

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE III

# DOCTORAT GRADE DE DOCTEUR

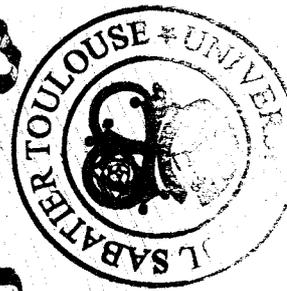
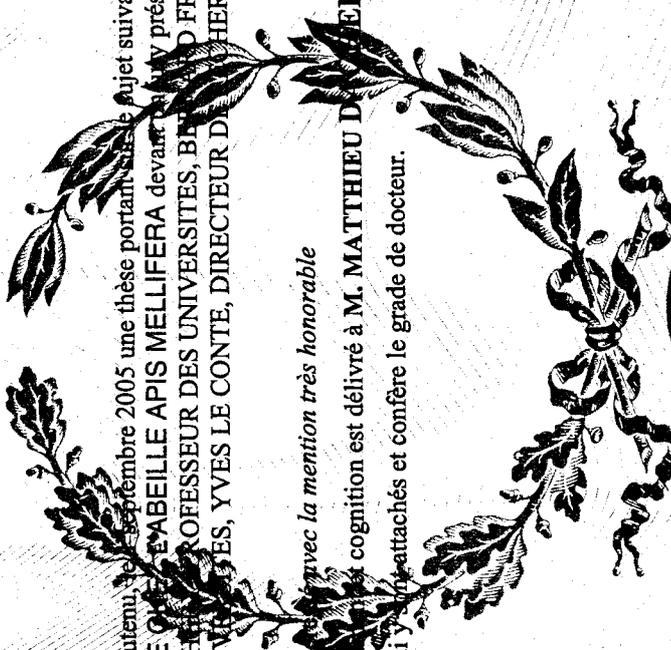
Vu le code de l'éducation

Vu l'arrêté du 25 avril 2002 relatif aux études doctorales

Vu le procès-verbal du jury attestant que l'intéressé a soutenu, le 27 septembre 2005 une thèse portant sur le sujet suivant : **ROLE DES RECEPTEURS NICOTINIQUES DANS DIFFÉRENTES FORMES DE MEMOIRE** devant un jury présidé par **MARTIN GIURFA, PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS** et composé de **RAYMOND CHICHARRE, PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS, BERNARD FRANCES, PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS, MONIQUE GAUTHIER, PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS, YVES LE CONTE, DIRECTEUR DE RECHERCHE INRA, THOMAS PREAT, DIRECTEUR DE RECHERCHE CNRS**

Vu la décision dudit jury prononçant l'admission de l'intéressé *avec la mention très honorable*

le Doctorat d'Université en Neurosciences, comportant le **diplôme** de **COGNITION** est délivré à **M. MATTHIEU DUBOIS** né le 27 décembre 1978 à **CLERMONT-FERRAND (063)** pour en jouir avec les droits et prérogatives qui y sont attachés et confère le grade de docteur.



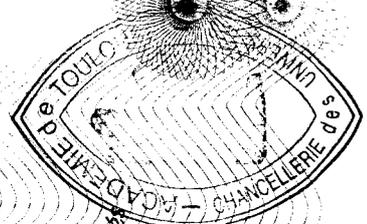
Fait à TOULOUSE, le 3 mars 2006

Le Président

Professeur Jean-François SAUTEREAU

Le Recteur d'Académie,  
Chancelier des universités

Christian MERLIN



TOUL III 5571767

2006200407848

**UNIVERSITÉ TOULOUSE III - PAUL SABATIER**  
**UFR SCIENCE DE LA VIE ET DE LA TERRE**

**THÈSE**

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ TOULOUSE III**

***Disciplines : Neurosciences et Biologie du Comportement***

présentée et soutenue

par

**Matthieu DACHER**

le 1<sup>er</sup> septembre 2005

**Titre :**

**RÔLE DES RÉCEPTEURS NICOTINIQUES DANS DIFFÉRENTES FORMES  
DE MÉMOIRE CHEZ L'ABEILLE *APIS MELLIFERA***

***Directrice de thèse :***

Monique GAUTHIER

**JURY**

M. Martin GIURFA, professeur à l'Université Toulouse III	Président
M. Bernard FRANCÉS, professeur à l'Université Toulouse III	Examineur
M. Thomas PRÉAT, directeur de recherches à Gif-sur-Yvette	Examineur
M. Raymond CHICHERY, professeur à l'Université de Caen	Rapporteur
M. Yves LE CONTE, directeur de recherches à Avignon	Rapporteur
Mme Monique GAUTHIER, professeur à l'Université Toulouse III	Directrice

**AUTEUR :** Matthieu DACHER

**TITRE :** RÔLE DES RÉCEPTEURS NICOTINIQUES DANS DIFFÉRENTES FORMES DE MÉMOIRE CHEZ L'ABEILLE *APIS MELLIFERA*

**DIRECTRICE DE THÈSE :** Pr Monique GAUTHIER

**LIEU ET DATE DE LA SOUTENANCE :** Université Toulouse III, 1<sup>er</sup> septembre 2005

---

## RÉSUMÉ

L'abeille en contention peut associer une récompense sucrée au scan antennaire d'une plaque métallique. Pour étudier le rôle des récepteurs nicotiques dans cet apprentissage, des antagonistes nicotiques (mécamylamine, MLA ou  $\alpha$ -bungarotoxine) ou un inhibiteur de la NO-synthase (le L-NAME) ont été injectés dans l'hémolymphe à des doses sans effet sur la perception ou la motricité. La mécamylamine a bloqué le rappel de la trace mnésique et l'apprentissage en un essai sans affecter la formation de la mémoire à long terme (MLT) qui se produit spécifiquement durant l'apprentissage en plusieurs essais. Par contre, le L-NAME, l' $\alpha$ -bungarotoxine et le MLA ne bloquent que la formation de la MLT. Cette dissociation pharmacologique indique l'existence de plusieurs types fonctionnels de récepteurs nicotiques. Ceux qui sont sensibles au MLA et à l' $\alpha$ -bungarotoxine seraient couplés à la NO-synthase.

---

<b>MOTS-CLÉS :</b>	Récepteurs nicotiques	Apprentissage
	Antagonistes nicotiques	Mémoire
	NO synthase	Insectes
	Pharmacologie comportementale	Abeille

---

**DISCIPLINE ADMINISTRATIVE :** Neurosciences et Biologie du Comportement

---

## INTITULÉ ET ADRESSE DU LABORATOIRE :

Centre de Recherches sur la Cognition Animale - UMR CNRS 5169

Université Paul Sabatier Toulouse III, UFR Science de la Vie et de la Terre

118 route de Narbonne, Bât 4R3

31062 TOULOUSE CEDEX 09

FRANCE



UNIVERSITE PAUL SABATIER  
TOULOUSE III

## RAPPORT DE SOUTENANCE

### DOCTORAT

Nom du candidat : Matthieu DACHER

Monsieur Matthieu Dacher a présenté son travail de recherche sur les bases neuropharmacologiques de la mémoire résultant du conditionnement tactile, une forme d'apprentissage dans laquelle une abeille en contention apprend à associer le contact antennaire d'une plaque métallique avec une récompense alimentaire. A partir de l'injection intracérébrale de différents antagonistes des récepteurs nicotiniques, appliqués avant ou après un conditionnement en un ou plusieurs essais, Matthieu Dacher montre l'existence d'au moins deux types de récepteurs à l'acétylcholine, qui se différencient par leur sensibilité à la bungarotoxine, bloqueur spécifique du récepteur nicotinique de la plaque motrice.

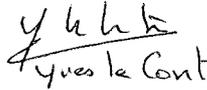
Matthieu Dacher a présenté ses résultats au cours d'un exposé de 45 minutes didactique et rigoureux. S'appuyant sur des illustrations en Power Point bien construites, M. Dacher s'est limité à la présentation de ses principaux résultats Ceci a permis de garder un haut niveau d'intérêt et de maintenir constante l'attention de l'auditoire. Le candidat a conclu son exposé par un modèle de travail constituant la synthèse de ses résultats.

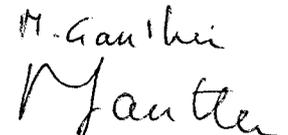
L'exposé a été suivi par 1 h 30 de questions auxquelles M. Dacher a répondu avec beaucoup d'assurance et de clarté. Les membres du jury ont apprécié ses grandes connaissances bibliographiques et sa maîtrise des concepts.

Après une courte délibération, le jury a décerné à Monsieur Matthieu Dacher le grade de docteur de l'Université de Toulouse III, avec la mention très honorable. Le jury a tenu à lui présenter ses félicitations.

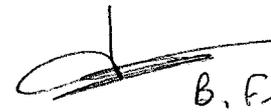
### Emargement des membres du Jury :

  
M. GIURFA

  
Yves Le Conte

  
M. Gauthier

  
T. Prant

  
B. François

  
R. CHICHERY

Rapport de la thèse de Monsieur Matthieu Dacher,  
intitulée : 'Rôle des récepteurs nicotiniques dans différentes formes de mémoire  
chez l'abeille *Apis mellifera*'.

Le document comprend quatre grandes parties.

Une introduction assez longue (elle représente la moitié du document) permet de bien placer de contexte de la recherche. Un certain nombre de définitions et de concepts importants relatifs à la mémoire sont donnés pour bien situer le sujet. De même, une étude bibliographique comparative de la plasticité du comportement et de la plasticité du système nerveux chez différents modèles d'invertébrés est bien menée afin de montrer l'intérêt de l'abeille comme modèle d'étude de la mémoire. Le réflexe d'extension du proboscis est ensuite décrit avec les différents apprentissages et les formes de mémoire, à moyen terme et à court terme, ainsi que les mécanismes sous jacents au niveau cellulaire. Un chapitre sur la neuroanatomie fonctionnelle décrit les circuits nerveux impliqués dans les processus de mémorisation. Puis la plasticité des neurones est abordée, et le lecteur arrive au cœur du sujet, à savoir les récepteurs nicotiniques et le rôle de différentes drogues dans les différentes phases de l'apprentissage.

J'ai trouvé cette introduction très bien faite et agréable à lire. Elle amène bien le lecteur aux questions soulevées dans le cadre de ce travail.

Une deuxième partie concerne les matériels et méthodes. Ce chapitre donne tous les éléments nécessaires pour comprendre, et même reproduire, les expérimentations. Je me pose cependant des questions qu'en au mode de prélèvement et à l'échantillonnage des abeilles testées par rapport aux informations données sur l'âge optimum des abeilles à utiliser dans ce type d'expérimentation.

La troisième partie concerne les résultats d'expérimentation. Un chapitre décrit et donne les résultats d'expériences préliminaires nécessaires pour cadrer les doses des différentes drogues utilisées, ainsi que pour optimiser l'apprentissage mécanosensoriel. Puis les résultats de l'étude des processus de rappel et de l'étude de l'apprentissage sont donnés de façon claire. Je m'étonne seulement de la variabilité des réponses des PER pour les témoins 'saline'. En outre l'interprétation de certains résultats, clamés négatifs, devrait être plus prudente lorsque l'effectif est petit (cf. figure 9, mécamylamine 10-20 mn, n=10). Les deux tableaux de synthèse des résultats sont très appréciés en fin de ce chapitre.

Enfin une discussion développée dans la quatrième partie replace les résultats concernant l'effet des différentes drogues testées dans le contexte de l'implication des voies nicotiniques dans le traitement de l'information et dans la mémorisation. Ce travail démontre que la mecamlamine affecte les processus mnésiques qui reposent sur une seule stimulation, sans affecter la formation de la mémoire à long terme. Par contre l' $\alpha$ -bungarotoxine, le MLA et le L-NAME jouent un rôle au cours de l'habituation et de l'apprentissage en plusieurs essais en bloquant la formation de la mémoire à long terme. L'auteur conclut que cette dissociation pharmacologique indique l'existence de différents types de récepteurs nicotiniques. Cette démonstration est particulièrement intéressante. Cette partie se termine par un chapitre qui développe les perspectives de recherche qui peuvent être envisagées pour continuer ce travail.

A la fin du document, l'auteur présente son Curriculum Vitae, dans lequel on peut noter trois publications acceptées, dont une en premier auteur, et deux en second auteur mais qui ne concernent pas ce travail de thèse. Deux autres manuscrits sont soumis.

Un certain nombre de questions de détails pourront être soulevées lors de la soutenance, mais elles ne s'opposent certainement pas à la soutenance orale. Le document gagnerait à être mieux présenté, en particulier le lecteur est souvent obligé à se référer à des documents qui pourraient être placés dans des endroits plus stratégiques pour le confort du lecteur ; par exemple certains encadrés (dont l'encadré 4) pourraient être mis en vis de la page qui les cite. Les photos pourraient être de meilleure qualité. Il faudrait également que l'encre de la photocopieuse soit changée pour la version finale !

Excepté ces petits détails mineurs, qui pourront éventuellement être soulevés lors de la soutenance orale, je n'ai pas trouvé d'éléments majeurs qui puisse justifier d'une modification importante du document. Je l'ai trouvé bien construit et agréable à lire. La problématique est bien amenée et les matériels et méthodes sont clairs et les résultats convaincants. J'ai lu ce document avec beaucoup d'intérêt, c'est du bon travail.

N'étant pas neurobiologiste, je ne peux discuter de l'originalité du sujet présenté, c'est en tant que biologiste et qu'apiculteur que je donne un avis favorable pour la soutenance de la thèse de Monsieur Matthieu Dacher.

Le 28 /06/05

Yves Le Conte  
Directeur de Recherche INRA  
HDR Université de Provence

**Rapport sur la thèse de doctorat d'Université de Toulouse  
présentée par Matthieu DACHER sur le sujet suivant : « Rôle des récepteurs  
nicotiniques dans différentes formes de mémoire chez l'abeille *Apis mellifera* ».**

L'objectif de ce travail est de comprendre le rôle d'une part de la neurotransmission cholinergique et d'autre part du NO dans l'acquisition et la rétention d'un apprentissage mécanosensoriel chez l'abeille. Pour atteindre cet objectif, Matthieu DACHER a réalisé une approche essentiellement neuropharmacologique : des injections d'antagonistes nicotiniques ou de L-NAME (inhibiteur de la synthèse de NO) ont été pratiquées dans l'hémolymphe de l'abeille à différents moments par rapport à la séance d'acquisition de l'apprentissage.

Le manuscrit débute par une introduction qui résume les apports des modèles Invertébrés dans la neurobiologie de l'apprentissage et de la mémoire. Cette introduction inclut également un chapitre décrivant les principales structures du cerveau de l'abeille, tout particulièrement celles dont le rôle dans l'apprentissage et la mémoire est déjà bien établi.

Le chapitre Matériel et méthodes décrit avec précision le protocole d'apprentissage retenu : l'apprentissage mécanosensoriel. Ce chapitre fait également une large place à la nécessité d'expériences préliminaires contrôlant la possibilité d'effets non spécifiques des drogues microinjectées (blocage de la perception du sucre, blocage du réflexe d'extension du proboscis (REP), blocage de la perception du stimulus conditionné...). Des microinjections dans des régions bien circonscrites du cerveau de l'abeille sont possibles (Cano Lozano et al, 2001 ; Thany et Gauthier, 2005...), le choix de M. DACHER de microinjections plus globales pratiquées dans l'hémolymphe aurait pu être plus justifié.

Les résultats débutent par l'exposé de ceux obtenus au cours des expériences préliminaires. Ces expériences ont permis à Mr. M. DACHER de déterminer les concentrations des différentes drogues employées dans ce travail qui n'avaient pas directement soit la sensibilité au sucre, soit les mouvements des antennes et d'éviter ainsi des effets non spécifiques. Les résultats exposés sont très clairs mais 2 figures (10 et 12) devront, me semble-t-il, être corrigées.

Les résultats les plus pertinents de la thèse sont exposés dans les deux chapitres suivants : étude des processus de rappel et étude de l'apprentissage.

Dans le premier chapitre, M. DACHER a étudié l'effet des différentes drogues injectées à différents moments après l'apprentissage effectué en un seul essai ou en plusieurs essais. Les résultats indiquent que la mécamylamine seule affecte transitoirement le rappel après un apprentissage en un seul essai. Ce même effet amnésiant de la mécamylamine a été retrouvé après l'apprentissage en plusieurs essais.

Dans le deuxième chapitre, M. DACHER a pu montrer que la mécamylamine est sans effet sur le processus de consolidation mais qu'en revanche elle bloque l'acquisition de l'apprentissage mécanosensoriel en un essai. Les autres antagonistes nicotiques sont sans effet ainsi que la L.NAME.

Les résultats obtenus au cours de l'acquisition de l'apprentissage en plusieurs essais sont très différents. Injectée avant l'apprentissage, la mécamylamine ne bloque ni l'acquisition ni la consolidation de l'apprentissage. En revanche, l' $\alpha$ -bungarotoxine bloque la formation de la M.L.T. ainsi que la MLA et la L.NAME.

Le bilan de ces résultats fait apparaître une très grande convergence de ces données avec celles précédemment obtenues par le même groupe de recherches sur l'apprentissage olfactif.

Le mémoire se termine par une discussion générale et le développement de différentes pistes de recherches. Parmi celles-ci, je retiens les hypothèses pouvant expliquer la dissociation pharmacologique des effets des deux antagonistes nicotiques : la mécamylamine et l' $\alpha$ -bungarotoxine. L'étude des liens entre les récepteurs nicotiques et la NO-synthase paraît être une piste prometteuse à explorer.

En résumé, le bilan de cette activité de recherches est excellent, Mr. DACHER a déjà à son actif trois publications dans d'excellentes revues internationales, dont une en premier auteur, deux autres publications sont annoncées comme soumises ou prochainement soumises. De plus, les travaux ont été présentés à des conférences nationales et internationales.

Au vu du manuscrit de thèse et des publications déjà réalisées, je suis donc extrêmement favorable à ce que Mr. DACHER soutienne sa thèse de doctorat.

Fait à Caen, le 28 juin 2005  
Raymond CHICHERY, Professeur