

## Appel A Projets IV : formulaire de candidature

Nom du correspondant : Pinhède Cédric

Nom du projet : Système Auditif du Proteus Anguinus (SAPA)

Résumé du projet (5 lignes en anglais) :

Proteus, one of the oldest cave-dwelling species, exhibits remarkable adaptations on several levels. The objective of this project is to highlight its auditory faculties by carrying out several measurement campaigns at the Theory and Experimental Ecology Station (SETE). Acoustic and vibration measurements will then be carried out on the site. At the same time, simulations will be developed from 3D images taken with a micro-tomograph in order to have a prediction tool.

Volet(s) complémentaires demandé(s) :  Collaboration internationale  Pédagogie

### Contenu scientifique (3 pages maxi)

#### Contexte scientifique

Dans le règne animal, de nombreuses espèces actives à l'obscurité (i.e. nocturnes) doivent utiliser des sens non-visuels, par exemple pour s'orienter, détecter et localiser leurs proies, ou communiquer. Parmi les sens non-visuels utilisés, la perception acoustique est très largement répandue quelques soient les groupes zoologiques (Insectes, oiseaux, mammifères, etc.) et leur milieu de vie (terrestres, marins, ...). Les organes sensoriels mobilisés peuvent être de nature, de structures et de fonctionnement différents (sensilles mécanorécepteurs ou organe de Johnston chez certains insectes, ligne latérale et oreille chez les Vertébrés) et des espèces peuvent émettre des ondes selon des modes divers (frottement d'une partie du corps sur une autre ou sur un substrat, mouvement d'air sur des cordes ou sacs vocaux).

Les théories évolutives prédisent une augmentation des capacités sensorielles non visuelles chez les espèces cavernicoles au cours de leur adaptation à l'environnement souterrain caractérisé entre autres par une obscurité constante qui interdit la vision [Langecker 2000], d'autant que de nombreuses espèces sont devenues totalement aveugles à la suite d'une régression oculaire [Ginet et Decou 1977]. Dans une logique de compensation sensorielle, chez de nombreuses espèces souterraines on peut observer un hyperdéveloppement ou une hypersensibilité des organes olfactifs ou mécaniques (allongement des appendices chez les Invertébrés, augmentation du nombre de bourgeons chimiosensibles de la bouche chez certains poissons). Dans ce contexte très peu d'études ont été menées sur les capacités acoustiques chez les espèces cavernicoles strictes (à l'exclusion des espèces trogophiles comme les Chiroptères). Récemment, une équipe a montré chez le poisson *Astyanax mexicanus* qui possède la particularité de présenter des morphes oculés et colorés, et des populations aveugles et dépigmentés récemment évolués, des capacités soniques remarquables impliquées dans une communication interspécifique avec des signatures locales voire individuelles [Hyacinthe et al 2022] ; ce qui ouvre des perspectives de découverte d'aptitudes et de performances acoustiques chez des cavernicoles beaucoup plus évolués, comme l'amphibien Urodèle *Proteus anguinus* (ou Protée), bien que peu de travaux ont pu démontrer de tels traits chez les Urodèles en général [Licht 1973 ; Crovo et al 2016 ; Hubálek et al 2019 ; Bedi et al 2020 ; Lukanov et al 2020]

1

comparativement aux Anoures. Le Protée est le seul Vertébré cavernicole strict d'Europe ; sachant par ailleurs que parmi les Vertébrés on ne compte qu'environ 85 espèces de poissons cavernicoles de par le monde, toutes distribuées entre les tropiques et plus récemment inféodées au milieu souterrain, et seulement 7 autres espèces d'Amphibien, tous nord-américains, présentant des degrés divers d'inféodation à ce milieu. Le Protée aurait colonisé quant 'à lui ce milieu il y a 20 Ma [Bulog 1994] ce qui en ferait le plus ancien cavernicole vivant. Il présente des adaptations remarquables à différents niveaux : métabolique [Hervant 2001], physiologique [Hervant et al 2001], développemental avec une absence de métamorphose (qui le contraint à maintenir une vie aquatique tout au long de sa vie), une acquisition tardive de la maturité sexuelle (vers 20 ans, voir Durand 1971), et une longévité extraordinaire (une centaine d'années , voir Voituron et al 2011), etc. Au niveau sensoriel, le Protée présente un organe olfactif caractéristique dont les performances chémoréceptrices indiscutables sont très certainement liées à une hypersensibilité plutôt qu'à des modifications anatomiques [Meunier 1984]. Il possède également une Ligne Latérale, système mécanorécepteur superficiel, qui s'écarte de celle des Poissons et comparée à celle des autres Amphibiens témoigne tant par sa densité que par son extension topographique, d'une spécialisation [Ronsin 1985].

Au-delà d'une absence de calcification osseuse et le maintien d'un squelette cartilagineux résultants d'une absence de métamorphose [Durand 1971], le Protée possède également des structures auditives particulières comparativement aux autres Amphibiens [Bulog & Schlegel 2000]. Tout d'abord, l'oreille interne présente une organisation des cellules sensorielles complexes dont le motif indique une détection du sens de déplacement. On observe également que les poumons (rudimentaires et non fonctionnels pour la respiration), ainsi que la bouche semblent fonctionner comme des résonateurs qui transmettraient une variation de pression acoustique à l'oreille interne. Enfin, comportementalement, des audiogrammes indiquent une capacité auditive comparable aux meilleurs poissons osseux (60-70 dB rel. 1  $\mu$ Pa ; fréquences de 1 à 10 KHz). Ces caractéristiques en font donc un excellent candidat pour des *perceptions* sonores qui pourraient être impliquées dans l'orientation et la détection des proies (particulièrement efficace, voir Uieblein 1994) ainsi que des *productions* sonores. La plupart des amphibiens produisent en effet des vocalisations soit dans un objectif de communication soit pour effrayer d'éventuels prédateurs. Sachant de plus que les partenaires sexuels exécutent une parade nuptiale et que l'olfaction semble peu impliqué dans la reconnaissance des sexes [Parzefall 1976], la communication acoustique pourrait être impliquée dans l'attractivité sexuelle comme chez de très nombreuses espèces de batraciens.



Figure 11: Tête du protée

L'objectif de ce projet serait ainsi de déterminer si le Protée, comme les autres espèces de salamandres (Neill, 1952), peut lui aussi vocaliser ou tout du moins produire des sons. Dans un second temps, nous tenterons d'identifier la fonction et le contexte de ces productions sonores (attractivité sexuelle, attraction de proies, répulsion de prédateurs...). Enfin, d'autres batraciens comme les anoures sont connus pour adapter leur répertoire vocal à leur milieu de vie (voir par exemple Bosch & De la Riva, 2004). Le protée étant un animal sédentaire se déplaçant relativement peu, il pourrait également adapter ses éventuelles productions vocales à son milieu cavernicole et aux fréquences de résonances des cavités dans lesquels il vit. Comme certaines espèces d'anoures,

chaque population de protée pourraient ainsi adopter un dialecte propice à la communication dans son lieu de vie.

Pour répondre à ces questions novatrices, nous proposons d'abord d'enregistrer les éventuelles productions sonores des Protées en mésocosme à l'aide d'un hydrophone (modèle B&K 8106 ; fréquences de 2Hz à 50 kHz). Nous comparerons alors la fréquence de ces cris aux fréquences de résonances des milieux dans lesquels ils ont été émis. Enfin, dans l'hypothèse où le Protée communique acoustiquement, nous proposons dans un second temps de réaliser des expériences de play-back. L'objectif sera alors d'identifier le rôle fonctionnel de ces cris en observant les réactions des Protées lors de la ré-émission à l'aide d'un haut-parleur des cris conspécifiques enregistrés. Les observations des Protées seront aussi réalisées à partir de mesures avec un vibromètre laser à balayage et des enregistrements avec une caméra rapide.

L'un des objectifs finaux de ce projet est donc d'examiner pour la première fois si le Protée est sonore, et dans ce cas si les signaux émis ont une implication dans la communication interindividuelle et/ou l'orientation et la détection des proies, éventuellement par un processus analogue à l'écholocalisation ; en corolaire, identifier les structures émettrices et réceptrices impliquées.

Parallèlement à la partie expérimentale, nous réaliserons dans ce projet des simulations numériques. En général, les mécanismes d'audition chez les vertébrés aquatiques sont étudiés de manière purement comportementaliste et/ou expérimentale [Christensen-Dalsgaard1995 ; Katbamna 2006] et rarement comparés à des simulations numériques. Lorsqu'elles existent, ces simulations sont le plus souvent réalisées via des modèles simplifiés : modèles électrostatiques [Vedurmudi 2018 ; Shofner 2015 ; Finneran 2000], modèles acoustiques analytiques [Vossen 2010 ; Shofner 2015 ; Vedurmudi 2016].

Lorsque les modèles acoustiques analytiques sont utilisés, l'oreille interne est représentée par des tubes reliés à chaque extrémité par des surfaces représentant les tympanes. Parfois le volume de la bouche et pris en compte avec un volume de section différent et la présence des narines, sous forme de petits tubes ouverts (ou non) vers l'extérieur.

Les récents progrès des appareils d'imagerie, notamment par tomographie à rayons X, en terme de précision et définition [Markéta Tesařová et al 2022] permettent aujourd'hui d'envisager d'utiliser ces images comme support à des modélisations numériques en mécanique (vibratoire) ou acoustique. Ces modélisations prennent alors en compte la géométrie réelle [PieterLivens 2019 ; Boistel 2013] ainsi que les paramètres associés et garantissent des simulations numériques bien plus réalistes que ce qui se fait traditionnellement par le biais des modèles simplifiés.

Ainsi, la modélisation de l'anatomie interne par les méthodes d'éléments finis en volume (fem) ou de frontière (bem) à partir de géométries réelles issues d'images scannées est envisageable aujourd'hui. On peut trouver ce type de simulation dans des études récentes: le cas des baleines [Tubelli 2018], des grenouilles sooglossides [Boistel], du grillon [Celiker 2020] ou du système auditif humain [Camino 2018 ; Gonzalez-Herrera 2015].

L'un des objectifs de ces simulations numériques sera d'obtenir un outils permettant de pallier à certaines expérimentations difficiles à mettre en œuvre avec les protées. Pour être suffisamment précis, ces modèles devront intégrer des paramètres numériques issus des matériaux biologiques nécessitant parfois des prélèvements d'échantillons pour définir leurs propriétés de manière expérimentale [Shofner 2015 ; Tubelli 2018].

## Programme

3

Plusieurs campagnes de mesures sont prévus à la Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale (SETE) du CNRS et Université Paul Sabatier en Ariège.

- Enregistrement sonores des Protées et de son environnement à la grotte-laboratoire de SETE
- Expériences de play-back à la grotte-laboratoire de SETE afin d'identifier si la Protée est sensible aux sons de ces congénères et/ou de son environnement. Les mesures acoustiques seront réalisées à l'aide d'un hydrophone et d'un haut-parleur sous-marin et pour les mesures vibratoires avec un vibromètre laser à balayage et une caméra rapide.
- Simulation à partir des images 3D d'un Protée issues d'une base de données en libre accès et avec le micro-tomographe du LMA (si celui-ci sera fonctionnel).

## Retombées attendues

Ce projet est une première collaboration académique entre les laboratoires LMA, SETE et le Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon (CRNL). Il permet de rassembler des compétences à spectre varié entre acoustique, vibration, bioacoustique et biologique.

L'un des objectifs de ce projet est d'examiner pour la première fois si le Protée est sonique, et dans ce cas si les signaux émis ont une implication dans la communication interindividuelle et/ou l'orientation et la détection des proies. Les résultats obtenus permettraient de postuler à un AAP du labex Tulip New Frontiers ainsi qu'à des projets de collaborations avec d'autres structures européennes pour aborder un possible effet de dialecte.

## Références

Bedi A, Bedi V, Nag S, Suyesh R; . Wild observations of the reproductive behaviour and first evidence of vocalization in Crocodile newt *Tylototriton himalayanus* (Caudata: Salamandridae) from the Himalayan biodiversity hotspot in Eastern India. *Salamandra*, 2021, 57(1), 65-74.

Bosch J, De la Riva I. Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. 2004, *Can. J. Zool.* 82: 880-888.

Bulog B. Two decades of functional-morphological studies of *Proteus anguinus* (Amphibia, Caudata). *Acta Carsol.* 1994, 19, 247-263.

Bulog B, Schlegel P. Functional morphology of the inner ear and underwater audiograms of *Proteus anguinus* (Amphibia, Urodela). *Eur J Physiol.*, 2000, 439, 165-167.

Crovo JA, Zeyl JN, Carol E. J. Hearing and Sound Production in the Aquatic Salamander, *Amphiuma means*. *Herpetologica* 1976, 72(3),167-173.

Durand JP. Recherches sur l'appareil visuel du Protée. *Ann. Spéléol.*, 1971, XXVI, 497-825.

Ginet R., Decou V. Initiation à la biologie et à l'écologie souterraines. J.-P. Delarge, Paris, 1977, 345 p.

Hervant, F., Mathieu, J., Durand, J. Behavioral, physiological and metabolic responses to long-term starvation and refeeding in the blind cave-dwelling (*Proteus anguinus*) and a surface-dwelling (*Euproctus asper*) salamander. 2001, *J. Exp. Biol.* 204, 269-281.

Hubáček J, Sugerková M, Gvodík L. Underwater sound production varies within not between species in sympatric newts. *Peer J.* 2019, DOI 10.7717/peerj.6649

Langecker T. The effects of continuous darkness on cave ecology and cavernicolous evolution. 2000. In: *Ecosystems of the word*. In Subterranean Ecosystems (Wilkins, H., Culver, D. C. & Humphreys, W. F., eds), pp. 135–157. Amsterdam: Elsevier

Licht LE. Behavior and sound production by the northwestern salamander *Ambystoma gracile*. *Can. J. Zool.* 1973, 51, 1055-1057.

Lukanov S. First record of underwater sound produced by the Balkan crested newt (*Triturus ivanbureschi*). *Acta Herpetologica* 2020, 15(1), 15-20.

Marche C. Le Protée (*Proteus anguinus* Laurenti 1768). Recherches morphologiques et comparatives sur l'appareil hyobranchial. Thèse Med. Vét., Toulouse, 1976, n°77, 100p.

Meunier M. Recherches morphologiques et comparatives sur le développement de l'appareil olfactif du Protée. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 1984, n°103, 70p.

Parzefall J, Die Rolle der chemischen Information im Verhalten des Grottenolms *Proteus anguinus* Laur. (Proteidae, Urodela). *Zeitschrift für Tierpsychologie* 1976, 42 (1), 29-49.

Neill W T. Remarks on Salamander Voices. 1952, *Copeia*, Vol. 1952, No. 3 (Sep. 26, 1952), pp. 195-196.

Ronsin R. Recherches morphologiques et comparatives sur le développement du système de la ligne latérale chez le Protée. II. La ligne latérale céphalique. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 1985, n°122, 138p.

Uiblein F, Parzefall J. Does the cave salamander *Proteus anguinus* detect mobile prey by mechanical cues?. *Mém. Biospéol.*, 1993, XX, 261-264.

Voituron Y, de Fraipont M, Issartel J, Guillaume O, Clobert J. Extreme lifespan of the human fish (*Proteus anguinus*): a challenge for ageing mechanisms. *Biological letters*, 2011, 7, 105-107.

J. Christensen-Dalsgaard and A. Elepfandt. Biophysics of underwater hearing in the clawed frog, *xenopus laevis*. *Journal of Comparative Physiology A*, 176(3):317–324, 1995.

Bharti Katbamna, John A Brown, Melissa Collard, and Charles F Ide. Auditory brainstem responses to airborne sounds in the aquatic frog *xenopus laevis*: correlation with middle ear characteristics. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, 192(4):381–387, Apr 2006.

Anupam P. Vedurmudi, Jakob Christensen-Dalsgaard, and J. Leo van Hemmen. Modeling underwater hearing and sound localization in the frog *xenopus laevis*. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 144(5):3010–3021, 2020/11/09 2018.

William P. Shofner. Acoustic analysis of the frequency-dependent coupling between the frog's ears. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 138(3):1623–1626, 2020/11/19 2015.

J J Finneran and M C Hastings. A mathematical analysis of the peripheral auditory system mechanics in the goldfish (*carassius auratus*). *J Acoust Soc Am*, 108(3 Pt 1):1308–1321, Sep 2000.

Christine Vossen, Jakob Christensen-Dalsgaard, and J. Leo van Hemmen. Analytical model of internally coupled ears. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 128(2):909–918, 2020/11/09 2010.

3D imaging of mysterious cave-dwelling salamander reveals adaptations for life in the dark (2022, April 5) retrieved 8 December 2022 from <https://phys.org/news/2022-04-3d-imaging-mysteriouscave-dwelling-salamander.html>

Markéta Tesařová, Lucia Mancini, Edgardo Mauri, Gregor Aljančič, Magdalena Năpăruș-Aljančič, Rok Kostanjšek, Lilijana Bizjak Mali, Tomáš Zikmund, Markéta Kaucká, Federica Papi, Jana Goyens, Anass Bouchnita, Andreas Hellander, Igor Adameyko, Jozef Kaiser, Living in darkness: Exploring adaptation of Proteus anguinus in 3 dimensions by X-ray imaging, GigaScience, Volume 11, 2022, giac030, <https://doi.org/10.1093/qigascience/qiac030>

Pieter Livens, Pieter G.G. Muyschondt, Joris J.J. Dirckx,  
Sound localization in the lizard using internally coupled ears: A finite-element approach,  
Hearing Research, Volume 378, 2019, Pages 23-32.

Boistel, R., Aubin, T., Cloetens, P., Peyrin, F., Scotti, T., Herzog, P., & Aubry, J. F. (2013). How minute sooglossid frogs hear without a middle ear. Proceedings of the National Academy of Sciences, 110(38), 15360-15364.

Andrew A. Tubelli, Aleksandrs Zosuls, Darlene R. Ketten, and David C. Mountain. A model and experimental approach to the middle ear transfer function related to hearing in the humpback whale (megaptera novaeangliae). The Journal of the Acoustical Society of America, 144(2):525-535, 2020/11/17 2018.

Emine Celiker, Thorin Jonsson, and Fernando Montealegre-Z. The auditory mechanics of the outer ear of the bush cricket: A numerical approach. Biophys J, 118(2):464-475, Jan 2020.

L Caminos, J Garcia-Manrique, A Lima-Rodriguez, and A Gonzalez-Herrera. Analysis of the mechanical properties of the human tympanic membrane and its influence on the dynamic behaviour of the human hearing system. Appl Bionics Biomech, 2018:1736957, 2018.

Antonio Gonzalez-Herrera and Elizabeth S. Olson. A study of sound transmission in an abstract middle ear using physical and finite element models. The Journal of the Acoustical Society of America, 138(5):2972-2985, 2020/11/30 2015.