbia.edu/dept/neurobeh/axel/images.html>).

Retour sur le cerveau et comparaison avec les vertébrés. (4)



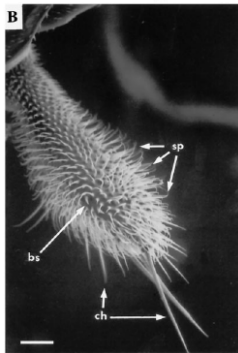
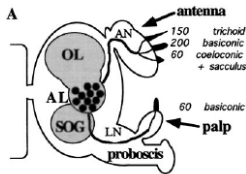
Structure du bulbe olfactif
(Shepherd, 1972).

Retour sur le cerveau et comparaison avec les vertébrés. (5)



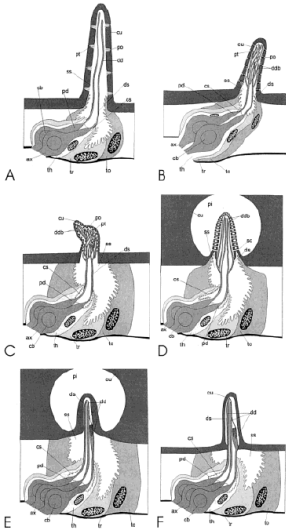
Comparaison des circuits olfactifs drosophile/vertébrés (Tanaka et al, 2004).

La périphérie : les neurones récepteurs olfactifs. (1)



Localisation des neurones récepteurs olfactifs (Olfactory Receptor Neurons, *ORN*). Exemple de la drosophile (de Bruyne et al, 1999).

La périphérie : les neurones récepteurs olfactifs. (2)



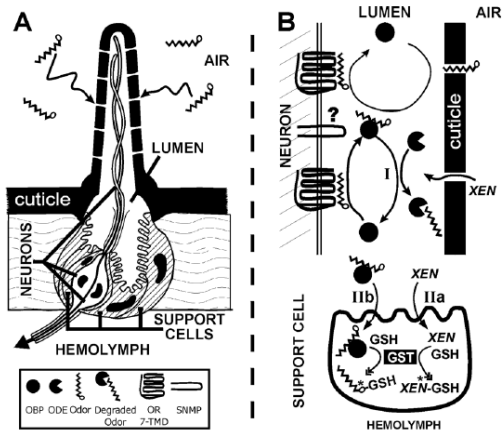
On distingue
typiquement
différents types de
sensilles olfactives.
Exemple de la
femelle du papillon
Manduca sexta
(Schiels &
Hildebrand, 2001).

Les protéines liants les odeurs/phéromones et les estérases sensillaires (1)



Avant de passer aux ORNs proprement dits, il nous faut parler d'une découverte faite sur le papillon *Antheraea polyphemus*.

Les protéines liants les odeurs/phéromones et les estérases sensillaires (2)



Les protéines liants les odeurs/phéromones (Odor/Pheromone Binding Protein, *OBP/PBP*) et les estérases sensillaires (Sensillary Esterase, *SE*) (Vogt, 2004).

Les protéines liants les odeurs/phéromones et les estérases sensillaires (3)

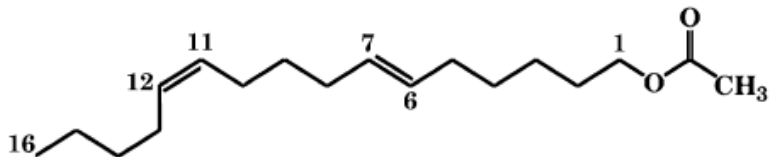
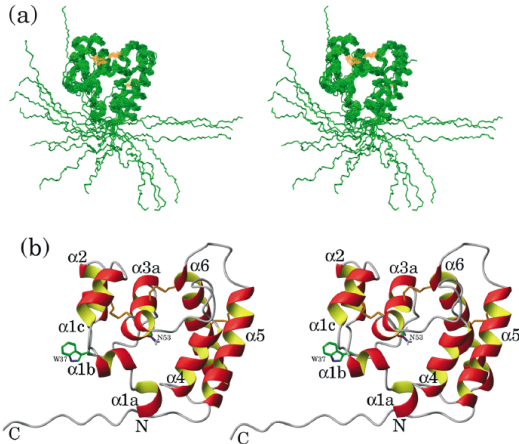


Figure 2. Chemical structure of the pheromone of *Antheraea polyphemus*, (6E,11Z)-hexadeca-6,11-dienyl-1-acetate.

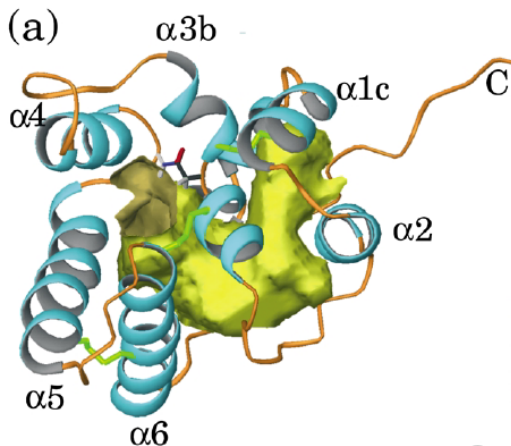
La molécule principale du mélange phéromonal d'*Antheraea polyphemus* : un acétate (6E-11Z)-hexadeca-6,11-dienyl-1-acetate (Mohanty et al, 2004).

Les protéines liants les odeurs/phéromones et les estérases sensillaires (4)



Vue stéréo de la PBP liant
(6E-11Z)-hexadeca-6,11-dienyl-1-acetate (Mohanty et al, 2004).

Les protéines liants les odeurs/phéromones et les estérases sensillaires (5)



La PBP avec la phéromone liée (Mohanty et al, 2004).

Enregistrements d'ORNs uniques. (1)

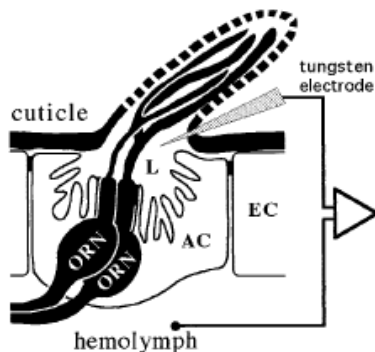


Schéma de principe des enregistrements électrophysiologiques d'ORNs uniques (de Bruyne et al, 1999).

Figure 2 Schematic overview of single-unit recordings from ORNs in a basiconic sensillum, showing electrode positions for the extracellular recording of voltage differences between the sensillum lymph (L) and the hemolymph. AC, Accessory cells; EC, epidermal cells.

Enregistrements d'ORNs uniques. (2)

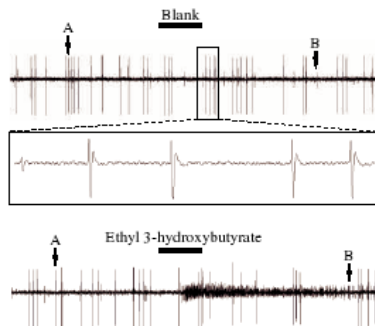
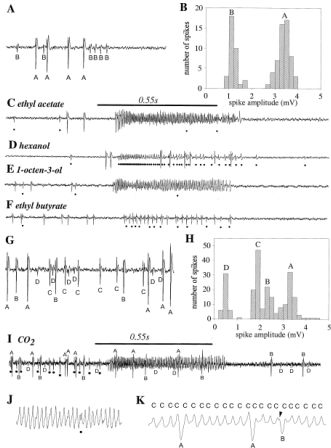


Fig. 1. Simultaneously recorded activity of two co-located olfactory receptor neurones. Differences in action potential (spike) amplitude allow for separation of activity. Stimulation with a blank results in no increased activity from any of the neurones. Stimulation with ethyl 3-hydroxybutyrate elicits a strong response from the smaller spiking neurone, indicated by 'B' (neurone later classified as S2B), whereas the larger spiking neurone, indicated by 'A' is unaffected by the stimulus. Boxed area shows an expanded part of the recording. Horizontal bar indicates stimulus duration, 0.5s.

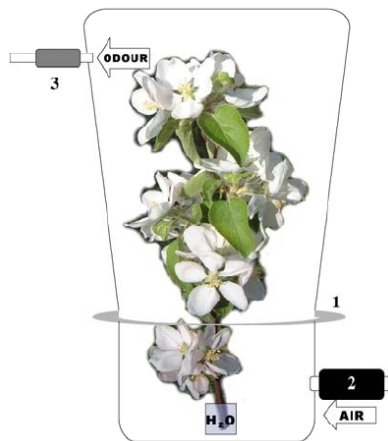
Exemples
d'enregistrements
électrophysiologiques
d'ORNs uniques (Stensmyr
et al, 2003).

Enregistrements d'ORNs uniques. (3)



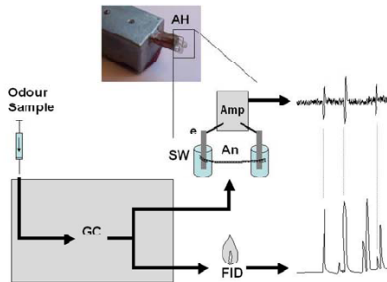
D'autres enregistrements
de bien moins bonne
qualité... mais vendus à un
bien « meilleur journal »
(de Bruyne et al, 2001).

Électrophysiologie couplée à une analyse chimique par chromatographie en phase gazeuse (1)



On commence par collecter une odeur de plante, ou de fruit (en putréfaction pour les drosos) (Ansebo, 2004).

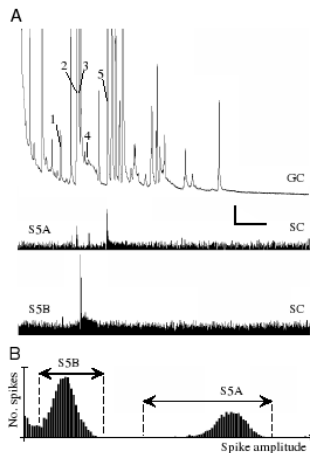
Électrophysiologie couplée à une analyse chimique par chromatographie en phase gazeuse (2)



Puis on fait passer l'odeur collectée par un chromatographe en phase gazeuse à la sortie duquel on place une antenne (comme ici) ou l'animal entier (Ansebo, 2004).

Figure 5. Schematic drawing of simultaneous recordings of signals from a flame ionisation detector (FID) and an insect antenna (An). The odour sample is injected on a gas chromatograph (GC) with a split column and an extra outlet. The antenna is placed with its cut ends in saline-filled wells (SW) on the antenna holder (AH), connected to an amplifier (Amp) and a voltmeter. (Photo by L. Ansebo)

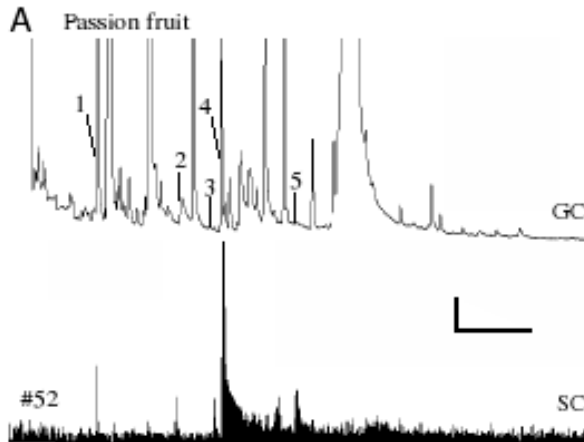
Électrophysiologie couplée à une analyse chimique par chromatographie en phase gazeuse (3)



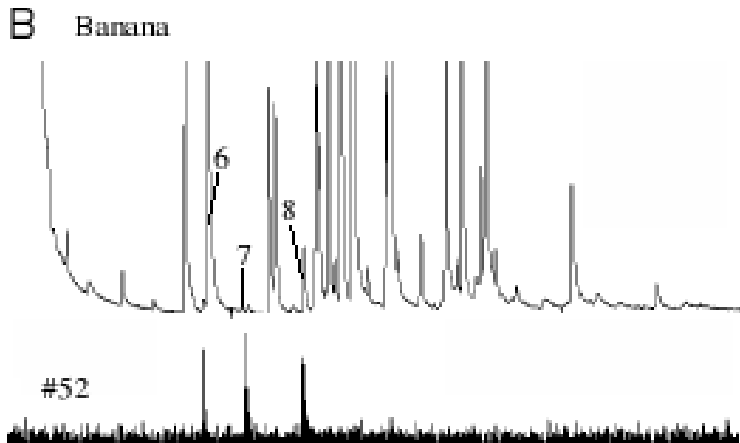
Enregistrements électrophysiologiques d'ORNs uniques couplés à la sortie d'un chromatographe en phase gazeuse (Stensmyr et al, 2003).

Exemple d'analyse rigoureuse des profils de réponses des ORNs chez la drosophile : Stensmyr Et Al (2003) (1)

Réponse d'un ORN aux molécules de fruit de la passion. 1, ethyl butyrate ; 2, ethyl 3-hydroxybutyrate ; 3, non identifié ; 4, ethyl hexanoate ; 5, ethyl 3-hydroxyhexanoate. Barre verticale : 25 spikes/s ; barre horizontale : 1 min (Stensmyr et al, 2003).

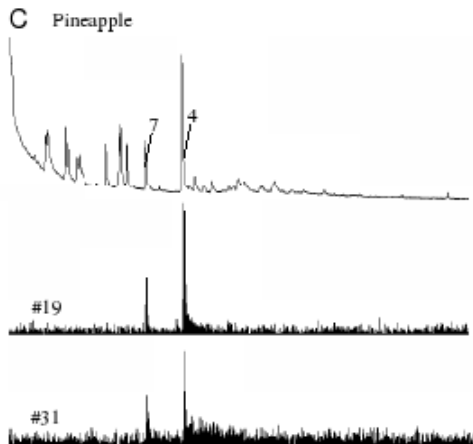


Exemple d'analyse rigoureuse des profils de réponses des ORNs chez la drosophile : Stensmyr Et Al (2003) (2)



Réponse du même ORN aux molécules de banane. 6, isoamyl acetate ; 7, methyl hexanoate ; 8, butyl butyrate (Stensmyr et al, 2003).

Exemple d'analyse rigoureuse des profils de réponses des ORNs chez la drosophile : Stensmyr Et Al (2003) (3)



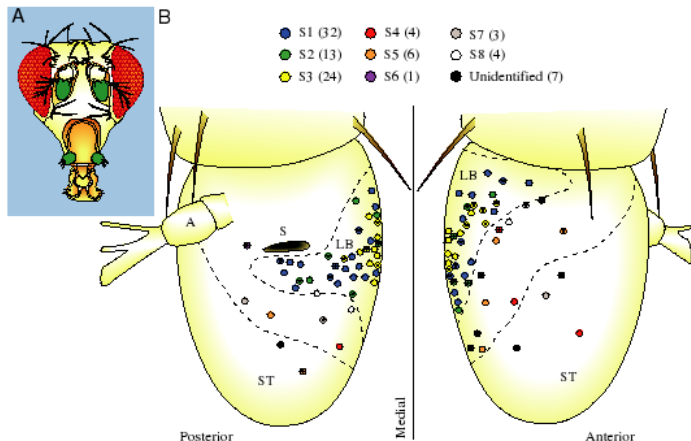
Réponses de deux autres ORNs aux molécules d'ananas : 4, ethyl hexanoate ; 7, methyl hexanoate (Stensmyr et al, 2003).

Exemple d'analyse rigoureuse des profils de réponses des ORNs chez la drosophile : Stensmyr Et Al (2003) (4)

S1	A	HR				
	B	 Acetoin 112	 2,3-butanediol 67	 Ethylidene acetate 65	 Acetyl bromide 34	
	C	 Paciferyl 34				
	D					
S2	A	HR				
	B	 Ethyl 3-hydroxybutyrate 120	 Ethyl butyrate 90	 Cyclohexanone 10		
	C					
	D					
S3	A	 Ethyl hexanoate 114	 Methyl hexanoate 98	 Ethyl butyrate 32	 Ethyl hexanoate 43	 Ethyl 3-hydroxybutyrate 13
	B	 Ethyl 3-hydroxybutyrate 10	 Ethyl 3-hydroxybutyrate 10	 Ethyl 3-hydroxybutyrate 10	 Ethyl 3-hydroxybutyrate 10	 Ethyl 3-hydroxybutyrate 10
	C					
	D					
S4	A	 Ethyl butyrate 98	 1-hexanol 10	 Isobutyric acid 17	 Isobutyl acetate 8	
	B	 Isobutyl acetate 104	 Isobutyl acetate 25			
	C					
	D					
S5	A	 1-hexanol 170				
	B	 Isobutyl acetate 142	 Sec-butyl acetate 107	 Isobutyl acetate 103	 Isobutyl acetate 34	
	C					
	D					
S6	A	HR				
	B	 Sec-butyl acetate 98				
	C					
	D					
S7	A	 Isobutyl acetate 126				
	B					
	C					
	D					
S8	A	HR				
	B	 Phenyl benzoate 58	 Phenyl benzoate 42	 Phenyl benzoate 36		
	C					
	D					

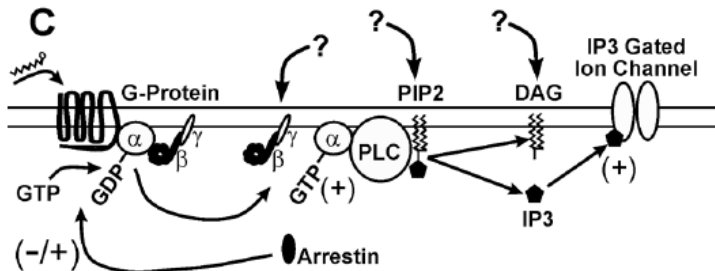
Classifications des sensilles (S1-8) suivant les spectres de réponses des ORNs (A, B, C, D) qu'elles contiennent (Stensmyr et al, 2003).

Exemple d'analyse rigoureuse des profils de réponses des ORNs chez la drosophile : Stensmyr Et Al (2003) (5)



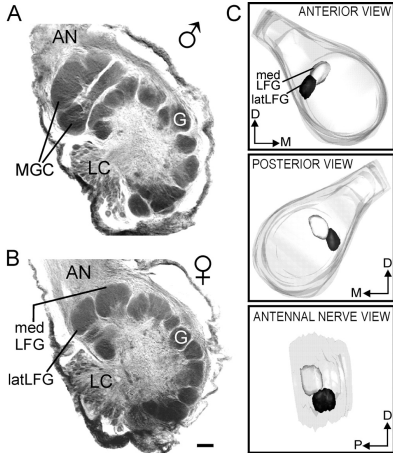
Localisation des sensilles (S1-8) (Stensmyr et al, 2003).

La transduction olfactive : insectes



Rien d'original, des récepteurs à 7 segments trans-membranaires, couplés aux protéine G (Vogt, 2004).

CNS : lobe antennaire (AL) et glomérules



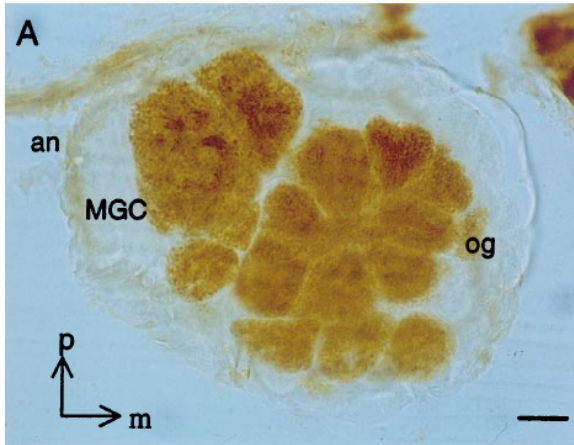
Coupe de lobes antennaire du papillon *Manduca sexta*. A, le mâle avec les différents *macro-glomérules* formant le *complexe macro-glomérulaire* (macro-glomerular complex, *MGC*) à l'entrée du AL et les glomérules « normaux » (G). B, la femelle sans *MGC*, mais avec deux « Lateral Femal Glomeruls » (LFG) d'après King et al (2000).

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi ? (1)



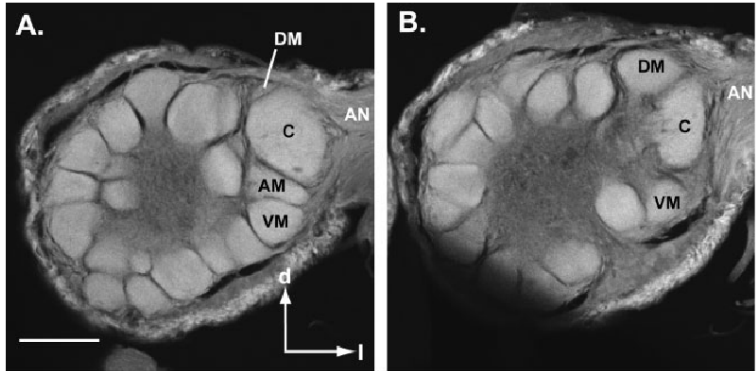
Nous allons aborder cette question avec un petit papillon de nuit, *Heliothis virescens* (3 cm d'envergure) dont la chenille mange le cotonnier et les plants de soja. Son mélange phéromonal comporte 6 molécules dont 2 sont nécessaires et suffisantes pour attirer le mâle : le cis-11-hexadecenal (Z11-16 :AL) et le cis-9-tetradecenal (Z9-14 :AL).

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi ? (2)



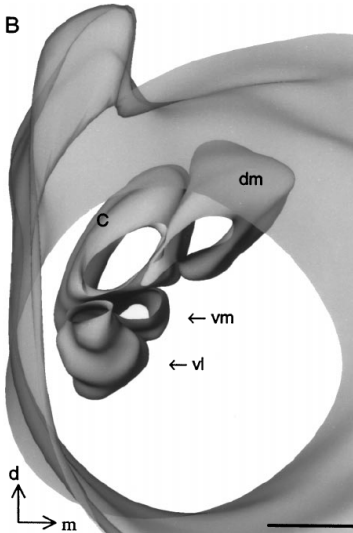
Le MGC (ici sur la partie gauche de la photo) d'*Heliothis virescens* est subdivisé en 4 macro-glomérules (seulement trois sont visibles ici) d'après Berg et al (1998). Barre d'échelle, 50 μm .

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi ? (3)



La même chose avec 2 images confocales prises à deux profondeurs différentes. Le « complexe macroglomérulaire » (ici sur la partie droite) d'*Heliobis virescens* est subdivisé en 4 macro-glomérules (Vickers et al, 2003). Barre d'échelle, 50 μm .

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi ? (4)

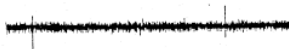


Ici une reconstruction 3D (générée par ordinateur) avec les 4 macro-glomérules : C, cumuls ; dm, dorso-medial ; vl, ventro-lateral ; vm, ventro-medial (Berg et al, 1998 ; Berg et al, 2002).
Barre d'échelle, 50 μ m.

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi ? (5)

A

Z11-16:AL (20 μ g)



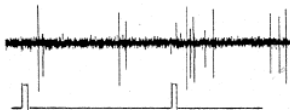
Z11-16:AC (20 μ g)



Z9-14:AL (20 μ g)

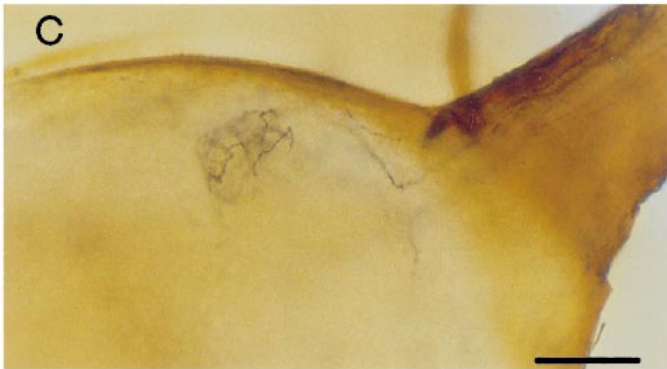


Z9-14:AL



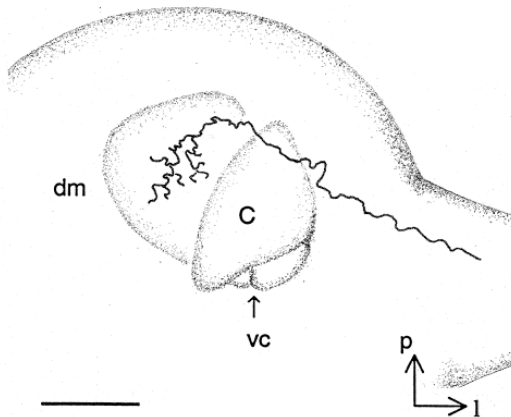
Enregistrement électrophysiologique d'un **ORN** spécifique de Z9-14 :AL (Berg et al, 1998). Durée du stimulus : 500 ms.

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi ? (6)

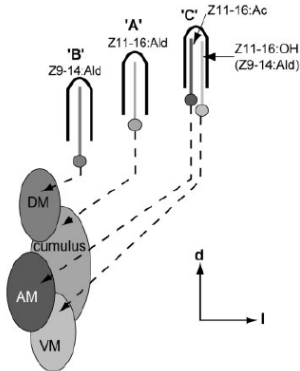


Pendant l'enregistrement électrophysiologique l'ORN est marqué avec du cobalt. On peut ainsi, après l'enregistrement, visualiser le ou les glomérule(s) où il forme des terminaisons (synaptiques). Barre d'échelle, 50 μm . (Berg et al, 1998)

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi ? (7)

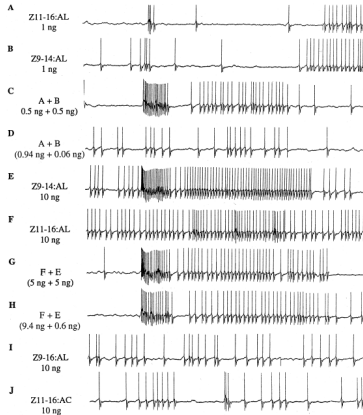


On peut alors reconstruire l'axone sous microscope, avec une chambre claire (Berg et al, 1998). On constate que les axones de tous les récepteurs spécifiques de Z9-14 :AL se terminent dans le macro-glomérule dorso-médial. Barre d'échelle, 50 μ m.



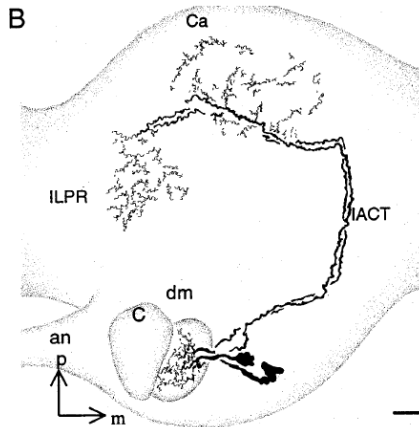
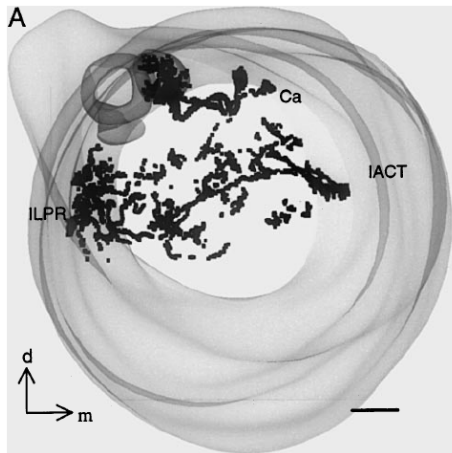
L'analyse systématique de ce types de manipes génère le schéma suivant (Vickers et al, 2003). Le macro-glomérule AM de Vickers et al (2003) est le même que le VL de Berg et al (1998).

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi? (9)



Réponse d'un **neurone de projection** (PN) aux deux molécules principales de la phéromone et à leur mélange (Berg et al, 1998). La bouffée de potentiels d'action sur la trace C correspond à l'application du stimulus. Elle est d'une durée de 400 ms.

Les (macro-)glomérules ça sert à quoi ? (9)



Morphologie du PN précédent. Il ne forme une arborisation dendritique que dans le macro-glomérule dorso-médial (Berg et al, 1998).

Le système « généraliste » ne fonctionne pas de manière fondamentalement différente du système phéromonal (« spécialiste »).

Traditionnellement les gens distinguent, chez l'insecte au moins, « deux » systèmes olfactifs. Le système *spécialiste* qui s'occupe des phéromones et le système *généraliste* qui s'occupe du reste. Au cours des dernières années, certains chercheurs travaillant sur le système généraliste ont « décidé » que les deux systèmes étaient fondamentalement différents et qu'il leur était ainsi permis d'ignorer (cyniquement) le travail sur le système « spécialiste ». Nous allons voir maintenant qu'il n'y a pas de différence fondamentale entre ces deux systèmes.

Le système « généraliste » ne fonctionne pas de manière fondamentalement différente du système phéromonal (« spécialiste »).

Traditionnellement les gens distinguent, chez l'insecte au moins, « deux » systèmes olfactifs. Le système *spécialiste* qui s'occupe des phéromones et le système *généraliste* qui s'occupe du reste. Au cours des dernières années, certains chercheurs travaillant sur le système généraliste ont « décidé » que les deux systèmes étaient fondamentalement différents et qu'il leur était ainsi permis d'ignorer (cyniquement) le travail sur le système « spécialiste ». Nous allons voir maintenant qu'il n'y a pas de différence fondamentale entre ces deux systèmes.

Le système « généraliste » ne fonctionne pas de manière fondamentalement différente du système phéromonal (« spécialiste »).

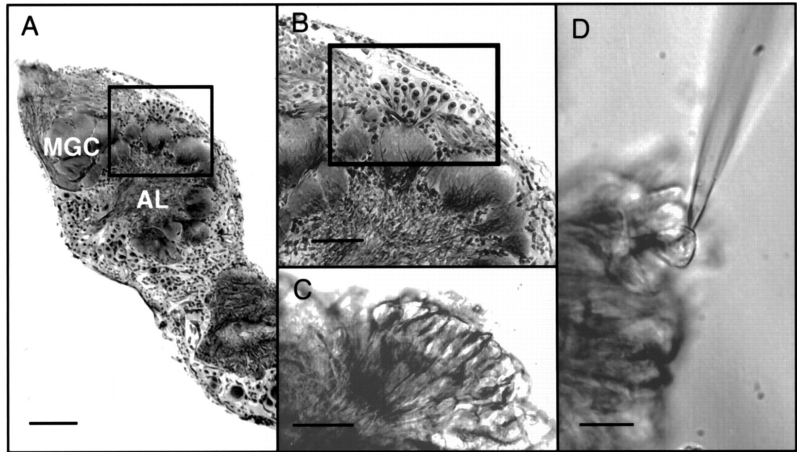
Traditionnellement les gens distinguent, chez l'insecte au moins, « deux » systèmes olfactifs. Le système *spécialiste* qui s'occupe des phéromones et le système *généraliste* qui s'occupe du reste. Au cours des dernières années, certains chercheurs travaillant sur le système généraliste ont « décidé » que les deux systèmes étaient fondamentalement différents et qu'il leur était ainsi permis d'ignorer (cyniquement) le travail sur le système « spécialiste ».

Nous allons voir maintenant qu'il n'y a pas de différence fondamentale entre ces deux systèmes.

Le système « généraliste » ne fonctionne pas de manière fondamentalement différente du système phéromonal (« spécialiste »).

Traditionnellement les gens distinguent, chez l'insecte au moins, « deux » systèmes olfactifs. Le système *spécialiste* qui s'occupe des phéromones et le système *généraliste* qui s'occupe du reste. Au cours des dernières années, certains chercheurs travaillant sur le système généraliste ont « décidé » que les deux systèmes étaient fondamentalement différents et qu'il leur était ainsi permis d'ignorer (cyniquement) le travail sur le système « spécialiste ». Nous allons voir maintenant qu'il n'y a pas de différence fondamentale entre ces deux systèmes.

On peut aussi faire du patch-clamp in vivo chez l'insecte.



Chez le sphinx *Manduca sexta*, ce n'est pas trop difficile (chez la blatte non plus) d'après Kloppenburg et al (1999).

Le cas de la drosophile. (1)

L'avantage de la drosophile est qu'on dispose, maintenant que les récepteurs olfactifs sont clonés, de mutants qui expriment la GFP dans tous les ORNs comportant un récepteur donné. Comme chez les vertébrés, on peut directement montrer que tous les ORNs avec le même récepteur convergent vers le même glomérule. On peut alors, avec de la patience et de la chance, enregistrer un PN dont les dendrites n'arborisent que dans un des glomérules « connus ». Il ne reste qu'à comparer la réponse du PN à la réponse des ORNs pour un glomérule donné (Wilson et al, 2004).

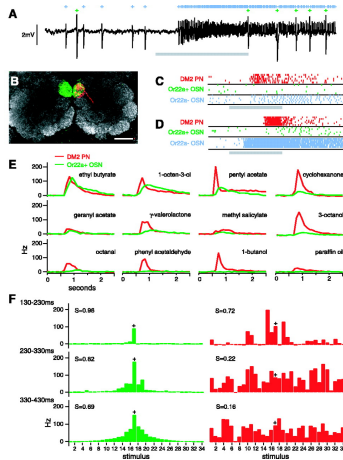
Le cas de la drosophile. (1)

L'avantage de la drosophile est qu'on dispose, maintenant que les récepteurs olfactifs sont clonés, de mutants qui expriment la GFP dans tous les ORNs comportant un récepteur donné. Comme chez les vertébrés, on peut directement montrer que tous les ORNs avec le même récepteur convergent vers le même glomérule. On peut alors, avec de la patience et de la chance, enregistrer un PN dont les dendrites n'arborescent que dans un des glomérules « connus ». Il ne reste qu'à comparer la réponse du PN à la réponse des ORNs pour un glomérule donné (Wilson et al, 2004).

Le cas de la drosophile. (1)

L'avantage de la drosophile est qu'on dispose, maintenant que les récepteurs olfactifs sont clonés, de mutants qui expriment la GFP dans tous les ORNs comportant un récepteur donné. Comme chez les vertébrés, on peut directement montrer que tous les ORNs avec le même récepteur convergent vers le même glomérule. On peut alors, avec de la patience et de la chance, enregistrer un PN dont les dendrites n'arborisent que dans un des glomérules « connus ». Il ne reste qu'à comparer la réponse du PN à la réponse des ORNs pour un glomérule donné (Wilson et al, 2004).

Le cas de la drosophile. (2)



Comparaison des réponses des ORNs et PNs pour un « même glomérule » (Wilson et al, 2004).

Pourquoi un PN est-il influencé par une odeur dont les ORNs projettent vers un autre (macro-)glomérule? (1)

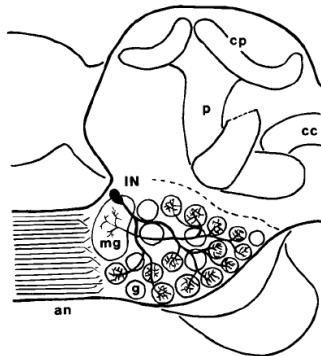


Fig. 1. Scheme of a cockroach brain (right hemiganglion) showing a local multiglomerular interneuron (IN) with processes innervating the antennal lobe glomeruli (g). an, antennal nerve; cc, central complex; cp, corpora pedunculata; mg, macroglomerulus; p, peduncle. "Frontohorizontal" view. Scale bar, 100 μ m.

Les neurones locaux (LNs) sont, principalement GABAergiques, et arborescent typiquement de façon diffuse dans l'ensemble du AL (Distler & Boeckh, 1997).

Pourquoi un PN est-il influencé par une odeur dont les ORNs projettent vers un autre (macro-)glomérule? (2)

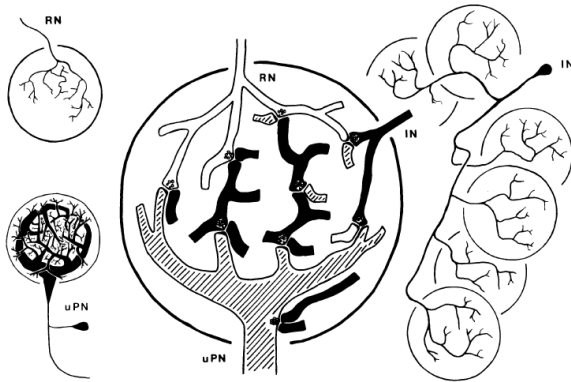
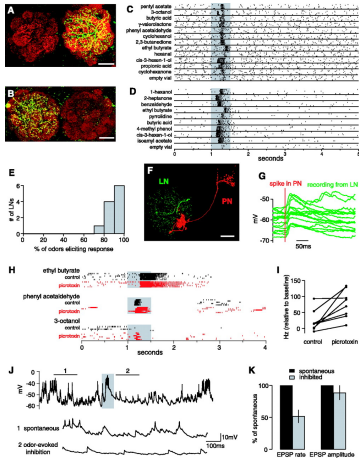


Fig. 7. Scheme of synaptic connections and signal pathways within cockroach glomeruli between receptor afferents (RN), local interneurons (IN), and uniglomerular projection neurons (uPN) identified in the present investigation (cf. Figs. 4–6) as well as in previous single- and double-labeling studies.

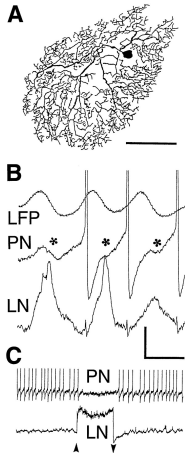
Une étude de la « structure fine » des glomérules montre que les ORNs forment des synapses diadiques dont les deux partenaires post-synaptiques sont un PN et un LN, ou deux LNs. On trouve de plus des synapses diadiques PN-LN (Distler & Boeckh, 1997).

Pourquoi un PN est-il influencé par une odeur dont les ORNs projettent vers un autre (macro-)glomérule? (3)



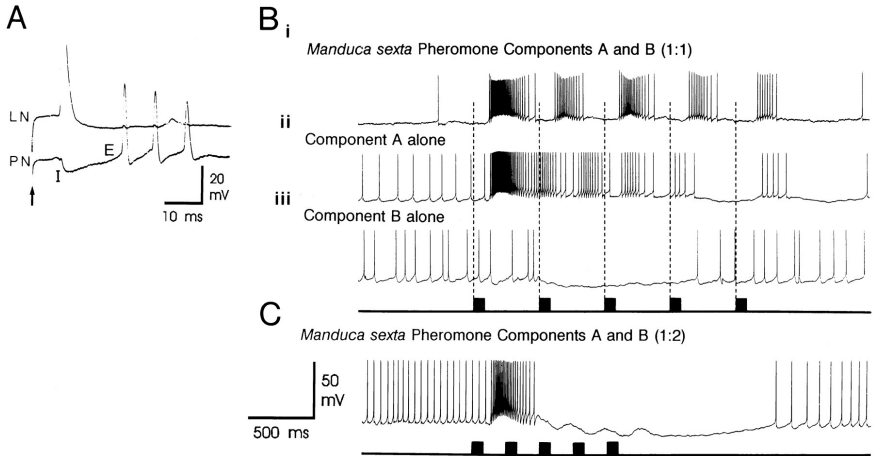
Fonctionnellement des enregistrements de paires PN-LN, montrent qu'un spike dans un PN génère un PPSE (potentiel post-synaptique excitateur). Ici des enregistrement chez la drosophile (Wilson et al, 2004).

Pourquoi un PN est-il influencé par une odeur dont les ORNs projettent vers un autre (macro-)glomérule? (4)



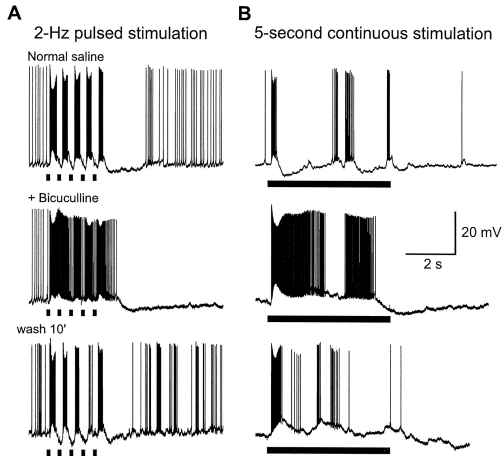
Chez le criquet (*Schistocerca americana*) dont les LNs ne font pas de spikes sodiques, une activation d'un LN, interrompt la décharge d'un PN. A, barre d'échelle 100 μm ; B,C, barre horizontale 0.7 s (MacLeod & Laurent, 1996).

Retour sur la résolution temporelle (1)



Les PNs de *Manduca sexta* peuvent suivre des stimulations à « haute » fréquence, lorsque les 2 composants principaux du mélange phéromonal sont employés (Christensen & Hildebrand, 1997).

Retour sur la résolution temporelle (2)

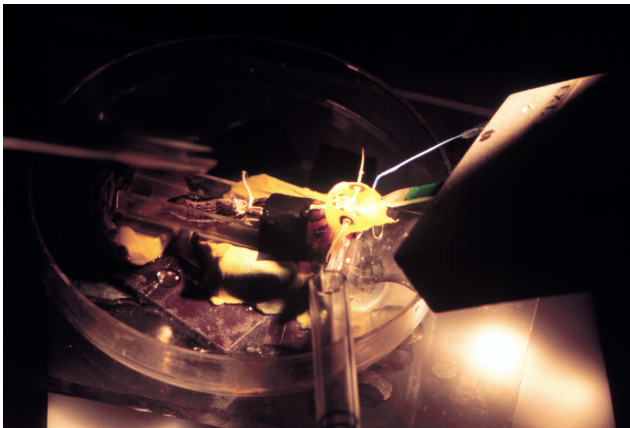


En bloquant l'inhibition rapide chez *Manduca sexta* on supprime la capacité des PN à suivre des stimulations rapprochées (Christensen et al, 1998).

Quatrième partie IV

Enregistrements extracellulaires multiples dans le
premier relais olfactif des insectes

Conditions d'enregistrement 1

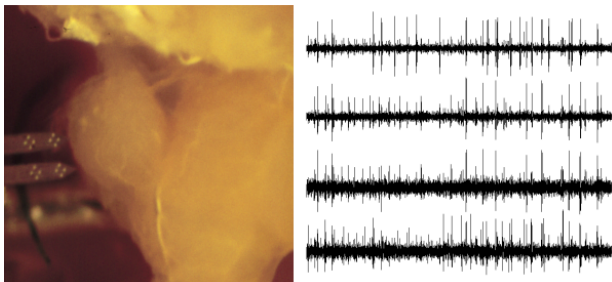


Un criquet (*Schistocerca americana*) « en situation ».

Le cerveau vu d'en haut

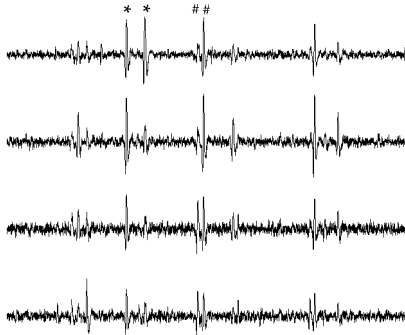


Exemple d'enregistrement *in vivo* chez un insecte



A gauche, le cerveau et la sonde d'enregistrement qui comporte 16 électrodes (les points brillants). La largeur d'une branche de la sonde est de $80\ \mu m$. A droite, 1 sec d'enregistrement sur 4 électrodes. Les pics sont des potentiels d'action.

Pourquoi des tetrodes ?



Les dernières 200 ms de la figure précédente. Avec le site du haut seulement il serait difficile de classer correctement les deux premiers grands spikes (**). Avec seulement le site du bas, il serait difficile de classer correctement les deux spikes marqués par les « ## ».

Problèmes posés par l'analyse des enregistrements extra-cellulaires multiples : le tri des potentiels d'action

Pour exploiter nos enregistrements extra-cellulaires il nous faut :

- ▶ Déterminer combien de neurones contribuent à l'enregistrement.
- ▶ Pour chacun des neurones, trouver certaines caractéristiques comme la forme du potentiel d'action (PA) sur chacun des sites d'enregistrement, la statistique de décharge, etc.
- ▶ Pour chaque événement ou « spike » détecté, trouver la probabilité pour qu'il ait été généré par chacun des neurones du modèle.
- ▶ Répondre aux questions ci-dessus avec une méthode aussi automatique que possible.
- ▶ Trouver une méthode sans ou avec un minimum d'éléments ad hoc.

Un problème analogue : le début

- ▶ Imaginons une salle où plusieurs personnes sont assises et parlent une langue inconnue (de nous).
- ▶ Supposons de plus que des micros sont placés dans la salle et que l'enregistrement nous est fourni.
- ▶ Notre tâche est d'isoler ou de reconstituer le discours de chaque personne.

Un problème analogue : la suite

On a ainsi ce genre de situation..



Un problème analogue : la fin

Pour accomplir notre tâche on peut utiliser les caractéristiques suivantes :

- ▶ Certaines personnes ont une voix grave alors que d'autres ont une voix aiguë.
- ▶ Certaines personnes parlent fort, d'autres parlent tout bas.
- ▶ Une personne peut-être proche d'un des micros et plus éloignée d'un autre de sorte que son discours est enregistré simultanément par au moins deux micros mais avec des différences d'amplitudes.
- ▶ Certaines personnes parlent pratiquement tout le temps alors que d'autres ne font qu'acquiescer ou désapprouver de temps en temps, c'est-à-dire que la statistique du discours change d'une personne à l'autre.
- ▶ L'amplitude du discours est souvent modulée au cours de la phrase.

Le tri des PAs comme une succession de problèmes statistiques « standards »

Le problème du tri des PAs peut en fait être rattaché à un corpus méthodologique déjà très avancé. En effet, il nécessite :

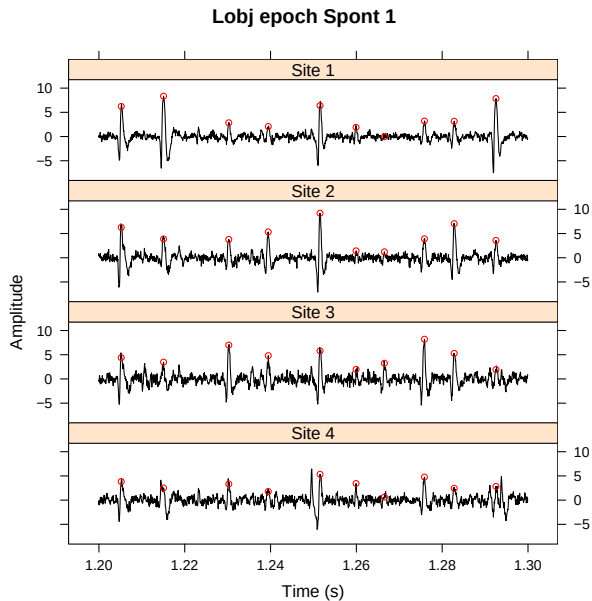
1. La détection des événements suit d'une réduction de la dimension de l'espace utilisé pour les représenter. C'est une étape de **pré-traitement**.
2. Une agglomération / identification de groupes (« **clustering** »). Cette étape peut-être entièrement ou partiellement automatisée suivant les données.
3. Une **classification** des événements. Cette dernière étape peut-être aussi bien modérément que très coûteuse en calcul suivant les données.

Le choix de R comme « plate-forme » d'analyse

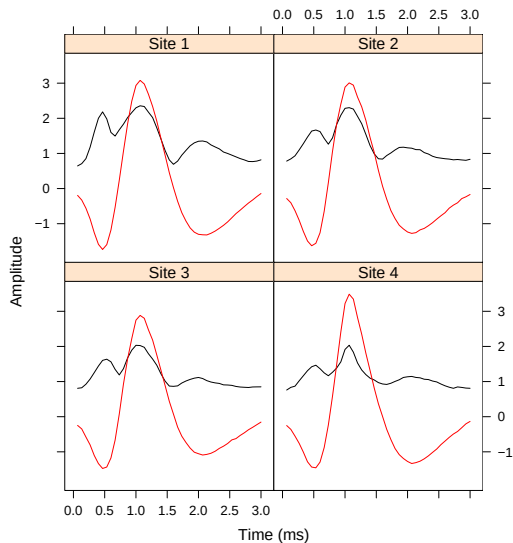


- ▶ R est un puissant logiciel d'analyse de données.
- ▶ R est un véritable et très élégant langage de programmation.
- ▶ R permet une mise en oeuvre simple de parallélisations « triviales » (utile pour machines à plusieurs CPU et/ou CPU à double coeur).
- ▶ R permet une mise en oeuvre simple de « l'analyse reproductible de données ».

Illustration de la détection



Événement moyen et SD



En rouge, la
moyenne ; en noir,
la SD.

Un modèle de génération de données

Dans les cas les plus « simples » qui ne sont pas rares en pratique nous pouvons approximer le mécanisme de génération de données de la façon suivante :

- ▶ Les neurones déchargent indépendamment les uns des autres avec une distribution exponentielle d'intervalles entre événements.
- ▶ La distribution des formes de potentiels d'action générées par un neurone donné est approximativement une gaussienne multivariée.

Du modèle de génération de données au modèle de mélange gaussien

- ▶ On s'attend en pratique à ce que certaines fenêtres d'événements contiennent des **superpositions** de PAs de différents neurones.
- ▶ Nous allons donc faire une première identification des événements « purs » et estimer les paramètres de nos modèles sur le sous-échantillon constitué par ces derniers.
- ▶ Le modèle des événements purs est alors un **modèle de mélange gaussien** dont les paramètres peuvent être estimés par **MixMod** ou **mclust**.
- ▶ Les événements « superposés » seront traités dans un second temps lors de l'étape de classification.

Illustration du « nettoyage » de l'échantillon

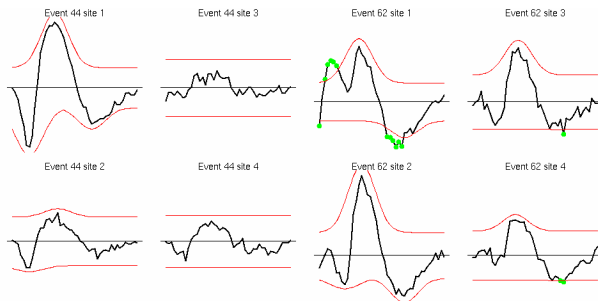
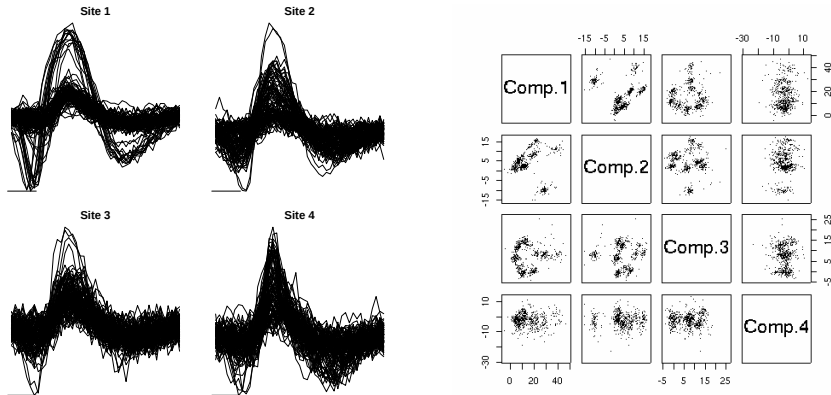


Illustration de la réduction de la dimensionalité



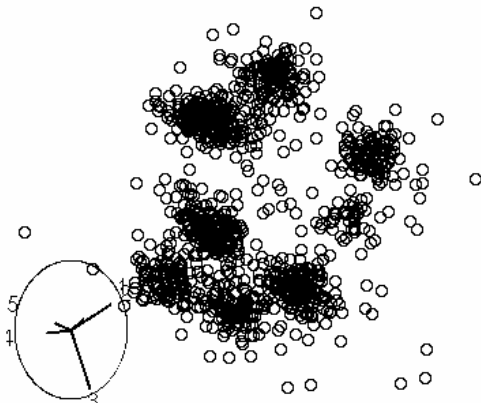
A gauche, les PAs après « extraction » (découpage d'une fenêtre autour de chaque événement détecté). A droite, les mêmes PAs projetés sur le sous-espace défini par les 4 premiers composants principaux.

Visualisation des données multi-dimensionnelles avec GGobi



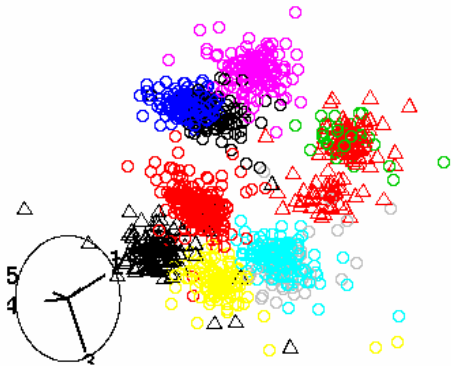
A ce stade il est souvent utile d'étudier les données avec un logiciel comme **GGobi** avant de lancer une analyse automatique avec MixMod ou mclust.

Une estimation du nombre minimal d'amas avec GGobi et une « projection poursuit »



On compte
au moins 8
amas.

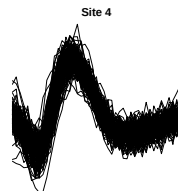
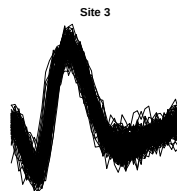
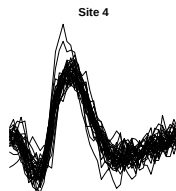
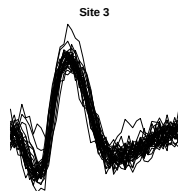
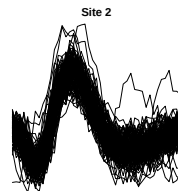
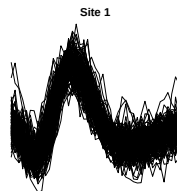
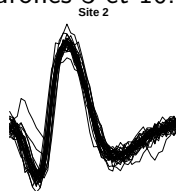
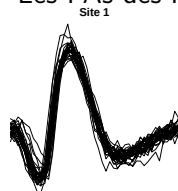
Clustering avec MixMod : visualisation



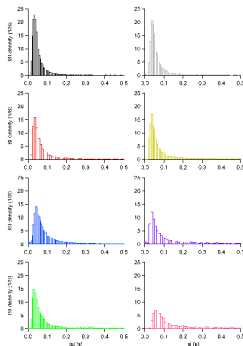
La projection précédente avec les symboles / couleurs correspondant aux labels obtenus avec MixMod.

Clustering avec MixMod : PAs de deux neurones

Les PAs des neurones 3 et 10.

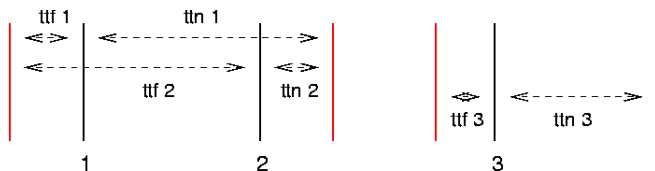


Distribution d'ISI en régime spontané



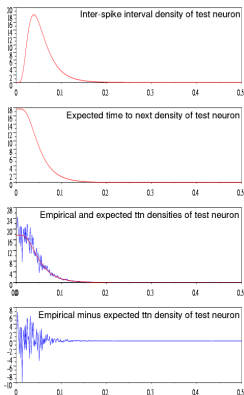
Distribution d'intervalles entre spikes (ISI, inter-spike interval) pour 8 PNs enregistrés simultanément. *Activité spontanée.*

Mise en évidence d'interactions fonctionnelles entre PNs



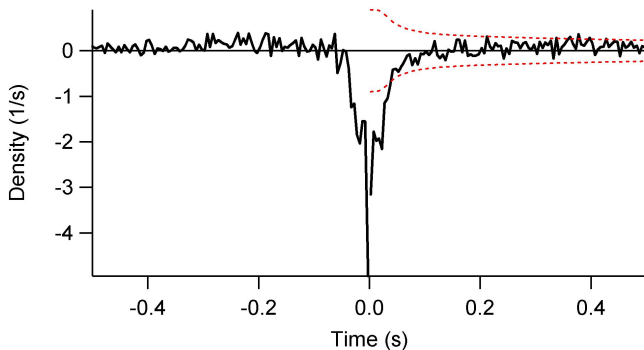
On définit 2 statistiques : le temps au précèdent (« time to former », ttf) et le temps au suivant (« time to next », ttn).

Distributions des *ttn* et *tff* sous l'hypothèse nulle



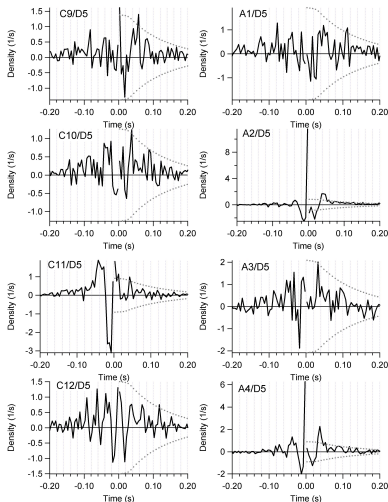
Sous l'hypothèse nulle (pas d'interaction fonctionnelle), la connaissance de la distribution d'ISIs du neurone test, nous permet de calculer les distributions de *tff* et *ttn* ainsi que des intervalles de confiance autour de celles-ci.

Résultats sur données réelles



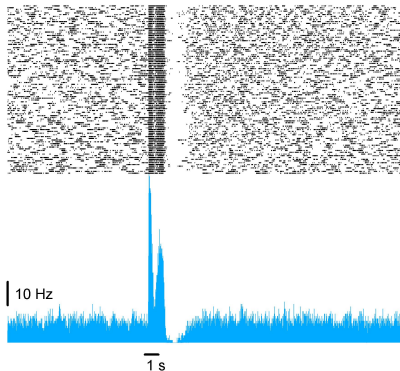
Sur des données réelles, on observe (pour 50% des paires de neurones testées).

Résultats supplémentaires



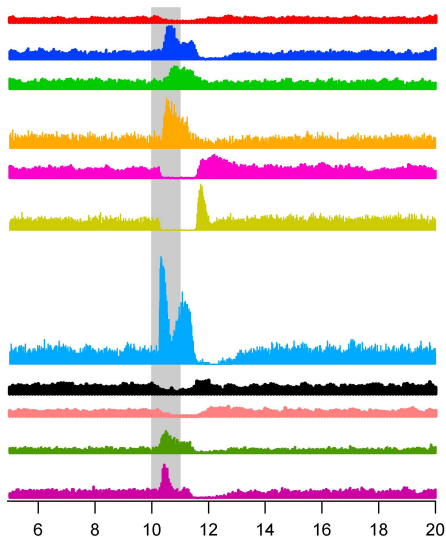
D'autres données réelles (les neurones de chaque paire sont enregistrés sur des tétrodes différentes).

Réponses aux odeurs 1



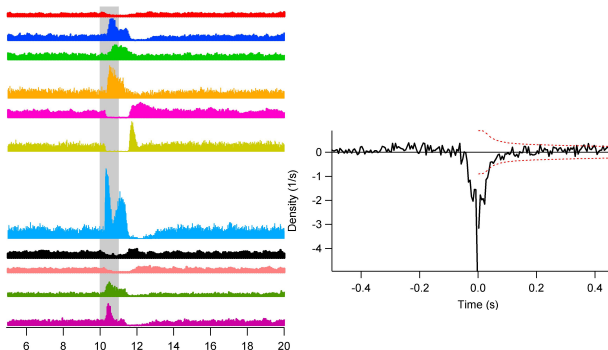
Réponse d'un neurone (sur 11) à 120 stimulations successives avec du cis-3-hexen-1-ol.

Réponses aux odeurs 2



Réponses des 11 PNs (enregistrés simultanément) au cis-3-hexen-1-ol.

Relation entre interactions en régime spontané et réponses aux odeurs



Les neurones bleu et jaune (partie gauche au centre) sont les deux neurones dont les *ttf* et *ttn* sont montrés sur la partie droite de la figure.