




OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/26753>

To cite this version:

Lebrun-Tessier, Camille . *Utilisation du réflexe d'extension du proboscis dans l'étude du "marquage comportemental" (Behavioral Tagging) chez l'abeille (Apis Mellifera)*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2020, 106 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

Année 2020 - THESE : 2020 – TOU 3 – 4028

**UTILISATION DU REFLEXE D'EXTENSION DU
PROBOSCIS DANS L'ETUDE DU « MARQUAGE
COMPORTEMENTAL » (BEHAVIORAL TAGGING)
CHEZ L'ABEILLE (*APIS MELLIFERA*)**

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*Présentée et soutenue publiquement
Devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
par*

LEBRUN--TESSIER Camille
Née le 25 mars 1995 à Orléans (45)

Directeur de thèse : **M Philippe JACQUIET**

JURY

PRESIDENT :

M. Alexis VALENTIN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

M. Emmanuel LIENARD

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

M. Martin GIURFA

Directeur de Recherche, UPS

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné(e), Philippe JACQUET, Enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Camille LEBRUN-TESSIER** intitulée « **Utilisation du réflexe d'extension du proboscis dans l'étude du marquage comportemental chez l'abeille** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 08/09/2020
Enseignant-chercheur de l'École Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur Philippe JACQUET

Vu :
Le Directeur de l'École Nationale
Vétérinaire de Toulouse
M. Pierre SANS

Vu :
Le Président du jury
Professeur Alexis VALENTIN

Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université Paul Sabatier
M. Jean-Marc BROTO

Le Président de l'Université Paul Sabatier,
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU
Fabienne ALARY

Mme Camille LEBRUN-TESSIER
a été admise(e) sur concours en 2015
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le 09/07/2019
a validé son année d'approfondissement le 18/06/2020
le plus haut stage de enseignement optionnel a validé

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Pharmacologie - Thérapeutique*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M GUERIN Jean-Luc, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme HAGEN-PICARD, Nicole, *Pathologie de la reproduction*
- M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
- Mme TRUMEL Catherine, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

- Mme BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
- Mme DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, *Anatomie pathologique*
- M. MAILLARD Renaud, *Pathologie des Ruminants*
- M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. RABOISSON Didier, *Productions animales (ruminants)*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme MICHAUD Françoise, *Professeur d'Anglais*
- M SEVERAC Benoît, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*

Mise à jour au 01/01/2020

- Mme CAMUS Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
- Mme MEYNADIER Annabelle, *Alimentation*
- Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
- M. VOLMER Romain, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
- Mme BENNIS-BRET Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme BOUHSIRA Emilie, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
- M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
- Mme DANIELS Hélène, *Immunologie- Bactériologie-Pathologie infectieuse*
- Mme DAVID Laure, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme DEVIERS Alexandra, *Anatomie-Imagerie*
- M. DOUET Jean-Yves, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme FERRAN Aude, *Physiologie*
- Mme GRANAT Fanny, *Biologie médicale animale*
- Mme JOURDAN Géraldine, *Anesthésie - Analgésie*
- Mme LALLEMAND Elodie, *Chirurgie des Equidés*
- Mme LAVOUE Rachel, *Médecine Interne*
- M. LE LOC'H Guillaume, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. LHERMIE Guillaume, *Economie de la santé animale*
- M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme MILA Hanna, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. NOUVEL Laurent, *Pathologie de la reproduction*
- Mme PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme PAUL Mathilde, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- M. VERGNE Timothée, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales réglementées*
- Mme WARET-SZKUTA Agnès, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS

- M. DIDIMO IMAZAKI Pedro, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. LEYNAUD Vincent, *Médecine interne*
- Mme ROBIN Marie-Claire, *Ophthalmologie*
- Mme ROMANOS Lola, *Pathologie des ruminants*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme BLONDEL Margaux, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. CARTIAUX Benjamin, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. COMBARROS-GARCIA Daniel, *Dermatologie vétérinaire*
- M. GAIDE Nicolas, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. JOUSSERAND Nicolas, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- M. LESUEUR Jérémy, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*
- M. TOUITOU Florian, *Alimentation animale*

Remerciements

A Monsieur le Professeur Alexis Valentin,

Professeur à l'Université "Paul-Sabatier de Toulouse,
Faculté de Pharmacie (Zoologie, Parasitologie) et CHU de Toulouse (Parasitologie, IFB)
Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,
Mes hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Philippe Jacquet,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Parasitologie, Maladies Parasitaires, Zoologie appliquée
Pour m'avoir fait l'honneur et le plaisir de diriger cette thèse,
Toute ma reconnaissance.

A Monsieur Emmanuel Liénard,

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Parasitologie, Maladies Parasitaires, Zoologie appliquée,
Pour avoir accepté de participer à ce jury et porte de l'intérêt à ce sujet,
Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Martin Giurfa,

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse et directeur du Centre de recherches sur la cognition animale (CNRS/UPS),
Neurosciences,
Qui m'a confié ce travail, initié aux neurosciences sur les abeilles, pour son soutien, ses précieux conseils,
Mes hommages respectueux

Table des matières

Remerciements	5
Table des matières	6
Liste des figures	9
Listes des tableaux	10
Liste des abréviations	11
Introduction	12
Première partie : synthèse bibliographique	13
I) Morphologie, anatomie, physiologie de l'abeille (<i>Apis Mellifera</i>)	14
1) Constitution de la colonie : les castes	14
2) Morphologie générale de l'abeille ouvrière (<i>Apis mellifera</i>)	15
3) Anatomie des segments	16
4) Anatomie et fonction des yeux	17
5) Anatomie et fonction de l'appareil buccal	21
6) Anatomie et fonction des antennes	24
7) Anatomie du système nerveux	26
a. Description générale	26
b. Description du protocérébron : le centre de la vision	31
Les lobes optiques (L.O)	31
Le corps central	32
Les corps pédonculés	33
Les lobes protocérébraux latéraux	34
c. Description du deutocérébron : le centre de l'olfaction	35
Les lobes antennaires	35
8) Physiologie du système nerveux appliquée aux organes des sens	36
a. Neurophysiologie de la vision	36
b. Neurophysiologie de l'olfaction	37

c.	Neurophysiologie du goût	39
	VUMmx1 : étude d'un neurone associé au goût impliqué dans le circuit de la récompense au sucre.....	41
9)	Les travaux de la colonie et la plasticité cérébrale	41
a.	Les premières semaines de la vie d'ouvrière : tâches simples à l'intérieur de la colonie	42
b.	Les travaux d'extérieur : tâches complexes avec une implication de la mémoire	44
	Les catégories de butineuses	44
	Passage des tâches d'intérieur au butinage : modifications de l'activité cérébrale..	45
	L'activité de butinage	47
	Optimisation du butinage : mise en place de mémoire	48
	Un schéma d'organisation du butinage modèle de l'organisation de la mémoire ?.	50
II)	Mémoire et apprentissage, utilisation des abeilles en neurosciences comme modèles d'étude.....	52
1)	Histoire de l'étude des abeilles en sciences	52
2)	Mémoire et apprentissage : définitions, études, fonctionnement.....	56
a.	Etude de la mémoire et de l'apprentissage chez l'homme : un domaine à la croisée de la physiologie, la psychologie et des neurosciences.....	56
b.	Etude de la mémoire chez l'abeille	61
	Définitions	62
	Protocoles standards utilisés.....	64
	Mécanismes et circuits de la mémoire dans le protocole de conditionnement du réflexe d'extension du proboscis.....	68
3)	Le Behavioral tagging, une facilitation de la mémoire à long terme	69
Deuxième partie : Exemple d'utilisation du réflexe d'extension du proboscis dans une pré-manipulation préparant l'étude du Behavioral tagging chez l'abeille (<i>Apis mellifera</i>)		
I)	Introduction à la manipulation	75
II)	Matériel et méthodes	77

1) Les animaux	77
2) Le protocole d'entraînement	80
3) Les phases de test	82
4) Le manipulateur.....	85
5) Elaboration des résultats, statistiques.....	86
III) Résultats	87
IV) Discussion	96
V) Le modèle de l'abeille, avantages, inconvénients, questions d'éthique, perspectives .	99
Conclusion.....	100
Bibliographie.....	102

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie des segments.	16
Figure 2 : L'œil composé et son organisation.....	18
Figure 3 : Organisation d'une ommatidie	19
Figure 4 : Organisation des pièces buccales.....	22
Figure 5 : Organisation du système nerveux.	26
Figure 6 : schéma de l'organisation générale des 3 parties du cerveau.	29
Figure 7 : Dessin de l'organisation cérébrale.	31
Figure 8 : Organisation des lobes optiques.	32
Figure 9 : Organisation des corps pédonculés.....	33
Figure 10 : Hypothèse du marquage synaptique et de la recapture des protéines.....	71
Figure 11 : Hypothèse du marquage synaptique : conditions à remplir pour la mise au point de l'expérience	76
Figure 12 : Nourrisseurs artificiels disposés entre les ruches	77
Figure 13 : Casette permettant aux abeilles de passer la nuit en incubateur	78
Figure 14 : Transfert des abeilles dans les fioles pour les anesthésier dans la glace	79
Figure 15 : Harnais dans lesquels sont placées les abeilles pour les phases d'entraînement et de test	80
Figure 16 : dispositif d'entraînement et de test.....	81
Figure 17 : organisation d'une journée d'entraînement.....	82
Figure 18 : flux d'air sans odeur première étape	83
Figure 19 : placement de l'abeille dans le dispositif et choix de l'odeur à tester.....	83
Figure 20 : flux d'air avec odeur réponse négative.....	84
Figure 21 : flux d'air avec odeur réponse positive	84
Figure 22 : dispositif d'injection par voie intra-oculaire médiane.....	85
Figure 23 : Résultats obtenus avec une injection 30 minutes avant l'entraînement.	88
Figure 24 : L'injection d'émétine 30 minutes avant l'entraînement modifie l'expression de la mémoire à 4 heures..	90
Figure 25 : Un conditionnement unique au REP entraîne une mémoire à 48h et 72h, sensible à l'injection d'émétine.....	92
Figure 26 : L'injection d'émétine 4 heures après le conditionnement affecte l'expression de la mémoire à 24 heures.	94

Figure 27 : L'injection d'émétine 7 heures après l'entraînement n'affecte pas la mémoire à 24 et 72 heures.. 95

Listes des tableaux

Tableau 1: Exemple de tableau de résultats obtenus..... 86

Liste des abréviations

REP ou PER : Réflexe d'extension du proboscis

VUMmx1 : Ventral Unpaired Median neuron of the maxillary neuromere, Neurone ventral du neuromere maxillaire

CS : conditioned stimulus, stimulus conditionné (stimulus qui a été renforcé par récompense)

US : unconditioned stimulus, stimulus non-conditionné

Nod : Nouvelle odeur

Eme : Emétine

Veh : groupe témoin

Introduction

Depuis quelques années, on observe un vif intérêt pour les abeilles, et plus particulièrement l'abeille domestique *Apis mellifera*. Avec le déclin des populations et l'importance grandissante de la conscience écologique, ce petit animal sentinelle indispensable pour la pollinisation est au centre de nombreux débats. Or l'abeille domestique endosse de nombreux rôles plus ou moins connus du public. Tout d'abord animal semi-domestique, elle est utilisée pour sa production de ressources. Cependant, elle constitue aussi un très bon modèle d'étude des mécanismes complexes du système nerveux et notamment le comportement d'apprentissage et de mémoire.

La mémoire est une faculté cognitive complexe, permettant l'assimilation puis l'interprétation d'évènements du monde extérieur. L'intégration de ces événements est suivie d'une modification du comportement, adaptation indispensable au monde qui nous entoure. Cette capacité, au départ attribué à tort uniquement à l'être humain, comme facteur de différenciation de l'animal est bien au contraire commune à de nombreuses espèces. En outre, l'utilisation de modèles animaux variés a permis de résoudre de nombreux problèmes posés par l'incapacité à réaliser certaines expériences chez l'homme.

L'objectif de ce travail est la réalisation d'une expérience préliminaire afin d'établir un protocole permettant d'identifier le mécanisme de « marquage comportemental » chez l'abeille noire domestique, *Apis mellifera*.

La première partie se compose d'une revue de la littérature. Premièrement seront traitées les questions relatives à l'abeille domestique, quelques informations sur sa classification, les castes constituant une colonie pour enfin détailler la morphologie, l'anatomie d'un individu, son système nerveux ainsi que la physiologie du système nerveux lié aux sens. Ce premier chapitre se conclut sur l'analyse des travaux de la colonie, leur complexité progressive et l'intervention graduelle des phénomènes d'apprentissage et de mémoire. Deuxièmement, il sera question de l'utilisation des abeilles en sciences, pour ensuite aborder le sujet de l'étude de la mémoire qui débuta chez l'homme pour s'étendre ensuite aux modèles animaux. Enfin, le rôle de l'abeille en tant que modèle en neurosciences sera détaillé, ainsi que les protocoles principaux utilisés en se concentrant sur le réflexe d'extension du proboscis. Le « marquage comportemental » ou behavioral tagging sera ensuite défini.

La deuxième partie est constituée de l'expérience effectuée, de son protocole, des résultats obtenus ainsi que d'une discussion.

Première partie : synthèse bibliographique

I) Morphologie, anatomie, physiologie de l'abeille (*Apis Mellifera*)

L'abeille domestique ou *Apis mellifera* est un insecte hyménoptère, au même titre que la guêpe, la fourmi ou le frelon. Elles appartiennent à la superfamille des Apoïdés et à la famille des Apidés, famille dont les larves se nourrissent exclusivement de miel. Cette famille regroupe environ 20 000 espèces d'abeilles distribuées sur l'ensemble des continents à l'exception de l'antarctique, dont 80% des espèces sont solitaires. Certaines de ces espèces solitaires produisent du miel mais en petite quantité. Les espèces classées dans le genre *Apis* (qui sont au nombre de neuf), dans lequel se trouve l'abeille noire domestique, sont quant à elles sociales et produisent du miel. Elles sont apparues bien après les abeilles solitaires, il y a environ 20 millions d'années. Parmi ces espèces du genre *Apis*, *Apis mellifera* comporte environ vingt-six races différentes, en accord avec leur milieu de vie, elles présentent des différences morphologiques et comportementales mais sont interfécondes. Ces races se regroupent en quatre lignées évolutives distinguables grâce à leur ADN mitochondrial : le type A africain, le type M des abeilles noires de l'Europe du nord et de l'ouest, le type C des abeilles d'Europe centrale et le type O du Moyen-Orient. Le sujet de cette étude sera en particulier *Apis mellifera mellifera*, une des deux races représentatives du groupe M qui se trouve en France.

Dans cette première partie, nous aborderons l'organisation de la colonie chez l'abeille domestique, ainsi que la morphologie générale puis particulière des segments des sens avant d'aboutir au système nerveux et sa physiologie. Enfin il sera abordé la plasticité cérébrale mise en jeu lors des travaux de la colonie.

1) Constitution de la colonie : les castes

L'abeille domestique noire, *Apis mellifera*, est une espèce hautement sociale. Ainsi elle n'est pas faite pour vivre seule contrairement à la majorité des espèces du groupe des Apidés. *Apis mellifera* s'organise donc en colonie, pérenne, qui vit sur plusieurs années. Une colonie d'abeille est un ensemble d'individus organisé, avec un regroupement et une répartition des tâches nécessaires à la survie de cette colonie. Elle constitue ainsi un superorganisme à part entière, qui aura une longévité de plusieurs années et ainsi se développera dans le temps. Ce superorganisme durable possède donc une longévité supérieure à celle des individus qui le composent.

Une colonie d'abeilles s'organise en trois catégories aussi appelées castes. La reine, seule représentante de sa caste est aussi l'unique femelle sexuée de la colonie. Sa vie est longue

comparée aux autres castes de la colonie puisqu'elle dure de trois à cinq ans. Elle assure donc la fonction de reproduction de la colonie, qui peut être de deux modalités : sexuée ou asexuée. La reine est capable de pondre jusqu'à un œuf par minute, ce qui équivaut à 2 000 œufs par jour. Comme toutes les autres fonctions de la colonie, la reproduction est basée sur les besoins de l'essaim, ainsi la reine ne pond pas systématiquement à la cadence maximale.

La deuxième caste est constituée par les mâles. Ces derniers, aussi appelés faux bourdons, appartiennent également à une catégorie sexuée. Les mâles sont formés par parthénogenèse à partir d'un ovule uniquement : ils sont donc issus d'une reproduction asexuée. Leur rôle dans la colonie se réduit uniquement à la reproduction. En effet, sur une période de quelques mois, ils sont à la recherche de reines sorties pour leur vol de fécondation. A la suite de la copulation avec une reine en vol, le mâle meurt. S'ils ne trouvent pas de reine pour se reproduire, ils sont évincés des ruches à la fin de l'été en prévision de l'hiver où ils constitueraient des bouches supplémentaires à nourrir.

Enfin, la dernière caste sur laquelle sera concentré cet exposé est formé par les ouvrières. Elles sont de sexe féminin mais non sexuées car leurs ovaires sont inhibés par les phéromones produites par la reine. On peut distinguer deux types d'ouvrières assez différentes. Tout d'abord les abeilles d'été, nées à la belle saison, elles vivent entre quatre et cinq semaines uniquement. Ensuite, les abeilles d'hiver qui peuvent vivre jusqu'à douze mois. Ces dernières seront amenées à hiverner, ainsi, c'est sur ces ouvrières que repose la survie de la colonie d'une année sur l'autre. Ces ouvrières sont ensuite réparties en différentes classes, définies par leur fonction au sein de la colonie. L'âge de l'abeille, la température du couvain dans lequel elle se développe ainsi que les besoins de la colonie définissent la fonction précise de cette abeille à un instant donné (Lacube et Sinier 2013).

2) Morphologie générale de l'abeille ouvrière (*Apis mellifera*)

Dans un premier temps, nous allons décrire la morphologie générale de l'abeille *Apis mellifera*, avant de s'intéresser à la fonction des segments qui nous intéresseront plus particulièrement par la suite. Au premier regard, il est possible de découper une abeille en trois segments distincts. Un segment est aussi appelé tagure. La tête, ou prosome vient en premier, puis le thorax ou mésosome et enfin l'abdomen aussi nommé métasome. Ces parties sont facilement identifiables car elles sont séparées par des rétrécissements. Le prosome est séparé du mésosome par le cervix (cou). La tête de l'abeille est positionnée perpendiculairement à l'axe du corps, ce qui fait de l'abeille un insecte orthognathe. Elle est très mobile dans l'espace.

Cette mobilité est permise par de nombreux muscles qui prennent leur origine sur le thorax. Ensuite, l'abdomen est relié au thorax par le pétiole. Ce pétiole est moins évident à distinguer que chez les guêpes par exemple, car il est masqué par les poils implantés sur le thorax. De la même manière que chez de nombreux insecte, l'abeille possède un exosquelette composé de chitine, articulé grâce à l'insertion de nombreux muscles (Quendolo 2016; Adam 2010).

3) Anatomie des segments

A partir de l'examen général de morphologie de l'abeille, on peut décrire chaque tagure et expliquer sa fonction spécifique.

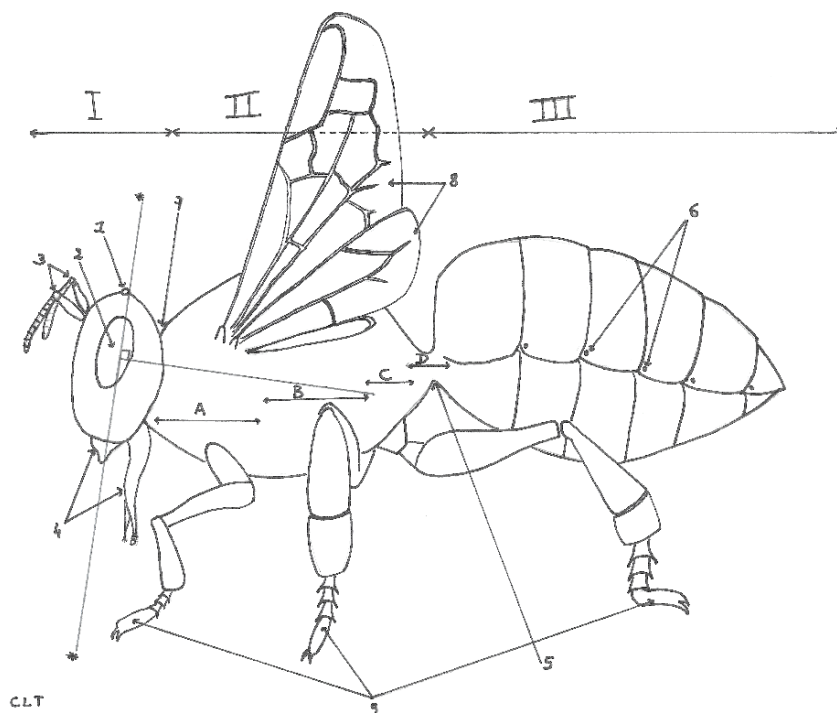


Figure 1 : Anatomie des segments. I : prosome, II : mésosome ou thorax, III : métasome ou abdomen. Le prosome est le support des principaux organes des sens : les ocelles (1) au nombre de trois, deux yeux composés (2) disposés latéralement, une paire d'antennes (3) et des pièces buccales (4). Le thorax est support de la mobilité de l'abeille où sont attachés trois paires de pattes (9) et deux paires d'ailes (8). Le thorax peut être divisé en trois parties : le prothorax (A), le mésothorax (B) et le métathorax (C). Le propodéum (D) bien que semblant appartenir au thorax est la première partie de l'abdomen. Il précède le pétiole (5) rétrécissement fragile contenant l'œsophage et la chaîne nerveuse ventrale. Sur l'abdomen son situés des spiracles ou stigmates respiratoires (Lebrun--Tessier)

La tête ou prosome, est le premier segment du corps de l'abeille (*figure 1*). Comme pour le reste du corps, elle est formée de plaques de chitine reliées entre elles par des sutures, ces plaques sont aussi nommées sclérites. Or le prosome est un segment particulièrement délicat de l'anatomie de l'abeille, il est non seulement support des organes des sens mais il contient aussi le cerveau et une part importante du système nerveux et glandulaire. On peut citer par exemple la présence latéralement de deux yeux composés, sur le dessus de la tête, trois ocelles organisés en triangle, deux antennes, et enfin des pièces buccales capables de s'intérioriser dans la cavité buccale. Ainsi, un endosquelette assure une deuxième barrière de protection pour ces organes

sensibles, mais aussi un support de fixation des nombreuses pièces de la faces : le tentorium (Quendolo 2016; Meyer 2016; Lefèvre s. d.).

Le deuxième segment ou mésosome regroupe les organes de motricité de l'abeille. Il est le lieu d'insertion de deux paires d'ailes et de trois paires de pattes. Chaque paire de patte correspond à un segment thoracique (prothorax, mésothorax, métathorax). Ainsi c'est au niveau du thorax que se trouvent les muscles permettant la mobilité et la motricité de l'abeille. De puissants muscles s'insèrent sur le thorax, permettant à la tête sa mobilité, mais aussi se trouvent les muscles permettant le vol, la mise en mouvement des segments chitineux constituant les pattes. Visuellement, le thorax se détache de l'abdomen par le rétrécissement du pétiote, or ce n'est pas tout à fait correct car une partie d'abdomen, le propodéum se situe au niveau du thorax. L'unité morphologique formée du thorax et du propodéum s'appelle le mésosome. (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

L'abdomen ou métasome commence donc au propodéum, uni au thorax, situé en avant du rétrécissement du pétiote. L'abdomen est une partie très mobile de l'abeille, il contient les organes permettant la digestion, la respiration mais aussi la fonction d'élimination et les glandes à venin avec l'appareil vulnérant. Comme le reste du corps, il est pourtant entouré d'un exosquelette chitineux, mais son organisation particulière permet les mouvements. Ainsi, une plaque dorsale s'articule au moyen de membranes intersegmentaires souples et de muscles, avec une plaque ventrale, ce patron se répète sur l'ensemble de l'abdomen à la manière de tuiles sur un toit. Ces plaques de chitine sont cependant perforées de spiracles respiratoires permettant le passage de l'air dans l'arbre respiratoire contenu dans l'abdomen. Enfin, ce sont les mouvements de cet abdomen qui permettent les mouvements d'air dans l'arbre respiratoire, nécessaires à la respiration de l'abeille. (Quendolo 2016).

4) Anatomie et fonction des yeux

Deux organes destinés à la vision sont situés sur la tête de l'abeille et jouent un rôle complémentaire dans la perception visuelle. Tout d'abord, deux gros yeux composés immobiles sont disposés de part et d'autre, latéralement sur la tête. Puis, trois yeux primitifs aussi nommés ocelles sont disposés en triangle sur le vertex ou sommet de la tête (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

En s'intéressant aux yeux composés, disposés latéralement au niveau du prosome de l'abeille, on peut s'apercevoir qu'il s'agit de la répétition de 6500 unités hexagonales

juxtaposées : les ommatidies. La forme arrondie générale de l'œil qui est visible macroscopiquement s'explique par l'organisation des ommatidies, qui sont inclinées entre elles avec un angle compris entre 5° et 50° . Cet arrangement général arrondi permet un champ de vision global très étendu, c'est-à-dire qu'une abeille peut voir sur près de 360° (figure 2). Ces yeux sont responsables de la vision telle qu'on la comprend dans le sens courant : l'abeille perçoit les formes, les couleurs, mais aussi la profondeur. L'acuité visuelle de l'abeille n'est pas comparable à celle de l'homme, elle est plus basse, cependant en s'approchant des objets qu'elle cherche à voir l'abeille peut distinguer les détails et compléter l'information visuelle par l'odorat, le goût et les informations tactiles. Il faut noter qu'entre les différentes castes, les yeux présentent des différences majeures, en accord avec les travaux et le rôle de la caste dans l'organisation du superorganisme. Ainsi, la reine de la colonie présente des yeux moitié moins développés (uniquement 3500 ommatidies). Ceci s'explique par le fait que la vision est très peu importante pour la vie de la reine en comparaison de la nécessité d'une bonne vision pour une ouvrière. La reine passe la majeure partie de sa vie à l'intérieur de la ruche, donc dans une semi-obscurité, afin de pondre. Les rares sorties effectuées sont des vols de fécondation, où la reine sera repérée par les faux bourdons (qui eux ont des yeux comprenant en moyenne 7500 ommatidies, donc plus développés que les ouvrières). Pendant ce vol de fécondation elle se guidera également à l'aide de phéromones afin de s'accoupler. Pour le retour à la ruche, la reine est guidée par les ouvrières, massées sur la planche de vol, elles produisent la phéromone de Nasanov. (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

Chaque ommatidie composant l'œil correspond à un récepteur visuel indépendant des autres. Une ommatidie est isolée des autres par une couche cellulaire, appelée cellules pigmentaires.

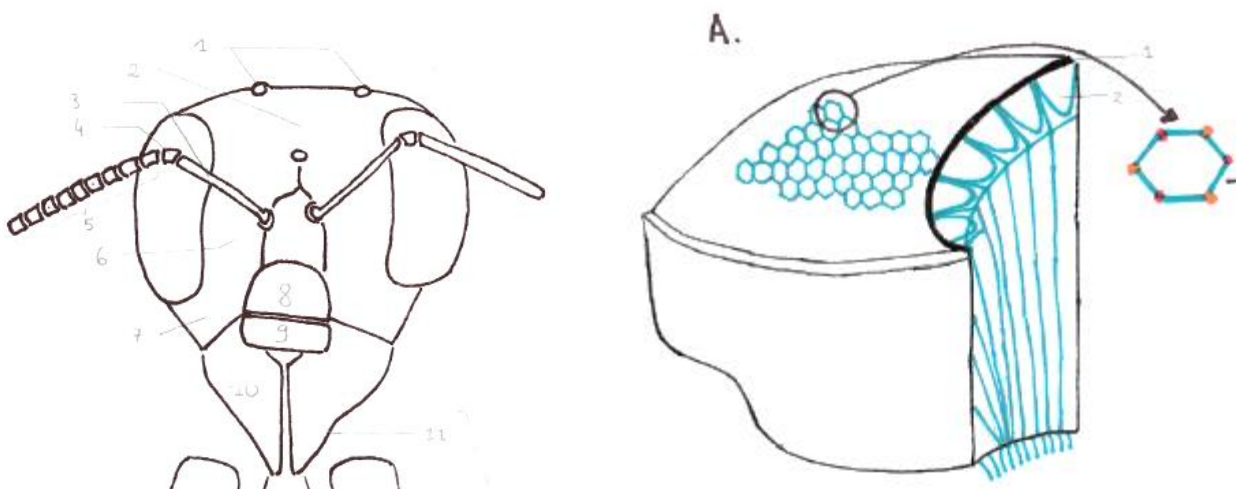


Figure 2 : L'œil composé et son organisation. Deux yeux composés sont situés latéralement au niveau de la tête de l'abeille. Chaque œil composé contient des sous-unités appelées ommatidies représentées sur le schéma A. (Lebrun--Tessier modifié de l'encyclopédie de la langue française, Lefèvre)

Ainsi, avec cette structure isolante, chaque ommatidie ne reçoit que les rayons lumineux qui lui sont parallèles. Donc chaque œil produit une image, somme de tous les signaux visuels enregistrés par les ommatidies. Si on compare aux technologies modernes, on dirait que cette image est pixelisée. La vision est dite par apposition.

Toutes les informations collectées par les ommatidies convergent vers les nerfs optiques puis sont traitées dans le cerveau. Le cerveau associe chaque information visuelle reçue des ommatidies, cette association d'images simples permet de recomposer l'image d'ensemble. Ainsi l'image d'ensemble correspond à une mosaïque de points juxtaposés.

La structure d'une ommatidie correspond à un œil simple avec des structures jouant le rôle de lentilles convergentes comme on peut en trouver chez les mammifères. Comme pour le reste du squelette, la première couche est protectrice. Il s'agit d'une cornée, chitineuse transparente (*figure 3*). Cette cornée coiffe un cristallin, ils forment ensemble une lentille convergente pour les rayons lumineux. Les rayons lumineux progressent jusqu'aux photorécepteurs rétiniens au nombre de huit, qui forment la rétine aussi appelée rétine, reposant sur une membrane basale perforée laissant ainsi passer les fibres du nerf optique. Les huit photorécepteurs sont des

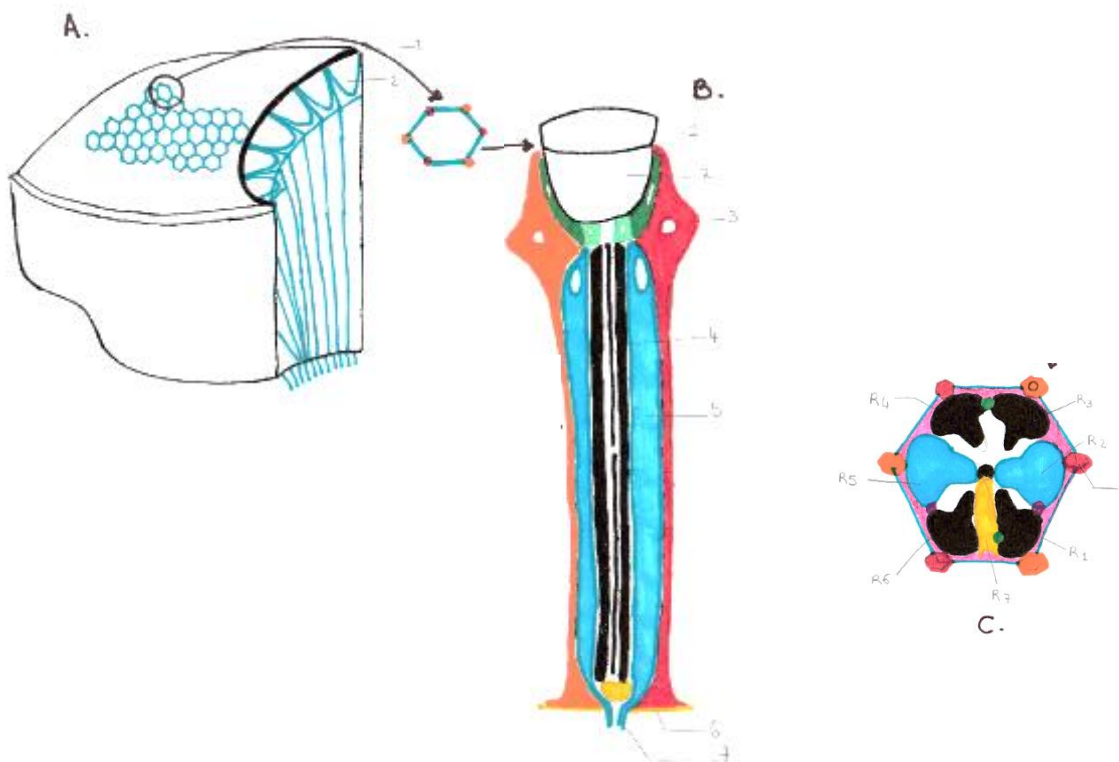


Figure 3 : Organisation d'une ommatidie. 1 : cornée, 2 : cône cristallin, 3 : cellule pigmentaire, 4 : rhabdome, 5 : cellule photoréceptrice, 6 : membrane fenestrée, 7 : axone, R1 à R8 : rhabdomères. (Lebrun--Tessier modifié de l'encyclopédie de la langue française, Lefèvre)

neurones spécialisés disposés en hexagone dans l'ommatidie.

Ces neurones spécialisés sont des cellules polarisées : leur membrane apicale présente des villosités qui sont orientées vers le centre de l'ommatidie. Ces neurones photorécepteurs sont maintenus entre eux grâce à des desmosomes et délimitent ainsi un espace intraommatidien. Ainsi, au centre des ommatidies se trouve un regroupement de microvillosités, correspondant à la membrane apicale des huit photorécepteurs. Ces microvillosités sont étroitement imbriquées et forment une structure appelée rhabdomères. Chaque rhabdomère a une fonction de guide d'onde, autrement dit il guide la lumière au travers des photorécepteurs. Au-dessus des photorécepteurs se trouvent quatre cellules cônes, ou cellules de Semper, qui ont pour rôle d'assurer la sécrétion du cône cristallin. Deux cellules pigmentaires primaires colorent le cône et sécrètent en partie la cornée, elles entourent la partie distale des photorécepteurs et forment les parois du pseudo-cône. Les cellules pigmentaires secondaires protègent et isolent l'ommatidie par des manchons de mélanine.

A la surface de l'œil, entre les ommatidies se trouve un fin duvet sensoriel correspondant à des mécanorécepteurs. Ces derniers permettent de mesurer la vitesse et le sens de déplacement de l'air (vitesse du vent, vitesse de vol)(Quendolo 2016; Lefèvre s. d.; Warrant 2019; Hardie et Postma 2008).

La vision chez l'abeille est trichromatique, c'est-à-dire qu'elle repose comme chez l'homme sur trois canaux restituant la couleur. Le spectre de vision est compris entre 300 nm et 650 nm, donc les abeilles sont capables de percevoir dans l'ultraviolet, que l'on retrouve reflété par les fleurs, mais pas le rouge (800 nm) (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.). Elles possèdent des récepteurs sensibles à l'ultraviolet, au bleu et au vert. La vision en noir et blanc, aussi appelée vision achromatique, permettant notamment de percevoir la profondeur dépend uniquement du photorécepteur vert. Ainsi, sans ce dernier, il est impossible pour l'abeille de mettre en place tout son système visuel (Clarac et Ternaux 2012). Enfin la vision de l'abeille est adaptée au vol rapide, en effet elle perçoit plus de 200 images à la secondes (contre 24 chez l'homme) ce qui lui permet de voler jusqu'à 30 km/h en gardant des repères nets. Cependant, la résolution est faible avec 25 000 points/cm² (à comparer aux 450 000 points/cm² chez l'homme) (Adam 2010). Ainsi, l'apprentissage des formes des fleurs se révèle plus complexe que l'apprentissage de leur couleur. En effet, pour percevoir et retenir les formes, l'abeille doit s'approcher très près des objets, perçoit ainsi les lignes complexes, les intègre à condition que leur largeur angulaire soit supérieure à 3,5° (Lefèvre s. d.). Enfin, la structure organisée des rhabdomères permet à l'abeille de percevoir la lumière polarisée. Les membranes empilées de façon systématique permettent un alignement du pigment servant à la transduction de la lumière (Hardie et Postma

2008). Ces pigments fonctionnent comme un groupe de dipôles absorbants, tous positionnés de façon identique les rendant donc sensibles à la polarisation de la lumière.

Pour compléter cette vision se trouvent les ocelles. Disposés sur le vertex, les ocelles forment un triangle. Individuellement, ils correspondent à un œil simple primitif. Ils se composent d'une lentille chitineuse biconvexe translucide surmontant un corps vitreux qui recouvre une couche de cellules photosensibles. Les ocelles permettent uniquement de mesurer l'intensité lumineuse. Ainsi les ocelles ne permettent pas à l'abeille de voir, comme par ses yeux, mais permettent de se déplacer selon un gradient lumineux dans des milieux particulièrement sombres. Ainsi, à l'intérieur de la ruche, on peut imaginer que les yeux composés ne sont pas d'une grande utilité. Cependant, en enregistrant une intensité lumineuse sur trois points, l'abeille possède un système de triangulation en quelque sorte, permettant une représentation de l'intensité lumineuse en trois dimensions. Cette triangulation peut servir également en vol, l'abeille s'oriente grâce au soleil et peut maintenir un cap défini par un rapport d'intensités lumineuses. (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

5) Anatomie et fonction de l'appareil buccal

Les pièces buccales sont un organe majeur dans la vie et le rôle de l'abeille dans la colonie, tout au long de sa vie. Sur une abeille au repos, la majeure partie de ces pièces sont cachées à l'intérieur de la cavité buccale. Cependant elles sont visibles sur les ouvrières lors de butinage : elles prennent alors l'apparence d'une trompe. Malgré leur apparence simpliste, ces pièces sont nombreuses, et agencées de manière complexe, permettant leur déploiement lors des moments clés grâce à un système musculo-ligamentaire. En plus de l'absorption de nectar ou d'eau, ces pièces buccales servent aussi à la manipulation de solides tels que la cire ou le pollen. (Quendolo 2016). En conséquence, ces pièces buccales sont qualifiées de type broyeur-lécheur (Auclair 2019). Les pièces buccales seront décrites de l'avant vers l'arrière. De la pièce la plus visible constituant la face vers les pièces internalisées, repliées, situées dans la cavité buccale.

Frontalement, le labre, ou lèvre supérieure, est visible même au repos, il s'agit d'une pièce de chitine unique qui vient recouvrir les mandibules, elle forme ainsi la délimitation supérieure de la cavité buccale (*figure 4*). Elle est articulée au clypéus, sclérite de la face, servant de délimitation inférieure. Cette articulation entre le labre et le clypéus permet au labre d'effectuer de petits mouvements. Ensuite, les mandibules constituent le système broyeur. Au nombre de deux, elles sont en partie cachées sous le labre, elles se présentent telles des mâchoires incurvées. Leur face interne est concave et agrémentée de rayures. Leur mouvement est latéral

et permet à l'abeille de saisir, mastiquer la cire notamment pour la construction de rayons, ouvrir des anthères de fleurs pour récolter le pollen ou la propolis, ainsi que pour la distribution de nourriture aux larves ou à la reine (Quendolo 2016; Meyer 2016; Auclair 2019).

Puis, deux maxilles, articulées en trois segments (cardo, stipe, galea), sont insérées ventralement sous les mandibules, elles sont parsemées de sensilles gustatives. Leur mobilité permet également une manipulation des denrées (Quendolo 2016; Meyer 2016; Auclair 2019).

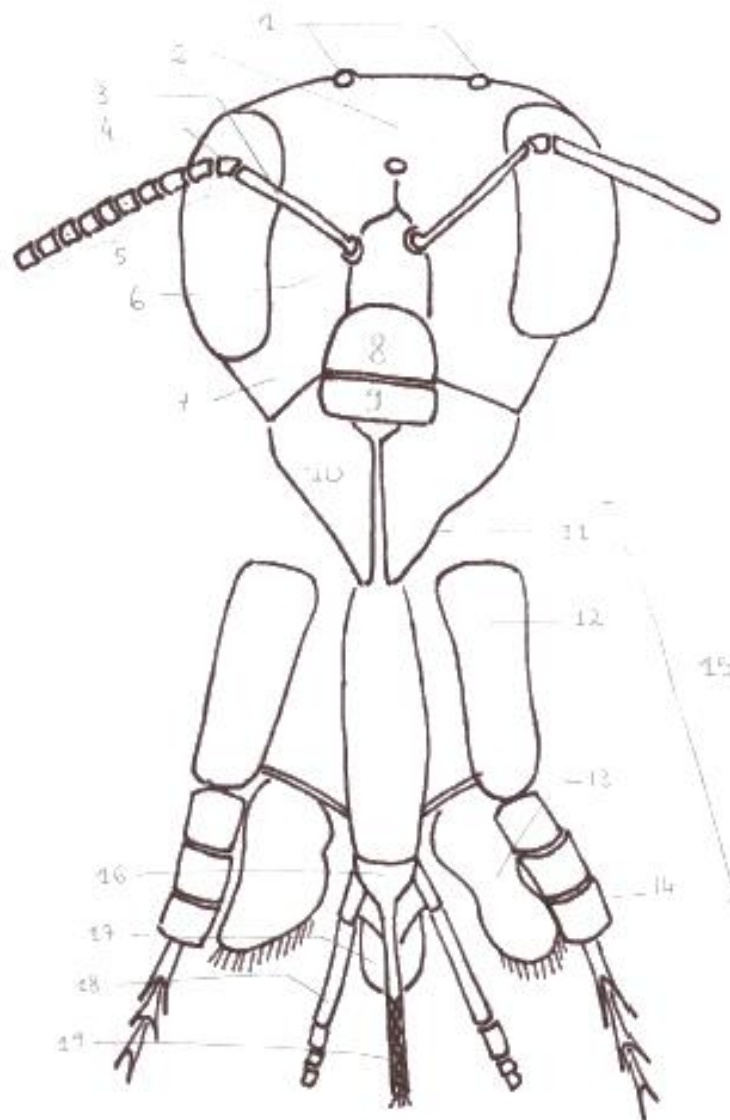


Figure 4 : Organisation des pièces buccales. 1 : ocelles (3) disposées en triangle sur le vertex (2). Les antennes sont composées du scape (3), du pédicelle (4) et du flagelle (5) composé de multiples flagellomères. Ces antennes sont rattachées à la tête par le torulus (6). Le bas de la face est composé de gena (7) ou joues, du clypeus (8) servant d'attache au labre (9). Les mandibules (10) sont le système broyeur. Les maxilles (15) se composent du cardo (11), du stipe (12), du galea (13), des palpes maxillaires (14). Le labium se compose du prémentum (16), des palpes labiaux (18), des paraglosses (17) et de la glosse (19) (Lebrun--Tessier modifié de l'encyclopédie de la langue française, Lefèvre)

Le dernier mais non le moindre, le labium constitue la lèvre inférieure, il s'agit de la fusion de la deuxième paire de maxilles. Ce labium permet de lécher la nourriture. Il se divise en plusieurs parties. Le postlabium est la partie basale, en articulation avec les sclérites de la face, il est composé de trois pièces (lorum, postmentum et mentum). Le prelabium est la sclérite distale sur laquelle s'insèrent une paire de palpes labiaux, deux paraglosses, et enfin la glosse, fusion de deux glosses en une langue spécialisée. La glosse est constituée de zones fibreuses assurant une rigidité, la tige semi-rigide est creusée d'une gouttière, alors que les bords membraneux se rejoignent ventralement pour constituer le canal de la langue (non fermé). Les palpes labiaux ainsi que les mâchoires vues précédemment, forment un canal périphérique autour de la glosse. La glosse est recouverte de poils, ce qui est très marqué en partie distale, au niveau du flabellum, et facilite l'absorption de liquides par capillarité. Le flabellum se déplace d'avant en arrière dans le canal formé par toutes les pièces buccales permettant l'ascension de liquide. La mise en action de muscles à la base de la glosse (muscles du cibarium) permet l'aspiration de ce liquide jusque dans l'oesophage. A la base de la langue s'abouchent les canaux salivaires issus de deux glandes : les glandes céphaliques et les glandes prothoraciques. Les structures labiales centrales sont assemblées par des éléments membraneux souples, leur permettant de se replier en "Z" dans la cavité buccale. Ces pièces buccales extensibles sont aussi appelées proboscis. Lors d'une stimulation du milieu extérieur, pour aspirer le nectar, l'abeille étend son proboscis. Le cardo et le stipe, les deux éléments distaux des maxilles se déplient vers l'avant. Par conséquent, il se produit une extension des maxilles, or ces dernières sont reliées par une membrane au niveau des galéas (segments proximaux). Les maxilles s'unissent aux palpes labiaux autour de la glosse pour former le proboscis, tube lécheur-aspirateur de 5,3 à 7,2 mm de longueur. Le regroupement des muscles des paraglosses et de la glosse avec les autres sclérites basales forment une cavité hermétique dans laquelle les liquides seront aspirés. Les substances solides absorbées par le proboscis sont emprisonnées dans les poils de la glosse que l'abeille nettoie fréquemment à l'aide de ses pattes antérieures. Si les substances sont trop solides ou visqueuses pour être absorbées sous leur forme originelle, elles sont humectées avec de la salive (Quendolo 2016; Meyer 2016; Auclair 2019).

Les pièces buccales remplissent plusieurs fonctions. En effet, elles servent à l'absorption de liquides et nourriture, elles malaxent et transforment certains produits notamment en y ajoutant de la salive (cire, propolis, miel). En outre, elles permettent aussi les échanges entre les individus de la colonie par exemple la trophallaxie entre les ouvrières, la distribution des phéromones de la reine à l'ensemble de la colonie, mais encore la distribution de nourriture aux

larves. Finalement, elles servent à la thermorégulation des butineuses lors du vol. La butineuse pour maintenir sa température interne en vol, va régurgiter une partie du contenu de son jabot et l'étaler sur la partie antérieure de son thorax. L'évaporation de l'eau provoquée par les mouvements d'air du vol permet de refroidir l'animal. (Quendolo 2016).

6) Anatomie et fonction des antennes

Situées sur le dessus du front, les antennes, au nombre de deux sont des organes formés d'éléments chitineux. Elles sont implantées de façon symétrique. Chaque antenne se compose de 12 segments chez les ouvrières et les reines, alors que chez les mâles elles sont composées de 13 éléments (Quendolo 2016).

Le scape est le premier segment, rattaché au niveau du front en avant des ocelles. Il s'agit du premier mais aussi du plus gros élément constituant les antennes. Il débute par un renflement appelé torulus, qui fait la jonction avec le crâne. Le scape est ensuite relié au pédicelle qui s'attache au flagelle. Dix éléments composent donc le flagelle chez les femelles (onze chez les mâles). Le scape et le pédicelle ne sont pas dans le même alignement ce qui donne l'aspect anguleux des antennes. Tous les segments composant les antennes sont articulés entre eux permettant la grande mobilité du segment et donc son interaction avec l'environnement. (Quendolo 2016).

Les récepteurs antennaires présentent tous des similitudes dans leur structure. Ce sont des sensilles, structures circulaires dont la fonction est l'entrée sensorielle. Ils peuvent prendre des formes variées selon leurs fonctions (poils, plaques, cavités...). Les antennes sont revêtues d'une protection chitineuse comprenant de multiples petites ouvertures, ou pores, permettant le passage des molécules jusqu'aux cellules réceptrices. Certains de ces pores sont cependant protégés par une fine enveloppe permettant le passage des molécules odorantes. Cette adaptation permet une protection contre la perte d'eau que pourrait occasionner des pores trop nombreux. La majeure partie des sensilles se trouve sur les antennes, cependant on peut en trouver aussi sur d'autres parties du corps comme les organes buccaux ou les pattes. Ces capteurs sensoriels sont reliés à des neurones sensoriels, ils transforment l'information en signal électrique et la transmettent sous forme d'influx nerveux jusqu'au système nerveux central où elle sera analysée (Quendolo 2016).

Une grande variété de récepteurs se situent sur les antennes. Quelques-uns de ces récepteurs seront détaillés dans la suite de ce paragraphe.

Les sens du goût et de l'olfaction sont assurés par la même catégorie de récepteurs : les chémorécepteurs. Cette classe est la plus vaste, en effet, elle comprend une centaine de types de sensilles différentes. Une dizaine de ces cellules sont spécialisées dans la détermination des goûts, tandis que la majorité sont dédiées à la détection d'odeurs. Ces sensilles sont donc des plaques poreuses contenant du mucus. Le mucus sert de milieu pour de nombreuses enzymes assurant la détection de molécules odorantes spécifiques. En présence de leur substrat, les enzymes libèrent des molécules excitatrices spécifiques du récepteur membranaire. Comme pour le nombre d'ommatidies au niveau des yeux, le nombre de sensilles chémoréceptrices varie grandement en fonction de la caste du détenteur au sein de la colonie et donc de sa fonction. Par exemple, la reine possède environ 3000 sensilles par antenne alors qu'une ouvrière en possède entre 3000 et 6000. Ce qui peut s'expliquer par le fait que l'ouvrière dans la colonie a de grands besoins de communication, mais aussi à l'extérieur lors du butinage alors que la reine ne sortira jamais butiner(Quendolo 2016).

La deuxième catégorie de récepteurs comprend de nombreux poils tactiles implantés sur les antennes. Ces dernières permettent de fournir un « odorat tactile » aux abeilles. Ainsi les deux sens, portés par le même organe se mêlent pour fournir une information nouvelle qui nous est étrangère. Deux objets de la même matière, par exemple en cire, ou en pollen, mais de forme différente seront ainsi différenciés clairement par l'abeille (Quendolo 2016).

Les mécanorécepteurs, troisième catégorie de sensilles, servent à enregistrer les contraintes mécaniques. Les soies sensorielles mécanoréceptrices sont semblables à un filament situé au centre de la cellule sensorielle. Lors d'une contrainte mécanique, par exemple par le toucher mais également juste à cause du mouvement de l'air, le filament va s'incliner. L'inclinaison est transmise à la cellule sensorielle qui va se déformer. C'est la déformation de la cellule qui sera transmise sous forme de message neuro-électrique, au neurone sensoriel qui lui est relié (Quendolo 2016).

Enfin, les thermorécepteurs enregistrent les variations de température à l'intérieur de la ruche mais aussi lors des activités extérieures permettant la mise en place de comportements appropriés à l'environnement.(Quendolo 2016).

Chaque sensille est reliée à deux neurones récepteurs dont les extensions s'insèrent jusque dans la cuticule. A ce niveau, ils sont protégés de tout stress hydrique par la présence de lymphes dans les sensilles.

Cette multitude de récepteurs explique les rôles multiples endossés par les antennes : olfaction, goût, détection de dioxyde de carbone, détection de l'humidité et température, toucher, détection de vibrations. Ces informations collectées au même endroit peuvent être croisées comme le toucher et l'odorat permettant une perception enrichie de l'environnement. La position des antennes en région antérieure du corps permet de recevoir rapidement les informations de l'environnement, notamment les molécules olfactives émises par les fleurs. Les antennes jouent aussi un rôle dans la communication au sein de l'essaim, leur mobilité permet le contact entre les individus, elles échangent des informations gustatives et olfactives notamment lors de la trophallaxie. Enfin, elles permettent également aux abeilles de localiser l'origine des informations qu'elles reçoivent. Pour conclure les antennes jouent un rôle majeur, elles sont indispensables à la survie de l'abeille, à son intégration dans son environnement ainsi qu'à la constitution de la colonie (Quendolo 2016).

7) Anatomie du système nerveux

a. Description générale

Les organes des sens décrits dans les paragraphes précédents permettent à l'abeille de récolter les informations nécessaires sur son environnement afin de s'y adapter. Toutes ces perceptions sont intégrées au niveau du système nerveux central. Le système nerveux central de l'abeille se compose tout d'abord d'un cerveau, situé dans le prosome. Lors du

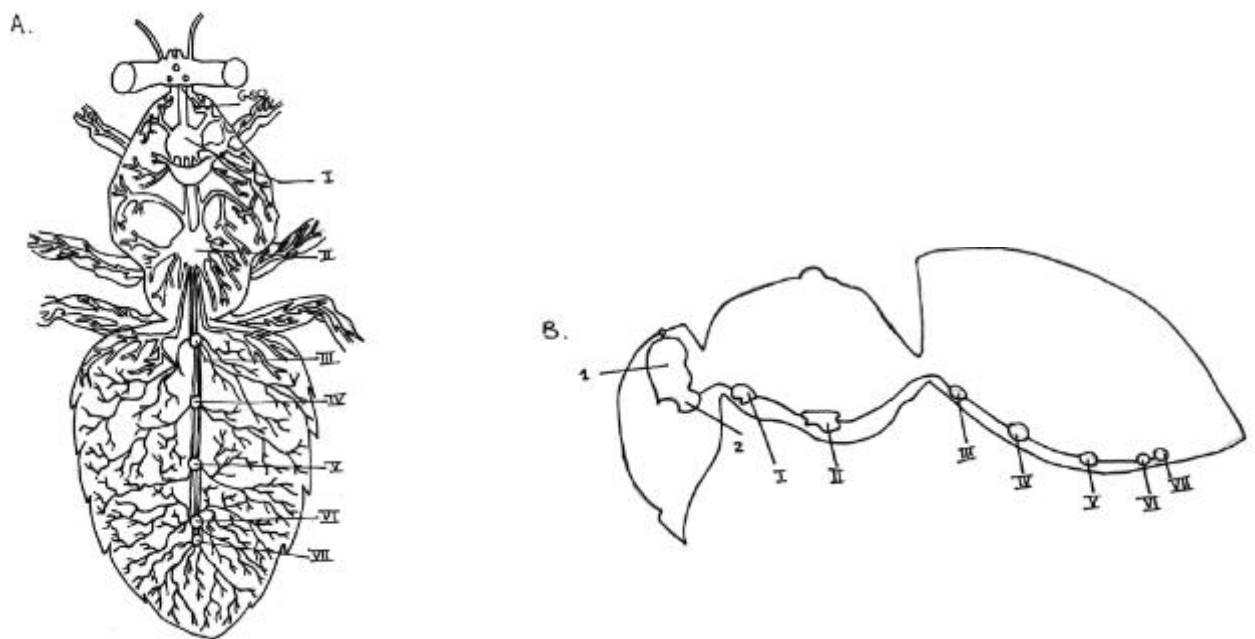


Figure 5 : Organisation du système nerveux. Le système nerveux se compose d'un cerveau (1) situé dans la cavité céphalique et de huit ganglions postérieurs : le ganglion sous-oesophagien (2), deux ganglions thoraciques (I, II), de 5 ganglions abdominaux (III, IV, V, VI, VII) reliés par une chaîne nerveuse ventrale. (Lebrun--Tessier modifié de l'encyclopédie de la langue française, Lefèvre)

développement embryonnaire, plusieurs ganglions situés dans la région qui deviendra par la suite le prosome se sont réunis afin de former ce centre d'intégration des informations internes mais aussi externes à l'animal. Le cerveau est positionné à l'abri des chocs, protégé par le tentorium, dans la capsule céphalique. Seuls les ganglions de la partie antérieure du corps ont fusionné lors du développement. Les autres sont restés individualisés et constituent la chaîne nerveuse ventrale, trait commun des arthropodes, qui se situe dans le prolongement du cerveau (*figure 5*). Les ganglions sont ainsi au nombre de huit : le ganglion sous-œsophagien situé juste en dessous du cerveau, sous l'œsophage, puis sept ganglions répartis en deux ganglions thoraciques et cinq ganglions abdominaux. Chaque ganglion innervant un tagure en particulier. Cette chaîne nerveuse ventrale reliant les ganglions comporte également deux interneurons bilatéraux, qui s'étendent sur toute la longueur du corps de l'abeille. Ensuite, un réseau de fibres neuronales relie le cerveau aux différents muscles. La description du système nerveux central qui suit s'attachera en premier lieu à la description des ganglions et de leur fonction respective, puis à la description du cerveau (Quendolo 2016; Adam 2010; Fayet 2016; Lefèvre s. d.).

D'une part, les ganglions reliés en une chaîne nerveuse ventrale, servent de relais locaux pour le contrôle des muscles d'une zone précise du corps. Cependant c'est le cerveau qui reste en charge de la coordination des mouvements du corps entier.

Le ganglion sous-œsophagien est en charge du contrôle des influx nerveux destinés aux mandibules et au proboscis. Il reçoit les signaux électriques transmis par les neurones sensoriels situés au niveau des récepteurs antennaires, mais aussi des pièces buccales. Ces informations sont traitées et génèrent une réponse motrice, transmise sous forme de signal neuro-électrique aux organes effecteurs (pièces buccales, antennes...). Lors du développement, trois ganglions embryonnaires ainsi que les nerfs sensitifs et moteurs correspondant aux pièces buccales ont fusionné afin de former ce ganglion unique. En outre, il a une fonction de relais. En étant rattaché à la fois à la chaîne nerveuse ventrale, par des nerfs dirigés vers l'arrière du corps, et au cerveau dont il est le premier retransmetteur pour l'ensemble du système nerveux central. Son architecture est organisée en six unités correspondant aux nerfs labiaux, aux nerfs pharyngiens ainsi qu'aux nerfs des pièces buccales.

Le premier ganglion, situé dans la partie antérieure du thorax régule les informations motrices acheminées par les nerfs menant à la première paire de pattes.

Le deuxième ganglion, lui aussi thoracique, contrôle les nerfs associés aux muscles des ailes et à la seconde et troisième paire de pattes.

Les ganglions suivants, au nombre de cinq, sont tous situés dans l'abdomen. Ils sont en charge de leur segment abdominal respectif.

Parmi ces ganglions abdominaux, le septième ganglion supervise les nerfs liés aux muscles de l'appareil vulnérant ainsi que ceux liés aux organes reproducteurs (faux bourdon, reine) (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.; Fayet 2016; Adam 2010).

D'autre part, le cerveau, situé en amont de la chaîne ganglionnaire ventrale correspond au centre d'intégration de toutes les informations qu'elles soient issues du milieu extérieur mais résultant aussi du maintien de l'homéostasie de l'animal. Ce cerveau est issu de la fusion de ganglions céphaliques. Il contient 960 000 neurones pour un volume inférieur à 1mm^3 et une masse d'environ 1 mg. Ce dernier peut donc paraître infime en comparaison du cerveau de l'homme qui possède environ 100 milliards de neurones, cependant il possède un fonctionnement et une organisation très développés. On peut découper ce cerveau en trois régions d'intérêt. Chacune de ces zones étant issue de la réunion de multiples ganglions lors du développement embryonnaire. La première vésicule est nommée protocérébron. Le protocérébron est situé comme son nom l'indique, en premier dans la capsule céphalique. Il résulte de l'union des ganglions oculaires qui sont désormais les lobes optiques. Le protocérébron est la partie la plus large du cerveau, elle se compose du corps central, des corps pédonculés, des lobes optiques et des lobes protocérébraux. Le protocérébron, du fait de sa position dans le prosome, se situe directement sous les yeux et les ocelles. Les nerfs optiques et les nerfs ocellaires assurent la transmission des signaux électriques depuis les organes sensoriels jusqu'aux centres de traitements de l'information situés dans le protocérébron. On comprend donc que cette première

vésicule est responsable de la vision au sens large puisqu'elle comprend aussi le traitement de l'information reçue par les ocelles (*figure 6*).

La deuxième vésicule ou deutocérébron se trouve en arrière du protocérébron. Ce qui le place en position centrale. La réunion des précurseurs de ganglions antennaire ont permis la formation de cette deuxième vésicule Cette vésicule possède une certaine symétrie car elle comporte de chaque côté un lobe antennaire. Une lame dorsale assure la communication entre les deux lobes antennaires. Comme leur nom l'indique, chaque lobe antennaire est relié à une antenne par le moyen de neurones qui sont de types sensoriels mais également moteurs. Ainsi cette vésicule permet l'olfaction, la gustation mais aussi la motricité propre des antennes.

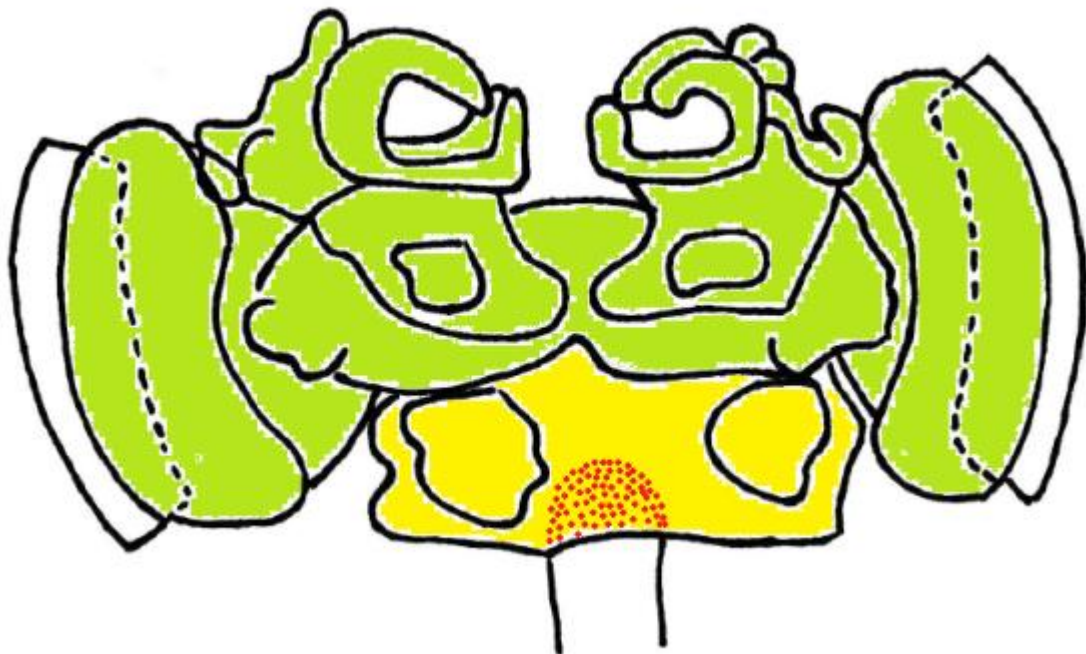


Figure 6 : schéma de l'organisation générale des 3 parties du cerveau. En vert le protocérébron, situé antérieurement dans la capsule céphalique, il s'agit de la partie la plus développée du cerveau. En jaune le deutocérébron. Le tritocérébron situé dans la partie inféro-postérieure est représenté en pointillés rouges. (Lebrun--Tessier modifié d'après M. Giurfa 2008)

Le tritocérébron est la troisième et dernière vésicule cérébrale, issue de la fusion des ganglions supra-œsophagiens. Il est situé dans la zone la plus postérieure de la capsule céphalique et rattaché au deutocérébron. Là encore on observe une certaine symétrie car il est composé deux lobes positionnés en dessous du cerveau. Ces lobes communiquent au moyen de la commissure post-œsophagienne. Cette organisation de fibres nerveuses permet non seulement la communication d'informations de nature sensibles et motrices entre les deux lobes mais elle permet également l'enregistrement d'informations provenant de la cavité buccale et des organes digestifs. Le tritocérébron communique avec les nerfs labrofrontaux qui comportent deux

ramifications. Premièrement, le nerf labre qui rejoint le proboscis et régule l'ingestion de denrées. Deuxièmement, il forme la racine du ganglion frontal et paracardiaque responsables des activités endocrines. Pour finir, il est relié au nerf tégumental. Ce dernier en communication avec des soies sensibles permet la collecte de nouvelles informations sensorielles (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

Par la suite, les différentes parties des vésicules cérébrales nommées ici seront détaillées afin de commencer à aborder le sujet de la mémoire chez les abeilles et de son étude en neurosciences. Mais d'abord, il est important de noter que le système nerveux de l'abeille est régi par trois principes simples, valable quel que soit la vésicule cérébrale étudiée.

Ces principes sont en fait des structures sur lesquelles reposent l'activité cérébrale. Il s'agit des neuropiles, des neurones spécialisés et des centres d'intégration multimodaux. Une neuropile correspond à de la substance grise spécialisée dans le traitement d'informations sensorielles spécialisées (olfaction, vision...). Ainsi, ces neuropiles peuvent se distinguer d'autres régions. Deuxièmement, les neurones spécialisés sont des neurones, distinguables par leur morphologie unique mais aussi par une fonction précise dans l'activité sensorielle et motrice de routines connues. Troisièmement, les centres d'intégration multimodaux, comme leur nom l'indique sont des carrefours où se rencontrent de multiples voies de traitement d'informations issues des cellules sensorielles. Cette intersection correspond à un centre d'intégration supérieur et permet l'association de diverses natures d'information sensorielles lors d'un apprentissage. (Lefèvre s. d.).

Par ailleurs, au système nerveux central de l'abeille s'ajoute le système nerveux somatogastrique. Le système nerveux somatogastrique se concentre sur le traitement des informations issues d'organes internes à l'insecte (en opposition au traitement de données issues des organes sensoriels donnant des informations sur l'environnement). Il participe à l'homéostasie des individus, au bon déroulement de tâches nécessaires à la survie de chaque individu. Ce deuxième système nerveux se compose du ganglion frontal, du nerf récurrent, du ganglion hypocérébral et des nerfs oesophagiens (Quendolo 2016).

b. Description du protocérébron : le centre de la vision

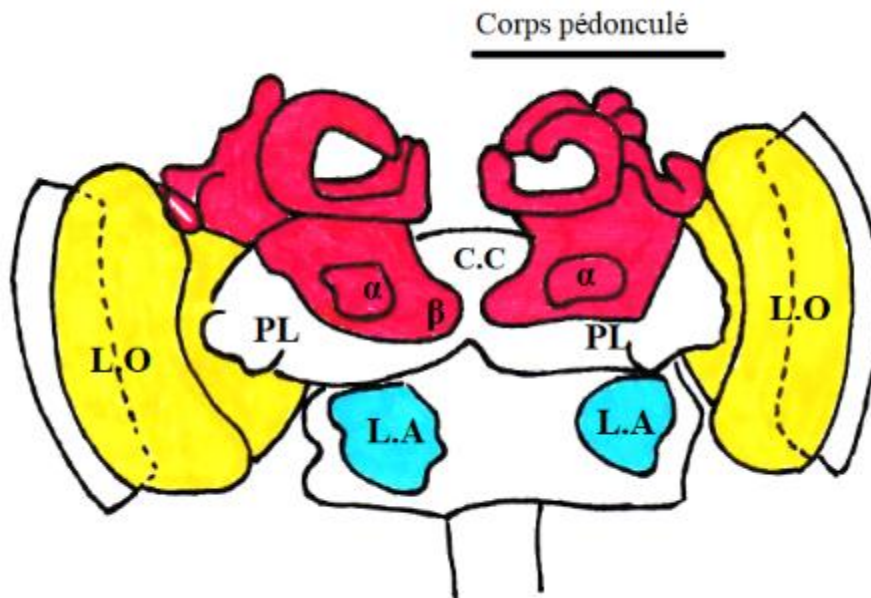


Figure 7 : Dessin de l'organisation cérébrale. En jaune se trouvent les lobes optiques (L.O). En rouge les corps pédonculés reliés par le corps central (C.C). Sont représentés également les lobes protocérébraux (P.L) aussi appelés cornes latérales et les lobes antennaires (L.A). (Lebrun--Tessier modifié d'après M. Giurfa 2008)

Les lobes optiques (L.O)

Les lobes optiques sont situés dans le protocérébron. Comme leur nom l'indique ils gèrent le traitement des informations visuelles au sens large (figure 7). La lumière est transmise aux photorecepteurs de la rétine. Cette dernière transforme le signal lumineux, qui correspond à une onde, en signal électrique propre au système nerveux, transmis par le nerf optique à un premier neuropile. Ce dernier est donc zone de substance grise spécialisée dans le traitement d'un type d'information ici visuelle, est appelé la lamina (figure 8). Les images subissent un prétraitement à ce niveau tout en conservant l'organisation qu'elles avaient sur la rétine. La lamina est composée de plusieurs types de cellules. Certaines sont sensibles aux variations de brillance, de l'intensité de la lumière. D'autres sont plutôt spécialisées dans la détection de contraste. Après traitement, l'influx nerveux parcourt les voies nerveuses jusqu'au deuxième neuropile, appelé médulla. C'est au niveau de la médulla que sont traités les mouvements locaux. Jusqu'alors l'image avait conservé son organisation telle qu'elle avait été perçue par la rétine, encore appelée organisation rétinoptique. Lors de la transition vers le troisième neuropile, ou lobula et lobula plate, l'organisation rétinoptique est perdue. En effet, des neurones à large champ capturent les signaux de sortie de plusieurs cellules nerveuses issues de la médulla, ainsi l'information converge à travers soixante neurones du neuropile. Ces cellules sont sensibles à des stimulations du flux optique global. Cette dernière étape permet une intégration spatiale du flux optique (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.; Warrant 2019).

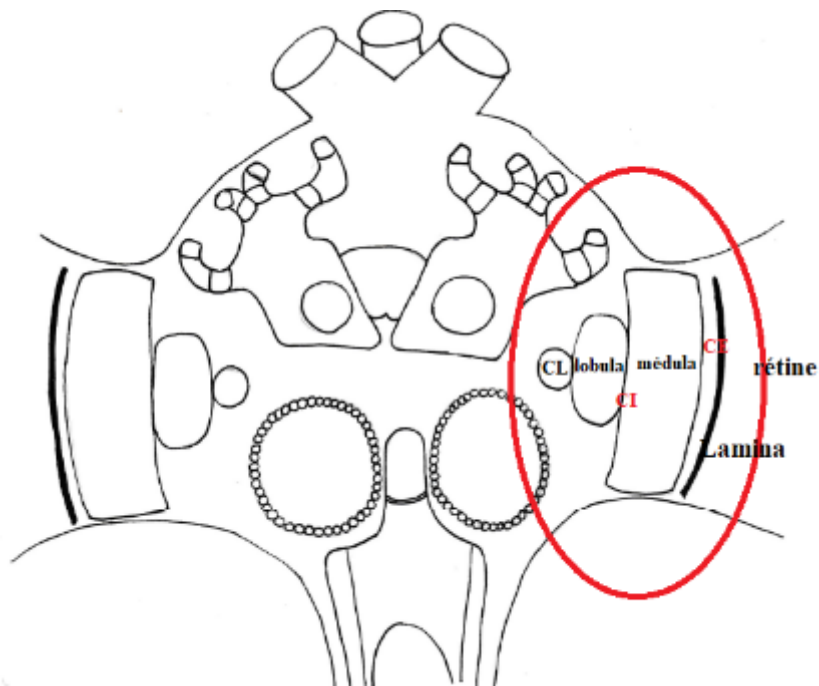


Figure 8 : Organisation des lobes optiques. CE : chiasma externe, CI : chiasma interne, CL : corno latérale du protocérébron (Lebrun--Tessier modifié d'après F. J. Guerrieri 2005)

Le corps central

Le corps central reste encore très méconnu car sa structure neuronale est complexe. Il servirait de relais sensoriel entre les deux hémisphères cérébraux. Il aurait aussi un rôle sur la régulation de l'éveil des abeilles ainsi que sur leur comportement.

Comme son nom le laisse entendre, le corps central est localisé au centre des vésicules composant le cerveau. Il est organisé en quatre unités, reliées entre elles par des neurones de grand champ. Ces neurones sont liés ensuite à un assemblage complexe organisé en colonne de neurones de petit champ.

Tout d'abord, se trouve le pont proto-cérébral. Non seulement il permet d'établir une connexion entre les centres optiques du protocérébron et les centres antennaires du deutocérébron mais encore il les connecte à d'autres zones du cerveau par le biais du corps flabelliforme. Cette unité constituerait un centre élevé dans la régulation de la motricité.

Le corps flabelliforme, dont le nom est tiré de sa forme en éventail permet de relier différentes parties du corps central dont le pont proto-cérébral mais aussi le corps ellipsoïde, et enfin les parties latérales du cerveau. Il est constitué de plusieurs couches de neurones. Le corps flabelliforme organiserait les réponses de l'abeille aux stimuli reçus de l'environnement, aussi appelé la fonction d'alerte.

Le corps ellipsoïde se localise à côté du corps flabelliforme, sous la forme d'un petit noyau.

Enfin, les noduli sont des ganglions, organes pairs, ils se trouvent à la base du cerveau.

La fonction des corps ellipsoïdes et des noduli reste encore mal définies (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

Les corps pédonculés

Les corps pédonculés se situent sous les ocelles, ils sont bilatéraux et symétriques. Ils jouent un rôle majeur dans l'apprentissage et la mémoire chez l'abeille. C'est à cet endroit que convergent et sont traitées les informations issues des lobes optiques mais aussi des lobes antennaires. Ainsi les corps pédonculés sont un vrai carrefour des informations sensorielles. Cette accumulation d'informations variées permet un traitement plus global des stimuli perçus, un croisement des informations, ce qui est particulièrement important pour la fonction d'apprentissage et de mémoire. Ces lobes ne sont pas figés dans le temps, ils sont amenés à se modifier au fur et à mesure de la vie et des apprentissages de l'animal ce qui en fait une véritable représentation physique de la mémoire. Ainsi, ces caractéristiques font qu'ils ont également un rôle dans l'apprentissage associatif, qui consiste à associer une forme ou une couleur à une odeur. Ils sont également à l'origine des réponses de l'animal suite à la détection de signaux sensoriels acheminés par les divers neuropiles.

Les corps pédonculés sont des structures quadrilobaires. Ils s'organisent en deux calices, un lobe α et un lobe β (figure 9).

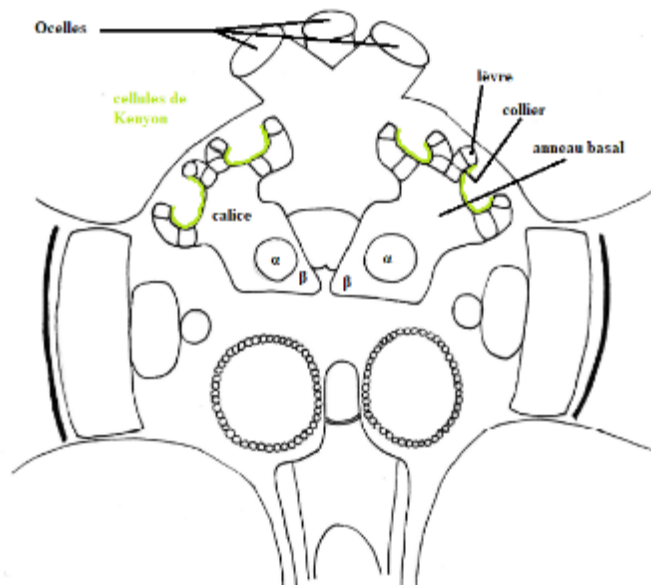


Figure 9 : Organisation des corps pédonculés. (Lebrun--Tessier modifié d'après F. J. Guerrieri 2005)

Les calices présentent une architecture en trois zones, identifiables à leur anatomie et recevant des informations spécifiques sensorielles. Premièrement se trouvent les lèvres, elles établissent

une connexion avec les cellules sensorielles olfactives par le biais de multiples neurones. Deuxièmement le collier accueille les neurones provenant des voies visuelles. Enfin, l'anneau basal est la troisième et dernière région des calices des corps pédonculés. Les neurones porteurs d'informations olfactives sont dirigés également vers cette zone de l'anneau basal. Ainsi, chacune des trois régions formant le calice reçoit des afférences sensorielles qui lui sont propres. A la surface des calices se trouve une couverture composée de 170 000 neurones environ, appelés cellules de Kenyon. Ces neurones sont interconnectés entre eux grâce à leurs axones. En outre, ils établissent également des connexions avec les lobes α et β , autres régions des corps pédonculés. Ces croisements et carrefours multiples permettant de relier différentes zones des corps pédonculés permet de croiser également les informations portées par ces neurones. Ainsi ce sont ces zones interconnectées qui permettent aux corps pédonculés d'avoir une vision plus globale, un effet d'association d'informations indispensables dans leur rôle de mise en place de la mémoire. Pour finir, les calices permettent la transition de souvenirs récents, pas encore consolidés, vers leur inscription dans une mémoire à plus long terme.

Les corps pédonculés ne sont pas figés dans le temps, en quelque sorte ils sont la représentation de la plasticité cérébrale des abeilles. Ainsi, ils évoluent avec l'âge, au fur et à mesure des apprentissages faits à différents stades de la vie. Les études menées à propos de ces corps pédonculés ont montré qu'ils seraient les plus enrichis lorsque l'abeille est amenée à butiner, ce qui a du sens car le butinage est une activité très demandeuse en matière de mémoire et de capacité d'apprentissage(Quendolo 2016; Lefèvre s. d.; Fayet 2016).

Les lobes protocérébraux latéraux

Les lobes protocérébraux latéraux, aussi appelés cornes latérales, se situent au niveau du protocérébron latéral comme leur nom le laissait deviner. Ils ont été nettement moins explorés que les corps pédonculés, si bien que leur anatomie et leur rôle précis reste encore à déterminer. Une explication plausible à ce retard de recherche est qu'ils sont mal délimités dans le protocérébron contrairement aux corps pédonculés qui forment une région anatomique nettement distincte. Ils sont discernables par leur composition contenant l'arborisation terminale des neurones de projection provenant des lobes antennaires. Chez la drosophile une grande diversité de neurones a été identifiée dans cette zone (dix classes morphologiques différentes) (Gupta et Stopfer 2012). Ils constituent un centre d'intégration supérieur du système olfactif, à partir des informations reçues par les neurones sensoriels au même titre que les corps pédonculés. Ils joueraient un rôle dans la mise en place d'un comportement inné (à

opposer à l'apprentissage plutôt associé aux corps pédonculés) face à la présentation d'odeurs. (Gupta et Stopfer 2012)

c. Description du deutocérébron : le centre de l'olfaction

Les lobes antennaires

Les lobes antennaires sont au nombre de deux, symétriques et bilatéraux, un par antenne ou hémisphère cérébral. Ils sont reliés entre eux par un faisceau de tissu nerveux nommé tractus olfactorio-globularis. Ces lobes antennaires sont les neuropiles olfactifs primaires du cerveau : il s'agit donc de matière grise spécialisée dans le traitement de signaux olfactifs dans ce cas. Ils servent à traiter l'information olfactive reçue par les nombreuses sensilles situées sur les antennes. Si on décompose l'organisation d'un lobe antennaire, on peut voir qu'ils comportent 160 sous-unités aussi appelées glomérules. Au total, environ 10 000 neurones se trouvent dans un seul lobe antennaire. Les glomérules, base de l'organisation des lobes antennaires sont des carrefours neuronaux sphériques dans lesquels se rejoignent les terminaisons des nerfs sensitifs provenant des antennes, des interneurones et enfin des neurones de projection. Ces derniers servent à retransmettre les signaux reçus vers des centres d'intégration supérieurs (par exemple les corps pédonculés ou les cornes latérales). Les interneurones servent quant à eux à établir des relations entre les différents glomérules constituant les lobes antennaires. Une sensille est reliée à un neurone sensoriel qui permet le transfert de l'information sous forme d'un signal électrique vers un glomérule unique. Un glomérule reçoit en moyenne des afférences de près de 400 sensilles. Les neurones de projection aussi appelés interneurones sont au nombre de 1130 au niveau des lobes antennaires. Certains de ces neurones sont inhibiteurs, d'autres sont excitateurs

L'observation par imagerie calcique permet de voir que chaque odeur détermine un motif d'activation d'une série de glomérules particuliers. En effet, l'activation neuronale entraîne une libération de calcium par les cellules excitées. Or, des produits fluorescents capables de capter le calcium sont utilisés pour baigner le cerveau de l'abeille. L'abeille est ensuite stimulée avec une odeur, ce qui entraîne un changement de fluorescence détectable avec une caméra observant les lobes antennaires. Ainsi on peut déterminer comment se fait le codage pour chaque odeur au niveau du cerveau. Ces manipulations ont permis d'observer la perception d'une odeur et son association à un motif d'activation glomérulaire déterminé.

Les lobes antennaires sont reliés aux corps pédonculés par l'intermédiaire de la commissure supra-œsophagienne. L'étude approfondie de ces lobes a mis en évidence de nombreux

marqueurs, et neuromodulateurs différents dont l'octopamine, particulièrement importante car elle serait un des facteurs régulant l'activité de butinage chez l'ouvrière (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

8) Physiologie du système nerveux appliquée aux organes des sens

a. Neurophysiologie de la vision

La lumière qui permet la vision, est composée d'ondes électromagnétiques et donc doit être transformée en influx nerveux, afin d'être transmise par le nerf optique jusqu'au cerveau où elle sera traitée. Les ommatidies comportent chacune huit photorécepteurs organisés en hexagones, correspondant à des neurones spécialisés. Au centre de ces ommatidies, la membrane apicale de ces photorécepteurs forme une structure composée de microvillosités étroitement agencées appelées rhabdomères. Les rhabdomères ont pour fonction de conduire la lumière. Cette structure en microvillosités permet de maximiser la surface absorbant la lumière. Au niveau de ces rhabdomères sont enchâssées une multitude de protéines intramembranaires, la rhodopsine, pigment photosensible (Hardie et Postma 2008). Sur les huit photorécepteurs présents dans une ommatidie, on peut distinguer les photorécepteurs R1 à R6, qui possèdent des rhabdomères contenant un unique type de pigment R1 dont la longueur d'onde absorbée est de 480nm. Les rhabdomères R7 et R8 quant à eux possèdent une grande variété de pigments, ils sont responsables de la vision des couleurs. Les huit photorécepteurs présentent le même mécanisme de transduction, la seule différence étant la composition de leur rhodopsine (Hardie et Postma 2008; Behnia et Desplan 2015).

Enfin, ces huit photorécepteurs reposent sur une membrane basale fenestrée, permettant le passage de leur axone cheminant vers les centres de traitement. Les photorécepteurs R1-R6 projettent leurs axones, courts, jusqu'au premier neuropile, la lamina. Les photorécepteurs R7 et R8 possèdent quant à eux des axones longs atteignant directement la médulla. Au niveau de leur neuropile de destination respective, ces axones forment des synapses histaminergiques avec des neurones de second ordre (Large monopolar cells). Outre les axones des photorécepteurs, la lamina comprend douze neurones de différents types, cinq sont des neurones de sortie de la lamina, six neurones régulateurs et une cellule intrinsèque de la lamina (Hardie et Postma 2008; Varela 1970).

La transduction du message photoélectrique en message bioélectrique est assurée par la rhodopsine. Cette protéine absorbant la lumière est composée de deux sous unités. Le

chromophore, le 11-cis-3-hydroxyrétinal, est lié à une protéine, l'opsine qui peut être variable. Lors de l'absorption d'un photon par la rhodopsine, le 11-cis-3-hydroxyrétinal s'isomérisé pour former du trans-rétinal entraînant un changement de conformation, conduisant à la formation de métarhodopsine. Cette rhodopsine activée active une cascade métabolique mettant en jeu la protéine G ainsi que la phospholipase C. La cascade d'activation aboutit à l'ouverture de canaux calciques, créant un influx intracellulaire de calcium. Ainsi la membrane neuronale se dépolarise. Cette dépolarisation serait l'origine de l'influx nerveux codant l'information visuelle. Afin de garantir une vitesse de réponse élevée, il a été observé que tous les intermédiaires permettant la transduction du signal lumineux sont regroupés au sein des microvillosités (Hardie et Postma 2008; Pepe 1999; Behnia et Desplan 2015).

Ensuite, l'influx nerveux passe de la lamina à la médulla, sauf pour R7 et R8 pour lesquels les axones cheminent directement jusqu'à la médulla où ils font synapse avec des neurones secondaires. De la médulla l'information transite ensuite à la lobula et la lobula plate. Rappelons que la lamina est un centre de prétraitement de l'image qui conserve une organisation rétinoptique. L'image est traitée dans le temps et l'espace, respectivement grâce à des cellules sensibles aux changements d'intensité lumineuse tandis que d'autres sont sensibles au contraste. Ensuite, sur le chemin entre la lamina et la médulla se trouve un premier chiasma optique au niveau duquel les fibres nerveuses décussent (croisement des fibres nerveuses). Au niveau de la médulla sont traités les mouvements locaux, à cet endroit R7 et R8 font synapse. La médulla conserve l'organisation rétinoptique de l'image. Enfin, entre la médulla et la lobula se situe le second chiasma optique. L'organisation rétinoptique est perdue dans ce troisième neuropile. La lobula sert à une intégration globale du flux optique (Hardie et Postma 2008; Varela 1970; Warrant 2019; Behnia et Desplan 2015; Quendolo 2016).

b. Neurophysiologie de l'olfaction

Après avoir décrit l'anatomie des organes de l'olfaction ainsi que les lieux de son intégration par le système nerveux central, ce paragraphe récapitule la physiologie de l'olfaction, depuis l'arrivée de la molécule au niveau de la sensille antennaire jusqu'à son traitement par le système nerveux central.

Les molécules olfactives arrivent au niveau des chémorécepteurs antennaires. Ces derniers se présentent sous forme de plaques poreuses permettant la pénétration des molécules à l'intérieur des micropores. Ces molécules sont par la suite captées par les récepteurs produits par les enzymes baignant dans la lymphe sensillaire. L'ensemble circule jusqu'à la surface

membranaire du neurone récepteur. Ce transport peut s'effectuer à l'aide de microtubules ou en se fixant à l'aide d'une protéine transporteur pour les conduire jusqu'au récepteur membranaire. La fixation au récepteur neuronal va stimuler ce dernier, et entraîner un influx. Ainsi le message chimique a été convertit en message nerveux électrique, qui va cheminer le long de l'axone neuronal jusqu'au corps cellulaire (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

Le récepteur est par la suite inactivé grâce à la fixation de la molécule olfactive à la pheromone binding protein (PBP) qui la présentera à une enzyme de dégradation appelée estérase sensillaire. La molécule olfactive peut soit être déplacée par la PBP et ainsi activer un autre récepteur membranaire adjacent, ou elle peut être dégradée par l'estérase sensillaire.

Ainsi, un premier neurone se situe en connexion avec la sensille olfactive. Ce dernier reçoit la transcription du message chimique en impulsion électrique. Ce message est conduit vers un glomérule situé dans le lobe antennaire. Comme décrit précédemment, le lobe antennaire est constitué de petites sous-unités anatomiques, sphériques, de 30 à 50 μm de diamètre appelées glomérules. Le lobe antennaire comprend approximativement autant de glomérules que de catégories de récepteurs membranaires sensibles à l'ensemble des odeurs perçues par les abeilles. Environ 6000 neurones guident l'information reçue auprès des sensilles jusqu'aux lobes antennaires composés de glomérules. Ces glomérules, unités globulaires, sont des carrefours permettant la connexion de ces neurones transportant l'information recueillie au niveau des sensilles avec des neurones de projection, au nombre de 800 environ. Ces neurones de projections ont pour mission d'assurer le relais vers les centres d'intégration supérieurs de l'information olfactive : les corps pédonculés. Au niveau des glomérules se trouvent également des neurones inhibiteurs locaux, formant un ensemble de près de 4000 neurones. Le neurotransmetteur principal de la voie olfactive au niveau de ces différents neurones est l'acétylcholine (Quendolo 2016; Lefèvre s. d.).

Au sein d'une même espèce, et donc chez l'abeille domestique *Apis mellifera*, chaque stimulus odorant engendre l'activation des mêmes sous-unités glomérulaires. Donc chez tous les individus de la même espèce, la place des différents glomérules au sein du lobe antennaire est immuable. Ainsi, il est possible de discerner un glomérule spécifique en fonction de sa localisation, de son activité spécifique, de ses caractéristiques morphologiques. Le système nerveux central en charge de l'olfaction est invariable et très organisé. Ainsi il est possible de réaliser une cartographie du lobe olfactif en prenant en compte l'activation de glomérules spécifiques suite à la présentation d'une odeur simple grâce à l'imagerie calcique présentée précédemment. La molécule odorante est caractérisée en fonction de la taille de sa chaîne

carbonée. Cette taille permet de déterminer le patron d'activation des glomérules. De plus, dans un mélange d'odeurs, l'abeille est capable de déterminer la molécule odorante principale, dominante du mélange, qui va ainsi activer un patron particulier. L'accumulation des schémas olfactifs se multiplie dans la mémoire olfactive de l'abeille et ainsi module sa formation dans le lobe antennaire.

Comme démontré par l'utilisation de l'imagerie calcique, l'activation de neurones engendre une modification d'entrée et de sortie du calcium au niveau des synapses neuronales. Or si on multiplie les sollicitations sur un schéma neuronal, le calcium est capable d'agir sur des phéromones régulant la transcription. Ainsi, ces stimulations en série en provoquant un phénomène de transcription pourraient déclencher la synthèse de nouvelles protéines spécifiques, bases de la mémoire à long terme. Des stimulations neuronales répétées entraînent une synthèse de protéines spécifiques porteuses de la mémoire à long terme.

c. Neurophysiologie du goût

Le goût peut être considéré, à tort, comme un sens peu développé car peu utile chez l'abeille. Cependant, son étude est encore incomplète et principalement limitée à la réaction au sucre. Les organes intervenant dans la perception du goût chez l'abeille sont multiples. Comme évoqué dans les paragraphes précédents, les antennes jouent un rôle important dans la fonction du goût, or elles sont complétées par l'action des sensilles situées sur les pièces buccales, dans la cavité buccale et celles situées sur les derniers segments de la première paire de pattes.

Deux types de sensilles sont spécialisées dans la gustation, les sensilles chaétiques à l'aspect de poils et les sensilles basiconiques en forme de crochet (Quendolo 2016; Sanchez et Gabriela 2011). Ces sensilles assez semblables à des petits poils, possèdent à leur apex un pore ou papille au travers duquel les molécules gustatives peuvent pénétrer. En moyenne trois à cinq neurones récepteurs gustatifs innervent chaque sensille, ces derniers baignent dans la lymphe sensillaire afin d'éviter toute perte hydrique. Environ 300 sensilles chaétiques sont situées sur les flagelles antennaires, ces sensilles se regroupent surtout au niveau du dernier segment du flagelle et sur la face ventrale car elle constitue la région de premier contact avec l'environnement. Il existe une exception à cette règle, en effet les sensilles situées sur les mandibules ne sont connectées qu'à un unique neurone, cependant leur rôle dans la gustation n'a pas été mis en évidence. Les neurones sensoriels partant des sensilles possèdent des récepteurs membranaires pouvant se lier à une molécule gustative spécifique en fonction de sa structure moléculaire. L'origine du récepteur membranaire est encore mal connue, il est supposé qu'il s'agirait d'une protéine G

couplée à une cascade intracellulaire. Les neurones sensitifs récepteurs transmettraient ensuite le message neuro-électrique à un neurone post-synaptique grâce à une synapse cholinergique. Dans la majeure partie des sensilles, on trouve une association de neurones récepteurs de la gustation avec un neurone mécanorécepteur, sensible au mouvement du poil. Ce récepteur apporterait des informations notamment sur la position mais aussi la densité de l'aliment (Sanchez et Gabriela 2011).

Les neurones récepteurs en provenance des organes sensoriels situés sur la tête vont arriver jusqu'au niveau du ganglion sous-œsophagien. En effet, comme expliqué plus haut ce dernier régule les neurones moteurs innervant les pièces buccales mais aussi reçoit les afférences des neurones gustatifs et mécano sensoriels. Plusieurs zones du ganglion sous-œsophagien sont sollicitées dans l'intégration de ces informations. Cependant aucune étude pour le moment n'a permis de décrypter l'organisation fonctionnelle du ganglion sous-œsophagien comme cela a été fait pour les lobes olfactifs (Sanchez et Gabriela 2011).

La plupart des études menées sur la gustation chez l'abeille portent sur la réponse à des solutions sucrées. Il a notamment été observé que pour une stimulation avec une solution de saccharose, la réponse de l'animal dépend de la dose présentée. De plus il est noté une grande variabilité au sein de la colonie pour une stimulation avec une même dose de saccharose, cette variabilité expliquerait la spécialisation des tâches entre différentes ouvrières (pourvoyeuses de nectar opposées aux pourvoyeuses d'eau ou de pollen en fonction de leur sensibilité propre aux sources sucrées). Cette variabilité serait apportée par la génétique : tout d'abord d'une colonie à l'autre avec des souches plus ou moins pourvoyeuses, mais aussi au sein d'une même colonie (diversité génétique permise chez l'ouvrière par la présence de plusieurs faux bourdons pour constituer la spermathèque de la reine). De plus, il n'y a pas de réponse pour les solutions trop diluées ou pour l'eau. Cette absence de réaction, ou de sensibilité s'explique aisément par le côté pratique : les abeilles transforment le nectar en miel afin de stocker cette source d'énergie sans qu'elle subisse d'altérations. Or cette transformation nécessite l'évaporation d'eau, or si la source de nectar ne contient pas assez de sucres, l'énergie dépensée pour la concentrer serait trop importante. Ainsi cette source n'est pas biologiquement intéressante, il n'est pas utile de la différencier de l'eau. Au contraire une solution trop concentrée a une viscosité augmentée. Or la loi de Poiseuille décrit l'écoulement d'un liquide visqueux dans un conduit cylindrique (en fonction de la taille du conduit, des pressions exercées aux extrémités...) et établit que le débit du liquide est inversement proportionnel à sa viscosité. Cette loi s'applique à l'aspiration de nectar par le proboscis, ainsi un nectar à la viscosité trop élevée aura un débit trop faible pour

être aspiré. Ainsi les abeilles sont surtout attirées par des fluides comprenant entre 40% et 70% de saccharose (Sanchez et Gabriela 2011; Quendolo 2016).

VUMmx1 : étude d'un neurone associé au goût impliqué dans le circuit de la récompense au sucre

Concernant le sens du goût, un neurone particulier a été très bien individualisé et analysé afin de comprendre sa fonction, il s'agit de VUMmx1 (ventral unpaired median neuron of the maxillary neuromere). Il s'agit d'un neurone qui permettrait l'association entre des odeurs perçues par l'abeille et une récompense sucrée. Ce type d'association sera l'objet du reste de ce travail. Le corps cellulaire de ce neurone se situe au niveau du ganglion sous-œsophagien en position médiane parmi un regroupement de cellules situées ventralement. Il émet des projections en direction des lobes antennaires, des cornes latérales, de la lèvre et de l'anneau basal des corps pédonculés. Or, toutes ces zones sont des endroits clés du traitement de l'information olfactive. De plus, VUMmx1 est activé par la présentation de saccharose au niveau des antennes et du proboscis. Ces deux faits ont conduit à l'hypothèse que ce nerf est l'intermédiaire du circuit de récompense lié au saccharose. C'est-à-dire que l'association d'une odeur à une récompense sucrée, composée de saccharose, aurait un support physique formé par des neurones. Ce support physique est appelé circuit de récompense. De plus, son excitation manuelle dans un protocole de conditionnement olfactif était suffisante pour agir comme récompense au saccharose. Cependant, sa stimulation n'entraîne pas l'extension du proboscis. Le circuit reliant VUMmx1 à un récepteur olfactif est pour le moment inconnu, une hypothèse voudrait que comme les deux peuvent potentiellement se projeter au niveau du ganglion sous-œsophagien, ils pourraient être connectés par une synapse directe ou indirecte (Sanchez et Gabriela 2011).

9) Les travaux de la colonie et la plasticité cérébrale

Une abeille ouvrière d'été vit environ quatre à cinq semaines. Au cours de sa vie, elle effectuera plusieurs tâches successives au sein de la colonie c'est-à-dire qu'elle assumera des rôles différents dans cette société très organisée. Le déroulement de ces obligations est schématiquement chronologique, c'est-à-dire qu'au début de sa vie l'abeille effectuera des travaux d'intérieur (se réalisant à l'intérieur de la ruche) passant tour à tour de nettoyeuse à nourricière, de bâtisseuse à domestique pour enfin finir gardienne puis faire une transition majeure vers les tâches extérieures de la ruche. Le passage progressif d'une tâche à l'autre est dépendant de l'âge de l'abeille, de la façon dont elle a été élevée mais aussi des exigences de la

colonie. Ainsi une ruche détruite verra ses besoins grandement modifiés et une butineuse pourrait repasser à la tâche de nourricière, ce qui perturberait le schéma chronologique classique. La division des tâches doit donc rester flexible et s'adapter étroitement à l'environnement. Les décisions de répartition des tâches ne sont pas décidées au niveau individuel. Par contacts antennaires et diffusion de phéromones, les abeilles d'une colonie peuvent communiquer sur les besoins, certaines abeilles plus sensibles ou plus adaptées peuvent donc changer d'activité pour une autre qui est dans un besoin d'ouvrières. C'est l'intelligence collective du superorganisme. Il en est de même pour la reproduction. Si la reine est la seule à pondre des œufs, les cellules accueillant les œufs sont fabriquées par les ouvrières qui orientent vers la ponte d'œufs de mâles ou plutôt d'ouvrières selon les besoins de l'essaim.

Les tâches d'intérieur consistent en des tâches simples d'entretien par exemple de nettoyage, de nourrissage, de construction, ou encore de garde de la reine. Elles ne mettent pas autant en jeu l'utilisation de la mémoire, l'orientation et l'intégration dans un environnement complexe comme les tâches d'extérieur. Ainsi, l'abeille s'adapte au cours de sa vie à de nombreuses tâches, elle subit en parallèle d'importantes modifications cérébrales : il s'agit de la plasticité cérébrale.

a. Les premières semaines de la vie d'ouvrière : tâches simples à l'intérieur de la colonie

A la sortie de sa cellule hexagonale, la jeune ouvrière est prête à œuvrer au bon fonctionnement de la ruche. La première tâche consiste au nettoyage des cellules afin que la reine puisse venir y pondre. Le nettoyage est une action collective car pour une unique cellule à nettoyer, différentes abeilles vont se succéder, et le nettoyage durera en moyenne 40 minutes. Le nettoyage comprend aussi le renforcement de certaines cellules affaiblies par l'utilisation répétée. Ainsi, les nettoyeuses sont capables de déplacer de la propolis pour renforcer des parois amincies.

Par la suite, des changements anatomiques se produisent. Vers l'âge de quatre jours, les glandes mandibulaires et hypopharyngiennes de la jeune abeille s'accroissent et deviennent pleinement fonctionnelles. Elles restent mûres jusqu'à environ quinze jours d'âge. De plus, les abeilles entre trois et quinze jours d'âge ont la capacité d'identifier les nouveaux nés grâce à des phéromones. Ainsi ces modifications les orientent vers l'activité de nourricières. Elles pratiquent l'operculation du couvain. Elles alimentent également les jeunes larves avec un mélange provenant à 15% des glandes hypopharyngiennes et à 65% des glandes mandibulaires

complété par du miel et du pollen (l'alimentation va différer en fonction du devenir de la larve : ouvrière ou reine).

Par la suite, l'abeille peut remplir le rôle d'accompagnatrice de la reine qu'elle nourrit, toilette, stimule pour la ponte et accompagne dans ses déplacements.

Après deux semaines d'âge, l'ouvrière peut devenir nettoyeuse de la ruche. Elle s'occupe alors de retirer les cadavres d'abeilles ou de larves. Dans le même temps, à la suite de la régression des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires, les glandes cirières situées sous l'abdomen se développent permettant à l'abeille de remplir la fonction de bâtisseuse. Cette dernière permet la construction des cellules hexagonales.

D'autres abeilles sont affectées à la réception et à la transformation du nectar. A l'entrée de la ruche, elles attendent les butineuses qui leur transmettent leur récolte. Ces abeilles sont chargées de la concentration du nectar pour le transformer en miel. Un autre groupe s'occupe du traitement du pollen, déposé à l'entrée des alvéoles par les butineuses spécialisées en pollen. Enfin d'autres abeilles gèrent la fonction de ventilation, réchauffement et séchage de la ruche.

La dernière étape avant les activités d'extérieur consiste au gardiennage de la ruche. Les gardiennes se disposent à l'entrée et bloquent toute intrusion d'abeilles provenant d'autres ruches, de guêpes ou fourmis. En cas d'intrusion, une phéromone est libérée recrutant les abeilles butineuses autour qui s'attaquent à l'individu indésirable.

Ainsi il a été observé que la succession d'activités à l'intérieur de la ruche est gouvernée par le développement de glandes adéquates. En outre, les signaux externes régulent également les missions précises des individus. Enfin, la sensibilité individuelle aux signaux environnementaux, propre à chaque abeille intervient dans la détermination du rôle qu'elles tiendront dans la société. Une abeille sensible à un paramètre environnemental, interviendra donc plus promptement que ses semblables moins sensibles à une variation de ce même paramètre. Ainsi, elle sera incitée fréquemment à répondre à ces modifications, progressivement elle s'entraînera donc sur ces activités et sera de plus en plus prompte à continuer cette activité plutôt que de développer de nouvelles capacités. L'entraînement a un impact sur les connexions neuronales, avec la création de nouvelles connexions synaptiques notamment dans les centres d'intégration supérieurs comme les corps pédonculés.

Il peut se produire des changements dans cet ordre défini selon les exigences de l'essaim ou suite à un accident environnemental. Ces revirements dans l'attribution des rôles sont gérés

par la communauté. Des indications sur le nombre d'ouvrières affectées à chaque fonction sont communiquées, mais également les missions sont triées par ordre de priorité à un moment donné. C'est donc la mise en jeu d'une intelligence collective.

Une classe a été peu décrite ci-dessus mais semble essentielle dans la régulation des rôles de la colonie. Il s'agit des ouvrières chargées du réchauffement du couvain. En effet, les activités des futures ouvrières ne sont pas uniquement déterminées chronologiquement par l'âge, elles dépendent également de la température à laquelle elles ont été élevées. Cette température finement régulée varie entre 33°C et 36°C. Elle détermine également la distinction entre les abeilles d'été et les abeilles d'hiver. Ainsi, les nymphes élevées à de basses températures auront préférentiellement des activités simples d'intérieur décrites ci-dessus. Alors que les nymphes élevées à des températures plus hautes seront destinées aux activités d'extérieur plus pénibles (Lacube et Sinier 2013).

b. Les travaux d'extérieur : tâches complexes avec une implication de la mémoire

Après trois semaines d'âge environ en conditions normales, les abeilles peuvent devenir des butineuses, cette tâche est pénible physiquement et complexe car elle nécessite l'intégration d'éléments de l'environnement, la mise en place de mémoire à court et long terme. Ce sont les butineuses qui établissent le lien entre l'environnement interne de la ruche, la colonie, avec le monde extérieur.

Les catégories de butineuses

Si on observe bien une colonie d'abeilles, on s'aperçoit qu'il existe en fait deux groupes différents de butineuses : les éclaireuses et les pourvoyeuses. Premièrement les éclaireuses, ce sont les ouvrières les plus expérimentées. Elles ont pour fonction d'explorer les environs de la ruche à la recherche de points d'approvisionnement en nectar, en eau et en pollen. Ce sont les données transmises par les éclaireuses qui permettent une optimisation du travail des pourvoyeuses qui peuvent donc se rendre directement aux sources de nourriture identifiées. De retour à la ruche, les éclaireuses communiquent les données de position au reste des butineuses par une danse en huit indiquant notamment la distance de la source ainsi que son positionnement par rapport au soleil. En cas de danger perçu au niveau du point d'approvisionnement de nourriture, par exemple par la présence de prédateurs, un signal « stop » sera donné par ces éclaireuses. Lors de l'essaimage, les éclaireuses sont chargées de trouver l'emplacement idéal pour la nouvelle ruche. Les autres butineuses, ou pourvoyeuses en ressources, s'orientent donc

à partir des informations des éclaireuses ce qui permet d'optimiser les temps et les efforts fournis pour l'approvisionnement de la colonie. En plus d'une différence de rôle au sein de la colonie, il existe des différences physiques entre éclaireuse et pourvoyeuse. Notamment au niveau cérébral, l'expression de gènes est différente, et ainsi les quantités de neuromédiateurs peuvent varier (catécholamine, glutamate, acide γ -aminobutyrique)(Abou-Shaara 2014).

Selon les exigences de la ruche à un moment donné, les pourvoyeuses constituent entre 40 et 90% des butineuses. On peut distinguer plusieurs catégories de pourvoyeuses selon leur spécialisation : les pourvoyeuses de nectar, les pourvoyeuses de pollen, les pourvoyeuses d'eau, les pourvoyeuses de propolis. La catégorisation est déterminée en partie par le génotype. Entre deux ruches on aura des souches génétiques à plus ou moins haut potentiel mais à l'intérieur d'une ruche il existe également plusieurs lignées (Page et Pankiw 2001; Hunt et al. 1995). Lors des vols de fécondation, la reine peut s'accoupler avec en moyenne 12 à 17 mâles haploïdes. Ainsi on aura autant de lignées dans un essaim que de mâles présents à l'accouplement. Les ouvrières d'une même lignée, issues d'un même faux bourdon, ont en moyenne 75% de leurs gènes en commun. Deux loci majeurs influencent le comportement de butinage. Ainsi le génotype exprimé dans une lignée influence le type de pourvoyeuses certaines abeilles étant plus adaptées par leur morphologie et leur sensibilité pour la récolte d'un type de ressource (Hunt et al. 1995). Comme vu précédemment, il existe des différences de sensibilité entre les individus, ce qui va fortement orienter la carrière de pourvoyeuse. Ainsi les abeilles ayant la plus grande sensibilité au saccharose s'orientent vers la collecte de nectar alors que les abeilles les moins sensibles s'orienteront plus vers la collecte d'eau, de propolis ou de pollen. Cette différence de sensibilité aux paramètres de l'environnement va provoquer une attirance vers certaines sources, ainsi les abeilles très sensibles au saccharose, en s'orientant fréquemment vers les sources riches en saccharose vont s'entraîner à cette détection et à la collecte de nectar. L'entraînement est également un facteur important déterminant le type de source de nourriture utilisé. Une abeille aura plus tendance à manipuler des sources qu'elle connaît, qu'elle sait déjà manipuler. Elles ont appris comment optimiser cette récolte (Abou-Shaara 2014).

Passage des tâches d'intérieur au butinage : modifications de l'activité cérébrale

A partir de trois semaines, l'abeille passe des activités d'intérieur aux activités extérieures de la ruche. Avant la transition, l'abeille est donc gardienne ou bien magasinière, à l'intérieur de la ruche, c'est-à-dire dans l'obscurité. Ainsi la vision est assez peu utilisée, l'endroit est clos donc la navigation ne revêt pas une très grande importance, l'abeille se déplace en marchant sur les cadres. Or, après la transition, elle doit être capable d'interpréter la

communication avec les éclaireuses par le biais de la danse, mais elle doit également voler sur des distances longues. La pourvoyeuse doit pouvoir maîtriser les capacités de localisation de la source, les yeux prennent une importance majeure dans le repérage des fleurs, la mémorisation de leur forme, de leur couleur. Elle apprend également à maîtriser certaines techniques pour collecter du nectar ou du pollen de façon optimisée. On voit donc que les changements à cette période sont majeurs. Ainsi il est facile d'imaginer que cette transition requiert des modifications importantes au niveau cérébral.

Le passage au stade d'ouvrière butineuse est déterminé par la présence d'une hormone, l'oléate d'éthyle. Elle est synthétisée dans le jabot et provient de la fermentation du nectar récolté. Ainsi l'oléate d'éthyle est transmis par trophallaxie lors de la livraison du nectar par les butineuses aux ouvrières chargées du stock de nectar. De plus, il peut diffuser par voie aérienne au reste de la colonie. Cette hormone, dont la quantité est proportionnelle au nombre de butineuses, inhibe le développement vers ce dernier stade. Ainsi, quand la population de butineuses diminue, la transition vers l'activité de butineuse est permise chez certains individus.

La transition au stade de butineuse s'accompagne d'un changement des circuits nerveux, l'abeille gagne en performance pour ses nouvelles tâches : les circuits neuronaux pour ces nouvelles tâches se modifient, raccourcissent permettant un traitement plus rapide de l'information. Au contraire, si la butineuse, pour les besoins de la colonie, redevient nourrice, son cerveau retrouve une activité normale de nourrice. Il s'agit de la plasticité cérébrale (Quendolo 2016).

Ces changements complexes sont encore des sujets de recherche, le processus de maturation serait déterminé par un ensemble de facteurs dont la part respective n'est pas entièrement élucidée comme l'environnement, la colonie et les niveaux d'hormone (Dalke 2002).

La jeune butineuse va voir sa quantité d'hormone juvénile augmentée. Il a également été observé un changement de régulation d'un gène de butinage (*Amfor*) ainsi que de gènes associés. Ainsi chez la butineuse, ce gène de butinage codant pour une protéine kinase est surexprimé. Par rapport aux nourrices, elle aura une concentration élevée en un neuromédiateur, l'octopamine, au niveau des lobes antennaires (Abou-Shaara 2014).

En plus des changements de régulation de gènes, des changements dans l'organisation du cerveau sont observés. En effet, il a été remarqué une augmentation de volume des corps pédonculés qui sont impliqués dans l'intégration d'informations multimodales, dans

l'apprentissage et la mémoire. Cette augmentation de volume aurait lieu dans les premières semaines après l'émergence de l'abeille et se poursuit pendant la période de butinage. Ce développement serait en partie indépendant de l'expérience personnelle de l'abeille. Ainsi ce serait un développement préprogrammé des corps pédonculés préparant la jeune butineuse à sa nouvelle fonction.

Cependant à ceci s'ajouterait une croissance et une ramification des neurones composant les corps pédonculés, dépendantes de l'expérience en tant que butineuse. Plus les abeilles vieillissent, plus elles sont expérimentées dans l'activité de butinage, et plus elles présentent un nombre important de dendrites au niveau du neuropile des corps pédonculés. Les neurones composant le neuropile des corps pédonculés, c'est-à-dire les cellules de Kenyon croissent, se ramifient, et augmentent en complexité. De plus, les calices, qui constituent l'entrée des informations sensorielles aux corps pédonculés croissent avec l'expérience sensorielle et de butinage. Les lobes antennaires, qui reçoivent les informations olfactives provenant des antennes possèdent également une croissance dépendante de l'activité de butinage. Ce développement est observé en particulier au niveau des glomérules. Cette croissance s'accompagne d'une amélioration des performances en apprentissage associatif ainsi qu'en conditionnement classique (Pavlovien) (Jones et al. 2013; Farris, Robinson, et Fahrbach 2001; Sigg, Thompson, et Mercer 1997).

L'activité de butinage

L'activité de butinage commence en conditions normales vers l'âge de trois semaines. Cependant comme expliqué précédemment, cet âge est amené à varier en fonction des impératifs de la colonie. Les butineuses sont chargées de l'approvisionnement de la ruche en ressources selon les besoins de cette dernière. Dans les parties précédentes, il a été observé l'existence de catégories de pourvoyeuses, adaptées à la récolte de certaines ressources. Les jeunes butineuses commencent d'abord par des vols d'orientation qui leur permettent de repérer les environs, de s'orienter. Pendant ces vols elles peuvent être accompagnées d'autres butineuses ou d'éclaireuses.

Tout au long d'une journée, les abeilles ne visitent généralement qu'un seul type de plante. Elles sont fidèles aux fleurs d'intérêt pour les ressources recherchées : ce processus s'appelle la constance florale. Après avoir appris la localisation d'une zone géographique intéressante en ressource, elles reviennent systématiquement au même endroit, sur les mêmes fleurs de la même espèce jusqu'à épuisement de la ressource. Le choix des fleurs ne se fait pas au hasard, puisque l'abeille au cours de ses différents voyages apprend rapidement les caractéristiques des fleurs

visitées ainsi que leur manipulation. Chaque récolte d'une charge complète demande en moyenne 30 à 60 minutes. Une charge moyenne pèse de 25 à 40 mg, stocké dans le jabot. Le jabot n'est jamais chargé à sa capacité maximale car on suppose qu'alors l'effort déployé pour ramener la charge serait trop important. Une fois qu'une fleur ne produit plus, l'abeille vérifie que la ressource est épuisée puis utilise la danse des éclaireuses pour retrouver une nouvelle source. Ces butineuses n'ont alors pas besoin de retourner à la ruche car elles sont capables d'établir une carte mentale des points d'intérêt. Ainsi elles se rendent à la nouvelle source sans avoir à repartir de la ruche comme point de départ (Clarac et Ternaux 2012). Afin d'optimiser leur récolte, les abeilles savent programmer leurs tournées de butinage et ainsi les mêmes sources seront butinées aux mêmes instants de la journée, coïncident avec la production maximale de nectar pour l'espèce florales donnée.

L'activité de butinage définit la longévité de l'abeille. Ainsi, les abeilles d'hiver qui connaissent une forte période d'inactivité peuvent vivre 12 mois contre 4 à 5 semaines chez les abeilles d'été qui butinent en continu. Sur une vie, une abeille parcourt au maximum 800 km, cette distance est constante d'une abeille à l'autre. Ainsi c'est la distance parcourue lors de ses vols par l'abeille qui détermine le terme de sa vie plutôt que son âge. Au cours du temps, les glandes mandibulaires et hypopharyngiennes régressent, les poils présents sur le corps s'amointrissent, se font plus rares. Les ailes, très sollicitées au cours du vol se fragilisent, elles ne se replient plus dans l'axe du thorax au repos, mais restent écartées. En parallèle de ces modifications liées à l'usure, certains mécanismes enzymatiques cessent leur activité. Ainsi, à force de voler, les ressources en glycogène accumulées dans les muscles permettant le vol s'épuisent et leur renouvellement est impossible. La butineuse meurt donc d'épuisement, principalement en dehors de la ruche lors de la recherche de nourriture (Quendolo 2016).

De nombreux facteurs influencent l'activité de butinage. Ces facteurs peuvent être internes à la colonie, par exemple la présence d'une reine et si cette dernière s'est accouplée ou non, ou environnementaux par exemple la disponibilité des ressources végétales (Abou-Shaara 2014).

Optimisation du butinage : mise en place de mémoire

Assurément le butinage est une activité qui consomme beaucoup d'énergie et est épuisante à l'échelle individuelle. Pour cette raison, cette activité est très optimisée afin de minimiser le coût au niveau de la colonie. L'apprentissage et les connaissances acquises lors du butinage permettent de minimiser le travail. Pour se faire, les abeilles apprennent à repérer les fleurs grâce à leur odeur, leur couleur, leur forme. Elles se guident également en détectant les marques

laissées par leurs congénères ainsi qu'en prenant en compte la danse effectuée dans la ruche par les éclaireuses.

Au cours d'un voyage, l'abeille ne visite souvent qu'une seule espèce de fleur qu'elle apprend à identifier et manier en vue d'extraire le nectar. Ainsi elles s'entraînent et apprennent la meilleure façon de prélever la ressource. Ces informations sur différentes espèces florales sont conservées en mémoire. En outre, les abeilles ayant hiverné sont capables de se souvenir de ces informations plusieurs mois après leur mémorisation. Effectivement environ 90% des butineuses sont capables d'associer une source de butinage intéressante avec une odeur émise après un unique contact. De même, 90% des butineuses sont capables d'associer une source de butinage d'intérêt avec son image colorée après quatre contacts consécutifs (Quendolo 2016).

La spécialisation des pourvoyeuses permet également d'augmenter l'efficacité de la récolte. L'emplacement des nectaires des différentes plantes sont apprises et plus facilement identifié pour les abeilles spécialisées dans la récolte de nectar. Des comportements adaptés sont aussi mis en place afin d'optimiser la récolte de ressource. Ainsi, certaines abeilles sont capables se servent des trous faits par les bourdons dans les fleurs afin d'atteindre les nectaires aisément.

De plus, les abeilles adaptent leurs tous leurs vols et déplacements entre chaque fleur. Ils ne sont pas aléatoires, chaque vol est réalisé pour être le plus profitable, à moindre coût énergétique.

Les butineuses sont capables d'associer un lieu de butinage spécifique avec une heure, un instant de la journée. En effet, les fleurs possèdent chacune un cycle propre selon lequel leur sécrétion de nectar au niveau de leurs nectaires va changer d'heure en heure. Ainsi, les abeilles peuvent planifier leurs vols de butinage en fonction des endroits et des heures du jour pour lesquelles les plantes ont la plus haute production de nectar. Cette méthode leur permet entre autres d'être les premières présentes sur une ressource afin d'en bénéficier au maximum.

Finalement, les butineuses choisissent les sources en fonction de leur qualité nutritive mais elles peuvent aussi éviter les sources identifiées comme toxiques. Si une abeille, ou la colonie, ressent des effets délétères après la consommation d'une ressource ou lors de sa prise en charge par la butineuse, leur mémoire de la plante butinée permet d'éviter de retourner à ce point de collecte. Elles vont également passer le message à leurs congénères une fois à la ruche. Cette capacité est limitée par la capacité de détection de certains toxiques, en effet, comme l'abeille n'est pas en capacité de ressentir les goûts amers certains toxiques ne sont pas perceptibles au moment de l'ingestion. De plus, ces nombreuses performances de détection et d'apprentissage

reposent sur un nombre très limité de neurones. Ainsi dans une partie précédente, il a été vu que le réflexe d'extension du proboscis à la détection d'une récompense alimentaire repose sur un unique neurone : VUMmx1. On peut expliquer la fragilité des abeilles à certains toxiques. Des fonctions vitales peuvent être bloquées par des inhibiteurs, impactant un petit nombre de neurones ils peuvent avoir de graves conséquences sur la survie de l'animal.

Les butineuses au cours de leur journée, généralement la nuit, connaissent également des phases de sommeil qui sont indispensables pour la mise en place de la mémoire et l'optimisation de leur activité. Pendant leur sommeil, les butineuses sont posées sur le cadre, stationnaires. Elles ont les antennes dirigées vers le sol. Ces phases d'immobilité totale alternent avec des phases de mobilité des antennes. Il a été observé qu'en cas de privation de sommeil, la capacité de mémoire est diminuée. De plus, la communication des éclaireuses par la danse est perturbée, elles commettent des fautes et ainsi elles induisent les autres butineuses en erreur sur les sites de butinage. Enfin, les ouvrières qui ont manqué de sommeil, ont plus de chances de se perdre car elles ont plus de difficultés à retrouver leur ruche (Quendolo 2016).

Le butinage est une activité tellement optimisée qu'il est devenu une référence en intelligence artificielle. Ainsi l'intelligence distribuée, aussi appelée intelligence en essaim est actuellement un objet de recherche actif en intelligence artificielle. Un exemple d'algorithme basé sur le butinage est appelé HBF pour Honey Bee Foraging. Ce dernier est utilisé comme outil d'optimisation des problèmes (Abou-Shaara 2014).

Un schéma d'organisation du butinage modèle de l'organisation de la mémoire ?

En définitive les abeilles mémorisent une espèce en fleur en lui associant une odeur, une couleur, une forme, une localisation, ainsi qu'une quantité de ressource disponible. On définit la notion de profitabilité d'une plante comme la quantité de ressource fournie par la plante relative aux efforts investis pour récolter cette ressource. Il semblerait que les abeilles se fient donc à la profitabilité d'une plante pour guider leur comportement de butinage.

Une sortie de butinage peut être décomposée dans le temps. Les fleurs d'une même espèce sont souvent regroupées géographiquement, proches les unes des autres, elles forment un groupe. Quand une abeille butine, à l'intérieur d'un groupe de fleurs les choix se suivent rapidement et l'abeille a de fortes chances d'atterrir sur des fleurs de la même espèce.

Ensuite l'abeille peut décider de changer de groupe de fleurs. Pour cela un temps plus long se sera écoulé car les groupes sont séparés dans l'espace. De plus, en changeant de groupe de fleurs, l'abeille a plus de chances d'être exposée à des fleurs d'espèces différentes. Ainsi entre

chaque groupe elle doit décider si elle reste au sein de la même espèce ou si elle change. Ces choix sont séparés d'un intervalle de temps supérieur aux changements effectués à l'intérieur d'un groupe.

Enfin l'intervalle entre deux sorties peut varier de quelques minutes, entre deux sorties dans la même journée à plusieurs mois pour les abeilles d'hiver qui hivernent dans la ruche.

Ainsi on définit un cadre temporel au cycle de butinage : des choix à courts intervalles sont effectués au sein d'un groupe de fleurs souvent de la même espèce. Des choix avec un intervalle de temps plus longs sont effectués au changement de groupe de fleur. Enfin sur le long terme, des choix peuvent être effectués entre chaque sortie. Grâce à ce cadre temporel on peut illustrer les phases de la mémoire.

Tout d'abord, la mémoire de travail, ou mémoire précoce à court terme (early short term memory ou eSTM) est une mémoire active sur de courtes périodes de temps. Elle est mise en jeu dans le butinage au sein d'un groupe de fleurs de la même espèce, au sein duquel la succession entre les fleurs est rapide. Ensuite, la mémoire tardive à court terme (late short term memory ou lSTM) se met en place lors du changement entre deux groupes de fleurs, lorsque l'abeille doit effectuer un choix entre deux espèces florales. La mémoire tardive à court terme est un processus de récupération, effectué sur le court terme, elle aide à prendre des décisions entre butiner sur une espèce similaire ou changer d'espèce.

Finalement la mémoire à long terme (long term memory ou LTM), se met en place sur une période plus longue. Elle est structurée et possède également différentes phases. Elle a un impact sur le comportement global de l'abeille puisqu'elle est active sur une longue période de temps allant de quelques heures à plusieurs mois. Entre autres, l'abeille peut se souvenir de caractéristiques d'une fleur, sa couleur, son odeur, et sa localisation sur plusieurs mois consécutifs ce qui permet d'expliquer la fidélité aux fleurs (Menzel 1999).

II) Mémoire et apprentissage, utilisation des abeilles en neurosciences comme modèles d'étude

Dans la partie précédente, la morphologie, l'anatomie et la physiologie des sens de l'abeille ont été présentées. Cette étude s'est rapprochée au fur et à mesure du sujet de la mémoire et de l'apprentissage au sein de la colonie. Ainsi, toutes ces connaissances montrent que l'abeille est un sujet d'étude passionnant, encore beaucoup utilisé notamment en neurosciences. Dans cette partie, il sera question tout d'abord de l'histoire de l'étude des abeilles. Ensuite nous verrons comment ont été définis la mémoire et l'apprentissage dans le temps chez l'homme puis étudiés chez l'abeille. Enfin, le sujet du Behavioral tagging sera abordé, en donnant sa définition, et son moyen d'étude chez le rat, la souris mais aussi chez l'homme.

1) Histoire de l'étude des abeilles en sciences

De nos jours, les abeilles sont considérées comme modèle de choix pour l'étude du fonctionnement de l'apprentissage et de la mémoire. Mais elles sont plus largement étudiées de façon rigoureuse et scientifique pour leur comportement, les produits de la ruche (miel, cire, propolis), les maladies les concernant et bien sûr pour comprendre et endiguer le phénomène de déclin des colonies. En médecine, la science s'intéresse de nouveau aux propriétés des produits de la ruche avec la pratique de l'apithérapie. Si l'utilisation de miel devient une pratique courante et reconnue notamment dans le traitement des plaies, on s'intéresse désormais à l'air de la ruche ou au venin. L'étude scientifique des abeilles (*Apis mellifera*) se nomme l'apidologie, aujourd'hui répandue, ce ne fut pas toujours le cas, surtout en France.

Le début de l'étude des abeilles se situe entre le XVII^{ème} siècle et le XVIII^{ème} siècle. Des naturalistes tels que René-Antoine Ferchault de Réaumur et François Hubert publient des ouvrages (respectivement Les mémoires pour servir à l'histoire naturelle des insectes et Les nouvelles observations) traitant de sujets divers mais notamment de la biologie des abeilles. Ces connaissances permettent à l'apiculture du XIX^{ème} siècle de se développer de façon importante. Dans la préface de son livre, Réaumur exprime son admiration pour le comportement des abeilles et leur constitution en société. L'apologie des abeilles et plus généralement des insectes était quelque chose d'assez répandu au temps de Réaumur (Spectacle de la Nature par Pluche (1732) ou encore La théologie des insectes ou démonstration des perfections de Dieu dans tout ce qui concerne les insectes par Lesser et Lyonnet (1742)). Ces écrits n'avaient pas de fondement scientifique contrairement aux écrits de Réaumur et eurent

un détracteur : Georges-Louis Leclerc de Buffon. Ce naturaliste écrit L'histoire naturelle générale et particulière en 1753 dans laquelle il essaie de comparer la société humaine aux sociétés observées dans le monde animal. Dans le début du tome 4, Buffon tente de démontrer que la société des abeilles, et les sociétés observées en général chez les insectes n'en sont pas. Ainsi l'intelligence des abeilles ne serait qu'une apparence donnée à cause du grand nombre d'individus que compte une colonie. Ainsi les abeilles ne seraient pas douées d'intelligence mais d'un instinct mécanique (Perru 2007).

Dans l'Europe entière, des sociétés ainsi que des écoles d'apiculture se créent, l'Université s'intéresse aux abeilles. La France ne suit pas complètement le mouvement de ces innovations et prend du retard (Louveaux 1996).

En revanche, les pays de langue Allemande investissent dans le milieu de l'apiculture. Les Universités mènent de nombreuses recherches sur les abeilles, leur biologie (physiologie, pathologie, produits de la ruche) est étudiée ainsi que leur comportement. Des stations de recherche se développent. Les souverains soutiennent ces recherches en apportant les fonds nécessaires. Ainsi on peut citer le chimiste suisse Adolf von Planta qui fit les premières analyses détaillées concernant la composition du miel et de la gelée royale. Cette activité scientifique prolifique et favorisée des apidologues germaniques donne naissance à une nouvelle génération de scientifiques, notamment à Karl von Frisch qui va mener de nouvelles recherches, plus approfondies et apporter des découvertes majeures. A la veille de la seconde guerre mondiale, l'Europe centrale a pris de l'avance dans la connaissance des abeilles. En Grande-Bretagne, bien que les conditions soient différentes, notamment avec un climat moins favorable à l'apiculture, un intérêt très vif est porté aux abeilles. L'université s'intéresse grandement à ce sujet mais ce sont surtout les initiatives privées qui ont permis de fonder les sociétés consacrées à la recherche sur les abeilles. Aux Etats-Unis, la production de miel est très bonne grâce aux conditions climatiques favorables. Dès 1885, le ministère de l'agriculture nomme un agent de la division d'entomologie spécialisé en apiculture. La recherche dans ce pays reste très pratique et proche des considérations des apiculteurs sur le terrain. Cependant en France, la population ne possède pas d'affection particulière envers ses abeilles. Au contraire, elles sont considérées comme des nuisibles, des éléments indésirables pour les cultures. Les apiculteurs s'organisent en sociétés, ainsi en 1856 se forme la société centrale d'apiculture à Paris, cependant comme la société savante ne dispose pas de périodique adapté, cette société savante restera à un niveau amateur. Les considérations scientifiques restent très limitées tout au long du XIX^{ème} siècle, les considérations sont surtout techniques avec la volonté d'augmenter la productivité en miel et

en cire des ruches. En 1901, Maurice Maeterlinck publie La vie des abeilles qui sur le plan scientifique apporte peu d'informations pertinentes, cependant il permet d'amorcer un tournant dans les mentalités sur les abeilles, et d'attirer l'attention sur ces dernières. A partir de la première guerre mondiale, sous l'influence des pays voisins ainsi que du livre de Maeterlinck, se forme un mouvement favorable à l'apiculture. Ce mouvement se matérialise par la création d'une station d'apiculture en 1915 qui vise à étudier les maladies des abeilles. Entre 1920 et 1940, il est observé un repli scientifique de la France, les publications en physique diminuent, les chercheurs se méfient des idées étrangères. En 1930, les idées de Karl von Frisch commencent à être connues mais sont méprisées, notamment par François Picard, professeur à la Sorbonne, dans l'avant-propos de son livre Les phénomènes sociaux chez les animaux. Il considère ses idées sur la danse des abeilles, comme mode de communication, comme une merveille, destinée aux « amateurs de fantastique » et de rêveries.

Pendant la seconde guerre mondiale, la France occupée s'intéresse enfin vraiment à l'apiculture. La cire devient une denrée rare recherchée tandis que le miel n'est pas soumis au rationnement, on cherche donc les moyens d'en produire plus. De nombreux amateurs s'engagent dans l'apiculture, des livres sont publiés à la hâte, les techniciens apicoles sont recherchés pour apporter une formation. Les universités et naturalistes s'intéressent enfin au sujet des abeilles. Les ruches s'installent à de nombreux endroits avec un espoir d'assurer un ravitaillement constant ainsi que de faire des bénéfices.

Dès 1940, Bernard Trouvelot qui était alors directeur de la station centrale de zoologie agricole, essaie d'établir des contacts avec le milieu apicole. Il profite de la guerre et de l'intérêt nouveau porté aux abeilles pour établir un réseau et programmer une organisation apicole dès la sortie de la guerre. Il veut impliquer notamment une division de zoologie agricole qui s'occuperait de recherche appliquée c'est-à-dire la recherche concernant l'élevage des abeilles mais aussi la valorisation des produits de la ruche. Il prend également contact avec le corps des vétérinaires afin de les charger des recherches sur les maladies des abeilles, leur moyen de lutte et la mise en place de réglementation favorisant la lutte contre les épizooties. Enfin toutes ces recherches nécessiteront une revue apicole adaptée permettant la diffusion des résultats et permettre un enseignement apicole de bon niveau.

En 1942, les idées de von Frisch sont enfin reconnues, et réhabilitées par Maurice Caullery, zoologiste français dans son livre Biologie des abeilles. Ce dernier est soutenu par Bernard Trouvelot qui considère que le comportement des abeilles est un thème de recherche à part entière. A cette époque, pour avoir une idée des connaissances en apidologie, il faut passer par

la lecture de travaux étrangers (allemands, américains, anglais, russes) qui ne sont pas traduits. Quelques revues scientifiques résument l'avancée des connaissances sur la biologie de l'abeille. Le domaine de prédilection des chercheurs concerne la physiologie sensorielle ainsi que le comportement. L'école fondée par Karl von Frisch à Munich ne cesse de se développer. De 1934 à 1942, von Frisch étudiera le sujet de la danse mais aussi de la vision, du goût, de l'odorat. Cependant, vers la fin de son œuvre, la fascination de von Frisch pour les abeilles semble se tarir et il arrive à une conclusion similaire à celle de Buffon, émise plusieurs siècles auparavant, selon laquelle le cerveau des abeilles, minuscule, n'est pas fait pour penser.

Tout ce travail et cet intérêt portent leurs fruits puisque le 15 juillet 1943 est publié un arrêté du ministre de l'agriculture organisant la lutte contre les maladies des abeilles.

Ainsi à la sortie de la seconde guerre mondiale et de l'occupation allemande, l'apiculture française a profondément changé. Il faut définir un statut pour cette nouvelle branche de l'agriculture, s'organiser afin de trouver des représentants. De plus, l'agriculture va elle aussi connaître des bouleversements avec l'arrivée de la culture du colza et l'utilisation de produits phytosanitaires révélant la fragilité de l'apiculture.

En 1948, Rémy Chauvin, naturaliste entomologiste membre du CNRS, ayant publié des traités sur la biologie et la physiologie de l'insecte abordant les recherches modernes menées notamment à l'école de Munich, présente un programme en vue d'un concours de recherche à l'INRA. Ce programme expose les problèmes actuels en apiculture, ainsi que l'orientation à donner aux recherches face à ces problèmes. Ce programme fut d'une très grande importance car il déterminera les thèmes de recherche fondamentale mais aussi appliquée. On s'intéresse à la physiologie, au comportement, il faut mettre en place des protocoles permettant l'observation sans perturber les comportements biologiques. Les équipements mis en jeu sont de plus en plus performants, on peut aborder des thèmes nouveaux ou reprendre pour consolider des thèmes de recherches plus anciens. Cependant un évènement important est la diffusion de la recherche apicole au monde entier. Ainsi, l'Asie avec la Chine et le Japon installent des ruchers ainsi que des laboratoires de recherche.

En 1966 est édité le Bee research directory qui permet de recenser les services de recherche travaillant sur les abeilles ainsi que l'apiculture. On y retrouve des équipes dont la formation est ancienne en Allemagne, en Angleterre, en Amérique du Nord mais aussi des équipes en formation dans des pays en développement. A ce moment, l'index des chercheurs comprend environ 1000 noms. Depuis, la recherche en apidologie ne fait que croître, le congrès

Apimondia qui se tient tous les deux ans en est un bon indicateur. En 1975, 55 pays y étaient représentés avec un total de 173 communications et 247 noms de chercheurs cités pour 1200 participants. En 1987 à Varsovie, 66 pays étaient représentés au congrès avec un total de 5500 participants (Louveau 1996). Enfin en septembre 2019 a eu lieu le 46^{ème} congrès Apimondia à Montréal. Ce dernier a compté un total de 5500 participants venant de 134 pays différents assistant à plus de 320 conférences (Ratia s. d.). En somme, on peut considérer que les abeilles profitent d'un double statut. D'une part, elles sont des animaux domestiqués par l'homme dans le but de produire du miel, de la cire. D'autre part, elles sont un bon modèle pour un grand nombre d'études. Malgré le scepticisme de Buffon puis de Von Frisch concernant l'intelligence des abeilles, ces dernières sont étudiées depuis plusieurs décennies pour leurs capacités de mémorisation et d'apprentissage. De plus, on leur attribue maintenant des capacités cognitives de haut niveau jusqu'alors réservées à certains vertébrés (Giurfa 2007).

2) Mémoire et apprentissage : définitions, études, fonctionnement

a. Etude de la mémoire et de l'apprentissage chez l'homme : un domaine à la croisée de la physiologie, la psychologie et des neurosciences

L'apprentissage correspond à l'acquisition de nouvelles informations mais aussi à la modification du comportement, comme résultat de l'expérience acquise de l'environnement naturel, ainsi que des interactions sociales.

La mémoire quant à elle correspond au stockage mais aussi à la capacité d'extraction ou récupération de cette information acquise par le moyen du souvenir. Elle correspond alors au « lieu » où est gardé l'information. Plusieurs modèles de mémoire ont été développés au cours du temps, quelques-uns seront évoqués dans cette partie.

Ces capacités d'apprentissage et de mémoire sont indispensables à l'adaptation à l'environnement extérieur. Elles sont essentielles notamment pour le comportement, la cognition, pour les réactions émotionnelles, et plus généralement dans toutes les interactions de l'homme avec son environnement. Cette importance chez l'homme explique que l'apprentissage et la mémorisation sont des sujets de recherche depuis plusieurs siècles. Lors de ces recherches, de nombreuses théories ont été évoquées, de nombreux termes sont apparus ainsi que de nombreux processus nerveux neuronaux ont été découverts. Certains seront

développés ici afin de comprendre la suite de l'exposé (« History in the Study of Learning and Memory » 2019).

Mais tout d'abord il sera retracé l'histoire de la recherche sur l'apprentissage et la mémoire afin de replacer les différentes définitions utiles.

Dès l'Égypte antique, la mémoire et l'apprentissage ont été reconnus comme fondamentales et étaient donc incarnées par une divinité : Thot. Thot, représenté comme un homme à tête d'ibis blanc et noir ou de singe est dans la mythologie égyptienne le dieu du savoir infini. Ainsi, par extension, il est chargé de le transmettre. En conséquence, il serait à l'origine des hiéroglyphes.

Dans la Grèce antique, Mnémosyne était une titanide, fille d'Ouranos et de Gaïa, elle est la déesse de la mémoire. Elle serait mère des muses, qui littéralement signifient « celles qui se souviennent », ainsi elles ont chacune une science ou un art sous leur protection. Son nom est la racine des mots tels que « mémoire », « mnémonique » et « mnémoniste ». Mnémosyne était une déesse considérée comme très puissante, ce qui tient du fait que pour les Grecs la mémoire est ce qui distingue l'homme des animaux. En effet, la mémoire est la base permettant le raisonnement, mais aussi l'anticipation et l'adaptation, c'est donc ce qui permet la civilisation. De plus, la métaphore tirée de la parenté de Mnémosyne avec les Muses suggère que les sciences et les arts sont issus de la mémoire. (Surprenant et al. 2007)

Le premier philosophe important dans le domaine de la mémoire fut Aristote (384-322 av. J.-C.). Philosophe grec, il s'intéressa à de nombreux sujets. Il écrivit un livre De memoria et reminiscentia pour traiter du sujet de la mémoire et de la capacité de réminiscence (Aristote 384 av. J.-C.). Dans cet ouvrage, il oppose la capacité de mémoire, faculté de se souvenir de choses possibles pour l'homme et les animaux du moment que le temps est perçu, et réminiscence, qui est l'acte de se souvenir et fait donc intervenir la volonté privilège de l'homme. La mémoire, dépendante de la perception du temps et de l'imagination, se composerait d'un ensemble de stimuli et d'expériences variées qui s'impriment dans la mémoire, comparable à l'utilisation d'un sceau dans la cire. Ainsi Aristote aurait eu les premières théories sur la mémoire associative, c'est-à-dire qu'au cours des expériences rencontrées, les informations s'organisent entre elles, les sensations, les expériences s'associent et forment les souvenirs. Cette idée fut ensuite très développée par des philosophes comme John Locke et David Hume. Cette idée de mémoire associative est le fondement d'expériences de comportement permettant l'évaluation de la mémoire et de l'apprentissage qui seront développés par la suite.

Toujours durant l'antiquité, Cicéron, fait l'éloge de la mémoire. Cette capacité serait naturelle mais pourrait se cultiver. Il fait de la mémoire, un art, fondamental pour l'éloquence et donc à la qualité d'un orateur. Il développe le principe de mnémotechnie, ainsi la mémoire pourrait être facilitée par des aides notamment visuelles. Durant cette période l'art de la mémoire paraît donc essentiel car dans la société romaine le verbe fait autorité et permet l'insertion dans la vie politique.

Entre 397 et 401 ap. J.-C. Saint Augustin, un philosophe et théologien chrétien romain publie ses Confessions. Considérées comme la première autobiographie, ce livre donne une importance nouvelle à la mémoire. Dans le livre X, Saint Augustin décrit les mécanismes de fixation, de conservation et de remémoration. La mémoire y est abordée d'une façon moderne, familière aux théories développées bien plus tard.

Par la suite, Charles Darwin dans sa théorie de l'évolution apportera une nouvelle facette de la notion de mémoire. En effet, elle se serait développée par le biais de l'évolution afin d'assimiler les caractéristiques de l'environnement ainsi que pour la réalisation de tâches spécifiques. Cette théorie évolutionniste a permis d'envisager de nouveaux facteurs influençant la mémoire entre autres le comportement et la génétique.

La psychologie naît dans la deuxième moitié du XIX^{ème} siècle. De nombreux travaux sont alors effectués sur la mémoire. Hermann Ebbinghaus, philosophe allemand, est considéré comme le père de la psychologie expérimentale de la mémoire et de l'apprentissage. Son ouvrage le plus connu est Über das Gedächtnis : Untersuchungen zur experimentellen Psychologie, publié en 1885 il contient des expériences détaillées mettant en jeu la mémoire. Dans ces expériences, Ebbinghaus tient à la fois le rôle de l'expérimentateur et du sujet de test. Ces tests permirent une avancée dans le domaine de la mémoire avec la création de concept de courbe d'apprentissage selon laquelle une certaine période de temps est nécessaire afin que les informations soient mémorisées. La durée de cette période peut être influencée par différents facteurs comme par exemple la longueur de l'information à mémoriser. A l'opposé de cette courbe d'apprentissage se trouve une courbe d'oubli. Enfin la notion de surapprentissage selon laquelle une chose apprise puis oubliée sera par la suite plus facile à réapprendre. (Surprenant et al. 2007; Radvansky 2011)

En conséquence de ces recherches menées au cours des siècles, des modèles de mémoire et apprentissage furent créés.

Comme vu précédemment, la mémoire correspond au stockage de l'information collectée par le biais d'expériences variées. Cette mémoire est composée d'une trace mnésique, matérialisation des souvenirs. En effet, l'acquisition de nouvelles informations entraînerait des changements biochimiques et biophysiques, fonctionnels au niveau du système nerveux. Ces altérations, aussi appelées engrammes seraient la matérialisation physique de la mémoire. De nombreux facteurs déterminent la persistance d'engrammes dans le temps. L'activation répétée de certains circuits neuronaux induirait une augmentation prolongée de la puissance de transmission du signal au niveau des synapses. Cette théorie s'appelle la potentialisation à long terme. Au vu des similitudes de ce modèle cellulaire avec celui de la mémoire, qui se décompose en plusieurs phases temporelles une précoce et une tardive dépendant de la synthèse protéique, de nombreuses études ont essayé de corréler potentialisation à long terme et mémoire à long terme. Ce modèle s'appelle modèle de plasticité synaptique et mémoire. Ainsi, chaque souvenir correspondrait à une carte mentale différente, impliquant des circuits neuronaux présentant des modifications d'activité synaptique au fil d'apprentissages. L'ensemble des engrammes présents dans le système nerveux correspond à des groupes de cellules, neurones, interconnectés. Lors de stimulations, les neurones interconnectés s'activent, et l'activité au sein du circuit est maintenue brièvement, ce qui correspondrait à une mémoire de travail, à court terme. Cependant, l'activation récurrente d'un circuit neuronal durant un laps de temps défini va entraîner un changement métabolique, renforçant les connections entre les cellules, facilitant la transmission de messages (théorie de la potentialisation à long terme). Ces changements métaboliques facilitant l'activation et la transmission d'informations permet la conversion de la mémoire à court terme vers la mémoire à long terme. Ces définitions permettent de présenter le modèle modal de la mémoire, qui est le modèle structural standard définissant l'organisation de la mémoire. Ce modèle se décompose en quatre étapes structurales. Tout d'abord, se trouvent les registres sensoriels, multiples, chaque registre correspond à une modalité sensorielle spécifique. Il existe le registre visuel, auditif, du toucher, de l'olfaction. Chaque registre spécifique retient l'information pour une période de temps très courte permettant de déterminer si l'information doit être analysée ou non. Ensuite la mémoire à court terme, aussi appelée mémoire de travail : si l'information est digne d'attention, elle est intégrée dans le flot de la pensée, et gardée disponible sur une durée limitée. Si l'information stockée dans la mémoire à court terme n'est pas traitée, celle-ci sera oubliée. En effet, la capacité de stockage de la mémoire à court terme est limitée. Les procédés de contrôle permettent de traiter l'information de la mémoire à court terme. Si l'information est répétée un certain nombre de fois dans un intervalle de temps donné, l'information est activement transformée pour être stockée dans la

mémoire à long terme. Enfin le dernier composant de ce modèle est la mémoire à long terme. Elle regroupe une grande variété d'informations, utilisées de différentes manières. Ce modèle modal de la mémoire représente cependant uniquement un modèle et n'est pas à considérer comme théorie exacte de fonctionnement de la mémoire. En effet, on sait qu'une information n'a pas forcément à transiter par la mémoire à court terme pour être enregistrée dans la mémoire à long terme (« History in the Study of Learning and Memory » 2019; Radvansky 2011).

Au travers des différentes définitions, il est clair que l'apprentissage et la mémoire sont très liés. En effet, la mémoire est indispensable au stockage des informations acquises par le biais de l'apprentissage. Cependant, ces deux notions se sont trouvées déconnectées dans le langage de la psychologie. En outre, la psychologie considère l'apprentissage comme l'acquisition d'associations, dans le cadre d'un conditionnement dans des études souvent réalisées sur les animaux. Cette notion se retrouve dans le courant du Béhaviorisme ou comportementalisme, qui propose d'observer le comportement comme reflet du travail de l'esprit, qui n'est pas observable directement. Ce mouvement cherchait à apporter une crédibilité scientifique à la psychologie car il est basé sur une observation qui se veut objective. Développé surtout dans la première moitié du XX^{ème} siècle, il s'oppose au mentalisme, qui propose une approche de l'esprit humain passant par l'introspection et donc la subjectivité du sujet.

Ainsi, le comportementalisme ne s'intéressait pas directement aux problèmes de la mémoire, cependant il est à l'origine de découvertes majeures et de principes toujours utilisés actuellement en recherche. Le conditionnement est un domaine du béhaviorisme qui fait partie de ces concepts toujours actuels. Il s'agit d'un aspect de la mémoire, basique, qui permet le stockage d'associations simples dans le domaine de l'inconscient. Les formes les plus classiques de conditionnement sont le conditionnement classique et le conditionnement opérant. Ils utilisent chacun à la base un modèle animal. Le conditionnement classique fut décrit pour la première fois dans les années 1890 par Ivan Pavlov. Réalisant un travail sur la fonction gastrique chez le chien, il remarqua que les sujets commençaient à saliver avant la présentation des aliments servant à l'étude. Ainsi l'association d'un stimulus conditionnant et d'un stimulus non conditionné (la distribution d'aliment) sont associés chez ces chiens. Lors de la stimulation par l'élément conditionnant, il est possible d'induire une réponse non conditionnée grâce à l'association. Cette forme de conditionnement permet une adaptation aux conditions de l'environnement alors que le conditionnement opérant permet aux individus de se rappeler des issues (positives ou négatives) de leurs actions. Edward Thorndike introduisit ce deuxième paradigme. Dans son modèle de conditionnement opérant, des chats doivent solutionner des

puzzles par des actions diverses comme tirer une corde ou alors pousser un bouton. Il remarque alors qu'après plusieurs essais fructueux, les chats sont capables de résoudre les problèmes auxquels ils sont confrontés de façon plus rapide. Ainsi, les comportements qui amènent une issue favorable sont renforcés, ils ont tendance à être répétés par opposition aux comportements dont les issues sont négatives ou désagréable et donc ne sont pas répétés. D'autres modèles d'apprentissage associatif simple ont été développés au cours du temps, comme le conditionnement de peur. De plus, des modèles plus complexes ont vu le jour impliquant par exemple des labyrinthes et donc faisant appel à la mémoire spatiale chez le rat ou la souris comme dans le labyrinthe à eau de Richard Morris.

La découverte de ces conditionnements simples fut fondamentale puisque pendant plusieurs décennies ils ont été utilisés comme cadre de recherche sur l'apprentissage et la mémoire. On voulait alors découvrir quels principes guidaient ces formes d'apprentissages, quels mécanismes et quelle était leur implication dans le comportement. Ainsi, bien que l'idée originelle du comportementalisme fût l'étude des processus mentaux par le biais du comportement uniquement, des chercheurs ont utilisé des conditionnements pour étudier l'activité mentale en elle-même. Ce retour au sujet de la mémoire comme sujet légitime s'appelle la révolution cognitive. (Radvansky 2011)

b. Etude de la mémoire chez l'abeille

Ainsi, au cours des siècles le modèle animal s'est imposé en recherche sur l'apprentissage et la mémoire pour compléter les données collectées chez l'homme. Ce qu'il était impossible de réaliser chez l'homme était donc étudié chez l'animal. Le choix des modèles a évolué en fonction des besoins, des connaissances déjà établies mais aussi des facilités de manipulation. Aujourd'hui une nouvelle dimension s'est ajoutée à ces critères de choix d'un modèle : l'éthique. Il faut réduire l'utilisation de modèles animaux, les remplacer lorsque c'est possible et les manipulations doivent respecter le bien-être animal. En prenant en compte ces éléments, l'abeille s'est imposée comme modèle dans la recherche, notamment en neurosciences et dans le domaine de l'apprentissage et de la mémoire. En effet, au cours des siècles le comportement des abeilles fut un thème de recherche très abordé, de nombreux protocoles d'étude de comportement furent établis. Petits animaux, leur manipulation requiert certes des personnes entraînées mais une ruche présente l'avantage de contenir de nombreux sujets, de petite taille que l'on peut étudier seuls ou en groupe, libres ou en captivité. Avec un cerveau contenant seulement 960 000 neurones et des neuropiles identifiables pour leur fonction, la recherche sur

les mécanismes de certains phénomènes paraît simplifiée car le cadre de recherche est limité. Enfin, les abeilles ne rentrent pas dans le cadre de la réglementation nationale et européenne sur la recherche animale car cette dernière ne concerne que les animaux vertébrés ainsi que leurs formes larvaires ou embryonnaires et les céphalopodes. En conséquence, la recherche sur les abeilles ne nécessite pas d'approbation par un comité d'éthique. Dans cette partie seront abordées les définitions et connaissances concernant l'apprentissage et la mémoire chez les abeilles, ensuite nous verrons les protocoles standards utilisés pour les étudier.

Définitions

Malgré un nombre limité de neurones et une architecture cérébrale qui paraît simplifiée quand elle est comparée à celle des vertébrés, l'abeille présente un répertoire comportemental riche et développé, permettant l'étude de processus mentaux plus ou moins complexes, dont certains étaient attribués par le passé uniquement à l'homme. Or les modèles animaux se sont imposés au fil des recherches avec des protocoles divers. Précédemment ont été abordés le conditionnement classique (Pavlov 1927) et le conditionnement opérant (Thorndike 1898). Le conditionnement classique associe un stimulus neutre (ou stimulus conditionné, CS) à un stimulus biologiquement significatif (ou stimulus non conditionné, US), comme par exemple une récompense, entraînant par la suite une réponse au stimulus neutre. Lors d'un conditionnement opérant, les animaux apprennent à associer une action, un comportement à un résultat (favorable ou défavorable). Ces deux types de conditionnement sont les parfaits exemples d'apprentissage associatif. C'est-à-dire qu'ils permettent la liaison entre deux éléments proches d'un milieu, et modifient ainsi le comportement de l'animal. Comme le sujet associe deux éléments car ils sont apparus de façon simultanée dans son environnement, il en tire une logique du monde qui l'entoure et peut donc mettre en place un comportement adapté à son biotope. Ces deux formes de conditionnement représentent la forme la plus simple d'apprentissage associatif car les éléments reliés sont simples, sans ambiguïté. Cette simplicité est très intéressante dans l'étude des mécanismes de fonctionnement car elle permet de faciliter l'identification des circuits nerveux mis en jeu lors d'une stimulation ainsi que l'interaction entre les circuits permettant l'association de stimuli. Ces formes simples d'apprentissage associatif sont aussi appelées apprentissage élémentaire car elles sont caractérisées par des liens spécifiques entre des éléments identifiables, uniques. Il existe aussi des formes d'apprentissage non élémentaires, les éléments sont dans ce cas ambigus. Par exemple, deux stimuli simples (appelés A et B) ont été renforcés, cependant l'animal doit être capable de les discriminer d'un troisième stimulus, somme de ces deux stimuli (AB). Cette somme n'a pas été renforcée. Ainsi

l'animal doit être en mesure de différencier A présenté seul ou présenté en tant que AB. Ce qui est complexe car A seul a été renforcé, l'animal a été récompensé pour le reconnaître, mais présenté en AB il n'est pas renforcé. Ainsi A apparaît à la fois comme renforcé et non renforcé. Donc s'appuyer sur le lien établi entre A et une récompense, un renforcement, ne permet pas à l'animal de résoudre le problème. Il en est de même pour B (Giurfa 2007; Giurfa et Sandoz 2012).

Pour en revenir à une épreuve d'apprentissage associatif élémentaire, chez l'abeille, une unique association entre le stimulus conditionné (CS) et le stimulus biologiquement significatif (US) entraîne une courbe de mémorisation biphasique. Tout d'abord, le niveau de réponse à un stimulus est très haut, il s'agit de potentialisation, processus d'apprentissage non associatif provoqué par la simple stimulation répétée. En effet, si on présente uniquement le stimulus US seul, les réponses sont également transitoirement augmentées pour de nombreux stimuli y compris le CS. Ensuite se produit une phase de consolidation nécessaire pour l'apprentissage associatif qui demande quelques minutes afin de se mettre en place, par ce processus la mémoire gagne en spécificité. La consolidation permet de passer d'une mémoire fragile, de courte durée à une mémoire qui va durer dans le temps. Si on présente plusieurs associations CS-US, la mémoire mise en jeu sera stable dans le temps. La mémoire est donc un processus dynamique comportant plusieurs phases, qui ne se succèdent pas forcément dans le temps. La première étape est la mémoire précoce à court terme, peu spécifique, elle est dominée par la potentialisation et l'excitation induites par le stimulus non conditionné (US). Il existe déjà une composante associative, très faible au départ elle se développe au fur et à mesure des minutes. La deuxième phase est la mémoire tardive à court terme, succédant à la première étape, elle représente la transition à une mémoire associative plus spécifique. La transition prend quelques minutes lors d'une seule association CS-US, cependant elle est beaucoup plus rapide lorsque les associations CS-US sont multiples. Ainsi la consolidation de la mémoire exige du temps mais dépend des événements. La troisième étape est le passage à la mémoire à moyen terme. Cette dernière repose sur des modifications covalentes au niveau du système nerveux alors que les deux étapes précédentes reposaient sur l'excitation cellulaire ainsi que sur la mise en place de cascades moléculaires sans modifications physiques. La mémoire à moyen terme repose sur l'apprentissage consolidé donc très spécifique, elle est aussi plus résistante au temps et à l'extinction. Finalement, la mémoire à long terme se met en place au bout d'un à deux jours. Elle est principalement caractérisée par la synthèse de nouvelles protéines. Ces phases de mémoire ne sont pas forcément linéaires, ainsi pour qu'un apprentissage soit retenu dans la

mémoire à long terme il n'a pas forcément besoin de passer par la mémoire à moyen terme. Cependant, il semblerait que l'établissement de souvenirs dans la mémoire à long terme nécessite de multiples épreuves d'apprentissage. Ces connaissances sur la mémoire chez l'abeille ont été obtenues au moyen de protocoles standards développés au fil des années. Aujourd'hui on compte quatre protocoles principaux qui seront détaillés dans le paragraphe suivant (Giurfa 2007; Menzel 1999).

Protocoles standards utilisés

Pour étudier l'apprentissage et la mémoire chez l'abeille, il a fallu développer des protocoles expérimentaux reproductibles et standardisés, permettant aux animaux d'exprimer pleinement leur comportement, sans qu'il soit biaisé tout en contrôlant le milieu, les conditions de réalisation, et en pouvant enregistrer les réponses. Karl von Frisch dans son ouvrage Vie et mœurs des abeilles (1955) développe plusieurs des protocoles qu'il a pu utiliser pour ses observations. Il utilisa notamment un dispositif permettant le dressage au parfum des abeilles. Ainsi, une table était posée en extérieur avec une écuelle contenant du miel afin d'attirer les pourvoyeuses vers le lieu d'expérimentation. Ensuite, les abeilles sont attirées vers un carton aménagé avec un trou de vol et dont le couvercle est amovible, grâce à un chemin en miel. Dans ce carton se trouve un pot d'eau sucrée. Le miel est ensuite nettoyé, et une fleur odorante (rose) est placée au-dessus du trou de vol. D'autres cartons vides sont disposés autour de cette première boîte et le carton contenant la rose est régulièrement déplacé afin que les abeilles ne s'habituent pas à la place de ce dernier. Après quelques heures, tous les cartons sont remplacés par des boîtes propres, avec dans l'une d'elles la même fleur odorante que lors de l'apprentissage mais pas de pot d'eau sucrée. Von Frisch utilisa ce protocole notamment avec de l'orange ce qui lui permit d'établir des tests de sensibilité à la dilution mais aussi de voir si les abeilles étaient capables de discriminer deux oranges de variétés différentes (d'Espagne et de Sicile). Ce premier protocole est une ébauche de ce qui sera développé et affiné par la suite. Pour l'abeille de nombreuses possibilités s'offrent en choix de protocoles, les individus peuvent être libres comme pour le dressage au parfum de Von Frisch mais elles peuvent aussi être restreintes pour effectuer des tests au laboratoire. L'expérimentateur peut vouloir évaluer la vision, mais aussi l'olfaction, le toucher, les capacités de perception, de discrimination des cibles proposées. Les quatre protocoles principaux de test seront développés ci-dessous. (Frisch 1968)

Conditionnement du vol en approche d'une cible visuelle chez l'abeille en vol libre

Ce premier protocole utilise des abeilles en vol libre, conditionnées avec des stimuli visuels par exemple colorés ou ayant différentes formes, différents motifs.

Afin de repérer et d'individualiser chaque abeille, chaque individu est marqué par un point coloré placé sur le thorax ou l'abdomen. L'abeille marquée est guidée dans le dispositif de test par le manipulateur. Dans le dispositif se trouve une récompense sucrée afin que l'abeille soit motivée à revenir sur le dispositif. Dès lors que les individus sont habitués à venir visiter le site d'expérimentation activement, sans aide du manipulateur l'apprentissage peut commencer. Ainsi le manipulateur place les cibles visuelles qu'il veut tester. La cible qui doit être retenue par les abeilles est accompagnée d'une solution de saccharose diluée. De cette manière on retrouve bien l'association du CS (la cible visuelle) et de l'US (la solution de saccharose diluée). Ensuite sont enregistrés le nombre de fois que chaque abeille visite le dispositif afin d'évaluer leur motivation. Ensuite la solution de saccharose est retirée, le dispositif nettoyé et le comportement des abeilles enregistrées. Par exemple on peut compter le nombre de fois que l'abeille entre en contact avec la cible (antennes, pattes), on peut compter le nombre d'atterrissage, ou alors juste évaluer dans quelle direction elle vole. Avec ce dispositif, il est possible de construire des associations de type conditionnement classique (association CS-US) mais aussi du conditionnement opérant (à l'atterrissage de l'animal sur la cible est associée la récompense). Cependant le cadre est considéré comme majoritairement opérant car on constate que le comportement de l'abeille est décisif notamment pour l'évaluation. (Giurfa 2007)

Conditionnement mécano-sensoriel du réflexe d'extension du proboscis chez l'abeille en harnais

Ce protocole contrairement au précédent se base non pas sur des animaux en vol libre mais sur des abeilles dont les mouvements sont restreints. Ces abeilles sont placées individuellement dans de petits tubes de plastique, ne permettant que le mouvement des antennes et du proboscis, c'est ce que l'on appelle un harnais. Cette méthode d'étude permet d'identifier plus facilement chaque individu, mais aussi comme les manipulations se font en laboratoire l'environnement est contrôlé de façon plus stricte. Cette restriction des mouvements permet également d'associer l'épreuve d'apprentissage à des méthodes de mesures intracérébrales *in vivo* mais aussi d'autres manipulations telles que des injections qui seraient impossibles sur un animal en vol libre. Dans ce protocole, les abeilles fixées en harnais apprennent à associer une stimulation mécanique des antennes ou un mouvement spécifique des antennes avec une récompense sucrée administrée par le manipulateur. Pour éviter tout biais de confusion et d'utilisation de cibles visuelles plutôt que mécano-sensorielles une pratique classique est de peindre les yeux composés de l'animal. Ainsi on remarque que selon la conception de l'expérience, le conditionnement peut être classique (associer une stimulation à la solution de saccharose) ou opérant (un certain

mouvement des antennes est associé à une récompense). En conséquence, certains protocoles sont conçus pour que l'animal soit récompensé après un certain nombre de contacts des antennes sur une cible alors que dans d'autres l'abeille est récompensée après avoir scanné la totalité de l'objet avec ses antennes. Dans ce dernier protocole le conditionnement est considéré comme un croisement entre le conditionnement classique et le conditionnement opérant. (Giurfa 2007)

Conditionnement olfactif du réflexe d'extension du dard chez l'abeille en harnais

Ce troisième protocole diffère des protocoles présentés car il met en jeu un apprentissage aversif et non plus appétitif. Là encore les abeilles sont restreintes individuellement en harnais. Elles sont placées dans ces harnais spécifiques contenant deux plaques métalliques, de telle sorte qu'elles établissent un lien entre ces plaques. Un choc électrique peut alors être délivré par le dispositif. Lors d'une agression de l'abeille elle présente un réflexe non conditionné qui est l'extension du dard. Ainsi on peut associer la présentation d'une odeur avec un choc électrique, ce qui se traduit par la réponse aversive d'extension du dard. Ce protocole de conditionnement aversif se distingue de deux utilisés dans d'autres espèces modèles pour lesquelles on évalue plutôt la capacité à éviter le stimulus nociceptif (drosophiles dans un labyrinthe en T évitent le bras du labyrinthe où elles ont reçu un choc) ou alors le comportement de l'individu qui se fige quand il est replacé en conditions de danger (c'est le cas notamment de la souris). Or en conditions naturelles, une abeille face à un danger va présenter un comportement d'attaque, ce qui explique le choix de ce protocole. Ainsi il ne faut pas oublier, dans la conception de protocoles la réponse de l'animal en conditions naturelles. Dans ce protocole l'extension du dard est enregistrée en réponse, comme une variable discrète (présence ou absence lors de stimulus) ou continue (durée d'extension du dard face au stimulus). Ce protocole est considéré comme du conditionnement classique car le comportement de l'animal ne conditionne en rien l'administration du choc électrique. (Giurfa 2007)

Conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis chez l'abeille en harnais

Ce dernier protocole correspond de nouveau à un conditionnement appétitif de la même façon que les deux premiers, sur des abeilles restreintes en harnais. Dans cette expérience, l'animal est entraîné à associer une odeur à une récompense sucrée présentée aux antennes. Ainsi la réponse mesurée par le manipulateur est l'extension du proboscis lors de la présentation d'un stimulus odorant. Ce protocole constitue un cas clair de conditionnement classique, l'odeur étant le stimulus conditionné (CS) et la récompense en saccharose le stimulus non-conditionné (US). Dans cette expérience il est important de vérifier avant l'entraînement que l'odeur choisie

pour l'association est bien neutre, donc ne déclenche pas l'extension du proboscis. Mais aussi il faut garder une motivation appétitive chez les sujets donc respecter des périodes de jeûne avant les entraînements et les tests (habituellement deux à trois heures).

Le réflexe d'extension du proboscis en tant que protocole est apparu pour la première fois en 1944, utilisé par Frings et ses collaborateurs chez les abeilles (Frings, 1944), les mouches (Minnich, 1926) mais aussi les papillons (Minnich, 1921). Pour l'abeille, il était connu que la stimulation des antennes mais aussi des pièces buccales et des tarsi provoquait l'extension du proboscis. Matsutaro Kuwabara, qui travailla avec Karl Von Frisch fut le premier à identifier qu'il était possible d'associer une réponse appétitive avec un stimulus visuel, des lumières colorées (Kuwabara 1957). Ses travaux ne furent jamais mentionnés par Von Frisch dans ses publications et restèrent donc discrètes. Ce fut Kimihisa Takeda qui introduisit en 1961 la première fois le réflexe d'extension du proboscis comme protocole de conditionnement inspiré par le travail de son superviseur (Takeda 1961). Il utilisa ce protocole d'abord pour déterminer la capacité de discrimination olfactive des abeilles en les entraînant à apprendre une odeur puis en leur présentant de multiples. Cependant ce protocole a été oublié pendant un long moment et il a fallu attendre les années 80 avec Bitterman et Menzel pour qu'il soit de nouveau utilisé mais modifié et amélioré. En effet, les résultats de Kuwabara n'ont pas pu être reproduits pendant de nombreuses années. C'est en 2006 et 2007 que des chercheurs japonais (Hori et al. 2006; Hori, Takeuchi, et Kubo 2007) remarquent que pour la réussite du protocole de Kuwabara qui consistait à l'association de lumières colorées à une stimulation par une solution de saccharose au niveau des tarsi, les antennes devaient être coupées avant le conditionnement. En effet, si les antennes ne sont pas coupées, les abeilles tendent à étendre le proboscis avant tout contact de la solution de saccharose avec les antennes ou les pièces buccales. Or couper les antennes baisse le taux de réponse à la solution sucrée, le taux d'acquisition est donc faible ce qui rend ce protocole décevant. Ainsi en 1983, Randolph Menzel, Jeff Bitterman et leurs collaborateurs établissent un protocole standardisé pour la réalisation du REP pour étudier la mémoire et l'apprentissage chez l'abeille (Bitterman et al. 1983). Dans cette publication, les auteurs donnent en plus de la procédure contrôlée, l'échantillon nécessaire à la réalisation mais aussi les contrôles de l'expérience, les statistiques utilisables démontrant que le REP est un protocole de conditionnement classique et non opérant. Par la suite le protocole fut très utilisé pour étudier notamment la perception olfactive des abeilles, mais aussi des études de psychologie afin de déterminer si certains phénomènes étudiés chez les vertébrés pouvaient se généraliser (notamment avec des épreuves d'apprentissage non élémentaire). Des études

d'écologie ont été également menées par exemple pour déterminer comment les abeilles apprennent les odeurs complexes des fleurs rencontrées dans la nature. Enfin le protocole du REP permet la réalisation d'études neurobiologiques visant à déterminer quels circuits et médiateurs sont impliqués dans quelles tâches. Des variations du protocole de REP ont été proposées en termes de CS (visuel, méchano-sensoriel, thermique), US (remplacer le saccharose par du pollen), mais aussi dans la réalisation afin d'obtenir une épreuve de conditionnement opérant. Ces variations furent plus ou moins fructueuses. Ainsi, ce protocole élaboré et utilisé depuis plus de cinquante ans est devenu un paradigme, fiable, possédant de nombreuses données permettant de s'y référer afin de mieux comprendre et approfondir les résultats obtenus. (Giurfa 2007; Giurfa et Sandoz 2012)

Mécanismes et circuits de la mémoire dans le protocole de conditionnement du réflexe d'extension du proboscis

Le paradigme du réflexe d'extension du proboscis a permis la compréhension de mécanismes et la découverte de circuits cellulaires mis en jeu pour établir la mémoire.

Ainsi, l'utilisation du REP avec une ou plusieurs associations a permis de montrer, comme détaillé précédemment, que la mémoire, représentée par une fonction biphasique, passe par plusieurs étapes. Au départ cette mémoire est fragile, dominée par la potentialisation, excitation amenée par un stimulus appétitif, elle est ensuite consolidée. Le transfert de mémoire à court terme vers la mémoire à long terme n'est pas forcément séquentiel, il existe aussi des processus parallèles. Le stockage et la récupération de souvenirs se base préférentiellement sur de multiples traces mnésiques plutôt que sur un unique chemin.

Au-delà des phases de la mémoire, le protocole d'extension du proboscis a permis d'éclaircir les circuits neuronaux supports de l'apprentissage associatif permettant l'association des deux stimuli à l'échelle cellulaire.

On considère tout d'abord le circuit du stimulus conditionné. Les neurones sensoriels situés dans les antennes conduisent l'information olfactive jusqu'au premier neuropile, le lobe antennaire. Ces lobes antennaires sont constitués de glomérules, lieu de synapse entre les axones des neurones sensitifs olfactifs, des interneurons inhibiteurs locaux mais aussi des neurones de projection. Ces derniers convoient l'information olfactive jusque dans des centres d'intégration supérieurs que sont les corps pédonculés et les lobes protocérébraux latéraux. Au niveau du neuropile, la perception de l'odeur déclenche un schéma d'activation glomérulaire conservé entre les individus. En plus de ce codage spatial, un codage temporel des potentiels

d'action fait que chaque odeur est codée par une oscillation synchronisée spécifique des neurones de projection. Ce codage spatial et temporel permet une carte d'identité unique pour chaque odeur. Or on peut se demander si l'apprentissage associatif d'une odeur lors d'un protocole de REP modifie ce circuit. Avec les expériences de Faber et al. 1999, on pensait que pour une odeur récompensée, l'activation glomérulaire provoquée était augmentée (Faber, Joerges, et Menzel 1999). Cependant, depuis cette théorie fut réfutée et l'impact de l'apprentissage associatif sur le circuit olfactif reste encore à déterminer.

Les connaissances sur le circuit du stimulus non conditionné, ou circuit de la récompense sont elles aussi encore incomplètes. Actuellement, un unique neurone VUMmx1 a été identifié comme nécessaire et suffisant pour substituer la récompense avec une solution de saccharose. Les dendrites de VUMmx1 arborisent de façon bilatérale et symétrique dans le cerveau, ils convergent avec le circuit nerveux olfactif en trois points : les lobes antennaires, les corps pédonculés au niveau des calyces (qui correspondent à l'entrée olfactive), et les lobes protocérébraux latéraux. Ainsi on trouve un chemin physique qui pourrait expliquer l'association entre le stimulus conditionné et le stimulus non-conditionné. Enfin VUMmx1 permet de fournir des informations sur l'erreur prédite, c'est-à-dire la différence entre ce qui est attendu et la valeur du renforcement donné. Ce système est important en apprentissage associatif car il va déterminer l'efficacité de l'apprentissage.

Les éléments en faveur de ce neurone dédié, spécifique sont multiples. En effet, lors d'une stimulation des antennes ou du proboscis avec une solution de saccharose, on remarque un pic d'activation de longue durée de VUMmx1. De plus, la dépolarisation artificielle de ce dernier peut substituer la récompense en saccharose dans une expérience d'apprentissage associatif REP. Un neuromédiateur a été identifié, l'octopamine, qui administrée dans les corps pédonculés associée à une odeur suffit à l'apprentissage associatif de cette odeur.

Finalement, il reste encore à déterminer comment chemine l'information gustative sur la récompense sucrée depuis les récepteurs jusqu'au système nerveux central afin d'obtenir une image globale de ce circuit. (Giurfa 2007)

3) Le Behavioral tagging, une facilitation de la mémoire à long terme

Les protocoles expérimentaux permettant l'étude de l'apprentissage et de la mémoire présentent un cadre simplifié dans lequel chaque stimulus est clairement identifié et maîtrisé. Or dans la

réalité, le mécanisme de mémoire est quelque chose de très complexe car des stimuli sont reçus en continu, les expériences se suivent, se chevauchent dans le temps. Un événement isolé, va se retrouver en concurrence avec tout ce qui se produit au même instant mais sera aussi influencé par ce qui se sera passé précédemment mais aussi après. De plus, si les mécanismes de consolidation vers la mémoire à long terme étaient simplement déclenchés par les caractéristiques d'un stimulus unique (son nombre de répétitions et sa force) alors cela impliquerait que les systèmes de traitement cérébraux auraient à gérer de multiples cascades cellulaires simultanées, à des niveaux de progression variés. Ajoutons que dans le cerveau une cellule individuelle possède des milliers de synapses, les neurones seraient l'objet d'une multitude de cascades moléculaires simultanées, dont l'avancement est différent, pour stocker des informations différentes. Ainsi on comprend que ce système serait très compliqué et il est difficilement envisageable.

La modèle de mémoire se décompose en plusieurs phases : d'abord la mémoire de travail ou mémoire à court terme, peu spécifique et labile, qui nécessite ensuite un processus de consolidation, dépendant de la synthèse de nouvelles protéines afin de passer à une mémoire à long terme spécifique et durable. Ce modèle de mémoire est analogue à un processus cellulaire, la potentialisation à long terme c'est pourquoi de nombreuses expériences ont cherché à les corrélés. La potentialisation à long terme serait le mécanisme support de mémoire à long terme. Cette potentialisation à long terme correspond à l'induction d'une augmentation de transmission synaptique, durable, à la suite de stimulations répétées au niveau des neurones. Cette potentialisation à long terme peut se décomposer en une phase précoce (e-LTP), limitée dans le temps, et une phase tardive (l-LTP) dépendant de la synthèse de nouvelles protéines afin de consolider l'augmentation de transmission synaptique. Dès lors, on comprend le rapprochement fait avec la formation de mémoire. Par ailleurs, la potentialisation à long terme présente des caractéristiques de durée, de spécificité et des propriétés associatives soutenant son utilisation comme modèle mécanistique de mémoire. Dans la mesure où la synthèse de nouvelles protéines est nécessaire à la consolidation de la mémoire, on peut se demander comment la machinerie neuronale adresse spécifiquement ces protéines vers les synapses d'intérêt. En effet, les nouvelles protéines sont synthétisées au niveau du noyau neuronal, cependant elles ne doivent pas renforcer l'activité de toutes les synapses de ce neurone afin de conserver la spécificité observée pour la mise en place de mémoire.

Cette question est l'objet de la théorie du « marquage synaptique » (synaptic tagging), introduit en 1997 par Frey et Morris (Frey et Morris 1997). Par le biais de stimulations de deux synapses

différentes d'une même population de neurones de l'hippocampe de rats, ils observent l'induction paradoxale d'un potentiel à long terme, donc dépendant de la synthèse protéique, pendant une période d'inhibition de synthèse protéique. Ils en déduisent que les protéines synthétisées par la stimulation de la première entrée peuvent être capturées par des marqueurs, indépendants de la synthèse protéique au niveau de la deuxième synapse, incapable de produire des protéines car sous l'influence d'un inhibiteur de synthèse. Il s'agit de la première preuve expérimentale de la capture sélective de protéines nouvellement synthétisée par une synapse activée d'une même population de neurone. Pour résumer, la consolidation d'un potentiel à long terme implique la synthèse de protéines cellulaires, cependant ces protéines sont insuffisantes à elles seules pour induire un potentiel à long terme spécifique. En effet, la synapse doit mettre en place des marqueurs synaptiques, transitoires qui vont capturer les protéines synthétisées afin de permettre le processus de consolidation, essentiel pour la stabilisation de la potentialisation à long terme (*figure 10*). En outre, les protéines synthétisées ne sont pas forcément induites par la même stimulation que celle permettant la mise en place du marqueur synaptique, elles peuvent provenir d'une stimulation différente mais appliquée sur la même population neuronale. Le « marquage synaptique » ou synaptic tagging est donc le marquage d'une synapse activée de façon à ce qu'elle reconnaisse localement les produits de transcription. La capture de ces produits de transcription, les protéines, permet d'effectuer un changement durable dans l'efficacité de la transcription synaptique.

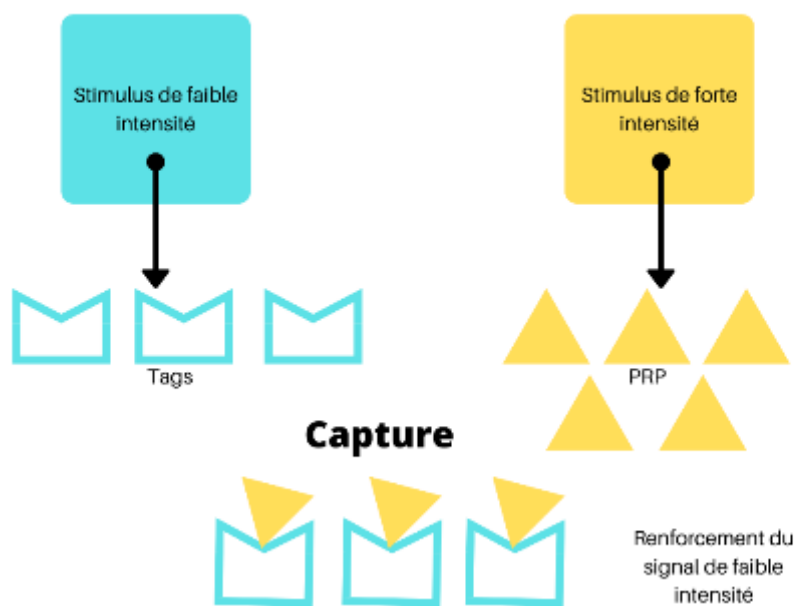


Figure 10 : Hypothèse du marquage synaptique et de la recapture des protéines

Or si on considère le modèle de plasticité synaptique de mémoire, la potentialisation à long terme serait une modification plastique dépendante de l'activité au niveau des synapses mises en jeu pendant la mise en place de mémoire à long terme. Un analogue du mécanisme de « marquage synaptique » pourrait exister d'un point de vue comportemental. Ainsi, dix ans après la mise en évidence du phénomène de « marquage synaptique » est né le behavioral tagging (ou « marquage comportemental ») (Moncada et Viola 2007; Moncada, Ballarini, et Viola 2015). En effet, il a été observé qu'un apprentissage de faible intensité menant à une mémoire uniquement à court terme peut être consolidée en mémoire à long terme si les animaux expérimentent un événement fort, dans une fenêtre de temps donnée autour de l'apprentissage. Les premières expériences consistaient à exposer des rats à un nouvel environnement pendant cinq minutes à différents moments avant et après un conditionnement de réaction d'évitement. Ce protocole de conditionnement consiste en une plateforme surélevée sur laquelle est placé le rat, s'il descend de la plateforme il reçoit alors un choc électrique. Ainsi la force du conditionnement peut être modulée en fonction de l'intensité et de la durée du choc électrique, dans ces expériences le conditionnement choisi est faible afin d'engendrer uniquement une mémoire à court terme. Or, les rats exposés au nouvel environnement présentent une mémoire à long terme sur le test de réaction d'évitement, ce que ne présentent pas les rats n'ayant pas exploré ce nouvel environnement ou ceux ayant exploré un environnement déjà familier.

Ce processus est dépendant de la synthèse de nouvelles protéines engendrée par l'événement fort. Par analogie avec le système de « marquage synaptique » et capture, le « marquage comportemental » (behavioral tagging) suppose que l'apprentissage de faible intensité met en place des marqueurs synaptiques, labiles, indépendants de la synthèse protéique, capables de capturer les nouvelles protéines liées à la plasticité synthétisées à la suite de l'événement fort. La capture de ces protéines par les marqueurs synaptiques permet la mise en place de changements durables au niveau des synapses, potentialisation à long terme, observables par l'apparition de mémoire à long terme. Par conséquent, le « marquage comportemental » offre un nouveau cadre élégant expliquant les changements durables permettant d'établir la mémoire à long terme. Les théories de « marquage synaptique » et de « marquage comportemental » partagent des propriétés communes. Tout d'abord, un événement fort peut faciliter la mise en place d'une forme durable de plasticité quand il est associé à un événement faible. Ce mécanisme nécessite pour sa mise en place la synthèse de nouvelles protéines déclenchée par l'événement fort, mais aussi la création de marqueurs synaptiques permis par l'apprentissage faible. Ces marqueurs sont labiles, ils possèdent un temps de demi-vie faible, de même que la

synthèse des protéines liées à la plasticité respecte une certaine cinétique de synthèse puis de dégradation. Les protéines sont synthétisées au niveau du noyau cellulaire, alors que les marqueurs sont situés spécifiquement au niveau des synapses activées par l'apprentissage faible, ainsi ces deux acteurs présentent une distribution spatiale particulière. Par conséquent, la formation de nouvelles protéines, pour se fixer sur les marqueurs, doit être réalisée dans une période de temps réduite, afin qu'il y ait coïncidence de ces deux facteurs. L'événement fort, doit donc avoir lieu dans une fenêtre de temps limitée autour de l'épreuve d'apprentissage faible. Cette fenêtre de temps est biphasique, symétrique autour de l'événement faible, puisque, si l'événement fort se produit trop près de l'apprentissage faible une interférence cause l'échec de promotion de l'apprentissage. Par ailleurs les deux événements doivent stimuler la même population de neurones afin d'avoir une coïncidence spatiale entre marqueur et protéines. Enfin, quand la ressource en protéines synthétisées est limitée les marqueurs sont en compétition pour la capture de ces dernières résultant en l'atténuation de ces processus plastiques. Ces mécanismes ont été étudiés pour plusieurs protocoles de conditionnement, dépendants d'abord de l'hippocampe puis du cortex. Ensuite, ce modèle fut étendu à d'autres espèces étudiées, notamment l'homme. De manière à déterminer la présence de « marquage comportemental », des écoliers d'une école élémentaire d'Argentine se virent proposer une nouvelle leçon de science ou de musique avant d'autres activités d'apprentissage de type littéraire ou graphique. Similairement aux observations faites chez le rat, la présentation d'une nouvelle leçon dans une fenêtre de temps avant ou après l'activité améliore la rétention sur le long terme de l'activité.

Deuxième partie : Exemple d'utilisation du réflexe d'extension du proboscis dans une pré-manipulation préparant l'étude du Behavioral tagging chez l'abeille (*Apis mellifera*)

I) Introduction à la manipulation

Dans la partie précédente il a été question de la formation de la mémoire chez les abeilles, son étude au cours du temps avec l'élaboration de plusieurs protocoles ainsi que l'introduction au behavioral tagging qui apparaît comme un nouveau mécanisme de mémoire à long terme. Ce behavioral tagging existe chez plusieurs espèces, il a été étudié notamment chez le rat, la souris mais aussi chez l'homme. Ce dernier a fait son apparition il y a une dizaine d'années (Ballarini et al. 2009; Moncada, Ballarini, et Viola 2015), en essayant d'appliquer le principe du synaptic tagging (Frey et Morris 1997; Martin et Kosik 2002), qui ne concerne qu'une synapse unique à l'ensemble du processus d'apprentissage dans son aspect comportemental (Moncada et Viola 2007). D'abord étudié chez le rat, des protocoles ont émergé pour l'étude de nouvelles espèces, parfois avec succès ou échecs (McClay et Dunsmoor 2018). L'étude du circuit nerveux de behavioral tagging chez les mammifères pose des problèmes du fait de sa complexité. C'est pourquoi prouver son existence chez l'abeille qui ne comporte que 960 000 neurones avec des circuits bien identifiés pourrait permettre d'éclaircir les zones d'ombres de ce phénomène. Ainsi, l'objectif des manipulations était d'arriver à mettre en place un protocole utilisable pour déterminer la présence ou l'absence de behavioral tagging chez l'abeille (*Apis mellifera*).

Pour reprendre ce qui a été vu précédemment, il s'agirait de mettre au point deux expériences d'apprentissage, distinctes. La première épreuve d'apprentissage correspond à un stimulus de faible intensité qui ne permet pas, à lui seul, la synthèse de nouvelles protéines permettant la mise en place d'une mémoire à long terme. La deuxième expérience d'apprentissage, le stimulus fort, matérialisé par une expérience nouvelle pour le sujet dans plusieurs études, est un stimulus de forte intensité permettant la synthèse de nouvelles protéines. En outre, ces deux stimuli doivent être traités dans des zones cérébrales se recoupant spatialement (*figure 11*), afin que les protéines produites par le stimulus fort puissent être capturées par les marqueurs ou « tags » mis en place suite au stimulus de faible intensité (Viola et al. 2014).

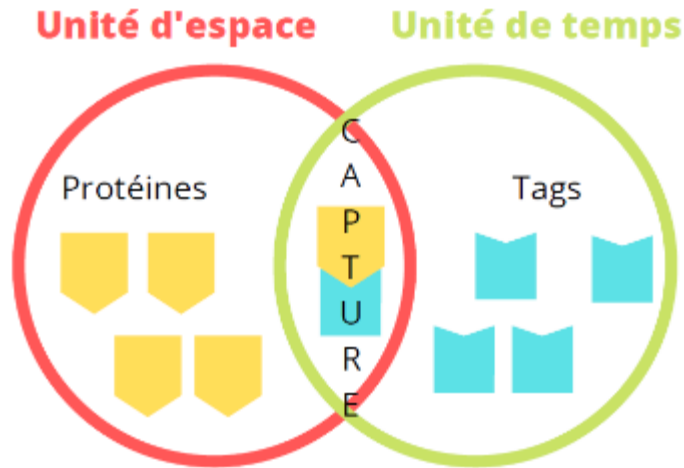


Figure 11 : Hypothèse du marquage synaptique : conditions à remplir pour la mise au point de l'expérience

Comme vu dans la partie précédente, il existe de nombreux protocoles permettant d'étudier la mémoire et l'apprentissage chez les abeilles. Ainsi, il est possible de tester la mémoire visuelle, ou olfactive par exemple sur des animaux en liberté ou restreints. Le protocole d'extension du proboscis semble correspondre aux caractéristiques requises pour le test du behavioral tagging. En effet, étudié depuis plusieurs années, il semblerait qu'une présentation unique d'une odeur associée à une récompense composée de saccharose n'engendrerait pas de synthèse protéique et de mémoire à long terme. A contrario, la présentation répétée d'une odeur associée à une récompense sucrée créerait une mémoire à long terme, reposant sur la synthèse de nouvelles protéines (Giurfa 2007).

Ainsi en associant ces deux expériences, on pourrait combiner un stimulus faible (la présentation unique d'une odeur associée à la récompense en sucre) et un stimulus fort (la présentation multiple d'une odeur couplée à une récompense en sucre) stimulant les mêmes régions cérébrales gouvernant la mémoire olfactive.

La première étape est donc de vérifier les deux épreuves d'apprentissage. C'est-à-dire, la présentation unique d'une odeur associée à une récompense en sucre est-elle associée ou non à la synthèse de nouvelles protéines et à la mise en place d'une mémoire à long terme ?

II) Matériel et méthodes

1) Les animaux

Les abeilles (*Apis mellifera*) utilisées pour cette expérience sont des ouvrières issues du rucher du CNRS-CRCA de Toulouse (Centre de Recherches sur la Cognition Animale). Au vu du choix du protocole de réflexe d'extension du proboscis afin d'évaluer la mémoire, les abeilles les plus adaptées sont les butineuses car elles possèdent le plus d'appétence pour le sucre, par conséquent elles auront une motivation plus forte dans l'apprentissage (Matsumoto et al. 2012). Les abeilles sont collectées la veille de l'expérience dans l'après-midi toujours après quatorze heures, afin d'éviter la période des premiers vols d'orientation des nouvelles butineuses (Matsumoto et al. 2012). Les butineuses sont attrapées au niveau d'un nourrisseur artificiel (figure 12). Ce dernier est composé d'un bocal en verre retourné et posé sur une plaque de plastique rainurée laissant ainsi s'écouler une solution de saccharose concentrée à 50%. Ces nourrisseurs sont remplis tous les jours, plusieurs fois afin d'habituer les butineuses à venir régulièrement.



Figure 12 : Nourrisseurs artificiels disposés entre les ruches

Les abeilles sont d'abord capturées par sept environ dans des fioles en verre d'environ 10 cm de hauteur sur 3 cm de largeur au niveau des nourrisseurs. Les nourrisseurs sont placés

sur des plateformes plus larges, le tube en verre retourné est alors positionné délicatement autour de l'abeille jusqu'à la plateforme. De légers mouvements latéraux du tube forcent l'abeille à monter dans le tube en verre qui peut alors être soulevé pour être placé autour d'une nouvelle abeille. Parfois plusieurs abeilles peuvent être capturées en même temps par cette méthode. L'opération est répétée jusqu'à ce que la fiole contienne les sept individus.

Ensuite les abeilles sont transférées dans des cassettes en plastique de 10 cm de longueur par 5 cm de hauteur et de profondeur (*figure 13*). Elles forment alors des groupes de quinze individus. Ces cassettes en plastiques sont composées de parois totalement amovibles permettant le nettoyage et l'ouverture à volonté. Ces parois sont perforées de trous d'environ 1 mm régulièrement espacés permettant l'aération de la cassette ainsi que les opérations de nourrissage. Enfin une ouverture ronde d'environ 2 cm de diamètre est présente sur la paroi supérieure de la cassette. Cette ouverture recouverte de ruban adhésif, sert au transfert des abeilles de la fiole en verre vers la cassette et inversement. Pour ce transfert, la cassette est positionnée ouverture en face de l'ouverture de la fiole. La fiole est cachée de la lumière, ainsi les abeilles par phototactisme remontent dans la cassette.



Figure 13 : Cassette permettant aux abeilles de passer la nuit en incubateur

Ensuite les abeilles sont nourries puis passent la nuit au laboratoire à l'intérieur de ces cassettes, en groupe. Pour les nourrir après la capture, une solution de saccharose concentrée à 50% est administrée dans les trous aménagés sur les pourtours de la cassette. La quantité est calculée à 10 μ l de solution par abeille. Les boîtes sont ensuite mises en incubateur à 28°C et 80% d'humidité pour passer la nuit, elles sont placées de manière à permettre une circulation d'air entre elles, c'est-à-dire avec un espace minimum de 1cm entre chaque cassette.

Cette méthode de collecte la veille de l'expérience permet une homogénéisation de l'état de satiété des abeilles grâce à la trophallaxie. En effet, les abeilles sont toutes recueillies au niveau du nourrisseur, cependant elles ne sont pas toutes restées aussi longtemps et n'ont donc pas toutes eu le temps de collecter du saccharose. Dans la cassette une redistribution des ressources est effectuée et toutes seront à un niveau plus homogène de satiété. De plus, cette méthode permet une sélection des individus d'une condition physique suffisante pour effectuer les tests. Enfin, il aurait été observé une plus faible mortalité durant les expériences en attrapant les abeilles la veille des tests, les individus les plus faibles meurent durant la nuit. La mortalité durant la nuit est très variable, de 0 à 50% des individus, dans les rares cas où la mortalité excédait 40%, il a été décidé de relâcher les individus à la ruche après les avoir nourris.

Le matin de l'entraînement, les abeilles sont mises dans la glace afin de les anesthésier. Pour ce faire, elles sont transférées à nouveau dans les fioles en verre par groupes d'environ sept individus (*figure 14*).



Figure 14 : Transfert des abeilles dans les fioles pour les anesthésier dans la glace

La fiole est ensuite enfouie dans la glace. Le niveau d'éveil des abeilles est régulièrement contrôlé. Après l'arrêt de tout mouvement, chaque abeille est prélevée dans la fiole puis elle est attachée à un tube en plastique à l'aide de ruban adhésif (*figure 15*). Une fois toutes les abeilles positionnées en tubes plastiques, leur tête est fixée au dispositif, appelé harnais, à l'aide de cire à bas point de fusion (cire d'abeille) pour restreindre tout mouvement.

Enfin, les individus sont nourris individuellement à l'aide d'une micropipette avec 5 μ l d'une solution de saccharose à 50% (Matsumoto et al. 2012).



Figure 15 : Harnais dans lesquels sont placées les abeilles pour les phases d'entraînement et de test

Cette étape d'anesthésie et de mise en harnais est critique pour l'expérience, en effet si les abeilles sont laissées trop longtemps sur la glace, elles seront trop affaiblies et mourront. De plus, lors du positionnement en harnais, il faut veiller à ne pas léser l'abdomen par des pressions trop importantes ce qui risquerait encore une fois d'engager la survie de l'animal. Il faut donc mettre les abeilles en harnais le plus rapidement possible en veillant à ne pas toucher l'abdomen et préserver l'intégrité physique de l'animal. Pour veiller au respect d'un temps court de mise en harnais, cette étape a été chronométrée pour chaque manipulation.

2) Le protocole d'entraînement

L'entraînement a lieu trois à quatre heures après le nourrissage du matin. Cette durée standard est utilisée pour assurer une forte motivation des abeilles pour le conditionnement (Matsumoto et al. 2012). Le dispositif utilisé se compose de deux fioles en verre contenant les odeurs (figure 16). Ces dernières sont délivrées automatiquement sous contrôle d'un micro-ordinateur (Arduino® Uno) (Aguiar et al. 2018). Les abeilles en harnais sont placées devant la

machine à une position constante. Le dispositif envoie un flot d'air continu (3300 ml/min) dirigé vers les antennes des abeilles, 15 secondes après la mise en place de l'abeille dans le dispositif, le flux d'air est détourné pour passer par la fiole contenant l'odeur désirée ce qui permet de la délivrer pendant 4 secondes (CS). Un extracteur d'air est placé à l'arrière de l'abeille ce qui limite l'accumulation d'odeur.



Figure 16 : dispositif d'entraînement et de test. Au premier plan l'ordinateur avec les circuits menant aux deux odeurs (une des deux fioles visibles avec l'étiquette verte), au milieu du dispositif l'abeille en harnais puis en fond l'extracteur d'air. Le tout enregistré en vidéo par la caméra

Après la stimulation par l'odeur, une solution de saccharose à 50% est délivrée par l'opérateur grâce à un cure-dent au niveau des antennes puis du proboscis pendant 3 secondes (US) (figure 17). L'odeur et la solution de saccharose ont une période de chevauchement de 1 seconde, pendant laquelle elles sont présentées en simultanément à l'abeille. L'abeille est ensuite

laissée dans le dispositif pendant 40 secondes supplémentaires avec un flux d'air ne contenant aucune odeur. Au total, la session d'entraînement dure 1 minute par abeille.

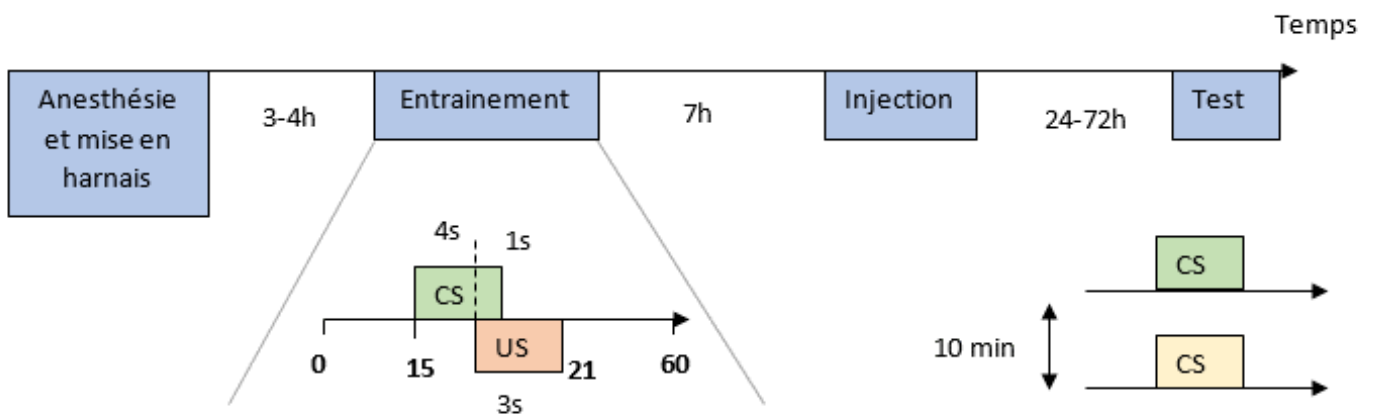


Figure 17 : organisation d'une journée d'entraînement

Les odeurs utilisées sont le 1-hexanol et le nonanal (sigma-aldrich), utilisées pures. Ces odeurs ont été choisies car elles sont perçues comme non similaires par les abeilles (Guerrieri et al. 2005). Elles sont utilisées dans l'expérience de façon aléatoire et dans les mêmes proportions comme odeur à apprendre ou stimulus conditionné (CS), et comme nouvelle odeur (NOd) pour vérifier la spécificité de l'apprentissage de l'abeille. Ainsi la moitié d'un groupe apprendra à reconnaître le nonanal alors que la deuxième moitié du groupe sera entraînée au 1-hexanol. L'attribution de chaque odeur se fait au hasard pour chaque individu. Les odeurs utilisées comme stimulus conditionné dans le dispositif de REP sont associées à une récompense alimentaire correspondant à une solution sucrée contenant 50% de saccharose. Cette solution sucrée correspond au stimulus non-conditionné (US). Certains individus ne répondent pas à la récompense sucrée pour des raisons diverses (état de satiété, manque de motivation, mauvaise condition physique avec un épuisement fort, proboscis bloqué par le harnais). Ces individus sont retirés de l'étude afin de ne pas fausser les résultats.

3) Les phases de test

Après le conditionnement, une phase de test permet d'évaluer l'apprentissage des individus. La mémoire est testée selon les expériences à 1h, 4h, 24h, 48h ou 72h après le conditionnement. Chaque abeille est testée une seule fois, ce qui signifie qu'un groupe d'abeille entraîné au même moment est divisé en sous-groupes testés à des temps différents. En effet, l'utilisation d'abeilles qui ne seraient pas entraînées au même moment, dans les mêmes conditions entraînerait un risque de variabilité non maîtrisé dans l'expérience.

Ce test correspond à la mise en place de l'abeille dans le même dispositif que lors du conditionnement, l'odeur apprise (CS) est présentée sans récompense sucrée. Une deuxième odeur, nouvelle odeur (NOd) est présentée à l'abeille après une pause de 10 minutes afin d'évaluer la spécificité de la réponse de l'individu. Comme pour l'étape de conditionnement, chaque présentation d'odeur dure une minute, ainsi, on peut tester dix abeilles par session.

Certaines abeilles peuvent répondre au flux d'air du dispositif et non à l'odeur, ce que l'on appelle la généralisation, dans ce cas la mémoire ne peut pas être évaluée et l'individu est retiré de l'expérience.

Les odeurs sont présentées de manière aléatoire d'une abeille à l'autre. De la même manière que lors du conditionnement, l'abeille est placée dans le dispositif face à un flux d'air sans odeur pendant 15 secondes (*figure 18*), puis le flux d'air est dérivé pour passer dans la fiole contenant l'odeur à présenter. Cette odeur est diffusée pendant 3 secondes (*figure 19*). L'abeille est laissée dans le dispositif pendant 42 secondes supplémentaires. Durant cette phase de test, l'extension du proboscis est évaluée pour chaque présentation d'odeur. L'extension du proboscis est une valeur discrète qui prend la valeur 0 si l'abeille ne présente pas d'extension du proboscis (*figure 20*), 1 si le proboscis s'étend au-delà des deux mandibules (*figure 21*). La session de test se termine par l'évaluation de la réponse au stimulus non conditionné (l'eau sucrée à 50% de saccharose). La solution de saccharose à 50% est présentée sur un cure-dent au niveau des antennes et du proboscis ce qui doit déclencher l'extension du proboscis. En cas



Figure 19 : placement de l'abeille dans le dispositif et choix de l'odeur à tester (indiqué par les deux petits diodes rouges)

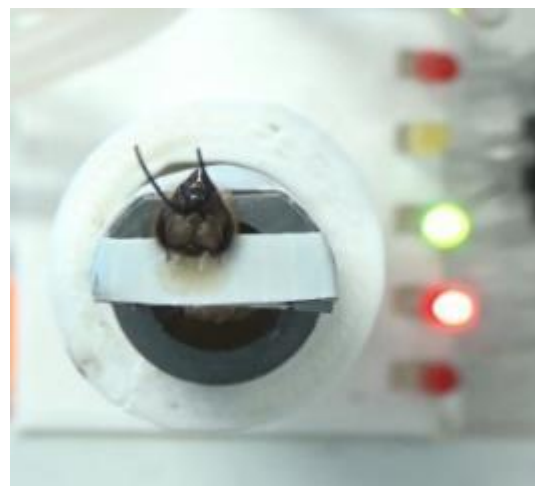


Figure 18 : flux d'air sans odeur première étape



Figure 20 : flux d'air avec odeur réponse négative



Figure 21 : flux d'air avec odeur réponse positive

de non réponse à la stimulation, l'abeille peut être dans un état de satiété, de motivation, de fatigue qui ne lui permettent pas de répondre correctement au test, elle est donc retirée des analyses.

Entre l'entraînement et les tests à 24h, 48h ou 72h les abeilles sont nourries l'après-midi avec 10 μ l de solution de saccharose à 50% et le matin avec 5 μ l de la même solution. Le nourrissage des abeilles intervient toujours 3 à 4 heures avant la session de test pour assurer un état de satiété et de motivation suffisant pour réaliser le test et toujours 60 minutes après la fin du conditionnement pour ne pas perturber l'apprentissage (Matsumoto et al. 2012).

Afin d'évaluer la synthèse de nouvelles protéines, les abeilles reçoivent une injection médicamenteuse soit 30 minutes avant l'entraînement soit 4 heures ou 7 heures après ce dernier. Certaines abeilles reçoivent de l'émétine à une dose de 20 mmol/L diluée dans une solution tampon phosphate. Cette concentration a été choisie car elle a été démontrée comme efficace dans des tests de mémoire utilisant le dispositif du REP (Stollhoff, Menzel, et Eisenhardt 2008). Les autres abeilles reçoivent une injection ne contenant que le tampon phosphate ce qui permet de contrôler l'innocuité du geste d'injection ainsi que du tampon utilisé. L'ocelle médian est retiré à l'aide d'une aiguille 25 G quelques minutes avant l'injection sous contrôle d'une loupe binoculaire. Puis 0,2 μ L d'émétine ou de tampon phosphate sont injectés à travers l'ocelle médian grâce à une seringue Hamilton de 5 μ L avec une aiguille de 34 G.

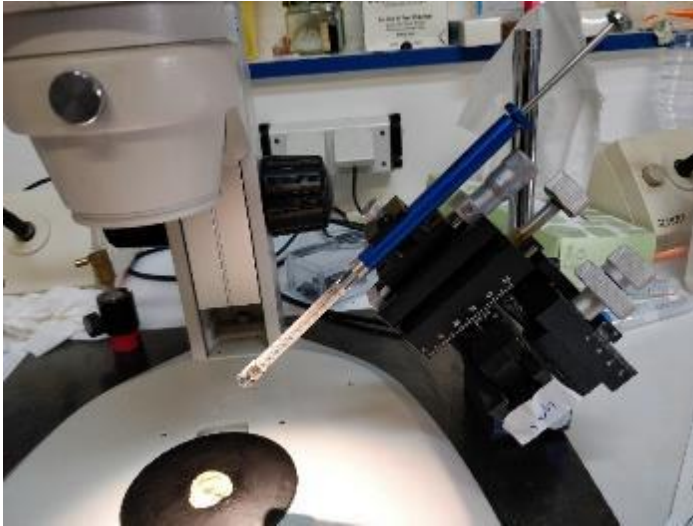


Figure 22 : dispositif d'injection par voie intra-oculaire médiane

Cette expérience s'est déroulée sur le long terme, et a évolué au fur et à mesure de l'objectif recherché. Ainsi toute une première partie a été effectuée par l'équipe du Dr Giurfa composée de Maria Eugenia Villar et de Paul Marchal qui ont testé l'effet de l'injection 30 minutes avant l'entraînement et 4 heures post-entraînement. J'ai personnellement réalisé la partie concernant l'injection 7 heures post-entraînement, mais je vais présenter les résultats des autres expériences pour plus de cohérence. Pour cette dernière expérience, des ajustements ont dû être réalisés notamment dans le protocole de nourrissage, en effet du fait de l'injection assez tardive, il s'est posé la question du nourrissage. Classiquement les abeilles étaient nourries le matin après la mise en harnais puis le soir, c'est-à-dire après l'injection. Cependant, avec l'injection à 7 heures après l'entraînement, les abeilles ont d'abord été nourries le matin, puis dans l'après-midi et enfin après l'injection. Cependant un manque de motivation pour le sucre a été remarqué dans les expériences. Ainsi il a été décidé de ne nourrir les abeilles qu'après l'injection et non plus dans l'après-midi. Or, ce deuxième protocole entraînait une très forte mortalité durant l'après-midi. Ainsi le dernier protocole pour lequel les résultats ont été analysés, les abeilles ont été nourries le matin puis l'après-midi avant l'injection mais n'ont pas été nourries après cette dernière.

4) Le manipulateur

Chaque étape présentée précédemment demande une certaine technique, répétable. En effet, la mise en harnais nécessite de la rapidité et de la précision pour ne pas léser les abeilles. Ensuite les phases d'entraînement puis de test demandent une maîtrise du matériel afin d'avoir un geste répétable d'une abeille à l'autre. Ainsi, les manipulations ont été précédées de phase d'entraînement à la manipulation des abeilles et au protocole du REP. Une expérience

comparant les résultats d'apprentissage entre manipulateurs a été effectuée afin de garantir qu'il n'existait pas de différence entre eux.

5) Elaboration des résultats, statistiques

Pendant la phase de test, la réponse à chaque présentation d'odeur est notée pour toutes les abeilles. La valeur 1 est attribuée à chaque extension du proboscis dépassant la longueur des

who?	Bee	Group	Iny site	Iny Time	CS	US		Nod	CS	PER	TS Time	Order	CS+	Nod	Exp	Date	S specific
B1	11	Eme	ocelli	20h10	0	1		0	1	1	24h	CS-Nod	nonanal	1-hexanol	E.0.3.2	12/07/2018	1
B2	9	Eme	ocelli	20h36	0	1		0	1	1	24h	Nod-CS	nonanal	1-hexanol	E.0.3.2	12/07/2018	1
C1	6	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	1	1	24h	Nod-CS	1-hexanol	nonanal	E.0.3.9	07/08/2018	1
C1	11	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	24h	Nod-CS	nonanal	1-hexanol	E.0.3.9	07/08/2018	0
C1	18	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	24h	Nod-CS	1-hexanol	nonanal	E.0.3.9	07/08/2018	0
C2	2	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	24h	CS-Nod	1-hexanol	nonanal	E.0.3.9	07/08/2018	0
C2	9	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	1	1	24h	CS-Nod	nonanal	1-hexanol	E.0.3.9	07/08/2018	1
B1	13	Eme	ocelli	20h12	0	1		0	1	1	72h	Nod-CS	nonanal	1-hexanol	E.0.3.2	14/07/2018	1
B2	14	Eme	ocelli	20h40	0	1		0	0	1	72h	Nod-CS	1-hexanol	nonanal	E.0.3.2	14/07/2018	0
B2	16	Eme	ocelli	20h41	0	1		0	0	1	72h	Nod-CS	nonanal	1-hexanol	E.0.3.2	14/07/2018	0
C1	8	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	72h	CS-Nod	nonanal	1-hexanol	E.0.3.8	04/08/2018	0
C1	10	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	72h	Nod-CS	nonanal	1-hexanol	E.0.3.8	04/08/2018	0
C1	19	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	1	1	72h	CS-Nod	1-hexanol	nonanal	E.0.3.8	04/08/2018	1
C2	19	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	72h	Nod-CS	nonanal	1-hexanol	E.0.3.8	04/08/2018	0
C1	9	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	72h	CS-Nod	1-hexanol	nonanal	E.0.3.9	09/08/2018	0
C1	13	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	72h	CS-Nod	nonanal	1-hexanol	E.0.3.9	09/08/2018	0
C1	20	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	0	72h	CS-Nod	1-hexanol	nonanal	E.0.3.9	09/08/2018	0
C2	4	Eme	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	72h	Nod-CS	1-hexanol	nonanal	E.0.3.9	09/08/2018	0
B2	3	PBS	ocelli	20h32	0	1		1	1	1	24h	Nod-CS	1-hexanol	nonanal	E.0.3.2	12/07/2018	0
C1	1	PBS	ocelli	+7h	0	1		0	1	1	24h	Nod-CS	nonanal	1-hexanol	E.0.3.9	07/08/2018	1
C1	7	PBS	ocelli	+7h	0	1		0	1	1	24h	Nod-CS	1-hexanol	nonanal	E.0.3.9	07/08/2018	1
C1	12	PBS	ocelli	+7h	0	1		0	0	1	24h	Nod-CS	nonanal	1-hexanol	E.0.3.9	07/08/2018	0
C1	16	PBS	ocelli	+7h	0	1		0	1	1	24h	Nod-CS	1-hexanol	nonanal	E.0.3.9	07/08/2018	1

Tableau 1: Exemple de tableau de résultats obtenus

mandibules, appelé réponse conditionnée (CR). La valeur 0 est attribuée pour toute non réponse à l'odeur présentée ou pour une extension du proboscis inférieure à la longueur des mandibules. Le pourcentage d'abeilles présentant une réponse conditionnée est calculé. La spécificité de la mémoire olfactive est estimée sur le profil de réponses individuelles en calculant le pourcentage d'abeilles ayant répondu de manière spécifique. C'est-à-dire qu'il s'agit d'abeilles ayant correctement répondu à l'odeur apprise et n'ayant pas répondu à la nouvelle odeur.

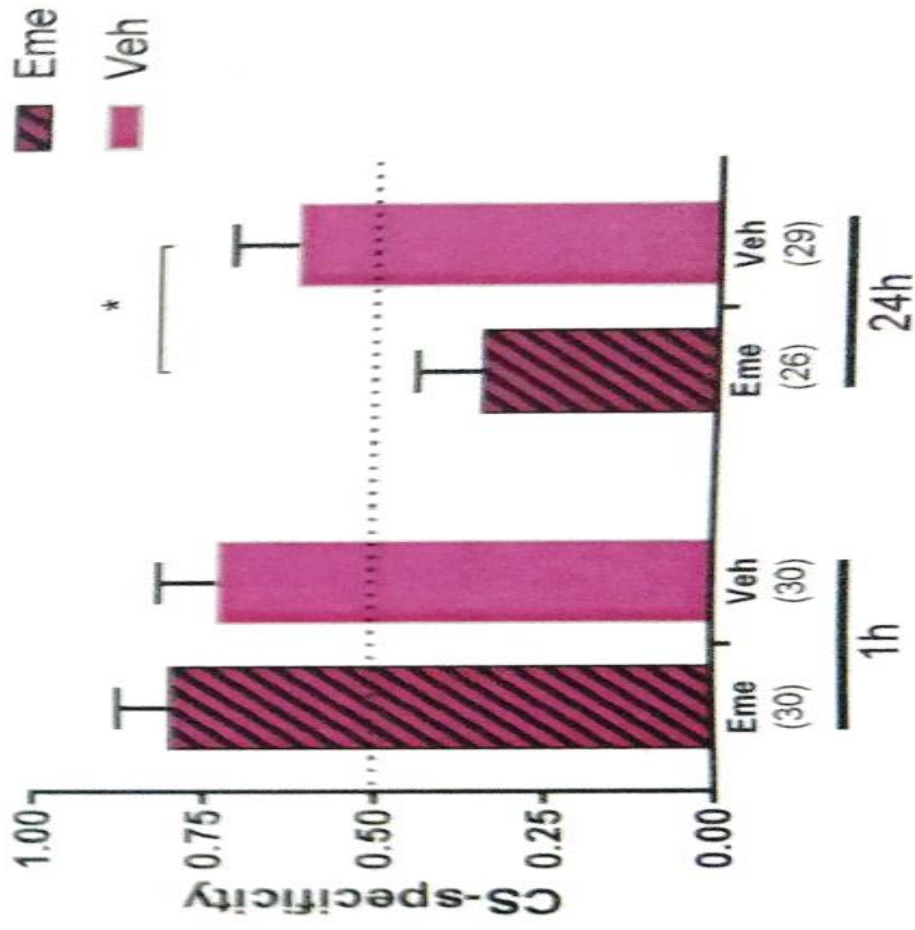
III) Résultats

L'objectif de l'expérience était d'évaluer l'expression de la mémoire et la synthèse de nouvelles protéines engendrée par une session unique de conditionnement au protocole d'extension du proboscis. Un groupe d'abeilles a été injecté avec une solution d'émétine. Un deuxième a reçu un tampon phosphate. Les deux groupes ont été injectés une demi-heure avant le conditionnement au REP.

Dans un premier temps, il faut s'assurer que l'injection par voie intra-oculaire n'interfère pas avec la formation de mémoire. Ainsi, deux premiers groupes ont été testés 1 heure après l'entraînement et 24 heures après. Normalement la mémoire exprimée une heure après le conditionnement correspond à de la mémoire à court terme (STM), ne nécessitant pas la synthèse de nouvelles protéines (Giurfa 2007). Ainsi il ne devrait pas exister de différence entre le groupe contrôle ayant reçu une injection de tampon phosphate et le groupe injecté avec la solution d'émétine. Au contraire, la mémoire exprimée 24 heures après le conditionnement correspond à de la mémoire à long terme (LTM). Elle est donc dépendante de la synthèse de nouvelles protéines et devrait être sensible à l'injection d'émétine (Giurfa 2007).

Une heure après l'entraînement, les abeilles montrent une forte réponse au stimulus conditionné (l'odeur pour laquelle elles ont été entraînées), supérieure à 75% et un très faible taux de généralisation (moins de 15% des individus ont réagi à la présentation de la nouvelle odeur) dans les deux groupes d'abeilles. Ainsi on peut déduire que les abeilles ont une forte mémoire 1 heure après entraînement. La réponse à l'odeur apprise (CS) est significativement supérieure à la réponse à la nouvelle odeur. Le pourcentage de réponse spécifique correspondant au pourcentage d'abeilles ayant répondu au CS et pas à la nouvelle odeur est supérieur à 70% pour les deux groupes. Aucune différence significative n'est observée entre le groupe contrôle et le groupe traité à l'émétine (*figure 23*).

B



A

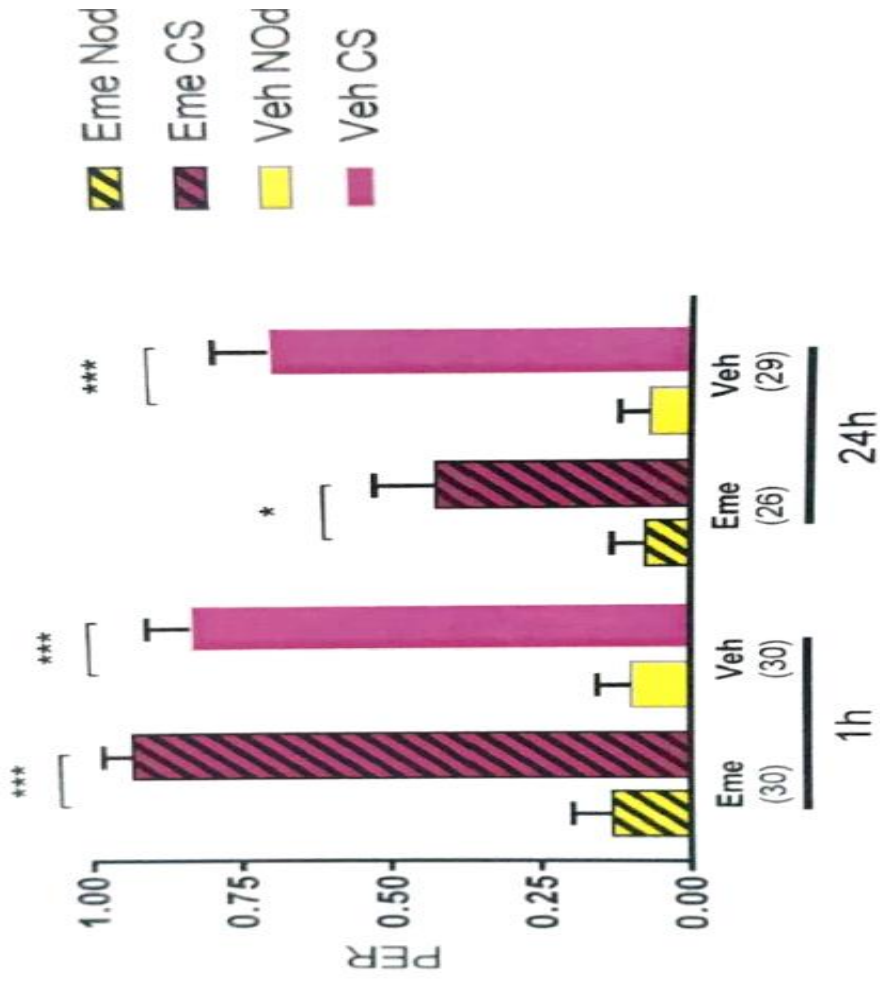


Figure 23 : Résultats obtenus avec une injection 30 minutes avant l'entraînement. Graphique A : Deux groupes sont testés, un 1h après l'entraînement, l'autre 24h après. Pour chaque groupe nous avons deux populations d'abeilles, celles ayant reçu l'injection d'émétine (Eme) et le groupe témoin ayant reçu le tampon phosphate uniquement (Veh). Pour les deux groupes on observe une réponse significativement plus élevée d'extension du proboscis (PER) pour l'odeur apprise (CS) en comparaison de la nouvelle odeur (Nod). Ainsi les deux groupes sont capables d'apprendre malgré l'injection, il n'y a pas d'interférence avec la formation de mémoire à une heure. Cependant pour le groupe testé à 24h, la réponse à l'odeur apprise est moins importante pour le groupe traité à l'émétine, ce qui suppose que la mémoire mise en place dépend de la synthèse de nouvelles protéines. Graphique B : Les mêmes résultats sont présentés sous une forme différente, on examine la spécificité de la réponse pour l'odeur apprise, on voit que la réponse observée est très spécifique que ce soit pour le groupe témoin (Veh) et le groupe traité à l'émétine (Eme) 1h après l'entraînement. Cependant à 24h la réponse à l'odeur apprise est significativement réduite pour le groupe ayant reçu le traitement

Pour le groupe dont la mémoire est évaluée à 24 heures post-entraînement, le groupe témoin et le groupe traité à l'émétine montrent une réponse significativement différente entre le CS et la nouvelle odeur. Or, la réponse spécifique au CS est significativement différente pour le groupe traité à l'émétine testé à 24 h comparé au groupe non traité. En effet, la réponse est moins importante pour ce groupe en comparaison du groupe témoin.

Ces résultats indiquent que l'injection d'un produit que ce soit l'émétine ou le tampon phosphate n'interfère pas avec la mise en place d'une mémoire une heure post-conditionnement. En outre, l'émétine injectée 30 minutes avant l'entraînement n'entrave pas l'acquisition de la mémoire et la rétention pour un conditionnement unique. En effet, les abeilles ayant reçu de l'émétine sont capables d'exprimer leur mémoire 1 heure après le conditionnement sans différence avec le groupe témoin.

Deuxièmement, cette étude laisse penser que la mémoire formée 24 heures après l'entraînement serait dépendante de la synthèse de protéines lors d'un conditionnement unique au REP. En effet, les résultats aux tests sont significativement différents entre le groupe témoin et le groupe traité à l'émétine qui présente une réponse diminuée au CS. Ainsi cette mémoire mise en place grâce à la synthèse de nouvelles protéines correspond à la définition de mémoire à long terme.

En conséquence, il serait intéressant de définir le moment à partir duquel l'expression de la mémoire dépend de la synthèse protéique, et donc de mieux définir le passage de mémoire à court terme vers la mémoire à long terme.

Les animaux ont été entraînés de la même manière que dans l'expérience précédente, l'émétine a de nouveau été injectée 30 minutes avant l'entraînement, cependant la mémoire a été testée 4 heures et 24 heures après l'entraînement. Dans cette seconde expérience, lors du test à 4 heures, les deux groupes (témoin et traité à l'émétine) sont capables de présenter une réponse plus élevée pour l'odeur apprise en comparaison de la nouvelle odeur. En outre, le groupe traité à l'émétine montre une diminution de la mémoire spécifique par rapport au groupe témoin, ce qui signifie que la mémoire formée 4 heures après l'entraînement est dépendante de la synthèse de nouvelles protéines, donc il s'agit d'une mémoire à long terme (*figure 24*). Lors du test à 24 heures, seul le groupe contrôle a montré une plus forte réponse au stimulus conditionné qu'à la nouvelle odeur. Les abeilles traitées à l'émétine montrent une réponse faible à l'odeur apprise ne différant pas significativement de la nouvelle odeur, donc dans ce cas on peut penser que l'émétine a présenté un effet plus fort.

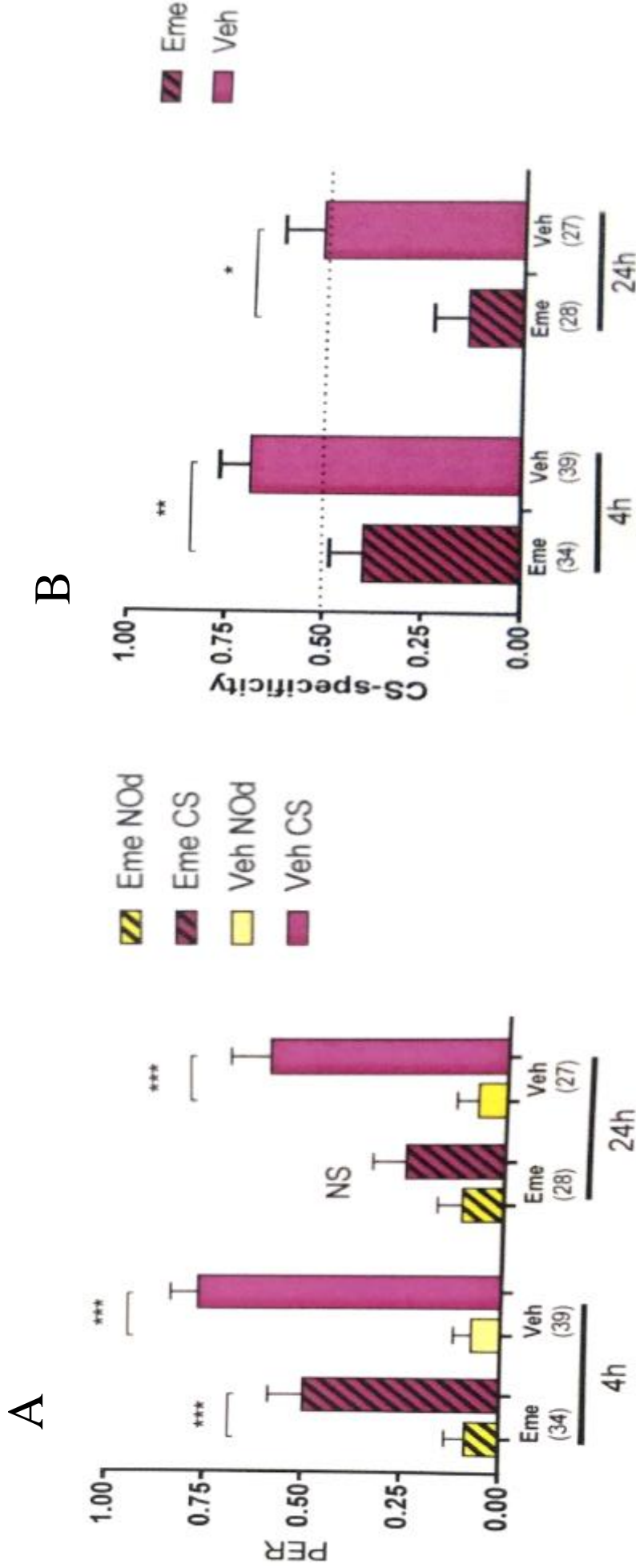


Figure 24 : L'injection d'émétine 30 minutes avant l'entraînement modifie l'expression de la mémoire à 4 heures. L'expérience précédente est répétée mais les deux groupes sont testés 4h et 24h après l'entraînement. Graphique A : Chaque groupe d'abeille est subdivisé en deux sous-groupes, le témoin (Veh) et les abeilles ayant reçu le traitement d'émétine (Eme). Pour le groupe testé à 4h, on remarque que pour les deux lots on a une différence significative de réponse entre l'odeur apprise et la nouvelle odeur, cependant pour le groupe ayant reçu l'émétine la réponse à l'odeur apprise est diminuée. Ainsi l'émétine aurait un impact sur la mémoire mise en place 4h après l'entraînement. Pour le groupe testé à 24h, la différence de réponse entre l'odeur apprise et la nouvelle odeur n'est pas significative pour le lot ayant reçu le traitement d'émétine. La mémoire mise en jeu est perturbée par l'injection. Graphique B : Les mêmes résultats sont présentés sous une forme différente, on regarde la spécificité de la réponse, c'est-à-dire que chaque abeille ayant reconnu correctement l'odeur apprise a une valeur +1, si l'abeille répond à la nouvelle odeur, elle aura une valeur de -1. Ici également on voit que la réponse pour le groupe testé à 4h est diminuée chez le lot ayant reçu le traitement d'émétine comparé au lot témoin. Il en est de même à 24h, la réponse du lot traité est très impactée par rapport au lot témoin.

D'après la littérature, un conditionnement unique au REP ne permet de former qu'une mémoire à court ou moyen terme (Menzel et Muller 1996; Menzel 1999; Martin Giurfa 2007; M. Giurfa et Sandoz 2012). Or ici il a déjà été montré que le conditionnement unique était capable de créer une mémoire à 24 heures dépendante de la synthèse protéique ce qui entre en contradiction avec les études précédentes. Il serait donc intéressant de voir l'effet de l'émétine injectée 30 minutes avant l'entraînement sur une mémoire au-delà de 24 heures, donc testées à 48 heures et 72 heures.

Pour ce test, le groupe contrôle présente une mémoire à 24, 48 et 72 heures. Au contraire, le groupe traité à l'émétine a une réponse diminuée à l'odeur apprise à toutes les heures citées testées, cette diminution est d'autant plus marquée à 48 et 72 heures où les abeilles ne sont plus capables de discriminer l'odeur apprise de la nouvelle odeur (*figure 25*). Cette expérience confirme la création d'une mémoire durant au moins 72 heures avec l'utilisation du protocole d'extension du proboscis et un conditionnement unique. Ce résultat vient confirmer les résultats précédents. De plus cette mémoire semble dépendre de la synthèse protéique car elle est inhibée à 48 et 72 heures par l'injection intra-oculaire d'émétine.

Une étude a montré que pour un protocole de REP avec un conditionnement mettant en jeu trois associations odeur-saccharose, une mémoire était mise en évidence à 72 heures (Lefer et al. 2013). Cette mémoire serait dépendante de deux vagues de transcription, la première une heure avant l'entraînement et la seconde entre 3 et 6 heures après ce dernier. Dans les expériences précédentes, nous avons remarqué que la mémoire à long terme existante à 24, 48 et 72 heures était dépendante de la traduction alors que le conditionnement était unique. La question suivante était de savoir si un mécanisme semblable à celui décrit par Lefer et al. (2013)

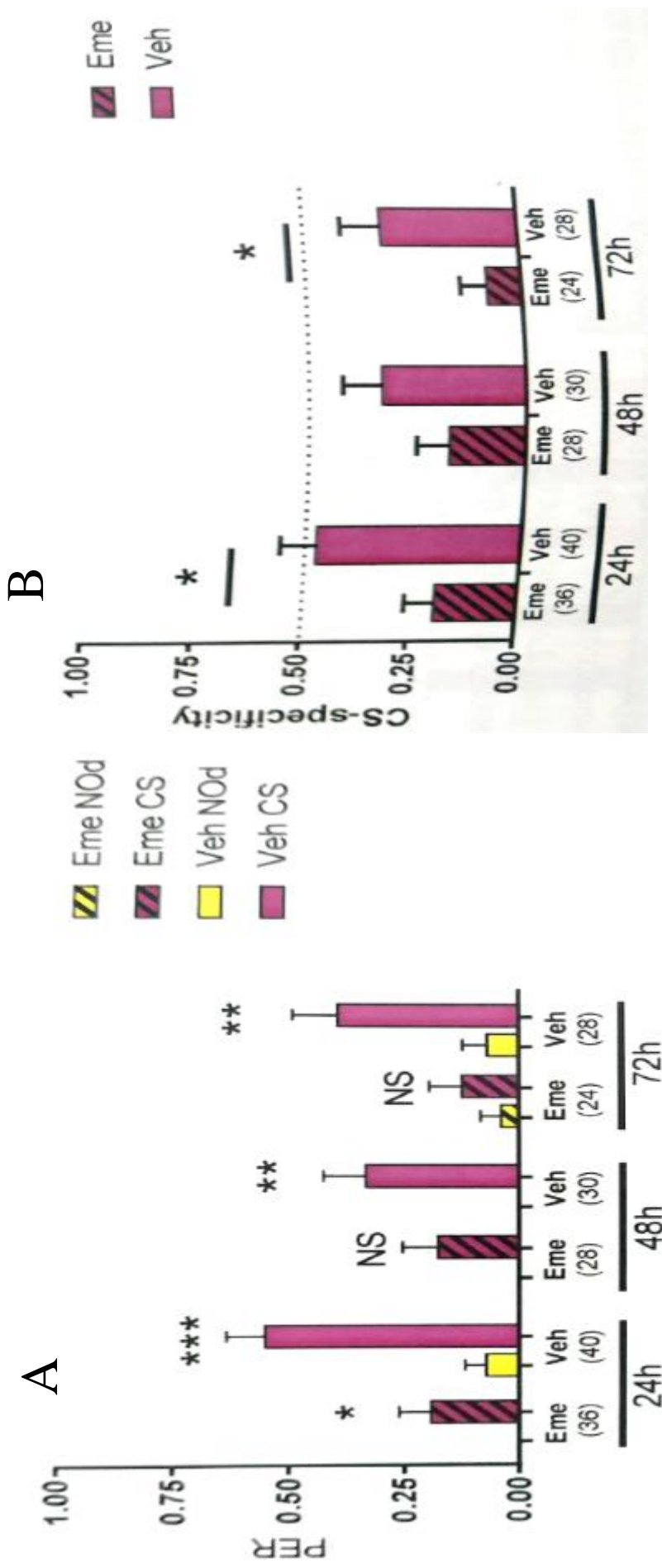


Figure 25 : Un conditionnement unique au REP entraîne une mémoire à 48h et 72h, sensible à l'injection d'émétine. Graphique A : 3 groupes d'abeilles sont testés ici, un 24h après l'entraînement, un à 48h et le dernier à 72h. Chaque groupe comprend deux lots d'abeilles, le lot témoin (Veh) et le lot traité à l'émétine (Eme). Sur les groupes témoins, on voit que la réponse à l'odeur apprise est significativement supérieure à celle de la nouvelle odeur, on a donc mise en place de mémoire. Or pour les groupes traités à l'émétine, à 24h on a bien une légère différence entre les deux réponses, cependant à 48h et 72h, la réponse est non significative, ainsi la mémoire n'a pas pu se mettre en place dans ces groupes. Graphique B : les mêmes résultats sont présentés sous la forme de spécificité de réponse à l'odeur apprise. Ainsi on voit clairement la différence significative entre les réponses des lots. La mémoire est mise en place à long terme pour les lots témoins dans les 3 groupes, cependant cette mémoire est nettement affaiblie chez les lots ayant reçu le traitement d'émétine.

pourrait être observé en conditionnement unique. Il a donc été décidé d'observer l'action de l'émétine, un inhibiteur de la synthèse protéique, pour une injection réalisée après le conditionnement. Dans ce but, des abeilles ont reçu une injection d'émétine 4 heures après l'entraînement et leur mémoire a été évaluée à 24, 48 et 72 heures après ce dernier.

Dans cette expérience, il a été observé une différence significative uniquement pour le test à 24 heures, dans laquelle le groupe traité à l'émétine a significativement moins de réponse spécifique au stimulus conditionné. Pour les tests à 48 et 72 heures, on observe une tendance selon laquelle l'émétine aurait un effet, cependant la différence entre les deux groupes n'est pas significative (*figure 26*).

Pour essayer de définir une fin à cette vague de traduction post-entraînement impliquée dans la mémoire à long terme, nous avons voulu évaluer l'effet de l'émétine injectée au-delà de 6 heures suivant l'entraînement. Il a donc été choisi d'entraîner des abeilles puis d'injecter l'émétine 7 heures après le conditionnement et d'évaluer la mémoire à 24 et 72 heures.

Pour cette dernière expérience, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre le groupe contrôle et le groupe traité à l'émétine (*figure 27*). Ainsi l'injection d'émétine 7 heures après l'entraînement n'affecte pas la mémoire à long terme vue à 24 et 72 heures. On peut donc penser que la vague de synthèse protéique nécessaire à la mise en place de la mémoire à long terme est finie 7 heures après l'entraînement, ce qui viendrait confirmer les résultats trouvés précédemment (Lefter et al. 2013).

Cependant le pourcentage de réponse au stimulus conditionné est faible comparé aux expériences précédentes et ce pour les deux groupes. Peut-être les conditions extérieures (mauvaise forme physique, manque de motivation au sucre) ont pu influencer les abeilles et expliquer cette différence. Il pourrait être judicieux de recommencer les manipulations à une autre période.

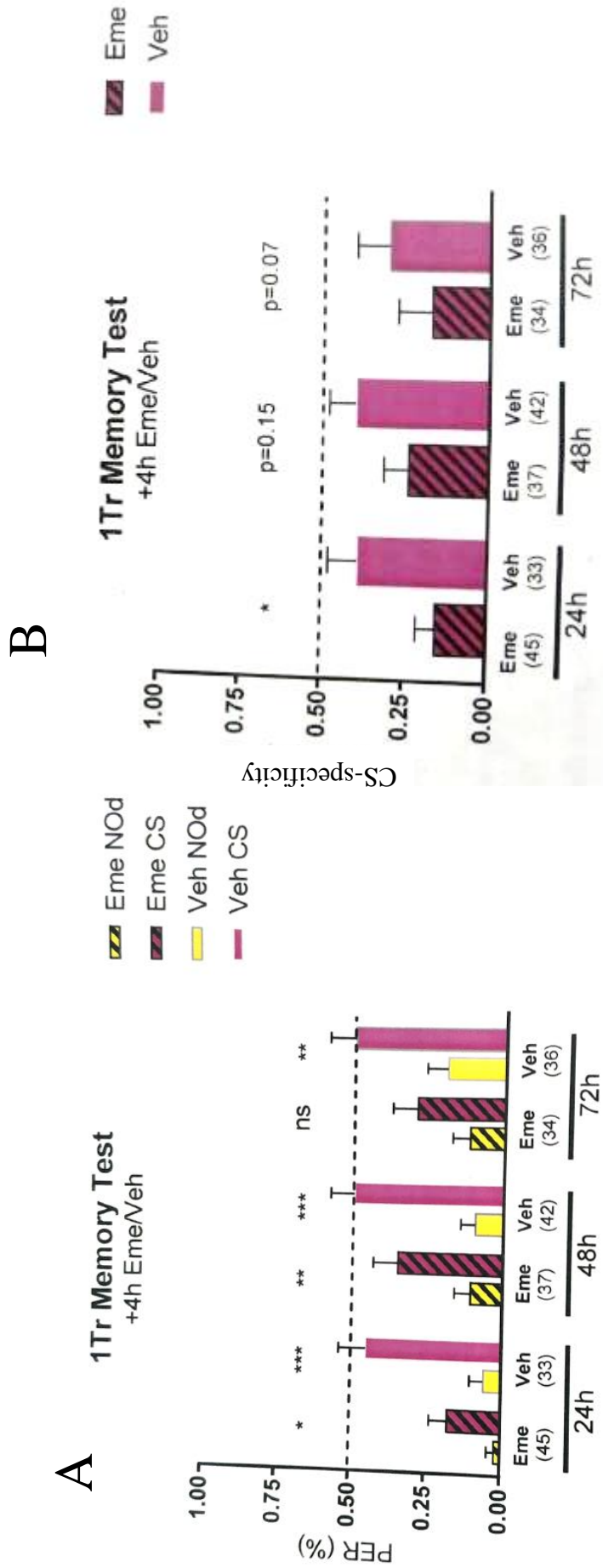
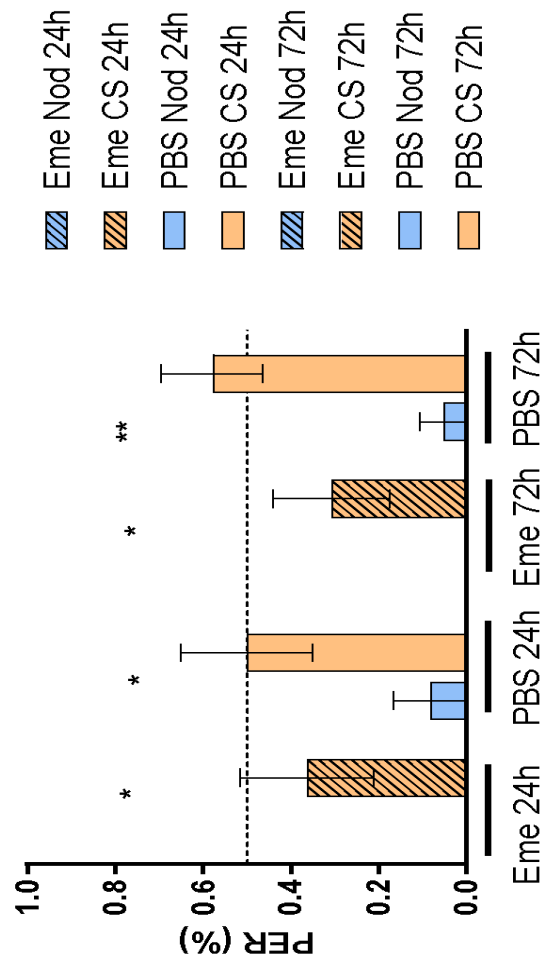


Figure 26 : L'injection d'émétine 4 heures après le conditionnement affecte l'expression de la mémoire à 24 heures. Trois groupes sont étudiés ici, les abeilles testées 24h après l'entraînement, celles à 48h et à 72h. Toutes ont reçu l'injection de traitement (Eme) ou de tampon phosphate (Veh) 4h après leur entraînement. Graphique A : Chaque groupe comporte deux lots, le lot témoin (Veh) et le groupe traité à l'émétine (Eme). On remarque que pour tous les lots témoins, la réponse à l'odeur apprise (CS) est significativement supérieure à la réponse quand une nouvelle odeur (Nod) est présentée, ainsi une mémoire est mise en place. Cependant chez les abeilles ayant reçu l'émétine bien que la différence soit significative à 24h et 48h, elle ne l'est pas à 72h et surtout cette réponse est bien inférieure à celle observée dans les lots témoins. Ainsi l'injection d'émétine réduit la mémoire qui devrait se mettre en place. Graphique B : Ces mêmes résultats sont présentés selon la spécificité de la réponse à l'odeur apprise, les lots traités à l'émétine présentent une mémoire affaiblie par rapport aux lots témoins

A

**1 Tr Memory Test
+7h Eme/Veh**



B

**1 Tr Memory Test
+7h Eme/PBS**

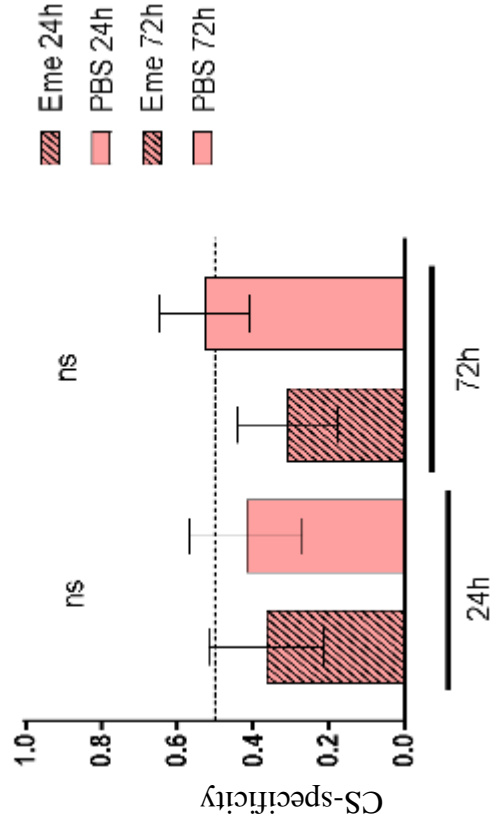


Figure 27 : L'injection d'émétine 7 heures après l'entraînement n'affecte pas la mémoire à 24 et 72 heures. Deux groupes sont testés ici, un dont le test a lieu 24h après l'entraînement, l'autre à 72h. Graphique A : Deux lots dans chaque groupe sont constitués, le lot témoin (Veh) et le lot traité à l'émétine (Eme). Que ce soit à 24h ou 72h, on remarque que la réponse à l'odeur apprise est significativement différente de la réponse à la nouvelle odeur pour les deux lots. Ainsi on aurait la mise en place de mémoire dans les deux groupes. Graphique B : Les mêmes résultats sont présentés sous la forme de spécificité à l'odeur apprise. Ainsi on voit que dans les deux groupes, il n'y a pas de différence significative de réponse entre les lots.

IV) Discussion

Grâce à cette expérience, il a été montré qu'un conditionnement unique utilisant le protocole du réflexe d'extension du proboscis (REP) était capable d'entraîner une mémoire, mise en place à 1 heure post-conditionnement et allant jusqu'à 72 heures, induisant une synthèse de nouvelles protéines. Toutefois ce résultat entre en contradiction avec la littérature car ce protocole est reconnu historiquement comme incapable de générer une mémoire au long terme (Menzel et Muller 1996; Menzel 1999; Giurfa 2007; Giurfa et Sandoz 2012). En effet, après une épreuve de conditionnement unique, dans les premières minutes se met en place une mémoire à court terme. Ensuite se produit une phase de consolidation menant à une mémoire à moyen terme. Dans les épreuves de conditionnement unique, cette mémoire à moyen terme décroît au bout d'une journée alors qu'en conditionnement multiple elle dure plus longtemps puis se consolide en mémoire à long terme grâce à la synthèse de nouvelles protéines (Menzel et Muller 1996; Menzel 1999; Giurfa 2007; Giurfa et Sandoz 2012). Cependant, ce résultat semble cohérent avec les observations faites en milieu naturel : 90% des individus sont capables d'associer une odeur à une récompense sucrée après une unique présentation (Quendolo 2016). En effet un conditionnement unique en utilisant le protocole du REP devrait créer une mémoire à court terme indépendante de la synthèse protéique puis une consolidation en mémoire à moyen terme durant environ une journée. Le protocole de conditionnement et de test utilisé ici est très similaire à ce qui a été décrit dans les expériences précédentes donc la différence observée dans les résultats serait plutôt attribuée aux événements entourant l'expérience. En effet, les abeilles sont gardées durant la nuit précédant l'expérience en incubateur, ce qui assure d'utiliser des abeilles vives et fortes pour l'expérience. L'appétit de ces abeilles est contrôlé également depuis la veille du conditionnement. Une grande attention est portée à la sélection des abeilles, afin de garantir la plus grande motivation des individus ainsi que des capacités proches. En choisissant de les capturer au nourrisseur artificiel, après 14 heures, il est presque assuré de capturer des butineuses qui sont les plus sensibles et les plus motivées par une récompense sucrée. De plus, en capturant des butineuses expérimentées, ces abeilles ont l'habitude d'effectuer des associations entre odeur et récompense en sucre obtenue. Enfin, l'explication la plus probable à cette différence de résultat est l'utilisation d'un nouveau dispositif de stimulation olfactive (un olfactomètre). Ce dispositif est beaucoup plus précis, sans fuite, il délivre une quantité connue d'air, d'odeur, pendant une durée très calculée. Le manipulateur est entièrement guidé tout au long du processus de conditionnement afin d'administrer la récompense sucrée au bon

moment, dans un temps limité, afin d'optimiser le moment de stimulation. Les anciens protocoles ne permettaient pas autant de précision, laissant plus de libertés au manipulateur, ce qui pourrait expliquer la différence.

La mémoire mise en place lors de ces expériences à 24 heures et plus était perturbée par l'injection d'émétine, 30 minutes avant l'entraînement et 4 heures après, ce qui permet de qualifier cette mémoire comme dépendante de la synthèse de nouvelles protéines. En avançant cette hypothèse, la mémoire mise en jeu dès 4 heures post-conditionnement est qualifiée de mémoire à long terme. Cette mémoire commencerait ainsi quatre heures après le conditionnement et pourrait durer jusqu'à 72 heures.

Enfin les dernières expériences avaient pour but de se rapprocher de ce qui a été trouvé dans la littérature pour des conditionnements multiples (Lefer et al. 2013). En effet, ces auteurs ont montré qu'il y avait une première vague de consolidation qui prenait place rapidement après le conditionnement, puis une deuxième vague de consolidation avait lieu quelques heures après l'entraînement. Les dernières expériences avaient pour but de tester cette seconde vague de consolidation, la première expérience avec l'injection d'émétine 4 heures après le conditionnement, bien que non significative avait une tendance à montrer des résultats similaires à ceux vus dans la littérature. C'est-à-dire qu'une vague de consolidation aurait lieu quatre heures après le conditionnement, donc en inhibant la synthèse de nouvelles protéines à ce moment, la mémoire est impactée. Cette vague de consolidation se terminerait avant 7 heures suivant le conditionnement car les résultats de la dernière expérience montraient une absence de différence significative de mémoire entre le groupe témoin et le groupe traité à l'émétine. Ces résultats vont dans le sens qu'une seconde vague de synthèse protéique est nécessaire pour consolider la mémoire à long terme.

En revanche, ces expériences ne permettent pas d'établir un protocole évaluant le behavioral tagging chez l'abeille de façon fiable. En effet, si un conditionnement unique au protocole d'extension du proboscis entraîne une mémoire à long terme avec la synthèse de nouvelles protéines, il ne peut donc pas être utilisé comme stimulus faible. Ainsi il faudrait rechercher deux autres stimuli, un faible et un fort activant des zones cérébrales communes.

Sur le modèle de ce qui a été fait chez le rat (Ballarini et al. 2009), on pourrait envisager un protocole d'apprentissage de la couleur chez les abeilles en vol précédé ou suivi d'une épreuve d'exploration d'un nouvel environnement. Là encore, il faudrait contrôler que le protocole d'apprentissage de la couleur chez les abeilles en vol, avec une seule association couleur-récompense sucrée est associée à la formation d'une mémoire à court terme

n'entraînant pas la synthèse de nouvelles protéines liées à la plasticité cérébrale, or sur ces abeilles en vol libre l'injection d'un inhibiteur de la synthèse protéique semble compliquée.

Durant ces expériences, des difficultés ont été rencontrées notamment pour la dernière partie concernant l'injection d'émétine 7 heures après le conditionnement. En effet, cette journée de manipulation est très chargée pour les animaux, longue, et il a fallu adapter le protocole de nourrissage au vu d'une mortalité très importante. Initialement, les abeilles étaient nourries le matin après la mise en harnais à l'aide d'une pipette. Elles recevaient chacune 5 μ L d'une solution de saccharose à 50%. Ensuite, les individus étaient mis en incubateur, jusqu'à la phase de conditionnement quatre heures après. Pendant le conditionnement les individus recevaient une récompense sucrée à l'aide d'un cure dent imbibé de solution de saccharose 50%, ainsi le volume n'était pas mesuré mais normalement négligeable par rapport à un repas. Par la suite, trois à quatre heures après le conditionnement les abeilles étaient à nouveau nourries individuellement (5 μ L de solution de saccharose 50%). Or dans les protocoles précédents, cette heure de nourrissage coïncidait avec l'injection d'émétine. Intuitivement, nous pensons que l'injection d'émétine constitue un événement stressant pour l'animal, ainsi le nourrir après cet événement paraissait approprié. En l'absence de problème sur les groupes précédents, nous avons donc pensé qu'il était approprié de nourrir à nouveau les abeilles après l'injection à 7 heures, ce qui augmentait le nombre de repas à 3 dans une journée. Or la mortalité était très importante dans les lots testés. Il a été difficile d'identifier la cause précise de mortalité dans cette expérience car les abeilles utilisées proviennent de ruches libres, elles sont ainsi exposées aux conditions météorologiques, aux prédateurs, aux maladies. Ainsi, comme les différentes expériences ont eu lieu à des périodes variées de l'année, l'imputabilité d'un facteur a été difficile à déterminer.

V) Le modèle de l'abeille, avantages, inconvénients, questions d'éthique, perspectives

Le modèle abeille est donc un modèle solide dans le monde des neurosciences notamment. Il présente l'avantage d'être étudié et donc connu depuis de nombreuses années, des protocoles standardisés existent afin de publier des résultats comparables entre plusieurs équipes. Des cerveaux complexes à la taille réduite permettent l'étude de circuits neuronaux déterminés en laboratoire mais aussi dans des protocoles plus proches de comportements naturels comme le vol libre par exemple. De plus, les abeilles sont des invertébrés, elles ne sont pas concernées par l'approbation de comités d'éthiques avant chaque manipulation. La question de la douleur chez les insectes a été posée afin de répondre à ces questions d'éthique de plus en plus importantes dans notre société. Il est difficile de répondre à ces questions pour des animaux phylogénétiquement éloignés de l'homme donc différents en termes de comportement mais aussi en physiologie. Ainsi, il n'a pas été identifié de circuit spécifique dédié à la perception de la douleur chez les insectes, ils ne possèdent pas de nocicepteurs parmi leurs cellules sensorielles, ainsi que de neurones dédiés. De même, les insectes ne semblent pas présenter de comportements adaptatifs de protection suite à un traumatisme tels que la boiterie, le toilettage de la zone lésée, l'arrêt de l'alimentation, l'arrêt de la reproduction. Ces deux observations vont dans le sens que les insectes n'expérimenteraient pas la douleur telle que connue chez l'homme (Eisemann et al. 1984). Cependant il convient de garder des réserves sur ce point. De plus, l'abeille est un insecte particulier dans la société actuelle, symbole de travail, et pollinisateur sentinelle en danger, elle est particulièrement appréciée du grand public qui pourrait voir d'un mauvais œil leur utilisation pour des manipulations telles que celles faites dans ce travail.

Conclusion

Cette étude a permis de montrer que l'utilisation du réflexe d'extension du proboscis même avec une seule épreuve de conditionnement ne pouvait pas être utilisé comme entraînement faible afin de montrer l'existence de behavioral tagging chez l'abeille car ce dernier engendre une mémoire à long terme dépendant de la synthèse de nouvelles protéines.

La première partie de revue de la littérature a mis en évidence que le système nerveux central de l'abeille possède une apparente simplicité, avec ses 960 000 neurones et des circuits nerveux bien identifiés, surtout concernant la neurophysiologie sensorielle. De ce système nerveux découle un répertoire comportemental riche, complexe et en constante évolution dépendant de l'âge de l'individu mais aussi des besoins généraux de la colonie. Les fonctions nerveuses reposent donc sur un nombre limité de neurones, ainsi on peut comprendre que l'inhibition d'un seul neurotransmetteur, d'une cascade moléculaire puisse avoir un impact majeur sur le fonctionnement de ce système nerveux, et plus généralement sur le fonctionnement de l'individu, sa survie et plus largement celle de la colonie.

Grâce à ces caractéristiques de simplicité et d'accessibilité, l'abeille est devenue un modèle de recherche robuste en neurosciences, afin notamment d'approfondir la compréhension de mécanismes complexes identifiés chez d'autres espèces. Les protocoles sont utilisés par de nombreuses équipes à travers le monde permettant de construire une littérature solide, et d'améliorer la précision du modèle. C'est pourquoi, au départ dénigrée pour son apparente simplicité, l'abeille ne cesse de dévoiler de nouvelles compétences dans de nombreux domaines.

La deuxième partie concernant la réalisation expérimentale a permis de montrer que le protocole d'extension du proboscis même réalisé avec un conditionnement unique était capable d'engendrer la synthèse de nouvelles protéines liées à la plasticité cérébrale donc porteuses de la mémoire à long terme. De plus, en étudiant l'impact de l'inhibition de la synthèse protéique à plusieurs périodes avant et après l'entraînement, il a pu être observé que la consolidation dépend de deux vagues de synthèse protéique. Cependant, le protocole d'extension du proboscis ne peut donc pas être utilisé dans un protocole visant l'étude du « marquage comportemental » en tant que stimulus faible. Par conséquent, il faudrait déterminer un nouveau stimulus faible, par exemple un apprentissage se basant sur le visuel car il semblerait que la mémoire visuelle soit plus complexe à établir que la mémoire olfactive. En outre, un conditionnement aversif de réflexe d'extension du dard pourrait être envisagé par analogie aux études menées sur les rats

en « marquage comportemental ». Ainsi les perspectives pour continuer ce travail sont multiples, et pourraient permettre de déterminer si le « marquage comportemental » peut être vraiment envisagé comme mécanisme commun entre espèces de mise en place de mémoire à long terme.

Bibliographie

- Abou-Shaara, H. 2014. « The Foraging Behaviour of Honey Bees, *Apis Mellifera*: A Review ». *Veterinární Medicína* 59 (No. 1): 1-10. <https://doi.org/10.17221/7240-VETMED>.
- Adam, G. 2010. « La biologie de l'abeille ». Ecole d'apiculture Sud-Luxembourg.
- Aguiar, J. M. R. B. V., A. C. Roselino, M. Sazima, et M. Giurfa. 2018. « Can Honey Bees Discriminate between Floral-Fragrance Isomers? » *Journal of Experimental Biology* 221 (juillet): jeb.180844. <https://doi.org/10.1242/jeb.180844>.
- Aristote. 384av. J.-C. *De memoria et reminiscentia (latin) Perì mnímōs kai ánamnēseōs Perì mnēmōs kai ánamnēseōs*.
- Auclair, J. -J. 2019. « Pièces buccales de l'abeille ». Les Sciences de la Vie et de la Terre au lycée. 8 août 2019. <http://www.svtaucaclairjj.fr/coevolution/gaura/appareil%20buccal.htm>.
- Ballarini, F., D. Moncada, M. C. Martinez, N. Alen, et H. Viola. 2009. « Behavioral Tagging Is a General Mechanism of Long-Term Memory Formation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (34): 14599-604. <https://doi.org/10.1073/pnas.0907078106>.
- Behnia, R., et C. Desplan. 2015. « Visual Circuits in Flies: Beginning to See the Whole Picture ». *Current Opinion in Neurobiology*, Molecular biology of sensation, 34 (octobre): 125-32. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.03.010>.
- Bitterman, M. E., R. Menzel, A. Fietz, et S. Schäfer. 1983. « Classical Conditioning of Proboscis Extension in Honeybees (*Apis Mellifera*) ». *Journal of Comparative Psychology (Washington, D.C.: 1983)* 97 (2): 107-19.
- Clarac, F., et J. -P. Ternaux. 2012. *Le bestiaire cérébral : des animaux pour comprendre le cerveau humain*. Paris: CNRS éditions.
- Dalke, K. 2002. « Expression of foraging gene associated with changes in bee behavior ». mai 2002. http://www.genomenetwork.org/articles/05_02/honeybee.shtml.
- Eisemann, C. H., W. K. Jorgensen, D. J. Merritt, M. J. Rice, B. W. Cribb, P. D. Webb, et M. P. Zalucki. 1984. « Do Insects Feel Pain? — A Biological View ». *Experientia* 40 (2): 164-67. <https://doi.org/10.1007/BF01963580>.
- Faber, T., J. Joerges, et R. Menzel. 1999. « Associative Learning Modifies Neural Representations of Odors in the Insect Brain ». *Nature Neuroscience* 2 (1): 74-78. <https://doi.org/10.1038/4576>.
- Farris, S. M., G. E. Robinson, et S. E. Fährbach. 2001. « Experience- and Age-Related Outgrowth of Intrinsic Neurons in the Mushroom Bodies of the Adult Worker Honeybee ». *Journal of Neuroscience* 21 (16): 6395-6404. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-16-06395.2001>.
- Fayet, A. 2016. « Fiche biologie : Anatomie interne 5 - Système nerveux ». *Abeilles & Cie, CARI*, n° 175: 17-18.
- Frey U., et Richard G. M. Morris. 1997. « Synaptic Tagging and Long-Term Potentiation ». *Nature* 385 (6616): 533-36. <https://doi.org/10.1038/385533a0>.
- Frings, H. 1944. « The loci of olfactory end-organs in the honey-bee, *Apis mellifera* Linn ». *Journal of Experimental Zoology* 88: 65-93. <https://doi.org/10.1002/jez.1400970203>.
- Frisch, K. 1968. *Vie et moeurs des abeilles / Dr Karl von Frisch,.. ; traduit par André Dalcq préface de Pierre-P. Grassé,..* Nouvelle édition entièrement refondue et mise À jour par l'auteur. Sciences d'aujourd'hui. Paris: AMichel.
- Giurfa, M. 2007. « Behavioral and Neural Analysis of Associative Learning in the Honeybee: A Taste from the Magic Well ». *Journal of Comparative Physiology A* 193 (août): 801-24. <https://doi.org/10.1007/s00359-007-0235-9>.

- Giurfa, M., et J.-C. Sandoz. 2012. « Invertebrate Learning and Memory: Fifty Years of Olfactory Conditioning of the Proboscis Extension Response in Honeybees ». *Learning & Memory* 19 (2): 54-66. <https://doi.org/10.1101/lm.024711.111>.
- Guerrieri, F., M. Schubert, J. -C. Sandoz, et M. Giurfa. 2005. « Perceptual and Neural Olfactory Similarity in Honeybees ». *PLOS Biology* 3 (4): e60. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030060>.
- Gupta, N., et M. Stopfer. 2012. « Functional Analysis of a Higher Olfactory Center, the Lateral Horn ». *The Journal of Neuroscience* 32 (24): 8138-48. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1066-12.2012>.
- Hardie, R C, et M Postma. 2008. « 1.05 Phototransduction in Microvillar Photoreceptors of Drosophila and Other Invertebrates ». *The Senses : A Comprehensive Reference* 1: 77-130.
- « History in the Study of Learning and Memory ». 2019. In *Associative Memory Cells: Basic Units of Memory Trace*, par J. -H. Wang, 1-35. Singapore: Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9501-7_1.
- Hori, S., H. Takeuchi, K. Arikawa, M. Kinoshita, N. Ichikawa, M. Sasaki, et T. Kubo. 2006. « Associative Visual Learning, Color Discrimination, and Chromatic Adaptation in the Harnessed Honeybee *Apis Mellifera* L. ». *Journal of Comparative Physiology A* 192 (7): 691-700. <https://doi.org/10.1007/s00359-005-0091-4>.
- Hori, S., H. Takeuchi, et T. Kubo. 2007. « Associative Learning and Discrimination of Motion Cues in the Harnessed Honeybee *Apis Mellifera* L. ». *Journal of Comparative Physiology A* 193 (8): 825-33. <https://doi.org/10.1007/s00359-007-0234-x>.
- Hunt, G. J., R. E. Page, M. K. Fondrk, et C. J. Dullum. 1995. « Major Quantitative Trait Loci Affecting Honey Bee Foraging Behavior ». *Genetics* 141 (4): 1537-45.
- Jones, B. M., A. S. Leonard, D. R. Papaj, et W. Gronenberg. 2013. « Plasticity of the worker bumble bee brain in relation to age and rearing environment ». *Brain, behavior and evolution* 82 (4): 250-61. <https://doi.org/10.1159/000355845>.
- Kuwabara, M. 1957. « Bildung Des Bedingten Reflexes von Pavlovs Typus Bei Der Honigbiene, *Apis Mellifica* (Mit 1 Textabbildung) ». *北海道大學理學部紀要* 13: 458-64.
- Lacube, J., et M. Sinier. 2013. *L'abc de l'apiculture*. Paris: « Rustica » éd.
- Lefer, D., E. Perisse, B. Hourcade, J. -C. Sandoz, et J.-M. Devaud. 2013. « Two Waves of Transcription Are Required for Long-Term Memory in the Honeybee ». *Learning & Memory* 20 (1): 29-33. <https://doi.org/10.1101/lm.026906.112>.
- Lefèvre, C. s. d. « Encyclopédie universelle de la langue Française - Abeille - Menu ». Consulté le 17 octobre 2019a. <http://www.encyclopedie-universelle.net/abeille1/abeille-menu.html>.
- . s. d. « Encyclopédie universelle de la langue Française - Abeilles - Anatomie - La tête - Introduction - Le cerveau ». Consulté le 15 octobre 2019b. <https://www.encyclopedie-universelle.net/abeille1/abeille-tete-cerveau.html>.
- Louveaux, J. 1996. *Les abeilles et l'apiculture : Chronique historique de la zoologie agricole française*. Editions Quae. <http://univ.toulouse.scholarvox.com/book/45003385>.
- Martin, Kelsey C., et Kenneth S. Kosik. 2002. « Synaptic Tagging — Who's It? » *Nature Reviews Neuroscience* 3 (10): 813-20. <https://doi.org/10.1038/nrn942>.
- Matsumoto, Yukihiisa, Randolf Menzel, Jean-Christophe Sandoz, et Martin Giurfa. 2012. « Revisiting Olfactory Classical Conditioning of the Proboscis Extension Response in Honey Bees: A Step toward Standardized Procedures ». *Journal of Neuroscience Methods* 211 (1): 159-67. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2012.08.018>.

- McClay, Mason, et Joseph E. Dunsmoor. 2018. « Effects of Post-Training Novelty Exposure on Contextual Fear Memory: An Attempt to Translate Behavioral Tagging to Humans ». Preprint. Neuroscience. <https://doi.org/10.1101/479659>.
- Menzel, R. 1999. « Memory Dynamics in the Honeybee ». *Journal of Comparative Physiology A* 185 (4): 323-40. <https://doi.org/10.1007/s003590050392>.
- Menzel, R., et U Muller. 1996. « Learning and Memory in Honeybees: From Behavior to Neural Substrates ». *Annual Review of Neuroscience* 19 (1): 379-404. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.19.030196.002115>.
- Meyer, J. R. 2016. « ENT 425 | General Entomology | Resource Library (Tutorials) ». General entomology at North Carolina State university. mars 2016. https://projects.ncsu.edu/cals/course/ent425/library/tutorials/external_anatomy/head.html.
- Minnich, D. E. 1921. « An experimental study of the tarsal chemoreceptors of two nymphalid butterflies ». *Journal of Experimental Zoology* 33: 172-203. <https://doi.org/10.1002/jez.1400330105>.
- Minnich, D.E. 1926. « The organs of taste on the proboscis of the blowfly, *Phormia regina* Meigen ». *Anat Rec* 34 (126).
- Moncada, D., F. Ballarini, et H. Viola. 2015. « Behavioral Tagging: A Translation of the Synaptic Tagging and Capture Hypothesis ». *Neural Plasticity* 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/650780>.
- Moncada, D., et H. Viola. 2007. « Induction of Long-Term Memory by Exposure to Novelty Requires Protein Synthesis: Evidence for a Behavioral Tagging ». *Journal of Neuroscience* 27 (28): 7476-81. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1083-07.2007>.
- Page, R., et T. Pankiw. 2001. « Genotype and Colony Environment Affect Honeybee (*Apis Mellifera* L.) Development and Foraging Behavior ». *Behavioral Ecology and Sociobiology* 51 (1): 87-94. <https://doi.org/10.1007/s002650100408>.
- Pepe, I. M. 1999. « Rhodopsin and Phototransduction ». *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 48 (1): 1-10. [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(99\)00200-6](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(99)00200-6).
- Perru, O. 2007. « Buffon, sa description des sociétés animales et humaines ». In , 19. Montpellier.
- Quendolo, D. 2016. *Les abeilles : biologie et comportement*. Paris: Éditions Frison-Roche.
- Radvansky, G. A. 2011. *Human memory*. 2nd ed. Boston: Allyn & Bacon.
- Ratia, G. s. d. « Apimondia - Fédération Internationales des Associations d'Apiculteurs ». Apimondia - Fédération Internationales des Associations d'Apiculteurs. Consulté le 18 novembre 2019. <https://www.apimondia.com/fr/>.
- Sanchez, B., et M. Gabriela. 2011. « Taste Perception in Honey Bees ». *Chemical Senses* 36 (8): 675-92. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr040>.
- Sigg, D., C. M. Thompson, et A. R. Mercer. 1997. « Activity-Dependent Changes to the Brain and Behavior of the Honey Bee, *Apis Mellifera* (L.) ». *The Journal of Neuroscience* 17 (18): 7148-56. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-18-07148.1997>.
- Stollhoff, N., R. Menzel, et D. Eisenhardt. 2008. « One Retrieval Trial Induces Reconsolidation in an Appetitive Learning Paradigm in Honeybees (*Apis Mellifera*) ». *Neurobiology of Learning and Memory* 89 (4): 419-25. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2007.10.003>.
- Surprenant, A. M., T. J. Bireta, L. A. Farley, et J. S. Nairne. 2007. « A Brief History of Memory and Aging ». In *The Foundations of Remembering: Essays in Honor of Henry L. Roediger, III*, Psychology Press, 464. Psychology Press Festschrift Series.
- Takeda, K. 1961. « Classical Conditioned Response in the Honey Bee ». *Journal of Insect Physiology* 6 (3): 168-79. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(61\)90060-9](https://doi.org/10.1016/0022-1910(61)90060-9).

- Varela, F. G. 1970. « Fine Structure of the Visual System of the Honey Bee (*Apis Mellifera*) ». *Journal of Ultrastructure Research* 31 (1-2): 178-94. [https://doi.org/10.1016/S0022-5320\(70\)90153-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5320(70)90153-X).
- Viola, H., F. Ballarini, M. C. Martínez, et D. Moncada. 2014. « The Tagging and Capture Hypothesis from Synapse to Memory ». *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 122: 391-423. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420170-5.00013-1>.
- Warrant, E. 2019. « Invertebrate Vision ». In *Encyclopedia of Animal Behavior*, 64-79. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.01303-0>.

Nom : Lebrun--Tessier

Prénom : Camille

Utilisation du réflexe d'extension du proboscis dans l'étude du « marquage comportemental » (behavioral tagging) chez l'abeille (*Apis mellifera*)

La mémoire est une capacité complexe dont de multiples mécanismes restent encore à élucider. Notamment le behavioral tagging, ou marquage comportemental, est un processus de mémoire à long terme. Une épreuve d'apprentissage faible, donc qui n'entraîne pas de mémoire durable à elle seule, serait susceptible d'engendrer une telle mémoire si associée à une épreuve d'apprentissage forte. Ce mécanisme a été étudié chez l'homme et la souris par exemple, cependant il reste des inconnus dans son fonctionnement. L'utilisation de l'abeille domestique, *Apis mellifera*, modèle solide de neurosciences permettrait de répondre à certaines de ces questions. Ainsi, pour mettre en évidence le mécanisme de marquage comportemental chez l'abeille, il faut établir un protocole avec une épreuve d'apprentissage faible. Le réflexe d'extension du proboscis est un modèle de protocole répondant aux critères d'une épreuve d'apprentissage faible ou forte. Nous avons trouvé que le réflexe d'extension du proboscis, avec une seule épreuve de conditionnement engendre une mémoire à long terme à 72 heures avec la synthèse de nouvelles protéines.

Mots clés : Abeille, mémoire, apprentissage, conditionnement, behavioral tagging

The use of proboscis extension reflexe protocol in the study of Behavioral tagging in honeybees (*Apis mellifera*)

Memory is an intricate capacity of which many mechanisms need to be discovered. Amongst those mechanisms, behavioral tagging is a long-term memory process. A weak learning stimulus that cannot lead to stable memory on his own is associated to a strong learning stimulus resulting in strong long-term memory. This mechanism was studied in humans and mice for example but it remains many variables unknown in this equation. To elucidate the existence of behavioral tagging in honeybees, we need to establish a protocol with a weak learning stimulus. The proboscis extension reflex is a learning protocol that meet the requirement of weak or strong learning stimulus. We found that the proboscis extension reflex with only one training session leads to long-term memory until 72 hours with new protein synthesis.

Keywords: Honeybee, memory, learning, training, behavioral tagging